

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2018-39-03>

УДК 544.016.2:[577.352:615.31]

МЕМБРАНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАУРИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ФЕНСПИРИДА И КАОЛИНА В МОДЕЛЬНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ: РОЛЬ ЛИПИДНОГО СОСТАВА

О.В. Ващенко, Л.В. Будянская, Н.А. Касян, Л.Н. Лисецкий

*Институт сцинтилляционных материалов НТК «Институт монокристаллов НАН Украины»,
пр. Науки, 60, Харьков, 61072, Украина*
olga_v@isma.kharkov.ua

Поступила в редакцию 16 марта 2018 г.

Принята 16 апреля 2018 г.

Актуальность. Модельные липидные мембраны в настоящее время широко используются для исследования мембранотропного действия (МД) многих лекарственных веществ, а также для создания липосомальных форм фармпрепаратов. Вместе с тем, известно, что липидный состав мембран может существенно влиять на взаимодействие лекарственных веществ с мембраной.

Цель работы. Сравнение МД некоторых лекарственных веществ в модельных мембранах различного липидного состава.

Материалы и методы. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) исследовано влияние лауриновой кислоты, фенспирида и каолина на характеристики фазовых переходов модельных мембран на основе гидратированных фосфолипидов. Наряду со «стандартной» мембраной на основе *L*- α -дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ), была использована мембрана ДПФХ, содержащая церамиды (ДПФХ-Ц), а также мембрана, содержащая ДПФХ, *L*- α -дипальмитоилфосфатидилэтаноламин и холестерин (ДПФХ-ДПФЭ-Х). Согласно литературным данным, мембраны ДПФХ и ДПФХ-Ц фазово однородны, тогда как в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х сосуществуют две липидные фазы различного состава.

Результаты. Показано, что фенспирид во всех трёх типах мембран имеет практически одинаковое МД. Для лауриновой кислоты МД было качественно сходно в мембранах ДПФХ и ДПФХ-Ц, тогда как в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х наблюдались принципиально иные эффекты. Что касается каолина, то различия в его МД наблюдались уже между мембранами ДПФХ и ДПФХ-Ц (повышение температур фазовых переходов в ДПФХ-Ц и тенденция к их снижению – в ДПФХ). В мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х каолин приводит к заметному снижению температур фазовых переходов в обеих липидных фазах наряду с взаимно противоположными изменениями в кооперативности.

Выводы. На примерах отдельных веществ показано, что сильное разупорядочивающее МД может оказаться практически не зависящим от липидного состава мембран. Показано, что изменение кооперативности и перераспределение липидов в мембране может быть вызвано не только процессами встраивания стронных компонентов в объём бислоя, но и их адсорбцией на поверхности мембраны. Полученные результаты могут быть полезны при подборе состава модельных мембран для исследования МД лекарственных веществ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лекарственные вещества; мембранотропное действие; модельные липидные мембраны; липидный состав; дифференциальная сканирующая калориметрия.

МЕМБРАНОТРОПНА ДІЯ ЛАУРИНОВОЇ КИСЛОТИ, ФЕНСПІРИДУ ТА КАОЛІНУ У МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАНАХ: РОЛЬ ЛІПІДНОГО СКЛАДУ

О.В. Ващенко, Л.В. Будянська, Н.А. Касян, Л.М. Лисецкий

Институт сцинтилляційних матеріалів НАНУ, пр. Науки, 60, Харків, 61072, Україна

Актуальність. Модельні ліпідні мембрани у теперішній час широко застосовуються для досліджень мембранотропної дії (МД) багатьох лікарських речовин, а також для створення ліпосомальних форм фармпрепаратів. Разом із тим, відомо, що ліпідний склад мембран може суттєво впливати на взаємодію лікарських речовин з мембраною.

Мета роботи. Порівняння МД деяких лікарських речовин на модельні мембрани різного ліпідного складу.

Матеріали і методи. Методом диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) досліджено вплив лауринової кислоти, фенспіриду та каоліну на характеристики фазових переходів модельних

ліпідних мембран на основі гідратованих фосфоліпідів. Разом із «стандартною» мембраною на основі *L*- α -діпальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ) була використана мембрана ДПФХ, що містила цереброзиди (ДПФХ-Ц), а також мембрана що містила ДПФХ, *L*- α -діпальмітоїлфосфатидилетаноламін та холестерин (ДПФХ-ДПФЕ-Х). Згідно літературним даним, мембрани ДПФХ та ДПФХ-Ц є фазово однорідними, тоді як у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х співіснують дві ліпідні фази різного складу.

Результати. Показано, що фенспірид в усіх трьох типах мембран мав майже однакову МД. Для лауринової кислоти МД виявилася якісно подібною в мембранах ДПФХ та ДПФХ-Ц, тоді як у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х спостерігалися принципово інші ефекти. Щодо каоліну, то відмінності у його МД спостерігалися між мембранами ДПФХ та ДПФХ-Ц (підвищення температур переходів у ДПФХ-Ц та тенденція до їх зниження у ДПФХ). У мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х каолін призводить до помітного зниження температур фазових переходів разом із взаємно протилежними змінами у кооперативності.

Висновки. На прикладах окремих речовин показано, що сильна розупорядковувальна мембранотропна дія може виявитися майже незалежною від ліпідного складу мембрани. Показано, що зміни кооперативності та перерозподілення ліпідів у мембрані може бути спричинено не тільки процесами вбудовування сторонніх компонентів у об'єм бішару, але й їхньою адсорбцією на поверхні мембрани. Отримані результати можуть стати корисними при підборі складу модельних мембран для дослідження мембранотропної дії лікарських речовин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лікарські речовини; модельні ліпідні мембрани; мембранотропна дія; ліпідний склад; диференціальна скануюча калориметрія.

MEMBRANOTROPIC ACTION OF LAURIC ACID, FENSPIRIDE AND KAOLINE IN MODEL LIPID MEMBRANES: ROLE OF LIPID COMPOSITION

O.V. Vashchenko, L.V. Budianska, N.A. Kasian, L.N. Lisetski

Institute for Scintillation Materials NAS of Ukraine, 60 Nauky Ave., 61072 Kharkov, Ukraine

Background: Model lipid membranes are widely used nowadays to elucidate membranotropic action (MA) of pharmaceuticals as well as for development of liposomal drugs. Meanwhile, membrane lipid composition could substantially affect a drug-membrane interaction.

Objectives: Comparison of MA of certain pharmaceuticals on model membranes with various lipid compositions.

Materials and methods: By means of differential scanning calorimetry (DSC) lauric acid, fenspiride and kaolin were studied with respect of their effects on phase transitions of model membranes based on hydrated phospholipids. Along with "standard" membrane based on *L*- α -dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), a membrane containing cerebroside (DPPC-C) was used, as well as one composed of DPPC, *L*- α -dipalmitoylphosphatidylethanolamine and cholesterol (DPPC-DPPE-Chol). According to literature, DPPC and DPPC-C membranes are characterized by lipid phase homogeneity, as distinct from membrane DPPC-DPPE-Chol, where two different lipid phases coexist both below and above phase transition region.

Results: It was shown that fenspiride manifested similar MA on membranes of all three types. MA of lauric acid in DPPC and DPPC-C membranes were qualitatively similar, whereas, in DPPC-DPPE-Chol membrane, different effects were observed. As to kaolin, distinctions in its MA were observed even between DPPC and DPPC-C membranes, namely, elevation of phase transition temperatures in DPPC-C membrane and a tendency to their reduction in DPPC one. In DPPC-DPPE-Chol membrane, kaolin markedly lowered phase transition temperatures coupled with opposite changes in cooperativity.

Conclusions: By the examples of separated substances it was shown that strong disordering MA may be practically independent on lipid composition of membrane. Lipid rearrangement and cooperativity changes in membrane can be induced not only by incorporation of guest substances in the bulk, but also by their adsorption on membrane surface. The obtained results could be useful in adjustment of model membrane composition for MA studies of different pharmaceuticals.

KEY WORDS: pharmaceuticals; membranotropic action; model lipid membranes; lipid composition; differential scanning calorimetry.

Исследование мембранотропного действия лекарственных веществ составляет одну из важных задач современной биофизики. Для многих классов лекарственных веществ установлена непосредственная связь между их терапевтическим эффектом и способностью проникать через липидный бислой [1-3]. Учитывая, что липидный бислой оказывает существенное влияние на связывание и функционирование мембранных белков, выполняя в том числе и каталитические функции [4, 5], проникновение лекарств через биомембраны представляется важным не только с точки

зрения терапевтического процесса, но и опосредованного воздействия на жизнедеятельность клетки. Кроме того, известно, что подбор липидного состава липосом весьма существенен для оптимизации доставки лекарств [6-9]. Поэтому в настоящее время в качестве моделей всё более широко используются липидные композиции различного состава, для которых, несмотря на сложность, уже установлены некоторые общие физико-химические закономерности [7, 10-12].

Идеей настоящей работы было сравнительное исследование действия сторонних компонентов в мембранах различного липидного состава. Для исследований были выбраны лекарственные вещества с различными механизмами взаимодействия с мембраной: как встраивание в объём (лауриновая кислота и фенспирид), так и адсорбция на поверхности (каолин).

В работе исследованы следующие типы модельных липидных мембран:

- 1) мембрана ДПФХ, широко используемая для модельных исследований и рассматриваемая многими авторами как «стандарт» [10];
- 2) мембрана ДПФХ-Ц, содержащая ДПФХ и 5 масс.% цероброзидов для имитации липидного состава кожных покровов [13];
- 3) мембрана ДПФХ-ДПФЭ-Х, содержащая ДПФХ, ДПФЭ и холестерин в соотношении 45 : 45 : 10 по массе, приближённая по составу к мембранам эритроцитов [14].

Подбор липидного состава мембран был обусловлен практическими целями. Липидные бислои составляют основной барьер для диффузии сторонних компонентов через кожные покровы [13, 15]. Кроме того, цероброзины и фосфолипиды широко используются в настоящее время, как в лекарственных препаратах, так и в косметике, поэтому их композиции интенсивно изучаются с помощью современных физических методов [16]. С другой стороны, фазовые состояния, индуцируемые сторонними молекулами (к примеру, олеиновой кислотой [17] и ризином [18]) в мембранах, содержащих керамины, могут быть чрезвычайно важной составляющей их действия на кожные покровы.

Трёхкомпонентные мембраны, содержащие «высокотемпературный» и «низкотемпературный» липиды, а также холестерин считаются хорошими моделями внешнего полуслоя мембран млекопитающих [19]. ДПФХ и ДПФЭ относятся к главнейшим классам липидов клеточных мембран [20]. Холестерин, в избытке присутствующий в мембранах млекопитающих, имеет важную регуляторную функцию, модулируя физические свойства биомембран [21].

В литературе имеется ряд работ, посвящённых влиянию белков и других молекул на мембраны различного липидного состава. Так, в работе [22] показано, что степень связывания интегрального белка спектрина с мембранами ФХ-ФЭ с одинаковыми углеводородными радикалами снижалась по мере удлинения радикала, хотя эффект повышения давления при введении спектрина при этом увеличивался. В то же время, для ненасыщенных липидов указанный эффект был в несколько раз меньше. Встраивание спектрина в мембрану облегчалось с повышением концентрации холестерина, который изменял константу связывания с мембраной, но не сродство к ней. Авторы объясняют наблюдаемый эффект тем, что границы липидных фаз, количество которых в присутствии холестерина существенно увеличивается, служат местами связывания спектрина.

В мембранах чистого ДПФЭ для гидрофильных космотропных веществ, таких как сахароза и глицерин, установлено снижение температуры $L_{\alpha} \rightarrow H_{II}$ перехода и повышение температуры перехода $L_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$, т. е. сужение температурного интервала существования L_{α} -фазы [23]. Указанный эффект уменьшался с повышением длины цепей ФЭ и снижением степени космотропности добавки. Для гидрофильных хаотропных веществ, таких как, к примеру, NaSCN, эффект был обратным: расширение интервала существования L_{α} -фазы. В той же работе для космотропной сахарозы установлено уменьшение параметра dT_m/dc для перехода $L_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$ с повышением длины

цепи в ФЭ, а также повышение указанного параметра при переходе от более гидратированного ДПФХ к менее гидратированному ДПФЭ.

В общем случае на связывание сторонней молекулы с мембраной оказывает влияние как структура её поверхности (природа головок), так и структура её гидрофобной части (длина хвостов), что детально показано на примере дигитонина [24]. Положение сторонней молекулы в бислое, согласно [10] определяется гидрофильно-гидрофобным балансом, конформацией молекулы, электростатическим потенциалом и гидратацией поверхности. На этот баланс, в свою очередь, влияет структура гидрофильной и гидрофобной частей липидов, а также фазовое состояние бислоя. Именно эти факторы определяют латеральное взаимодействие липидов и, в конечном итоге, – проницаемость и сорбционную ёмкость бислоя по отношению к данной молекуле.

Ввиду всего вышесказанного становится ясным, что липидный состав мембран является существенным фактором взаимодействия молекул с бислоем и работы в этом направлении являются весьма актуальными.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

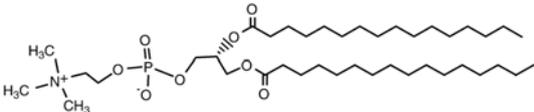
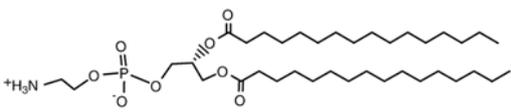
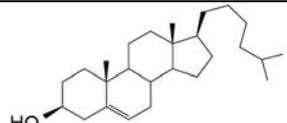
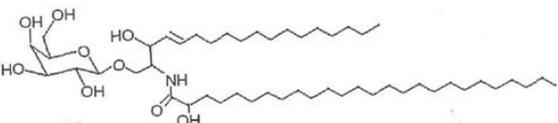
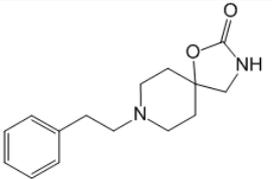
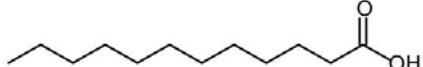
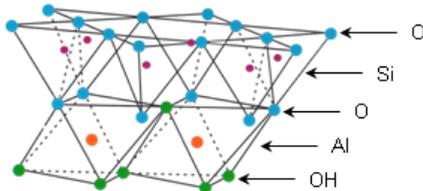
Для приготовления липидных мембран использованы следующие химически чистые вещества: *L*- α -дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ) (Avanti Polar Lipids), *L*- α -дипальмитоилфосфатидилэтаноламин (ДПФЭ) (Fluka) и холестерин (Sigma), а также Ceramides LS 3773 (BASF), содержащие 25% фосфолипидов и 75% цереброзидов (церамидов, содержащих в своей полярной части сахарид). В качестве добавок использовали х. ч. фенспирид и лауриновую кислоту в концентрациях до 5 масс.%. В работе также был исследован каолин – тонкодисперсная глинистая порода, состоящая в основном из каолинита $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ (Al_2O_3 39,5%; SiO_2 46,54%; H_2O 13,96% по массе [25]). Концентрация каолина составляла до 20 масс.% от массы липидов. Геометрические размеры молекул ($x \geq y \geq z$) были получены методом РМБ с помощью свободного ПО MORAC2016. На их основе был рассчитан коэффициент анизотропии $k = (x - y)/(x + y)$ [26], информативный параметр, характеризующий форму молекулы: для сферы $k = 0$, для тонкого стержня $k \rightarrow 1$.

Краткая информация об используемых веществах представлена в табл. 1. Для цереброзидов, ввиду неоднородности состава, определение молекулярных параметров не проводилось; представлена структура наиболее распространённого представителя цереброзидов в мембранах мозга. Для приготовления мультибислойных мембран, содержащих 60% воды, к липидам в кристаллической форме добавляли требуемое количество воды либо такое же количество раствора исследуемых водорастворимых веществ. Нерастворимые в воде вещества предварительно растворяли в очищенном этиловом спирте вместе с липидами, затем удаляли растворитель с помощью концентратора «Concentrator Plus» (Eppendorf) и далее готовили по вышеописанной процедуре.

Исследования проводили методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с помощью калориметра «Mettler DSC 1» (Mettler-Toledo). Для каждой из исследованных систем проводили 2 цикла «охлаждение – нагревание» со скоростью сканирования 2 К/мин в диапазоне 20 ÷ 70 °С. На основании полученных ДСК-термограмм были определены следующие параметры фазовых переходов в исследуемых модельных мембранах: температура (T_p , T_m , T_m^b , T_m^s), а энтальпия (ΔH_p , ΔH_m , ΔH_m^b , ΔH_m^s), полуширина ($\Delta T_{p/2}$, $\Delta T_{m/2}$, $\Delta T_{m^b/2}$, $\Delta T_{m^s/2}$), гистерезис (h_p , h_m , h_m^b , h_m^s) и асимметрия (a_m , a_p). Индекс «m» относится к основному переходу (плавлению) мембраны ($L_{\beta'} \leftrightarrow L_{\alpha}$), индекс «p» – к предпереходу ($L_{\beta'} \leftrightarrow P_{\beta'}$), индекс «s» – к высокотемпературному, узкому пику перехода в мембране ФХ-ФЭ-Хол ($L_{\beta} \leftrightarrow L_{\alpha}$), индекс «b» – к широкому низкотемпературному пику перехода в этой же мембране ($L_{\beta} \leftrightarrow L_o$). Идентификация термодинамических фаз проведена на основе [21, 27, 28].

Мембранотропное действие лауриновой кислоты, фенспирида и каолина...

Таблица 1. Структура и некоторые молекулярные параметры используемых веществ: молекулярная масса (М), коэффициент липофильности (XlogP3), коэффициент анизотрии (k), максимальный линейный размер (x).

Вещество	Структура	М, Да	XlogP3	k	x, Å
ДПФХ		734	13,5	0,62	31,9
ДПФЭ		692	10,8	0,59	31,9
Холестерин		386,7	8,7	0,30	15,6
Цереброзиды		–	–	–	–
Фенспирид		260,3	2,1	0,44	13,5
Лауриновая кислота		200,3	4,2	0,71	16,8
Каолин		–	–	–	–

Определение мольной энтальпии в мембранах ДПФХ и ДПФХ-Ц проводили в расчёте на количество ДПФХ, а в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х – в расчёте на общее количество ДПФХ и ДПФЭ. Значение гистерезиса для всех мембран получали как разность температур переходов при нагревании и охлаждении; значение асимметрии – как разность температуры максимума и середины полуширины пика перехода. Для пиков, полученных путём расщепления в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х, определение значения асимметрии не представлялось целесообразным ввиду их заданной гауссовой (симметричной) формы. Экспериментальные погрешности измерений приведены на рисунках в графическом виде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика мембран

Состав и термодинамические параметры исходных модельных мембран представлены в табл. 2., а соответствующие ДСК-термограммы приведены на рис. 1. Как можно видеть, при добавлении цереброзидов в ДПФХ наблюдается снижение T_m и

особенно T_p (см. табл. 2), что, по всей видимости, отражает повышение степени гидратации поверхности мембраны. Такое предположение хорошо согласуется с данными [29, 30] о том, что энергия межмолекулярного взаимодействия между разными типами липидов в смесях ДПФХ-Ц оказывается меньше средней энергии взаимодействия, а средняя площадь на молекулу – больше. Небольшое уширение пика характерно для липидных смесей [31] и отражает уменьшение кооперативности [31, 34]. В указанных работах также установлено, что цереброзиды хорошо смешиваются с ДПФХ и образуют однофазную липидную систему во всём концентрационном диапазоне, поэтому данную мембрану можно рассматривать как однофазную систему.

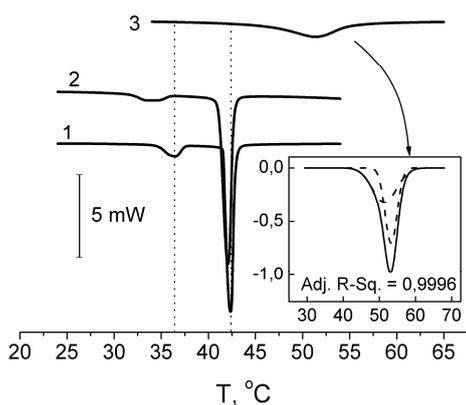


Рис. 1. ДСК-термограммы модельных липидных мембран: 1 – ДПФХ, 2 – ДПФХ-Ц, 3 – ДПФХ-ДПФЭ-Х. На врезке: разложение пика фазового перехода мембраны ДПФХ-ДПФЭ-Х на 2 компоненты.

Мембрана ДПФХ-ДПФЭ-Х, в отличие от ДПФХ-Ц, демонстрирует двухфазное поведение, характерное для смесей фосфатидилхолинов (ФХ) и фосфатидилэтанол-аминов (ФЭ) при данном соотношении компонентов [33, 36], и даёт два калориметрических пика с максимумами 51,4 и 53,2 °С, практически равные по площади (см. табл. 2).

Таблица 2. Термодинамические параметры мембран по данным ДСК при нагревании. Для мембран ДПФХ и ДПФХ-Ц приведены значения в формате «основной переход / предпереход», для мембраны ДПФХ-ДПФЭ-Х – значения в формате «широкий пик / узкий пик»

Мембрана	Температура перехода, °С	Энтальпия, кДж/моль	Полуширина, °С	Гистерезис, °С	Асимметрия, °С
ДПФХ	42,0 / 36,3	34,0 / 4,5	0,8 / 1,8	1,3 / 5,9	-0,1 / 0,3
ДПФХ-Ц	41,7 / 33,4	36,5 / 3,6	0,9 / 3,0	1,4 / 5,3	0 / -0,3
ДПФХ-ДПФЭ-Х	51,4 / 53,2	25,0 / 33,6	11,8 / 3,3	0,7 / 0,6	- / -

Фазовые диаграммы ДПФЭ-ДПФХ были подробно исследованы в [35], где показано, что при эквимолярном соотношении компонентов кооперативность фазового перехода снижается на порядок (уширение пика), а T_m практически не отклоняется от аддитивности. Смеси ФХ и ФЭ с эквивалентными насыщенными цепями более плотно упакованы, что отражается в повышении поверхностного давления и уменьшении площади сечения на молекулу [36]. Таким образом, ДПФЭ оказывает конденсирующее действие на мембрану ДПФХ, что отражается в повышении температуры фазового перехода. Следует добавить также, что ФЭ относят к липидам, стимулирующим образование рафтов в мембране [37]. Действительно, по данным флуоресцентной микроскопии [38, 39], в смесях ДПФХ-ДПФЭ образуются домены с характерным размером десятки микрон. В мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х при данном соотношении компонентов сосуществуют L_α - и L_o -фазы [19], причём гетерогенность наблюдается на микроскопическом уровне во всех термодинамических фазах, как ниже, так и выше температуры фазового перехода (хотя в последнем случае она существенно меньше [40]). Таким образом, есть основания анализировать поведение каждого наблюдаемого пика в отдельности.

В работе [41] предложена упрощённая геометрическая модель для описания упаковки липидов в мембранах сложного состава. Молекула ДПФЭ в липидной мембране имеет почти цилиндрическую форму, тогда как ДПФХ – конусовидную (гидрофильная часть больше). Холестерин же, напротив, имеет конусовидную форму с расширенной гидрофобной частью и, в отличие от фосфолипидов с большой конформационной подвижностью цепей, практически не изменяет площади сечения при изменении давления. При добавлении к ДПФХ как холестерин, так и ДПФЭ оказывают конденсирующее действие, более выраженное для холестерина. В работе выдвинута концепция взаимно компенсирующей упаковки, которая, применительно к данному случаю, указывает на большее сродство холестерина к ДПФХ, чем к ДПФЭ, что подтверждается и шириной високотемпературного пика, близкой к таковой для бинарной смеси [35]. Такая трактовка согласуется и с эмпирическим правилом, согласно которому холестерин преимущественно взаимодействует с более низкоплавким липидом, причём ФХ имеет существенное преимущество перед ФЭ [40].

Двухкомпонентное разложение исходного ДСК-пика (см. врезку на рис. 1) представлялось наиболее рациональным, поскольку в чистом ДПФХ при данном содержании холестерина (~ 20 моль %) «холестерин-обеднённая» фаза практически исчезает и остаётся только «холестерин-обогащённая» [42]. Принимая во внимание всё вышесказанное, можно отнести широкий пик к липидной фазе «ДПФЭ+Х в ДПФХ», а узкий – к фазе «ДПФХ в ДПФЭ».

Действие фенспирида

Фенспирид во всех исследованных мембранах вызывал примерно одинаковое линейное снижение температур фазового перехода с повышением его содержания в системе (рис. 2).

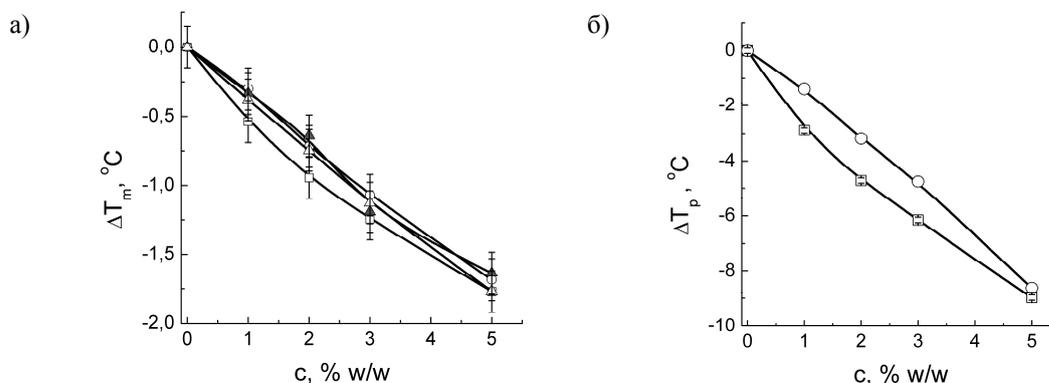


Рис. 2. Мембранотропное действие фенспирида: изменение температуры плавления (а) и предперехода (б) в мембранах ДПФХ (□), ДПФХ-Ц (○) и ДПФХ-ДПФЭ-Х (Δ) при нагревании.

В этом мембранотропное действие фенспирида весьма сходно с влиянием циклических соединений (в частности, бифенила) в термотропных жидких кристаллах [43], обусловленным нарушением степени упорядоченности молекул матрицы. При этом гистерезис во всех типах мембран оставался небольшим (в пределах 1° С).

Сильное деструктурирующее действие фенспирида обусловлено особенностями его химической структуры. Фенспирид – полужёсткая молекула, чуть меньшая по длине, чем холестерин (см. табл. 2). Строение полярной части фенспирида даёт основание предположить, что он, как и холестерин [44], расположен ниже поверхности мембраны, но не достигает её центра. При этом жёсткий бензольный фрагмент молекулы на гибкой алкильной цепочке обладает повышенной свободой вращения, которая, в сочетании с небольшим значением липофильности, приводит к значительному нарушению упаковки липидов.

Действие лауриновой кислоты

Лауриновая кислота (ЛК) обладает противомикробной активностью, в частности, против пневмококков и стрептококков, причём наибольшей среди всех насыщенных ЖК, что делает её перспективной для использования в медицинских целях [45]. Установлено, что антимикробная активность жирных кислот определяется длиной и степенью насыщенности их цепей, что позволяет предположить её непосредственную связь с мембранотропным действием.

Действие лауриновой кислоты в мембранах ДПФХ и ДПФХ-Ц типично для всех длинноцепочечных жирных кислот в ФХ [46, 47]: повышение температуры фазовых переходов. Из рис. 3 видно, что особенно сильно увеличивается температура предперехода, тогда как полуширина пика предперехода уменьшается. Интересно, что в присутствии цереброзидов форма пика перехода сильно нарушается, что, по всей видимости, связано с изменением кинетики формирования Р_β-фазы [48], а при добавлении лауриновой кислоты – восстанавливается до исходного значения (рис. 3, в). Таким образом, цереброзиды и лауриновая кислота, являясь компонентами кожного покрова [13], взаимно компенсируют действие друг друга, что вполне объяснимо в рамках модели [41]. О похожих взаимодействиях сообщается и в работе [44].

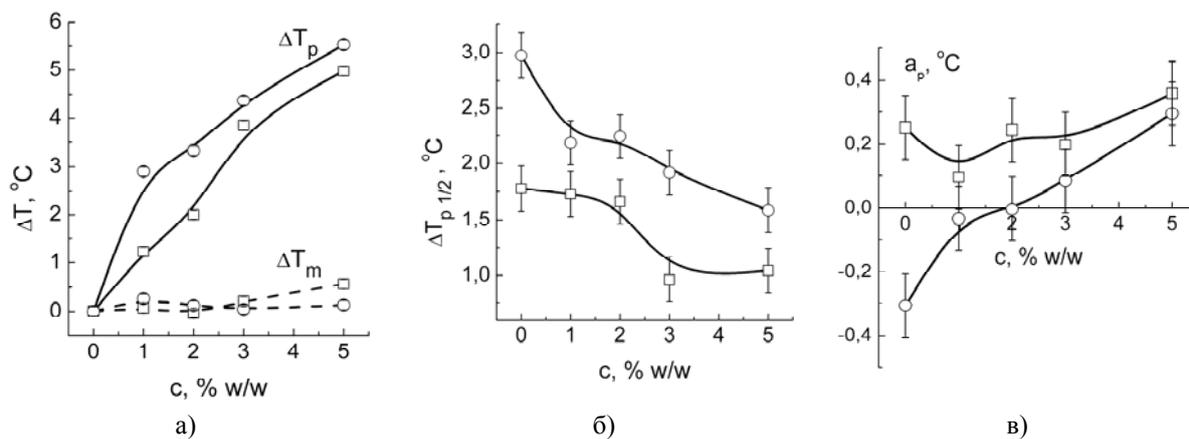


Рис. 3. Мембранотропное действие лауриновой кислоты: изменение температур фазовых переходов (а), полуширины (б) и асимметрии (в) предперехода в мембранах ДПФХ (□) и ДПФХ-Ц (○) при нагревании.

Лауриновая кислота в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х по-разному влияет на узкий и широкий пики (рис. 4).

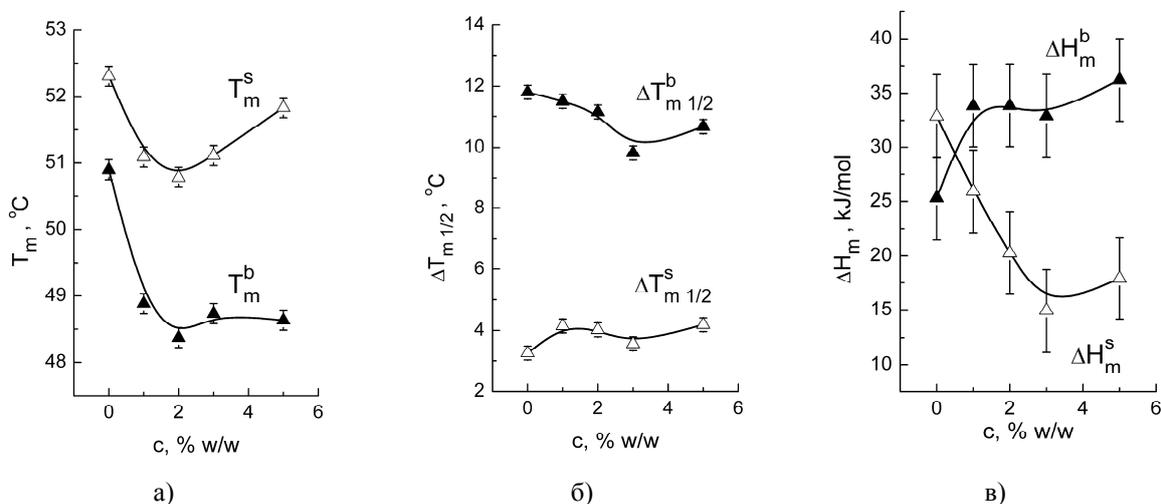


Рис. 4. Влияние лауриновой кислоты на температуру (а), полуширину (б) и энтальпию (в) пиков фазовых переходов в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х: ▲ – широкий пик, Δ – узкий пик.

Для узкого пика наблюдается немонотонная концентрационная зависимость T_m^s с минимумом при 2 % ЛК, а для широкого пика зависимость $T_m^b(c)$ при тех же концентрациях выходит на насыщение. С повышением концентрации ЛК полуширина узкого пика растёт, а широкого – уменьшается. При этом энтальпия широкого пика растёт за счёт снижения энтальпии узкого пика, тогда как суммарная энтальпия обоих пиков в пределах погрешности не меняется. Наблюдаемые изменения свидетельствуют о том, что ЛК встраивается в обе липидные фазы, но оказывает на них качественно разное влияние. Поскольку наибольшие изменения термодинамических параметров наблюдаются для широкого пика, можно предположить, что ЛК лучше встраивается в низкотемпературную фазу липидов, обогащённую ФХ. Это согласуется с данными [49] о том, что жирные кислоты имеют большее сродство к ФХ по сравнению с ФЭ.

Действие каолина

Действие каолина на мембраны ДПФХ и ДПФХ-Ц качественно различно. В присутствии каолина наблюдается снижение T_m и T_p в мембране ДПФХ и увеличение этих параметров в мембране ДПФХ-Ц (рис. 5). При этом полуширина в ДПФХ не меняется, в ДПФХ-Ц уменьшается в сторону значений этого параметра для мембраны ДПФХ, а гистерезис и асимметрия не меняются в обеих мембранах (данные не приведены). Более существенное влияние каолина на T_p указывает на его взаимодействие с полярной поверхностью мембран. Известно, что частички каолина хорошо адсорбируют ДПФХ на своей поверхности, в результате чего биологическое действие каолина существенно изменяется [50-52]. Наблюдаемые различия можно объяснить изменением гидратации мембран в результате адсорбции, которая повышается для мембраны ДПФХ и снижается для мембраны ДПФХ-Ц.

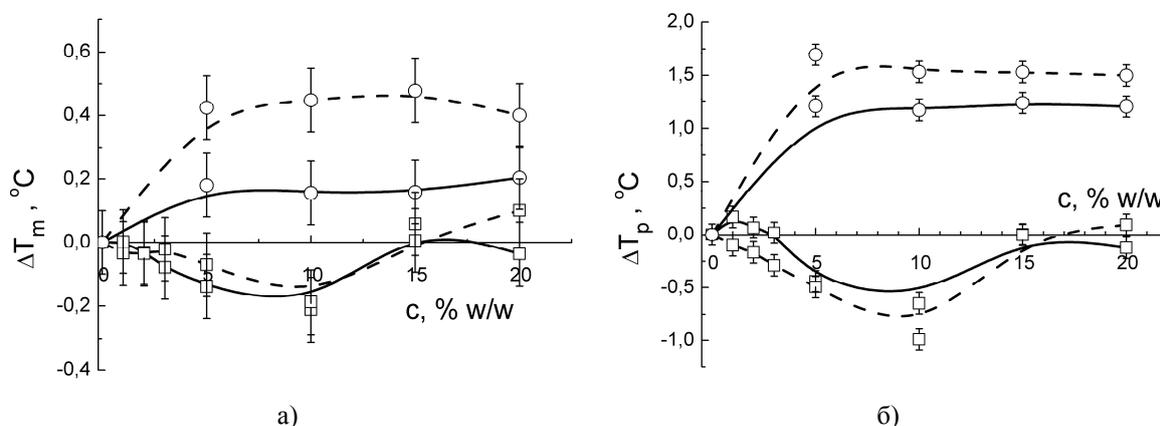


Рис. 5. Мембранотропное действие каолина: сдвиги температур плавления (а) и предперехода (б) в мембранах ДПФХ (□) и ДПФХ-Ц (○): сплошная линия – нагревание, пунктирная – охлаждение.

В мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х каолин индуцировал изменения в обеих липидных фазах (рис. 6). Температура плавления узкого и широкого пика снижалась в присутствии каолина во всём исследованном концентрационном диапазоне, причём гораздо больше, чем для мембраны ДПФХ ($\Delta T_m^s = -1,2$ °C, $\Delta T_m^b = -1,6$ °C, тогда как для ДПФХ $\Delta T_m = -0,2$ °C). В целом эти изменения согласуются с данной выше трактовкой изменения гидратации мембраны при адсорбции на каолине, однако, надо учитывать, что гидратация липидных композиций весьма неоднородна [53]. С повышением концентрации каолина наблюдался рост ΔH_m^b и уменьшение ΔH_m^s .

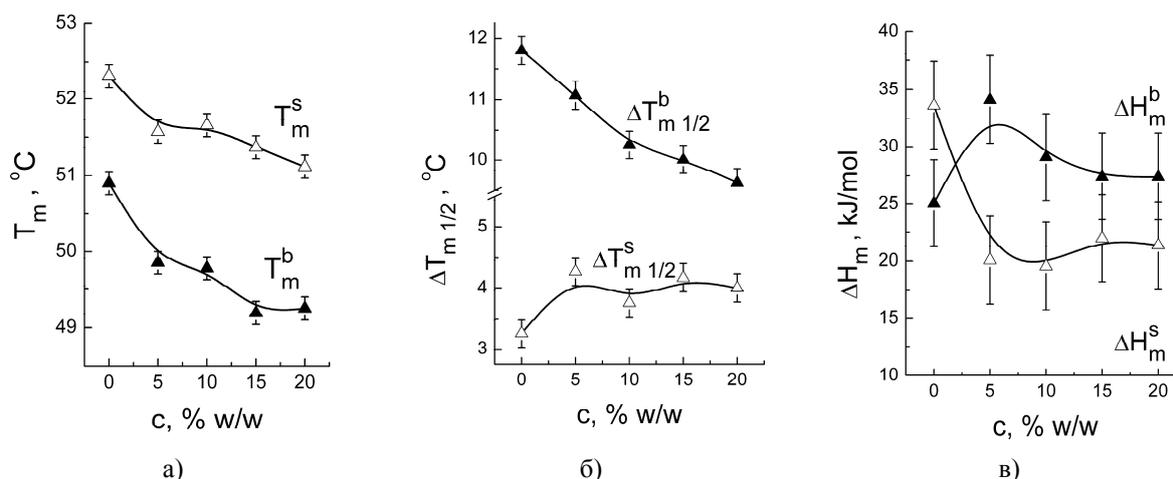


Рис. 6. Влияние каолина на температуру (а), полуширину (б) и энтальпию (в) пиков фазовых переходов в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х: ▲ – широкий пик, Δ – узкий пик.

Изменения значений полуширины (рис. 6, б) свидетельствует об изменениях кооперативности фазового перехода [1], имеющих противоположный характер в разных липидных фазах: в низкотемпературной трёхкомпонентной фазе кооперативность повышается, тогда как в высокотемпературной – снижается. Совокупность наблюдаемых изменений может также свидетельствовать о перераспределении липидов между фазами. По всей видимости, холестерин частично перераспределяется из низкотемпературной в высокотемпературную фазу. Латеральное перераспределение (сортировка) липидов хорошо известна при встраивании в мембрану белков [54, 55] и происходит, в частности, по механизму гидрофобного соответствия [56]. Латеральная неоднородность липидов в мембране (образующаяся, в том числе, и под действием сторонних молекул) приводит к перераспределению гидратации липидов и считается одним из ключевых факторов, влияющих на стабильность мембраны в целом [57]. Известно и обратное явление: трегалоза (высокогидрофильное вещество, локализуемое на поверхности мембраны) ограничивает фазовое разделение в липидных смесях с холестерином [20]. Таким образом, перераспределение липидов в мембране возможно как в случае встраивания сторонней молекулы в бислои, так и в случае адсорбции на поверхности, что и наблюдается, по всей видимости, в присутствии каолина.

ВЫВОДЫ

Показано, что мембранотропное действие (МД) различных веществ может существенно различаться при использовании модельных мембран различного липидного состава (ДПФХ, ДПФХ-цереброзиды, ДПФХ-ДПФЭ-холестерин). Установлено, что фенспирид имеет практически одинаковое МД во всех трёх типах мембран. Для лауриновой кислоты МД в ДПФХ и ДПФХ-Ц также качественно аналогично; при этом в мембране ДПФХ имеет место компенсация МД лауриновой кислоты и цереброзида. Действие лауриновой кислоты в мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х оказывается принципиально иным: температуры фазовых переходов немонокотонно снижаются. МД каолина различно во всех типах мембран. В мембране ДПФХ-Ц наблюдается повышение температур переходов, тогда как в ДПФХ – тенденция к их снижению. В мембране ДПФХ-ДПФЭ-Х каолин приводит к заметному снижению температур фазовых переходов и перераспределению липидов в двухфазной области. Таким образом, показано, что изменение кооперативности и перераспределение

липидов в мембране может быть вызвано не только процессами встраивания сторонних компонентов в объём бислоя, но и их адсорбцией на поверхности мембраны. Полученные результаты могут быть полезны при подборе состава модельных мембран для исследования МД лекарственных веществ.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят за сотрудничество компанию «Интерхим» (Одесса).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают, что опубликованный в данной статье материал не является предметом конфликта интересов.

Authors' ORCID ID

O.V. Vashchenko  <https://orcid.org/0000-0002-7447-9080>

L.V. Budianska  <https://orcid.org/0000-0003-4967-1035>

N.A. Kasian  <https://orcid.org/0000-0002-4739-2684>

L.N. Lisetski  <https://orcid.org/0000-0003-4341-832X>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Харакоз Д.П. О возможной физиологической роли фазового перехода «жидкое–твёрдое» в биологических мембранах // Усп. биол. химии. 2001. № 41(2). С. 333.
2. Schreier S., Malheiros S.V., de Paula E. Surface active drugs: self-association and interaction with membranes and surfactants. Physicochemical and biological aspects // Biochim. Biophys. Acta. 2000. Vol. 1508. P. 210.
3. Tsuchiya H., Mizogami M. Interaction of local anesthetics with biomembranes consisting of phospholipids and cholesterol: mechanistic and clinical implications for anesthetic and cardiotoxic effects // Anesth. Res. Pract. 2013. Vol. 2013. Article ID 297141 (18 pp). DOI: 10.1155/2013/297141.
4. Sargent D.F., Schwyzer R. Membrane lipid phase as catalyst for peptide-receptor interactions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Biochemistry. 1986. Vol. 83. P. 5774-5778.
5. Mantsch H.H., McElhaney R.N. Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy // Chem. Phys. Lipids. 1991. Vol. 57. P. 213-226.
6. Campbell R.B., Balasubramanian S.V., Straubinger R.M. Influence of cationic lipids on the stability and membrane properties of paclitaxel-containing liposomes // J. Pharm. Sci. 2001. Vol. 90. P. 1091-1105.
7. Campbell R.B., Balasubramanian S.V., Straubinger R.M. Phospholipid-cationic lipid interactions: influences on membrane and vesicle properties // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1512. P. 27-39.
8. Honerkamp-Smith A.R., Veatch S.L., Keller S.L. An introduction to critical points for biophysicists; observations of compositional heterogeneity in lipid membranes // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1788. P. 53–63.
9. Manca M.L., Sinico C., Maccioni A.M., Diez O., Fadda A.M., Manconi M. Composition influence on pulmonary delivery of rifampicin liposomes // Pharmaceutics. 2012. Vol. 4(4). P. 590-606.
10. Mannock D.A., Lewis R.N.A.H., McMullen T., McElhaney R.N.. The effect of variations in phospholipid and sterol structure on the nature of lipid – sterol interactions in lipid bilayer model membranes // Chem. Phys. Lipids. 2010. Vol. 163(6). P. 403–448.
11. Ali S., Minchey S., Janoff A., Mayhew E. A differential scanning calorimetry study of phosphocholines mixed with paclitaxel and its bromoacylated taxanes // Biophys. J. 2000. Vol. 78. P. 246–256.
12. Ostroumova O.S., Efimova S.S., Mikhailova E.V., Schagina L.V. The interaction of dipole modifiers with amphotericin-ergosterol complexes. Effects of phospholipid and sphingolipid membrane composition // Eur. Biophys. J. 2014. Vol. 43(4). P. 207-215. DOI 10.1007/s00249-014-0946-0.
13. Bouwstra J.A., Dubbelaar F.E.R., Gooris G.S., Ponc M. The lipid organisation in the skin barrier // Acta Derm. Venereol. 2000. Vol. 208. P. 23 - 30.
14. Brasitus TA, Schachter D. Lipid composition and fluidity of rat enterocyte basolateral membranes. Regional differences // Biochim. Biophys. Acta. 1984. Vol. 774(1). P. 138-146.
15. Groen D., Gooris G. S., Bouwstra J. A. New insights into the stratum corneum lipid organization by X-ray diffraction analysis // Biophys. J. 2009. Vol. 97. P. 2242–2249.
16. Kiselev, M.A. Methods for lipid nanostructure investigation at neutron and synchrotron sources // Phys. Part. Nuclei. 2011. Vol. 42(2). P. 302-331.
17. Engström S., Ekelund K., Engblom J., Eriksson L., Sparr E., Wennerström H. The skin barrier from a lipid perspective // Acta Derm. Venereol. 2000. Vol. 208. P. 31 –35.
18. Picquart M, Nicolas E, Lavialle F. Membrane-damaging action of ricin on DPPC and DPPC-cerebrosides assemblies. A Raman and FTIR analysis // Eur. Biophys. J. 1989. Vol. 17(3). P.143-149.

19. Feigenson G. W. Phase diagrams and lipid domains in multicomponent lipid bilayer mixtures // *Biochim. Biophys. Acta*. 2009. Vol. 1788. P. 47–52.
20. Ohtake S., Schebor C., Palecek S. P., de Pablo J. J. Phase behavior of freeze-dried phospholipid–cholesterol mixtures stabilized with trehalose // *Biochim. Biophys. Acta*. 2005. Vol. 1713. P. 57 – 64.
21. McMullen T., Lewis R., McElhaney H.R. Differential scanning calorimetric study of the effect of cholesterol on the thermotropic phase behavior of a homologous series of linear saturated phosphatidylcholines // *Biochemistry*. 1993. Vol. 32. P. 516 – 522.
22. Diakowski W., Ozimek Ł., Bielska E., Bem S., Langner M., Sikorski A.F. Cholesterol affects spectrin–phospholipid interactions in a manner different from changes resulting from alterations in membrane fluidity due to fatty acyl chain composition // *Biochim. Biophys. Acta*. 2006. Vol. 1758. P. 4 – 11.
23. Koynova R., Brankov J., Tenchov B. Modulation of lipid phase behavior by kosmotropic and chaotropic solutes. Experiment and thermodynamic theory // *Eur. Biophys. J.* 1997. Vol. 25. P. 261–274.
24. Orczyk M., Wojciechowski K., Brezesinski G. Disordering effects of digitonin on phospholipid monolayers // *Langmuir*. 2017. Vol. 33 (15). P. 3871–3881.
25. Требования промышленности к качеству минерального сырья: Справочник для геологов / под ред. А. А. Вейхера. Вып. 54: Глины и каолин. М. : Госгеолтехиздат. 1962. 94 с.
26. Sadchenko A. O., Vashchenko O. V., Kasian N. A., Budianska, L. V., Lisetski, L. N. Correlations between molecular parameters of guest substances and their effect on model lipid membranes // *Func. Mater.* 2016. Vol. 23 (2). P. 230-235.
27. The structure of biological membranes, 2nd Ed. / Ed. P.L. Yeagle, 1991. pp. 1248. Chapt. 2. Lewis R.N.A.H., McElhaney R.N. The mesomorphic phase behavior of lipid bilayers. P. 53-71.
28. Koynova R., Caffrey M. Phases and phase transitions of the hydrated phosphatidylethanolamines // *Chem. Phys. Lipids*. 1994. Vol. 69. P. 1-34.
29. Ikeda Y., Inagaki M., Yamada K., Miyamoto T., Higuchi R., Shibata O. Langmuir monolayers of cerebroside with different head groups originated from sea cucumber: Binary systems with dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) // *Coll. Surf. B: Biointerfaces*. 2009. Vol. 72. P. 272–283.
30. Nakahara H., Nakamura S., Nakamura K., Inagaki M., Asoc M., Higuchi R., Shibata O. Cerebroside Langmuir monolayers originated from the echinoderms I. Binary systems of cerebroside and phospholipids // *Coll. Surf. B: Biointerfaces*. 2005. Vol. 42. P. 157–174.
31. Chapman D., Urbina J. Biomembrane Phase Transitions. Studies of lipid-water systems using differential scanning calorimetry // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249. № 8. P. 2512-2521.
32. Mouritsen O.G., Jorgensen K. Dynamical order and disorder in lipid bilayers // *Chem. Phys. Lipids*. 1994. Vol. 73. P. 3–25.
33. Losada-Pérez P., Mertens N., de Medio-Vasconcelos B., Slenders E., Leys J., Peeters M., van Grinsven B., Gruber J., Glorieux C., Pfeiffer H., Wagner P., Thoen J. Phase transitions of binary lipid mixtures: a combined study by adiabatic scanning calorimetry and quartz crystal microbalance with dissipation monitorings // *Adv. Cond. Mat. Phys.* 2015. Vol. 2015. Article ID 479318. 14 pp.
34. Caffrey M., Hing F. S. A temperature gradient method for lipid phase diagram construction using time-resolved X-ray diffraction // *Biophys. J.* 1987. Vol. 51. P. 37-46.
35. Blume A., Ackermann T. A calorimetric study of the lipid phase transitions in aqueous dispersions of phosphorylcholine-phosphorylethanolamine mixtures // *FEBS Lett.* 1974. Vol. 43. № 1. P. 71-74.
36. Bouchet A. M., Frias M. A., Lairion F., Martini F., Almaleck H., Gordillo G., Disalvo E. A. Structural and dynamical surface properties of phosphatidylethanolamine containing membranes // *Chem. Phys. Lipids*. 1982. Vol.30. P. 229-259.
37. Brown D. A., London E. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. No. 23. P. 17221–17224.
38. Bagatolli L. A., Gratton E. Direct observation of lipid domains in free-standing bilayers using two-photon excitation fluorescence microscopy // *J. Fluoresc.* 2001. Vol. 11. No. 3. P. 141–160.
39. Bagatolli L., Kumar P. B. S. Phase behavior of multicomponent membranes: Experimental and computational techniques// *Soft Matter*. 2009. Vol. 5. P. 3234–3248.
40. McElhaney R. N. The use of differential scanning calorimetry and differential thermal analysis in studies of model and biological membranes // *Chem. Phys. Lipids*. 1982. Vol. 30. P. 229-259.
41. Israelachvili J. N., Mitchell D. J. A model for the packing of lipids in bilayer membranes // *Biochim. Biophys. Acta*. 1975. Vol. 389. P. 13-19.
42. Benesch M. G. K., Lewis R. N. A. H., Mannock D. A., McElhaney R. N. A DSC and FTIR spectroscopic study of the effects of the epimeric cholestan-3-ols and cholestan-3-one on the thermotropic phase behavior and organization of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes: Comparison with their 5-cholesten analogs // *Chem. Phys. Lipids*. 2015. Vol. 187. P. 34–49.
43. Denolf K., Cordoyiannis G., Glorieux C., Thoen J. Effect of nonmesogenic impurities on the liquid crystalline phase transitions of octylcyanobiphenyl // *Phys. Rev.* 2007. E. 76. 051702.

44. Mojumdar E. H., Groen D., Gooris G. S., Barlow D. J., Lawrence M. J., Deme B., Bouwstra J. A. Localization of cholesterol and fatty acid in a model lipid membrane: a neutron diffraction approach // *Biophys. J.* 2013. Vol. 105. P. 911–919.
45. Рыбин В. Г., Блинов Ю. Г. Антимикробные свойства липидов // *Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра.* 2001. №. 129, С. 179-196.
46. Seddon J. M., Templer R. H., Warrender N. A., Huang Z., Cevc G., Marsh D. Phosphatidylcholine–fatty acid membranes: effects of headgroup hydration on the phase behaviour and structural parameters of the gel and inverse hexagonal (H_{II}) / phases // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. Vol. 1327. P. 131–147.
47. Bothun G. D., Boltz L., Kurniawana Y., Scholz C. Cooperative effects of fatty acids and n-butanol on lipid membranephase behavior // *Coll. Surf. B: Biointerfaces.* 2016. Vol. 139. P. 62–67.
48. Kaasgaard T., Leidy C., Crowe J. H., Mouritsen O. G., Jørgensen K. Temperature-controlled structure and kinetics of ripple phases in one- and two-component supported lipid bilayers // *Biophys. J.* 2003. Vol. 85. P. 350–360.
49. Woldseth B., Christensen E., Christophersen B. O. Incorporation of stearic acid (18:0) and palmitic acid (16:0) in phospholipid molecular species studied in isolated rat liver // *Biochim. Biophys. Acta.* 1993. Vol. 1167. P. 296-302.
50. Cellular and molecular effects of mineral and synthetic dusts and fibers / Ed. Davis J. M. G. and Jaurand M.-C., Springer-Verlag. Berlin – Heidelberg. 1994.
51. Gao N, Keane M. J, Ong T, Wallace W. E. Effects of simulated pulmonary surfactant on the cytotoxicity and DNA-damaging activity of respirable quartz and kaolin // *J. Toxicol. Environ. Health A.* 2000. Vol. 60(3). P. 153-67.
52. Gao N, Keane M. J, Ong T, Ye J., Miller W. E., Wallace W. E. Effects of phospholipid surfactant on apoptosis induction by respirable quartz and kaolin in NR8383 rat pulmonary macrophages // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2001. Vol. 175. P. 217–225.
53. Miller I. R., Bach D., Wachtel E. J., Eisenstein M. Interrelation between hydration and interheadgroup interaction in phospholipids // *Bioelectrochemistry.* 2002. Vol. 58. P. 193– 196.
54. Dumas F., Sperotto M. M., Lebrun M.-C., Tocanne J.-F., Mouritsen O.G. Molecular sorting of lipids by bacteriorhodopsin in dilauroylphosphatidylcholine/distearoylphosphatidylcholine lipid bilayers // *Phys. Rev. E.* 2007. Vol. 76. 051702.
55. Prenner E. J., Lewis R. N. A. H., Kondejewski L. H., Hodges R. S., McElhaney R. N. Differential scanning calorimetric study of the effect of the antimicrobial peptide gramicidin S on the thermotropic phase behavior of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol lipid bilayer membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. Vol. 1417. P. 211-223.
56. Killian J. A. Hydrophobic mismatch between proteins and lipids in membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. Vol. 1376. P. 401-416.
57. Riske K. A., Domingues C. C., Casadei B. R., Mattei B., Carità A. C., Lira R. B., Preté P. S. C., de Paula E. Biophysical approaches in the study of biomembrane solubilization: quantitative assessment and the role of lateral inhomogeneity // *Biophys. Rev.* 2017. Vol. 9. P. 649–667.

REFERENCES

1. Kharakoz, D.P. (2001). O vozmozhnoi fiziologicheskoi roli fazovogo perekhoda “zhidkoe – tverdoe” v biologicheskikh membranakh. *Uspekhi biologicheskoi khimii*, 41(2), 333–364. (In Russian)
2. Schreier, S., Malheiros, S.V., de Paula, E. (2000). Surface active drugs: self-association and interaction with membranes and surfactants. Physicochemical and biological aspects. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1508, 210–234.
3. Tsuchiya, H., Mizogami, M. (2013). Interaction of local anesthetics with biomembranes consisting of phospholipids and cholesterol: mechanistic and clinical implications for anesthetic and cardiotoxic effects. *Anesthesiology Research and Practice*. DOI: 10.1155/2013/297141.
4. Sargent, D.F., Schwyzer, R. (1986). Membrane lipid phase as catalyst for peptide-receptor interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences, Biochemistry*, 83, 5774–5778.
5. Mantsch, H.H., McElhaney, R.N. (1991). Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids*, 57, 213–226.
6. Campbell, R.B., Balasubramanian, S.V., Straubinger, R.M. (2001). Influence of cationic lipids on the stability and membrane properties of paclitaxel-containing liposomes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90, 1091–1105.
7. Campbell, R.B., Balasubramanian, S.V., Straubinger, R.M. (2001). Phospholipid-cationic lipid interactions: influences on membrane and vesicle properties. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1512, 27–39.
8. Honerkamp-Smith, A.R., Veatch, S.L., Keller, S.L. (2009). An introduction to critical points for biophysicists; observations of compositional heterogeneity in lipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1788, 53–63.
9. Manca, M.L., Sinico, C., Maccioni, A.M., Diez, O., Fadda, A.M., Manconi, M. (2012). Composition influence on pulmonary delivery of rifampicin liposomes. *Pharmaceutics*, 4(4), 590–606.

10. Mannoek, D.A., Lewis, R.N.A.H., McMullen, T., McElhaney, R.N. (2010). The effect of variations in phospholipid and sterol structure on the nature of lipid – sterol interactions in lipid bilayer model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 163(6), 403–448.
11. Ali, S., Minchey, S., Janoff, A., Mayhew, E. (2000). A differential scanning calorimetry study of phosphocholines mixed with paclitaxel and its bromoacylated taxanes. *Biophysical Journal*, 78, 246–256.
12. Ostroumova, O.S., Efimova, S.S., Mikhailova, E.V., Schagina, L.V. (2014). The interaction of dipole modifiers with amphotericin-ergosterol complexes. Effects of phospholipid and sphingolipid membrane composition. *European Biophysics Journal*, 43(4), 207–215. DOI 10.1007/s00249-014-0946-0.
13. Bouwstra, J.A., Dubbelaar, F.E.R., Gooris, G.S., Ponc, M. (2000). The lipid organisation in the skin barrier. *Acta Dermato-Venereologica*, 208, 23–30.
14. Brasitus, T.A., Schachter, D. (1984). Lipid composition and fluidity of rat enterocyte basolateral membranes. Regional differences. *Biochimica et Biophysica Acta*, 774(1), 138–146.
15. Groen, D., Gooris, G.S., Bouwstra, J.A. (2009). New insights into the stratum corneum lipid organization by X-ray diffraction analysis. *Biophysical Journal*, 97, 2242–2249.
16. Kiselev, M.A. (2011). Methods for lipid nanostructure investigation at neutron and synchrotron sources. *Physics of Particles and Nuclei*, 42(2), 302–331.
17. Engström, S., Ekelund, K., Engblom, J., Eriksson, L., Sparr, E., Wennerström, H. (2000). The skin barrier from a lipid perspective. *Acta Dermato-Venereologica*, 208, 31–35.
18. Picquart, M., Nicolas, E., Laviolle, F. (1989). Membrane-damaging action of ricin on DPPC and DPPC-cerebrosides assemblies. A Raman and FTIR analysis. *European Biophysics Journal*, 17(3), 143–149.
19. Feigenson, G.W. (2009). Phase diagrams and lipid domains in multicomponent lipid bilayer mixtures. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1788, 47–52.
20. Ohtake, S., Schebor, C., Palecek, S.P., de Pablo, J.J. (2005). Phase behavior of freeze-dried phospholipid–cholesterol mixtures stabilized with trehalose. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1713, 57–64.
21. McMullen, T., Lewis, R., McElhaney, H.R. (1993). Differential scanning calorimetric study of the effect of cholesterol on the thermotropic phase behavior of a homologous series of linear saturated phosphatidylcholines. *Biochemistry*, 32, 516–522.
22. Diakowski, W., Ozimek, Ł., Bielska, E., Bem, S., Langner, M., Sikorski, A.F. (2006). Cholesterol affects spectrin–phospholipid interactions in a manner different from changes resulting from alterations in membrane fluidity due to fatty acyl chain composition. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1758, 4–11.
23. Koynova, R., Brankov, J., Tenchov, B. (1997). Modulation of lipid phase behavior by kosmotropic and chaotropic solutes. Experiment and thermodynamic theory. *European Biophysics Journal*, 25, 261–274.
24. Orczyk, M., Wojciechowski, K., Brezesinski, G. (2017). Disordering effects of digitonin on phospholipid monolayers. *Langmuir*, 33(15), 3871–3881.
25. Veikher, A.A. (Ed.). (1962). *Trebovaniia promyshlennosti k kachestvu mineralnogo syria: Spravochnik dlia geologov. Gliny i kaolin*. Moscow: Gosgeoltekhizdat, 54. (In Russian)
26. Sadchenko, A.O., Vashchenko, O.V., Kasian, N.A., Budianska, L.V., Lisetski, L.N. (2016). Correlations between molecular parameters of guest substances and their effect on model lipid membranes. *Functional Materials*, 23 (2), 230–235.
27. Yeagle, P.L. (Ed.). (1991). The structure of biological membranes, 2nd Ed. The mesomorphic phase behavior of lipid bilayers. *CRC Press*. 53–71.
28. Koynova, R., Caffrey, M. (1994). Phases and phase transitions of the hydrated phosphatidylethanolamines. *Chemistry and Physics of Lipids*, 69, 1–34.
29. Ikeda, Y., Inagaki, M., Yamada, K., Miyamoto, T., Higuchi, R., Shibata, O. (2009). Langmuir monolayers of cerebroside with different head groups originated from sea cucumber: Binary systems with dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 72, 272–283.
30. Nakahara, H., Nakamura, S., Nakamura, K., Inagaki, M., Asoc, M., Higuchi, R., Shibata, O. (2005). Cerebroside Langmuir monolayers originated from the echinoderms I. Binary systems of cerebrosides and phospholipids. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 42, 157–174.
31. Chapman, D., Urbina, J. (1974). Biomembrane Phase Transitions. Studies of lipid-water systems using differential scanning calorimetry. *Journal of Biological Chemistry*, 249(8), 2512–2521.
32. Mouritsen, O.G., Jorgensen, K. (1994). Dynamical order and disorder in lipid bilayers. *Chemistry and Physics of Lipids*, 73, 3–25.
33. Losada-Pérez, P., Mertens, N., de Medio-Vasconcelos, B., Slenders, E., Leys, J., Peeters, M., ... Thoen, J. (2015). Phase transitions of binary lipid mixtures: a combined study by adiabatic scanning calorimetry and quartz crystal microbalance with dissipation monitorings. *Advances in Condensed Matter Physics*, 2015. Article ID 479318.
34. Caffrey, M., Hing, F.S. (1987). A temperature gradient method for lipid phase diagram construction using time-resolved X-ray diffraction. *Biophysical Journal*, 51, 37–46.

35. Blume, A., Ackermann, T. (1974). A calorimetric study of the lipid phase transitions in aqueous dispersions of phosphorylcholine-phosphorylethanolamine mixtures. *FEBS Letters*, 43(1), 71–74.
36. Bouchet, A.M., Frias, M.A., Lairion, F., Martini, F., Almaleck, H., Gordillo, G., Disalvo, E.A. (1982). Structural and dynamical surface properties of phosphatidylethanolamine containing membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 30, 229–259.
37. Brown, D.A., London, E. (2000). Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *Journal of Biological Chemistry*, 275(23), 17221–17224.
38. Bagatolli, L.A., Gratton, E. (2001). Direct observation of lipid domains in free-standing bilayers using two-photon excitation fluorescence microscopy. *Journal of Fluorescence*, 11(3), 141–160.
39. Bagatolli, L., Kumar, P.B.S. (2009). Phase behavior of multicomponent membranes: Experimental and computational techniques. *Soft Matter*, 5, 3234–3248.
40. McElhaney, R.N. (1982). The use of differential scanning calorimetry and differential thermal analysis in studies of model and biological membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 30, 229–259.
41. Israelachvili, J.N., Mitchell, D.J. (1975). A model for the packing of lipids in bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 389, 13–19.
42. Benesch, M.G.K., Lewis, R.N.A.H., Mannock, D.A., McElhaney, R.N. (2015). A DSC and FTIR spectroscopic study of the effects of the epimeric cholestan-3-ols and cholestan-3-one on the thermotropic phase behavior and organization of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes: Comparison with their 5-cholesten analogs. *Chemistry and Physics of Lipids*, 187, 34–49.
43. Denolf, K., Cordoyiannis, G., Glorieux, C., Thoen, J. (2007). Effect of nonmesogenic impurities on the liquid crystalline phase transitions of octylcyanobiphenyl. *Physical Review*, 76, 051702.
44. Mojumdar E.H., Groen D., Gooris G.S., Barlow D.J., Lawrence M.J., Deme B., Bouwstra J.A. (2013). Localization of cholesterol and fatty acid in a model lipid membrane: a neutron diffraction approach. *Biophysical Journal*, 105, 911–919.
45. Rybin, V.G., Blinov, Iu.G. (2001). Antimikrobnye svoistva lipidov. *Izvestiia Tikhookeanskogo Rybokhoziaistvennogo Nauchno-Issledovatel'skogo Tsentra*, 129, 179–196. (In Russian)
46. Seddon, J.M., Templer, R.H., Warrender, N.A., Huang, Z., Cevc, G., Marsh, D. (1997). Phosphatidylcholine–fatty acid membranes: effects of headgroup hydration on the phase behaviour and structural parameters of the gel and inverse hexagonal (H_{II}) / phases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1327, 131–147.
47. Bothun, G.D., Boltz, L., Kurniawana, Y., Scholz, C. (2016). Cooperative effects of fatty acids and n-butanol on lipid membranephase behavior. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 139, 62–67.
48. Kaasgaard, T., Leidy, C., Crowe, J.H., Mouritsen, O.G., Jørgensen, K. (2003). Temperature-controlled structure and kinetics of ripple phases in one- and two-component supported lipid bilayers. *Biophysical Journal*, 85, 350–360.
49. Woldseth, B., Christensen, E., Christophersen, B.O. (1993). Incorporation of stearic acid (18:0) and palmitic acid (16:0) in phospholipid molecular species studied in isolated rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1167, 296–302.
50. Davis, J.M.G., Jaurand, M.-C. (Ed.). (1994). *Cellular and molecular effects of mineral and synthetic dusts and fibers*. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg.
51. Gao, N., Keane, M.J., Ong, T., Wallace, W.E. (2000). Effects of simulated pulmonary surfactant on the cytotoxicity and DNA-damaging activity of respirable quartz and kaolin. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 60(3), 153–167.
52. Gao, N., Keane, M.J., Ong, T., Ye, J., Miller, W.E., Wallace, W.E. (2001). Effects of phospholipid surfactant on apoptosis induction by respirable quartz and kaolin in NR8383 rat pulmonary macrophages. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 175, 217–225.
53. Miller, I.R., Bach, D., Wachtel, E.J., Eisenstein, M. (2002). Interrelation between hydration and interheadgroup interaction in phospholipids. *Bioelectrochemistry*, 58, 193–196.
54. Dumas, F., Sperotto, M.M., Lebrun, M.-C., Tocanne, J.-F., Mouritsen, O.G. (2007). Molecular sorting of lipids by bacteriorhodopsin in dilauroylphosphatidylcholine/distearoylphosphatidylcholine lipid bilayers. *Physical Review E*, 76, 051702.
55. Prenner, E.J., Lewis, R.N.A.H., Kondejewski, L.H., Hodges, R.S., McElhaney, R.N. (1999). Differential scanning calorimetric study of the effect of the antimicrobial peptide gramicidin S on the thermotropic phase behavior of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol lipid bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1417, 211–223.
56. Killian, J.A. (1998). Hydrophobic mismatch between proteins and lipids in membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1376, 401–416.
57. Riske, K.A., Domingues, C.C., Casadei, B.R., Mattei, B., Carità, A.C., Lira, R.B., Preté, P.S.C., de Paula, E. (2017). Biophysical approaches in the study of biomembrane solubilization: quantitative assessment and the role of lateral inhomogeneity. *Biophysical Reviews*, 9, 649–667.