



ПОЛІЩУК

Владислав Михайлович — доктор філософії, науковий співробітник відділу кольору та будови органічних сполук Інституту органічної хімії НАН України

ДІОКСАБОРИНИ ЯК ФЛУОРЕСЦЕНТНІ ЗОНДИ ДЛЯ БІОВІЗУАЛІЗАЦІЇ

За матеріалами наукового повідомлення на засіданні Президії НАН України 8 липня 2026 р.

У доповіді наведено результати дослідження органічних барвників на основі діоксаборинового циклу та їх застосування в біомедичній візуалізації. Зокрема, показано, що введення ціаногрупи у мезоположення діоксаборину істотно підвищує його хімічну активність, що дало змогу отримати низку нових барвників з унікальними фізико-хімічними властивостями. Одержані сполуки протестовано на предмет взаємодії з білками і встановлено, що діаніонні барвники є перспективними флуоресцентними зондами для альбумінів. Крім того, окремі представники діоксаборинових барвників мають потенціал для застосування у фотодинамічній терапії раку, оскільки лабораторні дослідження показали високий рівень їх фотоцитотоксичності до ракових клітин.

Ключові слова: біовізуалізація, діоксаборин, флуоресценція, альбумін, фотодинамічна терапія.

Біомедична візуалізація, або біовізуалізація, охоплює низку малоінвазивних технологій, які дають змогу детально вивчати біологічні процеси у живих організмах. Найпоширенішими прикладами таких технологій є магнітно-резонансна томографія (МРТ) та комп'ютерна томографія (КТ), які дозволяють, зокрема, оцінити ступінь прогресування хвороби (наприклад, стадію раку) або проводити моніторинг ефективності лікування. КТ і МРТ — це макроскопічні системи візуалізації; своєю чергою, комплементарними до них є мікроскопічні системи, які дають змогу досліджувати біологічні процеси на рівні клітин та біомолекул. Наприклад, у разі хвороби Альцгеймера МРТ допомагає діагностувати та оцінити ступінь прогресування захворювання, проте саме методи мікроскопічної візуалізації пролили світло на молекулярні механізми виникнення та розвитку патології.

Ключовим інструментом біовізуалізації є флуоресцентні зонди — органічні або неорганічні сполуки, які під дією світла і в присутності біомолекул дають сильний чіткий флуоресцентний сигнал. Наприклад, за допомогою флуоресцентних зондів під мікроскопом можна візуалізувати основні компоненти живої клітини, а саме, цитоплазму, ядро, мембрану.

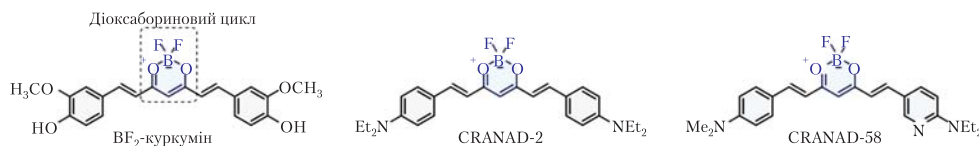
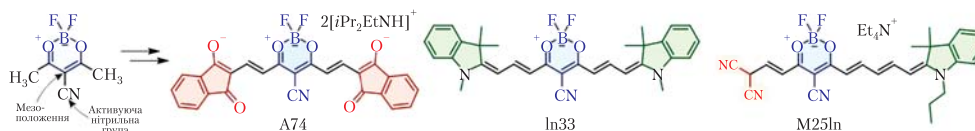


Рис. 1. Діоксаборинові барвники як флуоресцентні зонди в терапії хвороби Альцгеймера

Рис. 2. Мезоціанодіоксаборин та приклади барвників, які було синтезовано на його основі



Флуоресцентні зонди умовно поділяють на два типи — неорганічні матеріали на основі наночастинок (квантові точки, металічні нанокластери, графенові нанотрубки та ін.) та органічні барвники (поліметини, ксантени, родаміни тощо). При цьому наноматеріали досить складні у виготовленні (основна проблема — складність відтворення методик синтезу, оскільки наноструктури є дуже чутливими до найменших змін у методології) і загалом погано розчиняються у воді, тоді як органічні барвники мають значно ширші можливості структурної модифікації, що дозволяє отримувати сполуки з наперед заданими властивостями.

Для того щоб органічний барвник міг слугувати флуоресцентним зондом, він повинен мати певний набір властивостей. Насамперед ідеться про високу інтенсивність флуоресценції (випромінювання). Кількісною мірою флуоресценції є квантовий вихід флуоресценції, що визначається як відношення кількості поглинутих фотонів світла до кількості випромінених (максимальне можливе значення — 100 %). Інша важлива властивість — селективність, тобто посилення флуоресцентного сигналу барвника при зв'язуванні з біомолекулами, але не у вільному стані. Наприклад, якщо барвник не флуоресцює у протонодонорних середовищах (водні буферні розчини або спирти), але інтенсивно випромінює у малополярних розчинниках, це може свідчити про потенціал барвника у візуалізації білків, оскільки білкове середовище є малополярним і при зв'язуванні барвник може інтенсивно випромінювати.

Третьою, не менш важливою вимогою є випромінювання барвника в ближньому інфрачервоному діапазоні (650—900 нм), оскільки цей діапазон порівняно з видимим вікном має такі переваги:

- мінімальна фонові флуоресценція;
- краща проникність у живі клітини;
- мінімальна деструкція живих клітин під впливом світла.

Серед великого різноманіття флуоресцентних зондів на основі органічних барвників особливе місце посідають сполуки, що містять у своїй структурі діоксабориновий цикл. У 2009 р. було описано використання діоксаборинів на основі куркуміну у флуоресцентному зондуванні нейротоксичних бета-амілоїдних пептидів, які є маркерами хвороби Альцгеймера (рис. 1). Зокрема, сполуки CRANAD-2 та CRANAD-58 — структурні аналоги бороdifлуоридного комплексу куркуміну, виявляють відповідно 70- та 114-разове зростання інтенсивності флуоресценції при зв'язуванні з патологічними біомолекулами [1, 2]. Це дослідження дало старт бурхливому розвитку використання діоксаборинів у біовізуалізації.

Відтоді спектр описаних структурних аналогів CRANAD-2 та BF₂-куркуміну обмежувався доволі однотипними сполуками, фізико-хімічні властивості яких істотно не різняться. Однотипність таких сполук частково пояснюється низькою реакційною здатністю метильних груп бороdifлуоридного комплексу ацетилацетону в реакціях синтезу барвників. Для підвищення реакційної здатності метильних груп

ми вирішили ввести активуючу нітрильну групу в мезоположення діоксaborиного циклу (рис. 2) [3]. Це дало змогу синтезувати не лише аналоги відомих типів барвників, а й абсолютно нові структури з унікальними фізико-хімічними властивостями.

Серед отриманих нами діоксaborинів слід відзначити сполуки діаніонної природи [4]. Порівняно з CRANAD-2, квантовий вихід флуоресценції якого в дихлорометані становить 40 %, наші барвники мають значно вищі значення квантових виходів флуоресценції, що сягають або навіть перевищують 90 %. Крім того, діаніонний барвник **A74** з 1,3-індандіоновими кінцевими групами дуже слабо флуоресцює у протондонорному метанолі ($\text{pH} = 7,4$, $\Phi_f = 1\%$), тоді як в апротонному малополярному дихлорометані значення Φ_f сягає 61 % (рис. 3). Зважаючи на таку вибірковість випромінювання, його було протестовано щодо взаємодії з білками і встановлено, що в присутності альбумінів спостерігається значне посилення флуоресценції [5]. Більше того, різний ступінь посилення флуоресценції для різних типів альбумінів (сироватковий альбумін людини (HSA), бичачий сироватковий альбумін (BSA) та сироватковий альбумін коней (ESA)) може свідчити про чутливість барвника до конформаційних змін білків. Отримані результати показують, що такого роду барвники можуть бути перспективними флуоресцентними зондами для альбумінів. Це дослідження важливе ще й з огляду на те, що варіація вмісту альбумінів у біологічних рідинах часто є первинною ознакою прогресування патологій. Отже, моніторинг альбумінів є ключем до запобігання цим захворюванням, а запропоновані нами флуоресцентні зонди можуть істотно знизити вартість тестів для визначення вмісту альбумінів.

Органічні барвники можуть не лише відігравати роль флуоресцентних зондів, а й бути активними учасниками боротьби з патологічними новоутвореннями, що, власне, і є основою фотодинамічної терапії.

Фотодинамічна терапія охоплює такі етапи:

1) *накопичення* — фотосенсибілізатор селективно накопичується в ракових клітинах (у фо-

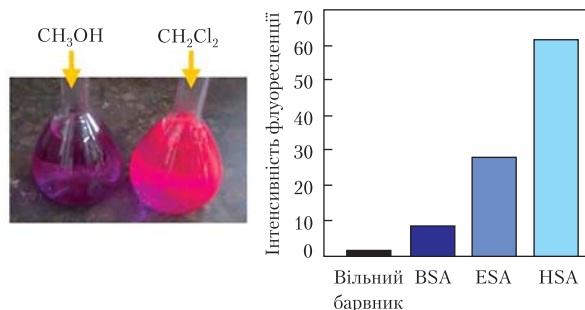


Рис. 3. Розчин барвника **A74** у метанолі та дихлорометані і графік інтенсивності флуоресценції барвника у вільному стані в PBS-буфері та в присутності різних типів альбумінів

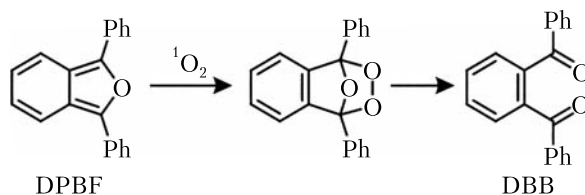


Рис. 4. Реакція 1,3-дифенілізобензофурану з синглетним киснем з утворенням 1,2-добензоїлбензолу

тодинамічній терапії для підкреслення функціональної суті барвник прийнято називати фотосенсибілізатором; цей термін у буквальному перекладі означає «той, що робить чутливим до світла»;

2) *активація* — уражені ділянки опромінюють світлом (найчастіше лазером) відповідної довжини хвилі, що активує фотосенсибілізатор;

3) *перенос енергії* — збуджений фотосенсибілізатор може скинути енергію за допомогою флуоресценції або через інтеркомбінаційну конверсію перейти в триплетний стан. Щоб повернутися в основний стан, він має передати надлишкову енергію молекулам кисню, перетворюючи його на високореакційний синглетний кисень (${}^1\text{O}_2$);

4) *деструкція* — синглетний кисень та інші активні форми кисню ініціюють окисний стрес і руйнування ракових клітин.

Отже, щоб барвник мав потенціал для застосування у фотодинамічній терапії, він повинен характеризуватися високою здатністю до гене-

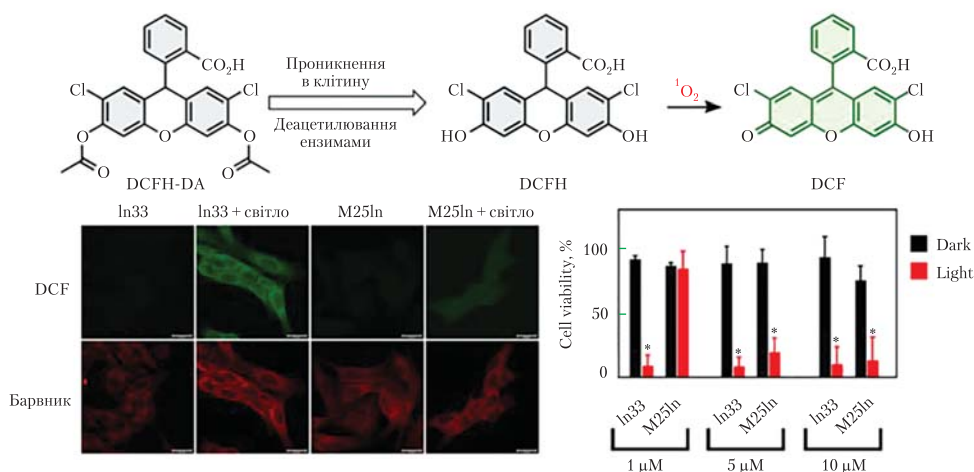


Рис. 5. Візуалізація синглетного кисню в клітинах з використанням DCFH-DA та профіль токсичності барвників **In33** і **M25In** до та після опромінення

рації синглетного кисню. Цю здатність можна перевірити за допомогою тесту з використанням хімічної пастки — сполуки, яка є високоселективною до синглетного кисню. Такою хімічною пасткою може слугувати 1,3-дифенілїзобензофуран (DPBF), який у присутності синглетного кисню перетворюється на 1,2-дibenзоїлбензол (DBB). Під час тесту відбувається опромінення розчину барвника і хімічної пастки (DPBF), концентрацію якого в процесі опромінення контролюють за допомогою спектра абсорбції реакційної суміші (DPBF поглинає при 415 нм у метанолі). Якщо інтенсивність абсорбції DPBF (максимум при 415 нм) стрімко знижується, це означає зменшення його концентрації внаслідок реакції DPBF із синглетним киснем (рис. 4).

Деякі наші барвники було протестовано на здатність до генерації синглетного кисню і виявлено, що сполуки **In33** та **M25In** дійсно мають таку властивість [6]. Квантовий вихід генерації синглетного кисню в метанолі для цих сполук становить 2,94 % і 1,33 % відповідно.

Фотодинамічну дію барвників **In33** та **M25In** було перевірено на двох різних типах ракових клітин. Попередньо встановлено, що барвники локалізуються в клітинах у цитоплазмі з мінімальним проникненням у ядра клітин. За відсутності світла клітини не зазнають ушкоджень у присутності барвників за концентрації 1—10 мкмоль/л. Водночас у діапазоні концентра-

цій 15—20 мкмоль/л спостерігається незначна цитотоксичність барвників до живих клітин.

Здатність барвників генерувати синглетний кисень у живих клітинах було перевірено за допомогою хімічної пастки, яка проникає в живі клітини, а саме: 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїну діацетату (DCFH-DA). Всередині клітини ця сполука деацетилюється під впливом клітинних ензимів, перетворюючись на нефлуоресцентний 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн (DCFH), який своєю чергою окиснюється синглетним киснем до високофлуоресцентного 2',7'-дихлорофлуоресцеїну (DCF), який випромінює зелене світло.

Експеримент показав, що барвники **In33** та **M25In** генерують синглетний кисень всередині клітини, що проявляється в яскравій зеленій флуоресценції (рис. 5). Крім того, кількість живих ракових клітин після опромінення знизилася на 70 % в присутності барвника **In33** і на 60 % — в присутності барвника **M25In**. Отримані результати свідчать про наявність сильного фотодинамічного ефекту в досліджуваних барвниках, які продемонстрували високий потенціал для подальшого застосування у фотодинамічній терапії.

Отже, ми розробили нові флуоресцентні зонди для біомедичної візуалізації на основі діоксaborинового циклу. Ці барвники можна застосовувати для флуоресцентного зондування альбумінів та у фотодинамічній терапії раку.

REFERENCES

1. Ran Ch. et al. Design, synthesis, and testing of difluoroboron-derivatized curcumins as near-infrared probes for in vivo detection of amyloid- β deposits. *J. Am. Chem. Soc.* 2009. **131**(42): 15257—15261. <https://doi.org/10.1021/ja9047043>
2. Zhang X. et al. Design and synthesis of curcumin analogues for in vivo fluorescence imaging and inhibiting copper-induced cross-linking of amyloid beta species in Alzheimer's disease. *J. Am. Chem. Soc.* 2013. **135**(44): 16397—16409. <https://doi.org/10.1021/ja405239v>
3. Polishchuk V., Stanko M., Kulinich A., Shandura M. D- π -A- π -D dyes with a 1,3,2-dioxaborine cycle in the polymethine chain: efficient long-wavelength fluorophores. *Eur. J. Org. Chem.* 2018. **2018**(2): 240—246. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201701466>
4. Polishchuk V., Kulinich A., Rusanov E., Shandura M. Highly fluorescent dianionic polymethines with a 1,3,2-dioxaborine core. *J. Org. Chem.* 2021. **86**(7): 5227—5233. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00138>
5. Kazakov-Kravchenko O.S., Losytskyy M.Yu., Polishchuk V.M., Kulinich A.V., Shandura M.P., Yarmoluk S.M. Spectral-fluorescent response of dioxaborine dyes with varying chromophore charge in the presence of serum albumins. *Biopolymers & Cell.* 2025. **41**(3): 222—230. <https://doi.org/10.7124/bc.000B1A>
6. Syniugina A., Polishchuk V., Verdu I., Shandura M., Krupka O. Near-infrared dioxaborine-containing polymethines for light-activated anticancer activity. *ACS Appl. Bio Mater.* 2026. **9**(13): 6075—6085. <https://doi.org/10.1021/acsabm.6c00681>

Vladyslav M. Polishchuk

Institute of Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4396-0119>

DIOXABORINES AS FLUORESCENT PROBES FOR BIOIMAGING

According to the materials of report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, July 8, 2026

The report presents the results of a study on dioxaborine-based organic dyes and their applications in biomedical imaging. It has been shown that introducing a cyano group into the meso-position of the dioxaborine cycle significantly increases its chemical activity, enabling the synthesis of a series of novel dyes with unique physicochemical properties. The synthesized compounds were evaluated for protein-binding interactions, revealing that the dianionic derivatives are promising fluorescent probes for albumins. Furthermore, certain representatives of dioxaborine dyes hold potential for application in photodynamic cancer therapy, as the study revealed high photocytotoxicity against cancer cells.

Keywords: bioimaging, dioxaborine, fluorescence, albumin, photodynamic therapy.

Cite this article: Polishchuk V.M. Dioxaborines as fluorescent probes for bioimaging (according to the materials of report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, July 8, 2026). *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2026. (9): 81—85. <https://doi.org/10.15407/visn2026.09.081>