

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.04.060>

УДК 547.97:577.344.3

**А.Т. Синюгіна**<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-0604-6539>

**О.О. Іщенко**<sup>2</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-2722-3944>

<sup>1</sup> Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ

<sup>2</sup> Інститут органічної хімії НАН України, Київ

E-mail: [asyniugina@gmail.com](mailto:asyniugina@gmail.com)

## Вплив агрегації бензоіндосквараїнів на генерацію синглетного кисню

*Представлено академіком НАН України О.О. Іщенко*

*Методом електронної абсорбційної і флуоресцентної спектроскопії з використанням пасток показано, що бензоіндосквараїн з гідрофобним бічним радикалом сенсibiliзує утворення синглетного кисню ефективніше, ніж його аналог з гідрофільним радикалом, зі зростанням відсотка води в ДМСО і етанолі. Встановлено, що це обумовлено більшою схильністю до агрегації першого порівняно з другим. Показано, що агрегат має сендвічеву будову, що сприяє активації сенсibiliзації синглетного кисню за рахунок триплет-триплетного переносу енергії.*

**Ключові слова:** скварилієві барвники, агрегація, пастки, синглетний кисень, електронна абсорбційна і флуоресцентна спектроскопія, цитотоксичність.

Скварилієві барвники (сквараїни) це цвітер-іонні сполуки, в яких на кінцях хромофору знаходяться позитивно заряджені донорні фрагменти D і негативно заряджений акцепторний фрагмент A в його центрі. Вони характеризуються значною фото- і термостабільністю, високою інтенсивністю поглинання і флуоресценції в червоному та ближньому ІЧ-діапазоні спектра, тобто в області терапевтичного вікна [1–3]. Тому широко застосовуються в медико-біологічних дослідженнях для біовізуалізації та як флуоресцентні зонди [4]. Сквараїни також характеризуються високою здатністю до генерації синглетного кисню і активних форм кисню (АФК) під час опромінення світлом, що призводить до окисного пошкодження (фотоцитозу) клітин та тканин, внаслідок чого використовуються як фотосенсibiliзатори у фотодинамічній терапії [5].

Інтенсивно розробляються методи модифікації хімічної структури сквараїнів для збільшення генерації  $^1\text{O}_2$  і АФК. Зокрема, введення важкого атома [6], заміна централь-

---

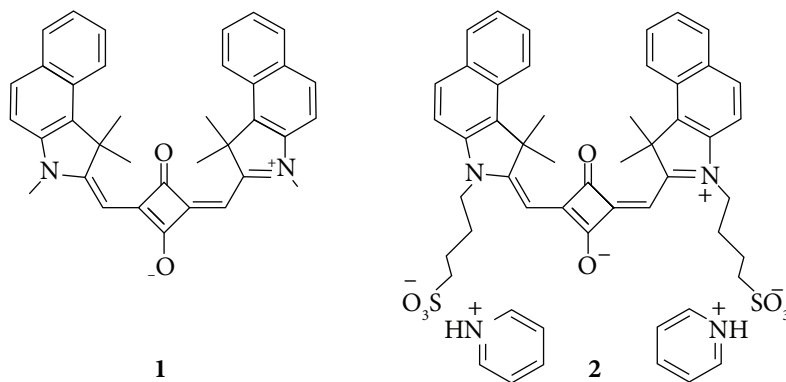
Ц и т у в а н н я: Синюгіна А.Т., Іщенко О.О. Вплив агрегації бензоіндосквараїнів на генерацію синглетного кисню. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2023. № 4. С. 60–67. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.04.060>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2023. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

ного атома кисню на аміноалкільні [7] і малонітрильні групи [8]. Зазначається також, що через плоску та гідрофобну будову серйозною проблемою використання скварилієвих барвників є їх агрегація, що погіршує спектрально-люмінесцентні і фотодинамічні властивості [9]. Розуміння агрегаційної поведінки барвників у розчині має важливе значення для оптимізації цих властивостей.

Мета дослідження полягала у вивченні впливу агрегації скварилієвих барвників на генерацію синглетного кисню.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використано серію бензоіндоленінових скварилієвих барвників з гідрофобним метильним **1** та гідрофільним сульфобутильним **2** замісниками при гетероатомі. Їх синтез, взаємодія з природними біомолекулами

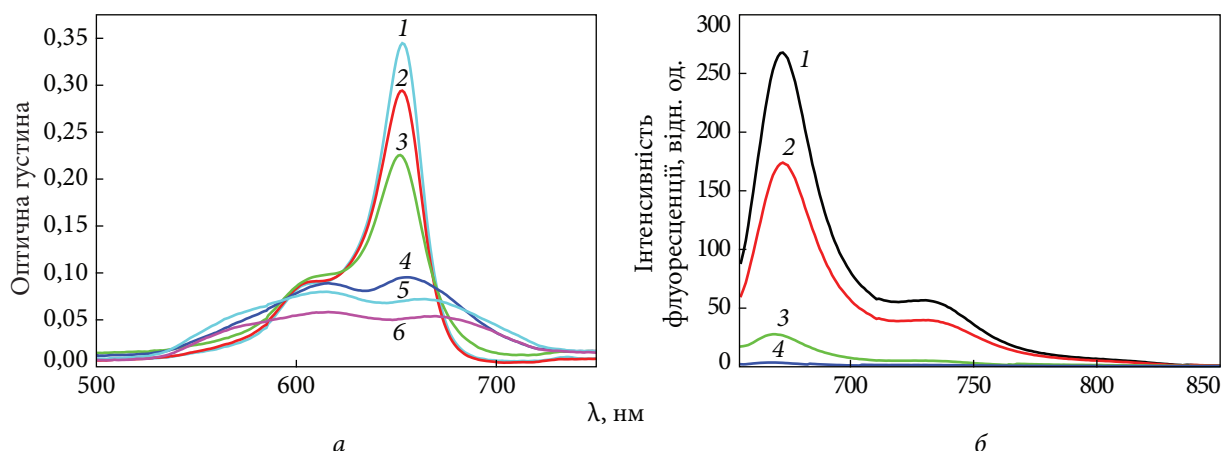


і здатність проникати крізь клітинну мембрану розглянуто в роботі [10]. Вибір бензоіндоленінової кінцевої групи зумовлений тим, що барвники на її основі малотоксичні, зокрема широкоживаний у медицині індоціанін зелений (indocyanine green (ICG)) [11], задовільно розчинні у фізіологічному розчині і мають високі квантові виходи флуоресценції.

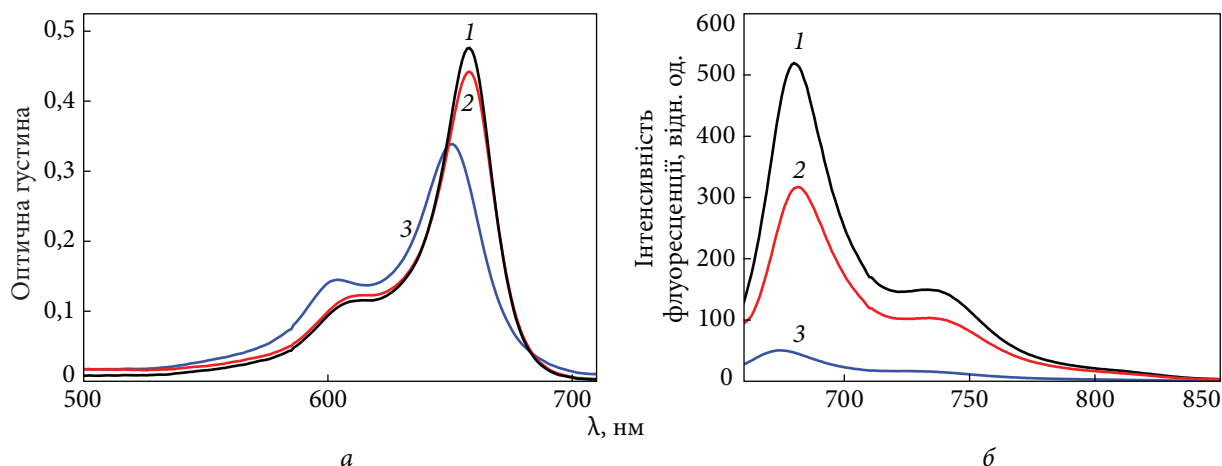
Електронні спектри поглинання барвників у різних розчинниках та їх сумішах реєстрували на спектрофотометрі UV-VIS-NIR UV-3600 (“Shimadzu”, Японія) у діапазоні 350—850 нм. Виміри проводили у кварцевих кюветках (10 × 10 мм). Для реєстрації спектрів флуоресценції використовували спектрофлуориметр “Cary Eclipse” (“Varian”, Австралія) з тими самими кюветками. Збудження флуоресценції здійснювали випромінюванням ксенонової лампи (150 Вт). Похибка визначення довжини хвилі становила 1 нм. Виміри синглетного кисню та АФК з використанням 1,3-дифенілізобензофурану (DPBF) [12] (25 мкМ) та Hydro-Cy5 [13] (10 мкМ) проведені в суміші етанол—буферний розчин у таких концентраціях  $V(\text{етанол})/V(\text{вода})$ : 50/50, 25/75. Концентрація досліджуваних скварайнів була однаковою і становила 5 мкМ. Опромінення (670 нм, 180 мВт/см<sup>2</sup>) відбувалося в темряві з перемішуванням з інтервалом 2 хв.

**Результати та їх обговорення.** Електронні спектри поглинання скварилієвих барвників **1** і **2** у полярних апротонному диметилсульфоксиді (ДМСО) і протондонорному етанолі мають типову для органічних барвників універсальну форму смуги — інтенсивну, вузьку, асиметричну з коливальним максимумом на короткохвильовому спаді [14] (рис. 1, а). Їй відповідає дзеркально симетрична смуга флуоресценції (рис. 1, б).

Розчини барвників **1** і **2** у ДМСО та етанолі підлягають закону Ламберта—Бера в інтервалі концентрацій 1—100 мкМ. Це означає, що вони в них знаходяться в неагрегованій мономерній формі.



**Рис. 1.** Спектри поглинання (а) і флуоресценції (б) барвника **1** в етанольному розчині з різним вмістом води, %: 0 (1), 10 (2), 30 (3), 50 (4), 70 (5) та 100 (6); концентрація барвника 5 мкМ



**Рис. 2.** Спектри поглинання (а) і флуоресценції (б) барвника **2** в етанольному розчині з різним вмістом води, %: 0 (1), 50 (2), 100 (3); концентрація барвника 5 мкМ

Для дослідження спектральних проявів агрегації спектри поглинання і флуоресценції скварайнів **1** і **2** аналізували в сумішах з водою етанолу і ДМСО у різному співвідношенні за постійної концентрації барвника. Виявлено, що зі збільшенням вмісту води як у етанолі, так і ДМСО відбувається сильна деформація спектрів поглинання скварайну **1** (див. рис. 1, а). Різко падає інтенсивність довгохвильового максимуму і з'являється нова короткохвильова смуга. Зі збільшенням вмісту води вона поступово гіпсохромно зміщується, а її інтенсивність зростає. При цьому відбувається закономірне гасіння флуоресценції (див. рис. 1, б). Нові смуги флуоресценції не виникають. Аналогічні спектрально-флуоресцентні ефекти спостерігаються в разі збільшення концентрації барвника за постійного співвідношення суміші згаданих розчинників. Це свідчить про те, що в сумішах з водою етанолу і ДМСО зі збільшенням вмісту води відбувається агрегація скварайну **1**.

У барвника **2**, у якого гідрофобний побічний замісник замінений на гідрофільну сульфобутильну групу, в аналогічних умовах зміни в спектрах поглинання відбуваються значно слабше. Спектри зберігають універсальний контур смуг поглинання за значно більшого вмісту води у сумішах розчинників, ніж у барвника **1** (рис. 2, а, б). Лише за високого (понад 50 %) вмісту води в нього з'являється невеликий короткохвильовий максимум при 612 нм. Це вказує на те, що скварайн **2** агрегує значно слабше порівняно з барвником **1**. Вірогідно, це є наслідком більшої розчинності першого порівняно з другим у водному розчині. У результаті молекули скварайну **2** менше виштовхуються зі структури води порівняно з барвником **1**, внаслідок чого, як відомо, агрегують слабше [15].

Для дослідження здатності до генерації синглетного кисню та інших АФК барвниками **1** і **2** використовували DPBF [12] і гідроціанін Hydro-Cy5 [13] відповідно. У результаті взаємодії з  $^1\text{O}_2$  у DPBF утворюється ендопероксидний фрагмент у циклі, який перериває спряження і здатний навіть розірвати зв'язок (схема 1). Це призводить до знебарвлення DPBF, яке супроводжується падінням оптичної густини у його максимумі (415 нм).

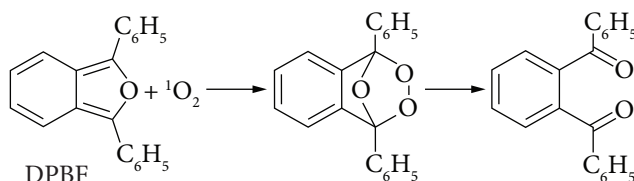


Схема 1

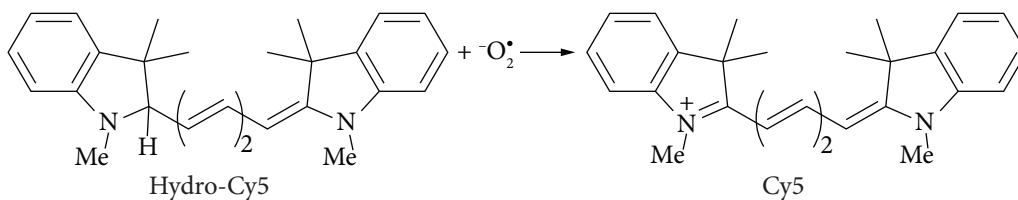
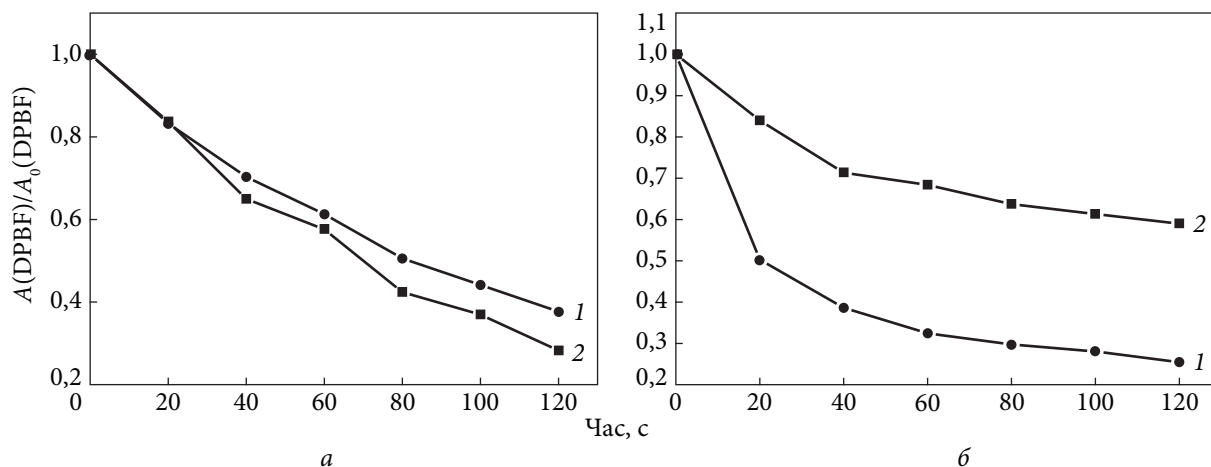


Схема 2

Навпаки Hydro-Cy5 у результаті взаємодії з АФК супероксидом  $\text{O}_2^-$  перетворюється в поліметиновий барвник Cy5, який інтенсивно забарвлюється і сильно флуоресцює (схема 2).

Дослідження проводили у водно-етанольному середовищі (50/50 %), застосовуючи опромінення довжиною хвилі ( $\lambda$ ) 670 нм у смугу поглинання барвників **1** і **2**. Важливо, що довжина хвилі 670 нм лежить за межами поглинання DPBF, тому за цих умов його спектр поглинання не змінюється. Однак у присутності скварайнів **1** і **2** опромінення довжиною хвилі 670 нм спричиняє зниження оптичної густини DPBF на 50 % протягом 70 с (рис. 3). Це є вагомою ознакою утворення  $^1\text{O}_2$ . Однак відомо, що у ряді випадків DPBF може подібним чином реагувати з супероксидом. Якщо останній задіяний у цьому процесі, то це чітко повинно виявлятися в реакції з гідроціаніном. Однак у тих самих умовах ( $\lambda = 670$  нм) ніяких змін ні в спектрах поглинання, ні в спектрах флуоресценції Hydro-Cy5 не відбувається. Отже, однозначно можна констатувати, що деградація скварайнів внаслідок опромінення пов'язана з утворенням синглетного кисню. Цікаво, що скварайн **2** генерує його активніше, ніж барвник **1**, якщо вміст води в суміші становить до 50 %. Зважаючи на це, можна очікувати, що подальше збільшення її вмісту в досліджуваному середовищі підсилить ці

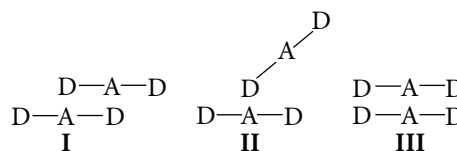


**Рис. 3.** Швидкість розкладання DPBF у присутності барвників **1** (крива 1) і **2** (крива 2) у водно-етанольному розчині: 50 % води (а) і 75 % води (б), залежно від часу опромінення.  $A(DPBF)$  — абсорбція DPBF після опромінення в момент часу  $t$ ,  $A_0(DPBF)$  — абсорбція DPBF до проміння

тенденції. Несподіваним виявилось, що зростання вмісту води до 75 % спричинило значно більше знебарвлення DPBF у барвника **1** порівняно з **2**. У першого воно відбулося на 50 % вже після 20 с опромінення. Ми припускаємо, що більш швидке зростання сенсibilізації  $^1O_2$  барвником **1** порівняно з **2** з підвищенням вмісту води в суміші розчинників пов'язано з більшою схильністю першого до агрегації.

Донорно-акцепторна природа сквараїнів створює умови для сильного міжмолекулярного електростатичного тяжіння різнойменних зарядів, що спричиняє утворення димерів і складніших агрегатів навіть у дуже розбавлених розчинах [16]. У разі орієнтації молекул сквараїну, як у структурі **I** (рис. 4), взаємодія між ними має бути максимальною, оскільки протилежно заряджені фрагменти D і A різних молекул знаходяться один проти одного на обох кінцях молекули. У такій структурі утворюється кут між двома хромофорами, близький до  $180^\circ$ . Характерною її ознакою є поява нової довгохвильової смуги поглинання і флуоресценції відносно відповідних смуг мономерної молекули [17]. Їх відсутність унеможлиблює реалізацію агрегату типу **I** у нашому випадку. Структура **II** має бути менш вигідною, оскільки взаємодія фрагментів мономерів D і A відбувається лише з одного боку. У разі гострого кута між хромофорами виникають дві смуги поглинання, але інтенсивність довгохвильової набагато вища [15]. Цей випадок у нас також не реалізується. У сендвічевій структурі **III** одноіменно заряджені фрагменти розташовані один проти одного. Кулонівські сили відштовхування дестабілізують такий агрегат. Однак у разі паралельного розташування хромофорів дисперсійні взаємодії між ними максимальні. Тому є можливість утворення таких агрегатів. У нашому випадку додаткове посилення дисперсійних взаємодій у сендвічевій структурі здійснюється за рахунок бензанелювання індолінового ядра, що розширює  $\pi$ -систему спряження.

Однозначним доказом домінування в нашому випадку структури **III** у разі збільшення вмісту води в сумішах розчинників є: виникнення нової короткохвильової смуги поглинання (гіпсохромно зсунутої



**Рис. 4.** Можливі структури агрегатів

приблизно на 30—40 нм); зростання її інтенсивності (навіть перевищує інтенсивність основної смуги); падіння інтенсивності довгохвильової смуги; гасіння флуоресценції мономерної смуги до її повного зникнення за вмісту води близько 80 % [18].

Агрегація барвників супроводжується зменшенням енергетичної щільності між  $S_1$  і Т станами порівняно з мономерним барвником. Це зумовлює зростання ймовірності інтеркомбінаційної конверсії. В асоціатів сендвічевої будови **III** вона додатково зростає внаслідок того, що конкурентний флуоресцентний перехід  $S_1 \rightarrow S_0$  у них заборонений [18]. У результаті активований триплетний стан агрегату **III** здатний за механізмом Т-Т переносу енергії сенсibilізувати утворення синглетного кисню (схема 3).



Схема 3

**Висновки.** Агрегація скварайнів, яка, як правило, небажана в медико-біологічних експериментах, може відігравати корисну роль для сенсibilізації синглетного кисню. Це необхідно враховувати під час використання скварилієвих барвників у фотодинамічній терапії. Дійсно, життєздатність клітин MCF-7 (лінія клітин аденокарциноми молочної залози людини) під дією опромінення лазером у присутності скварайну **1** знижувалася: за концентрації 0,1 мкМ майже на 40 %, за концентрації 10 мкМ майже на 90 %. Для скварайну **2** спостерігалось зниження життєздатності клітин більш ніж на 50 % лише за високої (10 мкМ) концентрації. Обидва барвники виявляли низьку темнову токсичність.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Pina K., MacCuaig W. M., Laramie M., Jeouty J.N., McNally L.R., Henary M. Squaraine dyes: molecular design for different applications and remaining challenges. *Bioconjugate Chem.* 2019. **31**, № 2. P. 194—213. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00482>
2. Kurdiukova I.V., Kulinich A.V., Ishchenko A.A. Near-infrared squarate and croconate dianions derived from tetranitrofluore. *New J. Chem.* 2012. **34**, Iss. 8. P. 1564—1567. <https://doi.org/10.1039/c2nj40303j>
3. Wang Y., Wang M., Xia G., Yang Y., Si L., Wang H., Wang H. Maximal emission beyond 1200 nm dicyanovinyl-functionalized squaraine for *in vivo* vascular imaging. *Chem. Commun.* 2023. **59**. P. 3598—3601. <https://doi.org/10.1039/d3cc00331k>
4. Schreiber C.L., Zhai C., Dempsey J.M., McGarraugh H.H., Matthews B.P., Christmann C.R., Smith B.D. Paired agent fluorescence imaging of cancer in a living mouse using preassembled squaraine molecular probes with emission wavelengths of 690 and 830 nm. *Bioconjugate Chem.* 2020. **31**, № 2. P. 214—223. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00750>
5. Ishchenko A.A., Syniugina A.T. Structure and photosensitizer ability of polymethine dyes in photodynamic therapy: A review. *Theor. Exp. Chem.* 2023. **58**, № 6. P. 373—401. <https://doi.org/10.1007/s11237-023-09754-9>
6. Mandim F., Graça V.C., Calhela R.C., Machado I.L.F., Ferreira L.F.V., Ferreira I.C.F.R., Santos P.F. Synthesis, photochemical and *in vitro* cytotoxic evaluation of new iodinated aminosquaraines as potential sensitizers for photodynamic therapy. *Molecules.* 2019. **24**, № 5. 863. <https://doi.org/10.3390/molecules24050863>
7. Magalhães Á.F., Graça V.C., Calhela R.C., Ferreira I.C.F.R., Santos P.F. Aminosquaraines as potential photodynamic agents: Synthesis and evaluation of *in vitro* cytotoxicity. *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* 2017. **27**. P. 4467—4470. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.08.004>
8. Wei Y., Hu X., Shen L., Jin B., Liu X., Tan W., Shangguan D. Dicyanomethylene substituted benzothiazole squaraines: the efficiency of photodynamic therapy *in vitro* and *in vivo*. *EBioMedicine.* 2017. **23**. P. 25—33. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.08.010>
9. Tatkolov A.S., Panova I.G., Ishchenko A.A., Kudinova M.A. Spectral and fluorescent study of the interaction of squarylium dyes, derivatives of 3H-indolium, with albumins. *Biophysics.* 2010. **55**, № 1. P. 35—40. <https://doi.org/10.1134/s0006350910010070>



10. Syniugina A.T., Chernii S.V., Losytskyi M.Yu., Ozkan H.G., Slominskii Yu.L., Syniugin A.R., Pekhnyo V., Mokhir A.A., Yarmoluk S. M. N-alkyl functionalized squaraine dyes as fluorescent probes for the detection of serum albumins. *Biopolym. Cell.* 2022. **38**, № 2. P. 103—116. <https://doi.org/10.7124/bc.000A75>
11. Alander J.T., Kaartinen I., Laakso A., Pätilä T., Spillmann T., Tuchin V.V., Venermo M., Välisuo P. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int. J. Biomed. Imaging.* 2012. 940585. <https://doi.org/10.1155/2012/940585>
12. Entradas T., Waldron S., Volk M. The detection sensitivity of commonly used singlet oxygen probes in aqueous environments. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 2020. **204**. 111787. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111787>
13. Kundu K., Knight S.F., Willett N., Lee S., Taylor W.R., Murthy N. Hydrocyanines: a class of fluorescent sensors that can image reactive oxygen species in cell culture, tissue, and *in vivo*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2009. **48**, № 2. P. 299—303. <https://doi.org/10.1002/anie.200804851>
14. Ishchenko A.A. Structure and spectral-luminescent properties of polymethine dyes (Reviews). *Rus. Chem. Rev.* 1991. **60**, № 8. P. 865—884. <https://doi.org/10.1070/rc1991v060n08abeh001116>
15. Ishchenko A.A., Kramarenko F.G., Maydannic A.G., Sereda S.V., Vasilenko N.P. Structure and association of carbocyanines of the benz[c,d]indole series in binary mixtures of solvents. *J. Inform. Rec. Mater.* 1991. **19**, № 3. P. 207—219.
16. Ashwell G.J., Leeson P., Bahra G.S., Brown Ch. R. Aggregation-induced second-harmonic generation. *J. Opt. Soc. Am. B.* 1998. **15**, № 1. P. 484—488. <https://doi.org/10.1364/JOSAB.15.000484>
17. Ishchenko A.A., Mushkalo I.L., Derevyanko N.A., Zakhidov U., Khidirova T.S., Nizamov N. Association of biscyanine dyes with rigidly connected chromophores in solvents of different polarity. *J. Inform. Rec. Mater.* 1989. **17**, № 1. P. 39—51.
18. Ibrayev N.K., Ishchenko A.A., Karamysheva R.K., Mushkalo I.L. Influence of interaction of chromophores, linked by the unconjugated chain, on the luminescence properties of biscyanine dyes. *J. Lumin.* 2000. **90**, № 3—4. P. 81—88. [https://doi.org/10.1016/s0022-2313\(99\)00616-x](https://doi.org/10.1016/s0022-2313(99)00616-x)

Надійшло до редакції 20.03.2023

## REFERENCES

1. Ilina, K., MacCuaig, W. M., Laramie, M., Jeouty, J. N., McNally, L. R. & Henary, M. (2019). Squaraine dyes: molecular design for different applications and remaining challenges. *Bioconjugate Chem.*, 31, No. 2, pp. 194-213. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00482>
2. Kurdiukova, I. V., Kulinich, A. V. & Ishchenko, A. A. (2012). Near-infrared squarate and croconate dianions derived from tetranitrofluore. *New J. Chem.*, 34, Iss. 8, pp. 1564-1567. <https://doi.org/10.1039/c2nj40303j>
3. Wang, Y., Wang, M., Xia, G., Yang, Y., Si, L., Wang, H. & Wang, H. (2023). Maximal emission beyond 1200 nm dicyanovinyl-functionalized squaraine for *in vivo* vascular imaging. *Chem. Commun.*, 59, pp. 3598-3601. <https://doi.org/10.1039/d3cc00331k>
4. Schreiber, C. L., Zhai, C., Dempsey, J. M., McGarraugh, H. H., Matthews, B. P., Christmann, C. R. & Smith, B. D. (2020). Paired agent fluorescence imaging of cancer in a living mouse using preassembled squaraine molecular probes with emission wavelengths of 690 and 830 nm. *Bioconjugate Chem.*, 31, No. 2, pp. 214-223. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00750>
5. Ishchenko, A. A. & Syniugina, A. T. (2023). Structure and photosensitizer ability of polymethine dyes in photodynamic therapy: A review. *Theor. Exp. Chem.*, 58, No. 6, pp. 373-401. <https://doi.org/10.1007/s11237-023-09754-9>
6. Mandim, F., Graça, V. C., Calhelha, R. C., Machado, I. L. F., Ferreira, L. F. V., Ferreira, I. C. F. R. & Santos, P. F. (2019). Synthesis, photochemical and *in vitro* cytotoxic evaluation of new iodinated aminosquaraines as potential sensitizers for photodynamic therapy. *Molecules*, 24, No. 5, 863. <https://doi.org/10.3390/molecules24050863>
7. Magalhães, Á. F., Graça, V. C., Calhelha, R. C., Ferreira, I. C. F. R. & Santos, P. F. (2017). Aminosquaraines as potential photodynamic agents: Synthesis and evaluation of *in vitro* cytotoxicity. *Bioorgan. Med. Chem. Lett.*, 27, pp. 4467-4470. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.08.004>
8. Wei, Y., Hu, X., Shen, L., Jin, B., Liu, X., Tan, W. & Shangquan, D. (2017). Dicyanomethylene substituted benzothiazole squaraines: the efficiency of photodynamic therapy *in vitro* and *in vivo*. *EBioMedicine*, 23, pp. 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.08.010>

9. Tatikolov, A. S., Panova, I. G., Ishchenko, A. A. & Kudinova, M. A. (2010). Spectral and fluorescent study of the interaction of squarylium dyes, derivatives of 3H-indolium, with albumins. *Biophysics*, 55, No. 1, pp. 35-40. <https://doi.org/10.1134/s0006350910010070>
10. Syniugina, A. T., Chernii, S. V., Losytskyi, M. Yu., Ozkan, H. G., Slominskii, Yu. L., Syniugin, A. R., Pekhnyo, V., Mokhir, A. A. & Yarmoluk, S. M. (2022). N-alkyl functionalized squaraine dyes as fluorescent probes for the detection of serum albumins. *Biopolym. Cell*, 38, No. 2, pp. 103-116. <https://doi.org/10.7124/bc.000A75>
11. Alander, J. T., Kaartinen, I., Laakso, A., Pätälä, T., Spillmann, T., Tuchin, V. V., Venermo M. & Välisuo, P. (2012). A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int. J. Biomed. Imaging*, 940585. <https://doi.org/10.1155/2012/940585>
12. Entradas, T., Waldron, S. & Volk, M. (2020). The detection sensitivity of commonly used singlet oxygen probes in aqueous environments. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, 204, 111787. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111787>
13. Kundu, K., Knight, S. F., Willett, N., Lee, S., Taylor, W. R. & Murthy, N. (2009). Hydrocyanines: A class of fluorescent sensors that can image reactive oxygen species in cell culture, tissue, and *in vivo*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 48, No. 2, pp. 299-303. <https://doi.org/10.1002/anie.200804851>
14. Ishchenko, A. A. (1991). Structure and spectral-luminescent properties of polymethine dyes (Reviews). *Rus. Chem. Rev.*, 60, No. 8, pp. 865-884. <https://doi.org/10.1070/rc1991v060n08abeh001116>
15. Ishchenko, A. A., Kramarenko, F. G., Maydannic, A. G., Sereda, S. V. & Vasilenko, N. P. (1991). Structure and association of carbocyanines of the benz[c,d]indole series in binary mixtures of solvents. *J. Inform. Rec. Mater.*, 19, No. 3, pp. 207-219.
16. Ashwell, G. J., Leeson, P., Bahra, G. S. & Brown, Ch. R. (1998). Aggregation-induced second-harmonic generation. *J. Opt. Soc. Am. B*, 15, No. 1, pp. 484-488. <https://doi.org/10.1364/JOSAB.15.000484>
17. Ishchenko, A. A., Mushkalo, I. L., Derevyanko, N. A., Zakhidov, U., Khidirova, T. S. & Nizamov, N. (1989). Association of biscyanine dyes with rigidly connected chromophores in solvents of different polarity. *J. Inform. Rec. Mater.*, 17, No. 1, pp. 39-51.
18. Ibrayev, N. K., Ishchenko, A. A., Karamysheva, R. K. & Mushkalo, I. L. (2000). Influence of interaction of chromophores, linked by the unconjugated chain, on the luminescence properties of biscyanine dyes. *J. Lumin.*, 90, No. 3-4, pp. 81-88. [https://doi.org/10.1016/s0022-2313\(99\)00616-x](https://doi.org/10.1016/s0022-2313(99)00616-x)

Received 20.03.2023

A.T. Syniugina<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-0604-6539>A.A. Ishchenko<sup>2</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-2722-3944><sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv<sup>2</sup>Institute of Organic Chemistry of the NAS of Ukraine, KyivE-mail: [asyniugina@gmail.com](mailto:asyniugina@gmail.com)

## AGGREGATION EFFECT OF BENZOINDOSQUARAINS ON SINGLET OXYGEN GENERATION

The effect of aggregation of benzoindosquaraines on singlet oxygen generation was investigated using electronic absorption and fluorescence spectroscopy in the presence of traps. The results demonstrate that benzoindosquaraine with a hydrophobic side radical sensitizes the formation of singlet oxygen more effectively compared to its analog with a hydrophilic radical, especially as the percentage of water in DMSO and ethanol increases. This difference in sensitization efficiency is attributed to the higher propensity of the former to aggregate, in contrast to the latter. The study further reveals that the aggregate adopts a sandwich structure, which facilitates the activation of singlet oxygen sensitization through triplet-triplet energy transfer.

**Keywords:** *squarylium dyes, aggregation, traps, singlet oxygen, electronic absorption, fluorescence spectroscopy, cytotoxicity.*