

Оптическое просветление кожи человека *in vivo* с помощью водных растворов сорбитола, ксилитола, ксилозы и ДМСО

© К.В. Березин¹, Е.Ю. Степанович², А.М. Лихтер², К.Н. Дворецкий^{3,¶}, Е.В. Грабарчук²,
Э.А. Генина^{1,4}, И.Ю. Янина^{1,4}, А.Б. Правдин¹, Ю.И. Сурков¹, В.В. Тучин^{1,4,5}

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет, Саратов, Россия

² Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

³ Саратовский государственный медицинский университет, Саратов, Россия

⁴ Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

⁵ Институт проблем точной механики и управления, ФИЦ „Саратовский научный центр РАН“, Саратов, Россия

¶e-mail: dcn@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.02.2025 г.

В окончательной редакции 04.03.2025 г.

Принята к публикации 07.04.2025 г.

С помощью метода оптической когерентной томографии получены результаты иммерсионного оптического просветления кожи человека *in vivo* с использованием в качестве иммерсионного агента водных растворов сорбитола, ксилитола, D-ксилозы и диметилсульфоксида. Для оценки эффективности оптического просветления определялись значения скорости изменения коэффициента рассеяния света, полученные с помощью усреднённого A-скана оптической когерентной томографии сигнала на участке дермы на глубине от 350 до 700 μm . В результате молекулярного моделирования методами классической молекулярной динамики (GROMACS) взаимодействия молекул иммерсионных агентов с пептидом коллагена ((GPH)₃)₉ определено количество водородных связей, образующихся в единицу времени для каждого агента и влияние этих агентов на пространственный объём пептида коллагена. Методами квантовой химии HF/STO3G/DFT/B3LYP/6-311G(d) рассчитана энергия межмолекулярного взаимодействия в комплексах иммерсионных агентов с фрагментом пептида коллагена ((GPH)₃)₂, установлена корреляция эффективности оптического просветления с энергией межмолекулярного взаимодействия. Подробно обсуждаются неклассические водородные связи, возникающие при взаимодействии диметилсульфоксида с ((GPH)₃)₉ и молекулами воды.

Ключевые слова: молекулярное моделирование, оптическое просветление кожи человека, водородные связи, молекулярная динамика, квантовая химия, иммерсионные агенты, коэффициент диффузии.

DOI: 10.61011/OS.2025.05.60796.35-25

Введение

Использование современных методов фотомедицины и биомедицинской оптики для диагностики и терапии заболеваний сопряжено с проблемами, которые возникают из-за того, что кожа и большинство других биотканей обладают сильным рассеянием света в видимой и ближней инфракрасной областях. Это рассеяние возникает за счет случайно ориентированных неоднородностей показателей преломления на границах различных макромолекулярных структур, в основном на коллагеновых волокнах, которые преимущественно и ответственны за рассеяние света в коже [1].

Эти проблемы, в частности, преодолеваются путем введения в ткань биосовместимых молекулярных агентов, которые в той или иной степени способствуют ее оптическому просветлению (ОП) [1–6]. Экспериментальным *in vivo*, *ex vivo* и *in vitro* реализациям

метода ОП на различных типах биотканей посвящено довольно много обобщающих работ — аналитических обзоров и монографий [1–11], что говорит об актуальности проблемы. Во многих работах описаны интересные применения метода или доказываются его универсальность и многомодальность. Так, например, в работе [12] описано применение метода в криминалистике для посмертной визуализации перинатальной твёрдой мозговой оболочки и верхнего сагиттального синуса с использованием оптической когерентной томографии (ОКТ). В работе [13] методами ОКТ оценено синергетическое действие иммерсионного агента (ПЭГ-400), двух химических усилителей проницаемости биоткани (триазина и 1,2-пропандиола) и механического массажа на эффективность ОП кожи крысы *in vivo*. В качестве усилителей проницаемости биоткани часто используется диметилсульфоксид (ДМСО) [14–17]. Его

также используют и в качестве оптического просветляющего агента (ОПА) [18,19]. В работе [20] предложена математическая модель для решения обратной задачи переноса излучения в биотканях с целью определения коэффициентов рассеяния и поглощения при ОП с учетом осмотической активности ОПА. Два подхода для неинвазивного исследования локальной диффузии иммерсионных ОПА с использованием оптической когерентной томографии (ОКТ) описаны в [21]. В работе [22] рассмотрено влияние модельного сахарного диабета на ОП кожи лабораторных мышей и показана существенная затрудненность диффузии ОПА в гликированных тканях. В работе [23] путем визуализации с помощью автофлуоресценции при двухфотонном возбуждении и второй оптической гармоники (SHG-imaging) исследовался механизм ОП кожи при использовании глицерина и рентгеноконтрастного препарата Омнипак® (йогексол) в качестве ОПА. Выяснению механизмов ОП коллагеновой ткани в норме и при гликировании с помощью многофотонной томографии посвящена работа [24]. В работе [25] представлены результаты исследований дегидратирующих свойств ОПА и отмечается, что дегидратация — это только один из возможных механизмов, приводящих к ОП биотканей. Иным механизмом снижения сечения рассеяния коллагеновых волокон может быть их обратимая диссоциация, которая тоже связана непосредственно с молекулярным взаимодействием ОПА и коллагена [26]. Недавно был предложен новый подход [27] к достижению оптической прозрачности в биологических тканях, который использует сильно поглощающие свет вещества для изменения показателя преломления водной среды. Это приводит к значительному снижению светорассеяния. Исследование показало, что пищевые водорастворимые красители, такие как тартразин, могут делать ткани прозрачными в красной и ближней инфракрасной областях спектра. Этот метод основывается на повышении действительной части показателя преломления водной биологической среды (плазмы крови, межтканевой жидкости или цитоплазмы) за счет явления аномальной дисперсии и был предложен и детально исследован в работах [28–32], где в качестве поглощающего вещества использовался гемоглобин.

Проведение исследований в области взаимодействия ОПА с биотканями открывает путь к пониманию физических и биофизических процессов, лежащих в основе ОП на молекулярном уровне [3,6,26,33–37]. Это, в свою очередь, позволит находить новые эффективные ОПА с заданными свойствами, оптимальными для конкретного типа биоткани.

Настоящая работа является продолжением изучения авторами молекулярных механизмов ОП биотканей [6,26,33–37] на примере действия четырех ОПА двух многоатомных спиртов (сорбитол, ксилитол), моносахара ксилозы и ДМСО. Для ОПА сорбитола и ксилитола ранее было проведено молекулярное моделирование и

установлена корреляция между энергией межмолекулярного взаимодействия и эффективностью оптического просветления (ЭОП) на основе экспериментальных *in vivo* данных по коже человека и крысы [4]. В настоящей работе мы получили экспериментальные данные ЭОП *in vivo* кожи человека и проверили корреляцию с ними. Кроме того, начиная с работы [32], протокол молекулярного моделирования на основе полуэмпирического метода РМ6 был заменен на неэмпирический HF (Хартри-Фок) [38], поскольку в результате предварительного исследования было установлено, что полуэмпирический метод дает некорректные результаты для молекул со сложной электронной структурой, таких как йогексол.

Методика и результаты эксперимента

ОП кожи *in vivo* проводили с использованием 70 % водного раствора сорбитола, 38 % раствора ксилитола, 50 % раствора D-ксилозы и 100 % ДМСО.

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

Показатели преломления измерялись с помощью многоволнового рефрактометра Аббе Atago DR-M2 1550 (Atago, Япония) на длинах волн 589 и 930 nm при температуре 24.0 °C. Значения показателей преломления, молекулярных масс и осмоляльности растворов ОПА приведены в табл. 1.

Для оценки оптических просветляющих свойств выбранных агентов использовался метод ОКТ. В работе использовался спектральный ОКТ GAN930V2-BU (Thorlabs, США) с центральной длиной волны излучения 930 ± 5 nm; значения продольного разрешения на воздухе составляет $6.2 \mu\text{m}$, а поперечного $\sim 9.6 \mu\text{m}$; размеры области поперечного сканирования — 2 mm.

Исследования проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией и были одобрены Этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского (№ 11 от 7 августа 2022 г.). Измерения проводились на тыльной стороне предплечья. Предварительно роговой слой на этом участке кожи удалялся с помощью медицинского скотча. Двумерные сканы (В-сканы) исследуемой области записывались в течение 60 min с интервалом в 3 min. В измерениях принимали участие пять добровольцев в возрасте от 27 до 56 лет обоих полов. Всего было проведено пять измерений для каждого иммерсионного агента.

Зарегистрированный ОКТ-сигнал, согласно модели однократного рассеяния [22,40–43], описывается выражением

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

Таблица 1. Физические свойства просветляющих агентов

Иммерсионный агент	Химическая формула	Молекулярная масса, g/mol	Показатель преломления $\lambda = 589 \text{ nm}$	Показатель преломления $\lambda = 930 \text{ nm}$	Осмоляльность, Osm/kg H ₂ O
Сорбитол водный раствор (70 %)	C ₆ H ₁₄ O ₆	182.17	1.4591	1.4515	15.2 [4]
Ксилитол водный раствор (38 %)	C ₅ H ₁₂ O ₅	152.15	1.3971	1.3897	15.6 [4]
D-Ксилоза водный раствор (50 %)	C ₅ H ₁₀ O ₅	150.13	1.4169	1.4098	8.43 [39]
DMCO	C ₂ H ₆ OS	78.13	1.4768	1.4669	14.08*

Примечание* Рассчитанное значение.

где коэффициент ослабления

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

z — глубина сканирования.

Так как коэффициент поглощения μ_a кожи значительно меньше коэффициента рассеяния μ_s в диапазоне $930 \pm 100 \text{ nm}$ [1], то коэффициентом поглощения μ_a можно пренебречь, а значит $R(z)$ можно аппроксимировать следующим выражением [44]:

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

где A — коэффициент пропорциональности, равный $P_0 a(z)$, P_0 — мощность оптического излучения, падающего на поверхность кожи, $a(z)$ — локальный коэффициент обратного отражения, который характеризует способность кожи рассеивать свет назад и определяется локальным скачком (флуктуацией) показателя преломления, B — фоновый сигнал. Подбор коэффициентов в приведенном выражении для аппроксимации экспериментальной кривой позволяет оценить усредненный по выбранному отрезку глубины продольного сканирования z коэффициент рассеяния объекта исследований.

На рис. 1 представлены ОКТ-изображения (B -скан) кожи сразу после нанесения на него водного раствора ксилитозы, усредненный A -скан ОКТ-сигнала дермального слоя кожи человека, а также аппроксимирующая кривая, построенная на основе модели однократного рассеяния (формула (3)). Сигналы ОКТ в виде A -сканов усреднялись по всей ширине скана (2 mm) вдоль поверхности кожи. Значения коэффициента рассеяния определялись в области усредненного A -скана на глубинах от 350 до $700 \mu\text{m}$.

Визуально из рис. 1, a видно, что с течением времени изображение верхних слоев кожи становится более темным, а более глубоких — немного более светлым, что говорит о том, что под действием ОПА рассеяние света верхними слоями кожи уменьшается, и свет проходит в нижние слои, где более интенсивно отражается от неоднородностей, что несет информацию о глуболежащих объектах внутри ткани. Количественно это хорошо отражается на рис. 1, b .

Численные значения коэффициента рассеяния, полученные с помощью усредненного A -скана в области дермы на глубинах от 350 до $700 \mu\text{m}$, использовались для оценки ЭОП кожи *in vivo*. Зависимость коэффициентов рассеяния под действием просветляющего агента от времени наблюдения представлена на рис. 2. Видно, что для всех используемых в работе агентов значение коэффициента рассеяния μ_s на большом интервале времен воздействия хорошо описывается моделью линейной регрессии (коэффициент корреляции R^2 составляет 89 – 97%).

Для численной оценки ЭОП кожи человека использовались значения модуля средней скорости снижения коэффициента рассеяния. Эти значения представляют собой величину наклона, определенную из уравнений линии регрессии (табл. 2).

Молекулярное моделирование

Выбранные нами для проведения моделирования структуры пептида-миметика коллагена ((GPH)₃)₉ [45] и ее сокращенный вариант ((GPH)₃)₂ (рис. 3) представляют собой наибольшую часть регулярных доменов человеческого коллагена. Их пространственная структура была построена по данным Protein Data Bank (PDB). Также в модели были добавлены атомы водорода с последующей оптимизацией их геометрической структуры методом молекулярной механики [46]. Структура, представленная на рис. 3, a , имеет структурно молекулярный карман размером порядка $10 \times 15 \text{ \AA}$, который содержит в себе четыре функциональные группы: две гидроксильные (O₁H₁, O₂H₂) и две карбонильные (C₃O₃, C₄O₄), которые образуют водородные связи с молекулами ОПА. Три из них располагаются на одной цепи, а группа O₁H₁ — на другой.

Протокол молекулярного моделирования состоит из следующих шагов.

Построение и анализ молекулярных структур ОПА

На начальном шаге с помощью метода DFT/B3LYP/6-311+G(d,p) [47,48], реализованного

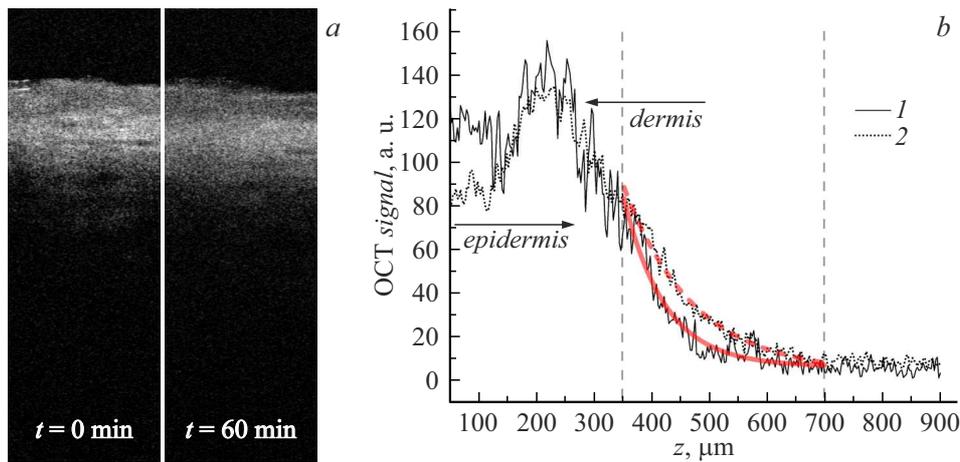


Рис. 1. Измерения коэффициента рассеяния μ_s на участке дермы после нанесения на поверхность раствора ксилозы на основе анализа распределения ОКТ-сигнала, усреднённого по глубине с помощью модели однократного рассеяния. (a) Изображения В-скана кожи *in vivo*, по фрагменту которого проводилось усреднение ОКТ-сигнала сразу после нанесения и после 60 min воздействия. (b) Распределение усреднённых ОКТ-сигналов по глубине (тонкая кривая) и результат аппроксимации согласно модели однократного рассеяния (красные кривые): 1 — сразу после нанесения водного раствора D-ксилозы, 2 — через 60 min действия D-ксилозы. Штриховыми прямыми обозначены границы участков (от 350 до 700 μm), на которых оценивалось значение μ_s . Стрелками обозначены слои кожного покрова: эпидермис и дерма.

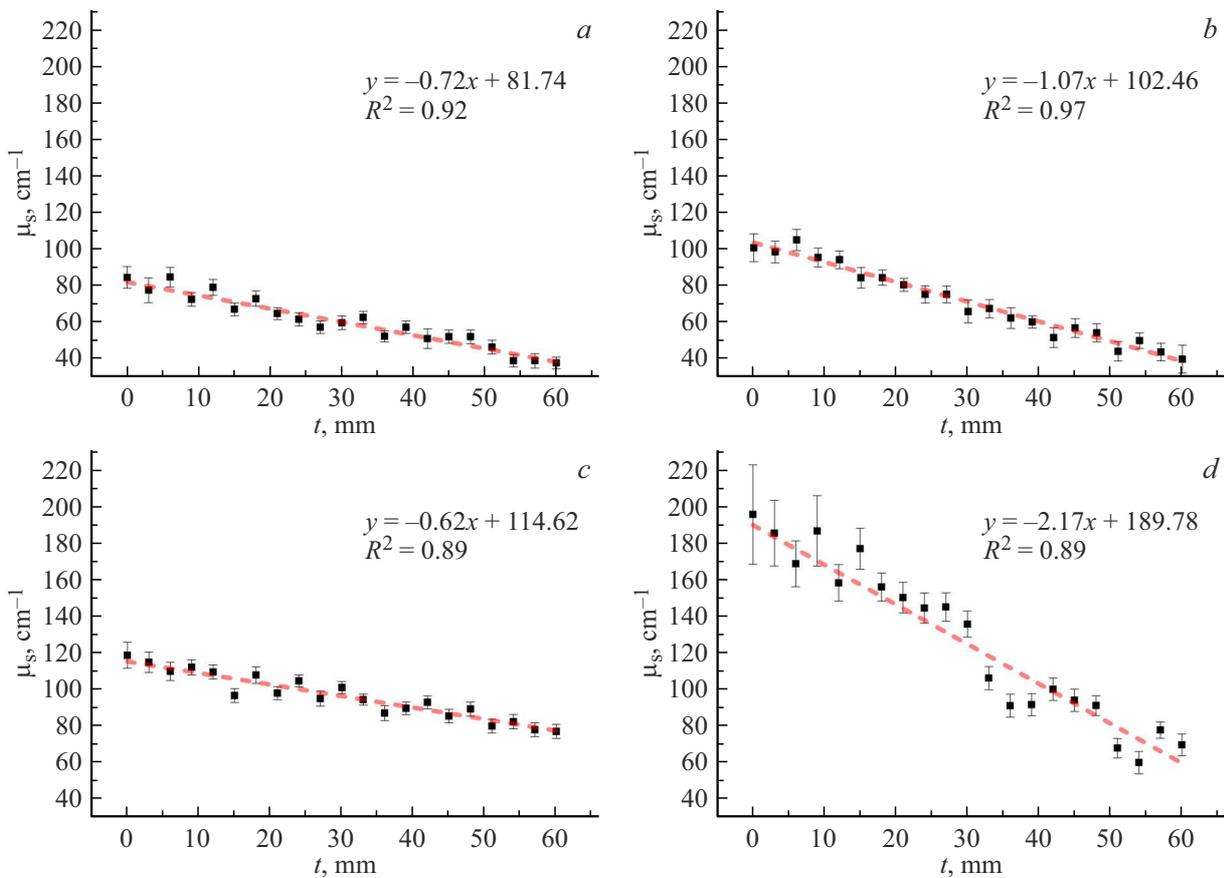


Рис. 2. Временные зависимости коэффициента рассеяния μ_s в дермальном участке (350 – 700 μm) *in vivo* кожи человека при воздействии на нее следующих просветляющих агентов: ксилитол (a), сорбитол (b), ксилитол (c) и ДМСО (d). Линейная аппроксимация отмечена штриховой линией и выражена в виде уравнения.

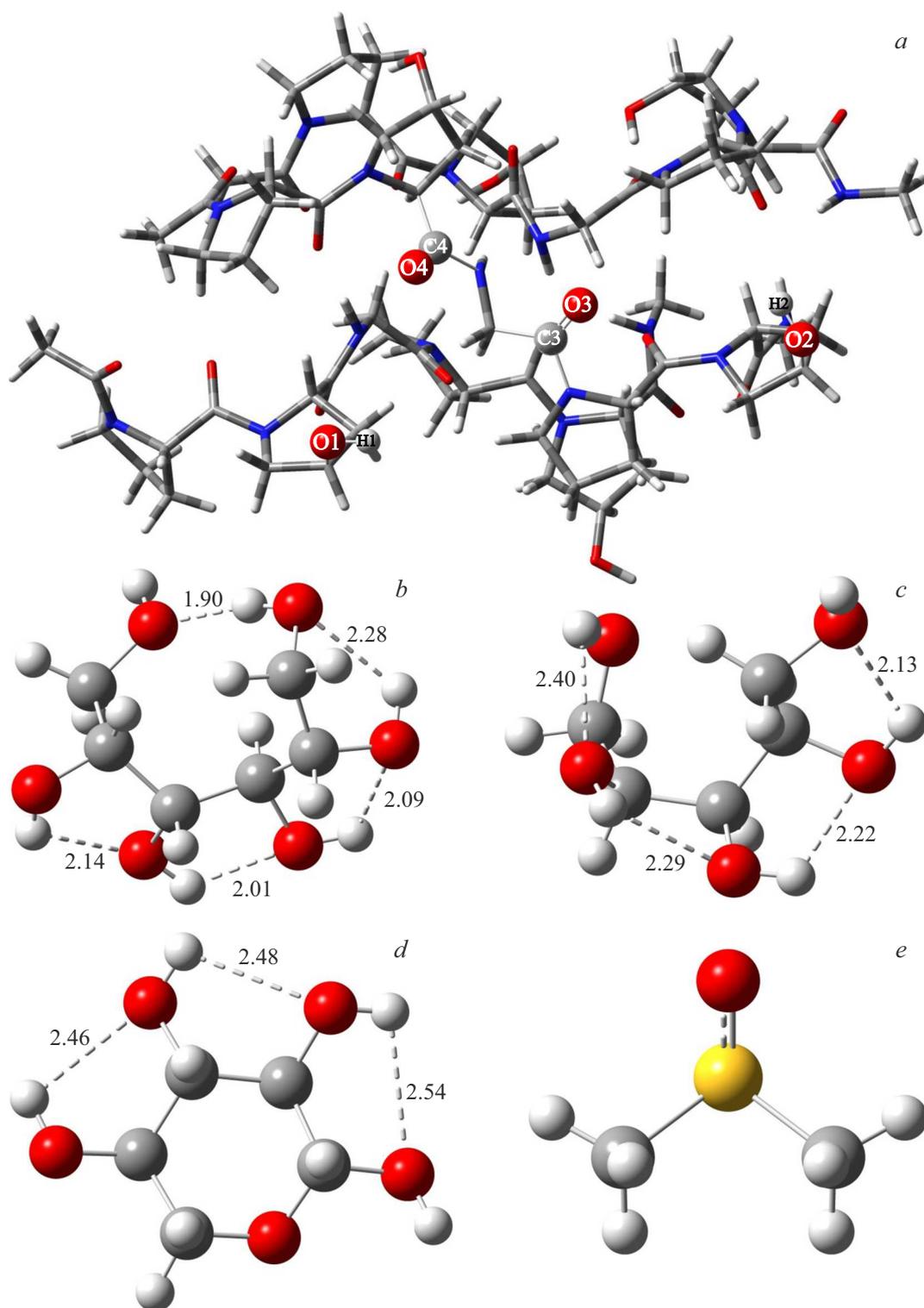


Рис. 3. Структуры сокращенного варианта пептида-миметика коллагена $((\text{GPH})_3)_2$, оптимизированная методом HF/STO-3G (a), и самые низкие по энергии пространственные структуры молекул сорбитола (b), ксилитола (c), D-ксилозы (d) и ДМСО (e), рассчитанные методом B3LYP/6-311G+(d,p). Буквами с цифрами отмечены атомы функциональных групп, с которыми образуются водородные связи. Штриховыми линиями показаны внутримолекулярные водородные связи между гидроксильными группами. Цифрами на рисунке показаны длины водородных связей в ангстремах.

Таблица 2. Количество водородных связей в единицу времени, значения энергий межмолекулярного взаимодействия (kJ/mol) между фрагментом коллагена ((GPH)₃)₂ и исследуемыми и сравниваемыми просветляющими агентами, рассчитанные с использованием метода HF/STO-3G/B3LYP/6-311G(d), а также экспериментальные значения ЭОП и их ошибки в виде стандартного отклонения

№	ОПА	N, ps^{-1}	$\Delta E, \text{kJ/mol}$	ЭОП, $\text{cm}^{-1}\text{min}^{-1}$
1	Ксилитол	0.968 ± 0.099 [50]	-131.1	0.72 ± 0.05
2	Сорбитол	1.131 ± 0.096 [50]	-143.8	1.07 ± 0.04
3	Ксилоза	0.960 ± 0.192	-114.8	0.62 ± 0.05
4	ДМСО	0.393 ± 0.104	-230.3 (-139.1)*	2.17 ± 0.12

Примечание* Энергия взаимодействия с одной молекулой ДМСО.

в программе Gaussian [49], был проведен конформационный анализ молекулярных моделей рассматриваемых ОПА. Были найдены их минимальные энергетические пространственные конфигурации (рис. 3). Проведенный расчет колебательных волновых чисел (с последующей их проверкой на отрицательные значения) использовался для подтверждения факта, что все молекулярные модели находятся в своих локальных минимумах энергии.

Из рис. 3 видно, что среди молекул, имеющих в своем составе гидроксильные группы, самыми низкими по энергии являются конформации с максимальным количеством внутримолекулярных водородных связей. Самой простой по строению является молекула ДМСО. Она является симметричной и принадлежит к группе симметрии C_s . Вычисленные на этом этапе параметры молекулярных моделей ОПА использовались дальше в молекулярной динамике и молекулярном докинге.

Классическая молекулярная динамика

На этом шаге с помощью пакета классической молекулярной динамики GROMACS [50] с силовым полем AMBER-03 [51] проводилось моделирование межмолекулярного взаимодействия просветляющих агентов с пептидами коллагена. Модельная сцена представляла из себя трехмерную ячейку (с размерами $3 \times 3 \times 9 \text{ nm}$) с периодическими границами. 20 молекул просветляющего агента распределялись случайным образом в пределах ячейки перед началом каждого моделирования. Начальные скорости атомов имели максвелловское распределение и задавались с помощью генератора случайных чисел пакета GROMACS. При проведении моделирования использовались термостат и баростат Берендсена [52], обеспечивающие сходимостью термодинамических параметров системы к следующим значениям: $T_0 = 300 \text{ K}$ и $P_0 = 1 \text{ bar}$. Временной шаг моделирования был равен 0.0001 ps , а полное время 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) [53]. Для каждой исследуемой системы моделирование проводилось 30 раз с последующим усреднением результатов. Пример межмолекулярного взаимодействия просветляющих агентов с пептидами коллагена приведен на рис. 4.

В рамках этого этапа моделирования оценивалось среднее число водородных связей, образовавшихся между просветляющими агентами и коллагеном в единицу времени. Полагалось, что водородная связь образуется, если выполняются следующие геометрические критерии: $R \leq 3.5 \text{ \AA}$ [54] и $\phi \leq 30^\circ$, где R — расстояние между атомом донора A , ковалентно связанным с атомом водорода H , и атомом акцептора B другой молекулы или функциональной группы той же молекулы, ϕ — угол, образованный связями AH и AB .

Также информативным параметром для установления корреляции между взаимодействием ОПА с белком коллагеном и ЭОП служит изменение объема белка [55]. В рамках молекулярного моделирования была исследована временная зависимость изменения объема пептидов коллагена под действием ОПА. В качестве структуры пептида-миметика коллагена для моделирования был выбран фрагмент микрофибриллы коллагена $5((\text{GPH})_{12})_3$. Для данного пептида модельная сцена представляла собой ячейку с размерами сторон $5 \times 13 \times 5 \text{ nm}$, в центре которой помещался пептид коллагена. Остальное пространство заполнялось водным раствором (рис. 4, *c, d*). Временной шаг моделирования был выбран равным 0.0001 ps , а полное время моделирования составило 1 ns . Состояние системы записывалось каждую пикосекунду.

На следующем этапе моделирования с помощью молекулярного докинга (программа AutoDockVina [56]) строились структуры водородсвязанных комплексов „модель пептида коллагена и рассматриваемых ОПА“ (рис. 3). Для каждого ОПА были выбраны десять наиболее энергетически стабильных конфигураций межмолекулярных комплексов.

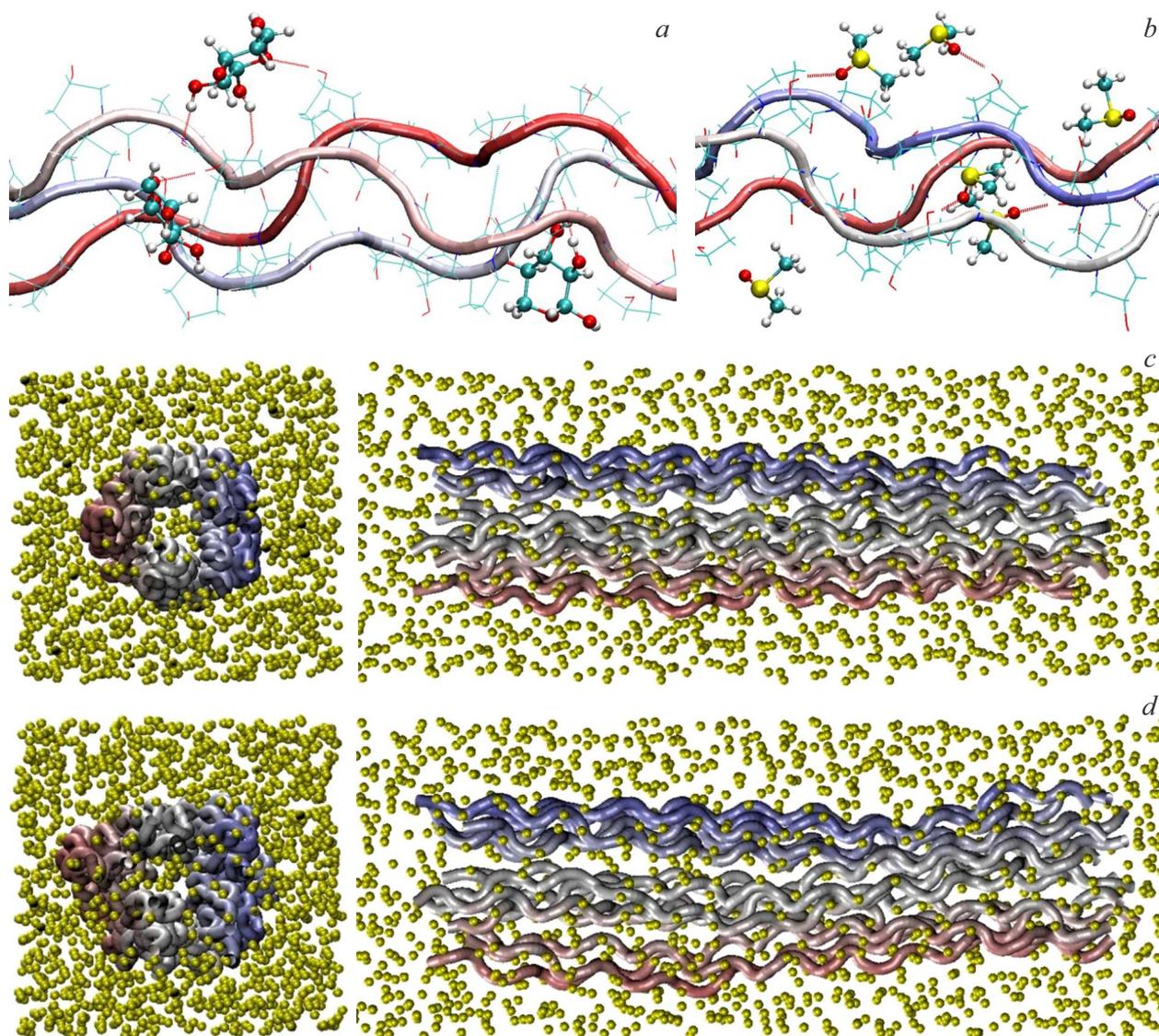


Рис. 4. Фрагменты пространственных структур водородсвязанного комплекса коллагенового пептида $((\text{GPH})_3)_9$ с молекулами ксилитозы (а), ДМСО (b) и пространственное распределение молекул ДМСО вокруг пептида коллагена $5(\text{GPH}_{12})_3$ в начале наблюдения (c) и через 1 ns (d) в двух различных проекциях, полученных в рамках классической молекулярной динамики

Методы квантовой химии

На этом этапе проводилась структурная оптимизация всех полученных с помощью молекулярного докинга комплексов $((\text{GPH})_3)_2$ -ОПА методом HF/STO3G с последующим уточнением электронной энергии с помощью однократной SCF (Self-Consistent Field) процедуры методом B3LYP/6-311G(d). По аналогичной процедуре рассчитывалась полная электронная энергия пептида коллагена $((\text{GPH})_3)_2$ и всех ОПА. Далее вычислялась энергия межмолекулярного взаимодействия по формуле

$$\Delta E = E_{\text{комп}} - E_{\text{GPH}} - E_{\text{ОПА}}, \quad (4)$$

где $E_{\text{комп}}$ — полная электронная энергия комплекса $((\text{GPH})_3)_2$ -ОПА, E_{GPH} — полная электрон-

ная энергия пептида коллагена $((\text{GPH})_3)_2$, $E_{\text{ОПА}}$ — полная электронная энергия данного ОПА. На рис. 5 представлены межмолекулярные комплексы $((\text{GPH})_3)_2$ -ОПА с максимальной энергией взаимодействия.

Оценка эффективного коэффициента диффузии и эффективного оптического просветления

Метод оценки коэффициента диффузии иммерсионных жидкостей в тканях, основанный на измерении временной зависимости коллимированного пропускания в образцах тканей, погруженных в раствор ОПА, подробно описан в работе [21]. Для расчёта использова-

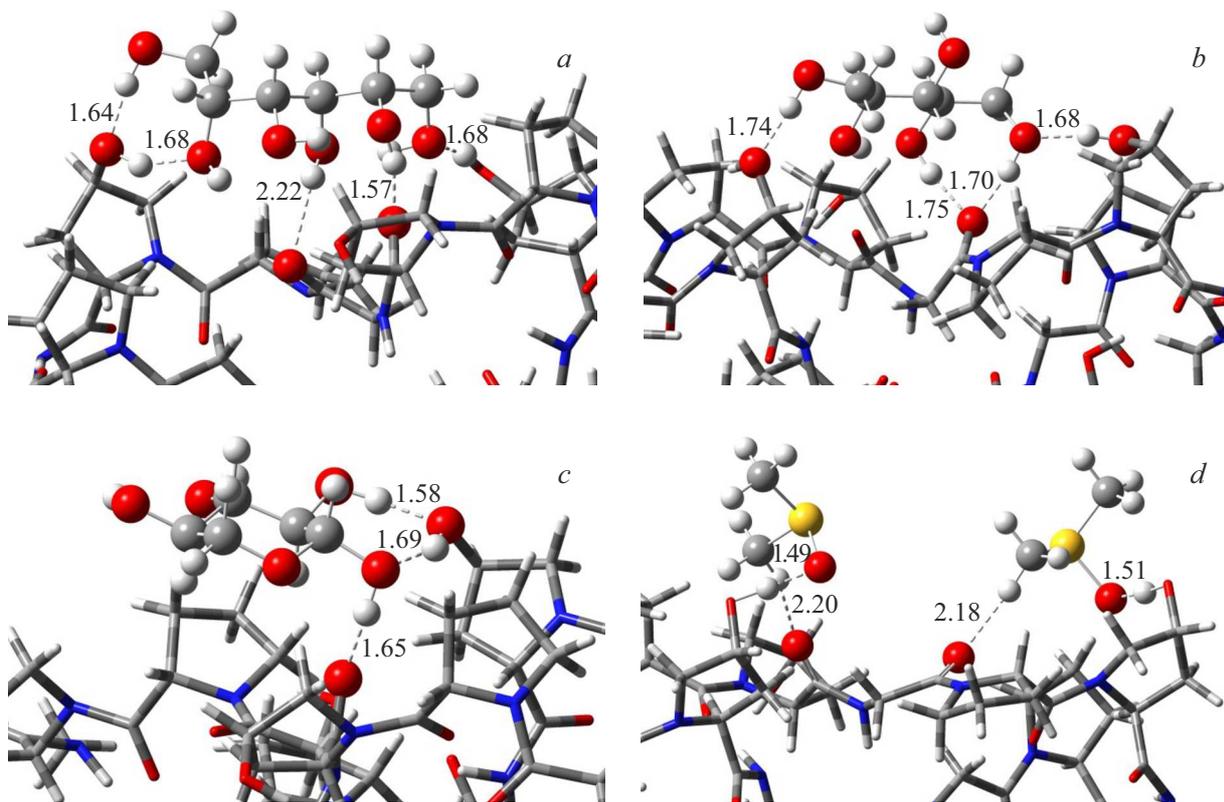


Рис. 5. Фрагменты молекулярных моделей комплексов пептида коллагена $((\text{GPH})_3)_2$ с молекулами сорбитола (*a*), ксилитола (*b*), D-ксилозы (*c*) и ДМСО (*d*), оптимизированные методом HF/STO-3G. Штриховыми линиями показаны межмолекулярные водородные связи. Цифры на рисунке — длины водородных связей в ангстремах.

лась теория свободной диффузии с учётом следующих приближений: 1) обменный поток раствора в кожу и воды из нее в данной точке пропорционален градиенту концентрации ОПА в этой точке, 2) внутри во всех точках исследуемого образца коэффициент диффузии постоянен. Спектры коллимированного пропускания кожи регистрировались в диапазоне длин волн 400–1000 nm с помощью спектрометра USB4000 (Ocean Optics, США) каждую минуту в течение часа с момента помещения образца в раствор ДМСО до прекращения изменения спектров.

Зависимость от времени коэффициента коллимированного пропускания образца кожи имеет вид

$$T_c(t) = \exp(-\mu_t(t)l), \quad (5)$$

где μ_t — коэффициент ослабления, представляющий собой сумму коэффициентов рассеяния и поглощения, l — толщина образца.

Для оценки ЭОП на основе кинетики коэффициента ослабления в исследуемом спектральном диапазоне рассматривался временной интервал, на котором наблюдались изменения коэффициента: $\text{ЭОП} \approx (\mu(t=0) - \mu_t(t))/t$.

В качестве объектов исследования использовались 10 образцов кожи белых беспородных крыс, полученных

методом аутопсии, которые хранились в физиологическом растворе при температуре 4–5 °C в течение 24 h. Измерения производились при комнатной температуре 20 °C.

Обсуждение результатов

Экспериментальные данные (рис. 2) показывают, что среди рассматриваемых ОПА наилучшую ЭОП имеет ДМСО, дальше идет по убыванию сорбитол, ксилитол и D-ксилоза. Молекулярное моделирование, проведенное с помощью классической молекулярной динамики, показывает, что корреляция между такими параметрами как количество водородных связей в единицу времени и ЭОП существует только для сильно конформационно подвижных структур цепочечного типа, к которым относятся незамкнутые спирты глицерин, сорбитол, ксилитол (рис. 6).

Этот связано с тем, что учитывается лишь только количество водородных связей. Как показывают наши предыдущие исследования [37], нет прямой связи между количеством водородных связей и энергией комплексообразования. Здесь надо учитывать такие факторы, как различие электронных структур, конкуренция между межмолекулярными и внутримолекулярными водород-

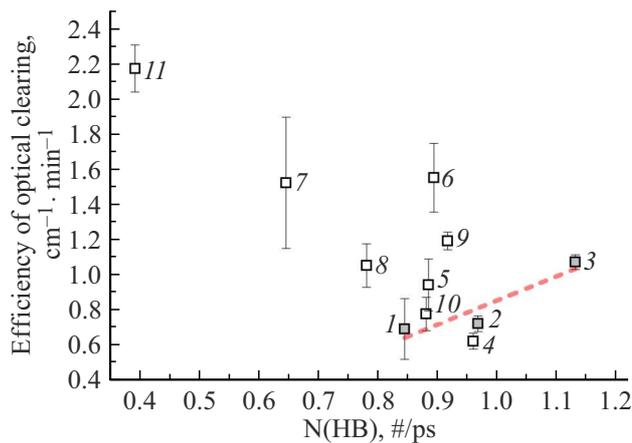


Рис. 6. Зависимость величины ЭОП кожи человека *in vivo* от количества водородных связей между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена ((GPH)₃)₂. Цифрами 1–11 обозначены различные виды просветляющих агентов [36,37]: 1 — глицерин, 2 — ксилитол, 3 — сорбитол, 4 — ксилоза, 5 — рибоза, 6 — глюкоза, 7 — фруктоза, 8 — сахароза, 9 — глюкозамин, 10 — йогексол, 11 — ДМСО. Линейная аппроксимация для первых трех агентов, имеющих однотипную линейную структуру, отмечена штриховой линией.

ными связями в ОПА, наличие конформационно подвижных групп имеющими гидроксильные или карбонильные группы. В сахарах к ним относятся гидроксиметильные группы. Для кольцевых структур также важно количество функциональных групп со стороны кольца, которым молекула взаимодействует с белком. Кроме этого, часть энергии комплексообразования тратится на структурное изменение молекулярного кармана. Чтобы учесть эти факторы, мы использовали методы квантовой химии.

Ярким представителем ОПА с минимальным количеством классических водородных связей и максимальной энергией взаимодействия является ДМСО. При взаимодействии с коллагеном ДМСО является акцептором протона, поэтому он образует водородные связи только с гидроксипролином, у которого есть структурно доступные гидроксильные группы. Изначально при моделировании взаимодействия использовалась только одна молекула ДМСО (комплекс с левой частью молекулярного кармана (рис. 5, *d*)). При одной классической водородной связи была получена очень большая энергия взаимодействия — больше, чем у сорбитола с пятью водородными связями (табл. 2).

Несмотря на это, ЭОП у ДМСО настолько велика, что не наблюдалась корреляция параметров, как у остальных ОПА. Молекула ДМСО является самой маленькой по размеру среди рассматриваемых ОПА и заняла только одну часть молекулярного кармана. Было сделано предположение, что надо рассматривать взаимодействие не с одной, а с двумя молекулами ДМСО. Изучив результаты молекулярной динамики, мы нашли такой вариант конфигурации, где видно независимое взаимо-

действие двух молекул ДМСО с одним молекулярным карманом (рис. 4, *b*). Добавив вторую молекулу и заняв вторую часть молекулярного кармана, было получено еще добавочно 91 kJ/mol к энергии взаимодействия. И только в этом случае, как видно из рис. 7, имеет место хорошая корреляция параметров. При построении корреляционной зависимости были также использованы ранее полученные данные для других ОПА.

Ранее в работе [57] рассматривалось влияние образования неклассических водородных связей с атомами водорода метильных групп, что приводит к образованию димеров и тримеров и усиливает комплексы с молекулами воды. Нетипичная по величине энергия взаимодействия ДМСО с пептидом коллагена заставила провести дополнительные исследования межмолекулярного взаимодействия с применением функционала wB97XD [58], который специально разработан для анализа невалентных взаимодействий. При этом использовали расширенный базисный набора 6-311+G(3d,p), чтобы исключить ошибку, связанную с ограниченным базисом STO-3G и соответственно с интерпретацией результатов.

Поскольку обе функциональные группы, к которым присоединяются молекулы ДМСО, относятся к одной цепи пептида, мы вырезали эту часть и рассмотрели комплекс GPH-ДМСО, структура которого показана на рис. 8, *a*. Для определения, какую конкуренцию ДМСО составляет сильно связанным с коллагеном молекулам воды, мы рассмотрели комплекс GPH-H₂O (рис. 8, *b*).

Как видно из рис. 8, *a*, при взаимодействии молекулы ДМСО с цепочкой пептида образуются пять водородных связей: одна классическая между гидроксильной группой гидроксипролина и сульфоксидной группой и четыре

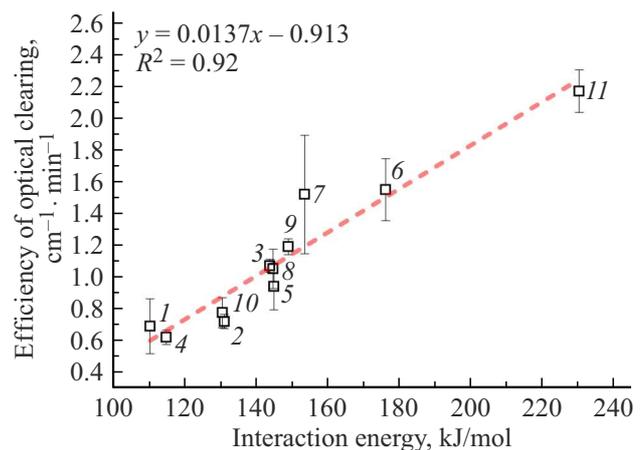


Рис. 7. Зависимость величины ЭОП кожи человека *in vivo* от энергии межмолекулярного взаимодействия между просветляющими агентами и фрагментом пептида коллагена((GPH)₃)₂. Цифрами обозначены различные виды ОПА [36,37]: 1 — глицерин, 2 — ксилитол, 3 — сорбитол, 4 — ксилоза, 5 — рибоза, 6 — глюкоза, 7 — фруктоза, 8 — сахароза, 9 — глюкозамин, 10 — йогексол, 11 — ДМСО. Линейная аппроксимация отмечена штриховой линией и выражена в виде уравнения.

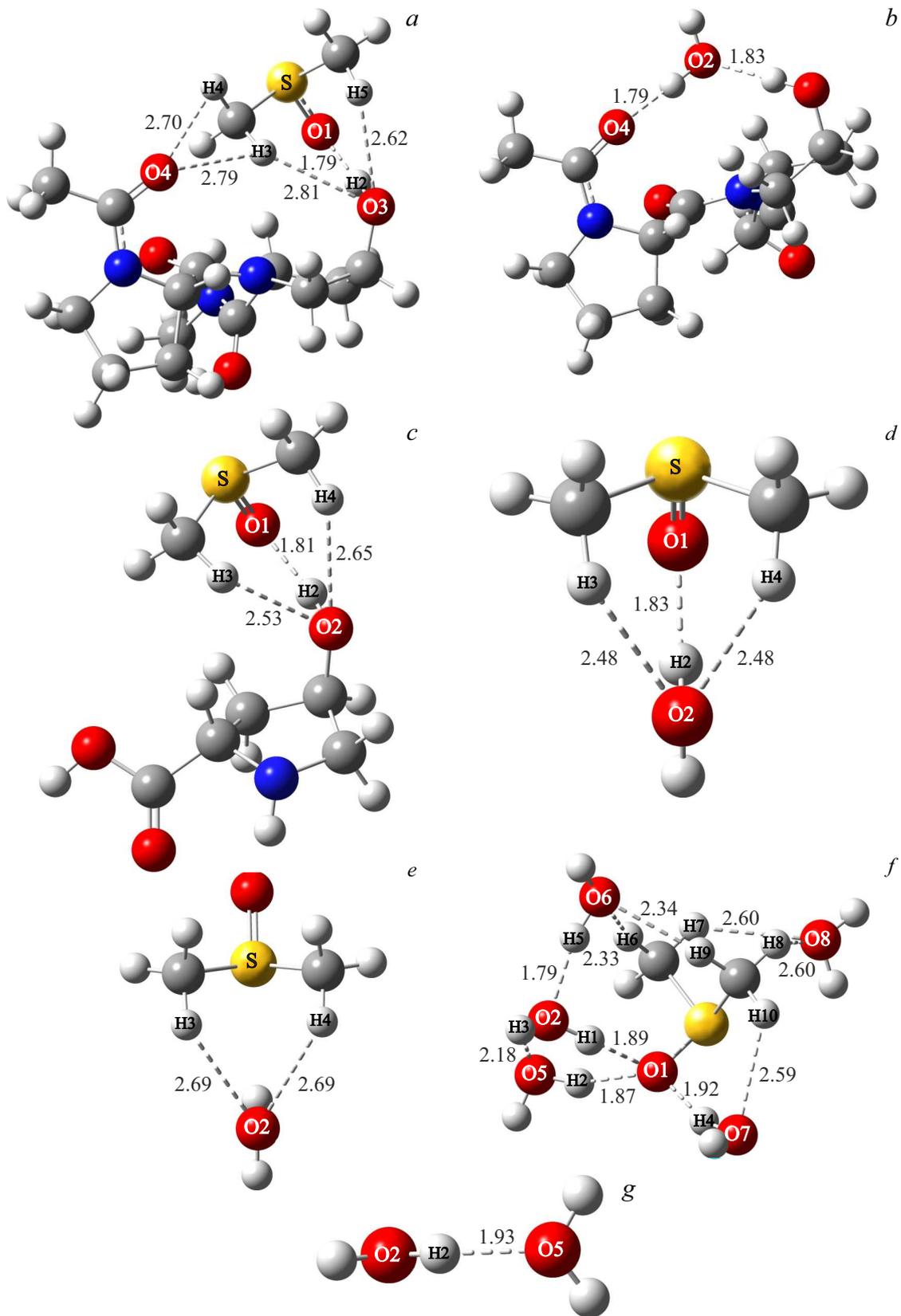


Рис. 8. . Молекулярные модели комплексов (a) ДМСО с цепочкой из трех аминокислотных остатков пролина, гидроксипролина и глицина (GPН), (b) GPН...H₂O, (c) гидроксипролин...ДМСО, (d) ДМСО...H₂O, (e) ДМСО...H₂O, (f) ДМСО...5H₂O, (g) H₂O...H₂O, рассчитанные методом wB97XD/6-311G+(3d,p). Штриховыми линиями показаны водородные связи. Цифры на рисунке — длины водородных связей в ангстремах.

неклассические — две между кислородом гидроксильной группы и водородами обеих метильных групп и две между карбонильной группой глицина и водородами другой метильной группы. Под классическими водородными связями понимаются связи, образованные между атомами водорода гидроксильных групп и атомами кислорода гидроксильных и карбонильных групп, а под неклассическими — с участием водородов метильных групп. Энергии межмолекулярного взаимодействия рассчитывались с учетом базисной суперпозиционной ошибки (BSSE) [59]. Мы рассчитали энтальпию ассоциации шести комплексов (рис. 8, *a–f*) и димера воды (рис. 8, *g*) для температур $T = 0\text{ K}$ и $T = 310.15\text{ K}$ по формуле

$$\Delta H_T^0 = \Delta E + \Delta ZPE + BSSE + \Delta H_{\text{term}}, \quad (5)$$

где ΔE — разность полных электронных энергий комплекса и мономеров, ΔZPE — разность нулевых колебательных энергий, $BSSE$ — суперпозиционная ошибка, ΔH_{term} — термодинамическая поправка, а также константу равновесия K_T по формуле

$$K_T = \exp\left(-\frac{\Delta G^0}{RT}\right), \quad (6)$$

где ΔG^0 — изменение свободной энергии Гиббса, R — газовая постоянная, T — температура. Численные значения этих параметров приведены в табл. 3.

Из таблицы видно, что, несмотря на более высокий уровень теории (по сравнению с HF/STO-3G, который явно переоценивает электростатическое взаимодействие), все равно энергия взаимодействия получилась довольно большой. Для оценки вклада в энергию взаимодействия неклассической водородной связи были рассмотрены комплексы гидроксипролин-ДМСО (рис. 8, *c*) и моногидрат ДМСО (рис. 8, *e*). При образовании комплекса с ГРН появляются еще две неклассические водородные связи с водородами другой метильной группы ДМСО. При этом распределение электронной плотности несколько меняется, что сказывается на усилении классической водородной связи — длина связи $\text{O1} \dots \text{H2}$ уменьшается на 0.2 \AA . В итоге образование двух неклассических водородных связей и усиление классической приводит к тому, что разность в энтальпии ассоциации при $T = 310.15\text{ K}$ составляет 19.7 kJ/mol . Дополнительно для оценки вклада чистых неклассических водородных связей был рассчитан моногидрат ДМСО, образованный только с помощью двух неклассических водородных связей, структура моногидрата показана на рис. 8, *d*. Из табл. 3 видно, что энтальпия ассоциации равна 10.5 kJ/mol , что по порядку величины сопоставима с энергией димеризации воды. В первом приближении будем считать, что этот вклад двух неклассических связей составляет половину от разности энтальпий при сравнении комплексов ГРН... ДМСО и гидроксипролин... ДМСО. Исходя из этого вклад от четырех связей составит величину порядка 20 kJ , что равно трети

всей энтальпии ассоциации. Таким образом, можно заключить, что неклассическая водородная связь вносит значительный вклад в энтальпию ассоциации ДМСО с коллагеном. Из значений констант равновесия следует, что комплексы ГРН с молекулами ДМСО и H_2O являются очень стабильными.

Поскольку процесс дегидратации играет важную роль при оптическом просветлении биотканей, интересно было построить первую гидратную оболочку молекулы ДМСО. Структура комплекса показана на рис. 8, *e*. Для сравнительного анализа еще построили комплекс ДМСО с молекулой воды (рис. 8, *d*).

Согласно моделированию, первая гидратная оболочка ДМСО состоит из пяти молекул воды. Добавление шестой молекулы в любое структурное положение приводит к образованию мостика из молекулы воды, уже несвязанной напрямую с молекулой ДМСО и относящейся ко второй гидратной оболочке. С учетом неклассических водородных связей и учитывая, что на две водородные связи между тремя молекулами воды приходится максимум 30 kJ/mol , в среднем на удержание одной молекулы воды тратится порядка 17.8 kJ/mol , что больше энтальпии димеризации воды. При связывании одной молекулы воды (рис. 8, *d*) образуются три водородные связи — одна классическая и две неклассических. Энтальпия ассоциации в этом случае приблизительно в 2.4 раза больше, чем у димера воды. Из анализа следует, что при взаимодействии с коллагеном ДМСО составляет большую конкуренцию даже сильно связанным молекулам воды, образующим с коллагеном две водородные связи. Таким образом, ДМСО, с одной стороны, очень хорошо связывает свободную воду, а с другой стороны, при взаимодействии с коллагеном конкурентно занимает пространство, ранее занятое молекулами воды. Этот процесс может приводить к нарушению сетки водородных связей и обратимой диссоциации коллагена, что также оказывает влияние на процесс оптического просветления биотканей.

Косвенным подтверждением этой гипотезы является влияние ОПА на объем пептида коллагена. В этом плане интересно было сравнить влияние молекулы ДМСО на структуру коллагена с наиболее популярным иммерсионным агентом глицерином и молекулой йогексола, которая является одной из самых больших по размеру молекулой, используемой в качестве иммерсионного агента, не включая повторяющиеся структуры, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ).

На рис. 4, *c, d* представлено пространственное распределение молекул ДМСО вокруг пептида коллагена $5(\text{GRN}_{12})_3$ в начале наблюдения (*c*) и через одну наносекунду (*d*). Как видно из рисунка, взаимодействие ДМСО с коллагеном увеличивает его объем по сравнению с водой. Это связано с тем, что размер молекул ОПА больше, чем молекулы воды, и это приводит к увеличению объема. При этом также нарушается сетка водородных связей. Этот фактор также влияет на изменение показателя преломления коллагена и вероятность обратимой

Таблица 3. Термодинамические параметры межмолекулярных комплексов в единицах kJ/mol и константы равновесия, вычисленные с учетом BSSE методом wB97XD/6-311+G(3d,p)

Межмолекулярный комплекс	BSSE	ΔZPE	ΔE	ΔH_0^0	$\Delta H_{310.15}^0$	$K_{310.15}$
GPH... ДМСО	4.0	6.0	-74.4	-64.5	-63.4	$1.652 \cdot 10^2$
GPH... H ₂ O	3.5	9.6	-67.1	-52.1	-55.2	$1.399 \cdot 10^2$
Гидроксипролин... ДМСО	2.3	6.1	-52.1	-43.7	-43.7	$7.9 \cdot 10^{-1}$
H ₂ O... H ₂ O	1.7	9.6	-23.0	-11.7	-14.1	$5.5 \cdot 10^{-3}$
ДМСО... H ₂ O	2.0	9.6	-43.2	-31.7	-33.7	$1.6 \cdot 10^{-1}$
ДМСО... H ₂ O ¹	1.3	5.4	-17.9	-11.2	-10.5	$4.7 \cdot 10^{-4}$
ДМСО... 5H ₂ O	11.82	41.3	-172.1	-119.0	—	—

Примечание¹ Моногидрат ДМСО с неклассическими водородными связями.

² BSSE рассчитывалась методом парциальной BSSE, когда складываются значения, вычисленные для каждой молекулы воды.

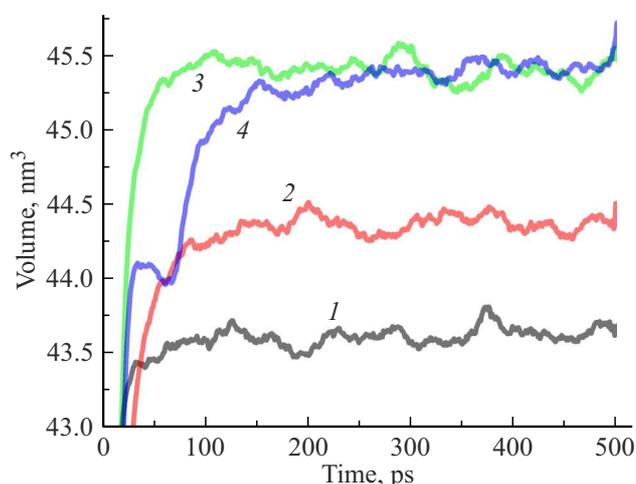


Рис. 9. Зависимость изменения объема пептида коллагена от времени воздействия ОПА: без ОПА (чистая вода) — 1, 60% водные растворы ДМСО — 2, глицерина — 3 и йогексола — 4.

диссоциации. Сравнительный график изменения объема пептида коллагена под действием некоторых разных по молекулярному строению ОПА показан на рис. 9.

Из рис. 9 видно, что в данном случае на изменение объема пептида коллагена больше всего влияют молекулы глицерина и йогексола. Эти молекулы имеют заметно разный структурный размер. Предположительно, это может быть связано как с разными размерами первых гидратных оболочек, так и с образованием устойчивых самоассоциатов, что создает дополнительный „эффективный“ молекулярный размер. У глицерина этих возможностей по структуре гораздо больше, чем у йогексола. Для однозначного объяснения результатов этого моделирования требуется проводить дополнительные исследования.

Очень важным параметром, который влияет на экспериментальное значение эффективности оптического

просветления, является скорость диффузии иммерсионного агента в кожу. Это связано с тем, что в параметр ЭОП входит время, за которое снижается коэффициент рассеяния. Чем быстрее проникает иммерсионный агент в ткань, тем быстрее начинают работать такие процессы как дегидратация и взаимодействие с коллагеном. На рис. 10 представлены типичные спектральная и временная зависимости коэффициента коллимированного пропускания кожи под действием ДМСО и кинетика коэффициента ослабления. Хорошо видно, что коллимированное пропускание интактной кожи составляет приблизительно от 0 до 3.5% в диапазоне от 400 до 1000 nm соответственно (рис. 10, f). Через 45 min пребывания в ДМСО коэффициент коллимированного пропускания увеличивается в ~ 18 раз (400 nm) и в 4 раза (1000 nm). Поскольку на длине волны 400 nm наблюдались значительные колебания сигнала (кривая 1 на рис. 10, b), для оценки ЭОП и эффективного коэффициента диффузии использовались кинетические кривые на длинах волн 500 (2), 600 (3), 700 (4), 800 (5), 900 (6) и 1000 (7) nm, где временные зависимости коэффициента достаточно гладкие.

Известно, что эффективный коэффициент диффузии определяется обменным потоком гиперосмотического вещества в ткань и воды из внутритканевого пространства. Полученное значение эффективного коэффициента диффузии ДМСО (среднее \pm стандартная ошибка среднего) в коже составило $(4.1 \pm 3.1) \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, взвешенное среднее значение — $(3.95 \pm 0.04) \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$. Данное значение превышает значения, полученные для ОПА в коже, таких как ПЭГ-300 (1.83), ПЭГ-400 (1.7), 85%-раствор глицерина (1.81), имеющих близкие значения показателей преломления, но значительно более высокие значения вязкости: соответственно 110, 135 и 109 mPa·s, в то время как вязкость ДМСО составляет всего 1.99 mPa·s. [6]. Наиболее близко полученному значению соответствует значение эффективного коэффициента диффузии 100% глицерина в коже:

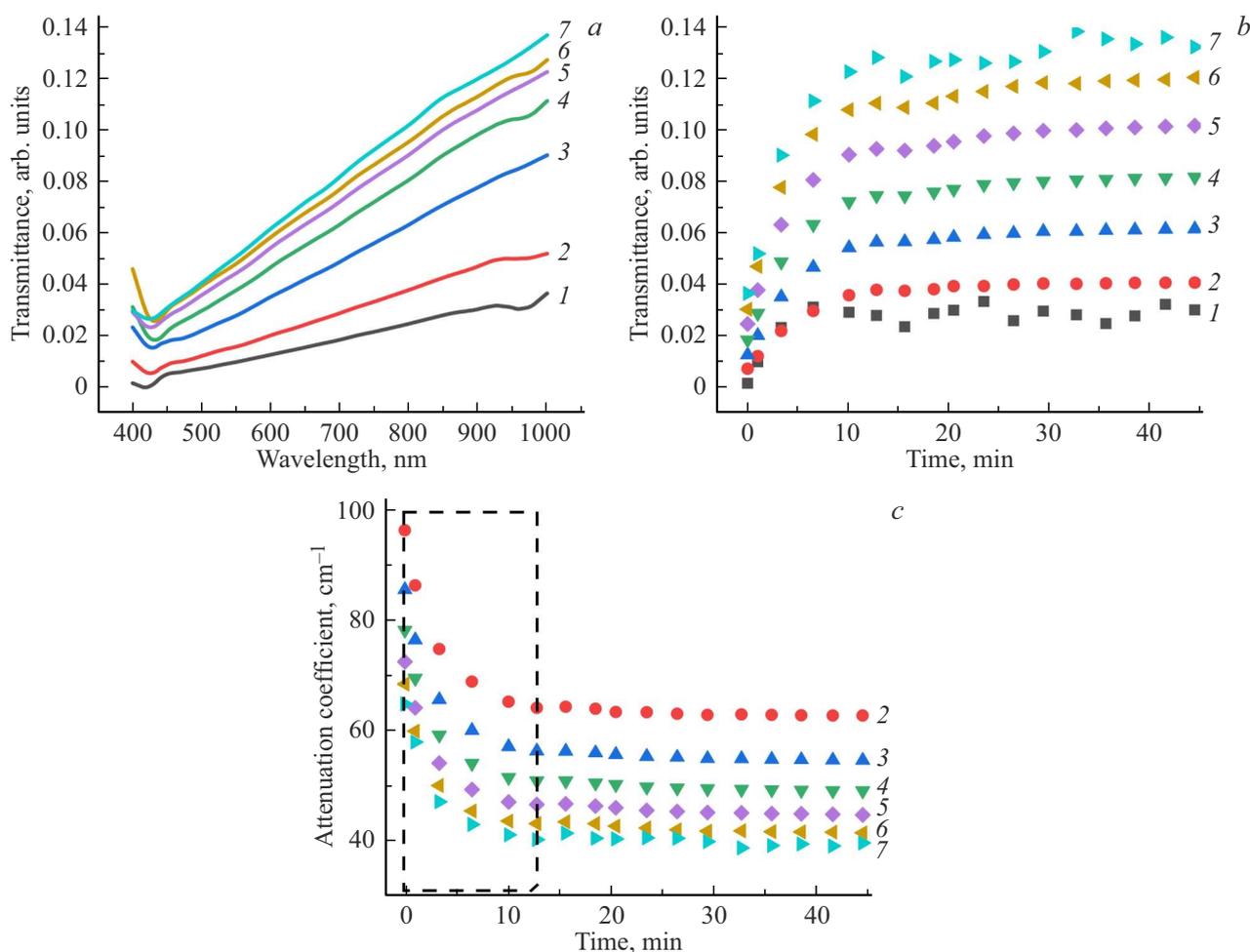


Рис. 10. Типичное изменение коэффициента коллимированного пропускания образца кожи под действием ДМСО в зависимости от (а) длины волны (цифры обозначают моменты времени, в которые происходило измерение: 1 — 0, 2 — 1, 3 — 3, 4 — 6, 5 — 10, 6 — 20, 7 — 45 min). Зависимости коэффициента коллимированного пропускания (b) и коэффициента ослабления (c) от времени (цифры обозначают длины волн: 1 — 400, 2 — 500, 3 — 600, 4 — 700, 5 — 800, 6 — 900, 7 — 1000 nm, прямоугольник (штрихи) отмечает временной интервал, на котором происходит снижение коэффициента).

$(3.23 \pm 2.21) \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ [60]. Однако вязкость дегидратированного глицерина 1410 mPasots. Таким образом, в случае с глицерином имеет место преимущественная диффузия воды в окружающий раствор ОПА и значительная дегидратация ткани.

Значение ЭОП, полученное из кинетики спектров коллимированного пропускания кожи под действием ДМСО, составило в среднем $2.1 \pm 0.5 \text{ cm}^{-1}\text{min}^{-1}$, что хорошо согласуется с результатами оценки ЭОП с помощью ОКТ, представленными в табл. 2.

Надо отметить, что при моделировании мы не учитываем скорость диффузии ОПА в кожу. Мы моделируем только постдиффузионную часть оптического просветления, т.е. процесс взаимодействия ОПА с коллагеном. Несмотря на это, мы все равно имеем хорошую корреляцию между энергией межмолекулярного взаимодействия и ЭОП, которая позволяет использовать этот параметр для теоретического предсказания свойств ОПА.

Заключение

На основании экспериментальных *in vivo* данных определена ЭОП кожи человека для водных растворов сорбитола, ксилитола, D-ксилозы и чистого ДМСО. Рассчитан на основании *ex vivo* данных для коллимированного пропускания образцов кожи крысы эффективный коэффициент диффузии ДМСО, который оказался относительно высоким и, имея при этом низкую вязкость, ДМСО быстро проникает в кожу и начинает взаимодействовать с коллагеном, что увеличивает значение ЭОП. Проведенное комплексное молекулярное моделирование взаимодействия рассматриваемых ОПА с пептидом коллагена показало, что существует корреляция между энергией межмолекулярного взаимодействия и ЭОП кожи человека, что позволяет этот параметр использовать в предсказательных целях. Для молекулы ДМСО такая корреляция существует только в том

случае, если рассматривается взаимодействие сразу двух молекул с молекулярным карманом пептида коллагена. Отсутствие гидроксильных групп и наличие двух гидрофобных метильных групп не мешает молекуле ДМСО образовывать с помощью них заметные неклассические водородные связи и составлять высокую конкуренцию молекулам воды при взаимодействии с коллагеном. При образовании первой гидратной оболочки ДМСО средняя энергия взаимодействия, приходящаяся на одну молекулу воды, заметно больше энергии образования димера воды, что говорит о возможности эффективно удерживать около себя свободную воду. Делается предположение, что на изменения объема коллагена при взаимодействии помимо размеров самих молекул ОПА влияет размер первой гидратной оболочки и способность создавать устойчивые самоассоциаты.

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). DOI: 10.1117/3.1003040
- [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] *Handbook of tissue optical clearing: new prospects in optical imaging*, ed. by V.V. Tuchin, D. Zhu, E.A. Genina (Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton, FL, 2022). DOI: 10.1201/9781003025252
- [4] J.M. Hirshburg. *Chemical agent induced reduction of skin light scattering: doctoral dissertation*. (Texas A & M University, 2009).
- [5] D. Zhu, K.V. Larin, Q. Luo, V.V. Tuchin. *Laser Photonics 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). DOI: 10.1007/978-3-030-33055-2
- [8] I. Costantini, R. Cicchi, L. Silvestri, F. Vanzi, F.S. Pavone. *Biomedical Optics Express*, **10** (10), 5251 (2019). DOI: 10.1364/boe.10.005251
- [9] P. Matryba, L. Kaczmarek, J. Gołąb. *Laser Photonics Rev.*, **13** (8), 1800292 (2019). DOI: 10.1002/lpor.201800292
- [10] T. Yu, J. Zhu, D. Li, D. Zhu. *iScience*, **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. *Biomedical 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). DOI: 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** (1), 1964 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-20306-3
- [14] J. Musakhanian, D.W. Osborne, J.-D. Rodier. *AAPS PharmSciTech*, **25** (7), 201 (2024). DOI: 10.1208/s12249-024-02886-8
- [15] E.A. Genina, A.N. Bashkatov, E.A. Kolesnikova, M.V. Basko, G.S. Terentyuk, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Optics*, **19** (2), 021109 (2013). DOI: 10.1117/1.JBO.19.2.021109
- [16] B. Kumar, S.K. Jain, S.K. Prajapati. *Intern. J. Drug Delivery*, **3** (1), 93 (2011). DOI: 10.5138/ijdd.2010.0975.0215.03057
- [17] S.M. Zaytsev, Yu.I. Svenskaya, E.V. Lengert, G.S. Terentyuk, A.N. Bashkatov, V.V. Tuchin, E.A. Genina. *J. Biophotonics*, **13** (4), e201960020 (2020). DOI: 10.1002/jbio.201960020
- [18] S. Karma, J. Homan, C. Stoianovici, B. Choi. *J. Innovative Optical Health Sciences*, **(3) 3**, 153 (2010). DOI: 10.1142/S1793545810001015
- [19] A.K. Bui, R.A. McClure, J. Chang, C. Stoianovici, J. Hirshburg, A.T. Yeh, B. Choi. *Lasers in Surgery and Medicine*, **41** (2), 142 (2009). DOI: 10.1002/lsm.20742
- [20] 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
- [21] A.N. Bashkatov, E.A. Genina, V.V. Tuchin. *Handbook of optical sensing of glucose in biological fluids and tissues*, ed. by V.V. Tuchin (Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, 2009), ch. 21. DOI: 10.1201/9781584889755
- [22] К.В. Ларин, В.В. Тучин. *Квант. электрон.*, **38** (6), 551 (2008). [K.V. Larin, V.V. Tuchin. *Quantum Electronics*, **38** (6), 551 (2008). DOI: 10.1070/QE2008v038n06ABEH013850].
- [23] 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
- [24] 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
- [25] A.Yu. Sdobnov, M.E. Darvin, E.A. Genina, A.N. Bashkatov, J. Lademann, V.V. Tuchin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **197**, 216 (2018). DOI: 10.1016/j.saa.2018.01.085
- [26] 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
- [27] Z. Ou, Yi-Sh. Duh, N.J. Rommelfanger, C.H.C. Keck, Sh. Jiang, K. Brinson Jr., S. Zhao, E.L. Schmidt, X. Wu, F. Yang, B. Cai, H. Cui, W. Qi, Sh. Wu, A. Tantry, R. Roth, J. Ding, X. Chen, J.A. Kaltschmidt, M.L. Brongersma, G. Hong. *Science*, **385** (6713), eadm6869 (2024). DOI: 10.1126/science.adm686
- [28] V.V. Tuchin, D.M. Zhestkov, A.N. Bashkatov, E.A. Genina. *Optics Express*, **12** (13), 2966 (2004). DOI: 10.1364/OPEX.12.002966
- [29] V.V. Tuchin. *Optical clearing of tissues and blood* (PM 154, SPIE Press, Bellingham, WA, 2005). DOI: 10.1117/3.637760

- [30] O. Sydoruk, O. Zhernovaya, V. Tuchin, A. Douplik. *J. Biomed. Opt.*, **17** (11), 115002-1-6 (2012). DOI: 10.1117/1.JBO.17.11.115002
- [31] O. Zhernovaya, V.V. Tuchin, M.J. Leahy. *J. Biomed. Opt.*, **18** (2), 026014-1-8 (2013). DOI: 10.1117/1.JBO.18.2.026014
- [32] O.S. Zhernovaya, E.A. Genina, V.V. Tuchin, A.N. Bashkatov. *Handbook of tissue optical clearing: new prospects in optical imaging*, ed. by V.V. Tuchin, D. Zhu, E.A. Genina (Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton, FL, 2022), p. 383–392. DOI: 10.1201/9781003025252
- [33] T. Yu, X. Wen, V.V. Tuchin, Q. Luo, D. Zhu. *J. Biomed. Opt.*, **16** (9), 095002 (2011). DOI: 10.1117/1.3621515
- [34] X. Wen, Z. Mao, Z. Han, V.V. Tuchin, D. Zhu. *J. Biophotonics*, **3** (1–2), 44 (2010). DOI: 10.1002/jbio.200910080
- [35] A.Yu. Sdobnov, M.E. Darvin, J. Schleusener, J. Lademann, V.V. Tuchin. *J. Biophotonics*, **12** (5), e201800283 (2019). DOI: 10.1002/jbio.201800283
- [36] K.V. Berezin, E.V. Grabarchuk, A.M. Lichter, K.N. Dvoretzki, V.V. Tuchin. *J. Biophotonics*, **17** (2), e202300354 (2024). DOI: 10.1002/jbio.202300354
- [37] К.В. Березин, Е.В. Грабарчук, А.М. Лихтер, К.Н. Дворецкий, Ю.И. Сурков, В.В. Тучин. *ЖТФ*, **94** (3), 515 (2024). DOI: 10.61011/JTF.2024.03.57392.318-23 [K.V. Berezin, E.V. Grabarchuk, A.M. Lichter, K.N. Dvoretzki, Yu.I. Surkov, V.V. Tuchin. *Technical Physics*, **69** (3), 485 (2024). DOI: 10.21883/00000000000].
- [38] C.C.J. Roothaan. *Rev. Modern Phys.*, **23** (2), 69 (1951). DOI: 10.1103/RevModPhys.23.69
- [39] R. Goldberg, B. Lang, B. Coxon, S. Decker. *J. Chem. Thermodynamics*, **15** (2), 2 (2012). DOI: 10.1016/j.jct.2011.07.004
- [40] 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
- [41] P. Lee, W. Gao, X. Zhang. *Appl. Opt.*, **49** (18), 3538 (2010). DOI: 10.1364/AO.49.003538
- [42] 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
- [43] R.K. Wang, V.V. Tuchin. *Handbook of coherent-domain optical methods, biomedical diagnostics, environmental monitoring, and material science*, vol. 2, 2nd ed., ed. by V.V. Tuchin (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, N.Y., 2013), vol. 2, p. 665. DOI: 10.1007/978-1-4614-5176-1
- [44] Э.А. Генина, Н.С. Ксенофонтова, А.Н. Башкатов, Г.С. Терентюк, В.В. Тучин. *Квант.электрон.*, **47** (6), 561 (2017). [E.A. Genina, N.S. Ksenofontova, A.N. Bashkatov, G.S. Terentyuk, V.V. Tuchin. *Quantum Electronics*, **47** (6), 561 (2017). DOI: 10.1070/QEL16378].
- [45] K. Okuyama, K. Miyama, K. Mizuno, H.P. Bachinger. *Biopolymers*, **97** (8), 607 (2012). DOI: 10.1002/bip.22048
- [46] 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
- [47] A.D. Becke. *J. Chem. Phys.*, **98** (7), 5648 (1993). DOI: 10.1063/1.464913
- [48] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr. *Phys. Rev. B*, **37** (2), 785 (1988). DOI: 10.1103/PhysRevB.37.785
- [49] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel et al. *Gaussian09, revision A.02* (Gaussian Inc, Pittsburgh PA, 2009).
- [50] D. Van der 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
- [51] 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
- [52] 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
- [53] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten. *J. Mol. Graph.*, **14** (1), 33 (1996). DOI: 10.1016/0263-7855(96)00018-5
- [54] H.D. Loof, L. Nilsson, R. Rigler. *J. Am. Chem. Soc.*, **114** (11), 4028 (1992). DOI: 10.1021/ja00037a002
- [55] K.V. Berezin, K.N. Dvoretzki, M.L. Chernavina, A.M. Likhтер, 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
- [56] 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
- [57] A. Jumabaev, H. Hushvaktov, B. Khudaykulov, A. Absanov, M. Onuk, I. Doroshenko, L. Bulavin. *Ukr. J. Phys.*, **68** (6), 375 (2023). DOI: 10.15407/ujpe68.6.375
- [58] J.-D. Chai, M. Head-Gordon. *J. Chem. Phys.*, **128** (8), 084106 (2008). DOI: 10.1063/1.2834918
- [59] S. Simon, M. Duran, J.J. Dannenberg. *J. Chem. Phys.*, **105** (24), 11024–11031 (1996). DOI: 10.1063/1.472902
- [60] V.D. Genin, D.K. Tuchina, A.J. Sadeq, E.A. Genina, V.V. Tuchin, A.N. Bashkatov. *J. Biomed. Photonics & Engineering*, **(2)** 1, 010303 (2016). DOI: 10.18287/JBPE16.02.010303