

УДК 547.92

СТЕРИНЫ КАК КОМПЛЕКСООБРАЗОВАТЕЛИ

Иоффе Д. В.

Образование комплексов стеринов с различными соединениями определяет биологические свойства как стеринов, так и некоторых природных веществ — сапонинов и полиеновых антибиотиков. Комплексообразование стеринов с фосфолипидами, стероидными сапонинами и полиеновыми антибиотиками обусловлено одними и теми же особенностями строения стериновой молекулы. Главную роль в комплексообразовании играет гидрофобное взаимодействие циклопентаптеригидрофenantренового цикла. Образование водородной связи между гидроксильной группой стерина и каким-либо акцептором протона, постулируемое в большинстве комплексов, доказано лишь в комплексах стеринов с водой и кислотами.

Библиография — 122 ссылки.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	333
II. Комpleксы со стероидными сапонинами	334
III. Кристаллосольваты стеринов	338
IV. Комплексы с полиеновыми антибиотиками	339
V. Стерин в мембране	343

I. ВВЕДЕНИЕ

Способность стеринов вообще и холестерина в частности образовывать комплексы¹ со стероидными сапонинами обнаружена значительно раньше, чем была установлена структурная формула холестерина [2]. С тех пор в многочисленных работах показано образование комплексов стеринов с рядом органических соединений — спиртами, фенолами, кислотами и их производными, аминами, углеводами, различными гетероциклическими соединениями, в последнее время — с белками, а также с неорганическими кислотами и солями. Комплексообразование с сапонинами нашло широкое практическое применение в препаративной и аналитической химии стеринов [3, 4], комплексообразование с солями и спиртами используется при выделении и очистке стеринов [5, 6]. Образование стеринами комплексов с сапонинами лежит в основе использования последних в качестве гипохолестеринемических средств [7, 8], а в последние годы используется при создании сорбентов, избирательно извлекающих холестерин плазмы крови [9—11]. Однако не столько эти прикладные аспекты вызывают интерес к комплексам стеринов, сколько то, что комплексообразование обусловливает большую часть биологических функций стеринов. Так, уже давно установлено, что биологическое действие полиеновых антибиотиков определяется их комплексообразованием со стеринами мембран. Подобным же или близким взаимодействием объясняется действие некоторых токсинов, например тетродотоксина и сакситоксина [12], а также мембранотропное действие тритерпеновых гликозидов [13]. Встраивание стеринов в биологические мембранны осуществляется благодаря образованию комплексов с другими компонентами мембран, в первую очередь с фосфолипидами. Наконец, в последнее время большое внимание уделяется взаимодействию стеринов с белками в липопротеидах — липидбелковых комплексах, осуществляющих транспорт липидов в животном организме.

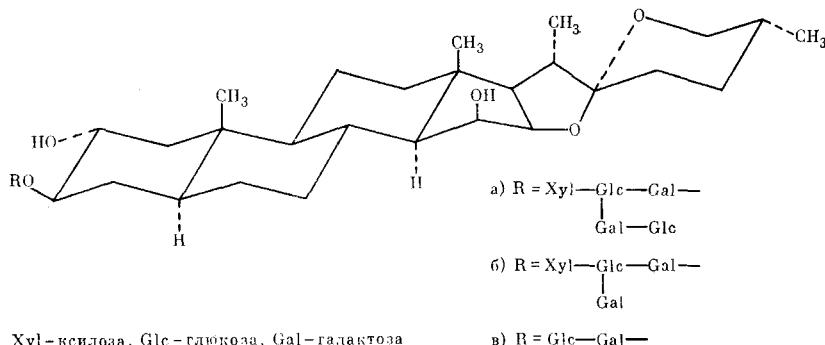
Задачей настоящей работы является систематизация отдельных разрозненных данных о комплексообразовании стеринов с различными сое-

¹ В соответствии с [1] под термином комплекс понимается молекулярное целое, образующееся при ассоциации двух соединений без изменения характера связей внутри каждой из частей.

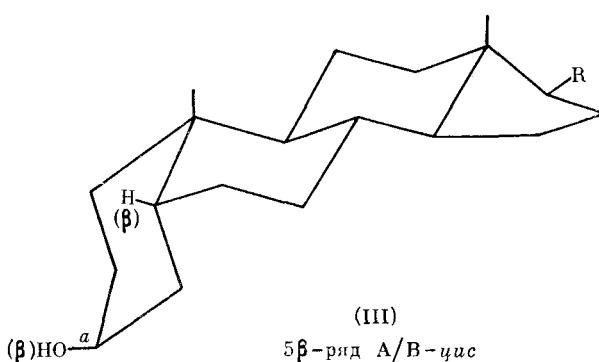
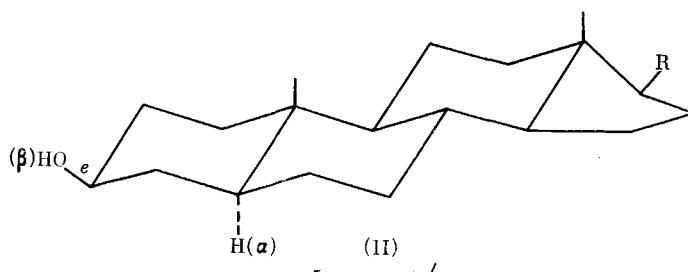
динениями и попытка выяснения, какие межмолекулярные взаимодействия определяют высокую комплексообразующую способность стеринов и какими структурными функциями их молекул обусловлены эти взаимодействия. Следует сразу оговориться, что количественному изучению комплексов стеринов посвящено незначительное число исследований. Как правило, в литературе отсутствуют сведения о константах стойкости комплексов, энергиях их образования и т. п. Поэтому и настоящий обзор оперирует в основном качественными соотношениями структуры стеринов и их способности к образованию комплексов.

II. КОМПЛЕКСЫ СО СТЕРОИДНЫМИ САПОНИНАМИ

В 1909 г. Виндаус обнаружил, что холестерин образует малорастворимый комплекс с дигитонином — стероидным сапонином (Ia) [2]. Подобные комплексы, носящие название дигитонидов и содержащие эквимолекулярные количества дигитонина и стерина, получены для целого ряда стеринов, причем растворимость дигитонидов различных стеринов зависит от природы последних. Эти различия в стабильности комплексов широко использовались для разделения близких по строению стеринов, особенно эпимеров.



В ходе таких исследований были накоплены определенные данные, связывающие строение стерина и его способность к комплексообразованию с дигитонином. Следует, однако, подчеркнуть, что часто встречающееся в литературе деление стеринов на осаждающиеся и не осаждающиеся дигитонином весьма относительно. Образование комплекса с дигитонином зависит не только от строения стерина — в значительной мере диссоциация комплекса определяется условиями реакции, в частности растворителем и температурой. Так, дигитониды минимально растворимы в этаноле, в котором их и получают, но полностью диссоциируют в таких растворителях, как пиридин, диметилформамид, диметилсульфоксид [14]. Диссоциируют комплексы при хроматографировании на силикагеле [15] и при повышении температуры — при нагреве дигитонида холестерина в вакууме до 240° от него практически количественно отгоняется холестерин [16]. Поэтому общие закономерности, связывающие прочность дигитонидов со строением стеринов, должны основываться на экспериментах, проведенных в строго сопоставимых условиях — а таких немного: целью большинства работ было препаративное разделение изомеров. Лишь в нескольких исследованиях [17—19] определены количественные характеристики стабильности дигитонидов различных стеринов — произведение растворимости S . Предполагается, что чем меньше растворимость и величина S , тем больше способность стерина к образованию комплекса. Как видно из данных табл. 1, минимальной растворимостью обладают дигитониды 3 β -гидроксильных производных 5 α -гидроксивого ряда (II), т. е. соединения с транс-сочленением колец A и B , а также соответствующие Δ^5 -производные. Все эти соединения обладают более плоской молекулой по сравнению с 5 β -конформерами (III) и 3 β -конфигурацией гидроксильной группы:



$R=H$

$R=C_6H_5$

$R=CH(CH_3)(CH_2)_2CH_3$

$R=CH(CH_3)(CH_2)_3CH(CH_3)_2$

андростан

прегнан

холан

холестан

a — аксиальное положение OH-группы, *e* — экваториальное положение.

3 β -Гидроксильная группа играет определяющую роль в образовании комплексов — уже ее ацилирование приводит к резкому росту диссоциации комплекса, на чем основан один из методов выделения стеринов из дигитонидов. Но не только ацилирование, элиминирование (отщепление или восстановление) или окисление в кетогруппу, но даже эпимеризация 3 β -гидроксильной группы значительно сказывается на прочности комплексов. Все 3 α -гидроксильные производные 5 α -ряда образуют комплексы с $S > 1100 \cdot 10^{-8}$ моль 2 /л 2 , т. е. значительно более растворимые, чем 3 β -производные.

Различная реакционная способность эпимеров стеринов с разной конформацией 3-гидроксильной группы известна. Экваториальные гидроксильные группы менее экранированы по сравнению с аксиальными, вследствие чего они легче вступают в некоторые реакции. Так, например, они легче ацилируются, а соответствующие сложные эфиры легче гидролизуются. Эпимеры с экваториальной гидроксильной группой сильнее сорбируются на различных носителях, что говорит об образовании ими более прочных комплексов [20, 21], возможно, за счет водородной связи [22]. Логично предположить, что различия в способности эпимерных стеринов образовывать дигитониды также обусловлена экваториальным или аксиальным расположением 3-гидроксильных групп. Однако в литературе утверждалось мнение, что в комплексообразовании с дигитонином определяющую роль играет не экваториальность или аксиальность 3-гидроксильной группы, а их α - или β -расположение относительно циклической системы [3, с. 80, 23]. Подобное обобщение представляется неправомерным. Как следует из табл. 1, среди эпимерных соединений меньшей растворимостью обладает экваториальный 3-изомер, независимо от того, какое положение занимает 3-гидроксильная группа в аксиальном эпимере — α - или β ². Исключением являются копростанол и эпикопро-

² В ряду 5 α -гонана 3 β -оксигруппа экваториальна, а 3 α — аксиальная, а в ряду 5 β -гонана — 3 β — аксиальная, а 3 α — экваториальная.

Таблица 1
Влияние строения стерина на растворимость дигитонида [17—19]

Соединение	Конфигурация 3-ОН-группы	$10^8 \cdot S$, моль ² /л ²	
5 α -Холестан-3 β -ол	β	e	4
5 α -Холестан-3 α -ол (эпихолестанол)	α	a	2200 (900)
3 β -Ацетокси-5 α -холестан	β	e	1100
Холест-5-ен-3 β -ол (холестерин)	β	e	4
3 β -Ацетоксихолест-5-ен	β	e	>1100
5 β -Холестан-3 β -ол (копростанол)	β	a	70
5 β -Холестан-3 α -ол (эпикопростанол)	α	e	2200
Стигмаста-7,22-диен-3 β -ол (стигмастерин)	β	e	4
5 α -Эргост-7,22-диен-3 β -ол (эргостерин)	β	e	4
Метиловый эфир 3 β -гидрокси-5 α -андростан-17-карбоновой кислоты	β	e	8
Метиловый эфир 3 β -гидрокси-5 β -андростан-17-карбоновой кислоты	β	a	>2200
5 α -Прегнан-3 β , 20 β -диол	β	e	140
5 β -Прегнан-3 β , 20 β -диол	β	a	>1100
5 α -Прегнан-20-кето-3 β -ол	β	e	4
5 β -Прегнан-20-кето-3 β -ол	β	a	1100
Прегн-5-ен-20-кето-3 β -ол	β	e	4
5 α -Андростан-3 β -ол	β	e	8
5-Андростен-3 β -ол	β	e	35
5 α -Андростан-17-кето-3 β -ол	β	e	140
5 α -Андростан-17-кето-3 α -ол	α	a	2200
5 β -Андростан-17-кето-3 β -ол	β	a	1100
3 α -Метил-5 α -андростан-3 β -ол	β	e	35
3 β -Метил-5 α -андростан-3 α -ол	α	a	1100
5 α , 22-Спиростан-3 β -ол (тигогенин)	β	e	70 (16)
5 β , 22-Спиростан-3 β -ол (саркопогенин)	β	a	280 (970)
Холест-4-ен-3-он			>2200

станол, у которых наблюдается противоположное соотношение. Как раз на основании этой пары соединений впервые было выдвинуто положение об определяющей роли α - или β -положения гидроксильной группы в образовании дигитонидов, утвердившееся затем в литературе, несмотря на значительное число исключений. Следует подчеркнуть, что в большинстве этих исключений, т. е. в случаях, когда соединение с 3 β -гидроксильной группой не образует дигитонида, гидроксильная группа занимает аксиальное положение (лумистерин, метиловые эфиры 3 β , 5 β , 14 β -тригидроксиандростан-17 β -карбоновой кислоты и ее 17 α -эпимера, метиловый эфир 3 β -гидрокси-11 α -ацетокси-5 β -андростан-17 β -карбоновой кислоты, карденолидные агликоны — гитоксигенин, дигитоксигенин, сарментогенин, строфантидин) [4, 24]. Более того, в отдельных случаях показано, что соответствующий 3 α -эпимер, гидроксильная группа которого экваториальна, образует дигитонид в отличие от 3 β -аксиального эпимера (эпилумистерин) [25]. Все это позволяет предполагать, что влияние 3-гидроксильной группы при образовании комплексов с дигитонином определяется не ее α - или β -расположением, а ее экваториальностью или аксиальностью и обусловлено теми же стерическими факторами, что и приведенные выше различия в реакционной способности. Разумеется, это предположение требует доказательства на большем количественном экспериментальном материале, чем мы располагаем в настоящее время.

Влияние пространственных факторов на образование дигитонидов видно не только из меньшей комплексообразующей способности аксиальных эпимеров. Так, введение дополнительной метильной группы в положение 3 стерина затрудняет образование дигитонида, причем соотношение стабильности экваториального и аксиального эпимера сохраняются (см. табл. 1). Введение дополнительных метильных групп в положение 4 молекулы при переходе от холестерина к ланостерину также приводит к большей растворимости дигитонида [26]. Эфиры 3 β -гидроксиандростан-17-карбоновой кислоты, содержащие объемистую дифенил-

метановую группу в спиртовой части молекулы, также не образует дигитонида в отличие от эфиров с простыми спиртами (метиловым, этиловым) [24].

Роль алифатической цепи при С(17) в образовании дигитонидов стеринов изучена в меньшей степени, чем роль гидроксильной группы. Как видно из данных табл. 1, двойные связи в алифатической цепи эргостерина и стигмастерина не сказываются на прочности комплекса, в то время как в ряду одинаковых производных холестана, холана, прегнана и андростана укорочение цепи вызывает не сильное, но закономерное уменьшение стабильности дигитонида. В работе [27] исследовалось конкурентное образование дигитонидов холестерином и его синтетическими аналогами, содержащими при С(17) неразветвленную алифатическую цепь различной длины. Постепенное удлинение цепи увеличивало стабильность комплекса, которая в соединениях, содержащих 8—10 углеродных атомов в боковой цепи становилась равной стабильности дигитонида холестерина. Дальнейшее удлинение алифатической цепи до C_{11} — C_{13} приходило к дигитонидам еще большей прочности, но при C_{15} стабильность комплекса резко падала.

Наряду с зависимостью комплексообразования от строения стерина, в литературе имеются отдельные сведения о влиянии на этот процесс строения второго компонента комплекса — сапонина. Кроме дигитонина, комплексы со стеринами образуют целый ряд стероидных сапонинов, а также некоторые стероидные алкалоиды [20, 28] и тритерпеновые гликозиды [13]. Сопоставление прочности комплекса со строением агликона сапонина позволяет заключить, что содержащие шесть циклов спиростаноловые сапонины образуют менее растворимые комплексы по сравнению с фуростановыми, количество циклов в которых на один меньше [9, 29, 30]. Большое внимание на комплексообразование оказывает строение глюкозидного остатка сапонина. Оптимальным для образования комплекса является наличие 4—5 остатков моноз, уменьшение этого числа приводит к увеличению растворимости комплексов [9, 10, 30]. Количественное изучение показало, что в то время как дезглюкозидигитонин (I_b), содержащий 4 остатка моноз, обладает практически такой же комплексообразующей способностью, что и дигитонин (I_a); глюкозогалактозидигитонин (I_c), получающийся при отщеплении от природного дигитонина трех моноз, вообще не образует в изучаемых условиях комплекса с холестерином [27].

Вышеизложенные закономерности, связывающие стабильность комплекса со строением как стерина, так и сапонина, позволило выдвинуть гипотезу о строении самого комплекса [27]. Предполагается, что дигитонид является клатратом, в котором сапонин играет роль хозяина, а стерин — гостя. Молекулы дигитонина ориентируются, образуя гидрофобную полость, способную включать в себя молекулу гостя. Подобная модель предполагает, что агликоновая часть сапонина обеспечивает гидрофобное взаимодействие с молекулой стерина. При этом жесткие циклические системы обоих компонентов обуславливают эквимолекулярность взаимодействия. Подвижная алифатическая боковая цепь при С(17) гостя, способная варьировать свое положение в пространстве и осуществлять дополнительное гидрофобное взаимодействие с молекулой хозяина, должна — при определенной длине — способствовать стабильности комплекса. В развитие этой гипотезы можно полагать, что часть полости хозяина, образованная глюкозидным остатком и обладающая гидрофильным характером, благоприятствует стабилизации комплекса за счет водородных связей между гидроксилами сахаров и 3-гидроксильной группой стерина. Последнее предположение согласуется с фактом стабильности дигитонидов стероидов, содержащих в третьем положении не гидроксильную, а некоторые другие группы, способные быть донорами или акцепторами протона в водородной связи, например, амино- или диметиламиногруппу [4, 31], но не меркаптогруппу [32], которая является худшим партнером в водородной связи. Гипотеза представляется правомерной и по другой причине. Известна способность холевых кислот иг-

ратить роль хозяина в клатратах с разнообразными соединениями, в том числе и с холестерином [33]. Общность в строении сапонинов и холевых кислот заключается не только в общем гидрофобном циклопентанпергидрофenantреновом скелете, но и в обязательном присутствии гидрофильных групп — карбоксильной в холевой кислоте, гидроксильных групп сахаров в сапонинах. Блокирование или элиминирование этих групп — этерификация кислоты или отщепление моноз — лишает соединения способности к образованию комплексов.

Известно, что стероидные сапонины обладают значительным гемолитическим и антимикозным действием. В зависимости этих свойств от химического строения сапонинов проявляются закономерности, аналогичные приведенным зависимостям: комплексообразующая способность — строение. Так, например, максимальной гемолитической активностью обладают спиростаноловые сапонины, содержащие 4—5 остатков моноз [34, 35]. Этот параллелизм позволяет считать, что гемолитическое действие сапонинов и других гликозидов в значительной мере обусловлено комплексообразованием со стеринами мембран [36, 37, 38], что, в свою очередь, увеличивает интерес к комплексам стеринов с сапонинами.

III. КРИСТАЛЛОСОЛЬВАТЫ СТЕРИНОВ

Изучению этих комплексов стеринов посвящено небольшое число работ. Кристаллогидраты холестерина, образующиеся при кристаллизации последнего из водных растворителей (спирт, ацетон), постепенно теряют кристаллизационную воду при обычной температуре, а при 80° дегидратируются полностью [39, 40]. Аналогично ведут себя кристаллогидраты других стеринов — β -ситостерина, эргостерина. Стерины образуют также комплексы со спиртами [41], неорганическими и органическими кислотами, причем наиболее устойчивы комплексы с сильными кислотами — хлорной [42], трихлоруксусной [43], щавелевой [44].

Логично предположить, что в образовании комплекса стерина с небольшими полярными молекулами гидрофобное взаимодействие между ними играет незначительную роль и основной вклад вносят силы, связанные с гидроксильной группой. Действительно, только стерины со свободной 3β -гидроксигруппой, но не эфиры стеринов, образуют как кристаллогидраты, так и комплексы с кислотами. Не образуют соответствующих комплексов и соединения, лишенные гидроксигруппы — холестены и холестадиены. Качественно показано, что, как и при образовании дигитонидов, определяющую роль в образовании комплекса с хлорной и щавелевой кислотами играет не только наличие, но и конфигурация 3 -гидроксигруппы. Так, в отличие от 5α -холестан- 3β -ола и холестерина соответствующие 3α -эпимеры не образуют ни оксалатов, ни перхлоратов [42, 44].

В отличие от дигитонидов, где водородная связь только предполагается, в случае кристаллосольватов опубликованы некоторые данные о характере водородной связи между гидроксилом стерина и вторым компонентом комплекса.

В кристалле холестерина [45], а также его эфиров, содержащих полярную группу в третьем положении — кислого сульфата [46] и фосфата [47] молекулы упаковываются в структуры, в которых жесткая система циклов, заместитель при С(3) и боковая алифатическая цепь расположены в различных местах молекулярного слоя. Внутри слоя молекулы организованы в два ряда и обращены друг к другу своими плоскими тыльными α -сторонами, благоприятствующими максимальному гидрофобному взаимодействию. Напротив, соседние двойные слои контактируют фронтальными β -сторонами. При этом бислои несолько ($\sim 0,85$ Å) смешены относительно друг друга так, что выступающие над поверхностью ангулярные метильные группы переплетаются. Максимальное гидрофобное взаимодействие достигается при соблюдении параллельности между длинными осями молекул, однако одновременно эта параллельность приводит к увеличению расстояния между кисло-

родами двух гидроксильных групп двух молекул бислоя, до величины $>3,0 \text{ \AA}$, что исключает образование между ними водородной связи. С другой стороны, сближение двух гидроксилов до расстояния $<2,5 \text{ \AA}$ для возможности установления прочной водородной связи приводит к нарушению параллельности молекул и уменьшению гидрофобного взаимодействия. В итоге в кристалле холестерина реализуется определенный компромисс между этими двумя требованиями — параллельность между осями молекул несколько нарушается, а расстояние $\text{O} \dots \text{O}$ составляет $2,87 \text{ \AA}$, т. е. находится на верхней границе возможности для образования водородной связи. В моногидрате же холестерина образование водородной связи происходит не между двумя гидроксильными группами холестерина, а через посредство молекулы воды, играющей роль мостика [48, 49]. Это позволяет связать две молекулы холестерина водородной связью при сохранении параллельности осей молекул. Таким образом, в кристалле моногидрата холестерина реализуется большее взаимодействие отдельных частей двух молекул, чем в кристалле безводного вещества — включение воды в полярной части молекул усиливает и гидрофобное взаимодействие.

Можно предполагать, что аналогичным образом происходит комплексообразование холестерина и с другими лигандами, например с кислотами. Как было показано с помощью ИК-спектроскопии, при взаимодействии холестерина с трихлоруксусной кислотой в растворе четыреххлористого углерода между ними возникает водородная связь, в которой кислота играет роль донора, а холестерин — акцептора протона [50]. При увеличении концентрации обоих компонентов происходит агрегация бинарных частиц путем образования между ними новых водородных связей. В этих агрегатах гидроксил холестерина является одновременно не только акцептором, но и донором протона, который акцептируется либо гидроксилом, либо карбонилом кислоты. В твердом комплексе, по-видимому, роль акцептора играет только карбонил кислоты — в этом случае образующийся мостик имеет большую длину и создает более благоприятные условия для взаимодействия двух молекул стерина в кристалле.

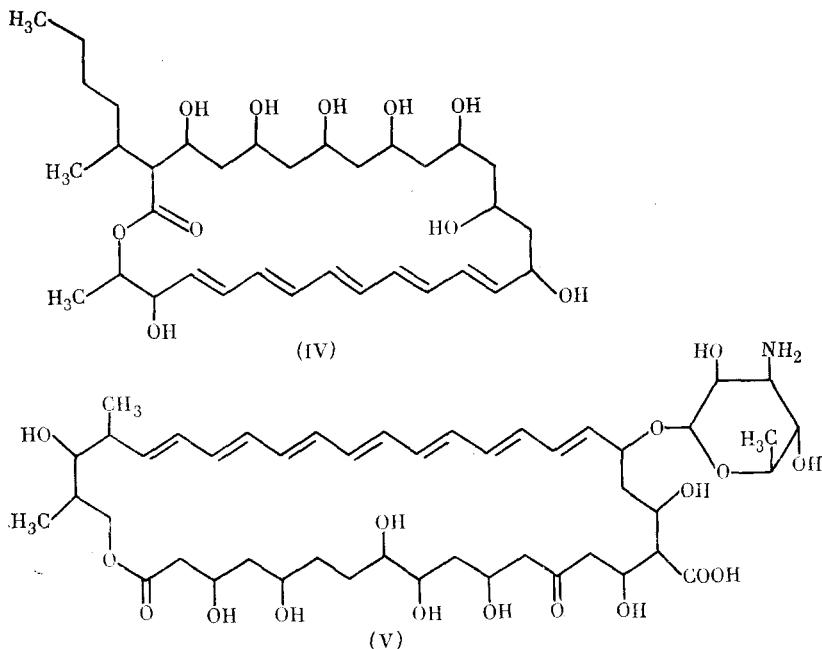
Предлагаемая модель требует, чтобы не только холестерин, но и второй компонент комплекса мог быть не только акцептором, но и донором протона в водородной связи. В соответствии с этим холестерин образует твердые комплексы со спиртами, но не с эфирами, и только с теми аминами, которые содержат NH_2 - или NHR -группы [50].

Холестерин и другие стерины образуют комплексы с различными солями, например с хлоридами [6, 51]. Сведения о подобных комплексах немногочисленны и зачастую противоречивы, однако в их образовании значительна роль гидроксильной группы. Так, только соединения со свободной 3β -гидроксигруппой, но не эфиры стеринов или 3α -эпихолестерин образуют комплексы с хлористым кальцием [52]. Скорость ацетилирования гидроксильной группы холестерина в его комплексах с хлоридами кальция и магния повышена по сравнению со скоростью ацетилирования самого стерина [53]. По-видимому, в состав комплексов с солями входят также молекулы воды, что в ряде случаев следует из аналитических данных [6, 52]. Условия получения других комплексов с солями также позволяют предполагать наличие в них молекул воды, однако, к сожалению, аналитические данные об их составе отсутствуют.

IV. КОМПЛЕКСЫ С ПОЛИЕНОВЫМИ АНТИБИОТИКАМИ

Биологическое действие полиеновых антибиотиков обусловлено их комплексообразованием со стеринами клеточных мембран. Как доказательству такого механизма, так и выяснению взаимосвязи структуры антибиотиков и их действия посвящено значительное количество публикаций, в том числе — ряд обзоров [54—58]; поэтому мы лишь кратко перечислим особенности строения полиеновых антибиотиков, например филипина (IV) и амфотерицина В (V). Полиеновые антибиотики харак-

теризуются наличием макролидного цикла, образованного замыканием лактонного кольца. Одна сторона цикла представляет систему из 4—7 сопряженных двойных связей. Общее число углеродов цикла равняется $4n+4$, где n — число двойных связей полиеновой цепи. Второй характерной особенностью является большое число гидроксильных групп — от 6 до 14, расположенных на противоположной стороне цикла. Наконец, в большинстве полиеновых антибиотиков присутствует остаток мицозамина.



Одновременное наличие в молекуле полярной области, образованной совокупностью гидроксильных групп, и жесткой гидрофобной системы сопряженных двойных связей обуславливает амфипатные свойства полиеновых антибиотиков, например, их способность образовывать мицеллярные растворы. Как следует из предыдущего материала, подобная амфипатность может обусловливать способность к комплексообразованию со стеринами. В отличие от описанных выше кристаллических комплексов, комплексы стеринов с антибиотиками не выделялись в кристаллическом состоянии — их образование было показано рядом физико-химических методов, в первую очередь — спектральных. При добавлении стеринов к растворам полиеновых антибиотиков происходит характерное изменение УФ-спектров последних — изменение соотношения экстинкций различных максимумов, что свидетельствует о взаимодействии антибиотика со стерином. Комплексообразование обратимо и зависит от растворителей и температуры. Изменение в спектрах антибиотиков, измеряемое соотношением поглощения при 320 и 356 нм (так называемое соотношение пиков 1 : 3), имеет место только при взаимодействии со стерином. Как видно из данных табл. 2, добавление к раствору филипина других соединений, например цетилового спирта или лецитина, не вызывает изменений спектра; очень незначительны и изменения, вызываемые секостероидами. На способность комплексообразования с антибиотиком влияет наличие 5α -гонановой системы, алифатической цепи при C(17) и свободной гидроксильной группы при C(3), хотя имеются и необъяснимые исключения — 3-кетопроизводные. Более однозначную информацию удается получить при сравнении изменений в спектре филипина, возникающих при его взаимодействии не со свободным стерином, а со стерином, заключенным в стерин-лецитиновую липосому. В случае липосом, содержащих от 16 до 50% стерина, оптимальное взаимодействие наблюдается

ся для стеринов, содержащих 5α -гонановый или Δ^5 -гоненовый цикл и алифатическую цепь при C(17). В этом случае видна зависимость комплексообразования от заместителя при C(3). Максимальное взаимодействие характерно для соединений со свободной 3β -гидроксильной группой — ее ацетилирование, окисление или эпимеризация резко ослабляют комплекс. Согласно [61], константа диссоциации комплекса эпихолестерин — филиппин в 15 раз превышает соответствующую константу комплекса холестерин — филиппин. Аналогичные закономерности наблюдаются и в случае стеринов, находящихся не в липосомах, а в естественных мембранах. Культура *Acholeplasma laidlawii* не содержит в клеточных мембранах стеринов, однако способна включать их в мембрану при выращивании в стеринсодержащих средах. Это широко используется для исследования влияния стеринов на свойства биологических мембран [62]. Как следует из данных табл. 2, при взаимодействии филиппина с подобной мембраной также наблюдаются характерные изменения его УФ-спектра. Максимальное комплексообразование имеет место в случае мембран, содержащих стерины 5α - или Δ^5 -рядов с 3β -гидроксильной группой — при переходе к 5β -ряду (копростерин) и к 3α -эпимерам (эпихолестерин) спектральные изменения значительно меньше.

Зависимость комплексообразования с антибиотиком от строения стерина подтверждается данными не только УФ-, но и флуоресцентной спектроскопии [63]. Образование комплекса со стеринами вызывает тушение флуоресценции антибиотиков. Из данных по тушению флуоресценции антибиотиков, вызываемой образованием комплексов со стеринами, следует, что комплексообразование с филиппином, амфотерицином и пимарицином максимально в случае стеринов с 3β -гидроксильной группой и практически не происходит при ее ацилировании и эпамеризации [64]. Аналогичные результаты получены при исследовании с помощью спектральных методов взаимодействия стеринов и с другими полиеновыми антибиотиками. Все эти данные указывают, что прочность комплексов стеринов с антибиотиками определяется теми же особенностями структуры стерина, что и прочность комплекса с сапонинами. Предложенная рядом авторов [65, 66] модель комплекса антибиотика со стерином такова. Внедряясь в мембрану, антибиотик своей гидрофобной полиеновой цепью взаимодействует с гидрофобной циклической системой стерина, образуя комплекс состава 1 : 1. Несколько таких комплексов (в случае амфотерицина В — восемь), соединяясь, образуют так называемую полупору, внутренняя часть которой, содержащая большое количество гидроксильных групп, является гидрофильным каналом. Две полупоры образуют пору, пронизывающую мембрану. Гидроксильная группа стерина и полярные амино- и карбоксильные группы амфотерицина В находятся на поверхности мембраны, обращенной в воду. Предполагается возможность образования водородной связи между этими группами.

Вызываемое добавлением антибиотиков изменение проницаемости естественных мембран определяется природой стерина, содержащегося в мембране [54]. Максимальное изменение наблюдается в случае присутствия холестанола и холестерина, в то время как их эпимеры практически не взаимодействуют с антибиотиками. Необходимость присутствия 3β -гидроксильной группы для взаимодействия с антибиотиком была показана также при изучении проводимости бимолекулярных липидных мембран — добавление леворина увеличивало проводимость мембран, содержащих холестерин, в 10^3 раз, а мембран, содержащих этерифицированный холестерин и холест-5-ен-4-он — лишь в 10 раз [67].

Предложенная методика комплекса стерин — антибиотик удовлетворительно объясняет роль стеринового скелета. Планарная полиеновая цепь молекулы антибиотика максимально комплементарна плоской циклической системе стерина. Уже нарушение планарности полиеновой цепи — введение одной простой связи (нистатин) или полное восстановление всех двойных связей (гидрированный амфотерицин) ухудшает комплементарность взаимодействующих молекул [68]. Еще значительнее

Таблица 2

Влияние строения стерина на комплексообразование с филипином
(соотношение пиков 3:1 в УФ-спектре)

Соединение	В водном растворе [59]	В липосомах [59] *	В естественных мембранах [60]
Исходный раствор	0,72	—	—
5 α -Холестан-3 β -ол	2,17	1,35; 1,94	2,99
5 α -Холестан-3 α -ол	—	—	1,16
Холест-5-ен-3 β -ол	2,12	1,40; 1,95	2,18
Холест-5-ен-3 α -ол	1,63	0,85; 1,04	1,47
3 β -Пальмитоилхолест-5-ен	1,78	—	—
5 β -Холестан-3 β -ол	1,56	0,88	1,25
Стигмастерин	1,70	1,71; 2,23	1,56
Эргостерин	1,88	1,18; 1,70	2,01
5 α -Андростан-3 β -ол	1,52	0,94;	—
5 α -Андростан-3 α -ол	1,50	—	—
Холест-5-ен-3-он	2,50	—	—
5 α -Холестан-3-он	2,27	0,90; 0,96	—
Дигидротахостерин	0,92	—	—
Витамин D ₂	0,84	—	—
Лецитин	0,88	—	—
Цетиловый спирт	0,78	0,87;	—

* Первая цифра — 16% стерина, вторая — 50%.

сказывается на стабильности комплекса нарушение плоскостности циклической системы в секостероидах (см. табл. 2) или пространственные трудности, вызываемые геминальными метильными группами в таких стеринах как тетрахиманол [64], эбурикол и лихестерол [69]. Напротив, увеличение планарности молекулы стерина облегчает образование комплекса (табл. 2). Последнее подтверждается и изучением проводимости бислойных липидных мембран — вызываемое добавлением левориана увеличение проводимости симбатно числу двойных связей в скелете стерина [70, 71]. Согласно работе [72], полная ароматизация кольца A стерина также благоприятствует комплексообразованию с антибиотиками.

Объясняя роль стеринового скелета в гидрофобном взаимодействии, предлагаемая модель оставляет без объяснения значение алифатической цепи при С(17). Как следует из данных табл. 2, производные андростана обладают значительно меньшей комплексообразующей способностью по сравнению с производными холестана. Постепенное укорочение боковой цепи в синтетических гомологах холестерина также уменьшает их способность образовывать комплекс с антибиотиками [73]. Играет роль и разветвленность боковой цепи, что видно из сравнения холестерина, β -ситостерина и стигмастерина. Из работ [70, 71] следует, что введение двойных связей не только в кольца, но и в алифатическую цепь благоприятствует образованию комплексов с антибиотиками. Следует однако отметить, что роль двойных связей по-разному оказывается на комплексообразовании с различными антибиотиками. Так, филипин образует более прочный комплекс с холестерином, чем с эргостерином, а амфотерицин, пимарицин и пистатин — более прочные комплексы с эргостерином, чем с холестерином [74, 78]. Авторы связывают это различие с присутствием в структуре трех последних антибиотиков микозамина, оставляя открытым вопрос о том, как может микозамин взаимодействовать с дополнительными двойными связями в молекуле эргостерина. Между тем этот вопрос имеет не только теоретическое, но и практическое значение — его решение обуславливает выбор того или иного антибиотика для лечения различных заболеваний. Необъясненной остается и роль 3 β -гидроксильной группы. Хотя на основании изложенных зависимостей комплексообразования от строения стерина неоднократно постулировалось образование водородной связи между гидроксилом стерина и функциональными группами антибиотиков, существование этой связи остается недоказанным. По-видимому, ведущую роль в об-

разовании комплекса стерин — антибиотик играет гидрофобное взаимодействие, особенно в растворах, где растворитель препятствует образованию водородных связей. Определяющая роль гидрофобного взаимодействия в растворах подтверждается зависимостью комплексообразования от присутствия дегидратов и органических растворителей и независимости от добавок солей и органических соединений [78, 79]. При взаимодействии со стерином, находящимся в мембране, возможности для образования водородной связи больше, что и проявляется в выраженнем влиянии природы и стереохимии заместителя при С(3) на комплексообразование. Однако даже в мембране взаимодействие стерин — антибиотик является более слабым по сравнению с взаимодействием стерин — сапонин, что доказывается блокированием дигитонином действия антибиотиков на мембранны [54]. С другой стороны, очевидно, что сам факт внедрения антибиотика в мембрану свидетельствует о большем взаимодействии стерина с антибиотиком по сравнению с взаимодействием стерина с другими компонентами мембранны. Укажем также, что взаимодействие холестерина с леворином и амфотерицином В ингибирует ферментативную этерификацию холестерина лецитин-холестерин-ацилтрансферазой [80].

V. СТЕРИН В МЕМБРАНЕ

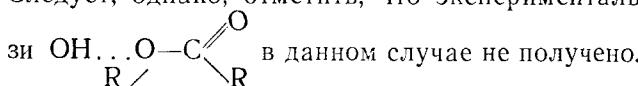
Вопрос о роли холестерина и других стеринов в строении природных мембран и их моделей подробно рассмотрен в ряде обзоров и монографий (см., например, [81—83]). Молекулы стеринов встраиваются между углеводородными цепями фосфолипидов, причем межмолекулярное взаимодействие между стерином и фосфолипидом превышает взаимодействие между одинаковыми молекулами как фосфолипидов, так и стеринов. Основная структурная функция холестерина в мембране состоит в стабилизации гидрофобной части бислоя путем уменьшения подвижности углеводородных цепей при температурах выше фазового перехода и увеличения их подвижности при температурах ниже фазового перехода. Как конденсирующий, так и деконденсирующий («разжижающий») эффект стеринов был показан различными физическими методами на природных и модельных мембранных. Это влияние в большой мере определяется строением стерина.

Как показано в работах [84, 85], только соединения, содержащие 3 β -гидроксигруппу, влияют на свойства лецитиновых монослоев. 3-Кетостероиды холестан-3-он и его Δ^4 -, Δ^5 - и $\Delta^{4,6}$ -производные вызывают значительно меньший конденсирующий эффект и практически не влияют на проницаемость липосом для глюкозы, глицерина и катиона Rb $^+$. Влияние 3-гидроксильной группы определяется ее конформацией — присутствие 3 α -эпихолестерина не влияет на проницаемость мембран *Acholeplasma laidlawii* для глицерина и эритрита и на энергию фазового перехода в этих мембранны [86]. Как и в случае комплексов стеринов с сапонинами и антибиотиками, для объяснения специфической роли 3 β -гидроксильной группы была выдвинута гипотеза о водородной связи между этой группой и какой-то акцепторной группой фосфолипида. Первоначально в качестве акцептора протона предполагалась фосфатная группа, однако это предположение было отклонено на основании данных спектров ЯМР ^{31}P [87, 88]. Почти одновременно было показано, что стерин располагается в липидном бислое таким образом, что его гидроксильная группа локализована вблизи глицеринового остатка фосфолипида [89, 90]³. Этот факт вызвал появление нескольких моделей водородной связи между гидроксилом стерина и карбонильной группой жирной кислоты фосфолипида. В первой из них постулируется существование «поясов с водородной связью» (Hydrogen belts) в мембране, включающих водородные связи между гидратированным холестерином и карбонильной группой [92]. На основании рассмотрения моделей холе-

³ В противовес этому в недавней работе [91] показано расположение гидроксильной группы холестерина вблизи фосфатной группы лецитина.

стерина и фосфолипида показано, что образование подобной связи должно приводить к более сильному гидрофобному взаимодействию с углеводородной цепью не только плоской α -поверхности стерина, но и его β -поверхности, выступающие ангулярные метильные группы которой при C(10) и C(13) погружены в гидрофобную «петлю», образованную непредельной алифатической кислотой [93]. Хотя некоторые работы авторов этих гипотез [94] указывали на связь OH...O=C, более тщательные исследования не подтвердили ее существования. Было показано, что влияние эпихолестерина на химический сдвиг сигналов ЯМР спектра дипальмитоиллеситина, содержащего ^{13}C -группы, значительно больше, чем аналогичное влияние холестерина [95]. Между тем, предполагалось, что именно холестерин, а не его эпимер образует водородную связь с карбонильной группой. ИК- и КР-спектральное изучение карбонильного поглощения того же фосфатидилхолина в присутствии холестерина показало отсутствие водородной связи между гидроксильной и карбонильной группами по крайней мере в безводных образцах [96]. Однако некоторые спектральные изменения в карбонильной области гидратированного дипальмитоилфосфатидилхолина при добавлении холестерина наблюдаются [97]. В КР-спектре безводного кристаллического дипальмитоилфосфатидилхолина наблюдается дублет карбонильной группы, соответствующий двум различным ацильным группам, находящимся в разных конформациях. Гидратация дипальмитоилфосфатидилхолина, переводящая его в гель-фазу, превращает этот дублет в одиночную полосу, что объясняется образованием конформационно однородного фосфолипида. Добавление же к гидратированному фосфолипиду холестерина вновь расщепляет полосу карбонила — она становится аналогичной дублету в спектре кристаллического образца. Две конформации ацильных цепей фосфатидилхолина в гель-фазе в присутствии холестерина были показаны также с помощью ЯМР-спектроскопии на ядрах ^2H и ^{13}C [98, 99]. Соединения, неспособные быть донорами протона, например метиловый эфир холестерина, не оказывают влияния на конформацию жирнокислотных цепей. Таким образом, влияние холестерина на изменение конформации ацильных цепей фосфолипида косвенно указывает на образование водородной связи, однако доказать существование такой связи OH...O=C не удается.

Недавно была предпринята попытка согласовать это противоречие. Основываясь на детальном рассмотрении молекулярных моделей, авторы [100] предположили образование водородной связи между гидроксилом холестерина и сложноэфирным, а не карбонильным кислородом алкоксикарбонильной группы. Хотя эфирный кислород является более слабым акцептором протона по сравнению с карбонильным, он может выступать в этой роли в случае благоприятного пространственного расположения [101, 102]. Рассмотрение молекулярных моделей показывает, что при максимальном гидрофобном взаимодействии α -стороны стеринового цикла с углеводородной цепью леситина, гидроксил холестерина располагается таким образом, что он может образовать линейную водородную связь с эфирным, но не с карбонильным кислородом. В случае же α -конформации гидроксила (эпихолестерин) такая связь невозможна. Предлагаемая гипотеза позволяет объяснить как различную конформацию двух ацильных цепей в присутствии холестерина, так и различное влияние эпимеров холестерина на свойства липидных слоев. Следует, однако, отметить, что экспериментальное доказательство свя-



Вопрос об образовании водородной связи был исследован и другим способом — путем изучения влияния холестерина на свойства модельных мембран, построенных из различных липидов. В одном случае мембранны состояли из липидов, содержащих сложноэфирные или простые эфирные группы, способные быть акцепторами протона в водородной

связи, в другом — эти группы были заменены углеводородными цепями, неспособными быть акцепторами протона [103—107]. Оказалось, что добавление холестерина к этим последним мембранам, где образование водородной связи невозможно в принципе, вызывает такой же конденсирующий эффект, как и в мембранах, содержащих сложные и простые эфирные группы. Правда, первоначально было показано некоторое различие в изменении проницаемости мембран различных типов под влиянием холестерина [104], но в последующих исследованиях это различие не было подтверждено [105—107].

Независимо от наличия или отсутствия водородной связи локализация гидроксила вблизи глицеринового остова фосфолипида, подтвержденная недавними работами [108, 109], обусловливает определенное расположение холестерина в мембране. Гонановый цикл фиксирован между C(2) и C(8) атомами жирной кислоты и именно взаимодействие на этом участке определяет прочность комплекса. Как и в комплексах с сапонинами и полиеновыми антибиотиками в первую очередь прочность определяется планарной α -поверхностью стерина. Уже в работах [84, 85] показано, что планарный стерин α -гонанового ряда — холестанол оказывает как более выраженный конденсирующий эффект, так и сильнее сказывается на проницаемости мембран по сравнению с копростанолом. Увеличение плоскостности циклической системы введением двойных связей в *B*-кольцо (холестерин, дегидрохолестерин) или заменой шестичленного кольца пятичленным (*B*-норхолестерин) еще усиливает это влияние. Напротив, введение метильных групп, нарушающих плоскость α -поверхности стерина, снижает его влияние на свойства мембран. При этом снижение симметрии количеству этих групп в последовательности: холестерин \ll 4 α -метилхолестерин \ll 4,4-диметилхолестерин \ll 4,4-диэтилхолестерин \ll 4,4,14 α -триметилхолестерин (ланостерин) [110]. Совершенно аналогично влияние пространственного строения стерина и на другие свойства мембраны, например на микровязкость [111, 112]. Интересно отметить, что приведенная последовательность соответствует постепенному деметилированию предшественников холестерина в процессе его биосинтеза. Процесс биологического деметилирования отличается высокой селективностью и затрагивает только α -поверхность стерина. При этом создается плоская поверхность, способная к максимальному взаимодействию с алифатической цепью фосфолипида. В то же время практически все природные стерины содержат β -метильные группы у атомов C(18) и C(19). По-видимому, элиминирование этих групп не происходит потому, что это не привело бы к усилению контакта между стерином и фосфолипидом. Более того, согласно гипотезе [93], β -метильные группы необходимы для более полного контакта с непредельной алифатической цепью.

Недавно взаимодействие различных стеринов, отличающихся по плоскости α -поверхности, с алифатической цепью фосфолипида было изучено с помощью спиновых зондов, для чего была взята стеариновая кислота, содержащая нитроксильные группы у углеродных атомов C(5), C(7), C(12) и C(17) [113]. Как и предполагалось, метильные группы, расположенные на α -поверхности, вызывают значительное возмущение ЭПР-спектра, причем это возмущение определяется взаимным расположением метильных групп стерина и нитроксильных групп зонда. Метильная группа 3 α -метилхолестерина вызывает сильное возмущение в районе C(5) стеариновой кислоты и меньшее в районе C(7) и C(12). Ланостерин, напротив, вызывает возмущение в основном в районе C(12) своей C(14) метильной группой и меньшее — в районе C(5) и C(7). Все это свидетельствует о значительном контакте молекул стерина и участка жирной кислоты от C(2) до C(9), который нарушается выступающими аксиальными метильными группами. Изученные соединения практически не вызывают возмущения сигнала в районе углерода C(17), показывая этим незначительность взаимодействия изооктильной цепи стерина с алифатической цепью кислоты.

По сравнению с полициклической системой боковая цепь стерина играет меньшую роль в образовании комплекса с фосфолипидом. Алифатическая цепь способствует растворимости стерина в мембране. Укорочение цепи, как и введение в нее двойных связей, уменьшает эту растворимость. При невысоких концентрациях стерина (до 20%) упорядочивающее действие различных аналогов холестерина с укороченной цепью практически одинаково, но увеличение концентрации стерина увеличивает этот эффект только для холестерина и его ближайшего аналога с изогептильной цепью — соединения с более короткой цепью при высоких концентрациях перестают растворяться в бислое, образуя отдельную фазу [114, 115]. В то же время удлинение боковой цепи до десяти углеродных атомов резко нарушает свойства бислоя. Можно полагать, что это соединение, внедряясь в мембрану, своим длинным алифатическим «хвостом» разрушает соседний слой бислоя.

Таким образом, выдвинутое еще в 1967 г. представление [116] о том, что стерин в мембране служит «заполнителем» (filler) пространства между углеводородными цепями фосфолипида, в настоящее время дополнены рядом требований к структуре стерина, оптимальной с точки зрения образования комплекса стерин — фосфолипид.

В комплексообразовании стеринов с различными группами химических веществ, рассмотренном в настоящем обзоре, определяющую роль играет плоская тетрациклическая система. Эта система, созданная в ходе биохимической эволюции, максимально благоприятна для гидрофобного взаимодействия с алифатическими цепями фосфолипидов, необходимого для выполнения нормальной функции стеринов в биологических мембранах. Две другие важные структурные единицы молекулы стерина — 3-гидроксильная группа и изооктильная цепь при С(17) играют в комплексообразовании меньшую роль. Только полное элиминирование алифатической цепи лишает молекулу ее способности растворяться в мембране, а образование водородной связи с участием гидроксильной группы остается недоказанным. Та же полициклическая система еще эффективнее взаимодействует с более плоской, по сравнению с цепью жирной кислоты, жесткой олефиновой системой полиеновых антибиотиков и плоской полициклической системой сапонинов. Хотя образование водородной связи с гидроксилом стерина не доказано и в этих случаях, безусловная необходимость гидрофильной области во втором компоненте комплекса делает ее более вероятной. Наконец, в комплексах с простыми молекулами — водой и кислотами — существование водородной связи доказано. Но и здесь водородная связь играет вспомогательную роль, ориентируя молекулы таким образом, чтобы достигалось максимальное взаимодействие гидрофильных циклов. Гидрофобное взаимодействие определяет образование комплексов во всех рассмотренных случаях. Это, по-видимому, должно учитываться при изучении тех комплексов стеринов, о строении которых в настоящее время известно немного, в первую очередь липопротеинов.

Как уже упоминалось, синтез соединений, избирательно сорбирующих холестерин путем образования комплексов с последним, представляет в настоящее время важную практическую задачу. До сих пор успех в получении таких соединений был достигнут при использовании производных природных комплексообразователей — сапонинов [10]. Синтетические соединения, образующие комплексы типа хозяин — гость с гидрофобными молекулами, оказались малоэффективны в случае холестерина [117]. Однако эти соединения были рассчитаны на включение в качестве гостя небольших молекул типа бензола, не содержащих к тому же полярных групп.

Как следует из материала настоящего обзора, возможность комплексообразования со стеринами обусловлена определенным строением второго компонента комплекса, в первую очередь — его амфипатностью. Следует полагать, что это свойство должно быть положено в основу синтеза соединений, способных образовывать прочные комплексы со стеринами.

Во время подготовки рукописи к печати появилось несколько новых публикаций, посвященных образованию стеринами водородной связи. В работах [118, 119] показано, что эта связь в растворе четыреххлористого углерода ничем не отличается от водородной связи, образуемой другими спиртами. В исследованиях авторов модели «поясов с водородной связью» в мемbrane приводятся некоторые косвенные свидетельства в пользу такой модели [120, 121]. Наиболее существенной представляется работа [122], в которой изучено влияние простых эфиров холестерина (3β -алкоксихолест-5-енов) на свойства мембран. Показано, что простой метиловый эфир холестерина изменяет проницаемость модельных мембран почти в той же степени, что и холестерин, что опровергает образование холестерином, как донором протона, водородной связи с фосфолипидами. В тоже время авторы показали, что влияние производных холестерина на свойства мембраны обусловлены присутствием кислородсодержащего заместителя в положении 3 стерина и определяется размером этого заместителя. Авторы делают предположение о возможной роли кислорода, как акцептора водородной связи и об образовании связи между кислородом стерина и карбонилом фосфолипида через молекулу воды.

ЛИТЕРАТУРА

- Глоссарий терминов, применяемых в физической органической химии. Журн. орг. химии, 1983, т. 19, с. 15.
- Windaus A. Chem. Ber., 1909, B. 42, S. 238.
- Назаров И. Н., Бергельсон Л. Д. Химия стероидных гормонов. М.: Изд-во АН СССР, 1955, с. 258.
- Bladon P. In: Cholesterol/Ed. by Cook R. N. Y., 1958, p. 80.
- Пат. ФРГ 2529521 (1977); С. А., 1977, в. 86, 145916.
- Гераськина С. С., Мухина М. В. Хим. фарм. журн., 1979, т. 13, № 12, с. 67.
- Sabine J. R. Cholesterol. New York, 1977, p. 24.
- Ноффе Д. В. Химия природн. соед., 1984, с. 275.
- Березин И. В., Андрианова И. П., Лапук Я. И., Алексеева Л. Б., Кинтя П. К., Мащенко Н. Е. Там же, 1980, с. 652.
- Березин И. В., Лопухин Ю. М., Андрианова И. П., Лапук Я. И., Алексеева Л. Б., Сергеенко В. И., Бородин Е. А., Халилов Э. М., Арчаков А. И. Вопр. мед. химии, 1980, т. 26, с. 843.
- Клебанов Г. И., Саженкин Г. И., Шерстнев М. П., Андрианова И. П., Сергеенко В. И., Стручков П. В., Владимицов Ю. А. Там же, 1982, т. 28, с. 131.
- Богач П. Г., Курский М. Д., Кучеренко Н. Е., Рыбальченко В. К. Строение и функция биологических мембран. Киев, 1981, с. 45.
- Анисимов М. М., Чирва В. Я. Успехи совр. биологии, 1980, т. 90, с. 351.
- Issidores C. H., Kitagawa I., Mossetig E. J. Org. Chem., 1962, v. 27, p. 4693.
- Garnier F., Cote J., Harvey O., Simard J. L. J. Chromatogr., 1980, v. 188, p. 445.
- Christiani A., Pailer M. Microchim. Acta, 1937, v. 1, p. 26.
- Haslam R. M., Klyne W. Biochem. J., 1953, v. 55, p. 340.
- Noller C. R. J. Amer. Chem. Soc., 1939, v. 61, p. 2717.
- Haslewood G. A. Biochem. J., 1947, v. 41, p. 639.
- Физер Л., Физер М. Стероиды. М.: Мир, 1965, с. 280.
- Gibbons G. F., Mitropoulos K. A., Myant N. B. Biochemistry of Cholesterol. N. Y.: Elsevier, 1982, p. 63.
- Хац И. М., Мацек К. Хроматография на бумаге. М.: Изд-во Иностр. лит., 1962, с. 336.
- Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза, т. 5. М.: Мир, 1971, с. 107.
- Физер Л., Физер М. Химия природных соединений фенантренового ряда. М.: ГХИ, 1953, с. 617.
- Barnett J., Heilbron I. M., Jones E. R., Verrill K. J. J. Chem. Soc., 1940, p. 1390.
- Genetella R. J. Lipids, 1982, v. 17, p. 443.
- Tagaki S., Otsuka H., Akiyama T., Sankawa U. Chem. Pharm. Bull., 1982, v. 30, p. 3485.
- Roddick J. G. Phytochemistry, 1979, v. 18, p. 1467.
- Tschesche R., Wulf G. Fortschritte Chem. Org. Naturstoffe, 1973, B. 30, S. 461.
- Лазурьевский Г. В., Кинтя П. К., Пухальская Е. У., Софьина З. П. Хим. фарм. журн., 1977, т. 11, № 6, с. 19.
- Dodgson D. P., Haworth R. D. J. Chem. Soc., 1952, p. 67.
- Strating J., Backer H. J. Rec. Trav. Chim., 1950, v. 69, p. 909.
- De Sanctis S. C., Giglio E., Pavel V., Quagliata C. Acta Crystall., 1972, v. 28B, p. 3656.
- Schlosser E., Wulf G. Z. Naturforsch., 1969, B. 24, S. 1284.
- Akiyama T., Tagaki S., Sankawa U., Inari S., Saito H. Tennen Yuki, 1979, p. 19; C. A., 1980, v. 93, 109354.

36. Nakamura T., Inoue K., Najima S., Sankawa U., Shoji J., Kawasaki T., Scibata S. J. Pharm. Dyn., 1979, v. 2, p. 374.
37. Попов А. М., Агафонова И. Г., Анисимов М. М. В кн.: Бислойные липидные мембранные. Владивосток: Изд-во Дальневост. Научн. Центра, 1983, с. 137.
38. Деканосидзе Г. Е., Чирва В. Я., Сергеенко Т. В. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов. Тбилиси: Изд-во Мецнис-реба, 1984, с. 8.
39. Loomis C. R., Shipley G. G., Small D. M. J. Lipid Res., 1979, v. 20, p. 525.
40. Garti N., Karpuji L., Sarig S. Ibid., 1981, v. 22, p. 785.
41. Klotzer F. Z. Krystall., 1936, B. 95, S. 338.
42. Lange W., Folzenbogen R. C., Kolp D. G. J. Amer. Chem. Soc., 1949, v. 71, p. 1733.
43. Denige G. Compt. rend., 1933, t. 196, p. 1504.
44. Miescher K., Kagi H. Helv. Chim. Acta, 1941, B. 24, S. 986.
45. Shieh H. S., Hoard L. G., Nordman C. E. Acta Crystall., 1981, v. 37B, p. 1538.
46. Pascher I., Sundel S. Acta Chim. Scand., 1977, v. 31A, p. 767.
47. Pascher I., Sundel S. Chem. Phys. Lipids, 1982, v. 31, p. 129.
48. Craven B. M. Nature, 1976, v. 260, p. 727.
49. Craven B. M. Acta Crystall., 1979, v. 35B, p. 1135.
50. Ноффе Д. В., Гинзбург И. М. Хим. природн. соед., 1983, с. 49.
51. Гарлинская Е. И. Журн. прикл. химии, 1955, т. 28, с. 80.
52. Marfey P., van Meter R., Bartllet M. E. Z. Naturforsch., 1975, B. 30C, S. 718.
53. Marfey P., Chessin H. Biochim. Biophys. Acta, 1974, v. 337, p. 136.
54. Norman A. W., Spielvogel A. M., Wong R. G. In: Advances in Lipid Research. N. Y., 1976, v. 14, p. 127.
55. Касумов А. Х. Успехи совр. биологии, 1977, т. 83, с. 23.
56. Касумов А. Х. Антибиотики, 1981, т. 26, с. 143.
57. Климов А. Н., Литвинова В. Н. Там же, 1968, т. 13, с. 88.
58. Ландай А. М. Молекулярные механизмы действия физиологически активных соединений. М.: Наука, 1981, с. 126.
59. Norman A. W., Demel R. A., De Kruijff B., van Deenen L. L. J. Biol. Chem., 1972, v. 247, p. 1918.
60. De Kruijff B., Gerritsen W. J., Oerlemans H., Demel R. A., van Deenen L. L. Biochim. Biophys. Acta, 1974, v. 339, p. 30.
61. Bittman R., Chen W. C., Blau L. Biochemistry, 1974, v. 13, p. 1374.
62. Razin S. In: Progress in Surface and Membrane Science. N. Y.: Acad. Press, 1975, v. 9, p. 257.
63. Schroeder F., Holland J. F., Bieber L. L. Biochemistry, 1972, v. 11, p. 3105.
64. Bittman R., Chen W. C., Anderson O. R. Ibid., 1974, v. 13, p. 1364.
65. De Kruijff B., Demel R. A. Biochim. Biophys. Acta, 1974, v. 339, p. 57.
66. Andreoli T. E. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1974, v. 235, p. 448.
67. Касумов Х. М., Либерман Е. А. Биофизика, 1974, т. 19, с. 71.
68. Борисов М. П., Ермшин Л. Н., Зильберштейн А. Я. Там же, 1978, т. 23, с. 910.
69. Johnson D., Subcher R. Canad. J. Microbiol., 1977, v. 23, p. 113.
70. Фейгин А. М., Белоусова И. И., Яхимович Р. И., Васильевский В. Н., Терешин И. М. Биофизика, 1979, т. 24, с. 330.
71. Фейгин А. М., Гианин Т. А., Пасечник В. И., Флеров М. Н., Богословский А. А., Литвинова Г. Е., Белоусова И. И., Терешин И. М. Антибиотики, 1981, т. 26, с. 572.
72. Yang S. S., Wang H. H. Chin. J. Microbiol., 1976, v. 9, p. 19; C. A., 1977, v. 86, 8564.
73. Nakamura T., Nischikawa M., Inoue K., Nojima S., Akiyama T., Sankawa U. Chem. Phys. Lipids, 1980, v. 26, p. 101.
74. Vertut-Croguin A., Bolard J., Chabbert M., Gary-Bobo C. Biochemistry, 1983, v. 22, p. 2939.
75. Archer D. B. Biochim. Biophys. Acta, 1976, v. 436, p. 68.
76. Readio J. D., Bittman R. Ibid., 1982, v. 685, p. 219.
77. Kitojima Y., Sekija T., Nozawa Y. Ibid., 1976, v. 445, p. 452.
78. Patterson J. M., Olinger M. R., Holland J. F., Bieber L. L. J. Antibiotic, 1979, v. 32, p. 1193.
79. Gruda I., Nadeau R., Braithwaite R., Medoff G. Biochim. Biophys. Acta, 1980, v. 602, p. 260.
80. Klimov A. N., Nikiforova A. A., Tchistiaikova A. M. Ibid., 1975, v. 380, p. 76.
81. Demel R. A., De Kruijff B. Ibid., 1976, v. 457, p. 109.
82. Иевков В. Г., Берестовский Г. Н. Динамическая структура липидного бислоя. М.: Наука, 1981, с. 180.
83. Иевков В. Г., Берестовский Г. Н. Липидный бислой биологических мембран. М.: Наука, 1982, с. 56.
84. Demel R. A., Bruckdorfer K. R., van Deenen L. L. Biochim. Biophys. Acta, 1972, v. 255, p. 311.
85. Demel R. A., Bruckdorfer K. R., van Deenen L. L. Ibid., 1972, v. 255, p. 321.
86. De Kruijff B., Demel R. A., van Deenen L. L. Ibid., 1972, v. 255, p. 331.
87. De Kruijff B., Cullis P. R. Ibid., 1975, v. 406, p. 6.
88. Yeagle P. L., Hutton W. C., Huang C. H., Martin R. B. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1975, v. 72, p. 3477.
89. Franks N. P. J. Mol. Biol., 1976, v. 100, p. 345.
90. Worcester D. L., Franks N. P. Ibid., 1976, v. 100, p. 359.
91. Ушаков А. Н., Голубева Е. Е., Розынов В. В., Циренина М. Л. Биоорганич. химия, 1983, т. 9, с. 697.

92. Brockerhoff H. Lipids, 1974, v. 9, p. 645.
93. Huang C. H. Ibid., 1977, v. 12, p. 348.
94. Chatterjee N., Brockerhoff H. Biochim. Biophys. Acta, 1978, v. 511, p. 116.
95. Lancee-Hermkens A. M., De Kruijff B. Ibid., 1972, v. 470, p. 141.
96. Fowler-Bush S., Levin H., Levin I. W. Chem. Phys. Lipids, 1980, v. 27, p. 101.
97. Bicknell-Brown E., Brown K. Biochim. Biophys. Res. Commun., 1980, v. 94, p. 638.
98. Oldfield E., Meadows M., Rice D., Jacobs R. Biochemistry, 1978, v. 17, p. 2727.
99. Blume A., Griffin R. G. Ibid., 1982, v. 21, p. 6230.
100. Presti F. T., Pace R. J., Chan S. I. Ibid., 1982, v. 21, p. 3831.
101. Mori N., Asano J., Tsuzuki Y. Bull. Chem. Soc. Japan., 1968, v. 41, p. 1871.
102. Абрамович М. А., Гинзбург И. М., Иоффе Д. В. Теор. эксп. химия, 1971, т. 7, с. 225.
103. Fong J. W., Tirri L. J., Deshmukh D. S., Brockerhoff H. Lipids, 1977, v. 12, p. 857.
104. Tirri L. J., Schmidt P. C., Pullarkat R. K., Brockerhoff H. Ibid., 1977, v. 12, p. 863.
105. Clejan S., Bittman R., Deroo P. W., Isaacson Y. A., Rosenthal A. F. Biochemistry, 1979, v. 18, p. 2118.
106. Bittman R., Clejan S., Jain M. K., Deroo P. W., Rosenthal A. F. Ibid., 1981, v. 20, p. 2790.
107. Bartholow L. C., Geyer R. P. Ibid., 1982, v. 21, p. 1271.
108. Rogers J., Lee A. G., Wilton D. C. Biochim. Biophys. Acta, 1979, v. 552, p. 23.
109. Лапшин Е. Н., Добрецов Г. Е., Иоффе Д. В., Кузнецов А. С. Биофизика, 1984, т. 29, с. 989.
110. Блох К. В сб.: Рецепторы клеточных мембран для лекарств и гормонов/Под ред. Штрауба Р. У. М.: Медицина, 1983, с. 10.
111. Dahl C., Dahl J. S., Bloch K. Biochemistry, 1980, v. 19, p. 1462.
112. Dahl C., Dahl J. S., Bloch K. Biochim. Biophys. Res. Commun., 1980, v. 92, p. 221.
113. Dahl C. Biochemistry, 1981, v. 20, p. 758.
114. Suckling K. E., Boyd G. S. Biochim. Biophys. Acta, 1976, v. 436, p. 295.
115. Suckling K. E., Blair H. A., Boyd G. S., Craig I. F., Malcolm B. R. Ibid., 1979, v. 551, p. 10.
116. Shuh D. O., Schulman J. H. J. Lipid Res., 1967, v. 8, p. 215.
117. Menger F. M., Takeshita M. J. Amer. Chem. Soc., 1981, v. 103, p. 5938.
118. Mercier P., Sandorfy C., Vocelle D. J. Phys. Chem., 1983, v. 87, p. 3670.
119. Costas M., Patterson D. J. Chem. Soc., Trans. Faraday Soc. I, 1985, v. 81, p. 655.
120. Ramsammy L. S., Volwerk H., Lipton L. C., Brockerhoff H. Chem. Phys. Lipids, 1983, v. 32, p. 83.
121. Ramsammy L. S., Merz P. A., Brockerhoff H. Ibid., 1984, v. 34, p. 127.
122. Demel R. A., Lala A. K., Nauda S., van Deenen L. L. Biochim. Biophys. Acta, 1984, v. 771, p. 142.

Институт экспериментальной
медицины АМН СССР, Ленинград