

УДК 577.352.26

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КСАНТЕНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ НА ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2025 г. А. И. Малыхина, О. С. Остроумова, С. С. Ефимова*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

** E-mail: efimova@incras.ru*

Поступила в редакцию 04.04.2025

После доработки 24.04.2025

Принята к публикации 25.04.2025

Обоснование и цель. Правильный выбор красителей, особенно нацеленных на клеточные мембраны, является первостепенной задачей для успешных научных исследований. В настоящей работе изучено влияние ксантеновых красителей (флуоресцеина, эритрозина, эозина Y и бенгальского розового) на физические свойства модельных липидных мембран. **Метод.** Молекулярное моделирование. **Результаты.** Выявлено, что ксантеновые красители увеличивают площадь, приходящуюся на одну липидную молекулу, эффект возрастает в ряду флуоресцеин $\approx$ эозин Y < эритрозин $\leq$ бенгальский розовый. Расчет параметра упаковки «хвостов» молекул фосфолипидов показывает, что флуоресцеин, эритрозин и эозин Y оказывают разупорядочивающее действие на мембраны, в то время как бенгальский розовый практически не влияет на этот параметр. Оценка изменения дипольного потенциала фосфолипидной мембраны в присутствии красителей показывает, что их способность снижать эту величину возрастает в ряду флуоресцеин $\leq$ эозин Y $\approx$ эритрозин < бенгальский розовый. **Вывод.** Сопоставление результатов молекулярной динамики с данными электрофизиологических исследований и дифференциальной сканирующей микрокалориметрии выявило ряд расхождений, причины которых обсуждаются.

Ключевые слова: ксантеновые красители, липидные мембраны, плотность упаковки, метод молекулярного моделирования

Принятые сокращения: ДПФХ — 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин; APL — площадь, приходящаяся на одну липидную молекулу; SCD — дейтериевый порядок ацильных цепей липидов.

DOI: 10.31857/S0041377125020046, EDN: FVKLVR

Ксантеновые красители широко используются в научных и биомедицинских приложениях. Основным представителем этого класса красителей является флуоресцеин, при галогенировании которого образуются такие производные, как эритрозин (2,4,5,7-тетрайод флуоресцеин), эозин Y (2,4,5,7-тетрабром флуоресцеин) и бенгальский розовый (4-хлор-4-йод-производное флуоресцеина 2,3,4,5-тетрахлор-2,4,5,7-тетрайод флуоресцеин) (табл. 1). Так, флуоресцеин используется для офтальмологических исследований и применяется местно для определения степени повреждения роговицы (Soifer et al., 2023), а эритрозин — в стоматологии для определения микробного поражения тканей ротовой полости, а бенгальский розовый — для оценки функции печени (Bhat et al., 2017; Stenberg et al., 1964). В гистологических исследованиях для окрашивания клеточных органелл применяют эозин Y. Для оценки функции печени используют

бенгальский розовый (Stenberg et al., 1964). Благодаря высоким коэффициентам поглощения света в видимой области, ксантеновые красители еще применяются в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической диагностики и терапии заболеваний (Chaudhuri et al., 2016; Buck et al., 2017; Qin et al., 2017). Более того, наличие фотодинамических свойств у ксантеновых красителей определяет их противомикробную активность в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий (Banks et al., 1985).

Для понимания возможностей использования фотодинамических агентов довольно важным критерием является их взаимодействие с мембраной клеток как первичной мишенью. Для ксантеновых красителей характерна низкая степень растворения в липидной фазе, что препятствует проникновению ксантеновых красителей через биологические мембраны. Следовательно, можно предполагать

взаимодействие их с поверхностью липидного бислоя. В литературе можно обнаружить достаточное количество информации о влиянии ксантеновых красителей на физико-химические свойства липидного матрикса мембран, а именно величину дипольного потенциала и плотность упаковки липидов (Kotova et al., 2000; Efimova, Ostroumova, 2012; Efimova et al., 2018).

Путем модификации электрических и эластических свойств мембраны ксантеновые красители могут влиять на работу реконструированных в мембраны ионных каналов и жизнеспособность клетки в целом. Было установлено, что тип и локализация галогенового заместителя в молекуле красителя являются определяющими факторами, влияющими на величину уменьшения дипольного потенциала мембран при введении красителя в исследуемую систему (Efimova et al., 2014). Наиболее выраженные изменения величины дипольного потенциала мембраны вызывают йодированные производные (эритрозин и бенгальский розовый). Замена йода на бром или его исключение приводит к потере диполь-модифицирующих свойств у изучаемых агентов (эозин Y). Установлено, что все тестируемые ксантеновые красители слабо влияют на фазовый переход дипальмитоилфосфохолина, что свидетельствует в пользу сохранения плотности упаковки мембранных липидов при адсорбции этих модификаторов (Efimova et al., 2018).

Целью работы было изучение свойств липидного бислоя при адсорбции на мембране ксантеновых красителей молекулярно-динамическим методом. Сопоставление расчетных данных молекулярного моделирования с экспериментальными электрофизиологическими данными и результатами дифференциальной сканирующей микрокалориметрии позволит оценить перспективность применения расчетных методов для оценки мембранной активности других аналогов флуоресцеина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалы. Параметры топологии ксантеновых красителей генерировали на основании трехмерной (3D) структуры с помощью CGenFF (Vanommeslaeghe, MacKerell, 2012). Модельные мембраны собраны на портале CHARMM-GUI Membrane Builder (Jo et al., 2009) и содержали 120 молекул ДПФХ (1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин). Программа GROMACS2023.2 (Abraham et al., 2015) была использована для вы-

полнения компьютерных симуляций с использованием общеатомного силового поля CHARMM36M (Lee et al., 2016).

Метод молекулярного моделирования. 12 молекул ксантенового красителя помещали в гидрофильную часть бислоя параллельно поверхности мембраны по 6 молекул в каждом монослое мембраны (что соответствовало молярному соотношению липида и красителя 10:1). Размер ячейки модели составлял приблизительно 6.4×6.4×9.5 нм. Все расчеты проводили при постоянной температуре 25 или 50 °C и давлении 1 бар с использованием метода Нозе—Гувера и полуизотропного сопряжения давления с использованием баростата C-rescale (Bussi et al., 2007; Bernetti, Bussi, 2020). Постоянная времени сопряжения для температуры и давления составляла 1 и 5 пс соответственно. Метод Particle Mesh Ewald использовали для расчета электростатического взаимодействия на больших расстояниях с ограничением на коротких расстояниях 1.2 нм (Darden et al., 1993); алгоритм смещенного потенциала Леннарда—Джонса использовали для расчета ван-дер-ваальсовых взаимодействий с общим ограничением 1.2 нм и смещенным ограничением 1.0 нм. Траекторию в моделях во время компьютерного моделирования регистрировали каждые 10 пс. Время моделирования составляло 100 нс.

Визуализацию проводили с помощью программы Visual Molecular Dynamics (Humphrey et al., 1996). Площадь, приходящаяся на одну липидную молекулу (APL) и дейтериевый порядок ацильных цепей липидов (SCD) вычисляли с использованием программы MEMBPLUGIN (Guixà-González et al., 2014). Расстояние от центра массы молекулы до центра массы бислоя, которое использовали для оценки глубины погружения молекулы в мембрану (ω), а также изменение электрического потенциала мембраны ($\Delta\varphi_{d_мд}$) измеряли с помощью GROMACS. Дипольный момент (μ) молекул красителей оценивали с помощью VMD.

Статистический анализ. Данные за первые 20 нс симуляции не включали в расчет среднего значения. Все параметры были рассчитаны для каждой молекулы отдельно, потом усреднены и представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Разницу между соединениями оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), за которым следовало сравнение разностей средних по методу Тьюки с уровнем значимости $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В отсутствие красителей площадь, приходящаяся на одну липидную молекулу, для ДПФХ мембран при 25 °С составляет $5.1 \pm 0.2 \text{ нм}^2$. Эти значения хорошо согласуются с данными литературы (Kučerka et al., 2011). Все тестируемые ксантеновые красители при соотношении липида и красителя 10:1 демонстрировали мембранную активность. На рис. 1 представлено, как изменяется площадь, приходящаяся на липидную молекулу (APL), в присутствии тестируемых агентов. Из представленных данных видно, что ксантеновые красители статистически значимо увеличивают APL (p -value < 0.001). Способность увеличивать APL возрастает в ряду флуоресцеин $\approx$ эозин Y (около 5.6 нм) $\leq$ $\leq$ эритрозин (около 5.7) $<$ бенгальский розовый (около 5.9 нм). Чем выше APL, тем менее плотно упакованы мембранные липиды.

Для проверки этого предположения оценили влияние ксантеновых красителей на параметр упа-

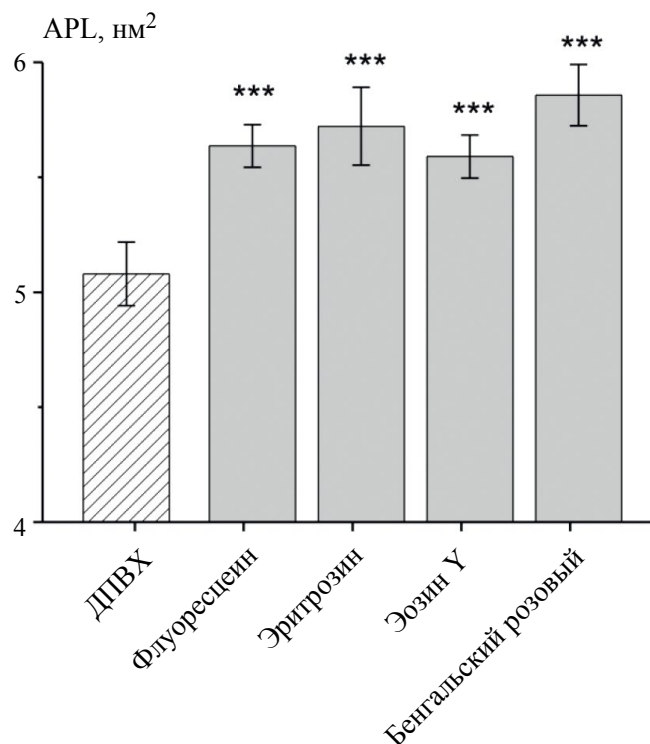


Рис. 1. Влияние ксантеновых красителей на площадь, приходящаяся на одну молекулу липида (APL). Разницу между соединениями оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), за которым следовало сравнение разностей средних по методу Тьюки с уровнем значимости $p \leq 0.05$.

ковки хвостов ДПФХ (порядок по дейтерию, SCD). Зависимости порядка по дейтерию при 25 °С, представленные на рис. 2, показывают, что флуоресцеин, эритрозин и эозин Y разупорядочивают ДПФХ мембраны. При этом бенгальский розовый такого эффекта не оказывает. Для того чтобы определить локализацию молекул ксантенов, рассчитывали среднее расстояние от центра массы молекулы ксантена до поверхности мембраны (табл. 1).

Видно, что способность молекул ксантенов погружаться в мембрану возрастает в ряду бенгальский розовый $<$ флуоресцеин $<$ эритрозин $\approx$ эозин Y. Меньшая глубина проникновения в бислой бенгальского розового хорошо согласуется с отсутствием его влияния на параметр упаковки липидов. Повышение температуры существенно сказывается на взаимодействии бенгальского розового с мембраной. При 50 °С глубина погружения в бислой увеличивается в ряду флуоресцеин $<$ $<$ эритрозин $\approx$ эозин Y $<$ бенгальский розовый. Эти данные согласуются с результатами флуоресцентной спектроскопии (Calogi et al., 2016), авторы исследований предположили, что эритрозин и эозин Y расположены вблизи холиновой группы ДПФХ, в то время как бенгальский розовый глубже погружен в липидный бислой.

Было проведено сравнение данных молекулярной динамики с результатами, полученных нами ранее (Efimova et al., 2018). Из представленных

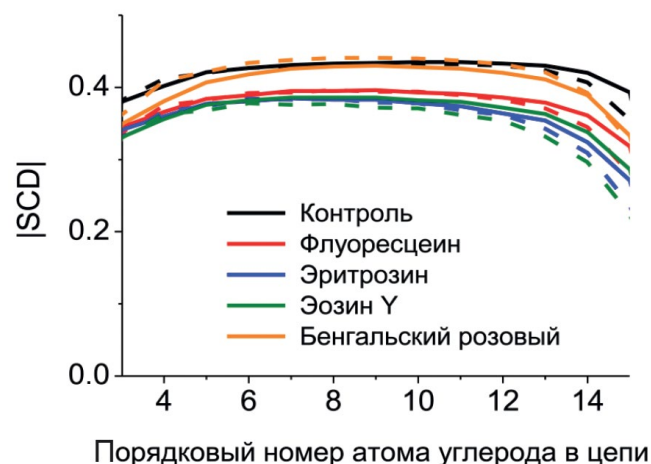
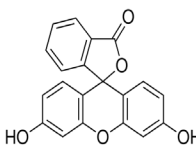
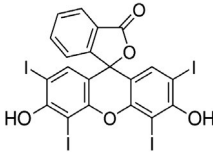
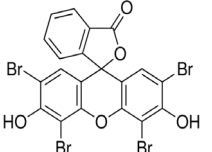
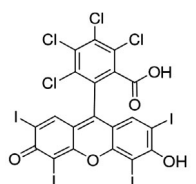


Рис. 2. Параметр порядка для ацильных хвостов ДПФХ (SCD) в отсутствие (контроль, черная линия) и в присутствии флуоресцеина (красная линия), эритрозина (синяя линия), эозина Y (зеленая линия) и бенгальского розового (оранжевая линия) при соотношении липид: краситель 10:1 при 25 °С. Ацильные цепи в положении sn -1 и sn -2 обозначены сплошной и пунктирной линией соответственно.

Таблица 1. Характеристические параметры влияния ксантеновых красителей на физические свойства мембран

Параметр	Флуоресцеин	Эритрозин	Эозин Y	Бенгальский розовый
Химическая структура				
Пред-переход ^a	Подавлен			
ΔT_m , °C ^a	-0.2 ± 0.1	-0.2 ± 0.1	-0.2 ± 0.1	-0.2 ± 0.1
$\Delta T_{1/2}$, °C ^a	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
ω	0.88 ± 0.16	0.98 ± 0.20	0.97 ± 0.15	0.81 ± 0.11
μ , Д	4.18 ± 1.82	3.92 ± 1.62	6.47 ± 1.90	4.62 ± 1.73
$\Delta\Phi_d$, мВ ^b	-6 ± 2	-65 ± 6	-5 ± 2	-121 ± 9
$\Delta\Phi_{d_МД}$, мВ	-49 ± 15	-80 ± 17	-78 ± 21	-126 ± 23

Примечание. ΔT_m и $\Delta T_{1/2}$ — изменение температуры основного фазового перехода и ширины на полувысоте соответствующего плавлению ДПФХ при соотношении липида и агента 10:1; ω — глубина погружения молекулы в каждый монослой; μ — дипольный момент молекулы; $\Delta\Phi_{d_МД}$, $\Delta\Phi_d$ — изменение дипольного потенциала бислоя, сформированного из ДПФХ и дифитаноилфосфатидилхолина соответственно, при соотношении липида и агента 10:1; ^a — данные из: Efimova et al., 2018; ^b — данные из: Efimova et al., 2014.

в табл. 1 данных видно, что ксантеновые красители подавляют предпереход ДПФХ и незначительно сдвигают пик, соответствующий главному фазовому переходу, влево (T_m уменьшается не более чем на 0.2 °C), при этом соединения практически не влияют на ширину основного пика на полувысоте ($T_{1/2}$). Таким образом, слабая выраженность влияния ксантеновых красителей на термотропное поведение липидов (см. табл. 1) не согласуется со значимым действием флуоресцеина, эритрозина и эозина Y на SCD (рис. 2).

Ранее было показано, что диполь-модифицирующее действие ксантеновых красителей зависит от вида галогеновых заместителей, введенных в родительскую молекулу флуоресцеина. Выраженной способностью уменьшать величину дипольного потенциала мембран характеризуются соединения, в структуре которых есть йод (эритрозин, уменьшение дипольного потенциала составляет около 65 мВ) или йод и хлор (бенгальский розовый, $\Delta\Phi_d$ около 120 мВ) (см. табл. 1) (Efimova et al., 2014). Изменение упаковки липидов в мембране в присутствии ксантеновых красителей, которое обсуждалось ранее, также может сопровождаться уменьшением плотности диполей, влияющим на дипольный потенциал мембраны. Зависимость дипольного потенциа-

ла мембраны от упаковки липидов обсуждается в работе Кларка (Clarke, 2015).

Используя метод молекулярного моделирования, мы оценили величины дипольного момента ксантеновых красителей в бислоях при температуре 50 °C (см. табл. 1). Это соответствует жидкокристаллическому состоянию липидов в мембране. Видно, что дипольный момент молекул (μ) в липидном микроокружении увеличивается в ряду эритрозин $\leq$ флуоресцеин $\leq$ бенгальский розовый $<$ эозин Y. Оценка методом молекулярного моделирования величины изменения дипольного потенциала фосфолипидной мембраны в присутствии красителей показывает, что способность красителей снижать эту величину возрастает в ряду флуоресцеин ($\Delta\Phi_{d_МД}$ около 50 мВ) $\leq$ эозин Y $\approx$ эритрозин ($\Delta\Phi_{d_МД}$ около 80 мВ) $<$ бенгальский розовый ($\Delta\Phi_{d_МД}$ около 130 мВ) (см. табл. 1). Таким образом, полученные для эритрозина и бенгальского розового расчетные значения находятся в согласии с полученными электрофизиологическими данными.

В итоге можно сделать заключение, что результаты оценки влияния ксантеновых красителей на физические свойства липидных мембран методом молекулярной динамики мало согласуются с результатами калориметрических

и электрофизиологических измерений, что может быть связано с различным дизайном экспериментов. Метод молекулярной динамики не подходит для моделирования адсорбционных процессов из-за малых времен симуляции. При измерении *in silico* молекулы красителей были помещены непосредственно в мембрану, в то время как при *in vitro* измерениях молекулы вводили в водный раствор, омывающий мембрану. Таким образом, при одном и том же соотношении липида и красителя с учетом коэффициента распределения красителей между липидной и водной фазой концентрация соединений в бислое во втором случае окажется меньше. Более высокие концентрации красителей могут привести к увеличению вероятности взаимодействия молекул агентов между собой. На рис. 3 видно образование олигомеров красителей, наблюдаемое в экспериментах *in silico*.

С использованием электрофизиологического подхода определены максимально возможные изменения дипольного потенциала мембран при введении тестируемых ксантеновых красителей, однако определенные *in silico* величины при соотношении липида и красителя 10:1 оказываются выше. Это может быть связано с тем, что в электрофизиологических экспериментах отрицательно заряженные молекулы эозина Y, эритрозина и бенгальского розового, сорбирующиеся и встраивающиеся в мембрану, создают поверхностный заряд бислоя и препятствуют дальнейшей сорбции молекул красителей. Это предположение не позволяет объяснить различия диполь-модифицирующей способности флуоресцеина в измерениях *in silico* и *in vitro*.

Таким образом, результаты молекулярного моделирования расширяют представления

о механизмах действия ксантеновых красителей на мембрану, в частности возможности их влияния на профиль латерального давления, а также указывают на необходимость более детального анализа модификации электрических свойств липидных бислоев флуоресцеином.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-74-10023).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abraham M. J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J. C., Hess B., Lindahl E. 2015. GROMACS: high performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. Software X. V. 1—2. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
- Banks J. G., Board R. G., Carter J., Dodge A. D. 1985. The cytotoxic and photodynamic inactivation of micro-organisms by Rose Bengal. J. Appl. Bacteriol. V. 58. P. 3910—400.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1985.tb01478.x>

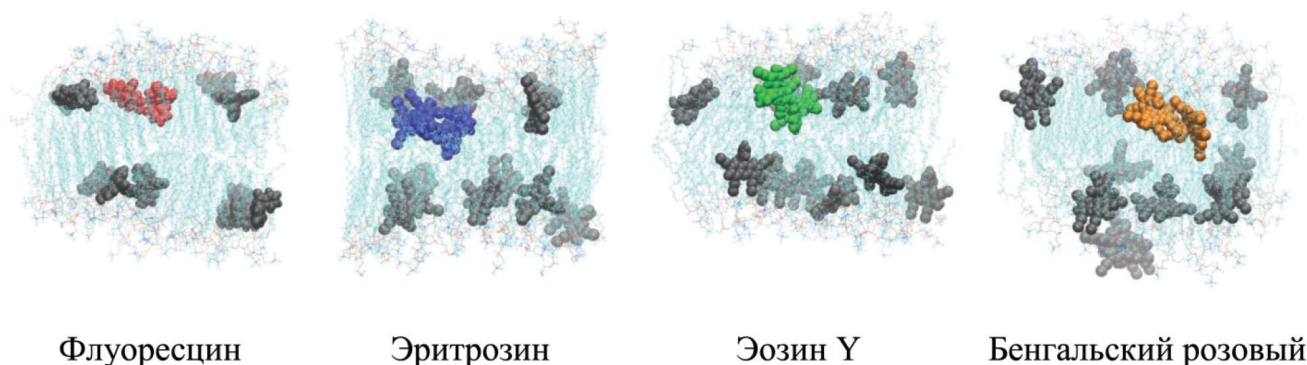


Рис. 3. Визуализация локализации ксантеновых красителей в ДПФХ мембране при соотношении липид/краситель 10:1. Взаимодействующие молекулы выделены цветом: флуоресцеин — красный, эритрозин — синий, эозин Y — зеленый и бенгальский розовый — оранжевый. Не взаимодействующие молекулы красителей показаны серым.

- Bernetti M., Bussi G. 2020. Pressure control using stochastic cell rescaling. *J. Chem. Phys.* V. 153. Art. ID: 114107. <https://doi.org/10.1063/5.0020514>
- Bhat M., Acharya S., Prasad K.V.V., Kulkarni R., Bhat A., Bhat D. 2017. Effectiveness of erythrosine-mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy on dental plaque aerobic microorganisms: a randomized controlled trial. *J. Indian Soc. Periodontol.* V. 21. P. 210. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_157_17
- Buck S.T.G., Bettanin F., Orestes E., Homem-de-Mello P., Imasato H., Viana R.B., da Silva A.B.F. 2017. Photodynamic efficiency of xanthene dyes and their phototoxicity against a carcinoma cell line: a computational and experimental study. *J. Chem.* V. 2017. Article ID: 7365263. <https://doi.org/10.1155/2017/7365263>
- Bussi G., Donadio D., Parrinello M. 2007. Canonical sampling through velocity rescaling. *J. Chem. Phys.* V. 126. Art. ID: 014101. <https://doi.org/10.1063/1.2408420>
- Calori I.R., Pellosi D.S., Vanzin D., Cesar G.B., Pereira P.C.S., Politi M.J., Hioka N., Caetano W. 2016. Distribution of xanthene dyes in DPPC vesicles: rationally accounting for drug partitioning using a membrane model. *J. Braz. Chem. Soc.* V. 27. P. 1938. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160079>
- Chaudhuri S., Sardar S., Bagchi D., Dutta S., Debnath S., Saha P., Lemmens P., Pal S.K. 2016. Photoinduced dynamics and toxicity of a cancer drug in proximity of inorganic nanoparticles under visible light. *Chemphyschem.* V. 17. P. 270. <https://doi.org/10.1002/cphc.201500905>
- Clarke R.J. 2015. Dipole-potential-mediated effects on ion pump kinetics. *Biophys. J.* V. 109. P. 1513. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.08.022>
- Darden T., York D., Pedersen L. 1993. Particle mesh Ewald: An N-log(N) method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* V. 98. P. 10089. <https://doi.org/10.1063/1.464397>
- Efimova S.S., Ostroumova O.S. 2012. Effect of dipole modifiers on the magnitude of the dipole potential of sterol-containing bilayers. *Langmuir.* V. 28. P. 9908. <https://doi.org/10.1021/la301653s>
- Efimova S.S., Schagina L.V., Ostroumova O.S. 2014. The influence of halogen derivatives of thyronine and fluorescein on the dipole potential of phospholipid membranes. *J. Membr. Biol.* V. 247. P. 739. <https://doi.org/10.1007/s00232-014-9703-7>
- Efimova S.S., Zakharova A.A., Ismagilov A.A., Schagina L.V., Malev V.V., Bashkirov P.V., Ostroumova O.S. 2018. Lipid-mediated regulation of pore-forming activity of syringomycin E by thyroid hormones and xanthene dyes. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* V. 1860. P. 691. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.12.010>
- Guixà-González R., Rodríguez-Espigares I., Ramírez-Anguila J.M., Carrió-Gaspar P., Martínez-Seara H., Giorgino T., Selent J. 2014. MEMBPLUGIN: studying membrane complexity in VMD. *Bioinformatics.* V. 30. P. 1478. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu037>
- Humphrey W., Dalke A., Schulten K. 1996. VMD: visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph.* V. 14. P. 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
- Jo S., Lim J.B., Klauda J.B., Im W. 2009. CHARMM-GUI Membrane builder for mixed bilayers and its application to yeast membranes. *Biophys. J.* V. 97. P. 50. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.013>
- Kotova E.A., Rokitskaya T.I., Antonenko Y.N. 2000. Two phases of gramicidin photoinactivation in bilayer lipid membranes in the presence of a photosensitizer. *Membr. Cell Biol.* V. 13. P. 411.
- Kučerka N., Nieh M.P., Katsaras J. 2011. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature. *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1808. P. 2761. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.022>
- Lee J., Cheng X., Swails J.M., Yeom M.S., Eastman P.K., Lemkul J.A., Wei S., Buckner J., Jeong J.C., Qi Y., Jo S., Pande V.S., Case D.A., Brooks C.L. 3rd, MacKerell A.D. Jr., Klauda J.B., Im W. 2016. CHARMM-GUI input generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM simulations using the CHARMM36 additive force field. *J. Chem. Theory Comput.* V. 12. P. 405. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>
- Qin J., Kunda N., Qiao G., Calata J.F., Pardiwala K., Prabhakar B.S., Maker A.V. 2017. Colon cancer cell treatment with rose bengal generates a protective immune response via immunogenic cell death. *Cell Death. Dis.* V. 8. Art. ID: e2584. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.473>
- Stenberg T. 1964. Studies of the liver function in experimental burns. IV. The radioiodine Rose Bengal (rirb) test in the burned rabbit. *Acta Chir. Scand.* V. 127. P. 367.
- Soifer M., Azar N.S., Blanco R., Mousa H.M., Ghalibafan S., Tovar A., Mettu P.S., Allingham M.J., Cousins S.W., Sabater A.L., Perez V.L. 2023. Fluorescein CorneoGraphy (FCG): use of a repurposed fluorescein imaging technique to objectively standardize corneal staining. *Ocul. Surf.* V. 27. P. 77–79. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2022.11.010>
- Vanommeslaeghe K., MacKerell A.D. Jr. 2012. Automation of the CHARMM general force field (CGenFF) I: bond perception and atom typing. *J. Chem. Inf. Model.* V. 52. P. 3144. <https://doi.org/10.1021/ci300363c>

ASSESSING THE INFLUENCE OF XANTHENE DYES ON THE PHYSICAL PROPERTIES OF LIPID MEMBRANES USING THE MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION

A. I. Malykhina, O. S. Ostroumova, S. S. Efimova*

Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064, Russia

**e-mail: efimova@incras.ru*

Objective: The correct choice of dyes, especially those targeting cell membranes, is a primary task for successful scientific research. In this work, the effect of xanthene dyes, fluorescein, erythrosine, eosin Y and rose bengal, on the physical properties of model lipid membranes was studied using molecular dynamics simulation. **Methods:** Molecular dynamics simulation. **Results and discussion:** It was found that xanthene dyes increase the area per lipid, the effect increases in the series fluorescein $\approx$ eosin Y $<$ erythrosine $\leq$ rose bengal. Calculation of the packing parameter of the phospholipid molecule “tails” shows that fluorescein, erythrosine and eosin Y have a disordering effect on membranes, while rose bengal has practically no effect on this parameter. Evaluation of the change in the dipole potential of the phospholipid membrane in the presence of dyes shows that their ability to reduce this value increases in the series fluorescein $\approx$ eosin Y $\approx$ erythrosine $<$ rose bengal. **Conclusions:** Comparison of the results of molecular dynamics simulation with electrophysiological data and the results of differential scanning microcalorimetry has revealed a number of discrepancies, the reasons for which are discussed.

Keywords: xanthene dyes, lipid membranes, packing density, molecular dynamics simulation