

14  
**Молекулярное моделирование и ОКТ мониторинг оптического просветления кожи человека**

© К.В. Березин,<sup>1</sup> Е.В. Грабарчук,<sup>2</sup> А.М. Лихтер,<sup>2</sup> К.Н. Дворецкий,<sup>3</sup> Ю.И. Сурков,<sup>1,4</sup> В.В. Тучин<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Институт физики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012 Саратов, Россия

<sup>2</sup> Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева, 414056 Астрахань, Россия

<sup>3</sup> Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Министерства здравоохранения РФ, 410012 Саратов, Россия

<sup>4</sup> Научный медицинский центр, Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012 Саратов, Россия  
e-mail: e-mail: dcn@yandex.ru

Поступило в Редакцию 31 декабря 2023 г.

В окончательной редакции 31 декабря 2023 г.

Принято к публикации 31 декабря 2023 г.

С использованием оптического когерентного томографа получены результаты иммерсионного оптического просветления кожи человека *in vivo* с использованием в качестве просветляющего агента водного раствора глюкозамина гидрохлорида. Для оценки эффективности оптического просветления определяли величину скорости снижения коэффициента светорассеяния, полученную с помощью усредненного А-скана — изображения томографа в области дермы на глубине от 350 до 700  $\mu\text{m}$ . Проведено комплексное молекулярное моделирование, которое включает в себя методы классической молекулярной динамики и методы квантовой химии HF/STO3G/DFT/B3LYP/6–311G(d) межмолекулярного взаимодействия ряда просветляющих агентов, относящихся к амино и иминосахарам (глюкозамин, галактозамин, 1-дезоксинодиримицин) с фрагментом коллагенового пептида (GPH)<sub>3</sub>. Установлены корреляции между эффективностью оптического просветления и такими теоретическими параметрами как среднее число водородных связей, образовавшихся между просветляющими агентами и фрагментом коллагенового пептида (GPH)<sub>3</sub> и энергией межмолекулярного взаимодействия просветляющих агентов с этим же пептидом. С помощью построенной корреляции предсказаны значения эффективности оптического просветления для молекул глюкозамина, галактозамина и 1-дезоксинодиримицина.

**Ключевые слова:** молекулярное моделирование, оптическое просветление кожи человека, водородные связи, молекулярная динамика, квантовая химия, аминоксахара.

DOI: 10.61011/JTF.2024.03.57392.318-23

## Введение

Применение современных методов фотомедицины и биомедицинской оптики для диагностики и терапии заболеваний сопряжено с трудностями, возникающими из-за сильного рассеяния света в УФ, видимом и ближнем ИК диапазонах, свойственного коже и многим другим мягким и твердым тканям [1]. Такое рассеяние происходит из-за неоднородности показателей преломления на границах различных макромолекулярных структур, главным образом на коллагеновых волокнах, которые в первую очередь ответственны за светорассеяние в коже [2]. Эти трудности, в частности, можно преодолеть путем местной доставки в ткань биосовместимых молекулярных агентов, что в некоторой степени способствует ее оптическому просветлению [1,3–6]. Экспериментальному изучению оптическому просветлению различных тканей *in vivo*, *ex vivo* и *in vitro* посвящено множество

обширных работ — аналитических обзоров и монографий [1,3–11], что доказывает актуальность проблемы. Во многих статьях представлены интересные применения метода оптического просветления или доказано его универсальность и мультимодальность. Например, в судебно-медицинской экспертизе описано применение оптической когерентной томографии (ОКТ) для посмертной четкой визуализации перинатальной твердой мозговой оболочки и верхнего сагиттального синуса у новорожденных [12], а в работе [13] был представлен быстрый и универсальный метод оптического просветления. В работе [14] оценивается синергетический эффект действия просветляющего агента (ПЭГ-400), двух усилителей проникновения (триазина и 1,2-пропандиола) и физического массажа на эффективность оптического просветления кожи крыс с использованием ОКТ. В работе [15] представлена математическая модель решения обратной задачи взаимодействия света с биотканью

для определения кинетики коэффициентов рассеяния и поглощения при оптическом просветлении с учетом осмотического давления оптического просветляющего агента. Два подхода на основе ОКТ для неинвазивной идентификации локальной молекулярной диффузии просветляющих агентов описаны в [16]. Исследования сахарного диабета на лабораторных мышах показали значительное затруднение диффузии просветляющих агентов в гликированные ткани [17]. Механизмы оптического просветления кожи с глицерином и рентгенографическим агентом Omnipaque™ в качестве просветляющих агентов были изучены с использованием методов автофлуоресценции двухфотонного возбуждения и генерации второй гармоники [18]. Авторы [19] с помощью многофотонной томографии рассмотрели механизмы оптического просветления в коллагеновой ткани в нормальном и гликированном состояниях. Дегидратирующие свойства просветляющих агентов изучены в [20]; было отмечено, что дегидратация является лишь одним из возможных механизмов оптического просветления биотканей. Другим механизмом является увеличение показателя преломления тканевой жидкости за счет диффузии внутрь кожи просветляющего агента. Это приводит к улучшению оптического согласования между матриксом ткани кожи (компоненты эпидермальных клеток, базальная мембрана, фибриллярные коллагены и связанные с ними белки дермы) и окружающей тканевой жидкости. Еще один механизм, который может влиять на процесс оптического просветления это обратимая диссоциация фибрилл коллагена [21], которая осуществляется за счет дегидратации самого коллагена [22], и возможно последующего частичного замещения связанной воды на молекулы просветляющего агента. В работе [23] с помощью конфокальной рамановской микроскопии *ex vivo* исследовали движение воды в коже уха свиньи под действием 70% водного раствора глицерина и Omnipaque™ 300. Отмечается, что слабосвязанные, так и сильносвязанные типы воды вместе составляют приблизительно 93% общего содержания воды в коже, и они в основном участвуют во взаимодействии с просветляющими агентами.

Дальнейшие исследования в этой области направлены на понимание физических и биофизических процессов, лежащих в основе механизмов оптического просветления на молекулярном уровне [4,6,24–27], что, в свою очередь, должно позволить найти новые эффективные просветляющие агенты, обладающие заданными свойствами и оптимальны для конкретного типа ткани.

В настоящей работе описаны молекулярные механизмы оптического просветления кожи человека *in vivo* на примере действия водного раствора гидрохлорида глюкозамина. Глюкозамин представляет собой аминокислоту и является одним из самых распространенных моносахаров [28], который имеет важное значение при синтезе гликозированных белков и липидов. В медицине гидрохлорид глюкозамина применяется в виде пищевой добавки [29]. В качестве оптического просветляющего

агента он представляет интерес, так как относится к другой группе ранее изученных сахаров (моно-, дисахара), которые показали высокую степень эффективности оптического просветления кожи человека.

Впервые были построены молекулярные модели комплексов соединений молекул глюкозамина, галактозамина и 1-дезоксинодиримицина с фрагментом пептида коллагена. Рассчитаны параметры межмолекулярного взаимодействия, и по данным корреляции теоретически предсказана эффективность оптического просветления для молекул глюкозамина, галактозамина и 1-дезоксинодиримицина.

## 1. Материалы и методы

Для исследования оптического просветления кожи человека здоровых добровольцев использовался водный раствор глюкозамина гидрохлорида (60%).

Раствор глюкозамина гидрохлорида готовили методом точного взвешивания: на микроаналитических весах (DA-225DC с калибровкой (0.001 g), Bel Engineering, Италия). Взвешивали компоненты раствора, которые затем переносили в мерную колбу для растворения и тщательно перемешивались с помощью вихревой мешалки.

Показатель преломления измеряли с помощью многоволнового рефрактометра Аббе Atago DR-M2 1550 (Atago, Япония) на длине волны 930 nm при температуре 23.8°С. Значения показателя преломления водного раствора гидрохлорида глюкозамина приведены в табл. 1. Для сравнения в таблице приведены характеристики еще двух исследованных в [25] просветляющих агентов, осмолярность которых значительно отличается от гидрохлорида глюкозамина.

Метод ОКТ использовался для оценки оптических просветляющих свойств гидрохлорида глюкозамина при местном нанесении на кожу во время исследований *in vivo*. Оптический когерентный томограф OCP930SR (Thorlabs, США) имел следующие параметры: длина волны центрального излучения  $930 \pm 5$  nm, осевое и латеральное разрешение 6.2 и 9.6  $\mu$ m соответственно (в воздухе), длина области сканирования 2 mm.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено Этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского (№ 11 от 7 августа 2022 г.). Измерения проводились на участке кожи тыльной стороны предплечья. Роговой слой на этом участке кожи предварительно удалили медицинским скотчем. Двумерные сканы (В-сканы) исследуемой области записывали до воздействия оптических просветляющих агентов, затем в течение 60 nm воздействия с интервалом в 3 nm. В измерениях приняли участие четыре добровольца в возрасте от 35 до 55 лет обоих полов. Всего было проведено пять измерений для данного иммерсионного агента.

Таблица 1. Физические свойства просветляющих агентов

Иммерсионный агент	Химическая формула	Молекулярный вес (g·mol <sup>-1</sup> )	Показатель преломления	Осмоляльность (mOsm/kg water)
Глюкозамин гидрохлорид водный раствор (60%)	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub> *	179.17*	1.4304	2782**
Сахароза водный раствор (60%)	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> *	342.30*	1.4310 [25]	1753***
Omnipaque™ 300	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> I <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>9</sub> *	821.14*	1.4275 [25]	672 [30]

Примечание. \* — обозначения и значения даны для основных веществ в растворе; \*\* — расчетное значение в приближении малой диссоциации; \*\*\* — расчетное значение.

Согласно модели однократного рассеяния, зарегистрированный ОКТ сигнал [16,31–34]:

$$R(z) \sim \exp(-\mu_t z), \quad (1)$$

где коэффициент ослабления

$$\mu_t = \mu_s + \mu_a, \quad (2)$$

$z$  — глубина сканирования.

Поскольку коэффициент кожного поглощения  $\mu_a$  значительно меньше коэффициента рассеяния  $\mu_s$  [1], коэффициент ослабления  $\mu_t$  можно считать примерно равным коэффициенту рассеяния, поэтому  $R(z)$  можно аппроксимировать выражением [35]

$$R(z) = A \exp(-\mu_s z) + B, \quad (3)$$

где  $A$  — коэффициент пропорциональности, равный  $P_0 a(z)$ ,  $P_0$  — оптическая сила луча, падающего на поверхность ткани,  $a(z)$  определяется локальной способностью ткани рассеивать свет назад, которая зависит от локального изменения показателя преломления, а  $B$  — фоновый сигнал. Подбор коэффициентов в приведенном выражении для аппроксимации экспериментальной кривой позволяет оценить усредненный по глубине коэффициент рассеяния образца ткани.

## 2. Экспериментальные результаты

На рис. 1 представлены анализируемый участок ОКТ изображения (В-сканы), а также усредненный А-скан ОКТ сигнала дермального слоя кожи человека *in vivo* (через 25 мин после нанесения оптического просветляющего агента) и аппроксимирующая кривая, построенная с помощью использования модели однократного рассеяния (уравнение (3)). Сигналы ОКТ в виде А-сканов усреднялись по всей длине скана 2 мм вдоль поверхности кожи. Значения коэффициента рассеяния определялись в области усредненного А-скана на глубинах от 350 до 700  $\mu\text{m}$ .

Для оценки эффективности оптического просветления кожи *in vivo* использовали значения коэффициента рассеяния, полученные с помощью усредненного А-скана в области дермы на глубинах от 350 до 700  $\mu\text{m}$ . На рис. 2 представлена зависимость коэффициентов рассеяния под

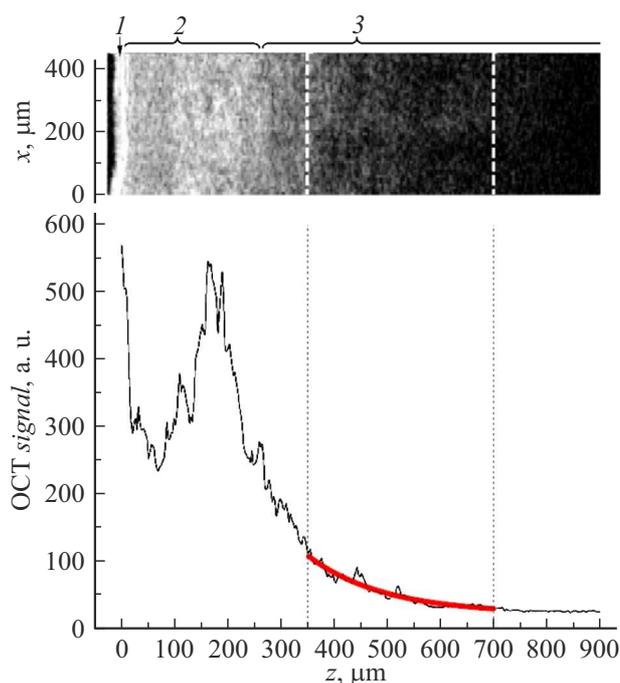


Рис. 1. Измерения коэффициента рассеяния  $\mu_s$  на участке дермы после нанесения на поверхность раствора гидрохлорида глюкозамина на основе анализа распределения ОКТ сигнала, усредненного по глубине с помощью модели однократного рассеяния. Сверху изображены фрагменты В-скана кожи *in vivo*, по которому проводилось усреднение ОКТ сигнала. Цифрами обозначены слои кожного покрова: роговой слой (1), эпидермис (2) и дерма (3). Снизу — распределение усредненного ОКТ сигнала по глубине (тонкая кривая) и результат аппроксимации согласно модели однократного рассеяния (толстая кривая). Штриховыми прямыми на рисунках обозначены границы участков (от 350 до 700  $\mu\text{m}$ ), на которых оценивалось значение  $\mu_s$ .

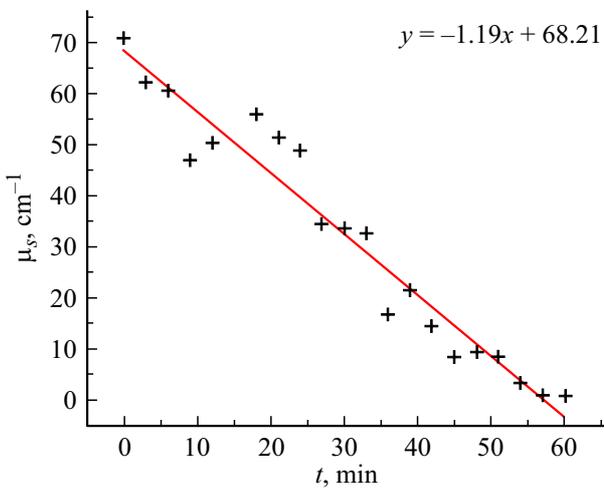
действием просветляющего агента от времени наблюдения. Видно, что значение оптического просветления на большом интервале времени достаточно хорошо описывается моделью линейной регрессии (коэффициент детерминации  $R^2$  равен 88%).

Значения модуля средней скорости снижения коэффициента рассеяния использовались для численной оценки эффективности оптического просветления (ЭОП) кожи

**Таблица 2.** Значения энергий межмолекулярного взаимодействия между фрагментом коллагена (GPH)<sub>3</sub> и исследуемыми и сравниваемыми просветляющими агентами, рассчитанные с использованием метода HF/STO-3G/B3LYP/6-311G(d), среднее число межмолекулярных водородных связей *N* в единицу времени, а также экспериментальные и предсказанные значения эффективности оптического просветления и их ошибки стандартного отклонения

№	Просветляющий агент	<i>N</i> , ps <sup>-1</sup>	Δ <i>E</i> , kJ/mol	ЭОП, cm <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>
1	Глюкозамин	1.076	-148.9	1.19 ± 0.06 (1.09*, 1.16**)
2	Галактозамин	1.016	-146.0	1.05*, 1.11**
3	1-дезоксинодиримицин	1.143	-127.9	0.79*, 1.22**
4	Сахароза	0.812 [26]*	-144.8 [25]	1.05 ± 0.12 [25]
5	Йогексол	0.881	-130.5 [25]	0.78 ± 0.09 [25]

Примечание. \* — предсказанные с помощью регрессионного анализа значения эффективности оптического просветления как функции от энергии межмолекулярного взаимодействия между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена; \*\* — предсказанные с помощью регрессионного анализа значения эффективности оптического просветления как функции от количества водородных связей между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена.



**Рис. 2.** Временная зависимость коэффициента рассеяния  $\mu_s$  в дермальном участке (350–700  $\mu\text{m}$ ) кожи человека при действии просветляющего агента, полученная по экспериментальным данным ОКТ с использованием приближения модели однократного рассеяния водного раствора гидрохлорида глюкозамина. Линейная аппроксимация отмечена сплошной линией и выражена в виде уравнения.

человека. Это значение представлено в виде наклона, определенного из уравнения линии регрессии (табл. 2).

### 3. Молекулярное моделирование

Как и в предыдущих работах [6,24–27], при моделировании использовалась структура пептида-миметика коллагена ((GPH)<sub>3</sub>)<sub>9</sub> [36] и ее сокращенный вариант ((GPH)<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Этот пептид представляет собой наибольшую часть регулярных доменов человеческого коллагена. Пространственная структура построена по данным Protein Data Bank (PDB). В модели были добавлены атомы водорода с последующей оптимизацией геометрической структуры методом молекулярной механики [37]. В качестве просветляющих агентов использовали моле-

кулярные модели глюкозамина, галактозамина, 1-дезоксинодиримицина.

На начальном этапе с помощью метода DFT/B3LYP/6-311+G(d,p) [38,39], реализованного в программе Gaussian [40], был проведен конформационный анализ молекулярных моделей рассматриваемых просветляющих агентов, найдены минимальные энергетические пространственные конфигурации и распределение зарядов на атомах по Маллекену. Для подтверждения того, что все молекулярные модели находятся в локальных минимумах энергии, были также рассчитаны колебательные волновые числа, которые были проверены на отрицательные значения. Относительная населенность конформеров в смеси определялась по формуле:

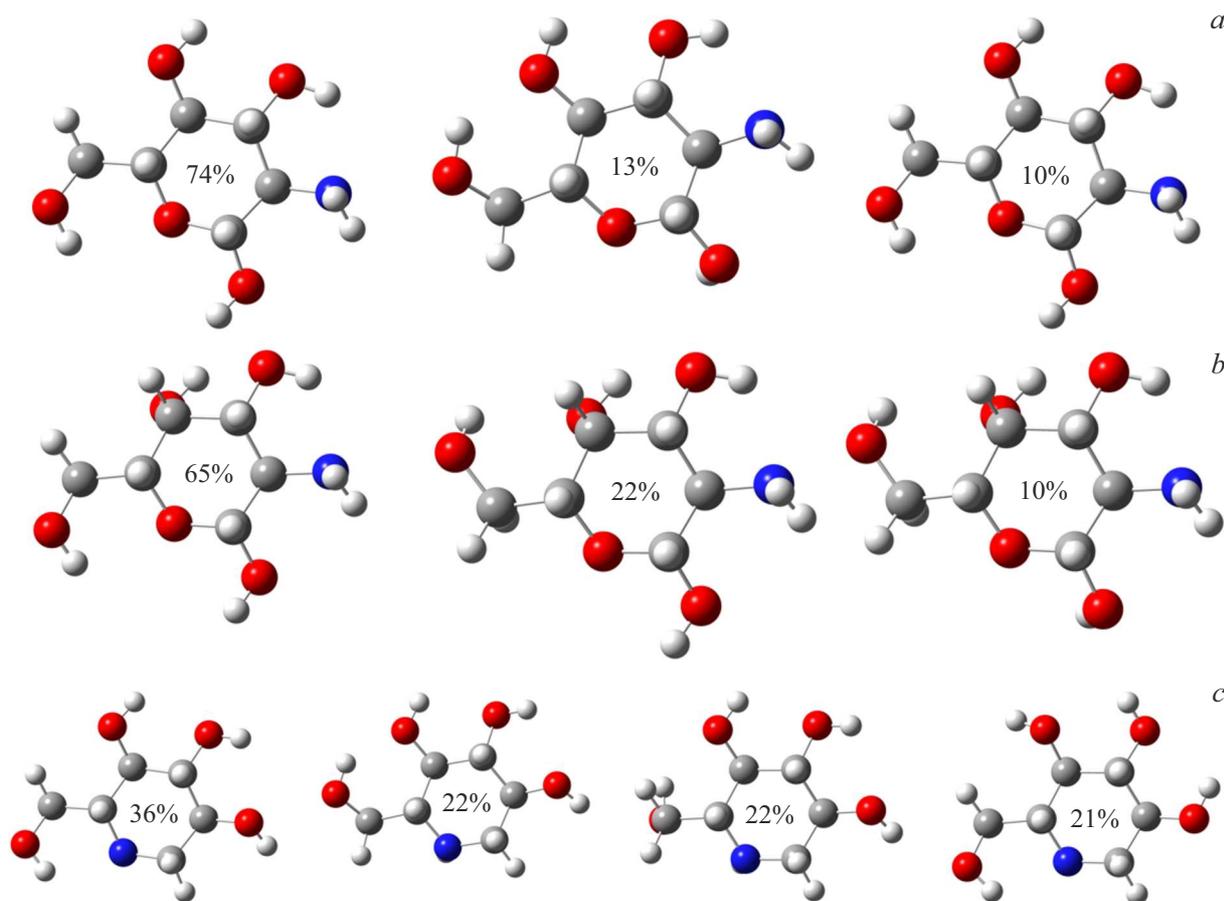
$$N_i = \frac{\exp(-F_i/RT)}{\sum_i^n \exp(-F_i/RT)}, \tag{4}$$

где  $F_i$  — разница полных электронных энергий конформеров,  $R$  — универсальная газовая постоянная,  $T$  — абсолютная температура (при расчете использовалось значение 298.15 K).

Оптимизированная пространственная структура самых значимых конформаций молекул глюкозамина, галактозамина и 1-дезоксинодиримицина представлены на рис. 3.

На рис. 3 видно, что низкими по энергии являются конформеры с максимальным числом внутримолекулярных водородных связей. Поскольку в данном случае для каждой молекулы имеется несколько конформеров с одинаковым числом внутримолекулярных водородных связей, то для определения самых низких по энергии конформеров был произведен полный конформационный анализ всех возможных конфигураций. При расчете энергий межмолекулярного взаимодействия использовались только самые низкие по энергии молекулярные конфигурации просветляющих агентов.

На следующем этапе моделирование межмолекулярного взаимодействия просветляющих агентов с пептидами коллагена проводилось с помощью пакета классической молекулярной динамики GROMACS [41] с силовым



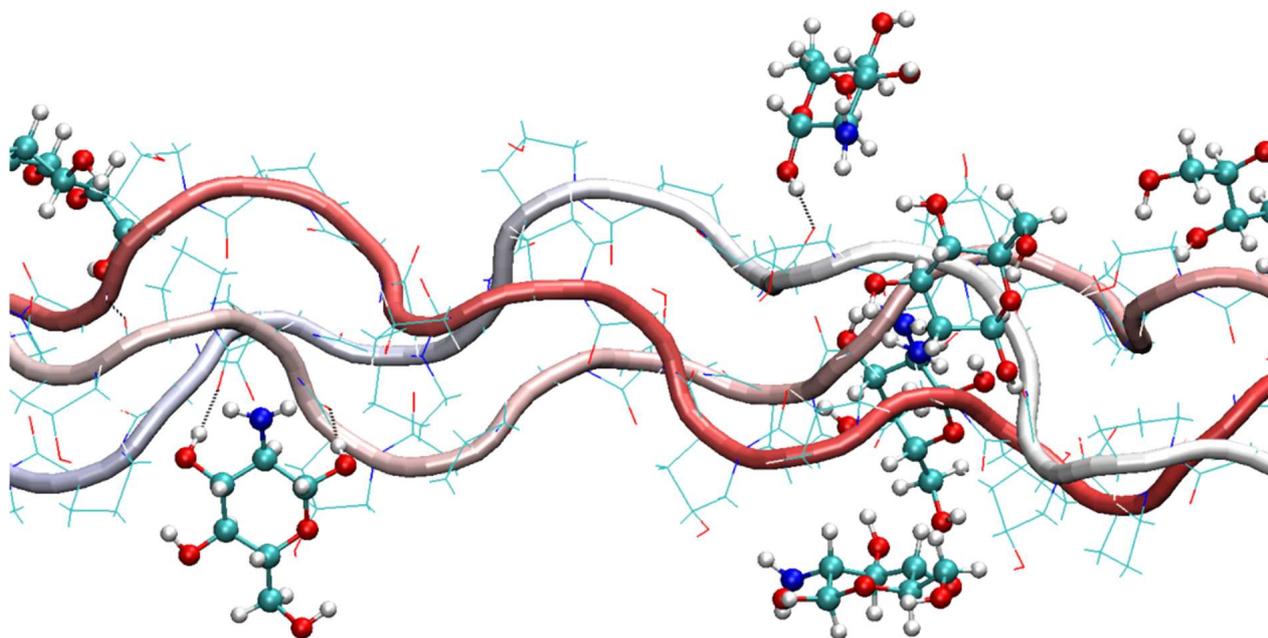
**Рис. 3.** Оптимизированная методом DFT/B3LYP/6-311+G(d,p) пространственная структура самых значимых по энергии конформаций молекул глюкозамина (a), галактозамина (b) и 1-дезоксинидримицина (c). Числами на рисунке указаны процентный вклад каждого конформера в их общей смеси (вычисленные значения округлялись до целых).

полем AMBER-03 [42]. Модельная сцена представляет собой трехмерную ячейку в форме прямоугольного параллелепипеда с длинами сторон:  $3 \times 3 \times 9$  nm. Границы ячейки выбирались периодическими (в случае столкновения с границей молекула проходит через нее, появляясь со стороны противоположной границы). Перед началом каждого моделирования 20 молекул агента распределяются случайным образом в пределах ячейки. Начальные скорости атомов задавались с помощью генератора случайных чисел пакета GROMACS и имели максвелловское распределение, соответствующее выбранной температуре. Для моделирования системы использовались термостат и баростат Берендсена [43], обеспечивающие сходимость температуры и давления системы к установленным значениям:  $T_0 = 300$  K и  $P_0 = 1$  bar. Временной шаг моделирования был выбран равным 0.0001 ps, а полное время моделирования составило 100 ps. Состояние системы записывалось каждые 0.1 ps. Записанные траектории движения молекул обрабатывались средствами пакета GROMACS и с помощью программы VMD (Visual Molecular Dynamics) [44]. Для каждой исследуемой системы моделирование повторялось 30 раз, полученные результаты усреднялись.

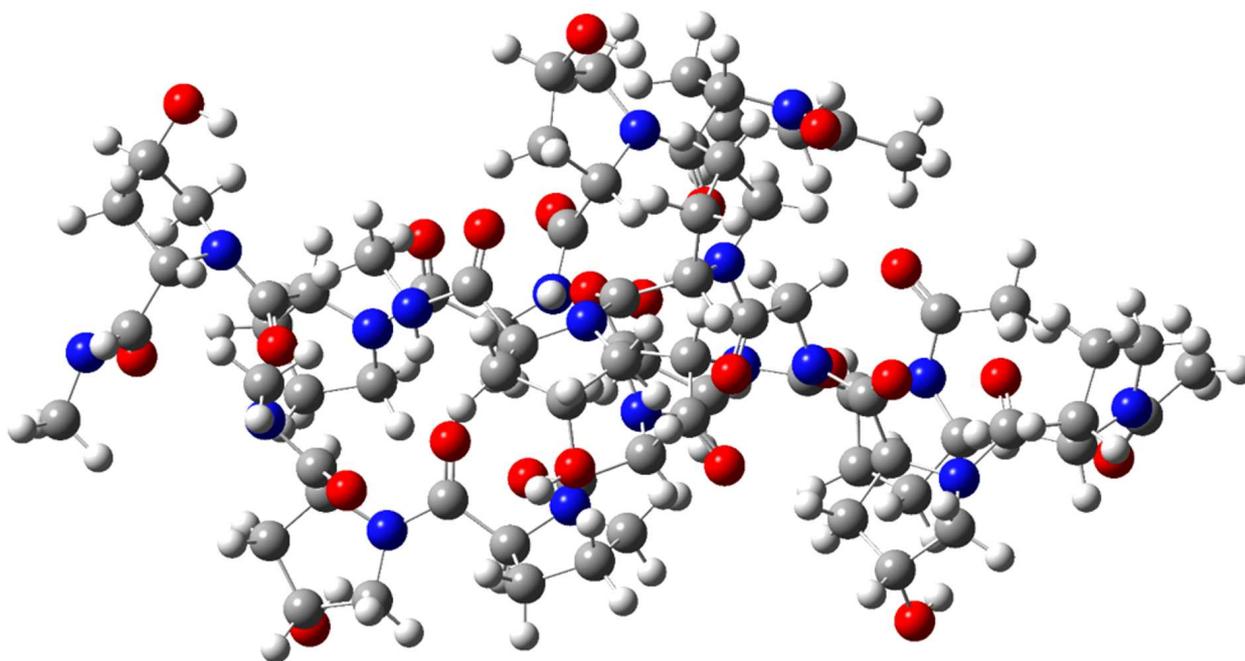
При анализе полученных в результате моделирования траекторий движения молекул считалось, что между атомами образуется водородная связь, если выполняются следующие геометрические критерии:  $R \leq 3.5$  Å [45] и  $\phi \leq 30^\circ$ , где  $R$  — расстояние между атомом „донора“ А, ковалентно связанным с атомом водорода Н, и атомом „акцептора“ В другой молекулы (или функциональной группы той же молекулы), а  $\phi$  — угол, образованный связями АН и АВ. Пример такого взаимодействия приведен на рис. 4. В рамках этого этапа моделирования было оценено среднее число водородных связей, образовавшихся между низкомолекулярными агентами и коллагеном в единицу времени.

Затем с помощью метода HF/STO-3G была оптимизирована структурная модель фрагмента пептида коллагена  $((\text{GPH})_3)_2$ , имеющего регулярную структуру и состоящего из 231 атома (рис. 5) [46].

Эта оптимизированная модель была использована при молекулярном докинге с просветляющими агентами с помощью программы AutoDockVina [47]. Для каждого просветляющего агента были выбраны десять наиболее стабильных оптимизированных конфигураций межмолекулярных комплексов, структура которых бы-



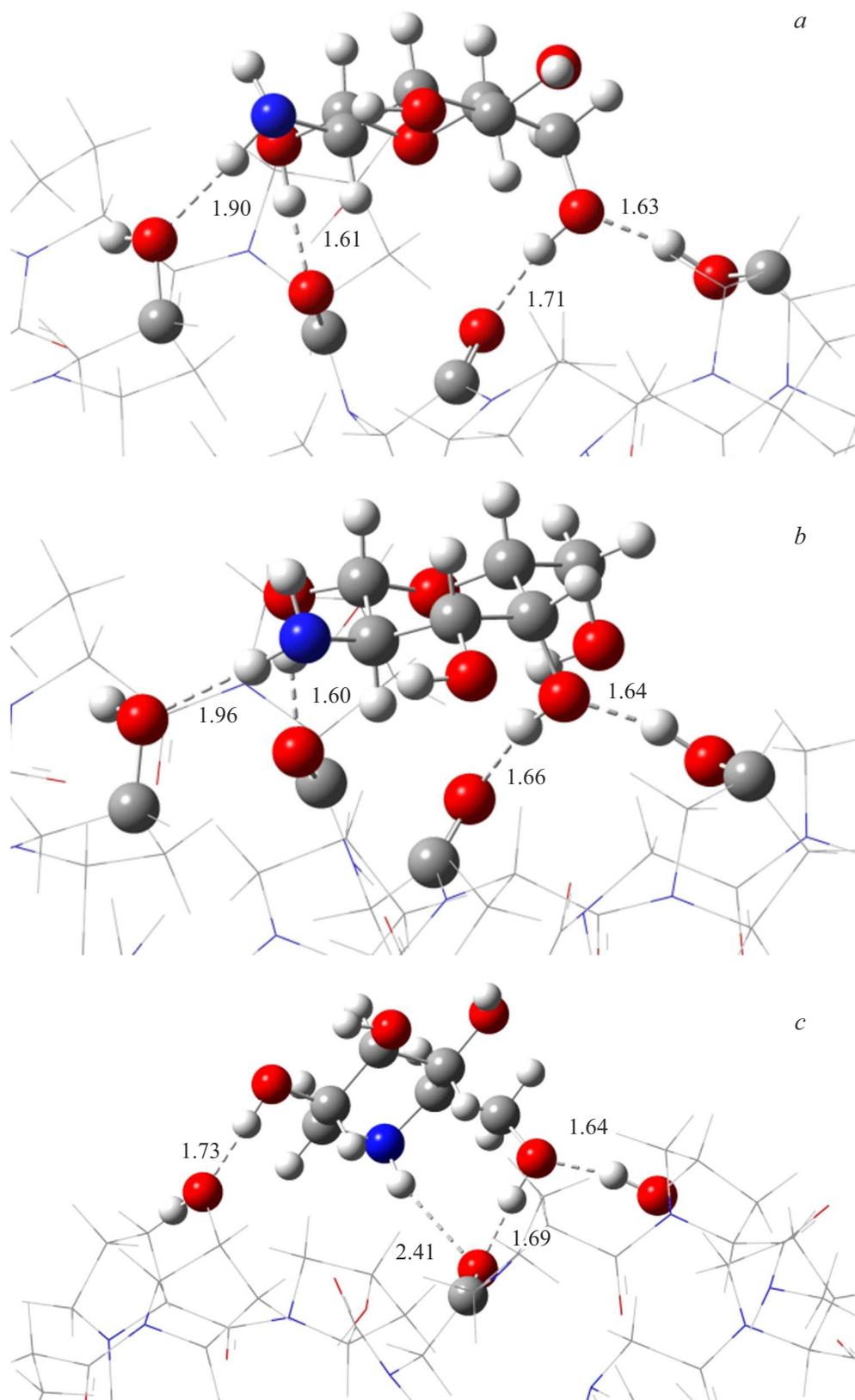
**Рис. 4.** Фрагмент пространственной структуры водородсвязанного комплекса молекул глюкозамина и коллагенового пептида  $((\text{GPH})_3)_9$ , полученный в рамках классической молекулярной динамики.



**Рис. 5.** Оптимизированная методом HF/STO-3G пространственная структура фрагмента пептида коллагена  $((\text{GPH})_3)_2$ .

ла дополнительно оптимизирована методом HF/STO-3G. Затем для каждого комплекса методом DFT/B3LYP/6-311G(d) рассчитывали полную электронную энергию с использованием однократной процедуры SCF. Эту же процедуру использовали для расчета полной электронной энергии просветляющих агентов и фрагмента пептида коллагена. Энергию межмолекулярного взаи-

модействия рассчитывали, как разность полной электронной энергии комплекса и энергий отдельных компонентов. Пространственные структуры самых сильных по энергии взаимодействия межмолекулярных комплексов пептида коллагена с молекулами глюкозамина, галактозамина, 1-дезоксинодиримицина показаны на рис. 6.



**Рис. 6.** Пространственные конфигурации фрагментов водородосвязанных комплексов с максимальным значением межмолекулярного взаимодействия, образованных фрагментом пептида коллагена  $((\text{GPH})_3)_2$  и молекулами глюкозамина (*a*), галактозамина (*b*) и 1-дезоксидириимидина (*c*) после оптимизации методом HF/STO-3G. Штриховой линией показаны межмолекулярные водородные связи. Числами на рисунке указаны длины водородных связей в ангстремах.

#### 4. Обсуждение

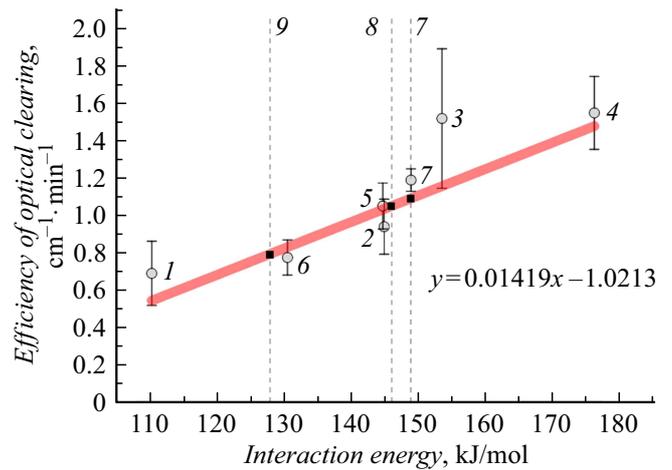
Как видно из рис. 6, количество образованных межмолекулярных водородных связей у всех просветляющих агентов при взаимодействии с пептидом коллагеном одинаково. Средняя длина водородной связи в комплексе глюкозамин– $((GPH)_3)_2$  составляет 1.71 Å, в аналогичном комплексе галактозамина — 1.72 Å, в комплексе 1-дезоксинодиримицина — 1.87 Å. В данном случае наблюдается полная корреляция между силой межмолекулярного взаимодействия и средней длиной водородной связи. Следует отметить, что данная корреляция не всегда верна при описании силы межмолекулярного взаимодействия, это так же касается и корреляции между количеством водородных связей и силой межмолекулярного взаимодействия [26]. Это связано, в частности, с тем, что значительная энергия может использоваться на структурное преобразование молекулярных систем при создании комплекса.

Значения энергий межмолекулярного взаимодействия и эффективность оптического просветления (модуля средней скорости снижения коэффициента рассеяния), полученные с помощью ОКТ, приведены в табл. 2.

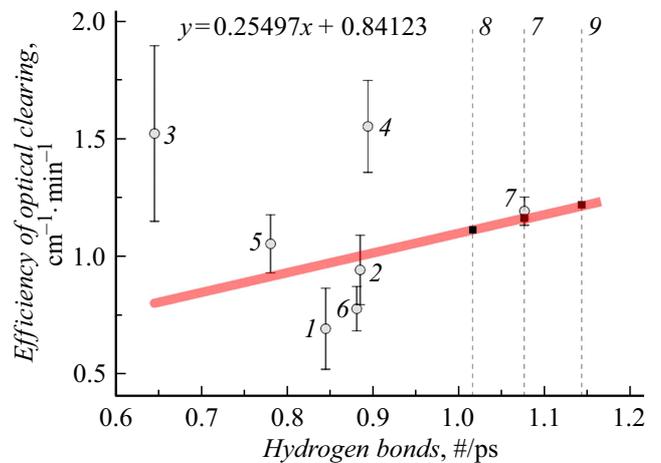
Для построения зависимостей эффективности оптического просветления кожи человека *in vivo* от энергии межмолекулярного взаимодействия между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена  $((GPH)_3)_2$  (рис. 6) и средним числом водородных связей, образовавшихся между просветляющими агентами и фрагментом этого же пептида (рис. 7) использовались экспериментальные данные из работы [25].

Представленные на рис. 7 энергии межмолекулярного взаимодействия для различных комплексов просветляющих агентов с пептидом коллагена имеют заметную корреляцию с эффективностью оптического просветления кожи человека, полученной *in vivo*. Значение коэффициента линейной корреляции составляет 0.93. Корреляция была построена с использованием первых шести просветляющих агентов. Полученная корреляция была использована для теоретического предсказания значений эффективности оптического просветления для трех просветляющих агентов (глюкозамин, галактозамин, 1-дезоксинодиримицин). Относительная ошибка при теоретическом определении эффективности оптического просветления для глюкозамина составила 8.2%.

По аналогии с предыдущей зависимостью на рис. 8 также представлены результаты регрессионного анализа эффективности оптического просветления кожи человека *in vivo* от количества водородных связей между просветляющим агентом и фрагментом коллагена. Значение коэффициента линейной корреляции составляет 0.46. По аналогии полученная корреляция была использована для теоретического предсказания значений эффективности оптического просветления для трех просветляющих агентов (глюкозамин, галактозамин, 1-дезоксинодиримицин). Относительная ошибка при теоретическом определении эффективности оптического просветления для глюкозамина составила 2.5%.



**Рис. 7.** Зависимость величины эффективности оптического просветления кожи человека *in vivo* от энергии межмолекулярного взаимодействия между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена  $((GPH)_3)_2$ . Цифрами 1–6 обозначены различные виды просветляющих агентов [25]: 1 — глицерин, 2 — рибоза, 3 — фруктоза, 4 — глюкоза, 5 — сахароза, 6 — йогексол. Цифрами 7–9 на регрессионной прямой отмечены предсказанные значения эффективности оптического просветления для глюкозамина, галактозамина и 1-дезоксинодиримицина.



**Рис. 8.** Зависимость величины эффективности оптического просветления кожи человека *in vivo* от количества водородных связей между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена  $((GPH)_3)_2$ . Цифрами 1–6 обозначены различные виды просветляющих агентов [25]: 1 — глицерин, 2 — рибоза, 3 — фруктоза, 4 — глюкоза, 5 — сахароза, 6 — йогексол. Цифрами 7–9 на регрессионной прямой отмечены предсказанные значения эффективности оптического просветления для глюкозамина, галактозамина и 1-дезоксинодиримицина.

ретическом определении эффективности оптического просветления для глюкозамина составила 2.5%.

Несмотря на то что относительная ошибка при определении эффективности оптического просветления глюкозамина по данным классической молекулярной

динамики меньше, корреляция параметров в этом случае значительно хуже, чем корреляция параметров, полученных с помощью методов квантовой механики. Как уже отмечалось в работе [26], это, на наш взгляд, связано с тем, что классическая молекулярная динамика по сравнению с методами квантовой механики менее корректно учитывает конкуренцию между внутримолекулярными и межмолекулярными водородными связями.

Из сравнения данных, приведенных в табл. 1 и 2, видно, что эффективность оптического просветления не зависит напрямую от величины показателя преломления и осмоляльности. На основании этого можно сделать вывод о важной роли постдиффузионного этапа, на котором коллаген взаимодействует с просветляющими агентами. Результаты молекулярного моделирования позволяют предположить, что взаимодействие просветляющих агентов с коллагеном приводит к частичному замещению связанной с коллагеном воды. В итоге это приводит к обратимой диссоциации коллагена [21], это, в свою очередь, снижает средний показатель преломления, что позволяет лучше согласовать их средний показатель преломления с показателями межколлагеновой среды. Чем выше сродство просветляющего агента к коллагену, тем эффективнее процесс оптического просветления кожи.

## Заключение

В работе впервые *in vivo* установлено значение эффективности оптического просветления 60% водного раствора гидрохлорида глюкозамина, которое по величине оказалось близко к 60% водному раствору сахаразы. С помощью методов классической молекулярной динамики и квантовой химии предсказаны значения эффективности оптического просветления для молекул галактозамина и 1-дезоксинодиримицина.

Молекулярное моделирование показывает, что принципиальным шагом на пути повышения эффективности межмолекулярного взаимодействия является выбор молекулярного агента с определенными структурными характеристиками, позволяющими ему взаимодействовать с двумя или более молекулярными карманами коллагена одновременно, что показано в работе [48] для полиэтиленгликоля 400. Такой эффективный просветляющий агент может быть представлен молекулярной системой полимерного типа, состоящей, например, из шестиатомных моносахаридов, связанных подвижной углеродно-кислородной цепью такой длины, которая позволяет насыщенным сахарным кольцам достигать молекулярных карманов коллагена и взаимодействовать с ними через гидроксильные группы. Следует отметить, что увеличение размера молекул, используемых в качестве просветляющего агента, приведет к увеличению их вязкости и, как следствие, к уменьшению коэффициента диффузии в тканях, а также к увеличению времени, необходимого для его вымывания из тканей.

## Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта (№ 23-14-00287) Российского научного фонда.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] V.V. Tuchin. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnostics*, 3rd ed. (PM 254, SPIE Press, Bellingham, WA, 2015), p. 988.
- [2] H. Jonasson, I. Fredriksson, S. Bergstrand, C.J. Östgren, M. Larsson, T. Strömberg. *J. Biomed. Opt.*, **23** (12), 121608 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.12.121608
- [3] V.V. Tuchin, D. Zhu, E.A. Genina (eds.) *Handbook of Tissue Optical Clearing: New Prospects in Optical Imaging* (Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton, FL, 2022), p. 688.
- [4] J.M. Hirshburg. *Chemical Agent Induced Reduction of Skin Light Scattering: Doctoral Dissertation* (Texas A&M University, 2009), p. 119.
- [5] D. Zhu, K.V. Larin, Q. Luo, V.V. Tuchin. *Laser Photon. Rev.*, **7** (5), 732 (2013). DOI: 10.1002/lpor.201200056
- [6] A.N. Bashkatov, K.V. Berezin, K.N. Dvoretzkiy, M.L. Chernavina, E.A. Genina, V.D. Genin, V.I. Kochubey, E.N. Lazareva, A.B. Pravdin, M.E. Shvachkina, P.A. Timoshina, D.K. Tuchina, D.D. Yakovlev, D.A. Yakovlev, I.Yu. Yanina, O.S. Zhernovaya, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **23** (9), 091416 (2018). DOI: 10.1117/1.JBO.23.9.091416
- [7] L. Oliveira, V.V. Tuchin. *The Optical Clearing Method: A New Tool for Clinical Practice and Biomedical Engineering* (Springer Nature Switzerland AG, Basel, 2019), p. 188. DOI: 10.1007/978-3-030-33055-2
- [8] I. Costantini, R. Cicchi, L. Silvestri, F. Vanzi, F.S. Pavone. *Biomed. Optics Express*, **10** (10), 5251 (2019). DOI: 10.1364/boe.10.005251
- [9] P. Matryba, L. Kaczmarek, J. Gołąb. *Laser Photon. Rev.*, **13** (8), 1800292 (2019). DOI: 10.1002/lpor.201800292
- [10] T. Yu, J. Zhu, D. Li, D. Zhu. *Science*, **24** (3), 102178 (2021). DOI: 10.1016/j.isci.2021.102178
- [11] I.S. Martins, H.F. Silva, E.N. Lazareva, N.V. Chernomyrdin, K.I. Zaytsev, L.M. Oliveira, V.V. Tuchin. *Biomed. Optics Express*, **14** (1), 249 (2023). DOI: 10.1364/BOE.479320
- [12] E.C. Cheshire, R.D.G. Malcomson, S. Joseph, A. Adnan, D. Adlam, G.N. Ruddy. *Int. J. Legal Med.*, **131**, 1377 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00414-017-1570-1>
- [13] T. Yu, J. Zhu, Y. Li, Y. Ma, J. Wang, X. Cheng, S. Jin, Q. Sun, X. Li, H. Gong, Q. Luo, F. Xu, S. Zhao, D. Zhu. *Sci. Rep.*, **8**, 1964 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-20306-3
- [14] X. Wen, S.L. Jacques, V.V. Tuchin, D. Zhu. *J. Biomed. Opt.*, **17** (6), 066022 (2012). DOI: 10.1117/1.JBO.17.6.066022
- [15] A.N. Bashkatov, E.A. Genina, V.V. Tuchin. In: *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues*, ed. by V.V. Tuchin (Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009), p. 587.
- [16] K.V. Ларин, В.В. Тучин. *Квантовая электроника*, **38** (6), 551 (2008). [K.V. Larin, V.V. Tuchin. *Quant. Electron.*, **38** (6), 551 (2008). DOI: 10.1070/QE2008v038n06ABEH013850]

- [17] D.K. Tuchina, R. Shi, A.N. Bashkatov, E.A. Genina, D. Zhu, Q. Luo, V.V. Tuchin. *J. Biophotonics*, **8**(4), 332 (2015). DOI: 10.1002/jbio.201400138
- [18] V. Hovhannisyanyan, P.-S. Hu, S.-J. Chen, C.-S. Kim, C.-Y. Dong. *J. Biomed. Opt.*, **18**(4), 046004 (2013). DOI: 10.1117/1.JBO.18.4.046004
- [19] A.Yu. Sdobnov, M.E. Darvin, E.A. Genina, A.N. Bashkatov, J. Lademann, V.V. Tuchin. *Spectrochim. Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **197**, 216 (2018). DOI: 10.1016/j.saa.2018.01.085
- [20] T. Yu, X. Wen, V.V. Tuchin, Q. Luo, D. Zhu. *J. Biomed. Opt.*, **16**(9), 095002 (2011). DOI: 10.1117/1.3621515
- [21] A.T. Yeh, B. Choi, J.S. Nelson, B.J. Tromberg. *J. Investigative Dermatology*, **121**(6), 1332 (2003). DOI:10.1046/j.1523-1747.2003.12634.x
- [22] X. Wen, Z. Mao, Z. Han, V.V. Tuchin, D. Zhu. *J. Biophoton.*, **3**(1–2), 44 (2010). DOI: 10.1002/jbio.200910080
- [23] A.Yu. Sdobnov, M.E. Darvin, J. Schleusener, J. Lademann, V.V. Tuchin. *J. Biophoton.*, **12**(5), e201800283 (2019). DOI: 10.1002/jbio.201800283
- [24] K.V. Berezin, K.N. Dvoretzki, M.L. Chernavina, A.M. Likhter, V.V. Smirnov, I.T. Shagautdinova, E.M. Antonova, E.Yu. Stepanovich, E.A. Dzhalmuhambetova, V.V. Tuchin. *J. Mol. Modeling*, **24**(2), 45 (2018). DOI: 10.1007/s00894-018-3584-0
- [25] K.V. Berezin, E.V. Grabarchuk, A.M. Likhter, K.N. Dvoretzkiy, V.V. Tuchin. *J. Biophoton.*, e202300354 (2023). DOI: 10.1002/jbio.202300354
- [26] К.В. Березин, К.Н. Дворецкий, В.В. Нечаев, А.В. Новоселова, А.М. Лихтер, И.Т. Шагаутдинова, Е.В. Грабарчук, В.В. Тучин. *Опт. и спектр.*, **129**(6), 677 (2021). DOI: 10.21883/OS.2021.06.50977.8k-21 [K.V. Berezin, K.N. Dvoretzkiy, V.V. Nechaev, A.V. Novoselova, A.M. Likhter, I.T. Shagautdinova, E.V. Grabarchuk, V.V. Tuchin. *Opt. Spectr.*, **129**(7), 763 (2021). DOI: 10.1134/S0030400X21060035]
- [27] К.В. Березин, К.Н. Дворецкий, М.Л. Чернавина, В.В. Нечаев, А.М. Лихтер, И.Т. Шагаутдинова, Е.М. Антонова, В.В. Тучин. *Опт. и спектр.*, **127**(8), 329 (2019). DOI: 10.21883/OS.2019.08.48051.29 [K.V. Berezin, K.N. Dvoretzkiy, M.L. Chernavina, V.V. Nechaev, A.M. Likhter, I.T. Shagautdinova, E.M. Antonova, V.V. Tuchin. *Opt. Spectr.*, **127**(2), 352 (2019). DOI: 10.1134/S0030400X19080071]
- [28] W.W. Pigman, D. Horton, J.D. Wander. *The Carbohydrates* (Academic Press, NY, 1980), p. 727–728. ISBN: 9780125563512
- [29] MedlinePlus, US National Library of Medicine. <https://medlineplus.gov/druginfo/natural/807.html>
- [30] The DailyMed database [Electronic resource]. URL: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=442aed6e-6242-4a96-90aa-d988b62d55e8&type=display>
- [31] D.J. Faber, F.J. van der Meer, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen. *Opt. Express*, **12**(19), 4353 (2004). DOI: 10.1364/OPEX.12.004353
- [32] P. Lee, W. Gao, X. Zhang. *Appl. Opt.*, **49**(18), 3538 (2010). DOI: 10.1364/AO.49.003538
- [33] E.A. Genina, A.N. Bashkatov, E.A. Kolesnikova, M.V. Basko, G.S. Terentyuk, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **19**(2), 021109 (2014). DOI: 10.1117/1.JBO.19.2.021109
- [34] R.K. Wang, V.V. Tuchin. in: *Handbook of Coherent-Domain Optical Methods. Biomedical Diagnostics, Environmental Monitoring, and Material Science. V. 2, 2nd edition*, ed. by V.V. Tuchin (Heidelberg, Berlin, Springer-Verlag, NY, 2013), v. 2, p. 665.
- [35] Э.А. Генина, Н.С. Ксенофонтова, А.Н. Башкатов, Г.С. Терентюк, В.В. Тучин. *Квантовая электроника*, **47**(6), 561 (2017). [E.A. Genina, N.S. Ksenofontova, A.N. Bashkatov, G.S. Terentyuk, V.V. Tuchin. *Quant. Electron.*, **47**(6), 561 (2017). DOI: 10.1070/QEL16378]
- [36] K. Okuyama, K. Miyama, K. Mizuno, H.P. Bachinger. *Biopolymers*, **97**(8), 607 (2012). DOI: 10.1002/bip.22048
- [37] W.D. Cornell, P. Cieplak, C.I. Bayly, I.R. Gould, K.M.Jr. Merz, D.M. Ferguson, D.C. Spellmeyer, T. Fox, J.W. Caldwell, P.A. Kollman. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**(19), 5179 (1995). DOI: 10.1021/ja00124a002
- [38] A.D. Becke. *J. Chem. Phys.*, **98**(7), 5648 (1993). DOI: 10.1063/1.464913
- [39] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr. *Phys. Rev.*, **37B**(2), 785 (1988). DOI: 10.1103/PhysRevB.37.785
- [40] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel et al. *Gaussian09, Revision A.02*. (Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2009)
- [41] D. Vander Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, E.A. Mark, H.J.C. Berendsen, *J. Comput. Chem.*, **26**(16), 1701 (2005). DOI: 10.1002/jcc.20291
- [42] Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, M.C. Lee, G. Xiong, W. Zhang, R. Yang, P. Cieplak, R. Luo, T. Lee, J. Caldwell, J. Wang, P. Kollman. *J. Comp. Chem.*, **24**(16), 1999 (2003). DOI: 10.1002/jcc.10349
- [43] H.J.C. Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren, A. DiNola, J.R. Haak. *J. Chem. Phys.*, **81**(8), 3884 (1984). DOI: 10.1063/1.448118
- [44] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten. *J. Mol. Graph.*, **14**(1), 33 (1996). DOI: 10.1016/0263-7855(96)00018-5
- [45] H.D. Loof, L. Nilsson, R. Rigler. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**(11), 4028 (1992). DOI: 10.1021/ja00037a002
- [46] C.C.J. Roothaan. *Rev. Mod. Phys.*, **23**(2), 69 (1951). DOI: 10.1103/REVMODPHYS.23.69
- [47] Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, M.C. Lee, G. Xiong, W. Zhang, R. Yang, P. Cieplak, R. Luo, T. Lee, J. Caldwell, J. Wang, P. Kollman. *J. Comp. Chem.*, **24**(16), 1999 (2003). DOI: 10.1002/jcc.10349
- [48] K.V. Berezin, K.N. Dvoretzkiy, V.V. Nechaev, A.M. Likhter, I.T. Shagautdinova, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **6**(2), 20308 (2020). DOI: 10.18287/JBPE20.06.020308