

ПРИМЕНЕНИЕ ДИЦИАНО-[6-(2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-4-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)-3-ЦИАНОПИРИДИН-2-ИЛ]МЕТАНИДА СЕРЕБРА В КАЧЕСТВЕ РЕАГЕНТА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОТИОЛОВ

© 2023 г. И. Н. Бардасов^{1,*}, А. Ю. Алексеева¹, С. С. Чунихин¹

¹ Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова, Московский пр. 15, Чебоксары, 428015 Россия
*e-mail: bardasov.chem@mail.ru

Поступило в редакцию 4 апреля 2023 г.

После доработки 15 июня 2023 г.

Принято к печати 16 июня 2023 г.

Предложен подход для количественного флуориметрического определения ряда анионов и тиолов, в том числе глутатиона и цистеина, основанный на использовании соли серебра с органическим анионом на основе никотинонитрила, содержащего трицианобутадиеновый фрагмент.

Ключевые слова: глутатион, цистеин, биотиол, реагент для количественного определения, флуоресценция

DOI: 10.31857/S0044460X23070132, **EDN:** HHANDC

Глутатион (GSH) и цистеин (Cys) представляют собой низкомолекулярные биотиолы, обычно встречающиеся в клетках млекопитающих, которые, действуя как окислительно-восстановительные регуляторы в организме, поддерживают внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс, передают клеточные сигналы и регулируют метаболизм ксенобиотиков [1–5]. Аномальные концентрации биотиолов, как правило, указывают на наличие тяжелых заболеваний, таких как рак, повреждение печени, болезнь Альцгеймера и т. п. [6, 7].

Для количественного определения GSH и Cys применяют оптические [8, 9], электрохимические [10–15], а также хроматографические методы [16, 17]. Среди предлагаемых аналитических методов флуоресцентные реагенты привлекают внимание исследователей своей простотой, чувствительностью, удобством и быстроедействием. В настоящее время сообщается о многих реагентах для флуо-

риметрического определения биотиолов, включая флуоресцентные сенсоры на малых молекулах [18–25] и на основе наноматериалов [26–28]. Несмотря на большие успехи в данном направлении, проблема поиска недорогих и более чувствительных способов определения биотиолов по-прежнему актуальна.

Одним из подходов к получению флуоресцентных реагентов на биотиолы является использование сенсоров на тяжелые металлы. В данных соединениях флуорофор в свободном и связанном с металлом состояниях обладает различными спектрально-люминесцентными свойствами [29–35]. Биотиолы, связывая тяжелый металл, переводят сенсор из связанного состояния в свободное, что вызывает изменение интенсивности флуоресценции. В результате получают сенсоры с откликом на ион тяжелого металла и биотиол (dual sensors) (схема 1).

Схема 1.

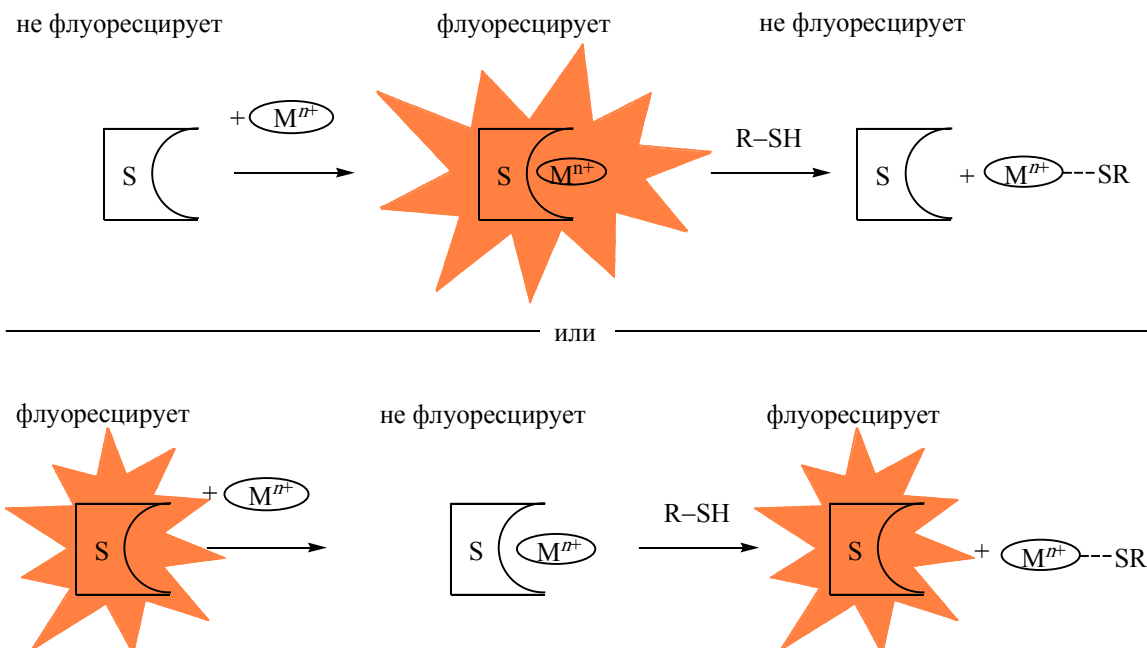
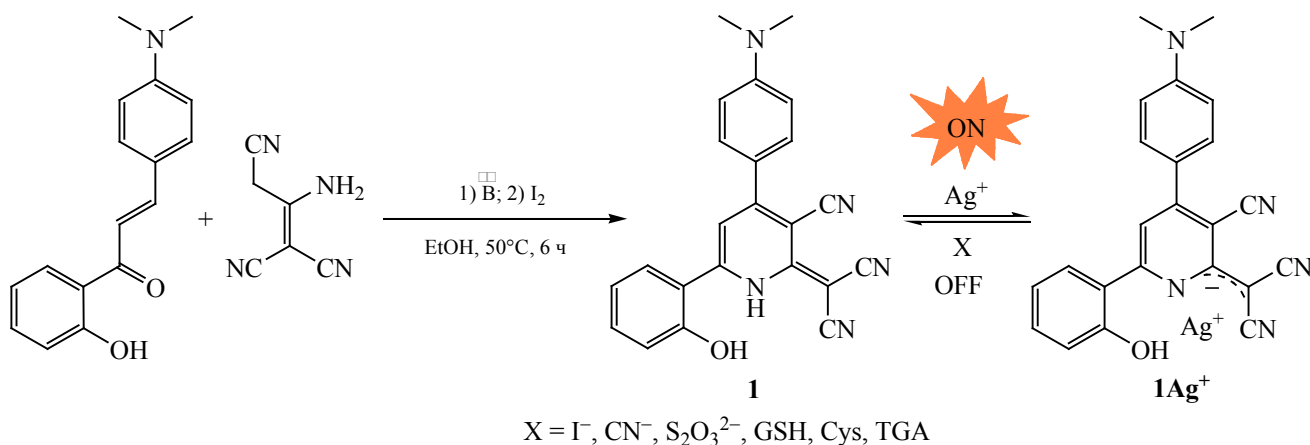


Схема 2.



Ранее нами были синтезированы и исследованы новые сенсоры на ионы серебра на основе никотинитрилов, содержащих трицианобутадиеновый фрагмент [36]. В данной работе нами предлагаются результаты исследования применения одного из сенсоров в качестве реагента для количественного определения биотиолов.

Соединение **1** было синтезировано путем взаимодействия замещенного халкона с димером малонитрила в присутствии основания, с по-

следующим окислением молекулярным иодом образующегося полупродукта (схема 2). Соединение **1** представляет собой ярко-оранжевое кристаллическое вещество, растворимое в ДМСО, ДМФА и ацетонитриле. При приготовлении водных растворов (1×10^{-5} М., HEPES 0.02 М., pH 7.4) из раствора в ДМСО (1×10^{-3} М.) флуоресценция соединения **1** практически исчезает. При добавлении ионов серебра происходит образование связанной формы соединения **1Ag⁺** и появление флуоресценции с

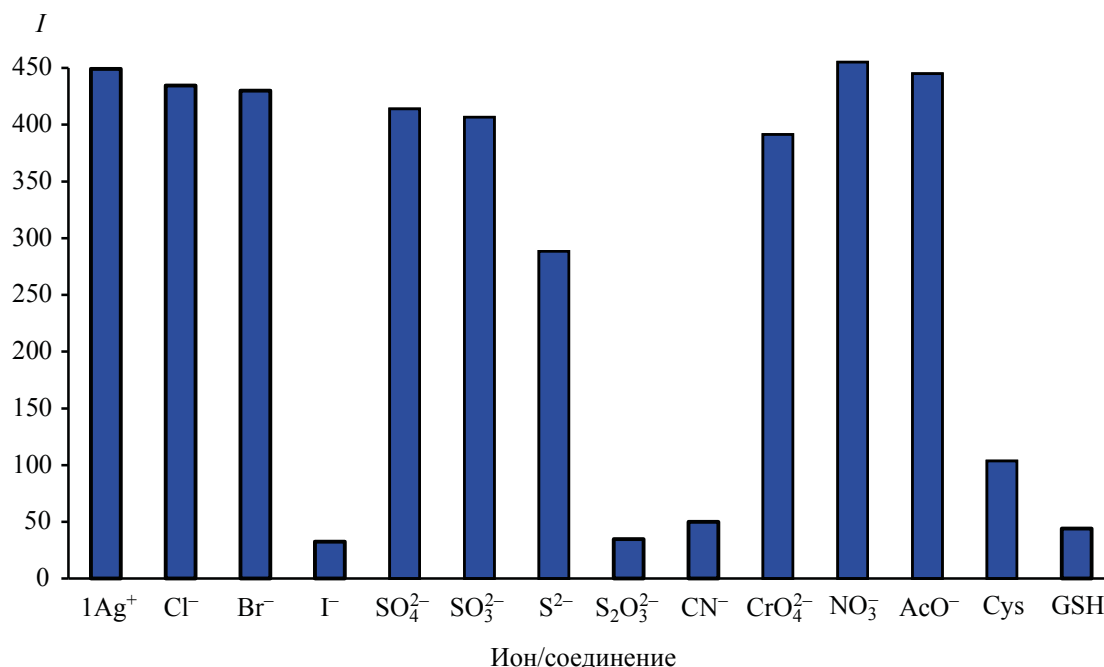


Рис. 1. Интенсивность флуоресценции самого комплекса **1Ag⁺** (10 мкМ.), а также при добавлении различных анионов и биотиолов (20 мкМ.) при 592 нм.

максимумом при 592 нм (Ф 0.89% относительно сульфата хинина). Нами было выдвинуто предположение, что связывание ионов серебра вызовет обратный эффект – тушение флуоресценции.

Для начала, нами было проверено влияние различных анионов на испускание связанной формы **1Ag⁺**. Оказалось, что анионы, образующие с ионами серебра малорастворимые соединения (хлорид, бромид, сульфат), практически не влияют на интенсивность флуоресценции формы **1Ag⁺**, лишь сульфид-ионы вызвали незначительное тушение.

Практически полное тушение флуоресценции иодид-ионами мы связываем с эффектом «тяжелого атома» [37], а не с образованием малорастворимого иодида серебра. При этом было замечено, что анионы, образующие устойчивые комплексы с ионами серебра, такие как цианид и тиосульфат, вызывают практически полное тушение флуоресценции **1Ag⁺** (рис. 1).

Титрование комплекса **1Ag⁺** растворами иодид-, цианид- и тиосульфат-ионов показало наличие отрицательной линейной зависимости между

Таблица 1. Аналитические характеристики определения иодид-, цианид- и тиосульфат-ионов с использованием реагента **1Ag⁺** в водном растворе HEPES (0.02 М., pH 7.4)

Анион	Интервал концентраций, М.	$I = a + b \cdot c^a$		R^2	Предел определения ^б , мкМ.
		$a \pm \Delta a$	$b \pm \Delta b$		
I ⁻	$1 \times 10^{-6} - 7 \times 10^{-6}$	$(44.7 \pm 0.9) \times 10$	-57 ± 2	0.99	0.4
CN ⁻	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-5}$	$(42 \pm 1) \times 10$	-40 ± 2	0.98	0.5
S ₂ O ₃ ²⁻	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-5}$	$(42.4 \pm 0.6) \times 10$	-36 ± 1	0.99	0.6

^а I, у. е.; c, мкМ. ^б Для расчета предела определения использовали $\Delta a = 2$, полученную в результате расчета стандартного отклонения серии холостых растворов, $n = 6$.

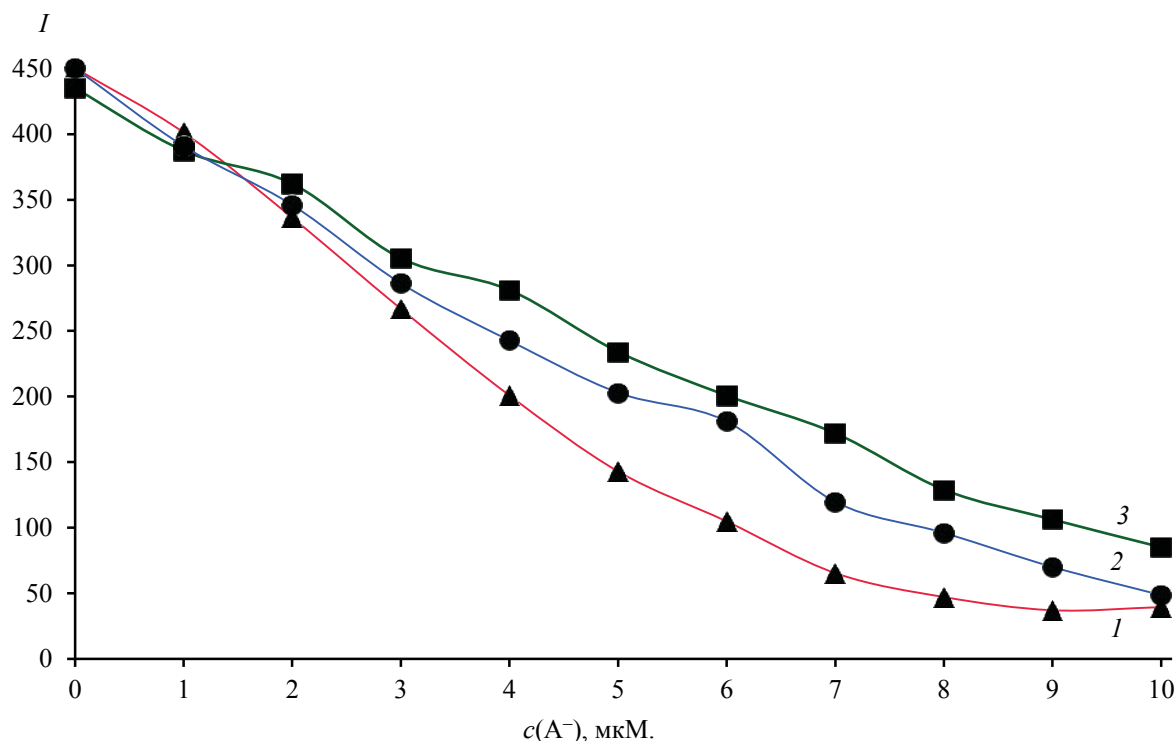


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции комплекса $1Ag^+$ (10 мкМ) при 592 нм при добавлении растворов различных анионов от 0 до 10 мкМ. 1 – I^- , 2 – CN^- , 3 – $S_2O_3^{2-}$.

интенсивностью флуоресценции комплекса $1Ag^+$ и объемом добавленного раствора аниона (рис. 2). По результатам титрования была найдена верхняя граница определения, соответствующая практически полному затуханию флуоресценции, и предел определения (табл. 1). Дополнительно проведенные измерения селективности показали, что определению иодид-, цианид- и тиосульфат-ионов не мешает присутствие других анионов (5×10^{-5} М.).

Известно, что GSH и Cys образуют устойчивые комплексы с ионом серебра [38]. Проведенные нами исследования показали, что добавление биотиолов приводит к тушению флуоресценции, аналогично цианид и тиосульфат ионам (рис. 1, 2). На рис. 3 показано, как прибавление порций GSH от 0 до 10 мкМ. к комплексу $1Ag^+$ (10 мкМ.) приводило к постепенному тушению флуоресценции.

Также нами были проведены исследования с участием других органических тиолов, таких как тиогликолевая кислота (TGA) и ее эфир, а также

изопропантиол (рис. 4). Выяснилось, что TGA вызывает тушение флуоресценции комплекса $1Ag^+$ на уровне Cys, в отличие от ее эфира, добавление которого в тех же количествах вызывает тушение лишь на половину. Добавление к комплексу $1Ag^+$ изопропантиола вызвало лишь незначительное уменьшение интенсивности. Проведенное титрование также, как и в случае анионов, выявило наличие отрицательной линейной зависимости между интенсивностью флуоресценции $1Ag^+$ и объемом добавленного раствора титранта (тиола). Аналитические характеристики определения GSH, Cys и TGA представлены в табл. 2.

Стоит отметить, что по данным титрований, достижение минимальных значений флуоресценции в случае GSH, Cys и TGA происходит при прибавлении 7–9 мкМ. тиола, что несколько ниже эквимольного отношения. Данный факт мы объясняем тем, что флуоресцентный отклик соединения **1** на ионы серебра основан на образовании

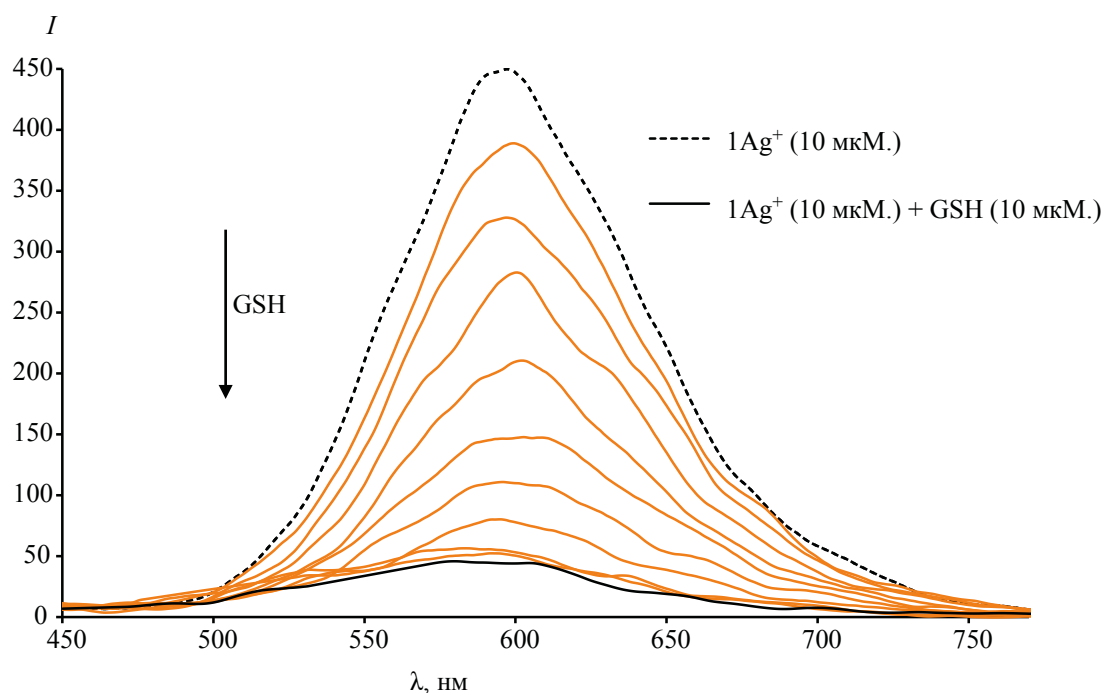


Рис. 3. Спектры флуоресценции комплекса 1Ag^+ (10 мкМ.) при добавлении GSH от 0 до 10 мкМ.

малорастворимых наноагрегатов 1Ag^+ и возникновении агрегационно-индуцированной эмиссии (AIE), что доказано исследованиями флуоресценции комплекса 1Ag^+ в разных соотношениях ДМСО–вода [36]. При этом при малых концентрациях комплекса 1Ag^+ (1–3 мкМ.) значительная их часть находится в растворенном состоянии и не флуоресцирует. Поэтому при титровании комплекса 1Ag^+ тиолами, ближе к точке эквивалентности также начинает сказываться растворимость ком-

плекса 1Ag^+ и флуоресценция пропадает раньше, чем содержание тиола достигает эквимольных отношений. В случае же этил тиогликолята и изопропантиола данное явление не наблюдается, так как данные реагенты не вызывают значительного связывания ионов серебра.

Проведенные измерения селективности показали, что определению Cys и TGA не мешает присутствие других аминокислот и пептидов, таких как аланин, глицин, лейцин, лизин, глутамин, се-

Таблица 2. Аналитические характеристики определения GSH, Cys и TGA с использованием реагента 1Ag^+ в водном растворе HEPES (0.02 М., pH 7.4)

Биотиол	Интервал концентраций, М.	$I = a + b \cdot c$		R^2	Предел определения ^б , мкМ.
		$a \pm \Delta a$	$b \pm \Delta b$		
GSH	$1 \times 10^{-6} - 7 \times 10^{-6}$	$(44 \pm 1) \times 10$	-55 ± 2	0.99	0.4
Cys	$1 \times 10^{-6} - 6 \times 10^{-6}$	$(43 \pm 1) \times 10$	-50 ± 3	0.98	0.4
TGA	$1 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-6}$	$(44.3 \pm 0.9) \times 10$	-58 ± 3	0.99	0.3

^а I , у. е.; c , мкМ. ^б Для расчета предела определения использовали $\Delta a = 2$, полученную в результате расчета стандартного отклонения серии холостых растворов, $n = 6$.

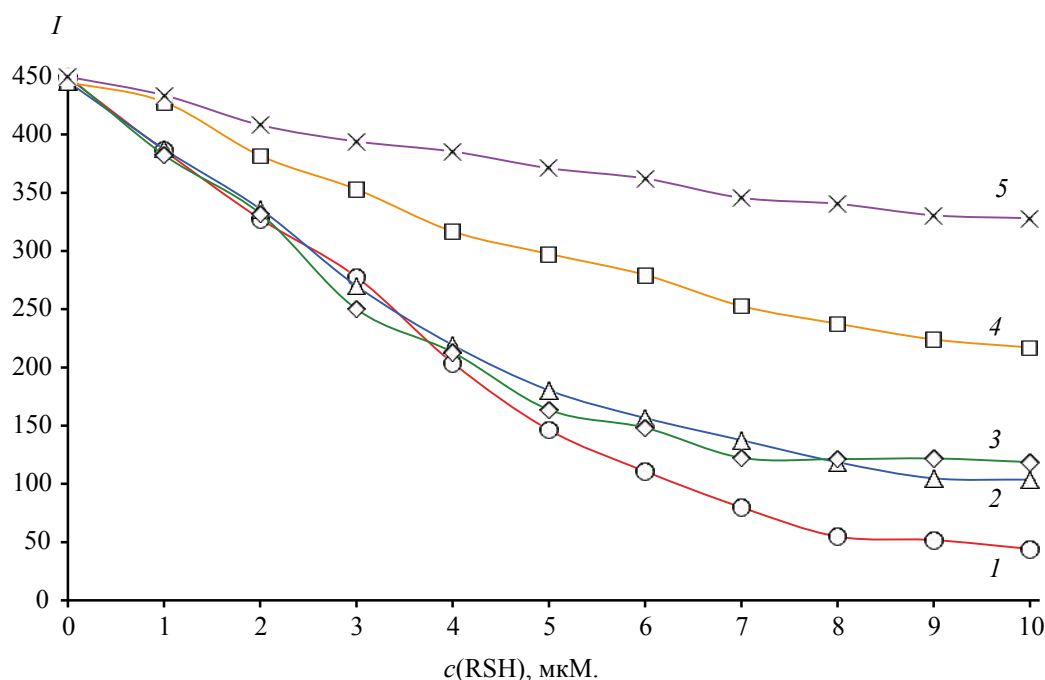


Рис. 4. Интенсивность флуоресценции комплекса 1Ag^+ (10 мкМ.) при 592 нм при добавлении различных тиолов от 0 до 10 мкМ. 1 – GSH, 2 – Cys, 3 – TGA, 4 – этилтиогликолят, 5 – изопропанттиол.

Таблица 3. Результаты проверки правильности определения цианид-, иодид-, тиосульфат-ионов, GSH, Cys и TGA с использованием реагента 1Ag^+ в водном растворе HEPES (0.02 M., pH 7.4)^a

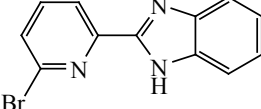
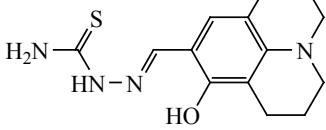
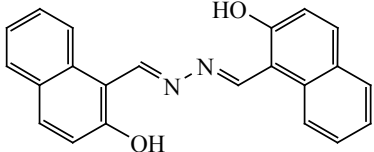
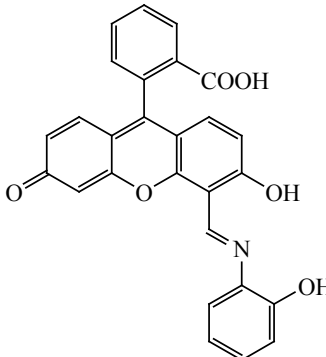
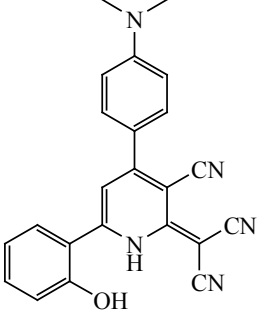
Аналит	Введено, мкМ.	Найдено, мкМ.	s_r
I^-	1.0	1.1 ± 0.1	0.05
	3.0	3.1 ± 0.2	0.06
	5.0	4.9 ± 0.2	0.08
CN^-	2.0	1.9 ± 0.1	0.05
	6.0	5.9 ± 0.2	0.07
	8.0	8.1 ± 0.2	0.08
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	2.0	2.0 ± 0.1	0.05
	6.0	6.1 ± 0.2	0.07
	8.0	7.9 ± 0.3	0.11
GSH	1.0	1.0 ± 0.1	0.05
	3.0	3.1 ± 0.1	0.05
	5.0	5.0 ± 0.2	0.07
Cys	1.0	1.0 ± 0.1	0.04
	3.0	3.0 ± 0.2	0.07
	5.0	4.9 ± 0.2	0.10
TGA	1.0	1.0 ± 0.1	0.04
	3.0	3.1 ± 0.1	0.06
	15.0	4.9 ± 0.2	0.06

^a $n = 6$, $P 0.95$.

рин, глутаминовая кислота, аспартам, и карнозин (5×10^{-5} M.). В заключение нами, с использованием метода внешних стандартов, была проведена проверка правильности при использовании реагента 1Ag^+ для определения GSH, Cys и TGA, а также цианид-, иодид- и тиосульфат-ионов (табл. 3).

Таким образом, нами предложен новый реагент для количественного определения биотиолов, который также может быть использован для определения цианид-, иодид- и тиосульфат-ионов, что требует дополнительных исследований. Константы тушения флуоресценции, рассчитанные по методу Штерна–Фольмера составили 2.86×10^5 и $2.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ для GSH и Cys соответственно. Рассчитанный предел определения GSH и Cys располагается в наномолярном диапазоне и превосходит показатели известных реагентов на основе соединений малых молекул и ионов тяжелых металлов (табл. 4) [39–42]. При этом изучаемое соединение **1** синтезируется из доступных реагентов, методика синтеза проста в исполнении, что открывает дорогу к дальнейшей оптимизации структуры и улучшению аналитических характеристик.

Таблица 4. Примеры реагентов для определения GSH и Cys на основе соединений тяжелых металлов

Реагент	Тяжелый металл	Предел определения, мкМ. ^a	Аналит	Ссылка
	Hg ²⁺	17	Cys	[39]
	Hg ²⁺	3.90	GSH	[40]
	Cu ²⁺	3 3	Cys GSH	[41]
	Cu ²⁺	30	Cys	[42]
	Ag ⁺	0.4 0.4	Cys GSH	Данная работа

^a Пределы определения были рассчитаны из пределов обнаружения, представленных в статьях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Bruker DRX-400 (США) в ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры запи-

саны на приборе Shimadzu GCMS-QP2020 (Япония) (ионизация ЭУ, 70 эВ). Элементный анализ выполнен на CHN-анализаторе vario Micro cube (Германия). Спектры флуоресценции записаны на приборе Cary Eclipse (США). Температура плав-

ления определена на автоматическом приборе OptiMelt MPA100 (США). Контроль за ходом реакций и чистотой синтезированных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ, элюент – EtOAc, проявление УФ облучением, парами иода и термическим разложением. Перемешивание образцов осуществляли на шейкере IKA Vortex 1.

Соединение **1** было синтезировано по методике [36]. Растворители, тиолы, неорганические соли – коммерческие продукты. Базовые растворы соединения **1** (1.00×10^{-3} М.) в ДМСО, тиолов (1.00×10^{-3} М.) и неорганических солей (1.00×10^{-3} М) в воде готовили непосредственно перед измерениями.

2-[6-(2-Гидроксифенил)-4-(4-диметиламинофенил)-3-цианопиридин-2(1H)-илиден]малонитрил (1). Т. пл. 258–259°C. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 3.05 с [6H, N(CH₃)₂], 6.88–7.04 м (4H, C₆H₄), 7.28 с (1H, CH), 7.38 т (1H, C₆H₄, $^3J_{\text{HH}}$ 7.5 Гц), 7.64 д (2H, C₆H₄, $^3J_{\text{HH}}$ 8.5 Гц), 8.02 д (1H, C₆H₄, $^3J_{\text{HH}}$ 7.9 Гц). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ_{C} , м. д.: 40.88, 93.05, 109.89, 113.12, 116.44, 117.56, 118.41, 119.69, 120.20, 124.91, 129.23, 130.77, 133.57, 152.01, 154.23, 157.89, 158.42, 159.00. Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 379 (100) [M]⁺. Вычислено, %: С 72.81; Н 4.52; N 18.46. C₂₃H₁₇N₅O. Найдено, %: С 72.99; Н 4.63; N 18.35.

При регистрации спектров фотолуминесценции были использованы следующие установки прибора: ширина щелей монохроматоров испускания и возбуждения – 5 нм, напряжение на фотоэлектромножителе – 800 В, длина волны возбуждения – 350 нм, скорость сканирования – 600 нм/мин.

Предварительные испытания. В чистый пенициллиновый флакон поочередно прибавляли дозатором 100 мкл базового раствора соединения **1**, 9.7 мл водного раствора НЕРЕС (0.02 М., pH 7.4) и 100 мкл базового раствора нитрата серебра, после чего раствор перемешивали в течение 10 с на шейкере. Затем к полученному раствору прибавляли 200 мкл базового раствора, содержащего исследуемый ион или тиол. Полученный раствор снова перемешивали в течение 10 с на шейкере и измеряли интенсивность флуоресценции при длине волны возбуждения 350 нм.

Титрование. В кварцевую кювету (l 1 см) поочередно прибавляли дозатором 30 мкл базового

раствора соединения **1**, 2.97 мл водного раствора НЕРЕС (0.02 М., pH 7.4) и 30 мкл базового раствора нитрата серебра. Раствор перемешивали пластиковой палочкой и измеряли интенсивность флуоресценции при длине волны возбуждения 350 нм. В полученный раствор далее порциями по 3 мкл прибавляли базовый раствор тиола. После каждой добавки записывался спектр флуоресценции. Титрование считалось окончанным тогда, когда спектр переставал меняться при добавлении очередной порции титранта.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Бардасов Иван Николаевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5843-3381>

Чунихин Сергей Сергеевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9130-5349>

Алексеева Анастасия Юрьевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5607-6969>

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-23-01025, <https://rscf.ru/project/22-23-01025/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang H., Forman H.J. // Semin. Cell Dev. Biol. 2012. Vol. 23. N 7. P. 722. doi 10.1016/j.semcdb.2012.03.017
2. Paulsen C.E., Carroll K.S. // Chem. Rev. 2013. Vol. 113. N 7. P. 4633. doi 10.1021/CR300163E
3. Sen C.K. // Curr. Top. Cell. Regul. 2001. Vol. 36. P. 1. doi 10.1016/S0070-2137(01)80001-7
4. Hernández L.E., Sobrino-Plata J., Montero-Palmero M.B., Carrasco-Gil S., Flores-Cáceres M.L., Ortega-Villasante C., Escobar C. // J. Exp. Bot. 2015. Vol. 66. N 10. P. 2901. doi 10.1093/jxb/erv063
5. Ishkaeva R.A., Zoughaib M., Laikov A.V., Angelova P.R., Abdullin T.I. // Antioxidants. 2022. Vol. 11. N 2. P. 391. doi 10.3390/antiox11020391
6. Cho I.J., Kim D., Kim E.O., Jegal K.H., Kim J.K., Park S.M., Zhao R., Ki S.H., Kim S.C., Ku S.K. // Antioxidants. 2021. Vol. 10. N 10. P. 1543. doi 10.3390/antiox10101543

7. Carter R.N., Morton N.M. // J. Pathol. 2016. Vol. 238. N 2. P. 321. doi 10.1002/path.4659
8. Исаченко А.И., Аняри В.В., Волков П.А., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. // ЖАХ. 2020. Т. 75. № 7. С. 629. doi 10.31857/s0044450220070105; Isachenko A.I., Anyari V.V., Volkov P.A., Dmitrienko S.G., Zolotov Y.A. // J. Anal. Chem. 2020. Vol. 75. N 7. P. 890. doi 10.1134/S1061934820070102
9. Петрова А.В., Ишимацу Р., Накано К., Имато Т., Вишникин А.Б., Москвин Л.Н., Булатов А.В. // ЖАХ. 2016. Т. 71. № 2. С. 178. doi 10.7868/s0044450216020122; Petrova A.V., Ishimatsu R., Nakano K., Imato T., Vishnikin A.B., Moskvina L.N., Bulatov A. V. // J. Anal. Chem. 2016. Vol. 71. N 2. P. 172. doi 10.1134/S1061934816020118
10. Musarraff Hussain M., Asiri A.M., Uddin J., Marwani H.M., Rahman M.M. // Chem. Asian J. 2022. Vol. 17. N 3. P. e202101117. doi 10.1002/asia.202101117
11. Яркаяева Ю.А., Дубровский Д.И., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н. // Электрохимия. 2020. Т. 56. № 7. С. 591. doi 10.31857/s0424857020070075; Yarkayeva Y.A., Dubrovskii D.I., Zil'berg R.A., Maistrenko V.N. // Russ. J. Electrochem. 2020. Vol. 56. N 7. P. 544. doi 10.1134/S102319352007006X
12. Пеу Л.З., Цай З.Я., Пеу Я.К., Сюе Я.К., Фан К.Г., Фу В.Г. // Электрохимия. 2014. Т. 50. № 5. С. 511. doi 10.7868/s0424857013110091; Pei L.Z., Cai Z.Y., Pei Y.Q., Xie Y.K., Fan C.G., Fu D.G. // Russ. J. Electrochem. 2014. Vol. 50. N 5. P. 458. doi 10.1134/S1023193513110098
13. Шайдарова Л.Г., Гедмина А.В., Челнокова И.А., Будников Г.К. // ЖПХ. 2008. Т. 81. Вып. 6. С. 949; Shaidarova L.G., Gedmina A. V., Chelnokova I.A., Budnikov G.K. // Russ. J. Appl. Chem. 2008. Vol. 81. N 6. P. 988. doi 10.1134/S1070427208060128
14. Шайдарова Л.Г., Зиганшина С.А., Гедмина А.В., Челнокова И.А., Будников Г.К. // ЖАХ. 2011. Т. 66. Вып. 7. С. 745; Shaidarova L.G., Ziganshina S.A., Gedmina A. V., Chelnokova I.A., Budnikov G.K. // J. Anal. Chem. 2011. Vol. 66. N 7. P. 633. doi 10.1134/S1061934811050182
15. Khamcharoen W., Henry C.S., Siangproh W. // Talanta. 2022. Vol. 237. P. 122983. doi 10.1016/j.talanta.2021.122983
16. Дутов А.А., Никитин Д.А., Федотова А.А. // Биомед. хим. 2010. Т. 56. № 5. С. 609. doi 10.18097/pbm20105605609
17. Ferin R., Pavão M.L., Baptista J. // J. Chromatogr. (B). 2012. Vol. 911. P. 15. doi 10.1016/j.jchromb.2012.10.022
18. Tang B., Xing Y., Li P., Zhang N., Yu F., Yang G. // J. Am. Chem. Soc. 2007. Vol. 129. N 38. P. 11666. doi 10.1021/ja072572q
19. Ding S., Liu M., Hong Y. // Sci. China Chem. 2018. Vol. 61. N 8. P. 882. doi 10.1007/s11426-018-9300-5
20. Cao M., Chen H., Chen D., Xu Z., Liu S.H., Chen X., Yin J. // Chem. Commun. 2016. Vol. 52. N 4. P. 721. doi 10.1039/c5cc08328a
21. Chen W., Luo H., Liu X., Foley J.W., Song X. // Anal. Chem. 2016. Vol. 88. N 7. P. 3638. doi 10.1021/acs.analchem.5b04333
22. Zhang P., Xiao Y., Zhang Q., Zhang Z., Yu H., Ding C. // New J. Chem. 2019. Vol. 43. N 20. P. 7620. doi 10.1039/c9nj01259a
23. Zhang M., Yu M., Li F., Zhu M., Li M., Gao Y., Li L., Liu Z., Zhang J., Zhang D., Yi T., Huang C. // J. Am. Chem. Soc. 2007. Vol. 129. N 34. P. 10322. doi 10.1021/ja073140i
24. Shang X., Yu J., Wei X., Li X., Feng Y., Xu X. // J. Sensors. 2016. Vol. 2016. P. 1. doi 10.1155/2016/5862929
25. Das S., Ghosh A., Kundu S., Saha S., Sarkar H.S., Sahoo P. // Anal. Bioanal. Chem. 2019. Vol. 411. N 23. P. 6203. doi 10.1007/s00216-019-02012-9
26. Sun L., Wei W., Zhang H., Xu J., Zhao X. // Microchem. J. 2022. Vol. 174. P. 107079. doi 10.1016/j.microc.2021.107079
27. Wang H.B., Chen Y., Li Y., Liu Y.M. // RSC Adv. 2016. Vol. 6. N 83. P. 79526. doi 10.1039/c6ra17850b
28. Shellaiiah M., Sun K.W. // Biosens. 2023. Vol. 13. N 3. P. 335. doi 10.3390/BIOS13030335
29. Lu S., Li Z., Fu X., Xie Z., Zheng M. // Dye. Pigment. 2021. Vol. 187. P. 109126. doi 10.1016/j.dyepig.2020.109126
30. Chunikhin S.S., Bardasov I.N., Akasov R.A., Ershov O.V. // Dye. Pigment. 2022. Vol. 205. P. 110516. doi 10.1016/j.dyepig.2022.110516
31. Zhang L., Xu Y., Xu J., Zhang H., Zhao T., Jia L. // J. Hazard. Mater. 2022. Vol. 430. P. 128478. doi 10.1016/j.jhazmat.2022.128478
32. Jung J.M., Kim C., Harrison R.G. // Sensors Actuators (B). 2018. Vol. 255. P. 2756. doi 10.1016/j.snb.2017.09.090
33. Bhatt M., Maity D., Hingu V., Suresh E., Ganguly B., Paul P. // New J. Chem. 2017. Vol. 41. N 21. P. 12541. doi 10.1039/c7nj02537h
34. Han B., Li Y., Hu X., Yan Q., Jiang J., Yu M., Peng T., He G. // Anal. Methods. 2018. Vol. 10. N 32. P. 3945. doi 10.1039/c8ay01044g
35. Shen S., Huang B., Guo X., Wang H. // J. Mater. Chem. (B). 2019. Vol. 7. N 44. P. 7033. doi 10.1039/c9tb01502g

36. Bardasov I.N., Alekseeva A.U., Shishlikova M.A., Ershov O.V. // *Tetrahedron Lett.* 2022. Vol. 99. P. 153819. doi 10.1016/J.TETLET.2022.153819
37. Chmyrov A., Sandén T., Widengren J. // *J. Phys. Chem. (B)*. 2010. Vol. 114. N 34. P. 11282. doi 10.1021/jp103837f
38. Leung B.O., Jalilehvand F., Mah V., Parvez M., Wu Q. // *Inorg. Chem.* 2013. Vol. 52. N 8. P. 4593. doi 10.1021/ic400192c
39. Choi Y.W., Lee J.J., You G.R., Kim C. // *RSC Adv.* 2015. Vol. 5. N 48. P. 38308. doi 10.1039/C5RA06601H
40. You G.R., Lee S.Y., Lee J.J., Kim Y.S., Kim C. // *RSC Adv.* 2016. Vol. 6. N 5. P. 4212. doi 10.1039/C5RA25138A
41. Jia H., Yang M., Meng Q., He G., Wang Y., Hu Z., Zhang R., Zhang Z. // *Sensors* 2016. Vol. 16. N 1. P. 79. doi 10.3390/S16010079
42. Wang H., Zhou G., Chen X. // *Sensors Actuators (B)*. 2013. Vol. 176. P. 698. doi 10.1016/J.SNB.2012.10.006

Application of Silver(I) Dicyano-[3-cyano-4-(4-dimethylaminophenyl)- 6-(2-hydroxyphenyl)pyridin-2-yl]methanide as a Reagent for the Quantitative Determination of Biothiols

I. N. Bardasov^{a,*}, S. S. Chunikhin^a, and A. U. Alekseeva^a

^a I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, 428015 Russia

*e-mail: bardasov.chem@mail.ru

Received April 4, 2023; revised June 15, 2023; accepted June 16, 2023

An approach for the quantitative fluorimetric determination of a number of anions and thiols, including glutathione and cysteine, based on the use of a silver salt with an organic anion based on nicotinonitrile containing a tricyanobutadiene fragment was proposed.

Keywords: glutathione, cysteine, biothiol, quantitative reagent, fluorescence