

UDC 577.352:577.345

Влияние продуктов фотосинтеза витамина D на термодинамические параметры модельных липидных мембран

Н. А. Касян, О. В. Ващенко, Я. Э. Глухова¹, Л. Н. Лисецкий

Институт скантillationных материалов НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины
Пр. Ленина, 60, Харьков, Украина, 61001

¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина
Пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61077

kasian@isma.kharkov.ua

Цель. Сравнить влияние провитамина D (ProD) и продуктов его фото- и термоизомеризации, а также витамина D (VitD) на термодинамические параметры мультислоев гидратированного дипальмитоил-фосфатидилхолина (ДПФХ). **Методы.** Дифференциальная сканирующая калориметрия, УФ-спектроскопия. **Результаты.** Установлено закономерное снижение температуры и размывание пика плавления мультислоев ДПФХ, допированных стеринами, в последовательности $ProD_3 < ProD_3 + УФ < ProD_3 + УФ +$ темновое хранение $< VitD_3$. **Выводы.** Дестабилизирующее действие $VitD_3$ на мембрану является более выраженным, чем действие $ProD_3$ и продуктов его фотоизомеризации, что может облегчать выход $VitD_3$ из мембраны в межклеточное пространство при его биосинтезе *in vivo*. Возможный молекулярный механизм наблюдаемого явления связан с большей конформационной подвижностью и анизотропией $VitD_3$ по сравнению с $ProD_3$.

Ключевые слова: фосфолипидные мембраны, витамин D, провитамин D, фотоизомеризация, дифференциальная сканирующая калориметрия.

Введение. Биосинтез витамина D (VitD) из провитамина D (ProD) у человека и животных, как известно, происходит в мембранах клеток эпидермиса под действием УФ-излучения [1]. Эта реакция, считающаяся на сегодняшний день хорошо изученной, включает световую и темновую стадии [2–4]. На первой стадии изомеризации из ProD образуется промежуточный продукт – превитамин D, далее переходящий в более стабильные фотоизомеры (тахистерин и люмистерин) либо обратно в ProD. Формирование VitD из превитамина D осуществляется на темновой стадии вследствие внутримолекулярного переноса водорода (рис. 1) [2–4]. Известна зависимость фотохимии этого процесса от спектральных характеристик УФ излучения [4–8], однако существенное влияние оказывает и реакционная среда.

Как отмечено выше, синтез VitD *in vivo* происходит в клеточной мембране, структурно-функциональной основой которой является липидный бислой, поэтому в ряде работ [9–13] проведено сравнительное исследование этого процесса в коже, модельных липидных мембранах и изотропных растворителях. При этом показаны сходство процесса фотоизомеризации в коже и липосомах и существенные отличия по сравнению с изотропными органическими растворителями [9, 10]. Так, отмечено, что на световой стадии изотропный растворитель способствует накоплению тахистерина (*транс*-конформация связи C5–C6), тогда как липосомы – ProD, превитамина D и люмистерина (*цис*-конформация связи C5–C6) [10, 11]. Скорость темнового превращения «превитамин D → VitD» в липосомах и в коже в 10–15 раз выше, чем в изотропных растворителях, а энергия активации снижена [9–13].

© Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, 2012

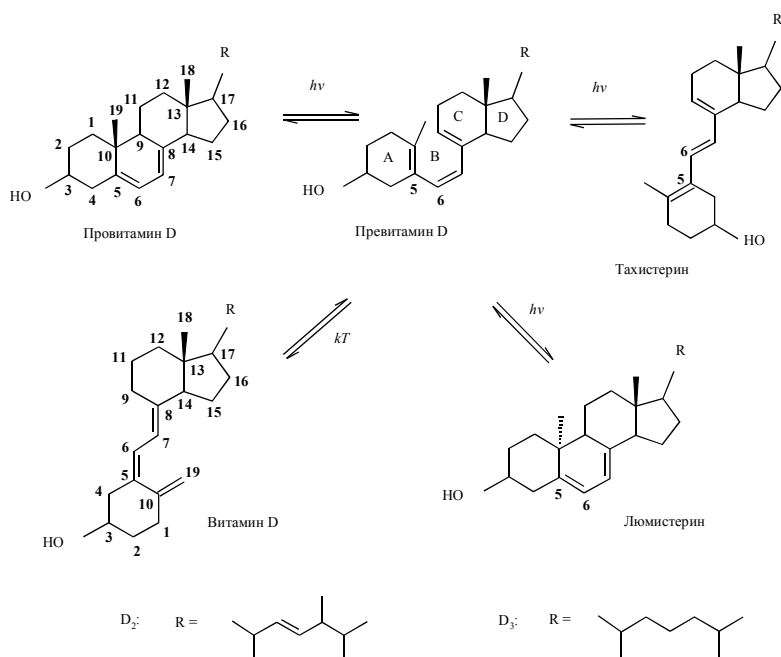


Рис. 1. Схема фото- и термоизомеризации стеринной группы витамина D. Цифрами показана нумерация атомов углерода в молекулах стерина

Кроме того, в других анизотропных средах – холестерический [14] и нематический [15] жидкие кристаллы, гетерогенные системы [16, 17] – также наблюдаются отличия процессов фото- и термоизомеризации ProD по сравнению с изотропными растворителями.

В некоторых работах указанные эффекты связывают с пространственными ограничениями, налагаемыми анизотропным липидным окружением на конформационно подвижный превитамин D, что стабилизирует его в форме с *цис*-конформацией связи C5–C6 – единственной, с участием которой возможно образование VitD [9–13]. Это подтверждается наличием положительной корреляции между силами анизотропного амфифильного взаимодействия между липидами и превитамин D (определяемыми, в частности, длиной и степенью насыщенности углеводородных цепей фосфолипидов) и скоростью изомеризации «превитамин D → VitD» [9]. Кроме того, высокий выход VitD *in vivo* объясняют также высвобождением уже образовавшегося VitD из клеточной мембраны, что приводит к сдвигу равновесия реакции «превитамин D → VitD» в сторону VitD (т. е. реакция термоизомеризации становится необратимой и истинного термодинамического равновесия в этой реакции никогда не наступает) [1, 11].

Таким образом, липидный бислой как реакционная среда обуславливает высокую эффективность синтеза VitD *in vivo*, в связи с чем в публикациях [9, 10] предлагается использовать его в качестве модельной среды для исследования биосинтеза VitD.

Авторы [9, 10, 18] предложили модель локализации ProD в фосфолипидной мембране: неполярная часть молекулы стерина расположена в гидрофобной области мембраны и взаимодействует с углеродными хвостами липидов, гидроксильная группа обращена к карбонильной группе одной из цепей липида с возможным образованием H-связи [19]. Из внеклеточного пространства VitD попадает в кровяное русло, где транспортируется с помощью специального белка-переносчика (vitamin D-binding protein) [1], в то же время механизм десорбции VitD из липидной мембраны остается невыясненным.

Мембранотропное действие VitD исследовали в ряде работ [19–26], при этом имеющиеся данные о его влиянии на температуру основного фазового перехода бислоя T_m (плавление мембраны) носят противоречивый характер. Отмечено, что VitD₂ в концентрации 1 моль% увеличивает T_m [22, 23], тогда как в других публикациях показано, что в малых концентрациях (1 ÷ 6 моль%) VitD₂ не влияет [19, 24], а в больших (9 ÷ 12 моль%) – на несколько гра-

дусов понижает T_m и уменьшает энтальпию перехода [19, 21, 24–26]. Анализ характеристических полос ИК-колебаний различных групп фосфолипида выявил, что в небольших концентрациях VitD вызывает упорядочение алкильных хвостов липидов (снижение подвижности и количества гош-конформеров), а при значительных – разупорядочение гидрофобной области мембраны [19, 22]. Отмечено уменьшение параметра порядка [20] и возрастание текучести [21] мембран, обогащенных VitD.

Для ProD (в отличие от VitD) мембранотропное действие не изучали. Кроме того, до сих пор не исследовано влияние процесса изомеризации ProD на структуру липидных мембран. В то же время выявление мембранотропной составляющей процесса биосинтеза VitD может углубить понимание механизма его биологического действия на молекулярном уровне. Поэтому целью данной работы является сравнение влияния ProD, продуктов его фотоизомеризации, а также VitD на термодинамические параметры модельной липидной мембраны на основе бислойных структур гидратированного дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ).

Материалы и методы. Модельными липидными мембран служили водные дисперсии ДПФХ («Alexis Biochemicals», Швейцария). В качестве добавок выбраны стеринны, присутствующие в организме человека: 7-дегидрохолестерин (ProD₃) и холекальциферол (VitD₃) («Sigma-Aldrich», США).

Выбор концентрации стериннов обусловлен, с одной стороны, требованием однородности системы (отсутствие фазового разделения [19]) и, с другой, – необходимостью получения четко регистрируемых и воспроизводимых изменений. Экспериментально подобранная оптимальная концентрация добавки, отвечающая этим двум условиям, составляет 7 мас.% относительно сухого ДПФХ, что соответствует соотношению ДПФХ:стерин 7:1.

Методика приготовления водных дисперсий ДПФХ с добавками заключается в следующем. Фосфолипид и стерин в необходимом массовом соотношении помещают в круглодонную колбу и растворяют в хлороформе, после чего растворитель откачивают на роторном испарителе. В результате на стенках нижней части колбы осаждается тонкий однородный слой смеси компонентов. К ним добавля-

ют дистиллированную воду в расчете ~ 75 мас.%. Такое содержание воды обеспечивает существование системы в ламеллярной фазе при изменениях влажности ± 20 %. Систему выдерживают при комнатной температуре в течение 2–3 дней с периодическим прогреванием на водяной бане до температуры ~ 50 °С (то есть до $T > T_m$) и с интенсивным перемешиванием.

Системы исследовали методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с помощью термоаналитической системы «Mettler TA 3000» (Швейцария). При этом изучали фазовые переходы из низкотемпературной (гелевой) фазы $L_{\beta'}$ в промежуточную $P_{\beta'}$ (предпереход) и далее в высокотемпературную (жидкокристаллическую) фазу L_{α} (основной переход, или плавление мембраны) [27, 28]. Исследуемые образцы в количестве 20–30 мг помещали в алюминиевые тигли и запечатывали. Программируемая схема температурного сканирования содержит последовательные циклы нагревания и охлаждения со скоростью 2 К/мин. На основе полученных термограмм с помощью соответствующего программного обеспечения прибора определяли параметры фазовых переходов. Размер кооперативного домена N вычисляли согласно [29] по формуле

$$N = \Delta H_{\text{ВГ}} / \Delta H_m \approx 7T_m^2 / \Delta T_{1/2} \cdot \Delta H_m,$$

где $\Delta H_{\text{ВГ}}$ – энтальпия Вант-Гоффа; T_m , ΔH_m и $\Delta T_{1/2}$ – температура, энтальпия и полуширина пика основного перехода соответственно.

УФ-спектры поглощения исследуемых систем получены на спектрофотометре Hitachi 330 (Япония) при комнатной температуре. Образец помещали между кварцевыми стеклами, толщина образца равна 3–5 мкм.

Образцы облучали осветителем на основе ртутно-кварцевой лампы ДРТ-240 с известным распределением спектральной облученности [30] на расстоянии 25 см. Время облучения образцов составляло 10 мин, что соответствует дозе УФ-облучения 1,4 Дж/см² (при этом на УФ-В и УФ-С суммарно приходится 0,9 Дж/см²).

Результаты и обсуждение. Для сравнения действия стериннов ProD₃ и VitD₃, а также продуктов фото- и термоизомеризации ProD₃ на свойства липид-

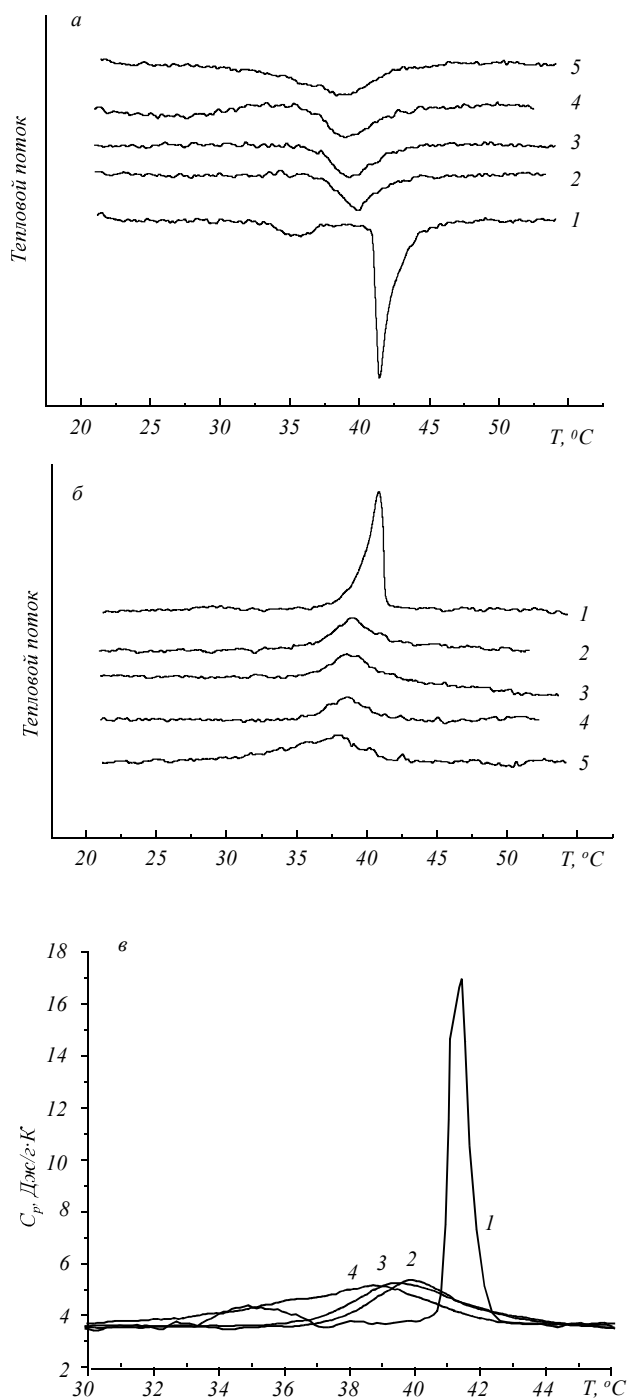


Рис. 2. Термограммы водных дисперсий дипальмитоилфосфатидилхолина, полученные методом дифференциальной сканирующей калориметрии: *a* – в режиме нагревания; *б* – при охлаждении (1 – без добавок; 2 – ProD₃; 3 – ProD₃ + УФ; 4 – ProD₃ + УФ + темное хранение; 5 – VitD₃); *в* – температурная зависимость удельной теплоемкости этих систем (1 – без добавок; 2 – ProD₃; 3 – ProD₃ + УФ; 4 – VitD₃.)

ной компоненты биомембран использованы мультислойные структуры гидратированного ДПФХ. При выбранном уровне гидратации (75 мас.%) эти структуры представляют собой практически независимые бислои, разделенные прослойками свободной воды, что позволяет применять полученные результаты непосредственно к бислою. При этом варьирование содержания воды в пределах $\pm 10 \div 20\%$ не влияет на фазовое состояние водной дисперсии ДПФХ и температуры фазовых переходов [27, 29].

Для всех исследуемых систем получены ДСК-термограммы в координатах «тепловой поток–температура» в режимах нагревания (рис. 2, *a*) и охлаждения (рис. 2, *б*), на основе которых построены температурные зависимости удельной теплоемкости (рис. 2, *в*). В таблице приведены термодинамические параметры основного фазового перехода модельных липидных мембран с различными добавками: температура (T_m), энтальпия (ΔH_m), полуширина пика плавления ($\Delta T_{1/2}$), гистерезис, размер кооперативного домена (N), а также сдвиг температуры плавления при введении добавки (в режиме нагревания) $\Delta T_m = T_m(\text{ДПФХ} + \text{добавка}) - T_m(\text{ДПФХ})$. Для прямых измерений методом Стьюдента определен доверительный интервал для вероятности $p = 0,95$ при числе степеней свободы $f = 5$.

На ДСК-термограммах чистого ДПФХ при нагревании четко видны два фазовых перехода – предпереход ($T_p = 35,5^\circ\text{C}$) и более интенсивный основной фазовый переход ($T_m = 41,4^\circ\text{C}$), хорошо воспроизводимые в последовательных циклах нагревания и охлаждения. Значения температур фазовых переходов хорошо согласуются с литературными данными [27, 28]. В режиме охлаждения предпереход размывается вплоть до исчезновения, для основного фазового перехода наблюдается гистерезис на $0,6^\circ\text{C}$. В присутствии добавок предпереход исчезает, а основной переход смещается в сторону более низких температур и размывается, что указывает на разупорядочение липидного бислоя. Гистерезис при этом существенно не изменяется.

Остановимся подробнее на различиях во влиянии добавок. Введение ProD₃ приводит к снижению T_m на $1,5^\circ\text{C}$ относительно исходной системы чистого ДПФХ в режиме нагревания и на $1,9^\circ\text{C}$ – в режиме охлаждения. Облучение этой системы УФ-све-

Влияние добавок стероидов на термодинамические характеристики основного фазового перехода модельной липидной мембраны на основе водных дисперсий дипальмитоилфосфатидилхолина

Добавка	Нагревание			Охлаждение		Гистерезис, °С	N	ΔT_m
	T_m , °С	ΔH_m , Дж/г	$\Delta T_{1/2}$, °С	T_m , °С	ΔH_m , Дж/г			
Без добавки	41,4 ± 0,1	25,0 ± 1,8	1,1 ± 0,2	40,8 ± 0,1	12,8 ± 1,7	0,6 ± 0,2	151 ± 39	–
ProD ₃	39,9 ± 0,1	15,4 ± 1,3	2,5 ± 0,2	39,2 ± 0,1	6,9 ± 1,2	0,7 ± 0,2	103 ± 17	-1,5 ± 0,2
ProD ₃ + УФ	39,4 ± 0,1	16,2 ± 1,5	3,4 ± 0,2	38,8 ± 0,1	8,2 ± 1,0	0,6 ± 0,2	71 ± 11	-2,0 ± 0,2
ProD ₃ + УФ + + темновое хранение	39,0 ± 0,1	16 ± 1,5	3,7 ± 0,2	38,5 ± 0,1	7,8 ± 1,4	0,5 ± 0,2	67 ± 10	-2,4 ± 0,2
VitD ₃	38,8 ± 0,1	18,4 ± 1,6	5,5 ± 0,2	38,0 ± 0,1	8,4 ± 1,2	0,8 ± 0,2	38 ± 5	-2,6 ± 0,2

том вызывает дальнейшее снижение температуры плавления мембраны (еще на 0,5 °С). Изменение температуры основного фазового перехода мембраны T_m при УФ-облучении, по всей видимости, связано с появлением в системе фотоизомеров ProD₃ (рис. 1). Это подтверждается также изменениями в УФ-спектре поглощения системы (рис. 3), где наблюдается возрастание оптической плотности, что характерно при появлении фотоизомера тахистерина [3, 4]. При хранении облученного образца в темноте в течение 1 сут отмечено дальнейшее понижение T_m (на 0,4 °С в режиме нагревания), сопровождающееся ростом оптической плотности на длине волны 265 нм (рис. 3, кривая 5), указывающим на образование VitD₃ [4].

Обнаружено, что среди всех исследуемых образцов VitD₃ вызывает наибольшее снижение температуры фазового перехода, равное 2,6 и 2,8 °С в режимах нагревания и охлаждения соответственно, а также наиболее выраженное размывание пика на ДСК-термограмме.

Наряду с отмеченным «ступенчатым» снижением температуры основного фазового перехода ДПФХ-мембраны (при введении ProD₃, УФ-облучении и последующем темновом хранении образца) наблюдается возрастание полуширины пика фазового перехода и уменьшение размера кооперативного домена. Самые значительные изменения этих параметров отмечены также при введении VitD₃, для которого установлены минимальная величина кооперативного домена и максимальное значение гистерезиса. При этом не обнаружено существенного различия во влиянии исследуемых добавок на энтальпию плавления модельной мембраны: в пределах

экспериментальной погрешности наличие всех исследуемых добавок снижает энтальпию приблизительно на 30 % (таблица).

Таким образом, при введении добавок регистрируется закономерное снижение температуры плавления модельной липидной мембраны в последовательности ProD₃ < ProD₃ + УФ < ProD₃ + УФ + темновое хранение < VitD₃ (таблица). То есть при облучении системы с ProD₃, а также при дальнейшем хранении в темноте наблюдается тенденция сдвига пика плавления к значениям, полученным для систем с VitD₃.

Возможное объяснение наблюдаемой закономерности заключается в следующем. На основании работ [9, 18–19, 27, 29] можно предположить, что ProD₃ и холестерин имеют сходную локализацию в липидной мембране: ProD₃ располагается главным образом в гидрофобной области липидного бислоя, взаимодействуя своей неполярной частью с алкильными хвостами, а ОН-группой – с карбонильной группой липида. По аналогии со структурно близким ему холестерином ProD₃, заполняя свободный объем в гидрофобной области бислоя, способствует упорядочению углеводородных хвостов в высокотемпературной фазе и их разупорядочению – в низкотемпературной, приводя к снижению температуры и энтальпии плавления по сравнению с чистой фосфолипидной матрицей.

Наблюдаемая тенденция к дальнейшему снижению температуры плавления мембраны, содержащей ProD₃, при УФ-облучении связана с образованием многокомпонентной смеси фотоизомеров – превитамина, тахистерина, люмистерина, а также исходного ProD₃. Ввиду их нестабильности нет воз-

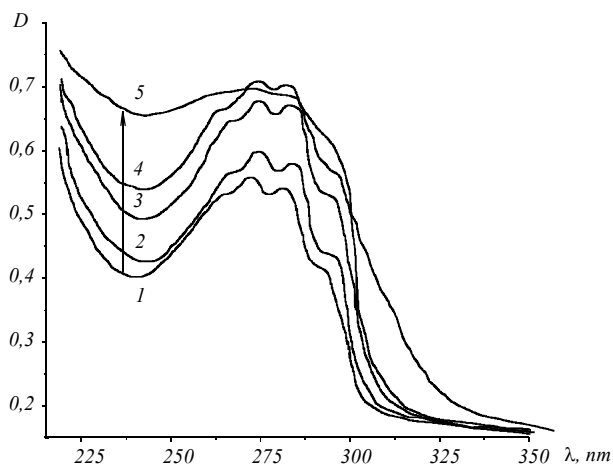


Рис. 3. Трансформация спектра УФ-поглощения ProD₃ в модельной липидной мембране: 1 – до облучения; 2 – УФ-облучение в течение 5 мин; 3 – в течение 10 мин; 4 – 15 мин; 5 – последующее хранение в темноте

возможности определить индивидуальное влияние каждого из них [3, 4]. Изомеры с разомкнутым кольцом В (рис. 1), так называемые секостероиды – превитамин D₃, тахистерин, VitD₃, – обладают дополнительной конформационной подвижностью. В частности, VitD₃ может иметь «стероидную» (*цис*-С6–С7) или «нестероидную», более вытянутую (*транс*-С6–С7) конформации [31]. Таким образом, в результате УФ-облучения в системе вместо одного «жесткого» ProD₃ образуется набор изомеров, обладающих различной степенью конформационной подвижности и анизотрии. Это приводит к дополнительному размыванию пика перехода и более выраженному снижению T_m по сравнению с действием ProD₃.

В целом можно отметить, что дестабилизирующее действие VitD₃ на мембрану оказывается значительно более выраженным, чем ProD₃ и продуктов его фотоизомеризации. Это выражается в большем снижении температуры плавления мембраны для VitD₃ по сравнению с ProD₃ (на –2,6 и –1,5 °C соответственно), что согласуется с имеющимися в литературе данными об уменьшении параметра порядка [20] и повышении текучести [21] мембран, обогащенных VitD. С точки зрения биофизики мембран это означает, что при биосинтезе VitD₃ *in vivo* локальное липидное окружение молекулы стерина разупорядочивается (разжижается), чем облегчается выход образовавшегося VitD₃ из мембраны в межклеточное пространство.

Выводы. В работе продемонстрировано закономерное снижение температуры плавления модельной липидной мембраны на основе гидратированного ДПФХ, допированной стеринами, в последовательности ProD₃ < ProD₃ + УФ < ProD₃ + УФ + темновое хранение < VitD₃. Возможный молекулярный механизм более выраженного дестабилизирующего действия VitD₃ на мембрану по сравнению с ProD₃ связан с различной степенью конформационной подвижности и анизотрии этих молекул. Наблюдаемое снижение температуры плавления мембраны при биосинтезе VitD₃ может являться одним из факторов, обеспечивающих выход образовавшегося *in vivo* VitD₃ из мембраны в межклеточное пространство.

N. A. Kasian, O. V. Vashchenko, Ya. E. Gluhova¹, L. N. Lisetski

Effect of the vitamin D photosynthesis products on thermodynamic parameters of model lipid membranes

Institute for scintillation materials, STC «Institute for Single Crystals», NAS of Ukraine

60, Lenin ave., Kharkiv, Ukraine, 61001

¹V. N. Karazin Kharkiv National University

4, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61077

Summary

Aim. To compare effects of vitamin D (VitD), provitamin D (ProD) and its photo- and thermoisoimerization products on thermodynamical parameters of hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) multilayers. **Methods.** Differential scanning calorimetry, UV spectroscopy. **Results.** A regular decrease was established in the melting temperature accompanied with the pronounced broadening of the appropriate peaks for DPPC multilayers doped with the sterols in the order: ProD₃ < ProD₃ + UV < ProD₃ + UV + dark storage < VitD₃. **Conclusions.** The destabilizing effect of VitD₃ on the membrane appeared to be stronger than that of ProD₃ and its photoisomerization products. This can facilitate VitD₃ withdrawal from the membrane into intercellular space under its biosynthesis *in vivo*. A possible molecular mechanism of the phenomena observed is related to the higher conformational flexibility and anisometry of VitD₃ as compared to ProD₃.

Keywords: phospholipid membranes, vitamin D, provitamin D, photoisomerization, differential scanning calorimetry.

Н. О. Касян, О. В. Ващенко, Я. Е. Глухова, Л. М. Лисецкий

Вплив продуктів фотосинтезу вітаміну D на термодинамічні параметри модельних ліпідних мембран

Резюме

Мета. Порівняти вплив провітаміну D (ProD) та продуктів його фото- і термоізомеризації, а також вітаміну D (VitD) на термодинамічні параметри мультишарів гідратованого дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ). **Методи.** Диференціальна сканувальна калориметрія, УФ-спектроскопія. **Результати.** Встановлено закономірне зниження температури та розмивання піка плавлення

мультишарів ДПФХ, допованих стеринами, у послідовності $ProD_3 < ProD_3 + УФ < ProD_3 + УФ + темнове зберігання < VitD_3$. **Висновки.** Дестабілізуючий вплив $VitD_3$ на мембрану є більш вираженим, ніж $ProD_3$ та продуктів його фотоізомеризації, що полегшує вихід $VitD_3$ із мембрани у міжклітинний простір за його біосинтезу *in vivo*. Можливий молекулярний механізм спостереженого явища пов'язаний з більш високою конформаційною рухливістю та анізотрією $VitD_3$ порівняно з $ProD_3$.

Ключові слова: фосфоліпідні мембрани, вітамін D, провітамін D, фотоізомеризація, диференційна сканувальна калориметрія.

REFERENCES

- Holick M. F., McLaughlin J. A., Clark M. B., Holick S. A., Potts J. T., Anderson R. R., Blank I. H., Parrish J. A., Elias P. Photosynthesis of previtamin D₃ in human skin and the physiologic consequences // *Science*.—1980.—**210**, N 4466.—P. 203–205.
- Verloop A., Koevoet A. L., Havinga E. Studies on vitamin D and related compounds III. Short communications on the *cis-trans*-isomerization of calciferol and properties of «*trans*»-vitamin D₂ // *Rec. Trav. Chim.*—1955.—**74**, N 9.—P. 1125–1130.
- Jacobs H. J. C., Havinga E. Photochemistry of Vitamin D and its isomers and of simple trienes // *Adv. Photochem.*—1979.—**11**.—P. 305–373.
- Yakhimovich R. I. Chemistry of vitamins D.—Kyiv: Naukova dumka, 1978.—248 p.
- Werner F., Lochbrunner S. The wavelength dependence of the photochemistry of previtamin D // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*—1997.—**105**, N 2–3.—P. 159–164.
- Dmitrenko O. F., Frederick J. H., Reischl W. Previtamin D conformations and the wavelength-dependent photoconversions of previtamin D // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*—2001.—**139**, N 2.—P. 125–131.
- Terenetskaya I. P., Vysotskiy L. H., Bogoslovskiy N. A., Luknitskiy F. I. The ways of previtamin D photosynthesis optimization under irradiation with erythema lamp // *Khim. Pharm. Zhur.*—1993.—**27**, N 4.—P. 55–59.
- MacLaughlin J. A., Anderson R. R., Holick M. F. Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of provitamin D₃ and its photoisomers in human skin // *Science*.—1982.—**216**, N 4549.—P. 1001–1003.
- Tian X. Q., Holick M. F. A liposomal model that mimics the cutaneous production of vitamin D₃. Studies of the mechanism of the membrane-enhanced thermal isomerization of previtamin D₃ to vitamin D₃ // *J. Biol. Chem.*—1999.—**274**, N 7.—P. 4174–4179.
- Moriarty R. M., Schwartz R. N., Lee C., Curtis V. Formation of vitamin D₃ in synthetic lipid multibilayers. A model for epidermal photosynthesis // *J. Am. Chem. Soc.*—1980.—**102**, N 12.—P. 4257–4259.
- Yamamoto J. K., Borch R. F. Photoconversion of 7-dehydrocholesterol to vitamin D₃ in synthetic phospholipid bilayers // *Biochemistry*.—1985.—**24**, N 13.—P. 3338–3344.
- Holick M. F., Tian X. Q., Allen M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*.—1995.—**92**, N 8.—P. 3124–3126.
- Tian X. Q., Chen T. Ch., Matsuoka L. Y., Wortsman J., Holick M. F. Kinetic and thermodynamic studies of the conversion of provitamin D₃ to vitamin D₃ in human skin // *J. Biol. Chem.*—1993.—**268**, N 20.—P. 14888–14892.
- Cassis E. G. Jr., Weiss R. G. Liquid-crystalline solvents as mechanistic probes – V. An investigation of the effect of cholesteric order on the formation rates of vitamin D₃ from pre-vitamin D₃ and of the pre-vitamin D₃ from vitamin D₃ // *Photochem. Photobiol.*—1982.—**35**, N 4.—P. 439–444.
- Gvozdevskiy I. A., Terenetskaya I. P. Comparative study of the provitamin D photoisomerization kinetics in ethanol and liquid crystal // *Functional Materials*.—2000.—**7**, N 3.—P. 508–512.
- Terenetskaya I. P., Dmitrenko O. G., Eremenko A. M. Photoisomerization of provitamin D in dispersive systems // *J. Mol. Struct.*—1990.—**219**, N 1–2.—P. 359–364.
- Tian X. Q., Holick M. F. Catalyzed thermal isomerization between provitamin D₃ and vitamin D₃ via beta-cyclodextrin complexation // *J. Biol. Chem.*—1995.—**270**, N 15.—P. 8706–8711.
- Cournia Z., Ullmann G. M., Smith J. C. Differential effects of cholesterol, ergosterol and lanosterol on dipalmitoyl phosphatidylcholine membrane: a molecular dynamics simulation study // *J. Phys. Chem. B*.—2007.—**111**, N 7.—P. 1786–1801.
- Kazanci N., Toyran N., Haris P. I., Severcan F. Vitamin D₂ at high and low concentrations exert opposing effects on molecular order and dynamics of dipalmitoyl phosphatidylcholine membranes // *Spectroscopy*.—2001.—**15**, N 2.—P. 47–55.
- Tolosa de Talamoni N., Morero R., Canas F. Vitamin D₃ administration increases the membrane fluidity of intestinal mitochondria // *Biochem. Int.*—1989.—**19**, N 4.—P. 701–707.
- Castelli F., Gurrieri S., Raudino A., Cambria A. Effect of cholecalciferol on thermotropic behaviour of phosphatidylethanolamine and its N-methyl derivatives // *Chem. Phys. Lipids*.—1988.—**4**, N 1–2.—P. 69–76.
- Toyran N., Severcan F. Competitive effect of vitamin D₂ and Ca²⁺ on phospholipid model membranes: an FTIR study // *Chem. Phys. Lipids*.—2003.—**123**, N2.—P. 165–176.
- Toyran N., Severcan F. The effect of magnesium ions on vitamin D(2)-phospholipid model membrane interactions in the presence of different buffer media // *Talanta*.—2000.—**53**, N 1.—P. 23–27.
- Eker F., Durmus H. O., Akinoglu B. G., Severcan F. Application of turbidity technique on peptide-lipid and drug-lipid interactions // *J. Mol. Struct.*—1999.—**482–483**, N 1–3.—P. 693–697.
- Bondar O. P., Rowe E. S. Differential scanning calorimetric study of the effect of vitamin D₃ on the thermotropic phase behaviour of lipid model systems // *Biochim. Biophys. Acta*.—1995.—**1240**, N 2.—P. 125–132.
- Merz K., Sternberg B. Incorporation of vitamin D₃-derivatives in liposomes of different lipid types // *J. Drug Target*.—1994.—**2**, N 5.—P. 411–417.
- Ivkov V. G., Berestovskiy G. N. Dynamic structure of lipid bilayer.—Moscow: Nauka, 1981.—296 p.
- Wack D. C., Webb W. W. Synchrotron X-ray study of the modulated lamellar phase P_β in the lecithin-water system // *Phys. Rev. A*.—1989.—**40**, N 5.—P. 2712–2730.
- Antonov V. F., Smirnova E. Y., Shevchenko E. V. Lipid membranes under phase transformations.—Moscow: Nauka, 1992.—135 p.
- Lisetski L. N., Panikarskaya V. D., Kasyan N. A., Grishchenko L. V., Terenetskaya I. P. Bioequivalent UV detectors based on cholesteric liquid crystals: effects of spectral composition and quantitative account for intensity of UV radiation // *Proc. SPIE*.—2005.—**6023**, 6023OF1–4 p.
- Okamura W. H., Midland M. M., Hammond M. W., Rahman N. Abd., Dormanen M. C., Nemere I., Norman A. W. Chemistry and conformation of vitamin D molecules // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*—1995.—**53**, N 1–6.—P. 603–613.

Received 22.07.11