

ISSN 2220-637X

Вісник
Харківського
Національного
Університету
імені В. Н. Каразіна

СЕРІЯ «ХІМІЯ»
Вип. 44 (67)

Kharkiv University Bulletin
Chemical series. Issue 44 (67)

Заснований 1935 року як
“Труди інституту хемії при
Харківському державному
університеті”

Published since 1935; initially
under the title "Proceedings of
the Institute of Chemistry at
Kharkiv State University"

Харків Kharkiv
2025

УДК 54

Фахове видання з хімічних наук, категорія "Б"

Засновник: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна. Рік заснування: 1935

Публікує статті, присвячені різним аспектам теоретичної хімії, хімічного аналізу, органічної хімії, спектроскопії, фізико-хімії розчинів та поверхневих явищ, електрохімії, хімічного матеріалознавства. Вісник включено до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися основні результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора та кандидата хімічних наук. (Наказ Міністерства освіти і науки України No 1643 від 28.12.2019 року).
Періодичність 2 випуски на рік

Затверджено до друку рішенням Вченої ради Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (протокол № 17 від 30 червня 2025 р.)

Головний редактор

О.І. Коробов

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

Редактори

А.О. Дорошенко

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

М.О. Мchedлов-Петросян

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна,
член-кореспондент НАН України

Технічний редактор

А.Б. Захаров

к.х.н., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

Редакційна рада

В.В. Іванов

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

В.О. Черановський

д.ф.-м.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

С.А. Шаповалов

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

О.І. Юрченко

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

Міжнародна консультативна рада

П. Едловскі

професор, Університет Карой Естерхази, Угорщина

А. Ідриссі

професор, Університет Лилля, Франція

О.М. Калугін

к.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

А.Ю. Назаренко

PhD, Prof., Buffalo State College, USA

О.В. Преждо

PhD, Prof., University of Southern California, USA

В.А. Чебанов

д.х.н., проф., НТК «Інститут монокристалів», Україна,
член-кореспондент НАН України

Редактори консультанти

І.М. В'юник

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

В.І. Ларін

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

В.І. Лебідь

д.х.н., проф., ХНУ імені В.Н. Каразіна, Україна

Адреса редакційної колегії: Україна, 61022, Харків, майдан Свободи, 4,
ХНУ імені В.Н. Каразіна, хімічний факультет; тел.: +38 057 707 51 29.
E-mail: chembull@karazin.ua a.korobov@karazin.ua

Статті пройшли внутрішнє та зовнішнє рецензування.

Ідентифікатор медіа у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R30-04479 (Рішення № 1538 від 09.05.2024 р. Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення. Протокол № 15)

© Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна, оформлення, 2025

UDK 54

Professional publication in chemical sciences, category "B"

Founder: V. N. Karazin Kharkiv National University. Year of foundation: 1935

Publishes papers devoted to various aspects of theoretical chemistry, chemical analysis, organic chemistry, inorganic chemistry, physical chemistry of solutions and surface phenomena, electrochemistry, materials chemistry. The bulletin is officially authorized by the Highest Attestation Commission of Ukraine to publish results of research submitted for PhD and ScD degrees. (Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine No. 1643 of December 28, 2019). 2 issues per year

Publication of this issue is approved by the Academic Council of V.N. Karazin Kharkiv National University (protocol № 17 from 30.06.2025).

Editor-in-chief

Alexander Korobov

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Editors

Andrey Doroshenko

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Nikolay Mchedlov-Petrosyan

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University,
corresponding member of NAS of Ukraine

Managing editor

Anton Zakharov

PhD, V.N. Karazin Kharkiv National University

Editorial board

Vladimir Ivanov

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Vladislav Cheranovsky

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Sergey Shapovalov

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Oleg Yurchenko

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

International advisory board

Pál Jedlovsky

Dr. Prof., Eszterházy Károly University, Hungary

Abdenacer Idrissi

Prof., Université Lille, France

Oleg Kalugin

PhD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Alexander Nazarenko

PhD, Prof., Buffalo State College, USA

Oleg Prezhdo

PhD, Prof., University of Southern California, USA

Valentyn Chebanov

ScD, Prof., SSI "Institute for Single Crystals", Ukraine
corresponding member of NAS of Ukraine

Consulting editors

Ivan Vyunnik

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Vasyl Larin

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Valentyn Lebed

ScD, Prof., V.N. Karazin Kharkiv National University

Address of editorial team: 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine, V.N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry; tel.: +38 057 707 51 29.

E-mail: chembull@karazin.ua a.korobov@karazin.ua

All articles have been reviewed.

Media identifier in the Register of the field of Media Entities: R30-04479 (Decision № 1538 dated May 9, 2024 of the National Council of Television and Radio Broadcasting of Ukraine, Protocol № 15)

© V.N. Karazin Kharkiv National University,
Design, 2025

ЗМІСТ

- 6 Дослідження *in silico* похідних триазол-триметоксифенілу як антипроліферативних засобів проти аденокарциномних альвеолярних базальних епітеліальних клітин людини (A549): DFT, QSAR та підходи молекулярного докінгу. **А. О. Сандей, Ш. Абдуллахі, О. К. Габріель, О. Мозес, С. Банджо.**
- 26 Вилучення радіонуклідів ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y та UO_2^{2+} з водних розчинів за допомогою твердофазних екстрагентів імпрегнованих калікс[4]аренфосфіноксидами. **А. П. Краснопорова, Г. Д. Юхно, Н. В. Єфімова, П. В. Єфімов, О. Г. Воробйов, А. Б. Драпайло, В. І. Кальченко.**
- 34 Колоїдна поведінка окислених і покритих лізоцимом одностінних вуглецевих нанотрубок. Аналіз за допомогою динамічного та електрофоретичного розсіювання світла. **А. Лагута.**
- 43 Оцінка вільної енергії зв'язування двозарядних катіонів із функціональними групами амінокислот за допомогою сучасних силових полів. **В. С. Фарафонов.**
- 51 Магнітні властивості модифікованого діамантового спінового ланцюжка. **В. О. Черановський В. В. Малярчук.**
- 57 Вивчення ліганд-білкових взаємодій в епоху штучного інтелекту: оцінка Boltz-1 для прогнозування 3D-структури біомолекулярних комплексів. **М. В. Прудь, О. В. Кириченко.**
- 72 Оцінки методу TD-DFTB для широкомасштабного скринінгу органічних барвників. **М. Кирпа, А. Захаров, В. Іванов.**
- 81 Квантово-хімічне та експериментальне дослідження нітразинового жовтого на поверхні кремнезему. **І. В. Христенко, В. В. Іванов.**
- 87 Перевірка прогностичної здатності деяких функцій розподілу ймовірностей у тестовому аналізі. **А. В. Пантелеймонов, Н. О. Нікітіна.**
- 96 Анатолій Петрович Шкумат (09.02.1951 — 31.03.2025)
- 97 Олена Олександрівна Решетняк (26.11.1954 — 24.04.2025)

CONTENTS

- 6 *In silico* Investigations of Triazole-Tromethoxyphenyl Derivatives as Anti-Proliferative Agents against Adenocarcinomic Human Alveolar Basal Epithelial Cells (A549): DFT, QSAR and Molecular Docking Approaches. **A. O. Sunday, S. Abdullahi, O. K. Gabriel, O. Moses, S. Banjo.**
- 26 Extraction of Radionuclides ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y And UO_2^{2+} from Aqueous Solutions Using Solid-Phase Extractants Impregnated with Calix[4]arene Phosphine Oxides. **A. P. Krasnopyorova, G. D. Yukhno, N. V. Efimova, P. V. Efimov, A. G. Vorobiov, A. B. Drapailo, V. I. Kalchenko.**
- 34 Colloidal Behavior of Oxidized and Lysozyme-Coated Single-Walled Carbon Nanotubes. Analysis via Dynamic and Electrophoretic Light Scattering. **A. Laguta.**
- 43 Estimation of the binding free energy of doubly charged cations to amino acid functional groups by means of modern force fields. **V. S. Farafonov.**
- 51 Magnetic properties of modified diamond spin chain. **V. O. Cheranovskii, V. V. Maliarchuk.**
- 57 Studying Ligand-Protein Interactions in the Era of Artificial Intelligence: Benchmarking Boltz-1 for 3D-Structure Prediction of Biomolecular Complexes. **M. V. Prud, A. Kyrychenko.**
- 72 Fast *vs* Accurate: Evaluating TD-DFTB for Large-Scale Screening of Organic Dyes. **M. Kyrpa, A. B. Zakharov, V. V. Ivanov.**
- 81 Quantum-Chemical and Experimental Study of Nitrazine Yellow on Silica Surface. **I. V. Khristenko, V. V. Ivanov.**
- 87 Verification of the predictive ability of some probability distribution functions in test analysis. **A.V. Panteleimonov, N.O. Nikitina.**
- 96 Anatolii Petrovych Shkumat (09.02.1951 – 31.03.2025)
- 97 Olena Oleksandrivna Reshetniak (26.11.1954 – 24.04.2025)

IN SILICO INVESTIGATIONS OF TRIAZOLE-TRIMETHOXYPHENYL DERIVATIVES AS ANTI-PROLIFERATIVE AGENTS AGAINST ADENOCARCINOMIC HUMAN ALVEOLAR BASAL EPITHELIAL CELLS (A549): DFT, QSAR AND MOLECULAR DOCKING APPROACHES

Ameh Ojima Sunday^{a,*}, Shehu Abdullahi^{b,*}, Obiyenwa Kehinde Gabriel^{c,*}, Osang Moses^{d,*}, Semire Banjo^{e,*†}

^aDepartment of Chemistry, Federal University Lokoja, Kogi State, Nigeria

[†]Computational Chemistry Laboratory, Department of Pure and Applied Chemistry, Ladoke Akintola, University of Technology, P.M.B. 4000, Ogbomoso, Oyo-State, Nigeria.

- | | |
|---|---|
| a) ✉ amehojimasunday@gmail.com |  https://orcid.org/0009-0008-8901-1692 |
| b) ✉ abdullahi.shehu@fulokoja.edu.ng |  https://orcid.org/0000-0002-7751-2392 |
| c) ✉ gabriel.obiyenwa@fulokoja.edu.ng |  https://orcid.org/0000-0003-0184-8807 |
| d) ✉ osangmoses3@gmail.com |  https://orcid.org/0009-0000-5487-2603 |
| e) ✉ bsemire@lautech.edu.ng |  https://orcid.org/0000-0002-4173-9165 |

Twenty-eight sets of synthesized triazole-trimethoxyphenyl derivatives (TPDs) were considered as anti-proliferative drugs against human alveolar basal epithelial (A549) cancer cell lines using DFT, QSAR, ADMET profile and molecular docking methods. The considered compounds were used to develop a robust QSAR model, which was used to design new TPD compounds that could serve as anti-proliferative drug candidate against human alveolar basal epithelial (A549) cancer. The parameters obtained from DFT calculations such as the HOMO, LUMO, Dipole moment, chemical hardness and softness favoured TPD-11 and TPD-25 over etoposide as strong inhibitors against human alveolar basal epithelial cancer cell (A549), which agreed with the experimental data. The QSAR modeling and validation indicated the major influence of Moran autocorrelation – lag 4/weighted by polarizabilities (MATS4p), Centered Broto-Moreau autocorrelation - lag 7/weighted by charges (ATSC7c), Minimum E-State descriptors of strength for potential Hydrogen Bonds of path length 3 (minHBint3) and Count of atom-type E-State: C (naasC) descriptors on the reported anticancer activity of the drugs in the A549- MLR-GFA QSAR ($R^2 = 0.8146$, adjusted $R^2 = 0.7874$, $Q^2_{\text{Loo}} = 0.6015$ and $R^2 - Q^2_{\text{Loo}} = 0.2582$). Using the model data, four new TPDs (NTPD-3, NTPD-4, NTPD-6 and NTPD-9) were proposed. The DFT and molecular docking analysis showed that these four compounds could be good inhibitors against A549 than etoposide. However, the ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity) properties revealed NTPD-6 showed excellent pharmacokinetic and toxicological profiles and might serve as a road map for new and more effective anticancer agents.

Keywords: Triazole–Trimethoxyphenyl, anti-cancer, DFT, QSAR, molecular docking.

Introduction

High morbidity and mortality from both communicable and non-communicable diseases still have a negative influence on humanity. Non-communicable diseases (NCDs) have a significant financial burden on population in addition to causing sickness and mortality [1]. NCDs include chronic lung disease, cancer, diabetes, heart disease, and stroke which account for over 70% of all fatalities globally; heart disease and cancer have been described as leading cause of death among NCDs [2]. It had been estimated that over 10.3 million people died of cancer in 2020 with 2.26 million died of breast cancer new cases, lung cancer (2.21 million), colon and rectum cancer (1.93 million), prostate cancer (1.41 million), skin cancer (1.20 million) and stomach cancer (1.09 million); and with about 19.3 million new cases of cancer disease predicted [2,3]. Muka et al., (2015) [4] noted that NCDs place a heavy financial strain on healthcare budgets and thus on national welfare which may only get worse over time, if drastic measures are not taken. Therefore, cancer compared to the other NCDs call for special attention and consideration [5].

Recent developments in anticancer medications have considerably improved quality of life of cancer patients and have increase the rate of cancer survival. However, a favorable initial response to treatment changes afterwards, thereby leading to cancer relapse and recurrence [6]. Consequently, there is continuous research for new substances that can effectively act against this disease with little

© Sunday, A. O., Abdullahi, S., Gabriel, O. K., Moses, O., Banjo, S., 2025

 This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0.

or no side effect. In drug development, researchers focus on the organic and biochemical reactions of drug substances with their targets as well as the synthesis and analysis of drug substances [7]. Therefore, there has been an increasing interest by researchers all over the world in exploring all available options; evaluating potential anticancer agents with the hope of discovering effective drugs for cancer. Also, several ongoing efforts are being made by the medical community aimed at identifying novel anticancer targets [8].

Among a class of nitrogen-containing heterocyclic compounds with interesting structures for medicinal properties is triazole derivatives due to their important chemical and biological properties that are stable against metabolic degradations and show target selectivity as well as several pharmacological activities [9 - 13]. Triazole functions well as a linker to connect different pharmacophores, thus, hybrid substances containing triazole have demonstrated the ability to decrease tumor growth, invasion, and metastasis by altering various signaling pathways. This is made possible by its capacity to form a variety of non-covalent interactions with various biological targets, including hydrogen bonds, van der Waals forces, hydrophobic interactions, and dipole-dipole bonds. This is what gives the compound its wide range of therapeutic properties, including its antibacterial [14], anti-malarial [15], antifungal [16]), antiviral [17], antitubercular [18], and anticancer activities [19, 20].

However, it has been observed that the high prevalence of resistance makes employing single chemicals as anticancer medicines in targeting protein or enzyme ineffective in treating cancer cells [21]. Therefore, several hybrids of triazole compounds have been synthesized and evaluated for their anticancer activities, such as triazole-benzimidazole-chalcone [22], triazole-quinazoline [23], Indole-Thiazolidinedione-Triazole [24], Coumarin-triazole [25], Quinolone-Triazole [26], triazolo[4,5-d]pyrimidine [27, 28], Triazole-Pyrimidine-Urea [29, 30].

According to reports [31, 32], trimethoxyphenyl compounds have also been shown to operate as a pharmacophoric group that enhances the anticancer activities of various natural anticancer drugs, including colchicine, combretastatin, podophyllotoxin, and poly-methoxychalcone. The trimethoxyphenyl-based compounds might be a viable way to get around some of the issues with the current anticancer medications that have been described. 5-amino-1,2,4-triazoles based on trimethoxyphenyl have been identified as promising antimitotic possibilities against CEM and Hela cells [33]. Also, a series of 3-(benzylthio)-4H-1,2,4-triazoles bearing trimethoxyphenyl scaffold were synthesized and tested against different cancer cell lines; the results revealed that 4-[3-[(4-methoxyphenyl)methylsulfanyl]-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,2,4-triazol-4-yl]-N,N-dimethylaniline was a promising agent against colon cancer (HCT116 cell line) [33]. Furthermore, triazolothiadiazine, 4-amino-5-aryl-4H-1,2,4-triazoles and triazolothiadiazine with trimethoxy substituent were evaluated against cancer cells and the results were promising [34]. Recently, triazoles-trimethoxyphenyl hybrids were synthesized and evaluated using both experimental and in silico methods against cancer cells (A549, MCF7, and SKOV3) with etoposide as standard drug. The results revealed that most of the compounds inhibitory activities were comparable to that of the standard with some compounds having outstanding inhibitory properties [35].

Therefore, in this work, in silico methods would be used to further evaluate triazole - trimethoxyphenyl hybrids reported by Ansari et al., [35] as displayed in Figure 1 and Table 1. Although molecular docking of these compounds has been carried out, this study would lay emphasis on the development of robust QSAR using multiple linear regression-Genetic Algorithm (MLR-GA) to propose new set of triazole-trimethoxyphenyl hybrids with enhanced anticancer activity against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549). Thus, the aim of this work is to develop robust QSAR model, designed novel triazole-trimethoxyphenyl hybrids, predict their inhibitory properties, molecular docking analysis and ADMET profiling of the novel triazole - trimethoxyphenyl derivatives.

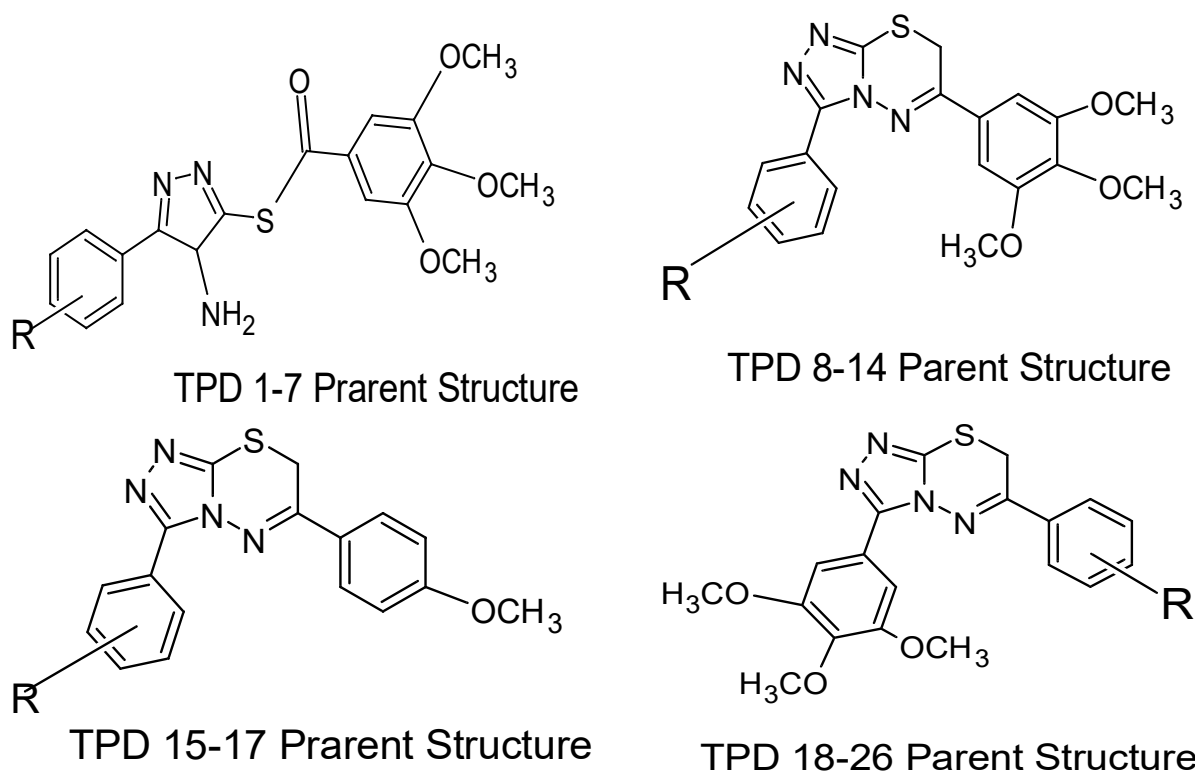


Figure 1: The schematic structures of the studied molecules triazole -trimethoxyphenyl hybrids [35]

Table 1. Structures, IUPAC names and observed IC₅₀ of the triazole -trimethoxyphenyl hybrids used in training and test sets against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549).

Mole- cule	R	IUPAC Name	IC ₅₀ μ M (A549)
TPD 1	H	2-[(4-amino-5-phenyl-1,2,4-triazolidin-3-yl)sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanol	3.95
TPD 2	4-CH ₃	2-[[4-amino-5-(4-methylphenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl) ethanone	4.39
TPD 3	4-OH	2-[[4-amino-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)eth2-[[4-amino-5-(4-chlorophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanone	4.20
TPD 4	3-Br	2-[[4-amino-5-(3-bromophenyl)-3,5-dihydro-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanol, 2-[[4-amino-3-(3-bromophenyl)-3,5-dihydro-1,2,4-triazol-5-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanol	3.67
TPD 5	4-OCH ₃	2-[[4-amino-5-(4-methoxyphenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanone	2.58
TPD 6	4-Cl	2-[[4-amino-5-(4-chlorophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl) ethanone	2.81
TPD 7	2,4-Cl ₂	2-[[4-amino-5-(2,4-dichlorophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sul-fanyl]-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanone	3.79
TPD 8	H	3-phenyl-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	3.71
TPD 9	4-CH ₃	3-(4-methylphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	4.57
TPD 10	4-OH	4-[6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazin-3-yl]phenol	4.17

TPD 11	3-Br	3-(3-bromophenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	0.67
TPD 12	4-OCH ₃	3-(4-methoxyphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	3.20
TPD 13	4-Cl	3-(4-chlorophenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	3.94
TPD 14	2,4-Cl ₂	3-(2,4-dichlorophenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	2.73
TPD 15	H	6-phenyl-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	1.04
TPD 16	4-OCH ₃	6-(4-methoxyphenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	3.60
TPD 17	3,4-(CH ₃) ₂	6-phenyl-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	2.50
TPD 18	3,4,5-(CH ₃) ₃	3,6-bis(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	4.00
TPD 19	4-F	6-(4-fluorophenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	2.80
TPD 20	2,4-F ₂	6-(2,4-difluorophenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	2.15
TPD 21	4-Cl	6-(4-chlorophenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	4.97
TPD 22	4-Br	6-(4-bromophenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	3.15
TPD 23	4-OH	4-[3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazin-6-yl]phenol	5.01
TPD 24	3,4-(OH) ₂	4-[3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazin-6-yl]phenol	3.23
TPD 25	4-CH ₃	6-(4-methylphenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	0.60
TPD 26	4-Ph	6-(4-phenylphenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	4.01
Standard		Etoposide	2.99

In silico Methods

A data set of twenty-six triazole-trimethoxyphenyl hybrids and their anti-cancer activities were obtained from the work of Ansari et al (2019) as shown in Figure 1 and Table 1. The biological activities of the ligands were expressed as half-maximum inhibitory concentration (IC_{50}). The IC_{50} values were subjected to data transformation by taking the negative logarithm to the base of 10 according to the formula:

$$pIC_{50} = -\log(IC_{50}) \times 10^{-6} \quad (1)$$

These compounds were optimised at DFT-B3LYP/6-31G(d,p) methods for molecular geometries using Spartan 14 software as described by [36, 37]. The frequency calculations were carried out on the optimised structure to ascertain minima equilibrium characterized by positive harmonic frequencies [38, 39]. The molecular parameters estimated from the ground state optimized structures were the frontier orbital energies (the HOMO, LUMO and energy gap), chemical hardness ($\eta = (E_{LUMO} - E_{HOMO})/2$) chemical potential ($\mu = (E_{LUMO} + E_{HOMO})/2$), electrophilicity index ($\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$) and dipole moment [40, 41].

QSAR modelling

The optimized structures were converted to *.sdf format for generation of molecular descriptors using Padel-Descriptor software version 2.21 (Rivera-Delgado et al., 2019). Over 1,200 descriptors

generated from 1D, 2D and 3D parameters were combined with electronic descriptors from quantum chemical calculations. These descriptors were pre-treated for carefully selected of relevant parameters to avoid multicollinearity using Data Pre-Treatment GUI 1.2" tool, which utilizes the V-WSP algorithm to eliminate these descriptors and ensure the reliability and generalization of the subsequent QSAR modelling. These data were split into training set (70%) for the QSAR model development and test set (30%) for validation of the model using Dataset Division GUI tool version 1.2 in a random manner as implemented in Drug Theoretical and Cheminformatics Laboratory (DTC Lab) software . The QSAR model was constructed using the compounds from the training set. The independent variables (descriptors) were correlated to the dependent variable (pIC50 of **A549** through multivariate analysis using the Genetic Algorithms Function Approximation (GAFA) technique in the DTC Lab software (Mahmud et al., 2020). The fitness of the model was assessed during the evolution process using the Friedman lack-of-fit (LOF) measure. In Material Studio, the LOF value is calculated using equation 2. The developed QSAR models were validated to test the internal stability and predictive ability of the models. The procedure employed in model validation is internal and external validation (Islam et al., 2014; Oyebamiji et al., 2016; Abdullah et al., 2020).

(i) Friedman

$$LOF = SSE \left(1 - \frac{c+dp}{M} \right)^2 \quad (2)$$

where SSE is the sum of squares of errors, c is the number of terms in the model, other than the constant term, d is a user-defined smoothing parameter, p is the total number of descriptors contained in all model terms (again ignoring the constant term) and M is the number of samples in the training set (Isyaku et al., 2020).

(ii)

$$SSE \left(\sqrt{\frac{(Y_{obs} - Y_{pred})^2}{N - P - 1}} \right) \quad (3)$$

(ii) R-squared (R^2) is determined by equation 4

$$R^2 = \frac{\left(\sum \{ [Y_{obs} - \bar{Y}_{tr}] / [Y_{pred} - \bar{Y}_{pred}] \} \right)^2}{\sum (Y_{obs} - \bar{Y}_{tr})^2 \sum (Y_{pred} - \bar{Y}_{pred})^2} \quad (4)$$

(iii) Cross validated R squared (Q^2_{cv}) is estimated using equation 5

$$Q^2_{cv} = 1 - \frac{\sum (Y_{pred} - Y_{Obs})^2}{\sum (Y_{obs} - \bar{Y}_{tr})^2} \quad (5)$$

Y_{pred} and Y_{obs} are predicted and observed training set concentration (experimental), respectively. $\bar{Y}_{tr}$ and $\bar{Y}_{pred}$ are the average observed (experimental) and predicted training set response, respectively.

(iii) Coefficient of determination adjusted (R^2 adjusted) is determined using equation 6

$$R^2_{adj} = \frac{R^2 - p(n-1)}{n-1-p} \quad (6)$$

where p = number of the descriptor in the model, n = number of compounds in the training set, R^2 is the correlation coefficient, and $n-1-p$ is the degree of freedom.

Docking of the Protein-Ligand

The X-ray structure of the A549 protein target (PDB ID: 7MLR) was retrieved from protein data bank (www.rcsb.org). It was purified and repaired using discovery Studio Visualizer version 16.1.0.15350 and Avogadro. The protein and optimized structures of the ligands were saved in PDB format and molecular docking was performed using PyRx software; the docking results were analysed with discovery Studio Visualizer version [47, 39].

In-silico ADMET/Pharmacokinetic Predictions

The pKCSM online tool software was utilized to predict the pharmacokinetic properties (<http://bi-osisg.unimelb.edu.au/pkCSM/prediction>), specifically the ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity), of the compounds [48].

Results and discussion*Molecular descriptors and Docking analysis.*

The quantum chemical descriptors of triazole-trimethoxyphenyl hybrids obtained from B3LYP/6-31G(d,p) method are provided in Table 2. The HOMO energies for the triazole-trimethoxyphenyl hybrids ranged from -5.40 eV (TPD 25) to -8.69 eV (TPD 13), suggesting that TPD 11 and TPD 25 have higher propensity to donate electrons to the protein receptor, particularly to the electron acceptor hydrogen and carbon atoms within the receptor [49]. The LUMO and chemical potential energies (μ) of TPD 11 (-1.98 and -3.75 eV) and TPD 25 (-1.98 and -3.69 eV), respectively, are lower than that of Etoposide (-0.10 and -2.72 eV), indicating that TPD 11 and TPD 25 can readily receive electrons from the surrounding (protein) than Etoposide [50, 51]. Also, dipole moment (7.44 and 4.96 Debye), HOMO-LUMO energy gap (ΔE_g , 3.53 and 3.42 eV), chemical hardness (1.77 and 1.71 eV) and softness (0.565 and 0.585 eV⁻¹) favour interactions of TPD 11 and TPD 25, respectively, with protein than Etoposide [52 - 55]. This was in agreement with IC₅₀ of 0.69 and 0.60 of TPD 11 and TPD 25, respectively compared to 2.99 μ M for Etoposide, as observed against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells, A549 (Ansari et al., 2019) as presented in Table 1. Thus, TPD 11 and TPD 25 are expected to engage in hydrogen bonding and other hydrophobic interactions with a receptor more than Etoposide which may lead to enhance binding properties with the receptor [56].

Table 2: Molecular parameters calculated from DFT-B3LYP/6-31G(d,p) for the compounds

CPD	H (eV)	L (eV)	ΔE_g	Dipole moment (Debye)	μ (eV)	η (eV)	$S = 1/\eta$	ω (eV)
TPD-1	-5.93	-2.02	3.91	6.61	-3.98	1.96	0.510	4.04
TPD-2	-5.65	-2.11	3.54	6.17	-3.88	1.77	0.565	4.25
TPD-3	-5.54	-1.99	3.55	5.79	-3.77	1.78	0.562	3.99
TPD-4	-5.46	-1.98	3.48	5.88	-3.72	1.74	0.575	3.98
TPD-5	-6.26	1.90	8.16	6.38	-2.18	4.08	0.245	0.58
TPD-6	-6.16	-2.08	4.08	7.02	-4.12	2.04	0.490	4.16
TPD-7	-6.46	-1.98	4.48	6.17	-4.22	2.24	0.446	3.98
TPD-8	-5.89	-2.07	3.82	8.43	-3.98	1.91	0.524	4.15
TPD-9	-5.76	-2.04	3.72	8.49	-3.90	1.86	0.538	4.09
TPD-10	-5.55	-2.02	3.53	6.93	-3.79	1.77	0.565	4.06
TPD-11	-5.51	-1.98	3.53	7.44	-3.75	1.77	0.565	3.97
TPD-12	-5.47	-1.86	3.61	7.21	-3.67	1.81	0.553	3.72
TPD-13	-8.69	1.56	10.25	10.65	-3.57	5.13	0.195	1.24
TPD-14	-5.66	-2.23	3.43	4.35	-3.95	1.72	0.581	4.54
TPD-15	-8.18	1.72	9.90	5.39	-3.23	4.95	0.202	1.05
TPD-16	-5.54	-1.91	3.63	6.29	-3.73	1.82	0.550	3.82
TPD-17	-5.64	-1.97	3.67	4.93	-3.81	1.84	0.544	3.94
TPD-18	-5.65	-2.01	3.64	5.15	-3.83	1.82	0.550	4.03
TPD-19	-5.67	-2.14	3.53	3.85	-3.91	1.77	0.565	4.32
TPD-20	-5.67	-2.17	3.50	4.13	-3.92	1.75	0.571	4.39
TPD-21	-5.70	-2.99	2.71	3.31	-4.35	1.36	0.735	6.97
TPD-22	-5.72	-2.30	3.42	3.28	-4.01	1.71	0.585	4.70

TPD-23	-5.63	-1.93	3.70	5.68	-3.78	1.85	0.540	3.86
TPD-24	-5.56	-1.92	3.64	6.92	-3.74	1.82	0.550	3.84
TPD-25	-5.40	-1.98	3.42	4.96	-3.69	1.71	0.585	3.98
TPD-26	-5.61	-2.16	3.45	5.76	-3.89	1.73	0.578	4.37
Etoposide	-5.34	-0.10	5.24	3.53	-2.72	2.62	0.382	1.41

The analysis of docking results showed that the binding affinities ranged from -6.8 kcal/mol (TPD-7) to -8.6 kcal/mol (TPD-25). The triazole-trimethoxyphenyl hybrids with higher binding affinities against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells, A549 (ID: 7MLR) are TPD-10 and TPD-14 (-8.0 kcal/mol), TPD-19 (-8.4 kcal/mol), TPD-20, TPD-21 and TPD-26 (-8.5 kcal/mol) and TPD-25 (-8.6 kcal/mol). TPD-10 and TPD-14 are hydrogen bonded with ILE 146; TPD-19 is hydrogen bonded with GLN 85 and PRO 86; TPP 20 is hydrogen bonded with GLN 85, TYR 97, ASN 140 and ILE 146; TPD-21 is hydrogen bonded with GLN 85; TPD-26 is hydrogen bonded with ASP 144 and ASN 140; while TPD-25 is hydrogen bonded with ASN 140, ILE 146 and CYS 137. The binding affinity of Etoposide is -8.8 kcal/mol having hydrogen binding with ASN 140 and PRO 86 (Table 3). The TPD-25 with highest inhibitory activity against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells, A549 (Table 1), also presented highest binding affinity among the triazole-trimethoxyphenyl hybrids, thus it is used as QSAR reference compound for modelling and prediction of IC₅₀ for new triazole-trimethoxyphenyl hybrids in this work.

Table 3: Binding affinities (kcal/mol) of the 26 triazole-trimethoxyphenyl hybrids with **A549 (ID: 7MLR)**

CPD	RECEPTOR A549			
	Binding affinity ΔG (Kcalmol ⁻¹)	Inhibition constant K_i (μ M)	H-BOND with ligands	H bond distance(Å)
TPD-1	-7.7	2.25	GLN 85	2.41
			PRO 86	3.77
TPD-2	-7.4	3.74	PRO 86, GLN 85	3.37, 2.08
			ASP 88	1.79
			PRO 82	2.15
			GLN 85	3.54
TPD-3	-7.6	2.67	GLN 85	2.35
			ASN 140	2.23
			MET 105	2.39
TPD-4	-7.7	2.25	GLN5 8	2.35
TPD-5	-7.3	4.43	ASN 140	2.32
			GLN 85	2.82
			MET 105	3.70
			PRO 86	3.36
TPD-6	-7.0	7.35	ASN140	2.65
TPD-7	-6.8	10.30	PRO 82	3.73
TPD-8	-7.9	1.61	ILE 146	2.67
TPD-9	-7.9	1.61	ILE 146	2.62
TPD-10	-8.0	1.36	ILE 146	2.60

TPD-11	-7.5	3.16	Nil	Nil
TPD-12	-7.8	1.90	ILE 146	2.78
TPD-13	-7.8	1.90	ILE 146	2.84
TPD-14	-8.0	1.36	ILE 146	2.60
TPD-15	-7.9	1.61	GLN 85, PRO 86	2.08, 3.37
TPD-16	-7.6	2.67	ILE 146, MET 105, MET 132	2.51, 3.19, 3.54
TPD-17	-7.8	1.90	GLN 85, TYR 97, MET 105, PRO 86, ASN 135	2.23, 2.42, 3.57, 3.23, 3.79
TPD-18	-6.8	10.30	GLN 85, ASN 140, PRO 86	2.36, 2.56, 3.35
TPD-19	-8.4	0.69	GLN 85, PRO 86	2.10, 3.52
TPD-20	-8.5	0.58	GLN 85, TYR 97, ASN 140, ILE 146	2.78, 2.15, 2.48, 3.71
TPD-21	-8.5	0.58	GLN 85	2.14
TPD-22	-7.5	3.16	GLN 85	2.45
TPD-23	-7.5	3.16	MET 132	2.50
			ILE 146	2.96
TPD-24	-7.5	3.16	ASN 140	2.45
			ILE 146	2.17
			CYS 136	2.72
TPD-25	-8.6	0.49	ASN 140	2.45
			ILE 146	2.72
			CYS 137	3.36
TPD-26	-8.5	0.58	ASP 144	3.51
			ASN 140	3.64
Etoposide	-8.8	0.35	ASN 140	2.99
			PRO 86	3.77

QSAR model using Multilinear Regression Genetic Algorithm (MLR-GFA)

The QSAR model developed via MLR-GFA, as shown in equation 7, of inhibitory activity ($pIC_{50} = -\log(IC_{50})$) of triazole-trimethoxyphenyl hybrids against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549) contains four independent 2D-molecular descriptors. These descriptors symbols and definitions are displayed in Table 4.

$$pIC_{50} = 0.3773 - 6.4175 * MATS4p + 0.3043 * minHBint3 + 0.5099 * ATSC7c - 0.1974 * naasC \quad (7)$$

QSAR model displayed a negative contribution from MATS4p and naasC descriptors, while minHBint3 and ATSC7c descriptors contributed positively. Thus, increase in MATS4p and naasC values will negatively influence the predicted value of pIC_{50} , meanwhile, minHBint3 and ATSC7c descriptors will have positive impact on the model. Figure 2 shows the percentage contributions of each descriptor to the predicted pIC_{50} . The Pearson correlation analysis of the descriptor and pIC_{50}

values of the model shows nonexistence of inter-correlation among the descriptors as displayed in Table 5.

Table 4: Symbols definitions and descriptors used in the MLR-GFA equation.

S/N	Descriptor	Definition	Class	Contribution
1	MATS4p	Moran autocorrelation - lag 4 / weighted by polarizabilities.	2D	Negative
2	ATSC7c	Centered Broto-Moreau autocorrelation - lag 7 / weighted by charges.	2D	Positive
3	minHBint3	Minimum E-State descriptors of strength for potential Hydrogen Bonds of path length 3	2D	Positive
4	naasC	Count of atom-type E-State: C:	2D	Negative

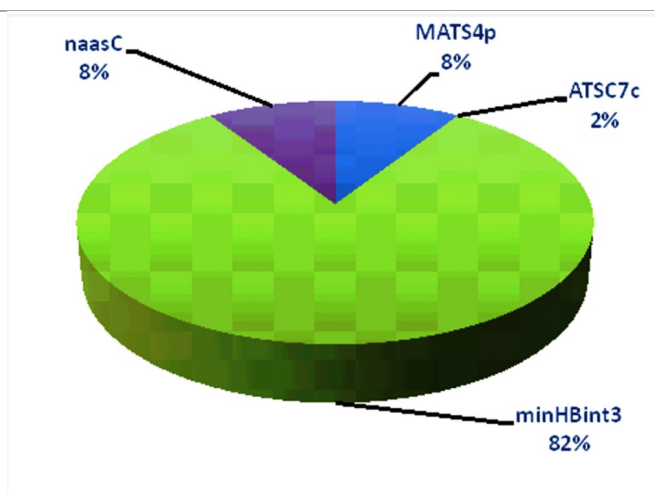


Figure 2: Pie chart showing the Influence of each descriptor in the Model.

Table 5: Table of correlation matrix for the descriptors.

	pIC ₅₀	MATS4p	ATSC7c	minHBint3	naasC
pIC ₅₀	1				
MATS4p	0.074446	1			
ATSC7c	-0.00223	0.414277	1		
minHBint3	0.663251	0.595809	0.184444	1	
naasC	0.075153	-0.29125	0.07373	0.282719	1

The model is statistically validated with R -squared (R^2), adjusted R^2 , Cross validated R squared (Q^2) are 0.8632, 0.7951 and 0.6023, respectively. The model general robustness is also examined using the differences in R^2 and Q^2_{cv} which is < 0.3 and Friedman LOF is 0.001 (Table 6). The inter-correlated descriptor characteristics of model are evaluated based on their multicollinearity estimated using the variation inflation factor (VIF) as shown in equation 8.

$$VIF = (1 - R^2)^{-1} \quad (8)$$

In this case, R^2 is the correlation coefficient, and VIF value approaching a unity, is an indication of no inter-correlation among each descriptor in the model. The VIF scores between 1 and 5 means the model is within acceptability and stability arena; nevertheless, if the VIF score > 10 , then the model is unstable and unacceptable [57]. The VIF scores in Figure 3 shows that the model is stable and acceptable, thus the model can be used to predict bioactivity (pIC_{50}) of similar triazole-trimethoxyphenyl hybrids against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549).

Table 6: QSAR validation parameters

S/N	Parameter	Threshold value	Computed value	Statement
1	R-squared (R^2)	> 0.6	0.8146	Good
2	Adjusted R^2 (R^2_{adj})	> 0.6	0.7874	Good
4	Cross validated R squared (Q^2)	> 0.5	0.6015	Good
5	Friedman LOF	< 0.1	0.0246	Good
6	$R^2 - Q^2_{LOO}$	< 0.3	0.2582	Good

The experimental IC_{50} (pIC_{50}) of TPDs against A549 reported by Ansari et al., [35] and the predicted pIC_{50} and the residual values (difference between the experimental pIC_{50} and predicted pIC_{50}) are displayed in Table 7. The lower residual score implies that the model has good predictive potential. Figures 3 and 4 display the observed versus predicted activity and residual plots, demonstrating the accuracy of the model with R_{pred}^2 of 0.8632, which is greater than 0.6 threshold value.

Table 7: The experimental and predicted pIC_{50} of the ligands.

Ligand	Experimental	Predicted	
	pIC_{50} (μM)	pIC_{50} (μM)	Residual
TPD 1*	-0.60	-0.45	-0.15
TPD 2	-0.64	-0.59	-0.05
TPD 3	-0.62	-0.57	-0.05
TPD 4	-0.57	-0.52	-0.05
TPD 5*	-0.41	-0.37	-0.04
TPD 6	-0.45	-0.44	-0.01
TPD 7*	-0.58	-0.47	-0.11
TPD 8	-0.57	-0.52	-0.05
TPD 9*	-0.66	-0.72	0.06
TPD 10	-0.62	-0.55	-0.07
TPD 11*	0.17	0.23	-0.06
TPD 12	-0.51	-0.43	-0.08
TPD 13*	-0.60	-0.75	0.15
TPD 14	-0.44	-0.53	0.09
TPD 15*	-0.02	-0.09	0.07
TPD 16	-0.56	-0.44	-0.12
TPD 17	-0.40	-0.62	0.22
TPD 18	-0.60	-0.54	-0.06
TPD 19*	-0.45	-0.27	-0.18
TPD 20*	-0.33	-0.22	-0.11
TPD 21	-0.70	-0.43	-0.27
TPD 22	-0.50	-0.57	0.07
TPD 23	-0.70	-0.67	-0.03

TPD 24	-0.51	-0.46	-0.05
TPD 25	0.22	0.28	-0.06

Note * test set for the cancer cell line.

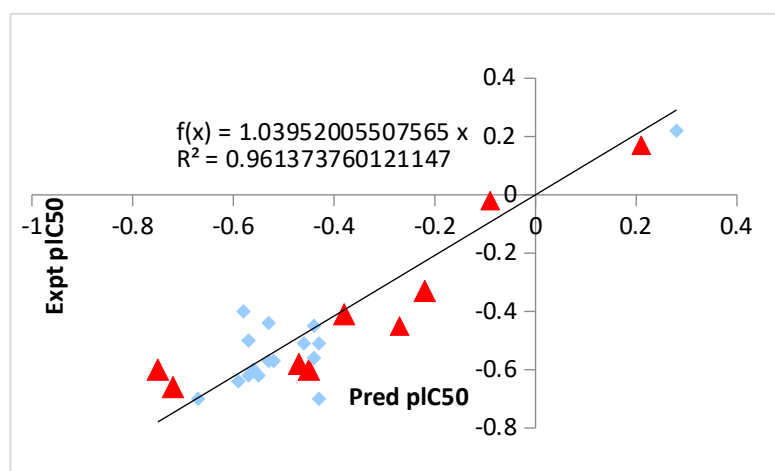


Figure 3: Graph of internal validation for MLR-GFA (Test in red)

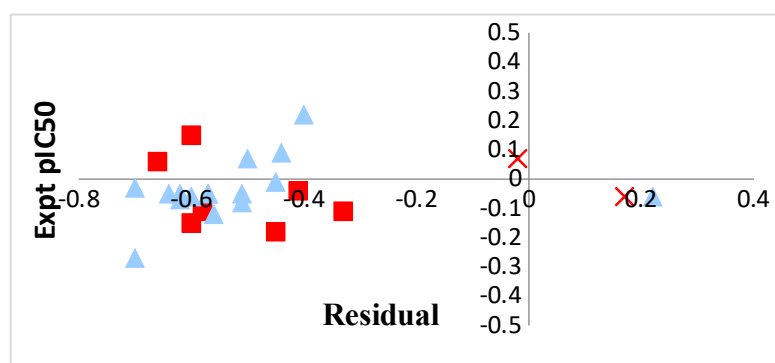
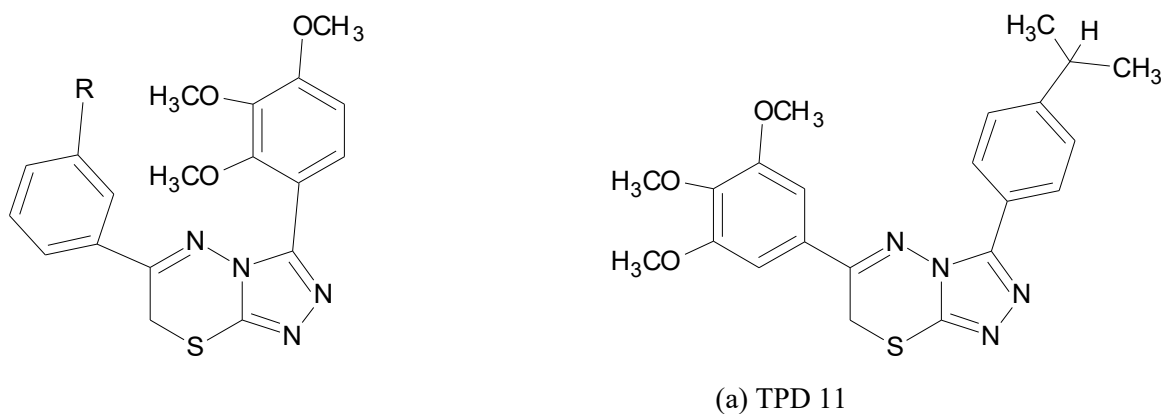


Figure 4: Graph of Residual plot for A549- MLR-GFA model, Test in red

Design of new triazole-trimethoxyphenyl hybrids and their computed pIC_{50} values

New twenty-eight molecules with their computed pIC_{50}/IC_{50} values were predicted, from which the best ten were selected in all out of which eight were from TPD-25 (NTPD-1 to NTPD-8) and other two from TPD-11 (NTPD-9 and NTPD-10) as shown in Figure 5. The compounds TPD-11 and TPD-25 were selected as lead molecules based on experimental bioactivity against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (Table 1). The new molecules with outstanding IC_{50} than Etoposide ($2.99 \mu M$) are NTPD-3 ($0.594 \mu M$), NTPD-4 ($0.813 \mu M$), NTPD-6 ($1,514 \mu M$), NTPD-8 ($2,743 \mu M$) and NTPD-9 ($1.090 \mu M$).



S/N	R	Name	pIC ₅₀	IC ₅₀
NTPD-1	CH ₂ CH ₃	3-(4-ethylphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine, 0.997	-0.878	7.56
NTPD-2	CH(CH ₃) ₂	3-(3-(propan-2-yl)phenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	-0.467	2.93
NTPD-3	C(CH ₃) ₃	3-(3-tert-butylphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	0.226	0.59
NTPD-4	OCH ₂ CH ₃	3-(3-ethoxyphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	0.090	0.81
NTPD-5	S-CH ₃	3-(3-methylsulfanylphenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	-0.719	5.24
NTPD-6	NO ₂	3-(3-nitrophenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	0.180	1.51
NTPD-7	CN	3-(3-cyanophenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	-0.346	2.22
NTPD-8	NH ₂	3-(3-aminophenyl)-6-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	-0.438	2.74
NTPD-9	O-CH ₃	6-(3-methoxyphenyl)-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	-0.037	1.09
NTPD-10	S-CH ₃	6-(3-methylsulfanylphenyl)-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine	-0.624	4.21

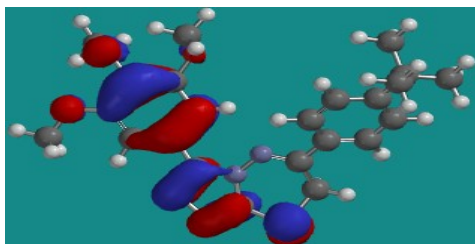
Figure 5: 2-D structures, IUPAC names bioactivity of new triazole-trimethoxyphenyl hybrids against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549)

The frontier energies and reactivity descriptors of the four compounds, NTPD-3, NTPD-4, NTPD-6 and NTPD-9 (out of ten new compounds) with outstanding predicted bioactivity against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549) are listed in Table 8 with orbital overlay in Figure 6. The LUMO and chemical potential (μ) energies of these compounds showed that they can readily receive electrons from the surrounding (protein) than Etoposide [51]. Also, ΔE_g , chemical hardness (η), and softness favour interactions of valence electrons of these compounds with adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549). However, the HOMO supports the ease of electron donating ability of Etoposide with the protein than these new compounds [53]; thus, Etoposide is expected to donate electrons to the protein readily than these NTPD compounds. The molecular docking analysis of predicted NTPD compounds showed that binding affinity for NTPD-3, NTPD-4, NTPD-6 and NTPD-9 are -7.9, -7.5, -8.0 and -7.8 kcalmol⁻¹, respectively, as compared to -8.8 kcalmol⁻¹ for Etoposide (Figure 7).

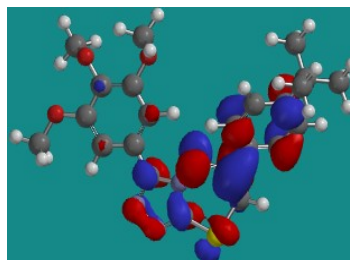
Table 8: Chemical descriptors calculated for new predicted triazole -trimethoxyphenyl hybrids

CPD	H (eV)	L (eV)	ΔE_g	Dipole Moment (Debye)	CPD	H (eV)	L (eV)	ΔE_g
NTPD-3	-5.59	-2.00	3.59	5.95	-3.795	1.795	0.557	4.012
NTPD-4	-5.56	-1.89	3.67	6.22	-3.725	1.835	0.545	3.781
NTPD-6	-5.86	-3.11	2.75	1.50	-4.485	1.375	0.727	7.315

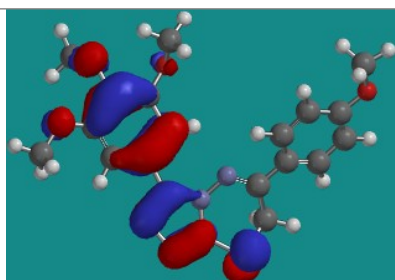
NTPD-9	-5.81	-2.02	3.79	6.41	-3.915	1.895	0.528	4.044
Etoposide	-5.34	-0.10	5.24	3.53	-2.720	2.620	0.382	1.412



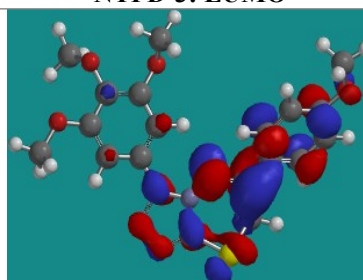
NTPD-3: HOMO



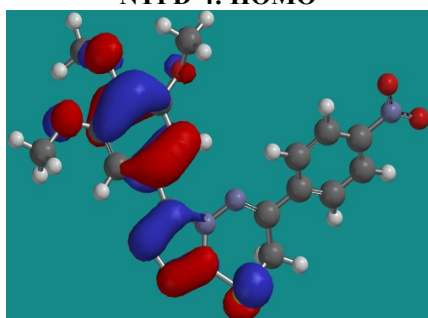
NTPD-3: LUMO



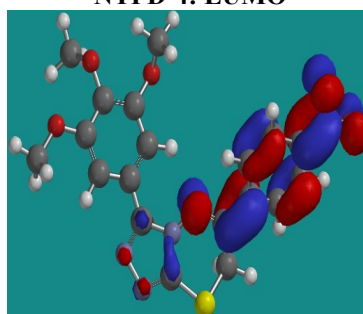
NTPD-4: HOMO



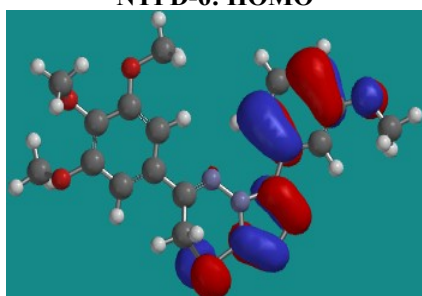
NTPD-4: LUMO



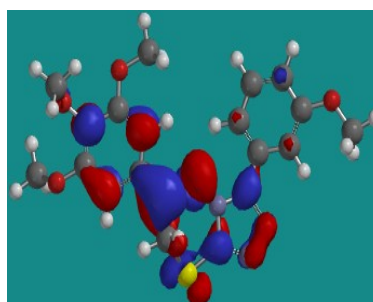
NTPD-6: HOMO



NTPD-6: LUMO



NTPD-9: HOMO



NTPD-9: LUMO

Figure 6: The frontier orbitals overlaid diagram of new triazole -trimethoxyphenyl hybrids

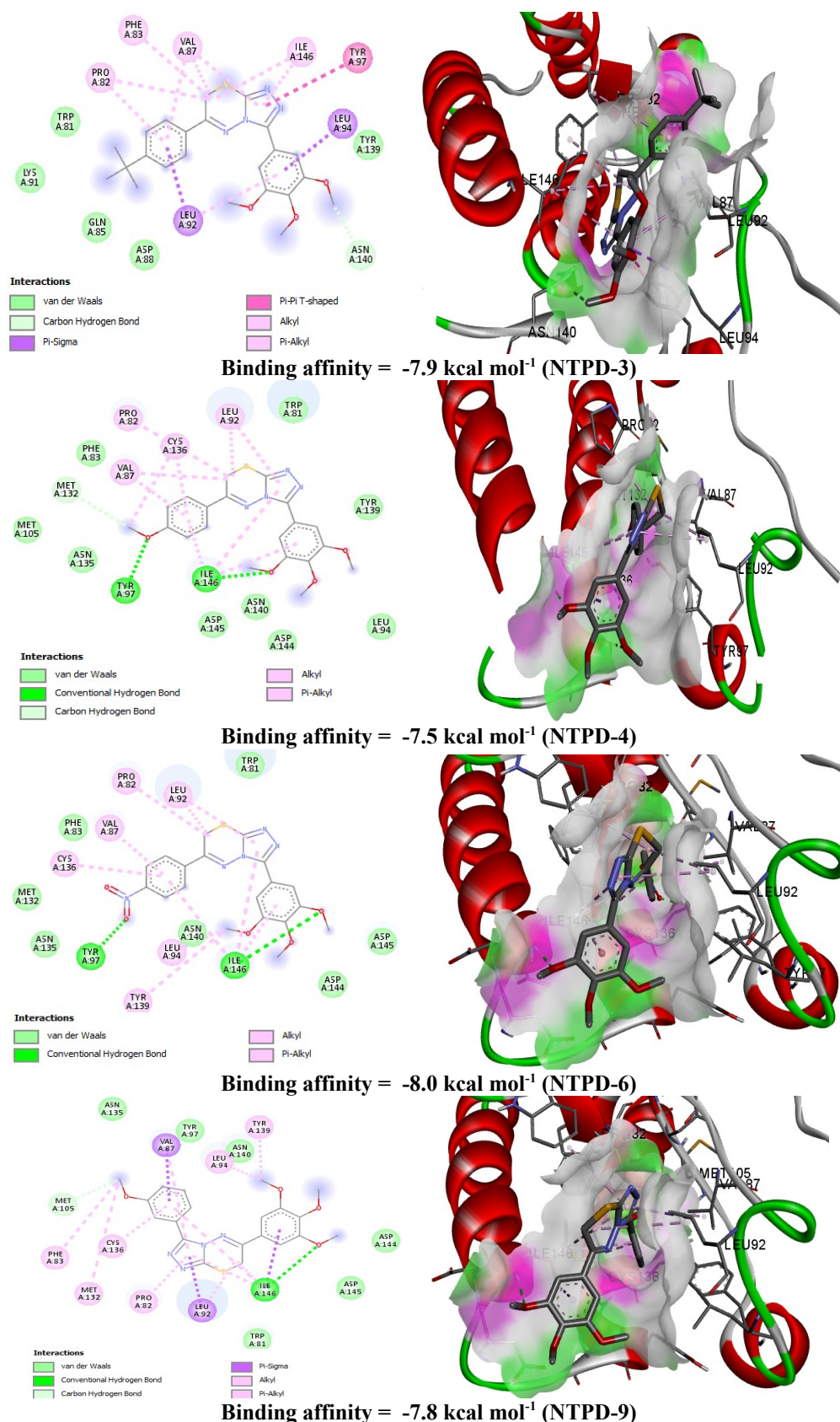


Figure 7: binding affinity and 2-D diagram of the newly designed ligands with A549 (ID: 7MLR).

The assessment of drug likeness and oral bioavailability is crucial, especially for orally administered drugs. Lipinski's Rule of Five is a widely accepted guideline in this context. The rule states that a molecule should not violate more than one of the following parameters: molecular weight

(Mw) < 500, number of hydrogen bond donors (HBD) < 5, octanol/water partition coefficient ($\log P$) < 5, and number of hydrogen bond acceptors (HBA) < 10. The physicochemical properties of the new designed triazole-trimethoxyphenyl hybrids against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells indicated that these compounds adhere to Lipinski's rule except NTPD-6 with one violation. The ADMET properties predicted for these new compounds showed that NTPD-6 displayed good oral absorption, water solubility, skin permeability, non P-glycoprotein substrate which may enhance bioavailability. Blood-brain barrier (BBB) permeability predictions indicated that the ligands could cross the BBB, but they showed low permeability, indicating moderate distribution to the central nervous system (CNS). The ligand acted as non-inhibitor of human cytochrome P450 enzymes, especially CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 and CYP2D6 (Table 10). This suggests that it may undergo metabolic transformations. The ligands exhibit low Oral- Rat Chronic toxicity (LOAEL), Hepatotoxicity and Skin sensitization total clearance values, suggesting prolonged stability in the body and enhanced drug efficacy.

Table 10: ADMET properties of the predicted ligands.

Property	Model Name	NTPD-3	NTPD-4	NTPD-6	NTPD-9	Etoposide
ABSORPTION	H ₂ O solubility	-5.648	-4.195	-4.399	-4.288	-3.69
	Caco-2 Permeability	1.458	1.215	0.732	1.361	0.56
	Intestinal absorption (human)	97.24	99.147	93.742	99.836	91.44
	Skin permeability	-2.741	-2.739	-2.746	-2.744	-2.74
	P- glycoprotein substrate	No	No	No	No	Yes
	P-glycoprotein I inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	No
	P-glycoprotein II inhibitor	Yes	Yes	No	Yes	No
DISTRIBUTION	VDSS (human)	0.015	-0.126	-0.193	-0.152	0.42
	Fraction on bound (human)	0.009	0.072	0.098	0.064	0.11
	BBB permeability	-1.009	-1.263	-1.393	-1.281	-1.61
	CNS permeability	-1.962	-3.489	-3.402	-3.254	-3.71
METABOLISM	CYP2D6 Substrate	No	No	No	No	NO
	CYP3A4 Substrate	Yes	Yes	Yes	Yes	NO
	CYP1A2 inhibitor	Yes	Yes	No	Yes	NO
	CYP2C19 inhibitor	Yes	Yes	No	Yes	NO
	CYP2C9 inhibitor	Yes	Yes	No	Yes	NO
	CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	NO
	CYP3A4 inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	NO
EX-CREATION	Total clearance	0.585	0.596	0.61	0.783	0.00
	Renal OCT2 substrate	No	No	No	No	NO
TOXICITY	AMES toxicity	No	No	No	No	NO
	Max. tolerated dose (human)	0.541	0.627	0.668	0.532	0.10
	hERG I inhibitor	No	No	No	No	NO
	hERG II inhibitor	Yes	Yes	No	Yes	NO
	Oral- Rat Acute toxicity (LD ₅₀)	2.752	2.845	2.427	2.648	3.00
	Oral- Rat Chronic toxicity (LOAEL)	1.266	1.365	0.97	1.34	2.94
	Hepatotoxicity	Yes	Yes	No	Yes	NO
	Skin sensitization	No	No	No	No	NO
	T. Pyriformis toxicity	0.31	0.294	0.287	0.3	0.29
	Minnow toxicity	-0.215	-1.432	-1.443	-0.715	5.08

Conclusion

In silico methods were used to evaluate twenty-six triazole-trimethoxyphenyl hybrids anticancer activity against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549) through DFT, QSAR and ADMET profile. The DFT results showed that TPD 11 and TPD 25 have better molecular properties to receive electrons from and donate electrons to adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells readily than Etoposide. Thus, they are expected to engage in hydrogen bonding and other hydrophobic interactions with a receptor more than Etoposide which led to enhance binding properties. The QSAR developed using multiple linear regression-Genetic Approximation (MLR-GA) statistically has very good predictive ability, which was used to predict twenty-eight molecules of which NTPD-3, NTPD-4 NTPD-6 and NTPD-9 have computed pIC₅₀/IC₅₀ values better than etoposide. The physicochemical and ADMET properties showed that NTPD-6 displayed good oral absorption, water solubility, skin permeability, non-P-glycoprotein substrate, exhibited low Oral- Rat Chronic toxicity (LOAEL), Hepatotoxicity and Skin sensitization total clearance values, suggesting it could be a good candidate inhibitor against adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells.

Acknowledgements

Authors acknowledged the staff of Computational Chemistry Laboratory, Department of Pure and Applied Chemistry of Ladoke Akintola University of Technology, Ogbomosho, Nigeria for granting us access to their computational resources.

References

1. Budrevičiūtė, A.; Damiani, S.; Sabir, D.K.; Önder, K.; Schuller-Goetzburg, P.; Plakys, G.; Katileviciute, A.; Khoja, S.M.; Kodzius, R.; Management and Prevention Strategies for Non-communicable Diseases (NCDs) and their risk factors, *Frontiers in Public Health*. **2020**, *8*, <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.574111>.
2. World Health Organization: WHO, Noncommunicable diseases, **2023**. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>.
3. Ferlay, J.; Colombet, M.; Soerjomataram, I.; Parkin, D.M.; Piñeros, M.; Znaor, A.; Bray, F.; Cancer statistics for the year 2020: An overview, *International Journal of Cancer*. **2021**, *149*, 778–789. <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>.
4. Muka, T.; Imo, D.; Jaspers, L.; Colpani, V.; Chaker, L.; Van Der Lee, S.J.; Mendis, S.; Chowdhury, R.; Bramer, W.M.; Falla, A.; Pazoki, R.; Franco, O.H.; The global impact of non-communicable diseases on healthcare spending and national income: a systematic review, *European Journal of Epidemiology*. **2015**, *30*, 251–277. <https://doi.org/10.1007/s10654-014-9984-2>.
5. Ullrich, A.; Miller, A.B.; Global Response to the Burden of Cancer: The WHO approach, *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. **2014**, e311–e315. https://doi.org/10.14694/edbook_am.2014.34.e311.
6. Nikolaou, M.; Pavlopoulou, A.; Georgakilas, A.G.; Kyrodimos, E.; The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview, *Clinical & Experimental Metastasis*. **2018**, *35*, 309–318. <https://doi.org/10.1007/s10585-018-9903-0>.
7. Özkan, S.A.; Advances in Medicinal Chemistry from Analytical Perspectives, *Current Medicinal Chemistry*. **2018**, *25* 3954–3955.
8. Palve, V.; Liao, Y.W.; Rix, L.; Rix, U.; Turning liabilities into opportunities: Off-target based drug repurposing in cancer, *Seminars in Cancer Biology*. **2021**, *68*, 209–229. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.003>.
9. Fu, D.-J.; Yang, J.; Li, P.; Hou, Y.; Huang, S.; Tippin, M.; Pham, V.; Song, L.; Zi, X.; Xue, W.; Zhang, L.; Zhang, S.; Bioactive heterocycles containing a 3,4,5-trimethoxyphenyl fragment exerting potent antiproliferative activity through microtubule destabilization, *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2018**, *157*, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.060>.
10. Lang, D.K.; Kaur, R.; Arora, R.; Saini, B.; Arora, S.; Nitrogen-Containing heterocycles as Anticancer agents: An Overview, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. **2020**, *20*, 2150–2168.

11. Kerru, N.; Gummidi, L.; Maddila, S.; Gangu, K.K.; Jonnalagadda, S.B.; A review on recent advances in Nitrogen-Containing molecules and their biological applications, *Molecules*. **2020**, *25*, 1909. <https://doi.org/10.3390/molecules25081909>.
12. Al-Bayati, A.I.; Mahmood, A. A. R.; Tahtamouni, L.H.; Al-Mazaydeh, Z.A.; Rammaha, M.S.; Al-Bayati, R.I.; Alsoubani, F.; WITHDRAWN: Synthesis, docking study, and in-vitro anti-cancer evaluation of new triazole derivatives of flufenamic. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.317>. acid, *Materials Today: Proceedings*. **2021**
13. Zhao, S.; Liu, J.; Lv, Z.; Zhang, G.; Xu, Z.; Recent updates on 1,2,3-triazole-containing hybrids with in vivo therapeutic potential against cancers: A mini-review, *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2023**, *251*, 115254. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115254>.
14. Grytsai, O.; Valiashko, O.; Penco-Campillo, M.; Dufies, M.; Hagege, A.; Demange, L.; Martial, S.; Pagès, G.; Ronco, C.; Benhida, R.; Synthesis and biological evaluation of 3-amino-1,2,4-triazole derivatives as potential anticancer compounds, *Bioorganic Chemistry*. **2020**, *104*, 104271. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104271>.
15. Chu, X.; Wang, C.; Wang, W.; Liang, L.; Liu, W.; Gong, K.; Sun, K.; Triazole derivatives and their antiplasmodial and antimalarial activities, *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2019**, *166*, 206–223. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.047>.
16. Peyton, L.; Gallagher, S.; Hashemzadeh, M.; Triazole antifungals: A review, *Drugs of Today*. **2015**, *51*, 705. <https://doi.org/10.1358/dot.2015.51.12.2421058>.
17. El-Sebaey, S.A.; Recent advances in 1,2,4-Triazole scaffolds as antiviral agents, *ChemistrySelect*. **2020**, *5*, 11654–11680. <https://doi.org/10.1002/slct.202002830>.
18. Shaikh, S.; Nazam, N.; Rizvi, S.M.D.; Ahmad, K.; Baig, M.H.; Lee, E.J.; Choi, I.; Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance, *International Journal of Molecular Sciences*. **2019**, *20*, 2468. <https://doi.org/10.3390/ijms20102468>.
19. Zhang, Y.; Wu, C.; Zhang, N.; Fan, R.; Ye, Y.; Xu, J.; Recent Advances in the Development of Pyrazole Derivatives as Anticancer Agents. *Int J Mol Sci*. **2023**, *24* (16):12724. doi: 10.3390/ijms241612724.
20. Bhogireddy, D.Nayudu.; Kotala, M. B.; Aduri, R.; Somaiah, N.; Tadiboina, B.R.; Design, synthesis and anticancer assessment of 1,2,3-triazole incorporated 1,3,4-oxadiazole-quinazoline derivatives, *Chemical Data Collections* **2023**, *48*,101073,<https://doi.org/10.1016/j.cdc.2023.101073>.
21. Ahmad, M.K.; Abdollah, N.A.; Shafie, N.H.; Yusof, N.M.; Razak, S.R.A.; Dual-specificity phosphatase 6 (DUSP6): a review of its molecular characteristics and clinical relevance in cancer, *Cancer Biology and Medicine*. **2018**, *15*, 14. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2017.0107>.
22. Djemoui, A.; Naouri, A.; Ouahrani, M.R.; Djemoui, D.; Souli, L.; Lahrech, M.; Boukenna, L.; Albuquerque, H.M.T.; Saher, L.; Rocha, D.H.A.; Monteiro, F.L.; Helguero, L.A.; Bachari, K.; Talhi, O.; Silva, A.M.S.; A step-by-step synthesis of triazole-benzimidazole-chalcone hybrids: Anticancer activity in human cells+, *Journal of Molecular Structure*. **2020**, *1204*, 127487. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127487>.
23. Banerji, A.; Chandrasekhar, K.; Sreenath, K.; Roy, S.; Nag, S.; Saha, K.D.; Synthesis of Triazole-Substituted quinazoline hybrids for anticancer activity and a lead compound as the EGFR blocker and ROS inducer agent, *ACS Omega*. **2018**, *3*, 16134–16142. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01960>.
24. Perike, N.; Edigi, P.K.; Gurrapu, N.; Thumma, V.; Bujji, S.; Naikal, P.S.; Synthesis, anticancer activity and molecular docking studies of hybrid molecules containing Indole-Thiazolidinedione-Triazole moieties, *ChemistrySelect*. **2022**, *7*, <https://doi.org/10.1002/slct.202203778>.
25. Patil, S.A.; Nesaragi, A.R.; Rodríguez-Berrios, R.R.; Hampton, S.M.; Bugarin, A.; Patil, S.A.; Coumarin Triazoles as Potential Antimicrobial Agents. *Antibiotics (Basel)*. **2023** *12*, 160. doi: 10.3390/antibiotics12010160.

26. Cebeci, Y.U.; Ceylan, S.; Karaoglu, S.A.; Altun, M.; An efficient microwave-assisted synthesis of novel quinolone–triazole and conazole–triazole hybrid derivatives as antimicrobial and anticancer agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2023**, *60*, 47–62. <https://doi.org/10.1002/jhet.4560>
27. Becan, L.; Pyra, A.; Rembiałkowska, N.; Bryndal, I. Synthesis, Structural Characterization and Anticancer Activity of New 5-Trifluoromethyl-2-thioxo-thiazolo[4,5-d]pyrimidine Derivatives. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 92. <https://doi.org/10.3390/ph15010092>.
28. Oyebamiji, A.K.; Semire, B.; In Vitro Biological Estimation of 1,2,3-Triazolo[4,5-d]pyrimidine Derivatives as Anti-breast Cancer Agent: DFT, QSAR and Docking Studies, *Current Pharmaceutical Biotechnology*. **2020**, *21*, 70–78. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190904163003>.
29. Kumar, A.; Singh, A.K.; Singh, H.; Vijayan, V.; Kumar, D.; Naik, J.; Thareja, S.; Yadav, J.P.; Pathak, P.; Grishina, M.; Verma, A.; Khalilullah, H.; Jaremko, M.; Emwas, A.H.; Kumar, P.; Nitrogen Containing Heterocycles as Anticancer Agents: A Medicinal Chemistry Perspective. *Pharmaceuticals (Basel)*. **2023**, *16*(2):299. doi: 10.3390/ph16020299.
30. Oyebamiji, A.K.; Tolufashe, G.F.; Oyawoye, O.M.; Oyedepo, T.A.; Semire, B.; Biological Activity of Selected Compounds from *Annona muricata* Seed as Antibreast Cancer Agents: Theoretical Study, *Journal of Chemistry*. **2020**, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2020/6735232>.
31. Lü, Y.; Chen, J.; Xiao, M.; Li, W.; Miller, D.D.; An Overview of Tubulin Inhibitors That Interact with the Colchicine Binding Site, *Pharmaceutical Research*. **2012**, *29*, 2943–2971. <https://doi.org/10.1007/s11095-012-0828-z>.
32. Negi, A.S.; Gautam, Y.; Alam, S.; Chanda, D.; Luqman, S.; Sarkar, J.; Konwar, R.; Natural antitubulin agents: Importance of 3,4,5-trimethoxyphenyl fragment, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2015**, *23*, 373–389. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.12.027>.
33. Romagnoli, R.; Baraldi, P.G.; Prencipe, F.; Oliva, P.; Baraldi, S.; Salvador, M.K.; Cara, C.L.; Bortolozzi, R.; Mattiuzzo, E.; Basso, G.; Viola, G.; Design, synthesis and biological evaluation of 3-substituted-2-oxindole hybrid derivatives as novel anticancer agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2017**, *134*, 258–270. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.089>.
34. Banimustafa, M.; Kheirollahi, A.; Safavi, M.; Ardestani, S.K.; Aryapour, H.; Foroumadi, A.; Emami, S.; Synthesis and biological evaluation of 3-(trimethoxyphenyl)-2(3H)-thiazole thiones as combretastatin analogs, *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2013**, *70*, 692–702. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.10.046>.
35. Ansari, M.; Shokrzadeh, M.; Karima, S.; Rajaei, S.; Hashemi, S.M.; Mirzaei, H.; Fallah, M.; Emami, S.; Design, synthesis and biological evaluation of flexible and rigid analogs of 4H-1,2,4-triazoles bearing 3,4,5-trimethoxyphenyl moiety as new antiproliferative agents, *Bioorganic Chemistry*. **2019**, *93*, 103300. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103300>.
36. Semire, B.; Odunola, O.A.; Density Functional Theory (DFT) Study on α,α -Bis(2-benzothiophen-1-yl)-4H-cyclopenta[2,1-b,3;4-b']dithiophene Derivatives for Optoelectronic Devices, *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*. **2019**, *8*, 126–139. <https://doi.org/10.21776/ub.jpacr.2019.008.02.438>.
37. Abdullahi, M.; Adeniji, S.E.; In-silico molecular docking and ADME/Pharmacokinetic prediction studies of some novel carboxamide derivatives as anti-tubercular agents, *Chemistry Africa*. **2020**, *3*, 989–1000. <https://doi.org/10.1007/s42250-020-00162-3>.
38. Afolabi, S.O.; Semire, B.; Akiode, O.K.; Idowu, M.A.; Quantum study on the optoelectronic properties and chemical reactivity of phenoxazine-based organic photosensitizer for solar cell purposes, *Theoretical Chemistry Accounts*. **2022**, *141*, <https://doi.org/10.1007/s00214-022-02882-w>.
39. Ibrahim, A.O.; Semire, B.; Adepoju, A.J.; Latona, D.F.; Oyebamiji, A.K.; Owonikoko, A.D.; Oladuji T.E.; Odunola. O.A.; In Silico investigations on structure, reactivity indices, NLO properties, and bio-evaluation of 1-benzyl-2-phenyl-1H-benzimidazole derivatives using DFT and molecular docking approaches. *Biointer Res Appl Chem*. **2023**, *13*, 233. <https://doi.org/10.33263/BRIAC133.233>
40. Eswaramoorthy, R.; Hailekiros, H.; Sabir, F.K.; Endale, M.; In silico Molecular Docking, DFT Analysis and ADMET Studies of Carbazole Alkaloid and Coumarins from Roots of *Clausena*

- anisata: A Potent Inhibitor for Quorum Sensing, *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*. **2021**, 14, 13–24. <https://doi.org/10.2147/aabc.s290912>.
41. Khaldan, A.; Bouamrane, S.; El Mchichi, R. E. M. L.; Maghat, H.; Lakhliifi, M. B. T.; Sbai, A.; In search of new potent α -glucosidase inhibitors: molecular docking and ADMET prediction. *Moroccan Journal of Chemistry*, **2022**, 10(4), 10-14. <https://doi.org/10.33263/BRIAC134.302>
 42. Rivera-Delgado, E.; Xin, A.W.; Von Recum, H.A.; Using QSARs for predictions in drug delivery, *bioRxiv* (Cold Spring Harbor Laboratory). **2019**, <https://doi.org/10.1101/727172>.
 43. Mahmud, A.W.; Shallangwa, G.A.; Uzairu, A.; QSAR and molecular docking studies of 1,3-dioxoisindoline-4-aminoquinolines as potent antiplasmodium hybrid compounds, *Heliyon*. **2020**, 6, e03449. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03449>.
 44. Islam, M.R.; Mahadzir, M.; Modelling and Optimizing of Joint's Fracture Toughness between A7075-T651 and AZ31B Dissimilar Alloys Welded by GMA Spot Welding Method, *Applied Mechanics and Materials*. **2014**, 663, 281–286. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.663.281>.
 45. Oyebamiji, A.K.; Semire, B.; Dft-Qsar model and docking studies of antiliver cancer (Hepg-2) activities of 1, 4-dihydropyridine based derivatives. *Cancer Biology* **2016**, 6, 69-78. <https://doi.org/10.7537/marscbj06021610>.
 46. Abdullah, S.; Napi, N.N.L.M.; Ahmed, A.N.; Mansor, W.N.W.; Mansor, A.A.; Ismail, M.; Abdullah, A.M.; Ramly, Z.T.A.; Development of Multiple Linear Regression for Particulate Matter (PM10) Forecasting during Episodic Transboundary Haze Event in Malaysia, *Atmosphere*. **2020**, 11, 289. <https://doi.org/10.3390/atmos11030289>.
 47. Vázquez-Jiménez, L.K.; Juárez-Saldívar, A.; Gómez-Escobedo, R.; Delgado-Maldonado, T.; Méndez-Álvarez, D.; Palos, I.; Bandyopadhyay, D.; Gaona-López, C.; Ortiz-Pérez, E.; Noguera-Torres, B.; Ramírez-Moreno, E.; Rivera, G.; Ligand-Based virtual screening and molecular docking of benzimidazoles as potential inhibitors of triosephosphate isomerase identified new trypanocidal agents, *International Journal of Molecular Sciences*. **2022**, 23, 10047. <https://doi.org/10.3390/ijms231710047>.
 48. Purwanto, B.T.; Hardjono, S.; Widiandani, T.; Nasyanka, A.L.; Siswanto, I.; In Silico Study and ADMET prediction of N-(4-fluorophenylcarbamothioyl) Benzamide Derivatives as Cytotoxic Agents. **2021**, 2, 48. <http://www.jonuns.com/index.php/journal/article/view/515>.
 49. Oyebamiji, A.K.; Akintelu, S.A.; Amao, O.P.; Kaka, M.O.; Morakinyo, A.; Amao, F.A.; Semire, B.; Dataset on theoretical bio-evaluation of 1,2,4-thiadiazole-1,2,4-triazole analogues against epidermal growth factor receptor kinase down regulating human lung cancer, *Data in Brief*. **2021**, 37, 107234. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107234>.
 50. Nehra, N.; Tittal, R.K.; Ghule, V.D.; 1,2,3-Triazoles of 8-Hydroxyquinoline and HBT: synthesis and studies (DNA binding, antimicrobial, molecular docking, ADME, and DFT), *ACS Omega*. **2021**, 6, 27089–27100. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03668>.
 51. Pal, R.; Chattaraj, P.K.; Electrophilicity index revisited, *Journal of Computational Chemistry*. **2022**, 44, 278–297. <https://doi.org/10.1002/jcc.26886>.
 52. Miar, M.; Shiroudi, A.; Pourshamsian, K.; Oliaey, A.R.; Hatamjafari, F.; Theoretical investigations on the HOMO–LUMO gap and global reactivity descriptor studies, natural bond orbital, and nucleus-independent chemical shifts analyses of 3-phenylbenzo[d]thiazole-2(3H)-imine and its para-substituted derivatives: Solvent and substituent effects, *Journal of Chemical Research*. **2020**, 45, 147–158. <https://doi.org/10.1177/1747519820932091>.
 53. Haribabu, J.; Garisetti, V.; Malekshah, R.E.; Swaminathan, S.; Gayathri, D.; Bhuvanesh, N.; Mangalaraja, R.V.; Echeverría, C.; Karvembu, R.; Design and synthesis of heterocyclic azole based bioactive compounds: Molecular structures, quantum simulation, and mechanistic studies through docking as multi-target inhibitors of SARS-CoV-2 and cytotoxicity, *Journal of Molecular Structure*. **2022**, 1250, 131782. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131782>.
 54. El-ghamry, M.A.; Elzawawi, F.M.; Aziz, A.A.A.; Nassir, K.M.; Abu-El-Wafa, S.M.; New Schiff base ligand and its novel Cr(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) complexes: spectral

- investigation, biological applications, and semiconducting properties, *Scientific Reports*. **2022**, 12, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22713-z>.
55. Ameji, J.P.; Uzairu, A.; Shallangwa, G.A.; Shallangwa, G.A.; Design, pharmacokinetic profiling, and assessment of kinetic and thermodynamic stability of novel anti-Salmonella typhi imidazole analogues, *Bulletin of the National Research Centre*. **2023**, 47, <https://doi.org/10.1186/s42269-023-00983-5>.
 56. Meanwell, N.A.; Lolli, M.L.; Applications of Heterocycles in the Design of Drugs and Agricultural Products, 1st ed., Elsevier, Inc, **2021**. <https://shop.elsevier.com/books/applications-of-heterocycles-in-the-design-of-drugs-and-agricultural-products/meanwell/978-0-12-820181-7>.
 57. Driouche, Y.; Messadi, D.; Quantitative structure-retention relationship model for predicting retention indices of constituents of essential oils of *Thymus vulgaris* (Lamiaceae), *Journal of the Serbian Chemical Society*. **2019**, 84, 405–416. <https://doi.org/10.2298/jsc180817010d>.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 07.05.2025

Accepted 24.06.2025

А. О. Сандей*, Ш. Абдуллахі*, О. К. Габріель*, О. Мозес*, С. Банджо†. Дослідження in silico похідних триазол-триметоксифенілу як антипроліферативних засобів проти аденокарциномних альвеолярних базальних епітеліальних клітин людини (A549): DFT, QSAR та підходи молекулярного докінгу.

*Кафедра хімії, Федеральний університет Локоджа, штат Когі, Нігерія

†Лабораторія обчислювальної хімії, кафедра чистої та прикладної хімії, Ладоке Акінтала, Технологічний університет, Р.М.В. 4000, Огбомосо, штат Ойо, Нігерія.

Двадцять вісім наборів синтезованих похідних триазолтриметоксифенілу (TPD) були розглянуті як антипроліферативні препарати проти ліній ракових клітин альвеолярного базального епітелію людини (A549) за допомогою методів DFT, QSAR, профілю ADMET та молекулярного докінгу. Розглянуті сполуки були використані для розробки надійної моделі QSAR, яка була застосована для розробки нових сполук TPD, що могли б служити кандидатами на антипроліферативні препарати проти раку альвеолярного базального епітелію людини (A549). Параметри, отримані з розрахунків DFT, такі як HOMO, LUMO, дипольний момент, хімічна твердість та м'якість, свідчили про перевагу TPD-11 та TPD-25 над етопоксидом як сильних інгібіторів проти ракових клітин альвеолярного базального епітелію людини (A549), що узгоджується з експериментальними даними. Моделювання та валідація QSAR показали значний вплив автокореляції Морана - лаг 4/зважений за поляризованістю (MATS4p), автокореляції центрованого Брото-Моро - лаг 7/зважений за зарядами (ATSC7c), дескрипторів мінімального Е-стану міцності для потенційних водневих зв'язків довжиною 3 (minHBint3) та дескрипторів кількості Е-станів атомного типу: С (naasC) на зареєстровану протиракову активність препаратів у QSAR A549-MLR-GFA ($R^2 = 0,8146$, скоригований $R^2 = 0,7874$, $Q^2_{\text{Loo}} = 0,6015$ та $R^2 - Q^2_{\text{Loo}} = 0,2582$). Використовуючи дані моделі, було запропоновано чотири нові TPD (NTPD-3, NTPD-4, NTPD-6 та NTPD-9). DFT та молекулярний докінговий аналіз показали, що ці чотири сполуки можуть бути кращими інгібіторами проти A549, ніж етопоксид. Однак, властивості ADMET (абсорбція, розподіл, метаболізм, екскреція та токсичність) показали, що NTPD-6 має чудові фармакокінетичні та токсикологічні профілі та може слугувати дороговказом для нових та ефективніших протипухлинних засобів.

Ключові слова: триазол-триметоксифеніл, протипухлинні засоби, DFT, QSAR, молекулярний докінг.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 07.05.2025

Прийнято до друку 24.06.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

EXTRACTION OF RADIONUCLIDES ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y AND UO_2^{2+} FROM AQUEOUS SOLUTIONS USING SOLID-PHASE EXTRACTANTS IMPREGNATED WITH CALIX[4]ARENE PHOSPHINE OXIDES

A.P. Krasnopyorova^{a*}, G.D. Yukhno^{b*}, N.V. Efimova^{c*}, P.V. Efimov^{d*}, A.G. Vorobiov^{e*}
A.B. Drapailo^{f*}, V.I. Kalchenko^{g*}

^aV.N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry, 4 Svobody sqr., 61022 Kharkiv, Ukraine.

[†]Forensic service Kharkiv scientific research forensic centre, Kovtuna str. 34, 61191 Kharkiv, Ukraine,

[‡]Institute of Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Academician Kukhar str. 5, 02094 Kyiv, Ukraine.

a) alla.p.krasnopyorova@karazin.ua

b) g.yukhno@karazin.ua

c) n.v.efimova@karazin.ua

d) pavel.v.efimov@karazin.ua

e) vorobiov.alexandr.corp@gmail.com

f) a.drapailo@gmail.com

g) vik@ioch.kiev.ua

<https://orcid.org/0000-0003-2916-5725>

<https://orcid.org/0000-0003-2027-9929>

<https://orcid.org/0000-0002-1089-2976>

<https://orcid.org/0000-0003-1781-3844>

<https://orcid.org/0009-0001-6543-8527>

<https://orcid.org/0000-0002-8701-1380>

<https://orcid.org/0000-0002-0325-7544>

The extraction of radionuclides ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y , and UO_2^{2+} was studied using solid-phase extractants SPE-TBP, SPE-C45 and SPE-CIP67 depending on the acidity of the aqueous solution. SPE-C45 and SPE-CIP67 are porous styrene-divinylbenzene copolymer pellets impregnated with calix[4]arene tetraphosphine oxide C45 (5,11,17,23-tetrakis-diethylphosphinomethyl-25,26,27,28-tetrapropoxycalix[4]arene) and CIP67 (5,11,17,23-tetrakis-dipropylphosphinomethyl-25,26,27,28-tetrapropoxycalix[4]arene). Commercial solid-phase extractant SPE-TBP based on tributylphosphate was used for comparison. The influence of the radionuclides contact time with extractant on the establishment of extraction equilibrium was analyzed. It was shown that the equilibria in the systems using SPE are established in 3-4 hours.

A significant influence of the acidity of the aqueous solution on the extraction efficiency of the radionuclides was found: an increase in acidity leads to an increase in the distribution coefficients.

The influence of the nature of cations on the extraction efficiency is shown. The extraction of the radionuclides increases in the following series: $\text{UO}_2^{2+} > ^{90}\text{Y} > ^{90}\text{Sr} > ^{137}\text{Cs}$.

It was revealed that the extraction of the radionuclides depends on the length of the alkyl radical at the phosphorus atom of the macrocyclic skeleton of calix[4]arene phosphine oxide. Cations are extracted more efficiently with calix[4]arene of shorter alkyl radical length at phosphorus atom. The ability of SPE-calixarenes towards the studied radionuclides exceeds the extraction ability of SPE-TBP and varies in the following order: SPE-TBP < SPE-CIP67 < SPE-C45.

The conducted studies have shown the possibility of using the studied solid-phase-liquid extraction systems in the organization of radiation control of natural waters. In this case, the method of solid-phase extraction is convenient for radionuclide extraction, as it is simple and allows minimizing waste.

Keywords: radionuclides, solid-phase-liquid extraction, calixarene, phosphine oxide, radioactive waste.

Introduction

At this stage of development of civilization, there is a growing demand for energy. At the same time, the anthropogenic load (greenhouse gases and other harmful substances) increases. This leads to environmental pollution and negatively affects the integrity of ecosystems. Therefore, interest in nuclear energy has increased. Nuclear power plants are an environmentally friendly source of energy with a minimum amount of harmful substances entering the atmosphere. During the operation of a nuclear power plant, a large number of radioactive isotopes are formed in the reactor. In case of possible accidents at nuclear power plants and radioactive waste processing plants, radioactive isotopes may enter the environment. Particularly dangerous are the long-lived radionuclides uranium-235, plutonium-239 and their fission products strontium-90 and cesium-137. These radionuclides have long-term radiotoxicity, harming not only the health of the body, but also the environment as a whole. One of the

environmental problems is also its pollution by depleted uranium [1, 2], which is used for the production of warheads for armor-piercing projectiles. At the same time, depleted uranium is the most potentially dangerous to human health due to the formation of a large number of aerosols.

To assess the impact of radiation on the environment and, above all, on the human body, there is a need to create radiation monitoring [3]. When organizing radiation environmental monitoring, one of the methods for assessing the degree of technogenic load on the environment of cities and on the health of the population living in them is monitoring the pollution of atmospheric precipitation, surface water and soil [4, 5].

In this case, the main interest is those radionuclides that, accumulating in the external environment, pose a serious threat due to their biological activity and toxic properties [6]. An important component of radiation monitoring is the assessment of radionuclide content in surface and technogenic waters [7, 8].

Low contents of radionuclides and large amounts of other elements necessitate their preliminary concentration. One of the most appropriate ways to solve this problem is the use of liquid-liquid extraction [9, 10]. However, the organic solvents used are usually toxic, flammable and expensive. Therefore, the search for new extraction systems for the isolation and separation of radionuclides is one of the most important scientific and practical problems of radiochemistry.

New systems must be as efficient as traditional ones, but at the same time more environmentally friendly. They must not contain toxic extractants or solvents ("green extraction"), and waste solutions must be easily recycled or destroyed.

As an alternative to liquid-liquid extraction, there has recently been increased interest in the development and use of the solid-phase extraction method, which combines sorption and extraction methods. Solid-phase extractants (SPE) are porous materials impregnated with a complexing agent solution capable of forming complexes with metal ions and extracting them from aqueous solutions [11-13]. The advantage of SPE is their high capacity, characteristic of extractants, and the simplicity of the technological process for extracting metal salts, characteristic of sorbents.

Solid-phase extraction is characterized by wider possibilities for varying the nature and strength of interaction of the sample with the sorbent and eluent than liquid extraction. Through specific interactions, it is possible to selectively concentrate and extract each of the specific compounds or separate them from interfering components [14].

The use of solid extractants for decontamination of liquid radioactive waste allows to significantly reduce the volume of waste and facilitate its disposal. One of the common solid extractants produced commercially and used in extraction technologies is a porous copolymer of styrene and divinylbenzene impregnated with tributyl phosphate (SPE-TBP) [15]. At the same time, SPE-TBP has insufficient complexing ability and low selectivity towards actinides and lanthanides. The use of extraction methods for the extraction of radionuclides involves the introduction into the system of complexing ligands that have high selectivity [11].

For this purpose, multifunctional supramolecular receptors (synthetic cyclic and macrocyclic ligands, crown ethers and their derivatives, calixarenes, heterocyclic nitrogen- and sulfur-containing compounds, bifunctional neutral organophosphorus compounds [11, 12, 13, 16] are widely used.

In recent years, research in the development of selective extractants has been focused on calixarenes [11, 12, 17, 18].

Calix[4]arenes, due to their unique spatial structure, have great potential for modifying the macrocycle. This makes it possible to build specific receptors capable of recognizing with high selectivity various cations, anions or neutral molecules. The ability of calix[4]arenes to form stable supramolecular complexes determines the widespread use of calix[4]arenes and their derivatives in extraction technologies [11, 18].

A promising direction in the design of highly selective extractants is the functionalization of the macrocyclic ring of calix[4]arenes with phosphine oxide groups. The phosphine oxide groups are spatially oriented in such a way that their oxygen atoms form pseudocavities with the size and topology of complementary metal cations (Figure 1) [19].

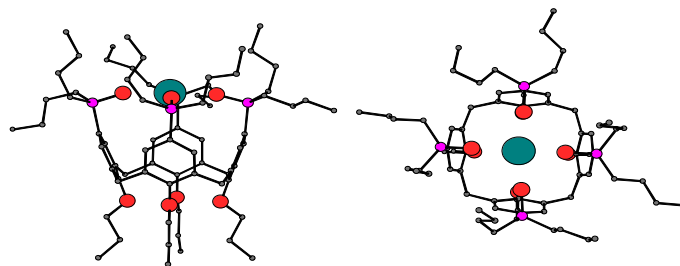


Fig. 1 The energetically minimized structure of calixarene phosphine oxide complex with metal cation: a) side view; b) projection from above [19].

By changing the conformation of the macrocyclic skeleton of calix[4]arene, it is possible to purposefully design molecules that are selective complexing agents with respect to radioactive elements and other metal cations.

Calixarene phosphine oxides have high complexing properties and can be used as extractants for the creation of new SPEs. Evaluation of the possibility of their use in the processing of liquid radioactive waste is an important task of applied radiochemistry.

In this work the extraction of ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y , and UO_2^{2+} from nitric acid solutions using SPEs based on phosphorus-containing calix[4]arenes C45 and CIP67 differing in the length of alkyl radicals at the phosphorus atom was investigated.

Method

Reagents. To study the extraction of radionuclides ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y , and UO_2^{2+} were used model solutions of ^{137}Cs with a specific activity of $8.6 \cdot 10^7 \text{ Bq/dm}^3$, ^{90}Sr with a specific activity of $1.8 \cdot 10^8 \text{ Bq/dm}^3$, ^{90}Y with a specific activity of $1.8 \cdot 10^8 \text{ Bq/dm}^3$ and uranyl nitrate $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ with a metal ion concentration of 1.52 mg/dm^3 . The required acidity of the solution was created with nitric acid.

Samples of SPE-C45 and SPE-CIP67 which are porous pellets of styrene-divinylbenzene copolymer (production of enterprise “Smoly”, Kamianske) impregnated with calix[4]arene tetraphosphine oxides C45 (5,11,17,23-tetrakis-diethylphosphinoylmethyl-25,26,27,28-tetrapropoxycalix[4]arene) and CIP67 (5,11,17,23-tetrakis-dipropylphosphinoylmethyl-25,26,27,28-tetrapropoxycalix[4]arene), which differ in the length of the alkyl radical at the phosphorus atom were used.

Calix[4]arenes C45 and CIP67, as well as SPEs based on them SPE-C45 and SPE-CIP67 were synthesized and characterized at the Institute of Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine [19]. The solid extractant was obtained in the form of granules of size (63-100 μm). The mass fraction of calixarene in the sorbent is 40 wt. %. Commercial SPE-TBP based on tributyl phosphate was used for comparison [20, 21]. Figure 2 show the chemical structures of calixarenes C45 and CIP67 [19].

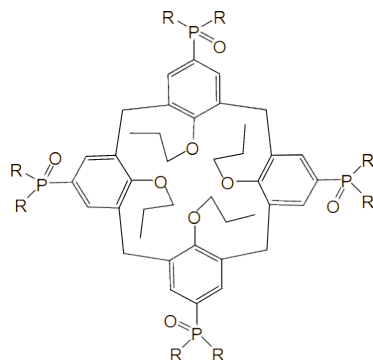


Fig. 2 Structures of calixarene phosphine oxide C45 ($\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$) and C67 ($\text{R} = \text{C}_3\text{H}_7$).

Study of extraction properties. The extraction properties of SPEs were determined with solutions of ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y , and UO_2^{2+} at a mass ratio of solid and liquid phases 1:100. SPEs suspension was mixed with the solution containing the investigated radionuclide with the given acidity of the solution (0; 0.1; 0.5 and 1 mol/dm^3) at 293 K. The experiment was carried out in static mode. The time of equilibrium establishment was determined experimentally. The equilibrium phases were separated by cen-

trifugation, after which a sample of the aqueous phase was taken for analysis. Sampling was carried out using micropipette dispensers Eppendorf Pipette 4700 (Germany).

Radiometric measurements of the dry residue of radionuclide samples were carried out using an α - β -automatic device NRR-610 "Tesla" (Czech Republic). The relative errors in radioactivity measurements did not exceed 2%.

The activities of ^{90}Sr , ^{90}Y and ^{137}Cs in the solid phase were calculated from the change in the activity of the radionuclide in the aqueous phase before and after contacting the aqueous solution with the solid extractant.

The UO_2^{2+} content in the solid phase was calculated from the change in uranium concentration in the aqueous phase before and after contacting the aqueous solution with the solid extractant. The initial and equilibrium concentrations of uranium were determined by the luminescent method using a Hitachi spectrofluorimeter (Japan).

The extraction capacity of the investigated SPEs for radionuclides ^{90}Sr , ^{90}Y , ^{137}Cs and UO_2^{2+} was characterized by extraction coefficients (R), which were calculated according to the formula

$$R = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \cdot 100, \% \quad (1)$$

where A_0 and A_i are the initial and equilibrium activities of ^{90}Sr , ^{90}Y and ^{137}Cs in the aqueous phase, imp/sec (or UO_2^{2+} concentration, mol/dm³).

At intervals, aliquots of the solution over the sorbent were taken and the radioactivity of the dry residue was determined. The constant radioactivity value of two consecutive samples indicated that sorption equilibrium was reached. The time corresponding to the establishment of thermodynamic equilibrium in the system was determined graphically from the dependence of the extraction coefficients (R) on the contact time of the solution with SPE.

Results and discussions

Based on the data on the dependence of the extraction factors (R) on the time of contact with SPE for the radionuclides ^{90}Sr , ^{90}Y and ^{137}Cs , kinetic curves were constructed (Figures 3-5).

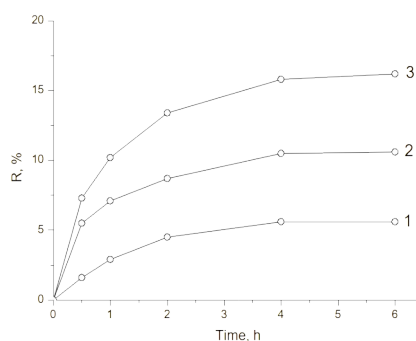


Fig. 3 Extraction kinetics ^{137}Cs : 1) SPE-TBP, 2) SPE-CIP67, 3) SPE-C45

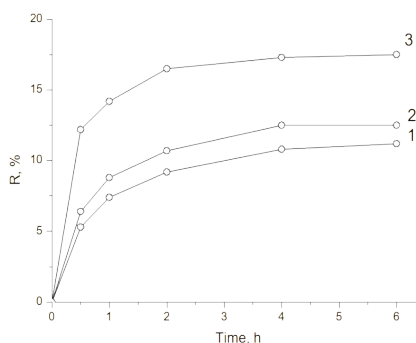


Fig. 4 Extraction kinetics ^{90}Sr : 1) SPE-TBP, 2) SPE-CIP67, 3) SPE-C45

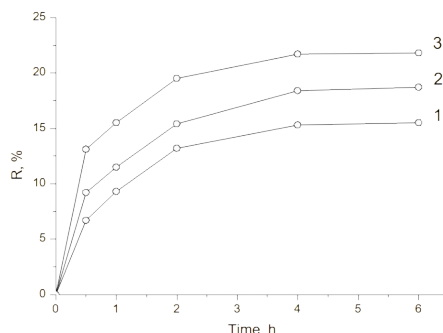


Fig. 5 Extraction kinetics ^{90}Y : 1) SPE-TBP, 2) SPE-CIP67, 3) SPE-C45

Analysis of kinetic curves showed that sorption equilibrium in the studied systems occurs after 3-4 hours. The process of radionuclide extraction occurs in 2 stages - fast and slow. The first stage is responsible for the process of saturation of the SPE surface with radionuclides, which occurs in a fairly short period of time. The second stage, corresponding to some "straightening" on the kinetic curve, indicates complete saturation of the sorbent surface with radionuclides and subsequent slow diffusion into the sorbent. This suggests that the rate of extraction by the solid extractant is controlled by a slower intradiffusion mechanism. For systems with uranium, the sorption kinetics at different pH values were investigated.

A significant contribution to the kinetics is made by the chemical interaction during the extraction process. The extraction kinetics for such systems is most accurately described by a pseudo-second-order model [22]. This indicates a significant influence of chemical interaction between extractants and radionuclides on the process rate.

Based on the data obtained, the empirical parameters of the pseudo-second-order kinetic model were calculated using equation:

$$R = \frac{k_2 R_e^2 t}{1 + k_2 R_e t} \quad (2)$$

where k_2 – rate constant, R_e – equilibrium extraction coefficient.

The initial extraction rate was calculated using the equation

$$h = k_2 R_e^2 \quad (3)$$

The results are shown in Tables 1 and 2.

Table 1. Parameters of equations 2 (k_2 , hours $^{-1}$) and 3 (h , hours $^{-1}$) dependence of extraction coefficients $R(\%)$ on time $t(\text{hours})$ for SPE systems with radionuclides.

Radionuclides	SPE-TBP			SPE-C45			SPE-CIP67		
	R_e	$k_2 \cdot 10^2$	h	R_e	$k_2 \cdot 10^2$	h	R_e	$k_2 \cdot 10^2$	h
^{137}Cs	7.7	4.8	2.9	18.1	6.9	22.6	11.2	14.1	17.6
^{90}Sr	12.2	10.9	16.3	17.8	23.6	74.7	13.4	11.9	21.1
^{90}Y	17.5	6.7	20.4	22.6	10.9	55.4	20.4	6.9	28.7

Table 2. Parameters of equations 2 (k_2 , hours $^{-1}$) and 3 (h , hours $^{-1}$) dependence of extraction coefficients $R(\%)$ on time $t(\text{hours})$ for SPE systems with UO_2^{2+} at different pH.

pH	SPE-C45			SPE-CIP67		
	R_e	$k_2 \cdot 10^2$	h	R_e	$k_2 \cdot 10^2$	h
2	82.5	1.2	79.6	75.1	1.1	59.4
4	79.0	1.4	87.1	74.6	0.9	48.8
6	71.7	1.7	89.2	67.6	1.1	50.7

In all studied systems extraction coefficients and initial extraction rate increase in the series SPE-TBP < SPE-CIP67 < SPE-C45. The extraction coefficient for systems with UO_2^{2+} decreases with increasing pH. At the same time, the initial extraction rate does not show such a trend.

The effect of addition of nitric acid on the equilibrium extraction coefficients is shown in Table 3. For all systems, an increase in extraction coefficients with increasing acid concentration is observed. Even small additions of acid significantly increase the extraction coefficient. Further increases in acid concentration have only a minor effect on the extraction.

Table 3. Effect of nitric acid concentration on extraction coefficients.

Ion	SPE-TBP				SPE-C45				SPE-CIP67			
	c(HNO ₃), mol/dm ³											
	0	0.1	0.5	1.0	0	0.1	0.5	1.0	0	0.1	0.5	1.0
¹³⁷ Cs	5.6	22.8	25.6	27.5	16.2	29.2	33.5	34.9	10.6	25.6	29.5	31.4
⁹⁰ Sr	11.2	34.9	37.5	38.8	17.5	44.9	49.9	52.8	12.5	37.1	42.7	44.9
⁹⁰ Y	15.5	38.2	43.7	48.2	21.8	48.5	57.7	62.9	18.7	43.4	48.9	53.4
UO ₂ ²⁺	43	51	68	73	62	84	90	96	58	75	88	91

For the analyzed systems, depending on the nature of extracted particles, the extraction coefficients change in the following series $\text{UO}_2^{2+} > ^{90}\text{Y} > ^{90}\text{Sr} > ^{137}\text{Cs}$. This behavior of the systems is due to the specificity of complexation of the extracted particles with TBP and calixarenes.

Conclusions

Experimental studies of solid-phase extraction of radionuclides ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y , and UO_2^{2+} from aqueous solutions using SPEs were carried out. Calix[4]arene phosphine oxides C45 and CIP67, which differ in the length of the alkyl radical at the phosphorus atom, were used as complexing reagents of SPEs. A significant influence of the acidity of the aqueous solution on the efficiency of the radionuclide extraction has been shown. Analysis of the extraction coefficients of radionuclides in two-phase systems SPEs-water allowed us to construct the series: $\text{UO}_2^{2+} > ^{90}\text{Y} > ^{90}\text{Sr} > ^{137}\text{Cs}$. A comparative analysis of the radionuclides extraction coefficients shows that the extraction ability of solid extractant SPE-calixarenes significantly exceeds the extraction ability of SPE-TBP one and varies in the series: SPE-C45 > SPE-CIP67 > SPE-TBP. The reasons for the identified patterns are of interest for further research. The obtained results open the prospect of using of the calixarene based SPEs for the extraction of radionuclides from aqueous solutions.

Acknowledgement

The authors acknowledge the Ministry of Education and Science of Ukraine for the Grant No.0121U112886.

References

1. Bleise, A., Danesi, P.R., Burkart, W. Properties, use and health effects of depleted uranium (DU): a general overview. *J. Environ. Radioact.* **2003**, 64(2-3), 93-112. [https://doi.org/10.1016/s0265-931x\(02\)00041-3](https://doi.org/10.1016/s0265-931x(02)00041-3).
2. Briner, W.E. The evolution of depleted uranium as an environmental risk factor: lessons from other metals. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* **2006**, 3(2), 129-35. <https://doi.org/10.3390/ijerph2006030016>.
3. Youyi, Ni, Yi, Liu, Wenting, Bu, Chuting, Yang, Sheng, Hu. Analytical greenness in radioanalytical methodologies for nuclides: Practices and recent progresses. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2023**, 168, 117329. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117329>.
4. Zannoni, D., Cantaluppi, C., Ceccotto, F., Giacetti, W., Lovisetto, B. Human and environmental factors affecting the activity of ^{131}I and ^{137}Cs in urban wastewater: A case study. *J. Environ. Radioact.* **2019**, 198, 135-146. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2018.12.026>.
5. Kashparov, V., Salbu, B., Levchuk, S., Protsak, V., Maloshtan, I., Simonucci, C., Courbet, C., Nguyen, H.L., Sanzharova, N., Zabrotsky, V. Environmental behaviour of radioactive particles from Chernobyl. *J. Environ. Radioact.* **2019**, 208-209, 106025. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.106025>.

6. Hossain, F. Natural and anthropogenic radionuclides in water and wastewater: Sources, treatments and recoveries. *J. Environ. Radioact.* **2020**, 225, 106423. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2020.106423>.
7. Kadadou, D., Said, E.A., Ajaj, R., Hasan, S.W. Research advances in nuclear wastewater treatment using conventional and hybrid technologies: Towards sustainable wastewater reuse and recovery. *Journal of Water Process Engineering* **2023**, 52, 103604. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.103604>.
8. Zhou, Z., Ren, H., Zhou, L., Wang, P., Lou, X., Zou, H., Cao, Y.: Recent Development on Determination of Low-Level ^{90}Sr in Environmental and Biological Samples: A Review. *Molecules* **2023**, 28, 90. <https://doi.org/10.3390/molecules28010090>.
9. Martini, P., Adamo, A., Syna, N., Boschi, A., Uccelli, L., Weeranoppanant, N., Markham, J., Pascali, G.: Perspectives on the Use of Liquid Extraction for Radioisotope Purification. *Molecules* **2019**, 24, 334. <https://doi.org/10.3390/molecules24020334>.
10. Pineda, M., Tsaoulidis, D., Filho, P.I.O., Tsukahara, T., Angeli, P., Fraga, E.S.: Design optimization of microfluidic-based solvent extraction systems for radionuclides detection. *Nuclear Engineering and Design* **2021**, 383, 111432. <https://doi.org/10.1016/j.nucengdes.2021.111432>.
11. Alam, M.F., Begum, Z.A. Furusho, Y., Hasegawa, H., Rahman, I.M.M.: Selective separation of radionuclides from environmental matrices using proprietary solid-phase extraction systems: A review. *Microchemical Journal* **2022**, 181, 107637. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107637>.
12. Colin, F. (ed.): Solid Phase Extraction. Elsevier, New York, (2019).
13. Jiang, H.-L., Li, N., Cui, L., Wang, X., Zhao, R.-S.: Recent application of magnetic solid phase extraction for food safety analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2019**, 120, 115632. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115632>.
14. Dugheri, S., Marrubini, G., Mucci, N., Cappelli, G., Bonari, A., Pompilio, I., Trevisani, L., & Arcangeli, G.: A review of micro-solid-phase extraction techniques and devices applied in sample pretreatment coupled with chromatographic analysis. *Acta Chromatographica* **2021**, 33(2), 99-111. <https://doi.org/10.1556/1326.2020.00790>.
15. Warshawsky, A., Patchornik, A. Impregnated Resins: Metal-Ion Complexing Agents Incorporated Physically In Polymeric Matrices. *Israel Journal of Chemistry* **1978**, 17(4), 307-315.. <https://doi.org/10.1002/ijch.197800056>
16. Krasnopyorova, A.P., Iliashenko, R.Y., Yukhno, G.D., Efimova, N.V., Gladkov, E.S. Chepeleva, L.V., Roshal, A.D.: Disulfo-NOPON—A new chelator for complexometric analysis and liquid-liquid extraction of stable isotopes and radionuclides of metal ions. *Journal of Molecular Structure* **2024**, 1302, 137459. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137459>.
17. Wang, J., Zhuang, S.: Cesium separation from radioactive waste by extraction and adsorption based on crown ethers and calixarenes. *Nuclear Engineering and Technology* **2020**, 52(2), 328-336. <https://doi.org/10.1016/j.net.2019.08.001>.
18. Rahman, I.M.M., Ye, Y., Alam, M.F., Sawai, H., Begum, Z.A., Furusho, Y., Ohta, A., Hasegawa, H.: Selective Separation of Radiocesium from Complex Aqueous Matrices Using Dual Solid-Phase Extraction Systems, *Journal of Chromatography A* **2021**, 1654, 462476. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462476>.
19. Klimchuk O., Atamas L., Miroshnichenko V., Kalchenko V., Smirnov I., Babain V., Varnek A., Wipff G. New wide rim phosphomethylated calix[4]arenes in extraction of americium and europium. *J. Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2004**, . 49(1-2), 47–56. <https://doi.org/10.1023/B:JIPH.0000031112.16272.17>.
20. Babain, V., Alyapyshev, M., Voronaev, I., Tkachenko, L., Kenf, E. Extraction of Actinides with Tributyl Phosphate in Carbonates of Fluorinated Alcohols. *Solvent Extraction and Ion Exchange* **2021**, 39(3), 255-270. <https://doi.org/10.1080/07366299.2020.1837421>.
21. George, K., Masters, A.J., Livens, F.R., Sarsfield, M.J., Taylor, R.J., Sharrad, C.A. A review of technetium and zirconium extraction into tributyl phosphate in the PUREX process. *Hydrometallurgy* **2022**, 211, 105892. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2022.105892>.
22. Korovin V., Pohorielov Yu., Shestak Yu, Valiaiev O., Cortina J.L.: Kinetics of scandium recovery by TVEX-TBP from the solution formed after the salt chlorinator cake leaching. *E3S Web of Conferences* **2020**, 168, 00050. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202016800050>.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 15.02.2025

Accepted 05.04.2025

А.П. Краснопорова*, Г.Д. Юхно*, Н.В. Єфімова*, П.В. Єфімов*, О.Г. Воробйов†, А.Б. Драпайло‡, В.І. Кальченко‡. Вилучення радіонуклідів ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y та UO_2^{2+} з водних розчинів за допомогою твердофазних екстрагентів імпрегнованих калікс[4]аренфосфіноксидами.

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, хімічний факультет, майдан Свободи, 4, Харків, 61002, Україна.

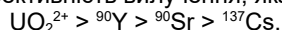
†Харківський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України, вул. Ковтуна, 34, Харків, 61191, Україна.

‡Інститут органічної хімії Національної академії наук України, вул. Академіка Кухаря, 5, Київ, 02094, Україна.

Вилучення радіонуклідів ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{90}Y та UO_2^{2+} досліджували з використанням твердофазних екстрагентів SPE-ТБФ, SPE-C45 та SPE-CIP67 залежно від кислотності водного розчину. SPE-C45 та SPE-CIP67 є пористими гранулами стирол-дивінілбензолного сополімеру, імпрегнованими калікс[4]арентетрафосфіноксидами C45 (5,11,17, 23-тетракіс-діетилфосфіноілметил-25,26,27,28-тетрапропосикалікс[4]арен) і CIP67 (5,11,17,23-тетракіс-дипропілфосфіноілметил-25,26,27,28-тетрапропосикалікс[4]арен). Як сорбент для порівняння використовували комерційний твердофазний екстрагент SPE-ТБФ на основі трибутилфосфату. Проаналізовано вплив часу контакту радіонуклідів з екстрагентом на встановлення екстракційної рівноваги. Показано, що рівноваги в системах з використанням твердофазних екстрагентів встановлюються за 3-4 години.

Виявлено значний вплив кислотності водного розчину на ефективність вилучення радіонуклідів: збільшення кислотності призводить до зростання коефіцієнтів розподілу.

Показано вплив природи катіонів на ефективність вилучення, яка зростає в наступному ряду:



Виявлено, що вилучення радіонуклідів залежить від довжини алкільного радикала при атомі фосфору макроциклічного кістяка калікс[4]аренфосфіноксиду. Катіони ефективніше вилучаються калікс[4]ареном з меншою довжиною алкільного радикалу. Здатність твердофазних екстрагентів імпрегнованих каліксарен фосфіноксидами до вилучення досліджуваних радіонуклідів перевищує екстракційну здатність SPE-ТБФ і змінюється в наступному порядку: SPE-ТБФ < SPE-CIP67 < SPE-C45.

Проведені дослідження показали перспективність використання каліксареновмісних твердофазних екстрагентів в радіаційному контролі природних вод, оскільки вони є селективними, зручними у використанні і не потребують використання органічних розчинників.

Ключові слова: радіонукліди, твердофазна екстракція, каліксарени, фосфіноксиди, радіоактивні відходи.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 15.02.2025

Прийнято до друку 05.04.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

COLLOIDAL BEHAVIOR OF OXIDIZED AND LYSOZYME-COATED SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES. ANALYSIS VIA DYNAMIC AND ELECTROPHORETIC LIGHT SCATTERING

A. Laguta

V.N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry, 4 Svobody sqr., 61022 Kharkiv, Ukraine

✉ laguta@karazin.ua

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-0736-2923>

The concept of surface oxidation or noncovalent coating of carbon nanotubes for successful application in aqueous fluids has a cost in terms of pollution, fate, and toxicity. Co-existing components in vitro or in vivo can influence the nanotube colloidal behavior and affect their transport. In this work, the interaction of oxidized single-walled carbon nanotubes with CsI and $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ and the effect of lysozyme on the colloidal behavior of these nanotubes in aqueous systems are examined using dynamic and electrophoretic light scattering.

The concentration regimes of CsI and $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ that determine the colloidal stability and instability of oxidized single-walled carbon nanotubes were identified. Oxidizing of the nanotube surface enhances colloidal stability to CsI and adsorption of Sr^{2+} cations by decorating the surface with COOH groups. Selective binding of metal cations and large specific surface area favor the removal of heavy and radioactive metals in cationic form from the bulk phase.

Biological and medical applications contribute to the fact that the interactions of carbon nanotubes with lysozyme are the object of several works. Covalent and noncovalent decoration by the enzyme creates a combination of electrical, mechanical, thermal, and optical properties of carbon nanotubes with inherent antibacterial activity of lysozyme. For example, Horn et al. reported antimicrobial fibers with four times the toughness of spider silk. However, to the best of our knowledge, little is known about colloidal stability and interaction with ions of protein-coated carbon nanotubes.

Keywords: nanotube, lysozyme, coagulation, water pollution, hydrodynamic size, zeta potential, dynamic light scattering

Introduction

The annual global production of carbon nanotubes for the scientific and industrial industry is estimated to be several thousand tons. The production of carbon nanotubes inevitably leads to their release into predominantly aquatic systems. The toxicity of nanotubes has been discussed in Refs. . Environmental processes can alter the nanotube state, affecting their transport, fate, and toxicity. In Ref. a hypothetical loading of nanotubes into environment systems was simulated to demonstrate the differences between exposure concentrations during the loading and recovery period.

Carbon nanotubes are characterized by a large specific surface area of 100–400 m²/g. Nanocarbons in aqueous systems are hydrophobic colloidal dispersions. The creation of a stable colloidal system facilitates their high adsorption surface area. Fundamental concepts related to colloidal stability are modification by oxidation and surfactants-coating. Carbon nanotubes biography and degree of their surface oxidation compared in Ref. provides a rationale for controlling colloidal stability in water and consequently the environmental fate and nanotube toxicity problems. The presence of charged surface provides the basis for efficient ion exchange. Carbon nanotubes decorated with COOH groups exhibit higher adsorption efficiency for Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , and Hg^{2+} than bare ones. Selective binding of heavy metal ions, drugs, dyes, etc. leads to adsorption and hence their removal from the bulk phase. While strong binding of the pollutants is vital, an efficient nanotube coagulation methodology should also be included in the concept, otherwise, the nanoparticles remain in the water as nanovehicles. Finding an efficient protocol for sorbent separation after treatment is as important as the actual sorption process. Coagulation has the potential to remove nanocarbon derivatives with a captured species. The coagulation of carbon nanotubes by organic and inorganic electrolytes in water has been reported in Refs. .

Oxidation of carbon nanotube leads to the formation of negative surface charge in aqueous systems, which limits the sorption efficiency of anionic pollutants. In this work, the cationic enzyme lysozyme,

LSZ, was involved in surface modification. LSZ is present in all organs that are exposed to air, thus the question arises about the fate of the nanotube interface in vivo.

Noncovalent interactions between LSZ and carbon nanotubes do not disrupt the intrinsic structure of sp^2 -bond and allow the production of state-of-the-art materials that combine the antibacterial propriety with mechanical, electrical, or optical properties of nanotubes. Therefore, these interactions have been the object of several works. They were investigated using scanning electron microscopy, Raman spectroscopy, circular dichroism, and fluorescence anisotropy. The tryptophan residue of lysozyme interacts favorably with sp^2 -hybridized carbon nanomaterials. The surface carboxyl groups of oxidized nanotubes and amine groups of amino acid residues can form an amide bond. Adsorption of lysozyme on carboxylated, hydroxylated, and graphitized carbon nanotubes were compared in Ref. , adsorption capacity was estimated as 81800–90700 mg/g and multilayer adsorption was discussed. Antimicrobial activity of LSZ adsorbed noncovalently and attached covalently to single-walled carbon nanotubes was studied in Refs. .

The interaction of bulk ions with enzyme-coated carbon nanotubes is poorly represented in the literature. L-cysteine-coating resulted in the 89% adsorption efficiency for Cd^{2+} ions. Recently, the interactions of heavy metal salts, single-walled carbon nanotubes, and β -lactoglobulin were investigated by docking technique.

This work begins by looking at the interaction of nanotubes with Cs^+ and Sr^{2+} cations, followed by coating with lysozyme. The colloidal stability and coagulation of single-walled nanotubes coated with noncovalently bound lysozyme is studied. The sample of oxidized single-walled carbon nanotubes (D15L1–5–COOH, NanoLab, Inc., USA) with a length of 1–5 μm , a diameter of 1.5 nm, content of COOH groups of 2–7 wt.%, and a specific surface area of 220 m^2/g was used in the experiment.

Experimental

Materials

Sodium chloride, cesium iodide, strontium nitrate, sodium sulfate, calcium chloride, lysozyme from chicken egg (70000 units/mg solid, Sigma-Aldrich), and oxidized single-walled carbon nanotubes (D15L1–5–COOH, NanoLab, Inc., USA) were used as received. Energy dispersive X-ray spectroscopy, X-ray photoelectron spectroscopy, and thermogravimetric analysis were applied to characterize this sample of single-walled oxidized carbon nanotubes in Ref. .

To create the nanotube suspensions, 5 mg sample was suspended in 10 mL of distilled water with fourfold treating ultrasound for 8 min (an Ultrasonic Cleaner CD – 4800; frequency of 50/60 Hz, power of 70 W). Then the suspension was filtered through a paper filter (medium filtration rate, grade ST60, France).

The working nanotube concentration (~ 1 mg/L) was found spectrophotometrically (a Hitachi U–2000 spectrophotometer) according to the Bouguer–Lambert–Beer law and the extinction coefficients of 30.3 $mL \times mg^{-1} \times cm^{-1}$ and 32.3 $mL \times mg^{-1} \times cm^{-1}$ at 1033 nm and 688 nm, respectively. According to that initial dispersion contains ~ 160 mg/L nanotubes.

The particle hydrodynamic size, zeta-potential, and critical coagulation concentration determination procedure

The average hydrodynamic size, Z_{aver} , and polydispersity index, PdI, were generated by cumulants analysis of dynamic light scattering data obtained on a Zetasizer Nano ZS Malvern Instrument. The electrophoretic mobility was estimated by electrophoretic light scattering. Considering that electrophoretic mobility is a reflection of the effects of particle charge and diffuse double layer thickness; the electrokinetic potential in salt systems was calculated using the Henry equation (1) and the Ohshima approximation (2).

$$\zeta = u_e \times \frac{3 \times \eta}{2 \times \epsilon_r \times \epsilon_0} \times \frac{1}{f}, \quad (1)$$

$$f = 1 + 0.5 \times \left[1 + \frac{2.5}{\kappa \times r \times (1 + 2 \times e^{-\kappa \cdot r})} \right]^{-3}, \quad (2)$$

$$\kappa = \sqrt{\frac{2 \times F^2 \times I}{\varepsilon_0 \times \varepsilon_r \times R \times T}}, \quad (3)$$

where u_e is the electrophoretic mobility; η is the viscosity; $\varepsilon_0 = 8.854 \times 10^{-12} \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$; ε_r is the relative permittivity of the solvent; κ is the reciprocal Debye length; r is the radius of the colloidal particle; F is the Faraday constant; I is the ionic strength; R is the gas constant; $T = 298.15 \text{ K}$.

To determine the critical coagulation concentration, CCC, the Fuchs function (4) was used.

$$W = \frac{k_r}{k_{sl}} = \frac{[(dr/dt)_{t \rightarrow 0}]_r}{(dr/dt)_{t \rightarrow 0}}, \quad (4)$$

where k_r and k_{sl} are the rate constants for rapid and slow coagulation, respectively.

The coagulation rate was determined as the slope of the time dependence of Z_{aver} for colloidal dispersions with different contents of electrolyte.

Results and discussion

The sample of oxidized single-walled carbon nanotubes (D15L1-5-COOH, NanoLab, Inc., USA) can be attributed to being the most carbonized among those studied in the literature. The ζ -potential of the colloidal particles with a diameter of an equivalent sphere of about 190 nm is -48 mV at aqueous bulk pH of 5.7. [9] According to previous study, this sample is characterized by high CCC(NaCl) value and high CCC(Na^+)/CCC(Ca^{2+}) ratio. Complex of Ca^{2+} with surface carboxyl commonly put forward as the reason for the excessive coagulating power.

The results obtained here for Cs^+ and Sr^{2+} extend the empirical set to highlight higher colloidal stability of oxidized nanotubes than bare ones and the enhanced coagulation power of the two charged cations. On the practical side, the results facilitate the search for effective scavengers for ^{137}Cs and ^{90}Sr as representatives of hazardous radionuclides.

It should be mentioned that the excess energy at the nanotubes surface compared to the bulk controls coagulation and adsorption. The carboxyl groups of oxidized nanotubes contribute to the formation of an electric double layer, EDL, which partially compensates for this excess energy. The high content of surface carboxyl groups also leads to surface hydration, which affects the colloidal behavior within the framework of the structural component in terms of Churaev and Derjaguin.

In terms of DLVO theory, the electric potential and EDL thickness as well as the Hamaker constants of nanotube–nanotube ($4\text{--}60 \times 10^{-20} \text{ J}$) and water–water ($3.7\text{--}5.5 \times 10^{-20} \text{ J}$) interactions mainly determine the height of the energy barrier, at the maximum of which repulsion exceeds attraction. At 40 mmol/L CsI and 1 mmol/L $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, the zeta potential of nanospecies changes to -24 mV and -19 mV , respectively. In line with Powis, these EDL changes are followed by salt systems with colloidal instability regime i.e. the aggregation rate of colloidal particles is not negligible (Fig. 1). Eq. (4) implies that at indicated salt systems the double layer is thicker (by a factor of 3.7) and the ionic atmosphere is more diffuse in the case of $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, thus the particle zeta potential changes further by adsorption before coagulation occurs. The electrostatic energy can then no longer stabilize the nanotube dispersion.

The concentration of CsI and $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, which correspond to the beginning of the rapid coagulation regime, are given in Table 1. At these concentrations, the ζ values become $-(12\text{--}10) \text{ mV}$ (Fig. 1). The influence of the electrolyte is mainly due to the compression of EDL thickness, which makes possible the contact of particles at a distance at which the attraction forces prevail. As empirical data show, EDL compression by NaCl in Ref. and CsI occurs mainly due to a decrease in the diffusion of counterions into the bulk phase caused by an increase in the ionic strength of the system. It has been demonstrated in paper that the acid dissociation constant of surface carboxyl groups is affected by the ionic strength. Nevertheless, $\text{CCC}(\text{NaCl}) > \text{CCC}(\text{CsI})$, the stronger coagulation power of Cs^+ is in line with their ionic radius and hydration radius. Sr^{2+} and Ca^{2+} have similar ionic radii. However the properties of ions in the aqueous system affect characteristics such as surface tension, their adsorption, the ionization degree of acid and salt, and their interaction with carboxylic group, thus the CCCs for CaCl_2 and $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ are different. The dications also affect both the thickness of the diffuse double layer and the surface electric potential. Here, the surface electric charge is subject to change by the adsorption of ions. For example, in the context of tools serving as complexing agents for radioactive

strontium, a montmorillonite modified by oxalate has increased (about 136% over pristine clay at pH slightly above 8) selectivity for Sr^{2+} .

Table 1. Critical rapid coagulation concentrations for 1 mg/L oxidized single-walled carbon nanotubes, SWCNT, aqueous suspension, 25 °C, pH = 5.7

Electrolyte	CCC, mmol/L	
	Initial SWCNT system	SWCNT system with LSZ
NaCl	150	85 ± 5
CsI	120 ± 10	—
CaCl_2	1.8	45 ± 5
$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$	5.5 ± 0.5	—
Na_2SO_4	—	0.70 ± 0.09

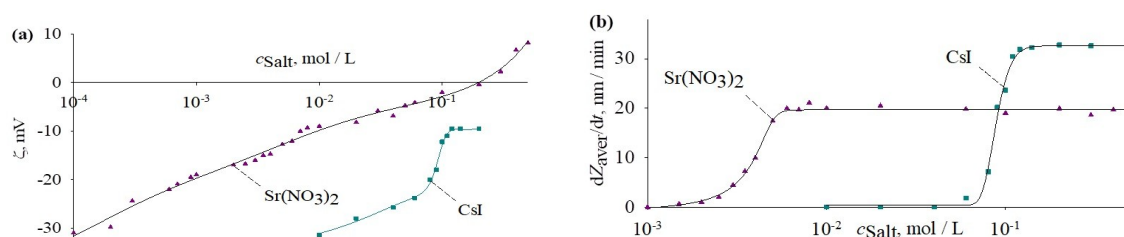


Fig. 1. Dependences of the zeta potential (a) and the rates of size increasing (b) vs concentrations of CsI (square) and $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (triangle) in aqueous dispersion of SWCNT.

Co-existing components in vitro or in vivo can modify the nanotube surface state, affecting their transport, fate, and toxicity. In this paper, the colloidal behavior of the nanotubes in lysozyme, LSZ, system is examined.

Lysozyme (isoelectric point of ~ 11) in distilled water with pH of 5.7 carries a formal positive charge (Table A1). At 2–5 mg/mL LSZ, the hydrodynamic size of nanospecies (Fig. A1) determined by dynamic light scattering, DLS, is smaller than that reported in Ref. according to both DLS and small angle X-ray scattering (radius of gyration of 1.49 nm). Based on Ref., LSZ at <0.3 M NaCl is almost the same as the initial state, but at >0.3 M NaCl colloidal instability was observed and at 0.5 M NaCl aggregate size reaches about 0.7 μm . Starting with 2 ml initial suspension, 50 mg LSZ was added and the system was treated with ultrasound at a frequency of 50/60 Hz for 8 min. The created system was kept at 4 °C. For measurements, a 160-fold dilution was. The diffusion coefficient of nanoparticles increases slightly (Fig. 2), corresponding to Z_{aver} of 225 ± 15 nm ($\text{PdI} = 0.29 \pm 0.01$). Electrophoretic light scattering (Fig. 3) indicated a change in direction of species migration in electrophoresis, corresponding to ζ of $+27 \pm 3$ mV (+ is inserted for distinction). This indicates an effective modification of the nanotubes by coating the surface with the enzyme. The electrophoretic mobility is higher than reported in Ref. and in line with data from Refs.. The modified colloid was stable during several weeks of observation. The electrolyte effects on colloidal behavior was investigated.

The $\text{CCC}(\text{NaCl})/\text{CCC}(\text{CaCl}_2)$ ratio is ~ 2 and ~ 83 for the system with and without LSZ (Table 1). The result corresponds to overcharging of the nanotube surface through enzyme coating and Cl^- ions cause coagulation of modified positive species. Examination of the dianion influence led to the $\text{CCC}(\text{NaCl})/\text{CCC}(\text{Na}_2\text{SO}_4)$ value of ~ 120 , which exceeds the predicted effect of coagulant charge by the classical DLVO theory.

The $\text{CCC}(\text{NaCl})$ value for the colloid with lysozyme compared to the original system indicates a decrease in colloidal stability. According to the general idea, protein coating of the nanomaterial suggests steric hindrance. This concept prevents contact between nanoparticle surfaces at a distance at which the attraction forces prevail. However, the initial nanotube surface is oxidized, for this state, the $\text{CCC}(\text{NaCl})$ value is regarded as high. Considering the structure of LSZ with 129 residues the conclusion was that in the native state, 83% of the surface is hydrophobic. The carboxyl groups of nanotubes can interact with the functional group of LSZ, thus exposing the hydrophobic part to the interface. This can reduce the colloidal stability of oxidized nanotubes and the $\text{CCC}(\text{NaCl})$ value. This also clarifies the reduced ability to suspend nanotubes in aqueous LSZ.

The negative electrophoretic mobility for the nanotube dispersion with LSZ after 0.4 mol/L NaCl corresponds to the salt concentration at which the aforementioned enzyme aggregation was observed in the native LSZ system.

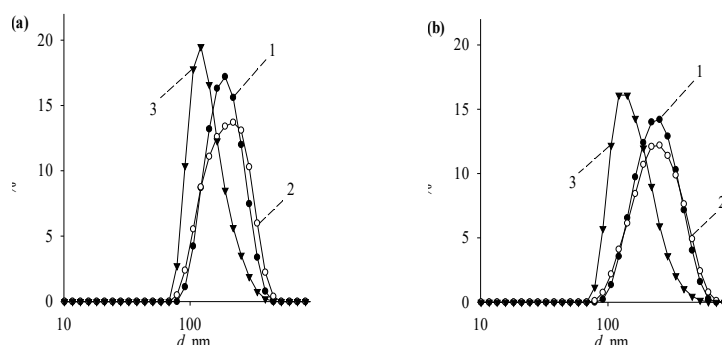


Fig. 2. Size distribution by intensity (1), volume (2), and particle number (3) of aqueous dispersions of SWCNT without (a) and with (b) lysozyme.

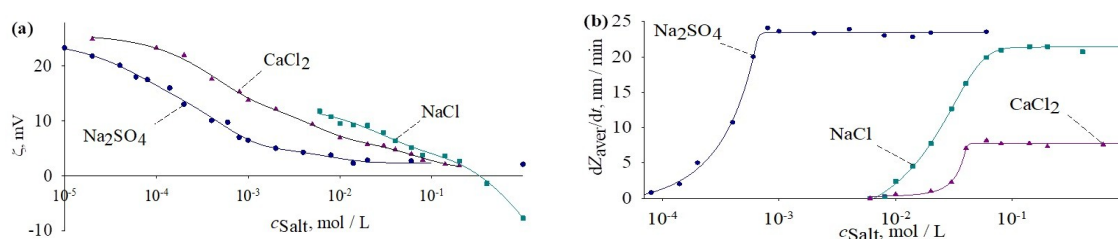


Fig. 3. Dependences of the zeta potential (a) and the rates of size increasing (b) vs concentrations of NaCl (square), CaCl_2 (triangle), and Na_2SO_4 (circle) in aqueous dispersion of SWCNT with lysozyme.

Conclusions

Hydrophobic carbon nanotubes are purposely oxidized for successful application in aqueous systems. In the colloidal state, they are subjected to further modifications by interacting with the system components. In vivo, nanotubes are exposed to a range of proteins, and it is the nanotubes complexes with polypeptide, rather than the bare nanotubes, that determine the behavior of the colloid. Various surface modifications find their application in one way or another, for example, covalent and non-covalent modification with lysozyme leads to unique structures with antimicrobial properties; compression of EDL thickness by inorganic electrolytes that reduce colloidal stability is used for sedimentation of heavy and radioactive metal ions; etc. The rational application of modified nanotubes in aqueous systems requires accounting for and controlling the morphology of the interface and the effects they generate. This work deals with the colloidal behavior of COOH-decorated nanotubes in the systems of Cs^+ , Sr^{2+} , and lysozyme. Oxidized single-walled carbon nanotubes with COOH groups of content 2–7 wt.% and specific surface area of 220 m^2/g according to the information from the vendor were used.

Oxidation of the nanotube surface implies the emergence of stabilizing factors. The short-range attraction carbon nanotubes with Hamaker constant of $4\text{--}60 \times 10^{-20}$ J (published literature values) is balanced by long-range electrostatic repulsion (weakly screened COO^- groups) in distilled water. The colloidal stability regime was observed up to 40 mmol/L CsI and 1 mmol/L $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ at which the nanospecies zeta potential becomes -24 and -19 mV, respectively, i.e. the electrostatic energy can no longer stabilize the nanotube dispersion. The rapid coagulation regime starts at 120 mmol/L CsI and 5.5 mmol/L $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ and the ζ values of $-(12\text{--}10)$ mV. The results obtained here for Cs^+ and Sr^{2+} extend the recent empirical set for Na^+ , Ca^{2+} , and Ba^{2+} to highlight higher colloidal stability of oxidized nanotubes than bare ones. Along with the compression of the thickness of the diffuse double layer, the addition of the electrolytes affects the electric charge. Alteration in the magnitude of the electric charge by $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ is controlled by cation adsorption. As a result, the $\text{CCC}(\text{Cs}^+)/\text{CCC}(\text{Sr}^{2+})$ ratio is

high. Overcharging of the nanotubes by the dications does not lead to stabilization of the colloid. From a practical point of view, these results should be taken into account in the strategy of water purification from both toxic cations and nanotubes.

Lysozyme is also noncovalently adsorbed on the nanotube surface in vitro. The surface modification was empirically observed by overcharging the surface of the dispersion particles, which was colloidally stable during several weeks of observation. As such, changing the direction of nanotube migration in a system with lysozyme, for example, is critical in electrophoresis applications; the positive formal charge of the modified surface (ζ of $+27 \pm 3$ mV) is useful for loading anionic forms of transition metals, drugs, etc. Steric hindrance of the coated surface generally suggests protection against short-range attraction carbon nanospecies. However, the CCCs were lower than in the lysozyme-free system. This result is expected if accepting the fact that 83% of native lysozyme is hydrophobic and interaction with carboxyl groups of nanotubes directs the hydrophobic part to the interface.

Acknowledgement

This work was financial supported by the Ministry of Education and Science of Ukraine in the frame of Project 0125U000840.

References

1. Kim M., Goerzen, D., Jena, P. V., Zeng, E., Pasquali, M., Meidl, R. A., Heller, D. A. Human and environmental safety of carbon nanotubes across their life cycle. *Nat. Rev. Mater.* **2024**, 9(1), 63-81. <https://doi.org/10.1038/s41578-024-00670-5>
2. Drew R., Frangos, J., Hagen, T. Engineered nanomaterials: a review of the toxicology and health hazards. In *Safe Work Australia*, 2009.
3. Yuan X., Zhang, X., Sun, L., Wei, Y., Wei, X. Cellular toxicity and immunological effects of carbon-based nanomaterials. *Part. Fibre Toxicol.* **2019**, 16, 1-27. <https://doi.org/10.1186/s12989-019-0299-z>
4. Zhang C., Wu, L., de Perrot, M., Zhao, X. Carbon nanotubes: a summary of beneficial and dangerous aspects of an increasingly popular group of nanomaterials. *Front. Oncol.* **2021**, 11, 693814. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.693814>
5. Zhao J., Wang, Z., White, J. C., Xing, B. Graphene in the aquatic environment: adsorption, dispersion, toxicity and transformation. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, 48(17), 9995-10009. <https://doi.org/10.1021/es5022679>
6. Avant B., Bouchard, D., Chang, X., Hsieh, H.-S., Acrey, B., Han, Y., Spear, J., Zepp, R., Knightes, C. D. Environmental fate of multiwalled carbon nanotubes and graphene oxide across different aquatic ecosystems. *NanoImpact.* **2019**, 13, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2018.11.001>
7. Birch M. E., Ruda-Eberenz, T. A., Chai, M., Andrews, R., Hatfield, R. L. Properties that influence the specific surface areas of carbon nanotubes and nanofibers. *J. Occup. Hyg.* **2013**, 57(9), 1148-1166. <https://doi.org/10.1093/annhyg/met042>
8. Pashley R. M., Karaman, M. E. *Applied colloid and surface chemistry*. John Wiley & Sons: New York, 2021.
9. Laguta A., Mchedlov-Petrosyan, N., Kovalenko, S., Voloshina, T., Haidar, V., Filatov, D. Y., Trostyanko, P., Karbivski, V., Bogatyrenko, S., Xu, L. Stability of aqueous suspensions of COOH-decorated carbon nanotubes to organic solvents, esterification, and decarboxylation. *J. Phys. Chem. Lett.* **2022**, 13(43), 10126-10131. <https://doi.org/10.3390/liquids2030013>
10. Anitha K., Namsani, S., Singh, J. K. Removal of heavy metal ions using a functionalized single-walled carbon nanotube: a molecular dynamics study. *J. Phys. Chem. A* **2015**, 119(30), 8349-8358. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.5b03352>
11. Kryshstal A., Mchedlov-Petrosyan, N., Laguta, A., Kriklya, N., Kruk, A., Osawa, E. Primary detonation nanodiamond particles: Their core-shell structure and the behavior in organo-hydrosols. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* **2021**, 614, 126079. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.126079>

12. Laguta A. N., Mchedlov-Petrosyan, N. O., Bogatyrenko, S. I., Kovalenko, S. M., Bunyatyan, N. D., Trostianko, P. V., Karbivskii, V. L., Filatov, D. Y. Interaction of aqueous suspensions of single-walled oxidized carbon nanotubes with inorganic and organic electrolytes. *J. Mol. Liq.* **2022**, 347, 117948. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117948>
13. Mchedlov-Petrosyan N. O., Kriklya, N. N., Laguta, A. N., Ōsawa, E. Stability of detonation nanodiamond colloid with respect to inorganic electrolytes and anionic surfactants and solvation of the particles surface in DMSO–H₂O organo-hydrosols. *Liquids*. **2022**, 2(3), 196-209. <https://doi.org/10.3390/liquids2030013>
14. Johnson L. N. The structure and function of lysozyme. *Sci. Prog.* **1966**, 367-385.
15. Horn D. W., Tracy, K., Easley, C. J., Davis, V. A. Lysozyme dispersed single-walled carbon nanotubes: interaction and activity. *J. Phys. Chem. C* **2012**, 116(18), 10341-10348. <https://doi.org/10.1021/jp300242a>
16. Horn D. W., Ao, G., Maugey, M., Zakri, C., Poulin, P., Davis, V. A. Dispersion state and fiber toughness: antibacterial lysozyme-single walled carbon nanotubes. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, 23(48), 6082-6090. <https://doi.org/10.1002/adfm.201300221>
17. Borzooeian Z., Safavi, A., Hossain Sheikh, M., Aminlari, M., Mahdi Doroodmand, M. Preparation and investigation on properties of lysozyme chemically bonded to single-walled carbon nanotubes. *J. Exp. Nanosci.* **2010**, 5(6), 536-547. <https://doi.org/10.1080/17458081003699122>
18. Noor M. M., Goswami, J., Davis, V. A. Comparison of attachment and antibacterial activity of covalent and noncovalent lysozyme-functionalized single-walled carbon nanotubes. *ACS Omega* **2020**, 5(5), 2254-2259. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03387>
19. Piao L., Liu, Q., Li, Y. Interaction of amino acids and single-wall carbon nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2012**, 116(2), 1724-1731. <https://doi.org/10.1021/jp2085318>
20. Du P., Zhao, J., Mashayekhi, H., Xing, B. Adsorption of bovine serum albumin and lysozyme on functionalized carbon nanotubes. *J. Phys. Chem. C* **2014**, 118(38), 22249-22257. <https://doi.org/10.1021/jp5044943>
21. Taghavi M., Zazouli, M. A., Yousefi, Z., Akbari-adargani, B. Kinetic and isotherm modeling of Cd (II) adsorption by l-cysteine functionalized multi-walled carbon nanotubes as adsorbent. *Environ. Monit. Assess.* **2015**, 187(11), 682. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4911-x>
22. Zhytniakivska O., Tarabara, U., Vus, K., Trusova, V., Gorbenko, G. Molecular docking study of protein-functionalized carbon nanomaterials for heavy metal detection and removal. *East Eur. J. Phys.* **2024**, (3), 484-490. <https://doi.org/10.26565/2312-4334-2024-3-59>
23. Jeong S. H., Kim, K. K., Jeong, S. J., An, K. H., Lee, S. H., Lee, Y. H. Optical absorption spectroscopy for determining carbon nanotube concentration in solution. *Synth. Met.* **2007**, 157(13), 570-574. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2007.06.012>
24. Hazel F. Effects of electrolytes in hydrophobic systems. I. Electric mobility and stability. *J. Phys. Chem.* **1941**, 45(5), 731-738. <https://doi.org/10.1021/j150410a002>
25. Delgado Á. V., González-Caballero, F., Hunter, R., Koopal, L., Lyklema, J. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, 309(2), 194-224. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.12.075>
26. Fuchs N. Über die stabilität und aufladung der aerosole. *Z. Phys.* **1934**, 89(11), 736-743. <https://doi.org/10.1007/BF01341386>
27. Deline A. R., Frank, B. P., Smith, C. L., Sigmon, L. R., Wallace, A. N., Gallagher, M. J., Goodwin Jr, D. G., Durkin, D. P., Fairbrother, D. H. Influence of oxygen-containing functional groups on the environmental properties, transformations, and toxicity of carbon nanotubes. *Chem. Rev.* **2020**, 120(20), 11651-11697. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00351>
28. Myers D. *Surfaces, interfaces, and colloids*. Wiley: New York, 1999; Vol. 415.
29. Churaev N. V., Derjaguin, B. V. Inclusion of structural forces in the theory of stability of colloids and films. *J. Colloid Interface Sci.* **1985**, 103(2), 542-553. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(85\)90129-8](https://doi.org/10.1016/0021-9797(85)90129-8)
30. Maeno Y., Ishikawa, A., Nakayama, Y. Adhesive behavior of single carbon nanotubes. *Appl. Phys. Express*. **2010**, 3(6), 065102. <https://doi.org/10.1143/APEX.3.065102>
31. Akita S., Nishijima, H., Nakayama, Y. Influence of stiffness of carbon-nanotube probes in atomic forcemicroscopy. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2000**, 33(21), 2673. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/33/21/301>

32. Israelachvili J. N. Intermolecular and surface forces. Academic press: **2011**.
33. Powis F. LXII.-The coagulation of colloidal arsenious sulphide by electrolytes, and its relation to the potential difference at the surface of the particles. *J. Chem. Soc., Trans.* **1916**, 109, 734-744. <https://doi.org/10.1039/CT9160900734>
34. Liu X.-C., Skibsted, L. H. Strontium increasing calcium accessibility from calcium citrate. *Food Chem.* **2022**, 367, 130674. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130674>
35. Papachristodoulou C. A., Assimakopoulos, P. A., Gangas, N. H. J. Strontium adsorption properties of an aluminum-pillared montmorillonite carrying carboxylate functional groups. *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, 245(1), 32-39. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7988>
36. Ibáñez R., Almécija, M. C., Guadix, A., Guadix, E. M. Dynamics of the ceramic ultrafiltration of model proteins with different isoelectric point: comparison of β -lactoglobulin and lysozyme. *Sep. Purif. Technol.* **2007**, 57(2), 314-320. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.05.001>
37. Tomita S., Yoshikawa, H., Shiraki, K. Arginine controls heat-induced cluster-cluster aggregation of lysozyme at around the isoelectric point. *Biopolymers* **2011**, 95(10), 695-701. <https://doi.org/10.1002/bip.21637>
38. Nikfarjam S., Ghorbani, M., Adhikari, S., Karlsson, A., Jouravleva, E., Woehl, T., Anisimov, M. Irreversible nature of mesoscopic aggregates in lysozyme solutions. *Colloid J.* **2019**, 81, 546-554. <https://doi.org/10.1134/S1061933X19050090>
39. Poznański J., Szymański, J., Basińska, T., Słomkowski, S., Zielenkiewicz, W. Aggregation of aqueous lysozyme solutions followed by dynamic light scattering and ^1H NMR spectroscopy. *J. Mol. Liq.* **2005**, 121(1), 21-26. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2004.08.022>
40. Bomboi F., Tardani, F., Gazzoli, D., Bonincontro, A., La Mesa, C. Lysozyme binds onto functionalized carbon nanotubes. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* **2013**, 108, 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.02.034>
41. Siepi M., Donadio, G., Dardano, P., De Stefano, L., Monti, D. M., Notomista, E. Denatured lysozyme-coated carbon nanotubes: A versatile biohybrid material. *Sci. Rep.* **2019**, 9(1), 16643. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52701-9>
42. Bomboi F., Bonincontro, A., La Mesa, C., Tardani, F. Interactions between single-walled carbon nanotubes and lysozyme. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, 355(2), 342-347. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.12.026>
43. Smith S. C., Ahmed, F., Gutierrez, K. M., Rodrigues, D. F. A comparative study of lysozyme adsorption with graphene, graphene oxide, and single-walled carbon nanotubes: Potential environmental applications. *J. Chem. Eng.* **2014**, 240, 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.11.030>
44. Cao J., Pham, D., Tonge, L., Nicolau, D. Predicting surface properties of proteins on the Connolly molecular surface. *Smart Mater. Struct.* **2002**, 11(5), 772. <https://doi.org/10.1088/0964-1726/11/5/323>
45. Blake C., Koenig, D., Mair, G., North, A., Phillips, D., Sarma, V. Structure of hen egg-white lysozyme: a three-dimensional Fourier synthesis at 2 Å resolution. *Nature.* **1965**, 206(4986), 757-761. <https://doi.org/10.1038/206757a0>

Appendix. Dynamic and electrophoretic light scattering data for lysozyme aqueous solutions

Table A1. Diameter and electrophoretic mobility of species and polydispersity index of the solution at different lysozyme concentration

c, mg/ mL	Mean diameter, nm						PdI	u_e , $\mu\text{m}\times\text{cm}\times\text{V}^{-1}\times\text{s}^{-1}$
	by Intensity			by Volume		by Number		
	I	II	III	I	II			
0.0005	—	—	—	—	—	—	1	—
0.005	390±50	—	—	390±50	—	380±40	1	0.3±0.1
0.05	50±30	—	—	50±30	—	50±30	1	0.4±0.1
2	65±10	1.3±0.2	—	1.3±0.2	—	1.2±0.2	0.9±0.1	1.3±0.1
5	189±90	35±20	1.1±0.1	1.1±0.1	—	1.0±0.1	0.58±0.01	1.4±0.1

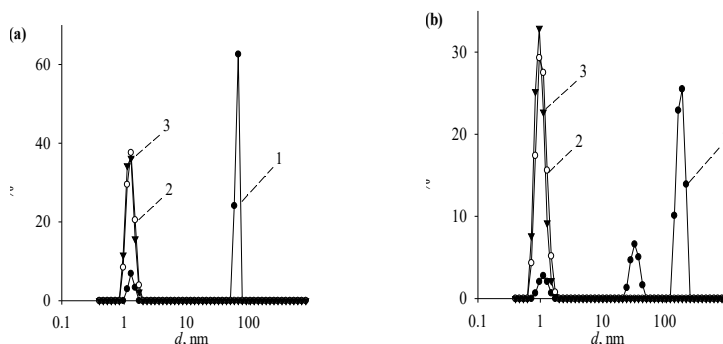


Fig. A1. Size distribution by intensity (1), volume (2), and species number (3) in 2 mg/mL (a) and 5 mg/mL (b) lysozyme aqueous solutions.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

Received 06.03.2025

Accepted 05.05.2025

А. Лагута. Колоїдна поведінка окислених і покритих лізоцимом одностінних вуглецевих нанотрубок. Аналіз за допомогою динамічного та електрофоретичного розсіювання світла

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, хімічний факультет, майдан Свободи, 4, Харків, 61002, Україна.

Концепція поверхневого окислення або нековалентного покриття вуглецевих нанотрубок для успішного застосування у водних рідинах має свою ціну з точки зору забруднення, долі і токсичності. Співіснуючі компоненти *in vitro* або *in vivo* можуть впливати на колоїдну поведінку нанотрубок і на їхню міграцію. У цій роботі за допомогою методу динамічного та електрофоретичного розсіювання світла досліджено взаємодію окислених одностінних вуглецевих нанотрубок із CsI та $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ і вплив лізоциму на колоїдну поведінку цих нанотрубок у водних системах.

Визначено концентраційні режими CsI та $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, які визначають колоїдну стабільність і нестабільність окислених одностінних вуглецевих нанотрубок. Окиснення поверхні нанотрубок підвищує колоїдну стійкість до CsI та адсорбцію Sr^{2+} за рахунок декорування поверхні COOH -групами. Селективне зв'язування катіонів металів і велика питома поверхня сприяють видаленню важких і радіоактивних металів у катіонній формі з об'ємної фази.

Біологічні та медичні застосування сприяють тому, що взаємодії вуглецевих нанотрубок із лізоцимом є об'єктом низки робіт. Ковалентне і нековалентне декорування ферментом створює комбінацію електричних, механічних, теплових та оптичних властивостей вуглецевих нанотрубок із притаманною лізоциму антибактеріальною активністю. Наприклад, Хорн та ін. повідомили про антимікробні волокна, що в чотири рази перевищують міцність павутинного шовку. Однак, наскільки нам відомо, про колоїдну стабільність і взаємодію з іонами вуглецевих нанотрубок, покритих білком, відомо небагато.

Ключові слова: нанотрубка, лізоцим, коагуляція, забруднення води, гідродинамічний розмір, дзета-потенціал, динамічне розсіювання світла.

Конфлікт інтересів: автор повідомляє про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 06.03.2025

Прийнято до друку 05.05.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

ОЦІНКА ВІЛЬНОЇ ЕНЕРГІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ ДВОЗАРЯДНИХ КАТІОНІВ ІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ ГРУПАМИ АМІНОКИСЛОТ ЗА ДОПОМОГОЮ СУЧАСНИХ СИЛОВИХ ПОЛІВ

В. С. Фарафонов

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, хімічний факультет, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

✉ farafonov@karazin.ua

 <https://orcid.org/0000-0003-0785-9582>

Очистка води від іонів важких металів являє собою нагальну екологічну проблему. Активно досліджуваним способом для цього є зв'язування іонів металів за допомогою білків, які можливо виділити з легкодоступної рослинної сировини. Карбоксильні, тіолатні групи амінокислотних залишків здатні до комплексоутворення з катіонами металів, що призводить до видалення забруднювачів із води. Для досліджень активно використовуються методи обчислювальної хімії, зокрема класичне молекулярно-динамічне моделювання. У роботі проведена оцінка правильності відтворення вільних енергій зв'язування ряду двозарядних катіонів металів із функціональними групами амінокислот. Використаний сучасний набір потенціальних моделей катіонів, який коректно відтворює характеристики катіонів у водному розчині. Порівняння проведено з експериментально вимірними константами стійкості модельованих комплексів або їх структурних аналогів. Обчислення вільних енергій виконано методом алхімічного перетворення. Показано, що незважаючи на валідованість вжитих потенціальних моделей, вільні енергії зв'язування з функціональними групами амінокислот загалом відтворюються погано: помірно недооцінені для тіолатної групи та аміногрупи, надзвичайно переоцінені для карбоксилатної групи, некоректні для імідазолу. Таким чином, показано, що метод класичного молекулярно-динамічного моделювання слід з обережністю використовувати для розрахунку енергетичних характеристик зв'язування металів амінокислотами і білками.

Ключові слова: вільна енергія, молекулярно-динамічне моделювання, макромолекула білка, важкі метали, константа стійкості комплексу.

Вступ

Іони важких металів складають важливу групу забруднювачів води. Загалом до цієї групи відносять іони елементів-металів з високими густиною, молярною масою та порядковим номером, зокрема Cu, Pb, Cd, Hg, Sn. При надходженні в організм тварин і людей навіть у низьких концентраціях вони здатні викликати широкий спектр патологій. Водночас через діяльність промислових підприємств ці іони здатні потрапляти до природних вод та потім до питної води або продуктів харчування. Це обґрунтовує нагальність проблеми очищення води від іонів важких металів. [1,2]

Перспективним і активно досліджуваним способом є використання білків, наявних у рослинній сировині, для зв'язування зазначених іонів. З одного боку, завдяки наявності карбоксильних, пептидних, тіольних груп тощо макромолекули білків здатні утворювати комплексні сполуки з іонами металів у якості лігандів. З іншого боку, якщо макромолекула має сумарний негативний заряд, то відбувається адсорбція катіонів металів у подвійному електричному шарі білка. [3] Загалом здатність білка до зв'язування металів залежить від його амінокислотного складу та просторової будови. Через низьку концентрацію іонів металів у забруднених водах експериментальне визначення цієї характеристики вимагає застосування методів аналізу з достатньо низькою межею визначення. Крім того, розуміння процесу зв'язування на молекулярному рівні сприятиме підбору білків для цієї задачі. Це підкреслює доцільність застосування методів обчислювальної хімії для дослідження проблеми.

Наразі методи молекулярного докінгу та класичного молекулярно-динамічного моделювання активно вживаються для дослідження зв'язування іонів металів макромолекулами білків. Досягається відтворення геометрії комплексів, можливе передбачення впливу зв'язаних металів на просторову структуру макромолекули та порівняння здатності різних катіонів до зв'язування. [4–7] Утім, іншим важливим питанням є можливість розрахунку енергетичних характеристик процесу, оскільки саме зміна вільної енергії в результаті зв'язування є фундаментальною харак-

© Фарафонов В. С., 2025

 This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0.

теристикою, що визначає константи зв'язування, константи іонного обміну та інші експериментально спостережувані величини.

У даній роботі це питання розглянуто з більш загальних позицій, а саме: досліджене зв'язування окремих функціональних груп природних амінокислот із катіонами важких металів. Для порівняння також розглянуті катіони кальцію та магнію, оскільки вони є розповсюдженими компонентами природних і технічних вод. Використаний метод МД моделювання з явним розчинником. Одержані результати показують, що хоча цей метод є придатним для оцінки геометрії комплексів, розраховані значення вільної енергії зв'язування необхідно інтерпретувати з обережністю.

Теоретична частина

Моделювання та розрахунок вільної енергії виконувалися за допомогою програмного пакету GROMACS 2022.3. [8] Були встановлені стандартні умови (температура 25°C, тиск 1 бар), тривимірні періодичні граничні умови, часовий крок 2 фс. Електростатичні взаємодії обчислені методом сітки частинок Евальда, ван дер ваальсові взаємодії обрізані на відстані 1 нм. Комірки для моделювання мали кубічну форму (розмір 3×3×3 нм³), містили ліганд із функціональною групою, катіон металу та молекули води. Досліджені шість функціональних груп, які мають негативний заряд або містять високо електронегативні атоми: COOH, COO⁻, NH₂, CONH₂, S⁻ та імідазольне кільце Im, табл. 1. Вільна валентність кожної групи була зайнята метильною групою CH₃. Протонована тіольна група SH є електронейтральною і містить атом S із помірними негативним зарядом і електронегативністю, тому не досліджувалася.

У початковій конфігурації катіон металу був розташований так, щоб перебувати поблизу найбільш електронегативних атомів групи. Оскільки в імідазольному кільці атоми N розміщені не поруч, то для нього моделювання були виконані з двох початкових конфігурацій: катіон у площині циклу біля непротонованого атома N та катіон над циклом біля обох атомів N. На рис. 1 показано розташування різних лігандів біля катіона після мінімізації енергії на прикладі іона Ni²⁺.

Таблиця 1. Моделювані функціональні групи та ліганди.

Table 1. Simulated functional groups and ligands.

функціональна група	моделюваний ліганд	амінокислоти, що містять функціональну групу у бічному ланцюгу
карбоксилатна COO ⁻	ацетат-іон CH ₃ COO ⁻	глутамінова та аспарагінова кислоти
карбоксильна COOH	оцтова кислота CH ₃ COOH	глутамінова та аспарагінова кислоти
аміногрупа NH ₂	метиламін CH ₃ NH ₂	лізин, аргінін
амідна CONH ₂	ацетамід CH ₃ CONH ₂	глутамін, аспарагін
тіолатна S ⁻	метилтіолат-іон CH ₃ S ⁻	цистеїн
імідазольне кільце Im	4-метилімідазол	гістидин

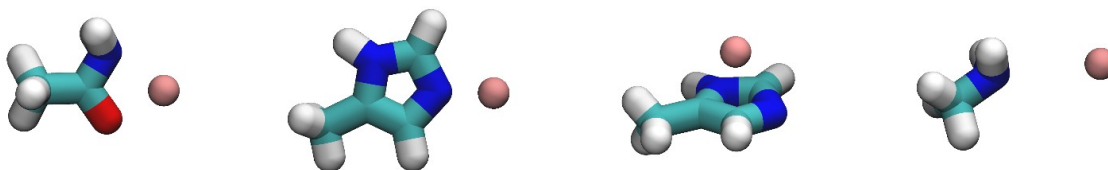


Рисунок 1. Розташування іона Ni²⁺ та лігандів у початковій конфігурації для моделювання. Ацетат-іон та молекула оцтової кислоти розташовувалися подібно до ацетаміду, метилтіолат-іон розташовувався подібно до метиламіну.

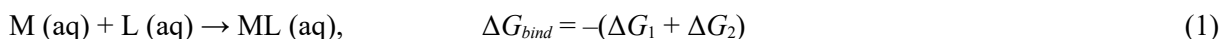
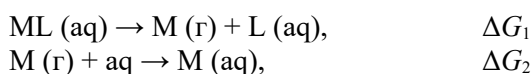
Figure 1. The placement of the Ni²⁺ ion and ligands in the initial configuration for the simulation. Acetate ion and acetic acid molecule were arranged similar to the acetamide one, and methylthiolate ion was arranged similar to methylamine molecule.

Розглянуті десять катіонів: Fe²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cr²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺, Ca²⁺ та Mg²⁺. Сучасні однотипно параметризовані потенціальні моделі цих іонів були взяті з [9]. Показано, що вони забезпечують точне відтворення характеристик більшості катіонів у водному розчині. Утім, хоча авторами також наведені потенціальні моделі для іонів V²⁺, Mn²⁺, Cd²⁺, Sn²⁺, Hg²⁺, їхня точність

відтворення координаційного числа катіона у воді є недостатньо високою (похибка в одну молекулу і більше для координаційного числа 6), тому вони не були розглянуті у даній роботі. Для катіонів Cu^{2+} та Ni^{2+} також були змодельовані системи, що містили катіон, зв'язаний із двома лігандами. У початковій конфігурації другий ліганд розміщувався по протилежний бік від першого на рівній відстані від катіону.

Для забезпечення сумісності вода була описана потенціальною моделлю TIP3P, а ліганди описані параметрами, взятими з силового поля Amber14SB, яке є загальноживим для дослідження білків. Саме така комбінація була валідована в оригінальній роботі. Атомні типи і значення точкових зарядів атомів функціональних груп відповідали їх значенням у амінокислотах. Для карбоксилатної групи додатково змодельоване зв'язування з потенціальною моделлю, у яку внесена поправка, що передбачає дещо різні точкові заряди на хімічно еквівалентних атомах О. Показано, що вона забезпечує точніше відтворення геометрії комплексу глютамінової кислоти з катіонами, а саме — дозволяє уникнути неприродної координації катіону з обома атомами О одночасно. Також вона частково відтворює поляризуючу дію катіону на групу COO^- . [10]

Для початкової конфігурації була виконана мінімізація енергії. Після цього для кожної пари катіон – ліганд проведені моделювання процесу зв'язування. За допомогою термодинамічного циклу ΔG досліджуваного процесу був представлений у вигляді негативної суми ΔG двох стадій: 1) видалення іона М, що перебуває в контакті з лігандом L, з розчину та 2) утворення іона М у воді (тобто його гідратація), рівн. 1.



Таким чином, на першій стадії початковий стан системи містить ліганд та іон, що взаємодіє з оточенням, а кінцевий — групу та іон, що не взаємодіє з рештою частинок. На другій стадії початковий стан — вода та іон, що не взаємодіє з нею, а кінцевий — вода та гідратований іон.

Для розрахунків ΔG кожної стадії використаний прийом алхімічного перетворення, в якому окрім кінцевих станів розглядаються також проміжні стани, які не мають фізичного відповідника, але розгляд яких допомагає знизити похибку визначення ΔG (звідси термін «алхімічне»). Інтенсивність взаємодій між іоном та оточенням визначається параметром прив'язки λ , що може приймати значення 0 (наявні у повному обсязі), 1 (відсутні) та проміжні значення (відповідають послабленим взаємодіям). Для обох стадій розглянуті дванадцять проміжних станів. Загалом моделювалися стани із наступними значеннями параметра λ : (0, 0); (0, 0.1); (0, 0.2); (0, 0.3); (0, 0.4); (0, 0.5); (0, 0.6); (0, 0.7); (0, 0.8); (0, 0.9); (0, 1); (0.4, 1); (0.8, 1); (1, 1) (перше число — значення λ для ван дер Ваальсових взаємодій іона з оточенням, друге — для електростатичних). У кожному стані система моделювалася протягом 2 нс за стандартних умов (температура 25°C, тиск 1 бар).

Розрахунки другої стадії (гідратація іона) були проведені тільки для іона Ni^{2+} для перевірки збіжності зі значенням енергії гідратації, отриманим авторами потенціальних моделей. Після її відтворення для решти іонів значення $\Delta G_2 = \Delta G_{\text{hydr}}$ були взяті з оригінальної роботи. Власне обчислення ΔG виконане методом співвідношення сприйняття Беннетта, як реалізовано у програмі gmx bar, причому інтервал траєкторій 0–1 нс відкидався як урівноваження системи.

Оскільки у станах із достатньо послабленими взаємодіями катіон перестає утримуватися біля функціональної групи, у відповідних моделюваннях обидві частинки були закріплені на початкових положеннях за допомогою гармонічного потенціалу із силовою сталою 200 кДж/(моль·нм). Після закінчення моделювань для усіх траєкторій, де не було застосовано закріплення, була перевірена відстань катіон – група. Ті траєкторії, в яких катіон не утримувався біля функціональної групи, були обчислені повторно, причому катіон та група були закріплені на початкових положеннях, як описано вище. Це спостерігалось передусім для катіонів Ba^{2+} і Sr^{2+} та в окремих інших випадках у станах із послабленими електростатичними взаємодіями.

Результати та обговорення

Одержані із застосованим набором потенціальних моделей дані зібрані у табл. 2 та представлені на рис. 2.

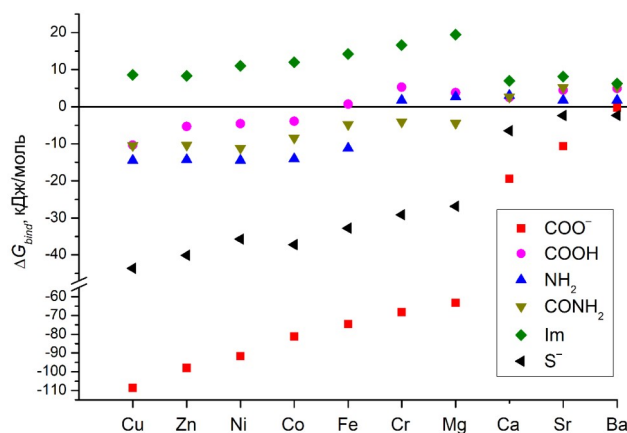


Рисунок 2. Вільні енергії зв'язування функціональних груп із двозарядними катіонами ряду металів.
Figure 2. Binding free energies of functional groups to doubly charged cations of a series of metals.

Згідно з результатами моделювань, найсильніше катіони металів взаємодіють з депротонованими карбоксильними групами COO^- , що вірогідно забезпечене їхнім негативним зарядом. Високо інтенсивна взаємодія спостерігається для Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cr^{2+} , Mg^{2+} (ΔG_{bind} у цьому ряду монотонно знижується від -104.1 до -59.2 кДж/моль), а для інших лужноземельних металів взаємодія є менш інтенсивною: в ряду Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} ΔG_{bind} знижується від -19.7 до 0.3 кДж/моль. Введення асиметричного розподілу заряду між атомами О призводить до відносно невеликої різниці у ΔG_{bind} (до 6 кДж/моль, окрім Sr^{2+} , де різниця сягає 7.8 кДж/моль).

Депротонована тіольна група S^- також інтенсивно взаємодіє з усіма металами окрім Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} . У ряду Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cr^{2+} , Mg^{2+} ΔG_{bind} знижується від -43.7 до -26.8 кДж/моль, що в ~2.5 рази менше, ніж для групи COO^- .

Взаємодія металів з усіма іншими групами є значно слабшою і навіть не завжди енергетично вигідна. Аміногрупа NH_2 та амідна група CONH_2 слабо зв'язують іони Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} ($\Delta G_{\text{bind}} = -8.4 - -14.5$ кДж/моль) та, ще слабше, Fe^{2+} . Також слабку спорідненість ($\Delta G_{\text{bind}} = -4 - -5.3$ кДж/моль) виявляють протонувана карбоксильна група COOH до катіонів Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} та амідна група до Fe^{2+} , Cr^{2+} , Mg^{2+} . Натомість решта комбінацій група – катіон (зокрема імідазольне кільце з усіма катіонами) мають позитивну ΔG зв'язування, тобто для іону металу є енергетично вигіднішим мати повну гідратну оболонку в об'ємі розчину аніж перебувати в контакті з даною групою. Вплив початкової конфігурації на ΔG_{bind} з імідазольним кільцем був малим (до 3 кДж/моль), що підтверджує отриманий результат. У більшості випадків перебування катіона у контакті з усім кільцем забезпечувано сильніше зв'язування (менш позитивну ΔG_{bind}); у табл. 2 та на рис. 2 наведені найменш позитивні значення з отриманих.

Таблиця 2. Обчислені ΔG_{bind} ряду двозарядних катіонів з лігандами, що містять функціональні групи амінокислот (кДж/моль).

Table 2. Calculated ΔG_{bind} of a series of doubly charged cations with ligands containing amino acid functional groups (kJ/mol).

катіон	функціональна група						
	COO^-	COO^{*-1}	COOH	NH_2	CONH_2	Im	S^-
Cr^{2+}	-62.5±1.8	-68.3±1.0	5.3±1.3	1.7±0.5	-4.1±0.8	16.6±0.6	-29.1±0.5
Fe^{2+}	-73.5±0.6	-74.7±0.4	0.7±0.4	-11.2±0.3	-4.8±0.5	14.2±0.5	-32.8±0.6
Co^{2+}	-76.9±0.8	-81.2±0.6	-3.9±0.6	-14.0±0.6	-8.4±0.4	12.0±0.5	-37.3±0.5
Ni^{2+}	-89.3±0.9	-91.7±0.7	-4.5±1.3	-14.5±0.6	-11.2±0.6	11.0±0.5	-35.7±0.9
Cu^{2+}	-104.1±1.0	-108.6±0.5	-10.3±1.2	-14.5±0.5	-10.5±0.8	8.6±1.7	-43.7±0.8
Zn^{2+}	-95.8±0.6	-98.0±1.1	-5.3±1.0	-14.3±0.4	-10.4±0.8	8.3±0.9	-40.2±0.7
Mg^{2+}	-59.2±1.5	-63.3±1.6	3.8±0.8	2.7±0.4	-4.5±0.7	19.4±0.6	-26.8±0.7

Ca ²⁺	-19.6±0.8	-19.4±0.4	2.5±0.4	3.0±0.6	2.7±0.2	7.0±0.5	-6.5±0.7
Sr ²⁺	-2.9±0.4	-10.6±0.9	4.4±0.5	1.8±0.4	5.1±0.4	8.1±1.4	-2.4±0.6
Ba ²⁺	0.3±0.3	-0.3±0.4	4.9±0.5	1.8±1.1	5.4±0.8	6.3±0.5	-2.4±0.6

¹ з поправкою на асиметричність зарядів на атомах О [10].

Процесу зв'язування іона металу з дослідженими сполуками відповідають константи стійкості комплексів β_1 (рівн. 2). Для багатьох із них значення β_1 наявні в літературі, тому отримані величини ΔG_{bind} можуть бути порівняні з експериментальними значеннями для перевірки їх достовірності. У деяких випадках порівняння робилося зі значенням для структурно подібного ліганда, в якому зв'язування відбувається через таку саму функціональну групу. Відповідні дані забрані в табл. 3.



Таблиця 3. Вибрані експериментальні і розраховані вільні енергії зв'язування катіонів з лігандами, що містять функціональні групи амінокислот (кДж/моль).

Table 3. Selected experimental and calculated binding free energies of cations to ligands containing amino acid functional groups (kJ/mol).

катіон	експериментально досліджений ліганд	$\lg \beta_1$	$\Delta G_{bind\ exp}$	$\Delta G_{bind\ calc}$
Cu ²⁺	CH ₃ COO ⁻	1.8 [11] 1.75 [12] 1.7 – 2.66 [13]	-10.26 -9.98 -9.7 – -15.17	-104.1
Ni ²⁺	CH ₃ COO ⁻	0.87 [12] 0.36 – 2.12 [13]	-4.96 -2.05 – -12.09	-89.3
Zn ²⁺	CH ₃ COO ⁻	0.8 – 1.0 [13]	-4.6 – -5.7	-95.8
Ca ²⁺	CH ₃ COO ⁻	0.45 [11]	-2.57	-19.7
Cu ²⁺	CH ₃ NH ₂	4.11 [14]	-23.43	-14.5
Ni ²⁺	C ₃ H ₇ NH ₂	2.81 [13]	-16.02	-14.5
Zn ²⁺	C ₂ H ₅ NH ₂	2.30 [13]	-13.12	-14.3
Ca ²⁺	H ₂ NCONH ₂	-0.28 [13]	1.60	2.7
Mg ²⁺	H ₂ NCONH ₂	-0.31 [13]	1.77	-4.5
Cu ²⁺	4-метилімідазол 1-метилімідазол імідазол	4.13 [12] 4.22 [12] 4.2 – 4.6 [12,13]	-23.55 -24.06 -24.0 – -26.24	8.6
Co ²⁺	імідазол	2.23 – 2.43 [13]	-12.72 – -13.86	12.0
Ni ²⁺	імідазол	2.94 [13]	-16.78	11.0
Zn ²⁺	імідазол	2.60 [13]	-14.84	8.3
Ni ²⁺	аніон цистеїну	9.0 [15]	-51.35	-35.7
Co ²⁺	аніон цистеїну	8.00 [15]	-45.65	-37.3
Zn ²⁺	аніон цистеїну	8.2 – 9.86 [15]	-46.8 – -56.26	-40.2

Видно, що використані потенціальні моделі прийнятно відтворюють енергію зв'язування з тіолоатною групою S⁻, хоча систематично недооцінюють її. Розбіжність складає 8–15 кДж/моль (18–30%) і може частково бути викликана різницею у будові між аніоном цистеїну та модельованим аніоном CH₃S⁻. Але у випадку COO⁻ групи розбіжність сягає десятків кДж/моль у бік завищення. Введення поправки на асиметричність зарядів на атомах О не виправляє ситуацію. Це свідчить про систематичну похибку у відтворенні балансу взаємодій у цій системі. Її причину неможливо пояснити лише високою інтенсивністю взаємодій та негативним зарядом ліганду, оскільки похибка значень, обчислених для іншої аніонної групи (S⁻) є значно меншою і має протилежний характер. Цей ефект у взаємодії катіонів з ацетат-іоном був виявлений раніше для інших металів і потенціальних моделей. Для виправлення було запропоновано знижувати заряд катіона та/або ліганда. [17] Тут показано, що ефект зберігається і для досліджених моделей та-кож.

Вірно передбачена ΔG_{bind} між аміногрупою та катіонами Ni²⁺ і Zn²⁺, хоча для катіона Cu²⁺ величина занижена на 9 кДж/моль (~40%). Амідна група і в експерименті, і в моделюванні дуже слабо зв'язується з катіонами металів. Натомість, у випадку з імідазолом та його похідними моделювання демонструє енергетичну невигідність зв'язування, хоча насправді експеримен-

тальні дані свідчать про утворення помірно стійких комплексів. Важливо, що результат не залежить від початкової конфігурації комплексу.

Можливим поясненням загалом поганого відтворення ΔG_{bind} є те, що для більшості з досліджених металів характерне утворення комплексів із двома лігандами і використані потенціальні моделі можуть бути параметризовані передусім для таких систем. Тому доцільно оцінити відтворення енергії зв'язування катіонів у комплекси складу ML_2 , які є більш релевантними для експериментальних умов. Це припущення було перевірене для катіонів Cu^{2+} і Ni^{2+} , для яких наявні відповідні значення других загальних констант стійкості β_2 (рівн. 3). За описаним вище підходом проведена серія моделювань з початкових конфігурацій, в яких катіон металу зв'язаний одночасно з двома лігандами. Ліганди були розташовані по протилежні боки від катіону на однаковій відстані від нього, рис. 3.

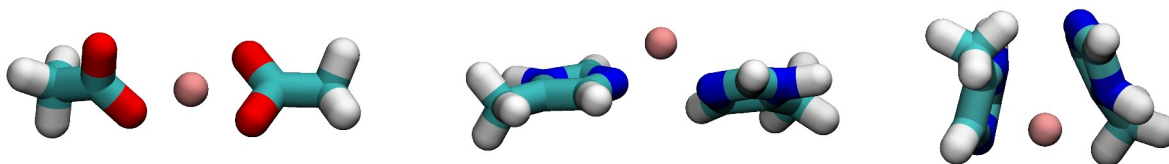


Рисунок 3. Розташування іона Ni^{2+} та двох лігандів у початковій конфігурації для моделювання.
Figure 3. The placement of the Ni^{2+} ion and two ligands in the initial configuration for the simulation.

Отримані величини $\Delta G_{bind 2}$ порівняні з літературними даними у табл. 4. Як правило, обчислені значення $\Delta G_{bind 2}$ є приблизно вдвічі більшими за ΔG_{bind} , що відповідає закономірності в експериментальних даних. З іншого боку, введення другого ліганду не призвело до зближення розрахованих та експериментальних значень для жодної з функціональних груп, що свідчить про необхідність уточнення параметризації досліджених частинок.

$$M(aq) + 2L(aq) \rightleftharpoons ML_2(aq), \quad \beta_2, \quad \Delta G_{bind 2} = -RT \ln \beta_2 \quad (3)$$

Таблиця 4. Експериментальні і розраховані вільні енергії зв'язування катіонів Cu^{2+} і Ni^{2+} у комплекси стехіометрії ML_2 (кДж/моль).

Table 4. Experimental and calculated binding free energies of Cu^{2+} and Ni^{2+} cations into ML_2 complexes (kJ/mol).

катіон	експериментально досліджений ліганд	$\lg \beta_2$	$\Delta G_{bind 2 exp}$	$\Delta G_{bind 2 calc}$
Cu^{2+}	CH_3COO^-	2.65 – 2.86 [13]	-15.11 – -16.31	-200.3 ± 3.7
Ni^{2+}	CH_3COO^-	0.89 – 1.15 [13]	-5.07 – -6.56	-170.8 ± 2.7
Cu^{2+}	CH_3NH_2	7.51 [14] 16.24 [13]	-42.82 -92.59	-14.1 ± 1.0
Ni^{2+}	$C_3H_7NH_2$	5.02 [13]	-28.62	-11.0 ± 0.7
Cu^{2+}	4-метилімідазол 1-метилімідазол імідазол	7.62 [12] 7.76 [12] 7.66 – 8.64 [12,13]	-43.44 -44.24 -43.67 – -49.26	14.7 ± 1.2
Ni^{2+}	імідазол	5.45 [13]	-31.07	39.9 ± 4.5
Ni^{2+}	аніон цистеїну	20.16 [15]	-114.94	-66.2 ± 1.0

Висновки

За допомогою класичного молекулярно-динамічного моделювання обчислена зміна вільної енергії ΔG_{bind} при зв'язуванні ряду двозарядних катіонів металів з набором функціональних груп, які наявні у природних амінокислотах. Незважаючи на те, що застосовані потенціальні моделі добре валідовані та відтворюють основні характеристики катіонів у водному розчині, значення ΔG_{bind} загалом погано відповідають експериментальним даним стосовно констант стійкості комплексів. Найкраще відтворення виявлено для тіолатної групи S^- та аміногрупи NH_2 , але значення ΔG_{bind} є систематично недооціненими. Навпаки, розраховані енергії зв'язування з карбоксилатною групою є надзвичайно завищеними. Зв'язування з імідазолом показано енергетично не вигідним, хоча експериментальні дані свідчать про утворення комплексів. Таким чином, отримані дані вказують на необхідність обережного застосування класичного МД моделювання з силовим полем для оцінки енергії зв'язування катіонів металів з амінокислотними

залишками і білками. Успішне передбачення ΔG_{bind} вимагає уважного підбору силового поля або удосконалення наявних потенціальних моделей.

Подяки

Автор висловлює вдячність Міністерству освіти і науки України (НДДКР №0124U000968 «Розробка економічно-доступних наносистем для швидкої ідентифікації та очищення води від іонів важких металів на основі наноалотропів вуглецю та амілоїдів з органічних відходів») за фінансову підтримку дослідження і к.х.н. Дмитру Неруху (Астонський університет, м. Бірмінгем, Великобританія) за надані обчислювальні потужності.

Використана література

1. Kim, J.-J.; Kim, Y.-S.; Kumar, V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *J. Trace Elem. Med. Bio.* **2019**, *54*, 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.05.003>
2. Bolisetti, S.; Peydayesh, M.; Mezzenga, R. Sustainable technologies for water purification from heavy metals: review and analysis. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*(2), 463–487. <https://doi.org/10.1039/C8CS00493E>
3. Soon, W. L.; Peydayesh, M.; Mezzenga, R.; Mizerez, A. Plant-based amyloids from food waste for removal of heavy metals from contaminated water. *Chem Eng. J.* **2022**, *445*, 136513. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.136513>
4. Dudev, T.; Lim, C. Metal Binding Affinity and Selectivity in Metalloproteins: Insights from Computational Studies. *Annu. Rev. Biophys.* **2008**, *37*, 97–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.37.032807.125811>
5. Dubey, K. D.; Wang, B.; Si, Y.; Tarique Moin, S. Editorial: Molecular Dynamics Simulations of Metalloproteins and Metalloenzymes. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 789299. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.789299>
6. Zhytniakivska, O.; Tarabara, U.; Vus, K.; Trusova, V.; Gorbenko, G. Deciphering the molecular details of interactions between heavy metals and proteins: Molecular docking study. *East Eur. J. Phys.* **2024**, *2*, 470–475. <https://doi.org/10.26565/2312-4334-2024-2-62>
7. Zhytniakivska, O.; Tarabara, U.; Vus, K.; Trusova, V.; Gorbenko, G. Interaction of heavy metals with β -lactoglobulin: Molecular dynamics study. *East Eur. J. Phys.* **2024**, *4*, 511–517. <https://doi.org/10.26565/2312-4334-2024-4-60>
8. Páll, S.; Zhmurov, A.; Bauer, P.; Abraham, M.; Lundborg, M.; Gray, A.; Hess, B.; Lindahl, E. Heterogeneous parallelization and acceleration of molecular dynamics simulations in GRO-MACS. *J. Chem. Phys.* **2020**, *153*(13), 134110. <https://doi.org/10.1063/5.0018516>
9. Zhang, Y.; Jiang, Y.; Peng, J.; Zhang, H. Rational Design of Nonbonded Point Charge Models for Divalent Metal Cations with Lennard-Jones 12-6 Potential. *J. Chem. Inf. Model.* **2021**, *61*(8), 4031–4044. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00580>
10. Duarte, F.; Bauer, P.; Barrozo, A.; Amrein, B. A.; Purg, M.; Åqvist, J.; Kamerlin, S. C. L. Force Field Independent Metal Parameters Using a Nonbonded Dummy Model. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 4351–4362. <https://doi.org/10.1021/jp501737x>
11. Miyajima, T.; Mori, M.; Ishiguro, S. Analysis of Complexation Equilibria of Polyacrylic Acid by a Donnan-Based Concept. *J. Colloid Interface Sci.* **1997**, *E187*, 259–266. <https://doi.org/10.1006/jcis.1996.4694>
12. Tanaka, M.; Tabaka, M. Stability Constants of Metal(II) Complexes with Amines and Aminocarboxylates with Special Reference to Chelation. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2009**, *82*(10), 1258–1265. <https://doi.org/10.1246/bcsj.82.1258>
13. Perrin, D. D. Stability constants of metal-ion complexes. Part B: Organic ligands. 2. Suppl. Z. 2. Oxford UK/Elmsford, NY, USA: Pergamon Press. **1979**. (Chemical Data Series No 22 IUPAC Publication). <https://doi.org/10.1002/prac.19803220331>
14. Ilcheva, L.; Bjerrum, J. Metal Ammine Formation in Solution. XVII. Stability Constants of Copper (II) Methylamine and Diethylamine Complexes Obtained from Solubility Measurements with Gerhardtite, $\text{Cu}(\text{OH})_{1.5}(\text{NO}_3)_{1.5}$. *Acta Chemica Scandinavica A* **1976**, *30*, 343–350. <https://doi.org/10.3891/ACTA.CHEM.SCAND.30A-0343>

15. Berthon, G. The stability constants of metal complexes of amino acids with polar side chains. *Pure Appl. Chem.* **1992**, 67(7), 1117–1240. <https://doi.org/10.1351/pac199567071117>
16. Mendes de Oliveira, D.; Zukowski, S. R.; Palivec, V.; Hénin, J.; Martinez-Seara, H.; Ben-Amotz, D.; Jungwirth, P.; Duboué-Dijon, E. Binding of Divalent Cations to Acetate: Molecular Simulations Guided by Raman Spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, 22, 24014–24027. <https://doi.org/10.1039/D0CP02987D>

Конфлікт інтересів: автор повідомляє про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 14.05.2025

Прийнято до друку 25.06.2025

V. S. Farafonov. Estimation of the binding free energy of doubly charged cations to amino acid functional groups by means of modern force fields.

V.N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry, 4 Svobody sqr., 61022 Kharkiv, Ukraine

Purification of water from heavy metal ions is an urgent environmental problem. An actively studied method for this is the binding of metal ions by means of proteins that can be isolated from easily accessible plant materials. Carboxyl, thiolate groups of amino acid residues are capable of complexing with metal cations, which leads to the removal of pollutants from water. Methods of computational chemistry are actively used for research, in particular classical molecular dynamics modeling. The work evaluates the correctness of reproducing binding free energies of a number of doubly charged metal cations with functional groups of amino acids. A set of modern potential models of cations is used, which correctly reproduces the characteristics of cations in aqueous solution. Comparisons are made with experimentally measured stability constants of modeled complexes or their structural analogues. Calculations of free energies are performed by the method of alchemical transformation. It is shown that despite the validity of the potential models used, the binding free energies to functional groups of amino acids are generally poorly reproduced: moderately underestimated for the thiolate and amino groups, extremely overestimated for the carboxylate group, and incorrect for imidazole. Thus, it is shown that the classical molecular dynamics modeling method should be used with caution for calculation of the energy characteristics of metal binding by amino acids and proteins.

Key words: free energy, molecular dynamic simulation, protein macromolecule, heavy metals, stability constant of complex.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

Received 14.05.2025

Accepted 25.06.2024

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

MAGNETIC PROPERTIES OF MODIFIED DIAMOND SPIN CHAIN

V.O. Cheranovskii^a and V.V. Maliarchuk^b

V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry, 4 Svobody sqr., Kharkiv, 61022 Ukraine

a) ✉ cheranovskii@karazin.ua

 <https://orcid.org/0000-0002-2255-400X>

b) ✉ maliarchuk2025xb16@student.karazin.ua

 <https://orcid.org/0009-0004-1849-8641>

The work is devoted to the theoretical study of the energy spectrum and magnetic properties of the modified antiferromagnetic spin ($1/2$, s) diamond chain. This is a frustrated mixed spin system with the unit cells formed by two spin $1/2$ and one spin $s > 1/2$. On the base of extended Lieb theorem we proved the possibility of the appearance of quantum phase transitions mediated by ratio of coupling parameters at arbitrary nonzero value of the spin s for the above model. The results of our exact diagonalization study for some finite chain clusters with $s=1$ supports this conclusion. We also studied analytically and numerically magnetic properties of Heisenberg – Ising diamond mixed spin chain. The exact energy spectrum of this model is found in analytical form at arbitrary values of model parameters. On the base of this spectrum we studied the field dependence of two-particle correlators for neighbor Ising spins. It was found that at special relation between coupling parameters there is a critical value of external magnetic field for which the above correlator takes zero value (the absence of the correlation between Ising spins). For infinite spin chain model we studied field dependence of specific magnetization by means of classical transfer- matrix method and found intermediate plateau in the low-temperature magnetization profile. According to our calculations, the size of this plateau depends strongly on the relations between coupling parameters of the model. We hope this feature of our model gives new possibilities for the design of new magnetic chemo-sensors.

Keywords: mixed spin diamond chain model, intermediate magnetization plateau.

Introduction

Over the last decades, the low-dimensional geometrically frustrated spin systems have attracted considerable research interest, especially due to their extraordinary diverse behavior in the ground state [1-3]. In solid state physics the term “geometric frustration” describes a phenomenon, where interactions between crystal lattice sites compete, preventing the system from reaching the minimum energy with simple geometric ordering. In context of antiferromagnetic spin-lattice systems this term means lattices containing the cycles with odd number of sites. The geometrically frustrated spin systems demonstrate some intriguing phenomena such as quantum phase transitions and quantized plateaux in the magnetization curves for these systems. One of them is the spin- $1/2$ quantum Heisenberg model with diamond chain topology [4-6]. This model describes adequately unusual magnetic properties of the natural mineral azurite $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})$, such as the presence of a plateau at one-third of the saturation magnetization in the magnetization curve at low temperature. Nevertheless, it should be noted that according to [4], total explanation of a wide range of experiments for the frustrated magnet azurite requires the balanced combination of density functional theory (DFT) and effective spin Hamiltonian approach. Theoretical interest focused on the diamond chain structure also supported its experimental realizations provided by other polymeric compounds of transition metals. There are also a number of exact results related to the ground state and thermodynamics of mixed spin Ising-Heisenberg diamond chain giving useful information for understanding the origin of peculiarities of the magnetic properties of quasi-one dimensional binuclear complexes of transition metals [1, 5, 6].

In our work we consider non-symmetric modification of mixed spin Heisenberg and Ising-Heisenberg diamond chains with nodal spins $1/2$ and two different interstitial spins $s = 1/2$ and $\bar{s} > 1/2$.

We will show the existence of quantum phase transitions between different spin ordering states for arbitrary values of $\bar{s} > 1/2$. In particular for model with $\bar{s} = 1$ we demonstrate the possibility of the transition between nonmagnetic and magnetic states due to the change of coupling constants describing the exchange interactions between neighboring magnetic ions of the complex. These interactions can depend strongly on the chemical surrounding of these ions, which open the promising way for the design of new magnetic chemo-sensors.

Modified Heisenberg mixed spin diamond chain model

Let us consider the non-symmetric mixed spin Heisenberg diamond chain having all site spin $\frac{1}{2}$ excepting the spins located on low interstitial sites (Fig.1).

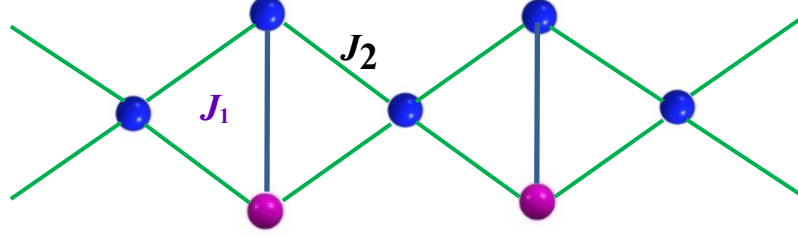


Figure 1. Modified diamond mixed spin chain. The crimson and blue spheres correspond to the spin carriers with $\bar{s} > 1/2$ and $s=1/2$ located at the nodes of the chain.

Within the Heisenberg spin model, the energy states of the above diamond spin chain are described by the Hamiltonian

$$\mathbf{H} = \sum_{k=1}^L \left\{ J_1 \mathbf{S}_{1,k} \bar{\mathbf{S}}_k + J_2 (\mathbf{S}_{1,k} + \bar{\mathbf{S}}_k) (\mathbf{S}_{2,k-1} + \mathbf{S}_{2,k}) \right\}, \quad (1)$$

where index k enumerates 3-site unite cells of the model, $\mathbf{S}_{k,i}$ ($i = 1, 2$) is a spin operator for spins $s=1/2$ of k -th unit cell and $\bar{\mathbf{S}}_k$ is a spin $\bar{s}$ operators of k -th unit cell. For positive coupling parameters J_1 and J_2 we use arbitrary energy units.

Let us consider two limit cases of the above model: $J_1 \gg J_2$ and $J_1 = 0$. For the first case the lowest part of the model energy spectrum can be described approximately by the Hamiltonian of linear spin chain with alternating values of neighboring spins $s=1/2$ and $\bar{s} = \bar{s} - 1/2$ (Fig.2).



Figure 2. Linear spin chain with alternating values of neighboring spins

The Hamiltonian of this chain in the first order of perturbation theory in the parameter $\alpha = J_2 / J_1$ has the form

$$\mathbf{H}_1 = -J_1 L(\bar{s} + 1) / 2 + J_2 \sum_{k=1}^L (\mathbf{S}_{1,k} + \mathbf{S}_{1,k+1}) \hat{\mathbf{S}}_k, \quad (2)$$

where $\hat{\mathbf{S}}_k$ is an operator of spin $\bar{s}$ located on k unit cell of the chain (Fig.2).

Due to the alternating topology, the ground state of the chain is non-degenerate and, by the generalized Lieb theorem [7-9], corresponds to the total spin $S_0 = (\bar{s} - 1)L$. Hence, for $\bar{s} = 1$ and big even L we have antiferromagnetic linear spin $\frac{1}{2}$ chain the with gapless energy spectrum, ground state spin $S_0 = 0$ and the corresponding energy $E_0 / L = -J_1 - (\ln 2 - 1/4)J_2$.

In the case of $J_1 = 0$ the modified diamond spin chain is transformed into a decorated necklace spin ladder model (Fig.3).

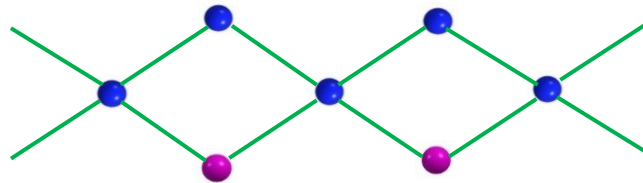


Figure 3. Decorated necklace spin ladder.

The corresponding spin system also has an alternant structure and is described by the following Hamiltonian:

$$\mathbf{H}_1 = J_2 \sum_{k=1}^L (\mathbf{S}_{1,k} + \bar{\mathbf{S}}_k) (\mathbf{S}_{2,k-1} + \mathbf{S}_{2,k}) \quad (3)$$

According to the generalized Lieb theorem, this Hamiltonian has a nondegenerate ground state with total spin $S_0 = \bar{s} L$.

Thus, increasing the ratio of coupling constants $\alpha = J_2 / J_1$ can lead to a macroscopic increase in the ground state spin of the modified diamond chain. In a particular case $\bar{S} = 1$, we have a transition from a nonmagnetic state of the diamond chain to a magnetic one.

In order to obtain more detailed information about the energy spectrum of the Hamiltonian (1), we have performed numerical calculations of the exact energy spectra of finite chains for some values of the model parameters. For this purpose, we used the basis of spin configurations (4), which have the form of direct products of the eigenfunctions of z-components of site spin operators. All these spin configurations are the eigenfunctions of the operator of z-projection of the diamond chain total spin M :

$$\Phi_{\{s,m\}}(M) = \prod_{k=1}^N \Omega(s_k, m_k) \quad (4)$$

where N is the total number of lattice sites; the multi-index $\{s, m\}$ lists all possible combinations of the quantum numbers of the sites (s_k, m_k) . $\Omega(s_k, m_k)$ is the eigenfunction of the spin operator $\mathbf{S}_k^z$ with given values of s and its z-projection m .

We used the exact diagonalization method to get the energy spectra of finite clusters of modified diamond chain formed by one and two unit cells with $\bar{S} = 1$. Due to the scalar nature of the spin Hamiltonian (1), comparing the energy levels for each subspace with a given value of M allows us to obtain the lowest energy levels with a fixed value of the total spin S . The results of these numerical calculations are presented below on Fig. 4 and Fig.5

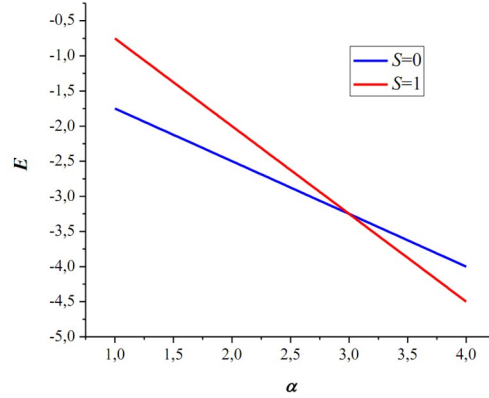


Figure 4. The dependence of the lowest energy levels of the unit cell (in units of J_1) in the spaces with $S = 0$ (blue curve) and $S = 1$ (red curve) on the frustration parameter $\alpha = J_2 / J_1$.

According to these calculations, the unit cell of the modified diamond chain changes the ground state spin from 0 to 1 at the point $\alpha = 3$.

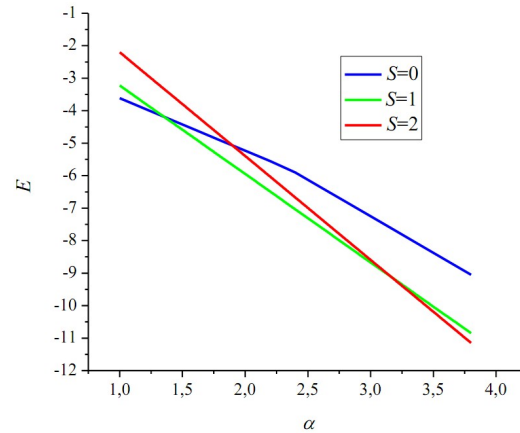


Figure 5. The dependence of the lowest energy levels in units of J_1 for 6-spin cluster (two unit cells) in the spaces with $S = 0$ (blue curve) and $S = 1$ (green curve) and $S = 2$ (red curve) on the frustration parameter α .

Here the transition between lowest energy levels with $S = 0$ and $S = 2$ occurs gradually through an intermediate state with $S = 1$. The chain fragment acquires the value of the ground state spin $S = 3$ when the parameter $\alpha > 3,2$.

We also performed numerical simulation of the field dependence of magnetization of the cluster of modified diamond chain formed by 3 unit cells. For this purpose we used exact energy spectrum of the cluster and Boltzmann's distribution (5).

$$m(h, T) = \sum_i M_i \exp(-(E_i - hM_i) / k_B T) / \left(L \sum_i \exp(-(E_i - hM_i) / k_B T) \right), \quad (5)$$

Here, for simplicity, we consider equal g-factors for all lattice spins and presented the results of our calculations for specific spin moment $m=M/L$; T is the temperature and k_B is the Boltzmann's constant. Also we used the external magnetic field h in energy units.

The results of the corresponding calculations are shown in Fig.6 for two different values of the frustration parameter α , which correspond to the nonmagnetic and magnetic ground states of the chain. It is easy to see the radical change in the magnetization profile driven by the frustration parameter α .

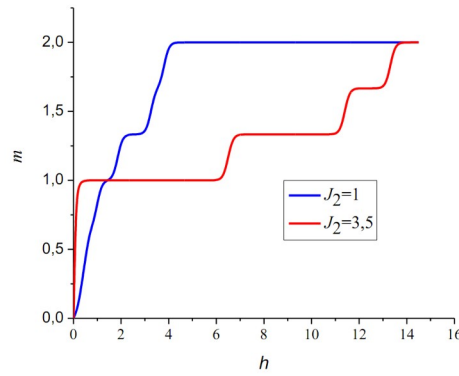


Figure 6. Magnetization profile of 9 spin fragment of modified diamond chain at $J_1=1$ and $K_B=0.1$.

Heisenberg-Ising mixed spin diamond chain model

In order to study the magnetic properties of our modification of mixed spin diamond chain let us consider simplified version of the model Hamiltonian (1) - mixed spin- $(s, 1/2)$ Ising-Heisenberg diamond chain. The Hamiltonian of this chain formed by L unit cells in the presence of an external magnetic field h , reads

$$\mathbf{H} = \sum_{l=1}^L \left[J_1 \mathbf{S}_{1,l} \bar{\mathbf{S}}_l + J_2 \mathbf{S}_{2,l}^z \left(\mathbf{S}_{1,l}^z + \mathbf{S}_{1,l+1}^z + \bar{\mathbf{S}}_l^z + \bar{\mathbf{S}}_{l+1}^z \right) - h \left(\mathbf{S}_{1,l}^z + \mathbf{S}_{2,l}^z + \bar{\mathbf{S}}_l^z \right) \right], \quad (6)$$

where $\mathbf{S}_{1(2),l}^z$ are the operators of z-projections of the corresponding spins $s=1/2$ of the l -th unit cell of the ladder; $\mathbf{S}_{1,L+1}^z = \mathbf{S}_{1,1}^z$, $\bar{\mathbf{S}}_{L+1}^z = \bar{\mathbf{S}}_1^z$. The last term determines the energy of the nodal spins and interstitial spins in the external magnetic field h .

Due to the commutation relation $[\mathbf{H}, \mathbf{S}_{2,n}^z] = 0$, $n = 1, \dots, L$, we can substitute the operators $\mathbf{S}_{2,n}^z$ by their eigenvalues $\sigma_n = \pm 1/2$ and rewrite the Hamiltonian (4) in the following block form:

$$\begin{aligned} \mathbf{H} &= \sum_{n=1}^L \mathbf{H}(\sigma_n, \sigma_{n+1}); \\ \mathbf{H}(\sigma_n, \sigma_{n+1}) &= (\sigma_n + \sigma_{n+1}) \left[J_2 \left(\mathbf{S}_{1,n}^z + \bar{\mathbf{S}}_n^z \right) - \frac{h}{2} \right] \\ &\quad + J_1 \mathbf{S}_{1,n} \bar{\mathbf{S}}_n - h \left(\mathbf{S}_{1,n}^z + \bar{\mathbf{S}}_n^z \right). \end{aligned} \quad (7)$$

The exact energy spectrum of the Hamiltonian (7) is a sum of eigenvalues of block Hamiltonians $\mathbf{H}(\sigma_n, \sigma_{n+1})$, which can be found analytically for arbitrary values of model parameters. In particular, for $J_1 \gg J_2$ there is a critical value of magnetic field $h_1 = 2(\bar{s} - 1/2)J_2$ for which the ground state energy of (7) does not depend on the set of quantities (σ_n, σ_{n+1}) .

$$E_0 / L = -J_1 (\bar{s} + 1) / 2 - 2 (\bar{s} - 1 / 2)^2 J_2 \quad (8)$$

As the result, at critical field h_1 the ground state of (7) is 4-times degenerate. In this case spin-spin correlators $\langle \sigma_n \sigma_{n+1} \rangle$ should take zero values. We may also suppose that at critical field the above correlators should be close to zero at low temperatures similar to Heisenberg–Ising spin model from [2].

In order to study thermodynamics of the above Heisenberg–Ising spin model we applied standard transfer matrix technique. The partition function of the system (6) $Z_L(T, h)$ for given values of temperature T and external magnetic field h can be written through the 2×2 transfer matrix $\mathbf{T}(\sigma_1, \sigma_2, T, h)$ for the block Hamiltonian (7).

$$\mathbf{T}(\sigma_1, \sigma_2, T, h) = \exp[-\beta \mathbf{H}_1(\sigma_1, \sigma_2)], \quad \beta = (k_B T)^{-1} \quad (9)$$

According to transfer-matrix approach, the statistical sum for the above Hamiltonian has the form:

$$Z = \text{Tr}[\mathbf{T}(\sigma_1, \sigma_2, T, h)]^L, \quad (10)$$

In the thermodynamic limit, statistical sum Z and a number of properties of the model considered are determined by the maximal eigenvalue $\lambda_{\max}$ of the transfer matrix $\mathbf{T}$. We will use it for numerical calculation of the magnetization profile of our Heisenberg-Ising spin ladder model by means of known formula

$$m = \frac{d \ln(\lambda_{\max})}{\beta dh} \quad (11)$$

Some results of this study are presented on Fig.7

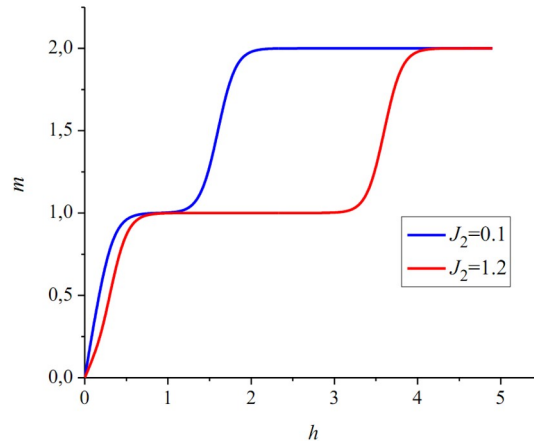


Figure 7. Field dependence of specific magnetization m of the infinite Heisenberg-Izing modified mixed spin diamond chain (6) at $J_1=1$, and $k_B T=0.1$.

Thus, the Heisenberg-Izing analog of modified diamond mixed spin chain has intermediate magnetization plateau.

Conclusion

For a model nanomagnet with a modified diamond chain structure, energy spectrum and magnetization profile calculations were performed. The existence of a transition between nonmagnetic and magnetic states, which is controlled by a change in the frustration parameter due to external stress like a change in the chemical surrounding, is shown. For infinite Heisenberg-Izing analog of modified mixed spin diamond chain the intermediate plateau in the low-temperature magnetization profile of the chain and nontrivial field dependence of two particle correlators for neighbor Ising spins were found.

References

1. Lisnyi B.M. ground state of the mixed spin-(1,1/2) Ising–Heisenberg distorted diamond chain with ferromagnetic Ising and antiferromagnetic Heisenberg interactions. *Journal of Physical Studies* v. 29, No. 1 (2025) 1001(6 p.) DOI: <https://doi.org/10.30970/jps.29.1001>.
2. Cheranovskii V.O., Ezerskaya, E.V., Kabatova A.O., and. Kononenko S.Ye. Magnetic properties of model nanomagnets with macroscopic value of the ground state spin. *Фізика низьких температур*, Vol. 51, No10, 2025 (accepted).
3. Cheranovskii V.O., Ezerskaya E.V., Klein D.J., Kravchenko A. A. Magnetic properties of model non-carbon nanotubes with macroscopic value of ground state spin. *J. Magn. Magn. Mater.* 2011, 323, 1636–1642. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2011.01.027>.
4. Jeschke H., et. al. Multistep approach to microscopic models for frustrated quantum magnets: The case of the natural mineral azurite. *Phys.Rev.Lett.* 2011, 106 217201. DOI: [10.1103/PhysRevLett.106.217201](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.106.217201).
5. Lisnyi B., Strečka J. Exactly solved mixed spin-(1,1/2) Ising–Heisenberg diamond chain with a single-ion anisotropy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jmmm.2014.10.113>.
6. Derzhko O., Krupnitska O., Lisnyi B., Strečka J. Effective low-energy description of almost Ising–Heisenberg diamond chain. *EPL*, 112 (2015) 37002. DOI: 10.1209/0295-5075/112/37002.
7. Lieb E.H., Mattis D.C. Ordering energy levels of interacting spin systems. *J. Math. Phys.* 1962, 3, 749–751. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1724276>.
8. Ovchinnikov A.A. Multiplicity of the ground state of large alternant organic molecules with conjugated bonds - (Do Organic Ferromagnetics Exist?). *Theor.Chim.Acta.* 1978, 47, 297–304. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00549259>.
9. Klein D.J. Ground state features for Heisenberg models. *Chem. Phys.* 1982, 77, 3098–3100. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.444232>.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 05.05.2025

Accepted 25.06.2025

В.О. Черановський В.В. Малярчук. Магнітні властивості модифікованого діамантового спінового ланцюжка. *Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, хімічний факультет, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна*

Робота присвячена теоретичному дослідженню енергетичного спектру та магнітних властивостей модифікованого антиферромагнітного спінового (1/2, s) алмазного ланцюга. Це фрустрована змішана спінова система з елементарними комірками, утвореними двома спінами $\frac{1}{2}$ та одним спіном $s > 1/2$. На основі розширеної теореми Ліба ми довели можливість виникнення квантових фазових переходів, опосередкованих співвідношенням параметрів зв'язку при довільному ненульовому значенні спіну s для вищезгаданої моделі. Результати нашого дослідження точної діагоналізації для деяких кластерів скінченних ланцюгів з $s=1$ підтверджують цей висновок. Ми також аналітично та чисельно вивчали магнітні властивості алмазно-змішаного спінового ланцюга Гейзенберга-Ізінга. Точний енергетичний спектр цієї моделі знайдено в аналітичній формі при довільних значеннях параметрів моделі. На основі цього спектру ми вивчали польову залежність двочастинкових кореляторів для сусідніх спінів Ізінга. Було виявлено, що при спеціальному співвідношенні між параметрами зв'язку існує критичне значення зовнішнього магнітного поля, для якого вищезгаданий корелятор приймає нульове значення (відсутність кореляції між спінами Ізінга). Для моделі нескінченного спінового ланцюга ми досліджували залежність питомої намагніченості від поля за допомогою класичного методу матриці переносу та виявили проміжне плато у профілі низько-температурної намагніченості. Згідно з нашими розрахунками, розмір цього плато сильно залежить від співвідношень між параметрами зв'язку моделі. Ми сподіваємося, що ця особливість нашої моделі надасть нові можливості для проектування нових магнітних хемосенсорів.

Ключові слова: модель алмазного ланцюга зі змішаним спіном, проміжне плато намагніченості.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 05.05.2024

Прийнято до друку 25.06.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

STUDYING LIGAND-PROTEIN INTERACTIONS IN THE ERA OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE: BENCHMARKING BOLTZ-1 FOR 3D-STRUCTURE PREDICTION OF BIOMOLECULAR COMPLEXES

M. V. Prud^{*,a}, A. Kyrychenko^{*b}

^{*}V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry, 4 Svobody sq., Kharkiv, 61022 Ukraine

[†]Enamine Ltd., Winston Churchill Street 78, Kyiv 02094, Ukraine

a) ✉ mykyta.prud@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-0051-8104>

b) ✉ a.v.kyrychenko@karazin.ua

 <https://orcid.org/0000-0002-6223-0990>

Modeling ligand-protein interactions is essential in various scientific and industrial applications, especially in drug discovery and structural biology. In the past year, several AI-driven computational tools, such as AlphaFold 3 and Chai-1r, have revolutionized the field of biomolecular structure prediction. Most recently, an open-source deep learning model called Boltz-1 has also been introduced, marking a significant advancement in biomolecular interaction modeling. To assess the performance of Boltz-1 in comparison to other computational tools, we benchmarked its capability to accurately reproduce the 3D structures of various biomolecular complexes. These complexes included essential enzymes and ligands of varying complexities, such as low-molecular organic ligands, sterols, and peptidomimetics. We found that Boltz-1 demonstrated strong performance in reproducing protein folding, achieving a root mean square deviation (RMSD) of less than 1 Å. When compared to other computational tools, such as Glide by Schrödinger and AutoDock Vina, Boltz-1's ability to predict the 3D structures of biomolecular complexes was well balanced. It successfully re-docked a diverse set of ligands with varying complexities, achieving binding poses that were comparable to those of the commercial software Glide. In terms of a RMSD and ligand-binding ranking, Boltz-1 outperformed the widely used docking tool AutoDock Vina for all evaluated ligands, creating opportunities to enhance computational screening of ligand-protein interactions.

Keywords: protein folding, ligand-protein interaction, drug design, artificial intelligence, Boltz-1.

Introduction

Understanding how small molecules (ligands) interact with proteins is fundamental to designing effective drugs. Modeling these interactions helps identify potential drug candidates that can bind to specific protein targets, inhibiting or activating their functions to treat diseases [1-3]. By predicting the 3D structure of ligand-protein complexes, researchers can optimize the design of compounds to improve binding affinity, selectivity, and other pharmacological properties [4-6]. This approach accelerates the drug development process and reduces costs.

Boltz-1 is an open-source deep learning model designed to predict the 3D structures of biomolecular complexes, including interactions between proteins and ligands [7]. Boltz-1 achieves AlphaFold3-level accuracy in predicting biomolecular structures, making it a powerful tool for modeling complex interactions involving proteins, RNA, DNA, and other molecules. It demonstrates strong performance in predicting protein-ligand interactions, with a notable LDDT-PLI score of 65%, outperforming Chai-1, which is another open-source AI model developed for predicting molecular structures and interactions.

The Boltz-1 model supports a wide range of molecular interactions, including modified residues, covalent ligands, and glycans. It can also condition predictions on specified interaction pockets or contacts, enhancing its flexibility in modeling diverse biomolecular complexes. It demonstrates particularly strong protein-ligand and protein-protein performance. The model's ability to accurately predict ligand-protein binding interactions is crucial for drug discovery and therapeutic design, as it helps in understanding and designing molecular interactions at a detailed level.

Boltz-1 combines open-source accessibility with performance comparable to proprietary tools, making it a groundbreaking resource in structural biology. Fig. 1 illustrates a typical pipeline of Boltz-1 processing. It accepts FASTA files, YAML schemas, or directories for batch processing, simplifying integration into diverse workflows. It outputs five predicted 3D structures of the ligand-protein complex in CIF format.

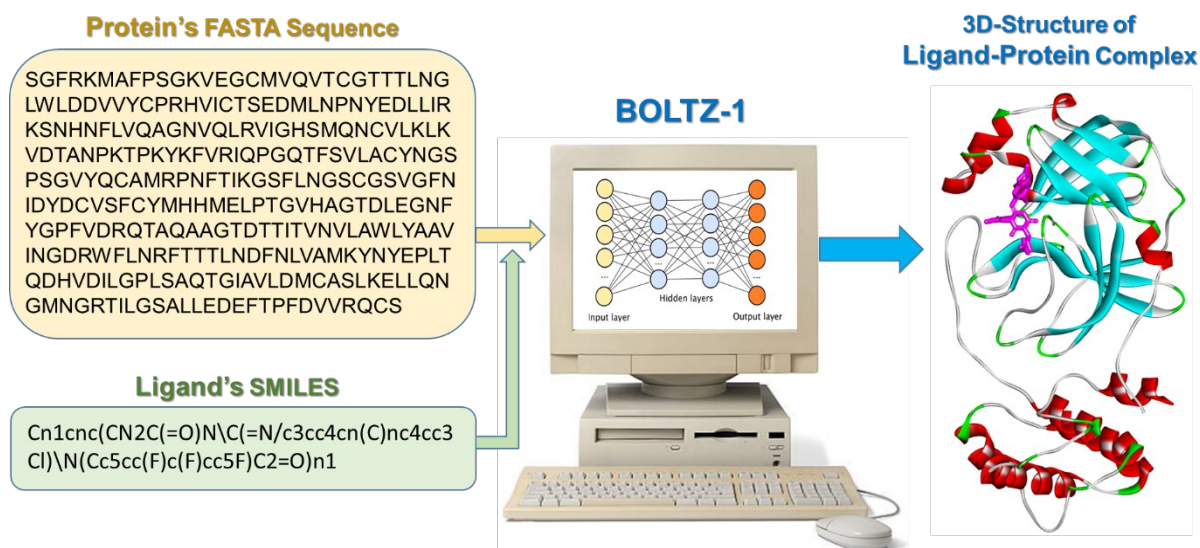


Figure 1. The typical Boltz-1 pipeline scheme illustrates how Boltz-1 processes input data. It accepts a primary protein structure in FASTA sequence format along with a ligand's 2D structure provided in SMILES notation. The output files include up to five predicted 3D structures of the ligand-protein complex in CIF format, accompanied by corresponding confidence metrics.

By democratizing high-precision biomolecular modeling, Boltz-1 promises to accelerate drug discovery, enzyme engineering, and systems biology research. However, Boltz-1's performance in predicting the correct ligand-protein binding mode has not been well demonstrated yet, which limits its broad use among the biomolecular computational community. To address this gap, we assessed Boltz-1's ability to predict the 3D structure of various ligand-protein complexes. Our primary focus was to select a series of structurally diverse ligands, spanning range from drug-like heterocyclic molecules, containing multiple branches and macrocyclic moieties, up to sterols and peptidomimetics

Computational Methods

To reproduce the ligand positions from X-ray structures using orthodox methods, we applied two approaches: redocking with the publicly available free AutoDock Vina software and redocking in the Schrödinger Maestro software package using the Glide module.

For the first approach, the molecular docking setup was carried out with the AutoDock Tools (ADT) software, version 1.5.7 [8]. The geometry of the ligands was prepared from its co-crystallized structure with the protein. The ligand structure was conformationally flexible, so that all possible rotations around torsional angles were allowed. The addition of hydrogen, the calculation of the Gasteiger charges of the receptor, and ligands were also performed using the ADT software. Molecular docking calculations were performed with the AutoDock Vina 1.1.2 software [9]. For each complex, one docking calculation was performed with exhaustiveness of 8, which generated 9 docking poses.

In the second case, the Schrödinger Maestro software package version 2024-1 was employed. The targets were prepared using the Protein Preparation Wizard [10], which involved removing solvent molecules and adding missing hydrogen atoms. Protein structure optimization was carried out in "Simplified Rules" mode at neutral pH. The energy of the protein structure was minimized using the OPLS4 force field [11]. Ligand preparation was conducted using the LigPrep module, followed by minimization with the OPLS4 force field. The Epik Classic submodule was utilized to reproduce the correct protonation state under biological conditions. The Receptor Grid Generation module was then used to create the binding site, and redocking was performed using Glide SP [12-15].

Boltz-1 was accessed via the web version available on the TamarindBio website (<https://app.tamarind.bio/boltz>, Version 0.4.0). The number of predicted samples was set to 5, while all other settings remained at their default values.

The PyMOL Molecular Graphics System, Version 3.0 Schrödinger, LLC was used for visualization and RMSD analysis.

Results and Discussion

To evaluate the performance of Boltz-1, we selected a series of ligand-protein complexes with known X-ray structures available in the Protein Data Bank (PDB) that involve essential enzymes and small ligands. Considering that the studied Boltz model was trained on public PDB data available until November 2024, our benchmarking set also included some structures published after that. The main metrics used for assessment include the root mean square deviation (RMSD), which quantifies the difference between predicted and experimental structures of the protein and its bound ligand. Additionally, we assessed the accuracy and reliability of binding affinity predictions by evaluating two popular molecular docking scoring functions: Schrödinger Glide and AutoDock Vina.

Main protease M^{pro} of SARS-CoV-2 virus in complex with Ensitrelvir. The main protease, known as M^{pro} (a 3C-like protease), is responsible for cleaving eleven specific sites on the two SARS-CoV-2 polyproteins. M^{pro} is comprised of three domains: a chymotrypsin-like domain (Domain I), a 3C-protease-like domain (Domain II), and a third domain (Domain III) that contains five α -helices [16]. The binding pocket of M^{pro} is situated between Domains I and II and features a catalytic Cys-His dyad, consisting of Cys145 and His41 [17-18]. Therefore, M^{pro} has attracted essential attention and is considered an ideal target for developing antiviral agents [19-23].

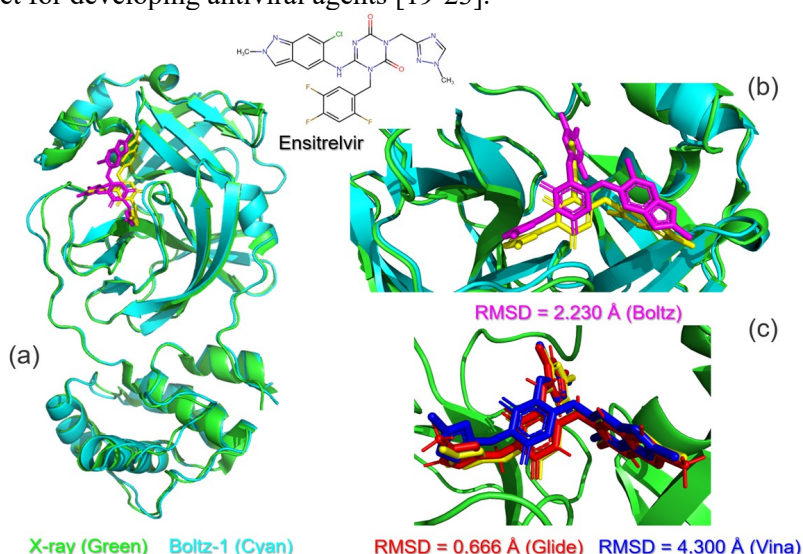


Figure 2. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between the main protease M^{pro} of the SARS-CoV-2 virus and co-crystallized non-covalent inhibitor S-217622 (Ensitrelvir). The X-ray structures of M^{pro} was obtained from PDB ID: 8HEF [24]. (b) The detailed overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of Ensitrelvir at M^{pro} pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of Ensitrelvir at M^{pro} pocket (yellow) with molecular docking calculations using Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Non-peptide oral drug called ensitrelvir has received approval for sale in Japan on November 22, 2022. Ensitrelvir showed significant inhibitory activity against SARS-CoV-2 M^{pro} as a non-covalent non-peptide inhibitor [24-25]. Figure 2 illustrates the performance of Boltz-1 in predicting the fold of the M^{pro} protease and the binding mode of Ensitrelvir. The predicted M^{pro} fold matches the known X-ray structure remarkably well, with RMSD value as low as 0.806 Å (see Fig. 2a and Table 1). Additionally, the binding conformation of Ensitrelvir was accurately captured, yielding a RMSD of 2.230 Å (Fig. 2b), which is close to the best-predicted pose determined by Glide, with a RMSD of 0.666 Å (Fig. 2c).

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Delta ($PPAR\delta$). Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) are a class of nuclear receptor proteins that act as transcription factors to regulate the expression of genes associated with various cellular processes [26].

Recently, high-throughput screening combined with X-ray analysis has revealed that some sulfonylthiadiazole derivatives exhibit an unusual binding mode at both $PPAR\gamma$ and $PPAR\delta$ receptors. The ligand WLM has demonstrated partial dual action as an agonist, showing high potency and *in vivo* efficacy (Fig. 3a). It selectively binds to $PPAR\delta$, characterized by an EC_{50} of 738 nM [27]. Therefore, the $PPAR\delta$ -WLM complex presents a challenging system for the Boltz-1 benchmark.

Figure 3 illustrates the benchmarking of the Boltz-1 method for the PPAR δ -WLM complex. The 3D structure of the ligand-binding domain (LBD) of PPAR δ was accurately reconstructed by Boltz-1, achieving a protein RMSD of 0.853 Å (see Fig. 3a and Table 1). Additionally, the binding conformation of the conformationally flexible ligand WLM was perfectly reproduced, with a RMSD of 0.688 Å (Fig. 3b), which is the best result currently in the field (Fig. 3c). In contrast, docking with Autodock Vina failed to replicate the correct binding mode for WLM (Fig. 3c).

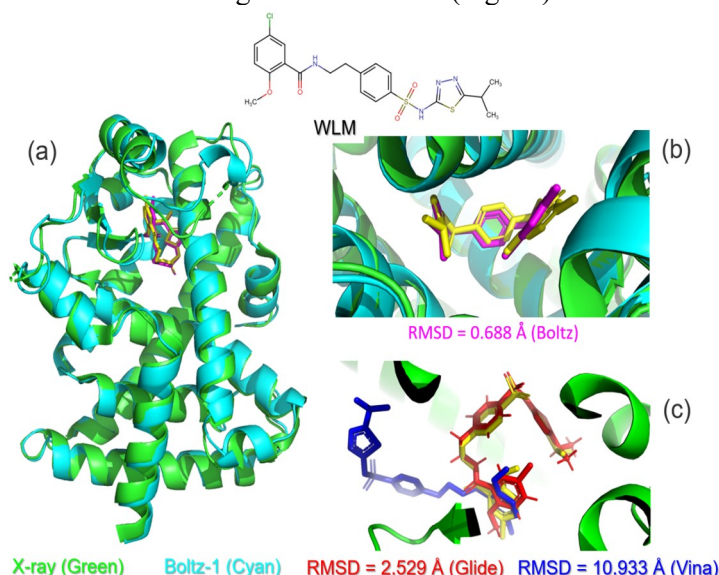


Figure 3. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between the PPAR δ LBD and the ligand WLM. The X-ray structures of PPAR δ estimated at a resolution of 2.3 Å was obtained from PDB ID: 2XYJ [27]. (b) The detailed overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of WLM at PPAR δ . (c) Comparison of the X-ray binding mode of WLM at PPAR δ (yellow) with molecular docking calculations using Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Table 1. Summary of Boltz-1 predictions for the 3D structure of ligand-protein complexes in relation to their X-ray structures (PDB ID). The binding mode of the ligand was also compared with molecular docking calculations performed using Schrödinger Glide and AutoDock Vina.^{a, b}

PDB ID	Boltz-1			Glide		AutoDock Vina	
	Score	Protein RMSD, Å	Ligand RMSD, Å	docking score	Ligand RMSD, Å	Binding affinity, kcal/mol	Ligand RMSD, Å
8HEF	0.939	0.806	2.230	-9.6	0.666	-9.1	4.300
2XYJ	0.934	0.853	0.688	-9.0	2.529	-9.7	10.933
2YXJ	0.867	1.188	1.410	-12.1	1.340	-10.2	12.370
1HPV	0.975	0.483	6.080	-8.1	0.953	-6.1	20.970
8P81	0.909	1.683	2.096	-11.2	1.427	-6.8	8.461
3UUD	0.963	0.724	0.472	-10.9	0.621	-11.2	0.540
6OQB	0.963	0.505	0.528	-9.6	2.672	-8.5	5.985
6Z54	0.951	0.557	1.108	-5.0	9.680	-8.7	6.730
8VVE	0.779	2.216	7.356	-7.3	1.409	-10.9	6.694
5JM4	0.731	0.901	5.607	-7.7	10.653	-6.6	10.466

a – the smallest RMSD corresponding to the best-predicted mode is highlighted in yellow.

b – note, the Boltz score does not in any way describe the pose of the ligand, but only reflects the model's confidence in reproducing the protein structure.

Bcl-xL in complex with ABT-737. B-cell lymphoma-extra large (Bcl-xL) is a protein encoded by the BCL2L1 gene and belongs to the Bcl-2 family of proteins. Bcl-xL is primarily recognized for its anti-apoptotic properties, which means it prevents programmed cell death [28-29]. Specifically, it inhibits the release of mitochondrial contents such as cytochrome C, a crucial step in the apoptosis pathway [30-31]. By doing so, Bcl-xL helps maintain the integrity of the mitochondrial membrane, thereby preventing cell death [32-33]. Ligand ABT-737 mimics the BH3 domains of BH3-only proteins and

has potential as anti-cancer therapeutics (Fig. 4a) [34]. Therefore, understanding the precise molecular structure of ABT-737 in Bcl-xL may clarify why it binds strongly to the Bcl-2 pro-survival proteins but fails to interact with the related target Mcl-1.

Figure 4 and Table 1 summarize the benchmarking results of the Boltz-1 method applied to the Bcl-xL:ABT-737 complex. The three-dimensional structure of Bcl-xL was accurately reconstructed by Boltz-1, achieving a RMSD of 1.188 Å. However, the prediction score was relatively low at 0.867, which indicates challenges in accurately modeling the flexible loops (see Fig. 4a).

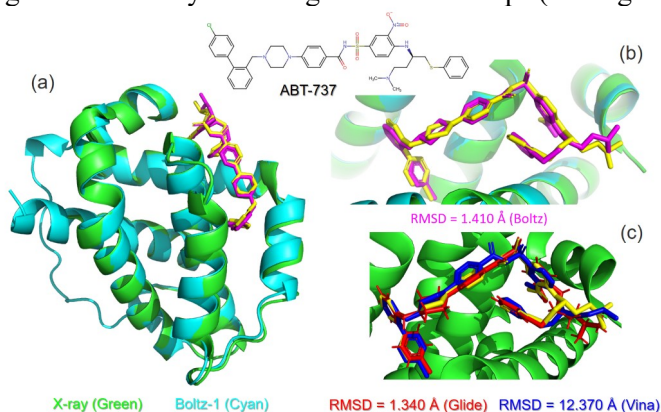


Figure 4. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between the Bcl-xL and the ligand ABT-737. The X-ray structures of Bcl-xL, acquired a resolution of 2.2 Å, was obtained from PDB ID: 2YXJ [34]. (b) The detailed overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of ligand ABT-737 at Bcl-xL pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of ABT-737 at Bcl-xL pocket (yellow) with molecular docking calculations using Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

The binding conformation of the conformationally flexible ligand ABT-737 was also well reproduced, resulting in a RMSD of 1.410 Å (Fig. 4b). This result is quite similar to the 1.340 Å RMSD predicted by Glide (Fig. 4c). Autodock Vina, on the other hand, was able to capture the crystal pose of ligand ABT-737 but placed the ligand in the reverse orientation, leading to a significantly higher RMSD of 12.370 Å (Fig. 4c).

Hiv-1 protease in complex with ligand VX-478. The HIV-1 protease is an enzyme crucial for the life cycle of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) (Fig. 5a), which causes AIDS [35].

Boltz-1 performed well in reproducing the native fold of the HIV-1 protease, achieving a RMSD of 0.483 Å and the best prediction score of 0.975 (see Fig. 5a and Table 1). However, it faced significant challenges in accurately recovering the binding pose of the ligand VX-478, as shown by a large RMSD of 6.080 Å (Fig. 5b). In contrast, the ligand binding test was successfully passed by Glide, which recorded an impressive RMSD of 0.953 Å (Fig. 5c), while AutoDock Vina completely failed in this aspect.

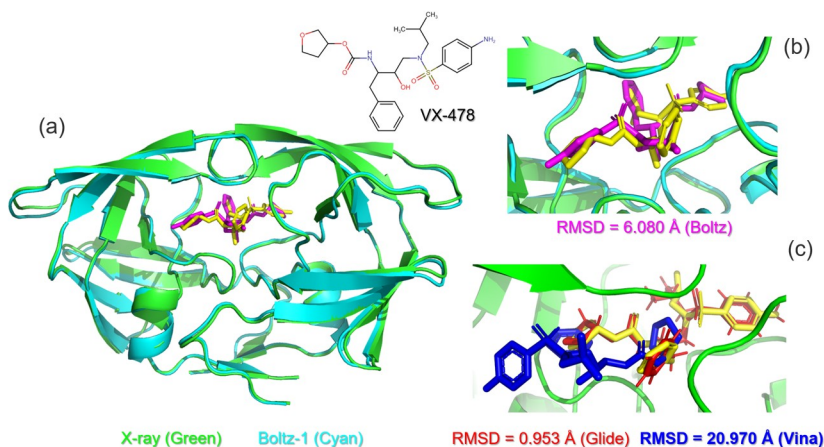


Figure 5. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between the Hiv-1 protease and the ligand VX-478. The X-ray structure of Hiv-1 protease, measured at resolution of 2.2 Å, was obtained from PDB ID: 1HPV [36]. (b) The Panel illustrates the detailed overlap between the X-ray binding mode and the binding mode estimated by Boltz-1 for VX-478 at the HIV-1 pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode

of VX-478 at the HIV-1 pocket (yellow) with molecular docking calculations using Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Human cyclin-dependent kinase 12 in complex with inhibitor SR-4835. Human Cyclin-Dependent Kinase 12 (CDK12) is a serine/threonine kinase that forms an active complex with Cyclin K (CycK). This complex is essential for transcriptional regulation, maintaining genome stability, and has a significant role in cancer biology. CDK12 consists of a central kinase domain and a unique C-terminal extension, both of which are crucial for ATP binding and its catalytic activity [37].

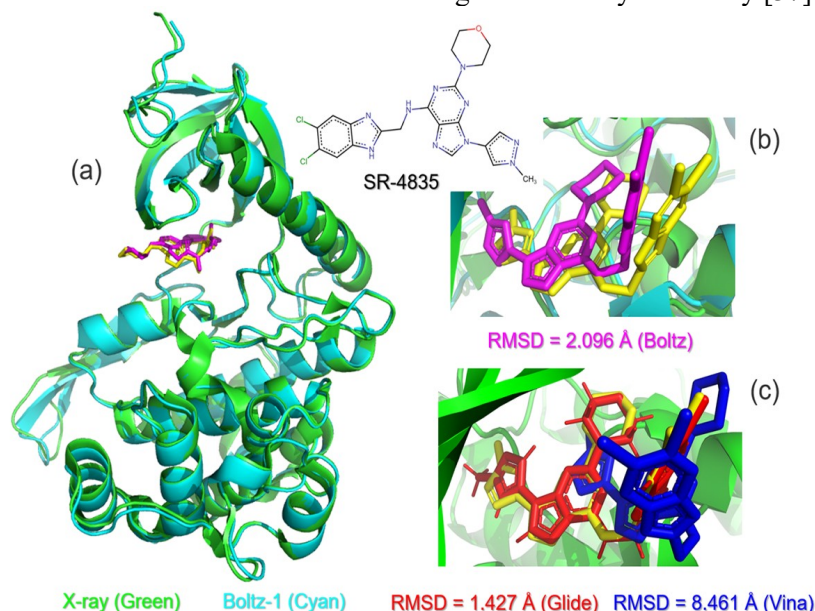


Figure 6. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between human CDK12 and the inhibitor SR-4835. The X-ray structures of human CDK12, measured at a resolution of 2.68 Å, was obtained from PDB ID: 8P81 [37]. (b) The detailed overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of ligand SR-4835 at CDK12 pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of SR-4835 at CDK12 pocket (yellow) with molecular docking calculations using Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Understanding the binding interactions between CDK12 and small-molecule inhibitors is crucial for elucidating its structure-function relationships. As a result, CDK12 has emerged as a promising target for various computational chemistry tools, including docking, *in silico* screening, and deep learning-based design of novel therapeutic agents [38-39].

SR-4835 is a reversible ATP-competitive inhibitor of CDK12 and CDK13. It reduces phosphorylation of RNA Polymerase II (specifically at Ser2 in RPB1) and inhibits transcription elongation [37, 40-41]. Unlike other inhibitors, SR-4835 functions as a molecular glue [42]. Recent crystallographic studies have shown that SR-4835 binds to CDK12/cyclin K in a noncanonical conformation (Fig. 6a-b) [37]. Its benzimidazole component forms hydrogen bonds with the kinase hinge region, while the altered glycine-rich loop and inward α C-helix help stabilize the binding interaction.

Despite the complex 3D structure of CDK12, Boltz-1 successfully recovered its native fold with a RMSD of 1.683 Å (see Fig. 6a). In contrast, the relatively rigid conformation of the inhibitor SR-4835 posed challenges for accurately recovering the X-ray data across all considered scoring methods, with Glide demonstrating slightly better performance (refer to Table 1 and Figs. 6b-c).

Human estrogen receptors (ER) alpha in complex with estradiol. Estrogen receptor alpha (hER α) is a nuclear receptor protein that is activated by the sex hormone estrogen. ER α functions as a ligand-activated transcription factor and is made up of several important domains responsible for hormone binding, DNA binding, and transcription activation. It primarily acts as a chromatin-binding protein and is encoded by the ESR1 gene in humans [43].

Figure 7 presents a summary of the benchmarking results for the complex formed between hER α and estradiol. Notably, Boltz-1 successfully reproduced both the protein folding and ligand binding poses, achieving a RMSD of 0.724 Å for the protein and 0.472 Å for the ligand (see Fig. 7a-b and Table 1). In terms of docking score ranking, Boltz-1 outperformed both Glide and Autodock Vina, which

also produced commendable results, with corresponding RMSD values of 0.621 Å and 0.540 Å (Fig. 7c), respectively.

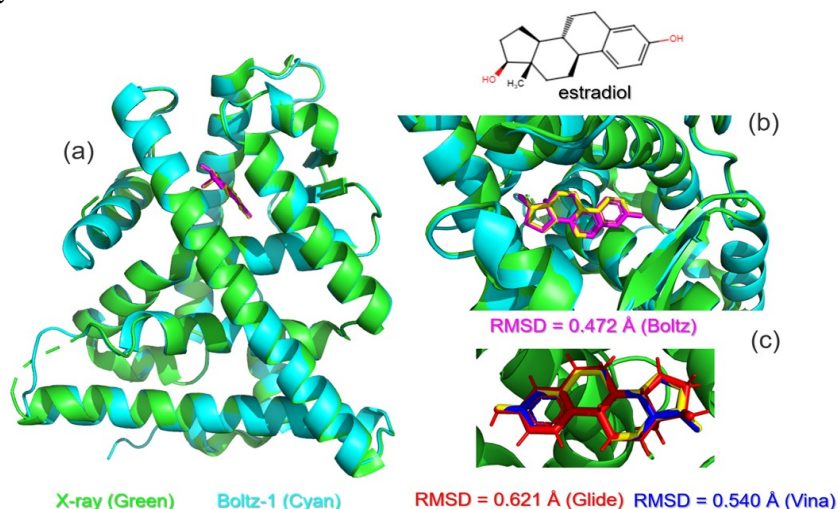


Figure 7. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between the hERα-LBD and estradiol. The X-ray structures of hERα-LBD (1.6 Å resolution) was obtained from PDB ID: 3UUD [44]. (b) The detailed overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of ligand estradiol within the hERα-LBD pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of estradiol within the hERα-LBD pocket (yellow) with molecular docking calculations using Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Myeloid Cell Leukemia-1 in complex with AMG 176. MCL1 is a protein encoded by the MCL1 gene in humans. It belongs to the pro-survival BCL2 family and is often dysregulated in cancer. To address the significant challenges associated with inhibiting MCL1 protein-protein interactions, small-molecule conformational restriction methods, such as those involving ligand AMG 176, are rigorously applied [45].

The biomolecular complex between MCL1 and the ligand AMG 176 was chosen for benchmarking due to the flexible macrocyclic structure and spiro-carbon atom of the ligand, which often present challenges for many scoring algorithms. Surprisingly, Boltz-1 performed exceptionally well, reproducing the ligand binding conformation with a RMSD as small as 0.528 Å (Fig. 8a-b). The protein's 3D structure was also accurately recovered, with a RMSD of 0.505 Å. In comparison, Glide and AutoDock Vina exhibited a decline in binding prediction performance, as indicated by larger RMSD values of 2.672 Å and 5.985 Å, respectively (Fig. 8c). It suggests that Boltz-1 performs better for docking ligands with flexible macrocycles.

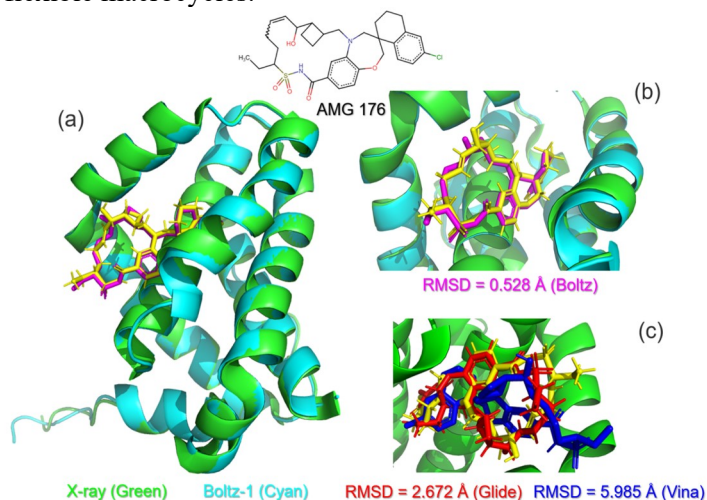


Figure 8. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between MCL1 and the ligand AMG 176. The X-ray structures of MCL1 (1.6 Å resolution) was obtained from PDB ID: 6OQB [45]. (b) The overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of the ligand AMG 176 within the MCL1 pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of the ligand AMG 176 (yellow) with molecular docking calculations by Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

CDC-Like Kinase 3 in complex with ligand ODS2003178. CLK3 is a dual-specificity protein kinase that plays a vital role in regulating RNA splicing. It phosphorylates serine/arginine-rich (SR) proteins, which are essential components of the spliceosomal complex. This phosphorylation regulates the activity of SR proteins, influencing the splicing of pre-mRNA and ultimately affecting gene expression [46].

The crystal structure of the dual-specificity protein kinase CLK3 in complex with the macrocyclic ligand ODS2003178 has been determined and is available in the Protein Data Bank under the accession code 6Z54 (Fig. 9a). The structure was solved using X-ray diffraction, providing valuable insights into the binding interactions between CLK3 and ODS2003178. This structure may be valuable for drug design aimed at targeting this kinase [47]. Many inhibitors target multiple kinases, including CLK1, CLK2, and PI3K [48], making it challenging to find selective inhibitors for CLK3. In this context, the ligand identified as ODS2003178 is a macrocyclic compound that serves as a promising candidate for benchmarking (Fig. 9a). This type of scaffold poses a well-known challenge for many on-line predictors of ligand-protein interactions, as well as for popular molecular docking software like AutoDock Vina.

The biomolecular complex formed between CLK3 and a macrocyclic ligand ODS2003178 presents another challenging example of cyclic ligands. In this case, Boltz-1 performed also very well, achieving a RMSD as low as 1.108 Å for the bound ligand conformation (Fig. 9a-b). Similarly to the above described cyclic AMG 176, Glide and Autodock Vina systematically declined in their performance, as seen by unusually more significant RMSD values of 9.680 Å and 6.730 Å, respectively (Fig. 9c).

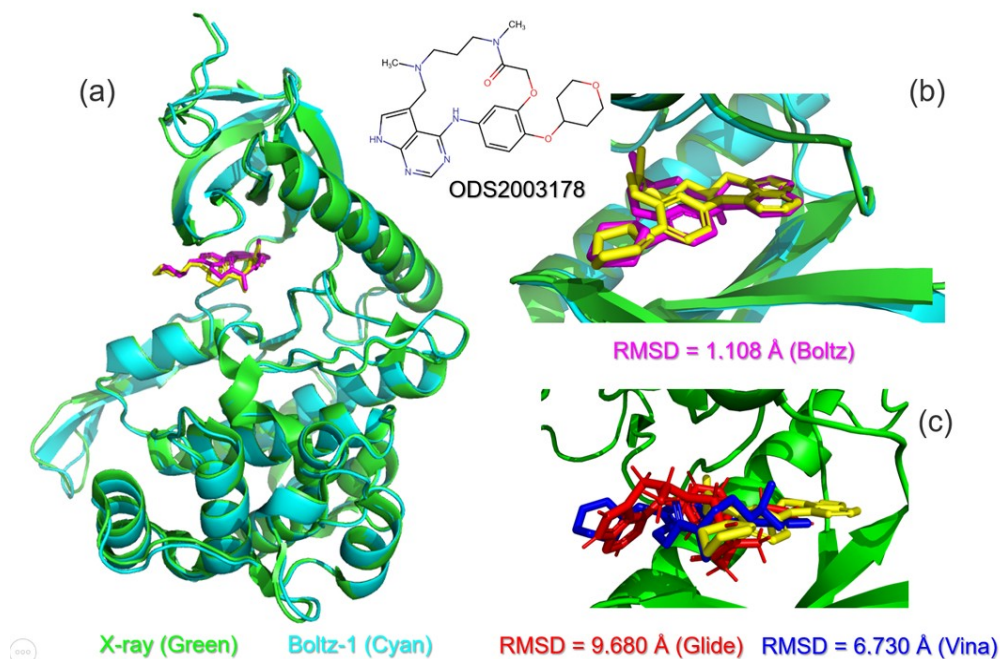


Figure 9. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between CLK3 and the macrocyclic ligand ODS2003178. The X-ray structures of the enzyme CLK3, measured at a resolution of 1.73 Å, was obtained from PDB ID: 6Z54. (b) The overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of the ligand ODS2003178 within the CLK3 pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of the ligand ODS2003178 (yellow) with molecular docking calculations by Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Kappa-opioid receptor-G protein in complex with inverse agonist norBNI. κ -Opioid receptors (KOR), a subfamily of G protein-coupled receptors (GPCRs), are crucial therapeutic targets. In the standard GPCR activation model, the binding of an agonist is necessary for the formation of the receptor-G protein complex, while antagonists inhibit G protein coupling. Therefore, KOR is an important target for *in silico* screening, molecular docking and drug discovery for pain and depression therapeutics [49-50].

Very few potent selective KOR antagonists are known to date, making the discovery of novel, promising candidates for the treatment of opioid addiction of tremendous importance [51-52]. NorBNI (norbinaltorphimine) is a synthetic organic compound composed of two naltrexone moieties with in-

version symmetry, which is classified as a highly selective KOR inverse agonist and antagonist (Fig. 10). NorBNI is a key ligand in opioid research, providing valuable insights into the role of KOR in neuropsychiatric disorders [53]. It is primarily used in scientific studies to investigate KOR's involvement in pain, addiction, mood disorders, and stress responses [54]. Although NorBNI was one of the first identified KOR-selective antagonists, the X-ray structure of its complex with KOR was only released last year (PDB ID: 8VVE) (Fig. 10a) [55]. This makes it an ideal model for our benchmarking, as it falls outside the PDB training dataset of Boltz-1.

The structure prediction of the complex between KOR and the inverse agonist norBNI presents challenges for many computational algorithms due to the unique characteristics of both components: the protein structure is dominated by long α -helices, while the ligand norBNI is a rigid polycyclic compound. In this context, Boltz-1 successfully predicts KOR folding with an acceptable accuracy level, achieving a RMSD of 2.216 Å, although it has one of the lowest prediction scores among the proteins studied, with a score of 0.779 (see Table 1 and Fig. 10a). On the other hand, the prediction of ligand binding accuracy was also low, with an RMSD of 7.356 Å (see Fig. 10b). Despite the complex 3D structure of norBNI, the Glide module effectively predicted its binding mode, resulting in a much lower RMSD of 1.409 Å (see Fig. 10c).

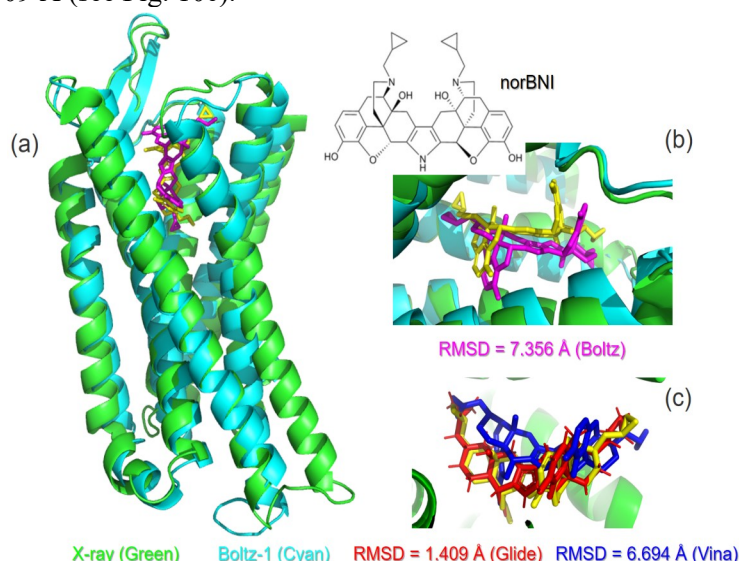


Figure 10. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between KOR and an inverse agonist norBNI. The Cryo-EM structures of KOR, measured at a resolution of 3.3 Å, was obtained from PDB ID: 8VVE [55]. (b) The overlap of the Cryo-EM and Boltz-1 estimated binding modes of the ligand norBNI within the KOR pocket. (c) Comparison of the Cryo-EM binding mode of the ligand norBNI (yellow) with molecular docking calculations by Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Protein 14-3-3 ζ in a complex a peptide involving an adamantyl and a dicarboxy side chain. The 14-3-3 proteins are a family of conserved regulatory molecules found in all eukaryotic cells. They play a crucial role in various cellular processes, including signal transduction, cell cycle regulation, apoptosis, and metabolism. Among the seven known isoforms in mammals, the 14-3-3 ζ/δ isoform stands out due to its unique functions and distribution across different tissues.

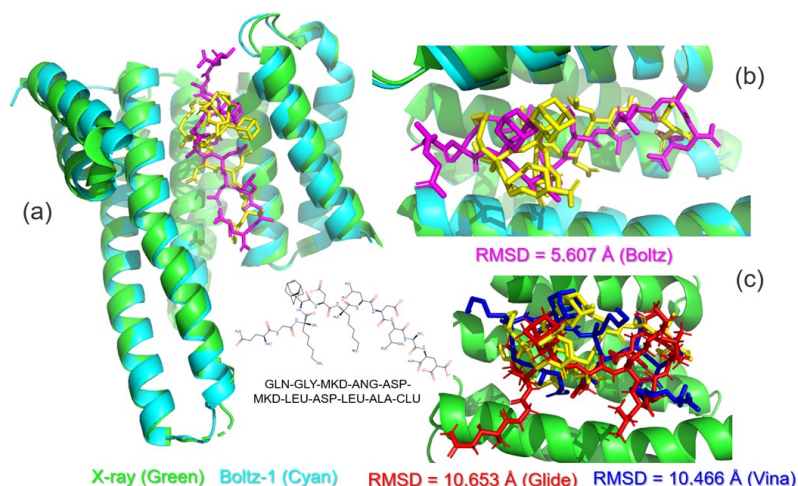


Figure 11. (a) Boltz-1's prediction of the 3D-structure of the ligand-protein complex between protein 14-3-3 ξ and a oligopeptide involving an adamantyl and a dicarboxy side chain. The X-ray structures of 14-3-3 ξ , measured at a resolution of 2.34 Å, was obtained from PDB ID: 5JM4 [56]. (b) The overlap of the X-ray and Boltz-1 estimated binding modes of the oligopeptide within the 14-3-3 ξ pocket. (c) Comparison of the X-ray binding mode of the peptide (yellow) with molecular docking calculations by Glide (red) and AutoDock Vina (blue).

Macrocyclic scaffolds are commonly found in natural products and are considered promising candidates for developing bioactive macrocyclic peptides aimed at inhibiting protein-protein interactions [57-58]. Recently, novel peptides have been designed that exhibit high affinity for the protein 14-3-3 ζ . These peptides incorporate a hydrophobic and a hydrophilic non-natural amino acid into sequences consisting of 11 to 12 residues [56]. Figure 11a shows the X-ray structure of the protein 14-3-3 ζ co-crystallized with the oligopeptide with sequence GLN-GLY-MKD-ANG-ASP-MKD-LEU-ASP-LEU-ALA-CLU.

Figure 11 summarizes the benchmarking results for the biomolecular complex between 14-3-3 ξ and the adamantane-containing oligopeptide. The Boltz-1 algorithm successfully reproduced protein folding, achieving a RMSD of 0.901 Å (see Table 1). As expected, all three algorithms studied faced challenges in accurately predicting the binding mode (Figures 11b-c). However, while the overall RMSD values were above 5 Å for the three docking tools, Boltz-1 outperformed both Glide and AutoDock Vina in capturing the pharmacophore features of the peptide, positioning the adamantane moiety closer to the X-ray data (Figure 11c).

Conclusions and Future Perspectives

Understanding ligand-protein interactions is essential for advancing drug discovery, protein design, and structural biology. Therefore, modeling ligand-protein interactions is a cornerstone of modern drug discovery and molecular biology, enabling the rational design of therapeutics and a deeper understanding of biological processes [59]. Current commercial tools, such as AlphaFold3, have established a high standard for predicting the 3D structures of biomolecular complexes [6, 60]. However, their accessibility and high costs limit broader adoption. The recently introduced fully open-source model, such as Boltz-1, addresses this issue and competes with these state-of-the-art tools in both accuracy and usability.

We found that Boltz-1 demonstrated strong performance in reproducing protein folding, deriving its capabilities from the parent source code of AlphaFold 3. Boltz-1 effectively reproduces the 3D structures of biomolecular complexes, demonstrating excellent performance, particularly in docking ligands with flexible macrocycles. It successfully re-docked a diverse set of ligands with varying complexities, achieving binding scores comparable to commercial tools such as Glide by Schrodinger. In terms of RMSD ligand-binding ranking, Boltz-1 outperformed the popular docking tool AutoDock Vina for all ligands studied. Finally, while capturing the binding modes of low-molecular-weight organics, predicting complex peptidomimetics remains beyond the current capabilities of Boltz-1. To summarize, our benchmarking indicates that Boltz-1 presents opportunities to improve computational

screening of small molecular libraries and may play a significant role in the future of AI-driven predicting of ligand-protein interactions.

Finally, when our manuscript was ready for submission, Boltz's developing team announced the revolutionizing update for Boltz-2 (<https://github.com/jwohlwend/boltz>), introducing controllability features including experimental method conditioning, distance constraints, and multi-chain template integration for structure prediction, and the AI model to approach the performance of free-energy perturbation (FEP) methods in estimating small molecule–protein binding affinity.

Acknowledgements

A.V.K. acknowledges the grant № 87/0062 (2021.01/0062) “Molecular design, synthesis and screening of new potential antiviral pharmaceutical ingredients for the treatment of infectious diseases COVID-19” from the National Research Foundation of Ukraine.

References

- McDonnell R. T., Henderson A. N., Elcock A. H. Structure prediction of large RNAs with AlphaFold3 highlights its capabilities and limitations. *J. Mol. Biol.* **2024**, 436 (22), 168816. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2024.168816>
- Kondo H. X., Takano Y. Structure comparison of heme-binding sites in heme protein predicted by alphafold3 and AlphaFold2. *Chem. Lett.* **2024**, 53 (8), upae148. <https://doi.org/10.1093/chemle/upae148>
- He X.-h., Li J.-r., Shen S.-y., Xu H. E. AlphaFold3 versus experimental structures: Assessment of the accuracy in ligand-bound G protein-coupled receptors. *Acta Pharm. Sinica* **2025**, 46, 1111–1122 <https://doi.org/10.1038/s41401-024-01429-y>.
- Binder J. L., Berendzen J., Stevens A. O., He Y., Wang J., Dokholyan N. V., Oprea T. I. AlphaFold illuminates half of the dark human proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2022**, 74 102372. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2022.102372>
- Zhai S., Liu T., Lin S., Li D., Liu H., Yao X., Hou T. Artificial intelligence in peptide-based drug design. *Drug Discov. Today* **2025**, 30 (2), 104300. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2025.104300>
- Duma Y., Kyrychenko A. Benchmarking Google DeepMind's AlphaFold 3 performance for protein 3D-structure prediction. *Kharkiv University Bulletin. Chemical Series* **2024**, 43 (66), 6-25. <https://doi.org/10.26565/2220-637X-2024-43-01>
- Wohlwend J., Corso G., Passaro S., Reveiz M., Leidal K., Swiderski W., Portnoi T., Chinn I., Silterra J., Jaakkola T., Barzilay R. Boltz-1 democratizing biomolecular interaction modeling. *bioRxiv* **2024**, 2024.11.19.624167. <https://doi.org/10.1101/2024.11.19.624167>
- Goodsell D. S., Morris G. M., Olson A. J. Automated docking of flexible ligands: Applications of AutoDock. *J. Mol. Recognit.* **1996**, 9 (1), 1-5. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1352\(199601\)9:1<1::AID-JMR241>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1352(199601)9:1<1::AID-JMR241>3.0.CO;2-6)
- Trott O., Olson A. J. AutoDock vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* **2010**, 31 (2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Madhavi Sastry G., Adzhigirey M., Day T., Annabhimoju R., Sherman W. Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2013**, 27 (3), 221-234. <https://doi.org/10.1007/s10822-013-9644-8>
- Lu C., Wu C., Ghoreishi D., Chen W., Wang L., Damm W., Ross G. A., Dahlgren M. K., Russell E., Von Bargen C. D., Abel R., Friesner R. A., Harder E. D. OPLS4: Improving force field accuracy on challenging regimes of chemical space. *J. Chem. Theory Comput.* **2021**, 17 (7), 4291-4300. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00302>
- Friesner R. A., Banks J. L., Murphy R. B., Halgren T. A., Klicic J. J., Mainz D. T., Repasky M. P., Knoll E. H., Shelley M., Perry J. K., Shaw D. E., Francis P., Shenkin P. S. Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *J. Med. Chem.* **2004**, 47 (7), 1739-1749. <https://doi.org/10.1021/jm0306430>
- Halgren T. A., Murphy R. B., Friesner R. A., Beard H. S., Frye L. L., Pollard W. T., Banks J. L. Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *J. Med. Chem.* **2004**, 47 (7), 1750-1759. <https://doi.org/10.1021/jm030644s>

14. Friesner R. A., Murphy R. B., Repasky M. P., Frye L. L., Greenwood J. R., Halgren T. A., Sanschagrin P. C., Mainz D. T. Extra precision Glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein–ligand complexes. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (21), 6177-6196. <https://doi.org/10.1021/jm051256o>
15. Yang Y., Yao K., Repasky M. P., Leswing K., Abel R., Shoichet B. K., Jerome S. V. Efficient exploration of chemical space with docking and deep learning. *J. Chem. Theory Comput.* **2021**, *17* (11), 7106-7119. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00810>
16. Tan B., Joyce R., Tan H., Hu Y., Wang J. SARS-CoV-2 main protease drug design, assay development, and drug resistance studies. *Acc. Chem. Res.* **2023**, *56* (2), 157-168. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.2c00735>
17. Yevsieieva L. V., Lohachova K. O., Kyrychenko A., Kovalenko S. M., Ivanov V. V., Kalugin O. N. Main and papain-like proteases as prospective targets for pharmacological treatment of coronavirus SARS-CoV-2. *RSC Adv.* **2023**, *13* (50), 35500–35524. <https://doi.org/10.1039/d3ra06479d>
18. Hu Q., Xiong Y., Zhu G.-H., Zhang Y.-N., Zhang Y.-W., Huang P., Ge G.-B. The SARS-CoV-2 main protease (M^{pro}): Structure, function, and emerging therapies for COVID-19. *MedComm* **2022**, *3* (3), e151. <https://doi.org/10.1002/mco2.151>
19. Lohachova K. O., Sviatenko A. S., Kyrychenko A., Ivanov V. V., Langer T., Kovalenko S. M., Kalugin O. N. Computer-aided drug design of novel nirmatrelvir analogs inhibiting main protease of coronavirus SARS-CoV-2. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2024**, *14* (5), 232-239. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2024.158114>
20. Zagórska A., Czopek A., Fryc M., Jończyk J. Inhibitors of sars-cov-2 main protease (M^{pro}) as anti-coronavirus agents. *Biomolecules.* **2024**, *14* (7), 797. <https://doi.org/10.3390/biom14070797>
21. Yang Y., Luo Y.-D., Zhang C.-B., Xiang Y., Bai X.-Y., Zhang D., Fu Z.-Y., Hao R.-B., Liu X.-L. Progress in research on inhibitors targeting SARS-CoV-2 main protease (M^{pro}). *ACS Omega* **2024**, *9* (32), 34196-34219. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c03023>
22. Xiao Y.-Q., Long J., Zhang S.-S., Zhu Y.-Y., Gu S.-X. Non-peptidic inhibitors targeting SARS-CoV-2 main protease: A review. *Bioorg. Chem.* **2024**, *147* 107380. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107380>
23. Yevsieieva L., Trostianko P., Kyrychenko A., Ivanov V., Kovalenko S., Kalugin O. Design of non-covalent dual-acting inhibitors for proteases M^{pro} and PL^{pro} of coronavirus SARS-CoV-2 through evolutionary library generation, pharmacophore profile matching, and molecular docking calculations. *Sci. Rise. Pharm. Sci.* **2024**, (6(52)), 15-26. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.313808>
24. Yang Y., Cao L., Yan M., Zhou J., Yang S., Xu T., Huang S., Li K., Zhou Q., Li G., Zhu Y., Cong F., Zhang H., Guo D., Li Y., Zhang X. Synthesis of deuterated s-217622 (ensitrelvir) with antiviral activity against coronaviruses including sars-cov-2. *Antivir. Res.* **2023**, *213* 105586. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2023.105586>
25. Lohachova K., Sviatenko A., Kyrychenko A., Kalugin O. Evolutionary structure optimization of ensitrelvir as non-covalent inhibitor of SARS-CoV-2 main protease M^{pro}. *Kharkiv University Bulletin. Chemical Series* **2024**, *43* (66), 26-37. <https://doi.org/10.26565/2220-637X-2024-43-02>
26. Tyagi S., Gupta P., Saini A. S., Kaushal C., Sharma S. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* **2011**, *2* (4). <https://doi.org/10.4103/2231-4040.90879>
27. Keil S., Matter H., Schönafinger K., Glien M., Mathieu M., Marquette J.-P., Michot N., Haag-Diergarten S., Urmann M., Wendler W. Sulfonylthiadiazoles with an unusual binding mode as partial dual peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ/δ agonists with high potency and in vivo efficacy. *ChemMedChem* **2011**, *6* (4), 633-653. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100047>
28. Vasquez-Montes V., Rodnin M. V., Kyrychenko A., Ladokhin A. S. Lipids modulate the BH3-independent membrane targeting and activation of Bax and Bcl-xL. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2021**, *118* (37), e2025834118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2025834118>
29. Tyagi V., Vasquez-Montes V., Freitas J. A., Kyrychenko A., Tobias D. J., Ladokhin A. S. Effects of cardiolipin on the conformational dynamics of membrane-anchored Bcl-xL. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22* (17), 9388. <https://doi.org/10.3390/ijms22179388>

30. Vasquez-Montes V., Kyrychenko A., Vargas-Urbe M., Rodnin M. V., Ladokhin A. S. Conformational switching in Bcl-xL: Enabling non-canonic inhibition of apoptosis involves multiple intermediates and lipid interactions. *Cells* **2020**, 9 (3), 539. <https://doi.org/10.3390/cells9030539>
31. Rodnin M. V., Kyrychenko A., Vasques-Montes V., Ladokhin A. S. Redesigning apoptotic regulator bid for thrombin activation. *Biopolymers and Cell* **2023**, 39 (4), 257–264. <https://doi.org/10.7124/bc.000AA3>
32. Li M., Wang D., He J., Chen L., Li H. Bcl-xL: A multifunctional anti-apoptotic protein. *Pharmacol. Res.* **2020**, 151 104547. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104547>
33. Kyrychenko A. V., Ladokhin A. S. Fluorescence tools for studies of membrane protein insertion. *Biopolym. Cell* **2018**, 34 (4), 251–271. <https://doi.org/10.7124/bc.00097F>
34. Lee E. F., Czabotar P. E., Smith B. J., Deshayes K., Zobel K., Colman P. M., Fairlie W. D. Crystal structure of ABT-737 complexed with Bcl-xL: Implications for selectivity of antagonists of the Bcl-2 family. *Cell Death Differ.* **2007**, 14 (9), 1711–1713. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402178>
35. Kim J. G., Shan L. Beyond inhibition: A novel strategy of targeting HIV-1 protease to eliminate viral reservoirs. *Viruses* **2022**, 14 (6), 1179. <https://doi.org/10.3390/v14061179>
36. Kim E. E., Baker C. T., Dwyer M. D., Murcko M. A., Rao B. G., Tung R. D., Navia M. A. Crystal structure of HIV-1 protease in complex with VX-478, a potent and orally bioavailable inhibitor of the enzyme. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117 (3), 1181–1182. <https://doi.org/10.1021/ja00108a056>
37. Schmitz M., Kaltheuner I. H., Anand K., Düster R., Moecking J., Monastyrskyi A., Duckett D. R., Roush W. R., Geyer M. The reversible inhibitor SR-4835 binds CDK12/cyclin k in a non-canonical G-loop conformation. *J. Biol. Chem.* **2024**, 300 (1). <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105501>
38. Zhang Z., Li Y., Yang J., Li J., Lin X., Liu T., Yang S., Lin J., Xue S., Yu J., Tang C., Li Z., Liu L., Ye Z., Deng Y., Li Z., Chen K., Ding H., Luo C., Lin H. Dual-site molecular glues for enhancing protein-protein interactions of the cdk12-ddb1 complex. *Nat. Commun.* **2024**, 15 (1), 6477. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50642-0>
39. Wen T., Wang J., Lu R., Tan S., Li P., Yao X., Liu H., Yi Z., Li L., Liu S., Gao P., Qian H., Xie G., Ma F. Development, validation, and evaluation of a deep learning model to screen cyclin-dependent kinase 12 inhibitors in cancers. *Eur. J. Med. Chem.* **2023**, 250 115199. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115199>
40. Houles T., Boucher J., Lavoie G., MacLeod G., Lin S., Angers S., Roux P. P. The CDK12 inhibitor SR-4835 functions as a molecular glue that promotes cyclin k degradation in melanoma. *Cell Death Discovery* **2023**, 9 (1), 459. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01754-x>
41. Quereda V., Bayle S., Vena F., Frydman S. M., Monastyrskyi A., Roush W. R., Duckett D. R. Therapeutic targeting of CDK12/CDK13 in triple-negative breast cancer. *Cancer Cell* **2019**, 36 (5), 545–558.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.09.004>
42. Ghosh P., Schmitz M., Pandurangan T., Zeleke S. T., Chan S. C., Mosior J., Sun L., Palve V., Grassie D., Anand K., Frydman S., Roush W. R., Schönbrunn E., Geyer M., Duckett D., Monastyrskyi A. Discovery and design of molecular glue enhancers of CDK12–DDB1 interactions for targeted degradation of cyclin k. *RSC Chem. Biol.* **2025**, 6 (1), 36–55. <https://doi.org/10.1039/D4CB00190G>
43. Paterni I., Granchi C., Katzenellenbogen J. A., Minutolo F. Estrogen receptors alpha (ERα) and beta (ERβ): Subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids* **2014**, 90 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.06.012>
44. Delfosse V., Grimaldi M., Pons J.-L., Boulahtouf A., le Maire A., Cavailles V., Labesse G., Bourguet W., Balaguer P. Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. *Proc Natl Acad Sci USA* **2012**, 109 (37), 14930–14935. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203574109>
45. Caenepeel S., Brown S. P., Belmontes B., Moody G., Keegan K. S., Chui D., Whittington D. A., Huang X., Poppe L., Cheng A. C., Cardozo M., Houze J., Li Y., Lucas B., Paras N. A., Wang X., Taygerly J. P., Vimolratana M., Zancanella M., Zhu L., Cajulis E., Osgood T., Sun J., Damon L., Egan R. K., Greninger P., McClanaghan J. D., Gong J., Moujalled D., Pomilio G., Beltran P., Benes C. H., Roberts A. W., Huang D. C., Wei A., Canon J., Coxon A., Hughes P. E. Amg 176, a

- selective mcl1 inhibitor, is effective in hematologic cancer models alone and in combination with established therapies. *Cancer Discov.* **2018**, 8 (12), 1582-1597. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0387>
46. Duncan P. I., Stojdl D. F., Marius R. M., Scheit K. H., Bell J. C. The clk2 and clk3 dual-specificity protein kinases regulate the intranuclear distribution of sr proteins and influence pre-mrna splicing. *Exper. Cell Res.* **1998**, 241 (2), 300-308. <https://doi.org/10.1006/excr.1998.4083>
 47. Zhou Q., Lin M., Feng X., Ma F., Zhu Y., Liu X., Qu C., Sui H., Sun B., Zhu A., Zhang H., Huang H., Gao Z., Zhao Y., Sun J., Bai Y., Jin J., Hong X., Zou C., Zhang Z. Targeting clk3 inhibits the progression of cholangiocarcinoma by reprogramming nucleotide metabolism. *J. Experim. Med.* **2020**, 217 (8), e20191779. <https://doi.org/10.1084/jem.20191779>
 48. Onipko O. V., Stoianova V., Buravov O. V., Chebanov V. A., Kyrychenko A., Gladkov E. S. Synthesis of novel derivatives of 4,6-diarylpyrimidines and dihydro-pyrimidin-4-one and *in silico* screening of their anticancer activity. *Curr. Org. Synthesis* **2025**, 22 (4), 556-567. <http://dx.doi.org/10.2174/0115701794356958241024082646>
 49. Goldfeld D. A., Murphy R., Kim B., Wang L., Beuming T., Abel R., Friesner R. A. Docking and free energy perturbation studies of ligand binding in the kappa opioid receptor. *J. Phys. Chem. B* **2015**, 119 (3), 824-835. <https://doi.org/10.1021/jp5053612>
 50. El Daibani A., Paggi J. M., Kim K., Laloudakis Y. D., Popov P., Bernhard S. M., Krumm B. E., Olsen R. H. J., Diberto J., Carroll F. I., Katritch V., Wünsch B., Dror R. O., Che T. Molecular mechanism of biased signaling at the kappa opioid receptor. *Nat. Commun.* **2023**, 14 (1), 1338. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37041-7>
 51. Zheng Z., Huang X.-P., Mangano T. J., Zou R., Chen X., Zaidi S. A., Roth B. L., Stevens R. C., Katritch V. Structure-based discovery of new antagonist and biased agonist chemotypes for the Kappa opioid receptor. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (7), 3070-3081. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00109>
 52. Salas-Estrada L., Provasi D., Qiu X., Kaniskan H. Ü., Huang X.-P., DiBerto J. F., Lamim Ribeiro J. M., Jin J., Roth B. L., Filizola M. De novo design of κ -opioid receptor antagonists using a generative deep-learning framework. *J. Chem. Inf. Model.* **2023**, 63 (16), 5056-5065. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00651>
 53. Jamshidi R. J., Sullivan L. C., Jacobs B. A., Chavera T. A., Berg K. A., Clarke W. P. Long-term reduction of kappa opioid receptor function by the biased ligand, norbinaltorphimine, requires c-jun N-terminal kinase activity and new protein synthesis in peripheral sensory neurons. *J. Pharm. Experim. Therapeutics* **2016**, 359 (2), 319-328. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.235184>
 54. Larson D. L., Jones R. M., Hjorth S. A., Schwartz T. W., Portoghese P. S. Binding of norbinaltorphimine (norBNI) congeners to wild-type and mutant Mu and Kappa opioid receptors: Molecular recognition Loci for the pharmacophore and address components of Kappa antagonists. *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (8), 1573-1576. <https://doi.org/10.1021/jm000059g>
 55. Tyson A. S., Khan S., Motiwala Z., Han G. W., Zhang Z., Ranjbar M., Styrpejko D., Ramos-Gonzalez N., Woo S., Villers K., Landaker D., Kenakin T., Shenvi R., Majumdar S., Gati C. Molecular mechanisms of inverse agonism via κ -opioid receptor–g protein complexes. *Nat. Chem. Biol.* **2025**, <https://doi.org/10.1038/s41589-024-01812-0>.
 56. Krüger D. M., Glas A., Bier D., Pospiech N., Wallraven K., Dietrich L., Ottmann C., Koch O., Hennig S., Grossmann T. N. Structure-based design of non-natural macrocyclic peptides that inhibit protein–protein interactions. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (21), 8982-8988. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01221>
 57. Pelay-Gimeno M., Glas A., Koch O., Grossmann T. N. Structure-based design of inhibitors of protein–protein interactions: Mimicking peptide binding epitopes. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, 54 (31), 8896-8927. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.201412070>
 58. Corbi-Verge C., Garton M., Nim S., Kim P. M. Strategies to develop inhibitors of motif-mediated protein-protein interactions as drug leads. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2017**, 57 (Volume 57, 2017), 39-60. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-104805>
 59. Ivanov V., Lohachova K., Kolesnik Y., Zakharov A., Yevsieieva L., Kyrychenko A., Langer T., Kovalenko S. M., Kalugin O. M. Recent advances in computational drug discovery for therapy against coronavirus SARS-CoV-2. *ScienceRise: Pharm. Sci.* **2023**, (6(46)), 4-24. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2023.290318>

60. Abramson J., Adler J., Dunger J., Evans R., Green T., Pritzel A., Ronneberger O., Willmore L., Ballard A. J., Bambrick J., Bodenstein S. W., Evans D. A., Hung C.-C., O'Neill M., Reiman D., Tunyasuvunakool K., Wu Z., Žemgulytė A., Arvaniti E., Beattie C., Bertolli O., Bridgland A., Cherepanov A., Congreve M., Cowen-Rivers A. I., Cowie A., Figurnov M., Fuchs F. B., Gladman H., Jain R., Khan Y. A., Low C. M. R., Perlin K., Potapenko A., Savy P., Singh S., Stecula A., Thillaisundaram A., Tong C., Yakneen S., Zhong E. D., Zielinski M., Židek A., Bapst V., Kohli P., Jaderberg M., Hassabis D., Jumper J. M. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature* **2024**, 630 (8016), 493-500. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07487-w>

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 07.05.2025

Accepted 25.06.2025

М. В. Прудь[†], О. В. Кириченко*. Вивчення ліганд-білкових взаємодій в епоху штучного інтелекту: оцінка Boltz-1 для прогнозування 3D-структури біомолекулярних комплексів.

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, хімічний факультет, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

[†]ТОВ «Єнамін», вул. Вінстона Черчилля, 78, м. Київ, 02094, Україна

Моделювання взаємодій ліганд-білок є надзвичайно важливим у різних наукових та промислових застосуваннях, особливо у розробці лікарських препаратів та структурній біології. Протягом останніх років кілька обчислювальних інструментів на основі штучного інтелекту, таких як AlphaFold 3 та Chai-1g, революціонізували сферу прогнозування біомолекулярних структур. Нещодавно було також представлено відкриту модель глибокого навчання під назвою Boltz-1, що ознаменувалось значним проривом у моделюванні біомолекулярних взаємодій. Щоб оцінити ефективність Boltz-1 у порівнянні з іншими обчислювальними інструментами, ми провели тестування його здатності точно відтворювати 3D-структури різних біомолекулярних комплексів. Ці комплекси включали ферменти та ліганди різної складності, такі як низькомолекулярні органічні ліганди, стероїди та пептидоміметики. Ми виявили, що Boltz-1 продемонстрував високу ефективність у відтворенні згортання білків, досягнувши середньоквадратичного відхилення (RMSD) менше 1 Å. У порівнянні з іншими обчислювальними інструментами, такими як Glide від Schrödinger та AutoDock Vina, здатність Boltz-1 прогнозувати 3D-структури біомолекулярних комплексів була добре збалансованою. Він успішно повторно задокував різноманітний набір лігандів різної складності, досягнувши точностей, порівнянних з показниками комерційного програмного забезпечення Glide. З точки зору RMSD та поз зв'язування лігандів, Boltz-1 перевершив широко використовуваний інструмент для докінгу - AutoDock Vina для всіх оцінених лігандів, демонструючи можливості для поліпшення комп'ютерного скринінгу взаємодій ліганд-білок.

Ключові слова: згортання білка, фермент, тривимірна структура, дизайн ліків, штучний інтелект, Boltz-1.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 07.05.2025

Прийнято до друку 25.06.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

FAST VS ACCURATE: EVALUATING TD-DFTB FOR LARGE-SCALE SCREENING OF ORGANIC DYES

M. Kyrpa^a, A. B. Zakharov^b, V. V. Ivanov^c

V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Chemistry, 4 Svobody sqr., Kharkiv, 61022 Ukraine

- a) ✉ kyrpa@karazin.ua
b) ✉ abzakharov@karazin.ua
c) ✉ vivanov@karazin.ua

-  <https://orcid.org/0009-0002-5410-2822>
 <https://orcid.org/0000-0002-9120-8469>
 <https://orcid.org/0000-0003-2297-9048>

The effectiveness of the semi-empirical TD-DFTB (Time-Dependent Density Functional Tight Binding) method in reproducing the spectral properties of organic dyes was investigated using the example of a library of isomers of the thiophene-containing donor-acceptor Effenberger dye, known for its pronounced solvatochromism. The aim of the work was to find out how suitable the accelerated TD-DFTB approach is for modern molecular design tasks, with a necessity to quickly and reliably identify compounds with intense electronic transitions in the long-wavelength region of the UV-Vis spectrum. The library contained 60 structures in which the positions of the donor (N,N-dimethylamine) and acceptor (NO₂) substituents, as well as the degree of planarity of the π -framework, were systematically varied. For each isomer, the geometry was first optimized at the DFTB level, after which the excitation energies were calculated using the TD-DFTB method. The obtained values were compared with TD-DFT calculations (B3LYP and CAM-B3LYP functionals) performed with geometries, obtained both at DFT and DFTB methods. Such a hybrid scheme significantly reduces the computational costs, allowing screening of large libraries without losing the accuracy. The correlation between excitation energies calculated by TD-DFTB and TD-DFT is given. As obtained, TD-DFTB tends to systematically underestimate the excitation energies, but largely reflects compounds with minimal excitation energies and large oscillator strengths, which makes it a reliable tool for initial screening. Several isomers with long-wavelength absorption and sufficient transition intensity were identified, which are promising for further modification. Thus, TD-DFTB in combination with TD-DFT on optimized DFTB geometries demonstrates an optimal balance between accuracy and speed for prescreening donor-acceptor dyes with given spectral parameters, which significantly enhances the capabilities of rational design of functional organic materials.

Keywords: molecular screening, organic dyes, TD-DFTB, TD-DFT, donor-acceptor systems, long-wavelength absorption.

Introduction

New advances in organic dyes, in particular their spectral characteristics, are of primary importance for the development of photonics and organic electronics. One of the key conditions for rational design of new functional materials, i.e., solar cells, light-emitting diodes and lasers, is effective evaluation and prediction of spectral characteristics, which makes sophisticated optimizing dyes with desired applications possible.

Screening of organic molecules in order to search for systems with specific properties is one of the typical tasks of modern chemistry. Chemoinformatic approaches are widely used to search for molecular systems with desired properties of biological activity [1, 2]. However, the use of chemoinformatic methods to search for systems with specific spectral properties is still an open problem. The difficulties of such work are primarily related to the need to make fast approximate estimates of spectral properties, which may pose a certain problem for large samples of molecules that include dozens of heavy (non-hydrogen) atoms. Among the most common methods for this is time-dependent density functional theory (TD-DFT) [3], which allows for detailed simulation of electronic excitations, based on solutions for electron density that depends upon time. The computational cost demanded for this process severely limits the possibility for large-scale screenings required for the identification of structures with desired behavior. The time-dependent density functional based tight binding (TD-DFTB) method [4] is a promising alternative, as it allows for a significant reduction in computational costs by approximating some integrals using pre-parameterized values. Despite its computational advantages, the ability of the TD-DFTB method to predict the spectral properties of organic dyes remain to further evaluation. An important role in the creation of dyes with desired properties is played by structural

isomers, since small changes in the structure can significantly change their electronic structure and spectral characteristics. Therefore, the aim of this work is to compare the efficiency of TD-DFTB and TD-DFT methods using the example of the Effenberger dye [5] isomer library, a thiophene-containing donor-acceptor system characterized by pronounced solvatochromism. To achieve this goal, isomeric library screening at the stage of preliminary selection of candidates with the desired properties is conducted using TD-DFTB method implemented in the DFTB+ package [6, 7], followed by benchmarking calculations using TD-DFT (B3LYP and CAM-B3LYP functionals).

Calculation details

This study centers on a specialized library of compounds generated with the aid of the QUASAR software package, developed in our previous work [8-11]. While preliminary findings were presented in [12], the present study offers a detailed evaluation of the TD-DFTB method's accuracy in predicting the electronic spectra of molecules from the aforementioned library. The library consisting of 60 isomers of the Effenberger dye (Fig. 1). The structures of isomers were generated by construction of key building blocks, two thiophene rings with dimethylamino- and nitro- groups as donor and acceptor substituents. All isomers in the structurally diverse while chemically consistent library are considered as potential in revealing pronounced solvatochromism effects as donor-acceptor π -conjugated systems.

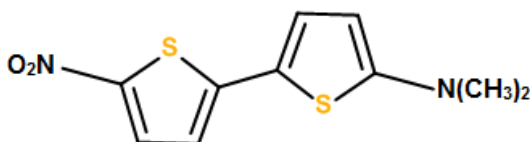


Figure 1. The structure of Effenberger Dye.

The TD-DFTB method was applied in the implementation of the DFTB+ software package [6, 7] which has been incorporated in our QUASAR software package. For the parametrization of the Hamiltonian, we used several sets of the Slater-Koster parameters, available from open source, covering the necessary elements (H, C, N, O, S): 3ob-3-1, auorgap-1-1 and mio-1-1 [13, 14].

Standard TD-DFT calculations were performed using the B3LYP and CAM-B3LYP functionals with cc-pVDZ basis set. The B3LYP functional was chosen as a widely verified compromise between accuracy and speed, while the CAM-B3LYP as supposed allows for a better description of charge-transfer states, which is critical for donor-acceptor systems with pronounced solvatochromism. Calculations were performed using the Gaussian 09 quantum chemistry package [15].

The evaluation of the obtained spectra was carried out by comparing the positions of the longest-wavelength absorption band ($\lambda_{\max}$) alongside with corresponding oscillator strengths (f), with the energy difference (ΔE) and the correlation between the spectral trends, predicted by TD-DFTB and TD-DFT as main metrics.

Results and discussion

Distribution of Excitation Energies and Oscillator Strengths. The range of excitation energy values obtained for the Effenberger dye isomers calculated by TD-DFT and TD-DFTB methods is presented in the Fig. 2. For the reference structure, the Effenberger dye, following values of TD-DFT excitation energy were obtained (the value of oscillator strength are given in parentheses): CAM-B3LYP – 3.25 eV (0.71), B3LYP – 2.82 eV (0.63). At the same time for the method TD-DFTB based at different parametrization (3ob-3-1, auorgap-1-1 and mio-1-1) we obtained the value 2.89 eV (0.67). For the particular molecule the TD-DFTB method reproduces the corresponding HOMO→LUMO transition quite accurately in terms of excitation energy and transition intensity compared to B3LYP. In addition to the reference structure, high spectral similarity with $\Delta E < 0.1$ eV was obtained for a number of structures (Fig. 3) and is presented in table 1. The structures are listed in order of decreasing oscillator strength, allowing to clearly link the absorption intensity with the structure modification. The highest values of oscillator strength are obtained for structures 1-3, in which the donor and acceptor substituents are located in different thiophene rings, contributing to better

conjugation and enhanced intramolecular charge transfer (ICT) upon excitation, which occurs in such structures to a greater extent, as shown by corresponding molecular orbitals in fig. 4. A decrease in the planarity of the molecule, which is quantitatively reflected by an increase in the dihedral angle between the fragments is accompanied by a decrease in the oscillator strength. Thus, the maximum value of the dihedral angle between the planar fragments, at which relatively intense electronic transitions are still obtained in the long-wavelength region of the spectrum, is 26° (structure 3). This indicates a certain permissible limit of curvature of the π -system, at which the effective conjugation remains sufficient to maintain intense absorption.

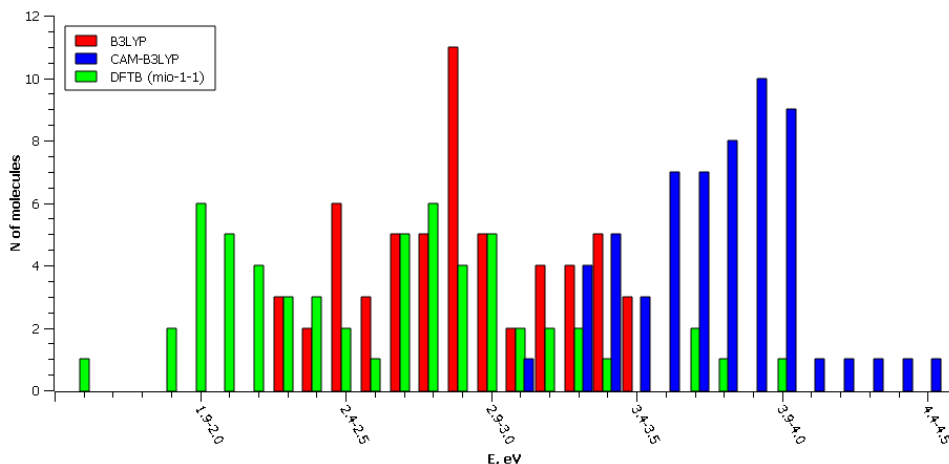


Figure 2. Histogram of excitation energy distribution obtained for the Effenberger dye isomers.

Table 1. Excitation energies (eV) obtained by TD-DFTB and B3LYP for selected isomers of the Effenberger dye (1). Oscillator strengths are given in parentheses.

	B3LYP	3ob-3-1	auorgap-1-1	mio-1-1		B3LYP	3ob-3-1	auorgap-1-1	mio-1-1
1	2.82 (0.628)	2.89 (0.675)	2.89 (0.661)	2.89 (0.660)	6	3.15 (0.070)	-	3.13 (0.083)	3.13 (0.084)
2	2.75 (0.378)	2.73 (0.408)	2.77 (0.413)	2.77 (0.412)	7	2.89 (0.039)	2.76 (0.081)	2.82 (0.087)	2.82 (0.087)
3	2.87 (0.281)	2.86 (0.296)	2.89 (0.440)	2.88 (0.439)	8	2.99 (0.017)	2.94 (0.038)	2.96 (0.046)	2.96 (0.046)
4	3.33 (0.184)	3.68 (0.482)	3.38 (0.165)	3.38 (0.165)	9	3.05 (0.016)	2.99 (0.051)	2.96 (0.051)	2.96 (0.051)
5	3.17 (0.136)	-	3.20 (0.145)	3.20 (0.144)	10	2.54 (0.013)	2.56 (0.066)	2.58 (0.077)	2.58 (0.077)

To describe the planarity of molecular systems, in the present article we propose using the average deviation of heavy (non-hydrogen) atoms from the best-fit plane through their coordinates as a quantitative index INP. The best fit plain

$$\beta_0 + \beta_x x + \beta_y y + \beta_z z = 0 \quad (1)$$

was obtained by minimizing the orthogonal distances of heavy atoms, following the principles of orthogonal distance regression.

$$\beta = \arg \min_{\beta} (\beta^+ A^+ A \beta / \beta^+ E \beta) \quad (2)$$

In this context, $\beta = (\beta_0, \beta_x, \beta_y, \beta_z)$ defines the parameters of the plane, matrix A contains the atomic coordinates, and matrix E is close to the identity matrix (however $E_{11} = 0$). The matrices are given below:

$$A = \begin{pmatrix} 1 & x_1 & y_1 & z_1 \\ 1 & x_2 & y_2 & z_2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & x_N & y_N & z_N \end{pmatrix}, \quad E = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (3)$$

To solve equation (2), we use the steepest descent iterative procedure. For the molecular library under consideration the value INP deviates from 0 Å for planar system to 0.79 Å for maximum unplanar.

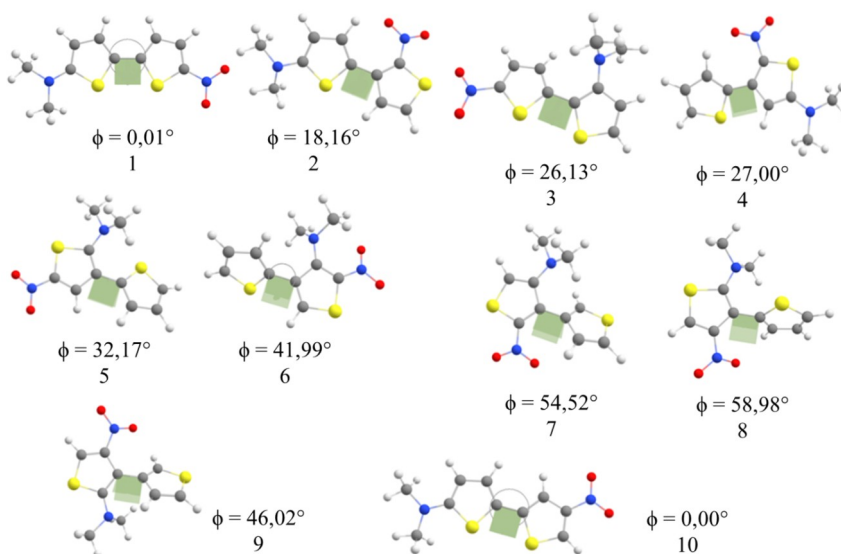


Figure 3. Structures of Effenberger dye isomers for which the best agreement between TD-DFTB and TD-DFT was obtained ($\Delta E < 0.1$ eV). Dihedral angles ϕ are given, according to B3LYP.

Structure 10 (fig. 5) noticeably deviates from the general trend. The structure is planar, with a dihedral angle between the planes of the thiophene rings close to 0°, and spatially separated donor and acceptor groups. However, no intense electronic transition is obtained in the long-wavelength region of the spectrum for this molecule.

Two different parameter sets, auorgap-1-1 and mio-1-1, used for TD-DFTB calculations, give almost identical results. The differences between them are insignificant: the excitation energies differ, as a rule, in the second decimal place (± 0.01 – 0.02 eV), and the oscillator strength values in the third (± 0.001 – 0.005). Nevertheless, for individual structures, presented in fig. 6, the TD-DFTB approach with some types of the Slater-Koster parameters does not predict excited states corresponding to the HOMO→LUMO transition, which, on the other hand, is clearly visible in TD-DFT calculations with energies in the range of 3–4 eV. Among them are molecules characterized by a deviation from overall planarity of 10–60° for the dihedral angle between the planes of two thiophene rings. Among the rejected structures are both those that, according to TD-DFT data, demonstrate low absorption intensity ($f < 0.1$), and those that have large oscillator strength values ($f > 0.2$). This indicates that simplified parameterizations in TD-DFTB can lead to the loss of potentially relevant structures. Therefore, in high-throughput screening, it is advisable to use several independent sets of parameters to minimize the probability of missing promising structures.

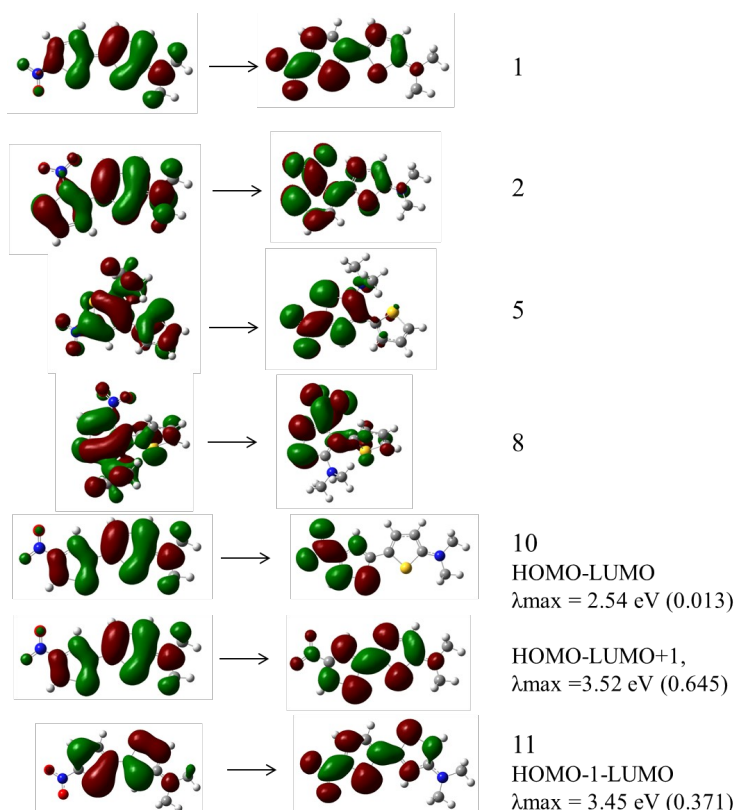


Figure 4. Molecular orbitals, corresponding to the HOMO $\rightarrow$ LUMO transition for selected structures.

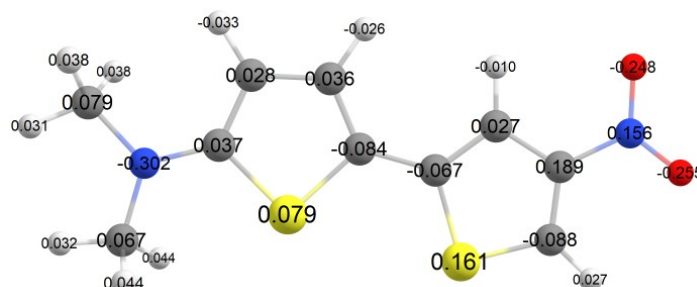


Figure 5. Mulliken distribution of partial atomic charges for structure 10.

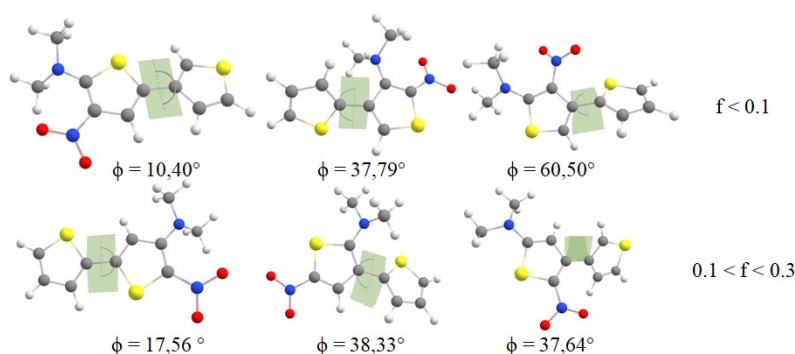


Figure 6. Isomers unidentified by TD-DFTB due to the absence of the predicted HOMO-LUMO transition in absorption spectrum. Dihedral angles and oscillator strength range are given, according to TD-DFT.

Quantitative Comparison. To quantify the agreement between TD-DFTB and TD-DFT for the entire isomer library, several statistical metrics based on the excitation energy values obtained are presented in Table 2. In particular, the coefficient of determination (R^2), which reflects the degree of

linear correlation between the samples; the root mean square deviation (RMSD), which characterizes the absolute difference in values; and the asymmetry index (A), which allows assessing the presence of a systematic shift between the data sets.

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum (E_{T\text{calc}} - E_{T\text{ref}})^2}{n}} \quad (4)$$

$$A = \frac{\sum (E_{T\text{calc}} - E_{T\text{ref}})}{n} \quad (5)$$

Table 2. Match metrics between TD-DFTB and TD-DFT results for excitation energies.

	CAM-B3LYP			B3LYP		
	3ob-3-1	auorgap-1-1	mio-1-1	3ob-3-1	auorgap-1-1	mio-1-1
R	0.05	0.05	0.04	0.682	0.681	0.691
A	-1.17	-1.12	-1.11	-0.28	-0.25	0.05
RMSD	1.34	1.28	1.27	0.51	0.47	0.47

Due to its long-range correction, the CAM-B3LYP functional, supposed for better description of charge-transfer excitations, tends to overestimate the energy of HOMO-LUMO gap, compared to other hybrid functionals such as B3LYP. Better reproduction of the values is obtained at the B3LYP level (RMSD $\approx$ 0.5 eV). Nevertheless, qualitative agreement in reflecting the variations in excitation energy depending on the change in the isomer structure is insufficient, confirmed by correlation coefficient $R^2 < 0.5$ for entire library. Linear approximation of the longest wavelength values obtained by TD-DFT and TD-DFTB is shown in the fig. 7 with corresponding equations:

$$\lambda_{B3LYP} = 0.338 \lambda_{3ob-3-1} + 1.832 \quad (6)$$

$$\lambda_{B3LYP} = 0.409 \lambda_{auorgap-1-1} + 1.770 \quad (7)$$

$$\lambda_{B3LYP} = 0.424 \lambda_{mio-1-1} + 1.739 \quad (8)$$

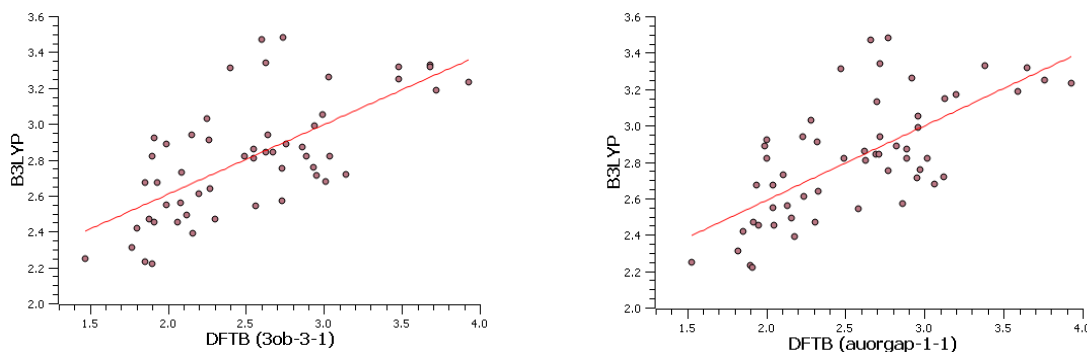


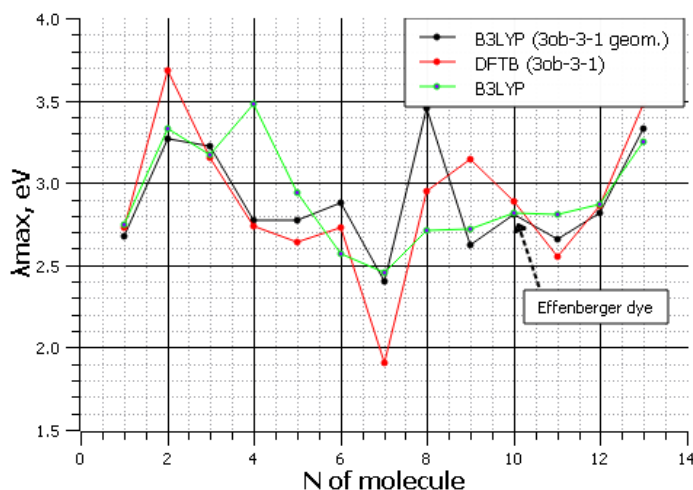
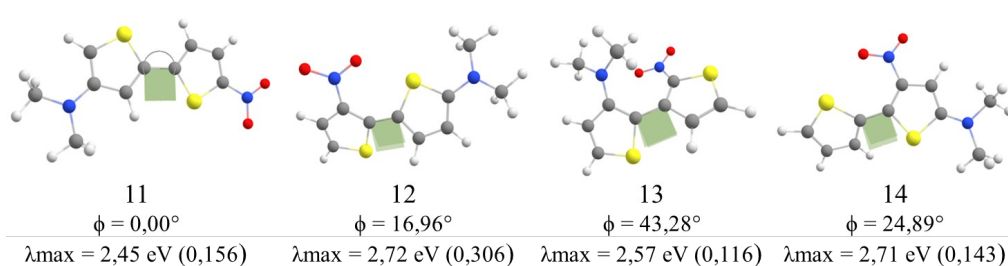
Figure 7. The linear approximation of energy values (eV) calculated using TD-DFT and TD-DFTB approaches.

Analysis of Selected Structures. To assess the extent to which the geometric parameters obtained in TD-DFTB affect the predicted spectral characteristics, we created a sample of 13 structures characterized by relatively intense absorption bands of HOMO-LUMO transition ($f = 0.116$ - 0.378 , 0.628). For these compounds, additional calculations were performed at the B3LYP/cc-pVDZ level using optimized geometries obtained by the TD-DFTB method and relevant statistical metrics are given in Table 3. It can be observed that the use of such a hybrid approach does not lead to a significant increase in the accuracy of reproducing the absolute values, however, provides improved qualitative reflection of relative energy changes during the transition from isomer to isomer, as shown in fig. 8. For some structures, the hybrid approach resulted in a significant improvement in the absorption energy reproduction compared to calculations based on the original geometries. In particular, this applies to structures 2 and 4, and structures 11 and 12, characterized by intriguing long-wavelength transitions at relatively low energies. Also interesting spectral properties were found for compounds 13 and 14 (fig. 9).

Table 3. Match metrics between TD-DFTB and TD-DFT results for selected structures.

	B3LYP			B3LYP with TD-DFTB geometry		
	3ob-3-1	auorgap-1-1	mio-1-1	3ob-3-1	auorgap-1-1	mio-1-1
R ²	0.625	0.530	0.526	0.746	0.701	0.703
A	0.02	0.05	0.03	0.03	0.02	0.04
RMSD	0.25	0.32	0.26	0.33	0.28	0.31

The most intense transitions in the long-wavelength part of the spectrum were eventually found for compounds 2 and 12. These molecules are distinguished by spatially separated and located on different thiophene rings donor and acceptor groups, which contributes to more efficient charge transfer upon excitation and the same dihedral angle between the key fragments being about 20°, which suggests that a certain curvature of the molecule, provided that a favorable electron distribution is maintained, does not interfere, and sometimes even promotes, an intense transition in the long-wavelength region. For compound 11, as in the case of compound 10, a more intense electronic transition is observed in the short-wavelength part of the spectrum (fig. 4). This indicates that, despite the presence of donor-acceptor fragments and the planarity of the structure, the nature of the electron density distribution does not contribute to effective charge transfer at lower energies.

**Figure 8.** Variations of electronic excitation energies in molecules from the Library C**Figure 9.** The structures for which absorption in the long-wavelength region is predicted. Transition energies and oscillator strengths are given according to B3LYP.

Applicability of TD-DFTB for High-Throughput Screening. The evaluation of the applicability of the TD-DFTB approach for preliminary screening of structural library shows that it is an effective tool for identifying compounds with potentially intense transitions in the long-wavelength part of the spectrum. At the same time, the results emphasize the need for individual analysis of structures, since some features of the geometry or electronic structure may remain “invisible” depending on the chosen set of Slater-Koster parameters. The use of several parameterization options is advisable, since although most of the obtained values are close to each other, each set has its limitations and selectively “does not see” certain molecules, in particular those of interest as dyes.

As can be seen from fig. 8, TD-DFTB satisfactorily reproduces the relative changes in transition energies for a number of structures, allowing to estimate the influence of structure modification on spectral properties. However, for individual compounds, such as 2 and 12, exhibiting the lowest absorption energies, the accuracy of TD-DFTB decreases significantly, which requires adjustment of the results. B3LYP refinement of transition energies for geometries optimized at the TD-DFTB level demonstrates improvements in correlation with the reference level of theory, allowing for significant computational savings: while geometry optimization at the DFTB level takes only minutes, at the DFT level it requires days.

Conclusion

The effectiveness of the TD-DFTB approach for predicting the spectral properties of dyes based on the Effenberger dye isomers library was investigated. It was shown that TD-DFTB is capable of qualitatively reproducing the main trends in the transition energy changes during structural modification of molecules, in particular for systems with spaced donors and acceptors. Despite a certain systematic error in the absolute values, TD-DFTB allows for the rapid and low computational cost identification of promising structures with intense transitions in the long-wavelength region of the spectrum.

The proposed hybrid approach, combining geometry obtained with DFTB and transition energies at the B3LYP level, provides a balance between accuracy and computational speed and is a promising tool for the initial screening of a large number of structures. The results demonstrate that TD-DFTB can be an effective method in organic dye studies, subjected to careful selection and further refinement for the most promising candidates.

Acknowledgement

V. V. I acknowledges grant BF/32-2021 (state registration number 0121U112886) from the Ministry of Education and Science of Ukraine.

References

1. Martinez-Mayorga K., Madariaga-Mazon A., Medina-Franco J. L., Maggiora G. The impact of chemoinformatics on drug discovery in the pharmaceutical industry. *Expert Opin. Drug Discov.* **2020**, 15(3), 293-306.
2. Humbeck L., Koch O. What can we learn from bioactivity data? Chemoinformatics tools and applications in chemical biology research. *ACS Chem. Biol.* **2017**, 12(1), 23-35.
3. Runge E., Gross E. K. Density-functional theory for time-dependent systems. *Phys. Rev. Lett.* **1984**, 52(12), 997.
4. Rüger R., Van Lenthe E., Heine T., Visscher L. Tight-binding approximations to time-dependent density functional theory—A fast approach for the calculation of electronically excited states. *J. Chem. Phys.* **2016**, 144(18).
5. Effenberger F., Wuerthner F., Steybe F. Synthesis and solvatochromic properties of donor-acceptor-substituted oligothiophenes. *J. Org. Chem.* **1995**, 60(7), 2082-2091.
6. <https://dftbplus.org/>
7. <https://dftbplus-recipes.readthedocs.io/en/latest/>
8. Zakharov A. B., Tsarenko D. K., Ivanov V. V. Topological characteristics of iterated line graphs in the QSAR problem: A multigraph in the description of properties of unsaturated hydrocarbons. *Struct. Chem.* **2021**, 32(4), 1629-1639.
9. Zakharov A. B., Ivanov V. V. A new approach in topological descriptors usage. Iterated line graphs in the theoretical prediction of physico-chemical properties of saturated hydrocarbons. *Kharkiv Univ. Bull. Chem. Ser.* **2019**, (32), 38-45.
10. Berdnyk M. I., Zakharov A. B., Ivanov, V. V. Application of L1-regularization approach in QSAR problem. Linear regression and artificial neural networks. *Methods Objects Chem. Anal.* **2019**, 14(2), 79-90.
11. Zakharov A. B., Dyachenko A. V., Ivanov V. V. Topological characteristics of iterated line graphs in QSAR problem: Octane numbers of saturated hydrocarbons. *J. Chemom.* **2019**, 33(9), e3169.

12. Zakharov A. B., Kyrpa M., Kyrychenko A. V., Kovalenko S. M., Kalugin O. N., Ivanov V. V., Adamowicz L. Towards the computational design of organic molecules with specified properties. *Struct. Chem.* **2025**, 36(2), 723-738.
13. Papaconstantopoulos D. A., Mehl M. J. The Slater–Koster tight-binding method: a computationally efficient and accurate approach. *J. Phys. Condens. Matter.* **2003**, 15(10), R413.
14. <https://dftb.org/parameters/download.html>
15. Gaussian 09, Revision A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 12.05.2025

Accepted 25.06.2025

М. Кирпа, А. Захаров, В. Іванов. Оцінки методу TD-DFTB для широкомасштабного скринінгу органічних барвників.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, хімічний факультет, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

Досліджено ефективність напівемпіричного методу TD-DFTB (Time-Dependent Density Functional Tight Binding) у відтворенні спектральних властивостей органічних барвників на прикладі бібліотеки ізомерів тіофенвісного донорно-акцепторного барвника Ефпенбергера, відомого вираженою сольватохромією. Метою роботи було з'ясувати, наскільки придатним є прискорений підхід TD-DFTB для сучасних задач молекулярного дизайну, з необхідністю швидкої та надійної ідентифікації сполук з інтенсивними електронними переходами в довгохвильовій області УФ-Видимого спектру. Бібліотека містила 60 структур, в яких систематично варіювалися положення донорного (N,N-диметиламін) та акцепторного (NO₂) замісників, а також ступінь планарності π-каркаса. Для кожного ізомеру геометрія спочатку оптимізувалася на рівні DFTB, після чого енергії збудження розраховувалися за допомогою методу TD-DFTB. Отримані значення порівнювали з розрахунками TD-DFT (функціонали B3LYP та CAM-B3LYP), виконаними з геометріями, отриманими як методами DFT, так і DFTB. Така гібридна схема значно знижує обчислювальні витрати, дозволяючи проводити скринінг великих бібліотек без втрати точності. Наведено кореляцію між енергіями збудження, розрахованими за допомогою TD-DFTB та TD-DFT. TD-DFTB має тенденцію систематично занижувати енергії збудження, але значною мірою відображає сполуки з мінімальними енергіями збудження та високими силами осцилятора, що робить його надійним інструментом для початкового скринінгу. Було ідентифіковано кілька ізомерів з довгохвильовим поглинанням та достатньою інтенсивністю переходів, які є перспективними для подальшої модифікації. Таким чином, TD-DFTB у поєднанні з TD-DFT на оптимізованих геометріях DFTB демонструє оптимальний баланс між точністю та швидкістю попереднього скринінгу донорно-акцепторних барвників із заданими спектральними параметрами, що значно розширює можливості раціонального дизайну функціональних органічних матеріалів.

Ключові слова: молекулярний скринінг, органічні барвники, TD-DFTB, TD-DFT, донорно-акцепторні системи, довгохвильове поглинання.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 12.05.2025

Прийнято до друку 25.06.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

QUANTUM-CHEMICAL AND EXPERIMENTAL STUDY OF NITRAZINE YELLOW ON SILICA SURFACE

I. V. Khristenko^a, V. V. Ivanov^b

V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody sqr., Kharkiv, 61022 Ukraine

a) ✉ khristenko@karazin.ua

 <https://orcid.org/0000-0001-7227-8333>

b) ✉ vivanov@karazin.ua

 <https://orcid.org/0000-0003-2297-9048>

The article presents the results of a study on the spectral characteristics (UV-Vis region) of the indicator dye Nitrazine Yellow on the surface of organosilica materials. Experimental data are compared with the results of theoretical (quantum chemical) calculations. Several model scenarios were considered, in which the organosilica surface is represented by characteristic structural features, including isolated Si(OH) groups, vicinal Si(OH)–O–Si(OH) pairs, and geminal Si(OH)₂ groups.

Quantum-chemical calculations were carried out using *ab initio* Time-Dependent Density Functional Theory (TD-DFT), CAM-B3LYP functional and LANL2DZ basis set.

The results obtained indicate a satisfactory description of the influence of environmental effects on the absorption spectra of the three forms of nitrazine yellow over the silica surface.

Keywords: nitrazine yellow, silica surfaces, TD-DFT, UV/Vis absorption.

Introduction

The first reference in the literature to the indicator - 2,4-dinitrobenzene-azo-1-naphthol-3,6-disulfonic acid (Nitrazine Yellow, NY) dates back to 1934. Henry Wenker [1] described the synthesis and properties of the azo dye, which, according to the author, is a promising chemical indicator. Indeed, NY is used for the manufacture of indicator paper [1,2], in the analysis of food, fuels and lubricants [3-5]. Due to the fact that the color transition zone of the indicator is located at pH 7 (6.2-7.2), it is widely used in biochemical and medical research. [6]

Modern developments using NY are focused on the creation of reliable sensor materials. Using NY, a portable 3D analytical device based on microfluidic paper was developed for the determination of total ammonia in freshwater. [7]

When creating pH sensor materials, the indicator is introduced into the matrix by sorption, application as a sol-gel coating, or by adding a dye during fiber formation.

Most such materials show a clear visible color change when the acidity of the medium changes. The response of the sensors depends on the density of the tissue, the method of fixation, and the effect of the matrix on the molecule of the embedded indicator.

To produce functionalized nonwovens, the electrospinning method is used, when the formation and functionalization of nanofibers occurs in one step. The polymer solution (which already contains the dye) is exposed to an electric current, which promotes the formation of fibers with a diameter of about several hundred nanometers. The resulting nanofibers made of polycaprolactone (PCL) and polycaprolactone with chitosan showed a reverse color transition, but a significant difference was found between them. For the structure without chitosan, a slow reaction was observed, and for the nanofiber samples containing chitosan, a rapid color transition was observed. In addition, the color transition occurred in the pH range from 4 to 6 for nanofibers with chitosan, and for the polycaprolactone material - in a much wider pH range. [8]

According to the authors, this difference is due to the availability of the dye azo group. In the case of PCL fiber, interaction between the ether group of PCL and the azo group of NY is possible, and for fiber containing chitosan, interaction between the sulfate groups of the dye and the amino groups of chitosan is possible. The speed of the color transition reaction is affected by the presence of chitosan, which increases the hydrophilic nature of the nanofiber, so water molecules easily penetrate the material matrix and reach the dye molecules. In other words, the azo group is not directly involved in the interaction between polycaprolactone and chitosan fibers and remains available to water molecules, and the dye molecule is capable of deprotonation in an alkaline environment and, accordingly, can exhibit halochromic

behavior. Theoretical calculations confirmed the experimental observations on the different nature of the interaction of the dye with the polymer chains of polycaprolactone and chitosan. [9]

The possibility of fixing indicator dyes on an ion-exchange membrane with subsequent use as a fiber-optic pH sensor was investigated by the authors in [10]. For the sensor with the embedded NY, they observed a change in the dye dissociation constant and shifts in the absorption spectra. It was found that the characteristics of the resulting sensor are affected by the concentration of the immobilized dye, temperature, and ionic strength of the solution. The pH range of the color transition was 4.8-6.6.

Another interesting chemical approach for the stable immobilization of indicator molecules on textiles is grafting by polymerization [11], which involves the use of reactive monomers that under certain conditions go into the state of free radicals and activate the surface of textiles. In this work, we investigated the photo-grafting of the NY molecule onto the surface of cotton fabric. At the first stage, the NY dye is modified with glycidyl methacrylate (GMA) to obtain a photoreactive dye (GMA-NY), and then potassium persulfate thermally initiates the radical grafting of the functionalized NY onto cellulose. The treated cotton clearly changed color at different pH values. Dye modification and photoinitiation did not change its spectral characteristics. The color transition interval was 6-7. [11]

Guido et al. developed and investigated sol-gel halochromic pH sensors. [12] Using the sol-gel method, a hybrid structure based on 3-glycidypropyltrimethoxysilane (GPTMS) in the presence of acid (BF_3OEt_2 at different concentrations) and the dye NY was obtained, which was introduced into a textile matrix (Fig. 1).

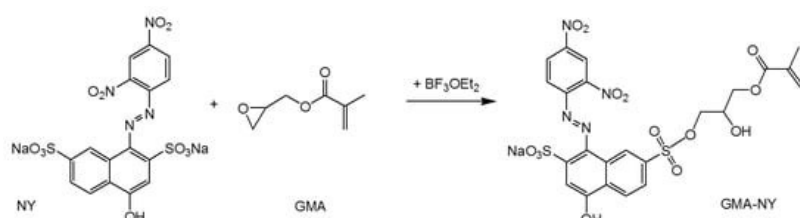


Figure 1. Scheme of preparation of a hybrid structure with the content of NY [12]

The experimental results have shown that the pH-sensitive properties of nitrazine yellow are preserved after covalent immobilization on a silanol matrix due to its sulfo group. The concentration of the catalyst (BF_3OEt_2) significantly affects the opening of the epoxy ring, the formation of the $\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$ bond, and the degree of density of the silica matrix. The more cross-linked the inorganic structure is, the more efficiently the hybrid halochromic matrix is fixed to the cotton.

Depending on the form of the dye, the presence of interactions with other molecules, and the nature of fixation in the matrix, the color transition interval and reaction rate can vary significantly. Therefore, the aim of this work was to model the corresponding complexes in the presence of aqueous medium and calculate the absorption spectra.

Experimental part

The initial NY solution was prepared by dissolving an exact weight of the indicator in distilled water. The indicator method was used to study the properties of the medium in the surface layer of sorbents (Table 1).

Table 1. The investigated sorbents

№	Sorbent	Modifier
1	Silica gel (SiO_2)	-
2	Silica gel with grafted n-propylamine groups	$\sim(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$
3	Silica gel with grafted diethyl ester groups of β -(propylamino)- α -dimethylphosphonic acid	$\sim(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{CH}_3)_2\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$
4	Silica gel with grafted β -(propylamino)- α -dimethylphosphonic acid groups	$\sim(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{CH}_3)_2\text{PO}(\text{OH})_2$

To a sample of each material (0.1 g), 5 ml of indicator solution with a concentration of 0.45 mmol L^{-1} was added. The solvent was removed by evaporation in a drying oven at a temperature

of 80-100 °C to a dry suspended state. The absorbance spectrum of NY adsorbed on the surface of the studied materials was measured on a Shimadzu UV-2600 spectrophotometer with an integrating sphere in the range of 300 – 700 nm with a step of 1 nm (slit width 2 nm).

Modelling of complexes

Preliminary NY calculations were carried out by us in [13] in order to highlight quantum-chemical approaches capable of giving adequate estimates of the spectral properties of the system in a reasonable time. According to the obtained data, a convenient method of calculation is DFT with the CAM-B3LYP functional. As a basis we used the double split pseudopotential basis LANL2DZ. The CAM-B3LYP functional gives a slightly underestimated absorption wavelength, but it proved to be significantly better than the B3LYP functional since the latter overestimates the wavelength enormously. This circumstance is due to the apparent intramolecular charge transfer in the molecule. Such situations lead to the necessity of using long-range-corrected exchange functionals and one of them is CAM-B3LYP. We also used a polarization-continuum approach to describe the effects of the water environment. All the calculations were performed using the Gaussian 09 quantum chemistry package [14].

In our calculations we have considered several variants of silicate clusters modeling surface silanol groups. The corresponding structures are presented in Fig. 2. In these clusters, the free valences of silicon were terminated by hydrogen atoms.

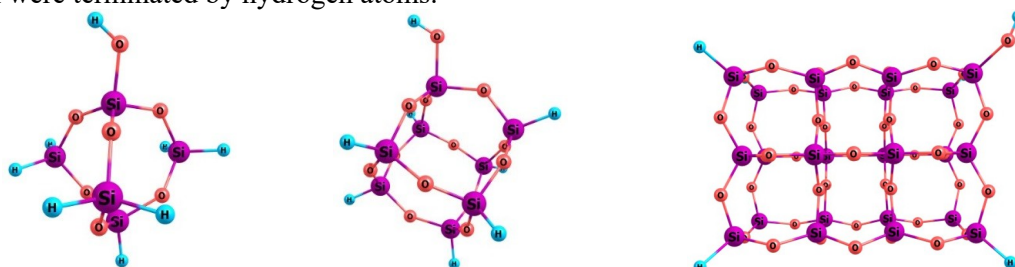


Figure 2. Samples of silanol clusters

We also considered a small cluster that included several silanol groups that realize typical structural situations. This cluster includes so-called vicinal and geminal groups Fig. 3

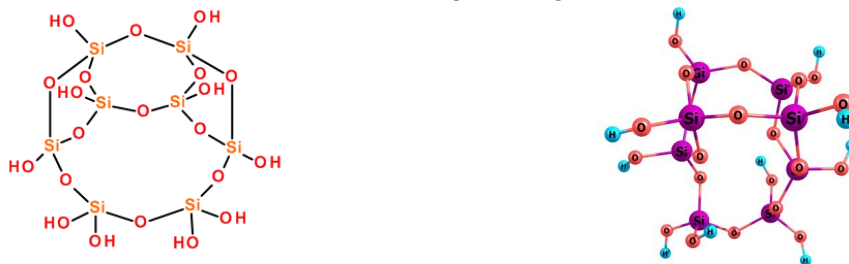


Figure 3. Schematic representation of the silanole fragment (left) and corresponding 3D structure after the geometry optimization (right).

The ability of NY to change color in solution is due to the presence of azo-hydrazone tautomerism (Fig. 4, A-B). In a neutral aqueous environment, the hydrazone tautomer (Fig. 4, B) is more stable, and in an alkaline environment ($\text{pH} > 7$), the dye molecule appears in a deprotonated form (Fig. 4, C), which leads to a long wave shift of the absorption band. The corresponding forms will be referred to as NY-A, NY-B, and NY-C.

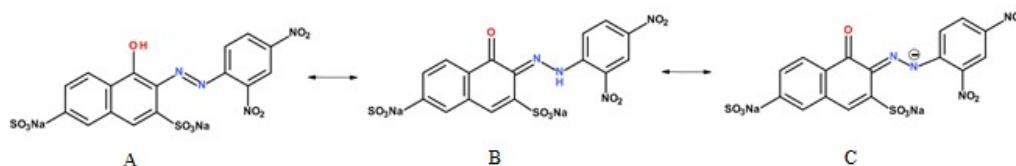


Figure 4. Light-absorbing forms of NY

Optimization of NY geometry together with clusters of Fig. 2 and Fig. 3 in four different positions relative to $-SO_3$ and $-NO_2$ groups gave an opportunity to form the structure of possible complexes. Some typical ones are shown in Fig. 5.

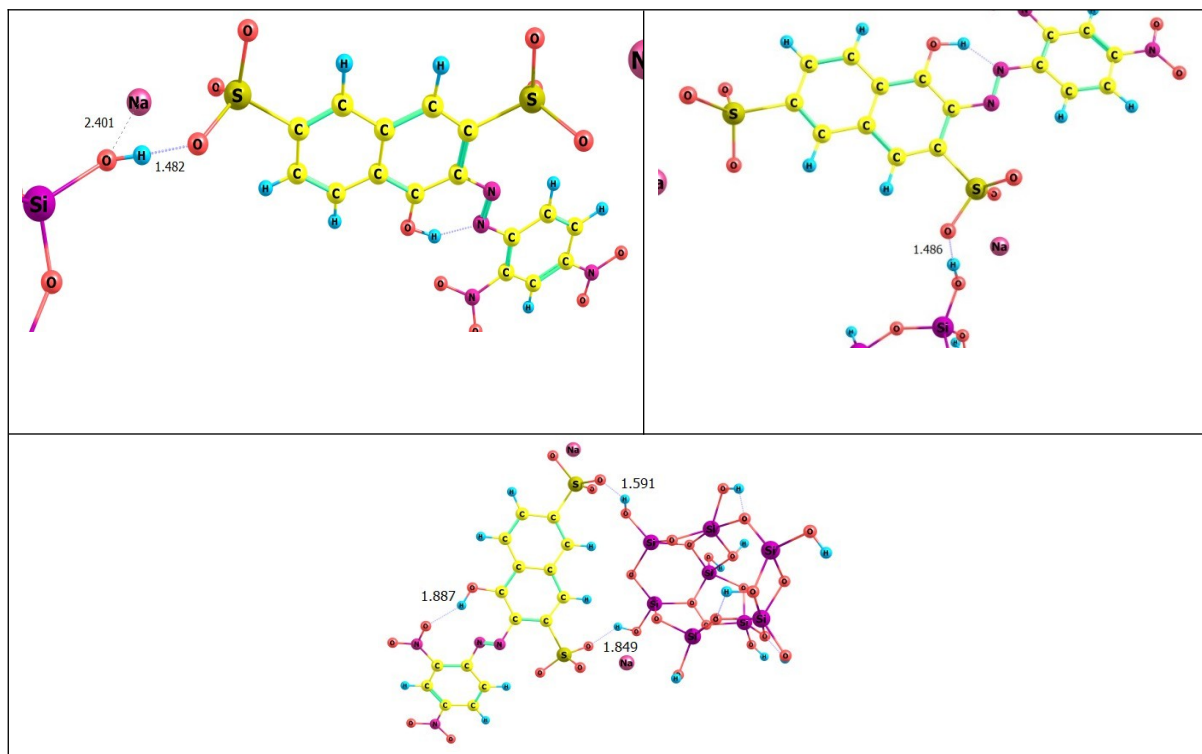


Figure 5. Typical complexes of NY with silanol surface.

Calculations of the NY absorption spectra over the surface of modified organosilica with the description of the medium effects at the level of polarization-continuum model were carried out for different models of complexes (Fig. 5). The calculations showed a relatively small influence of the structures of complexes with silanol groups on the spectrum. For example, while NY-A absorbs at 445 nm in aqueous medium, it absorbs at 432 nm on the surface according to CAM-B3LYP calculations. The first long-wavelength transition of the NY-C form in aqueous medium absorbs at 629 nm, while at the surface – 613 nm. The correspondence between the experimental and calculated data can be seen in Fig. 6. Here the calculated data for the forms NY-A and NY-B are shown in yellow color, whereas the absorption of the deprotonated form is shown in blue.

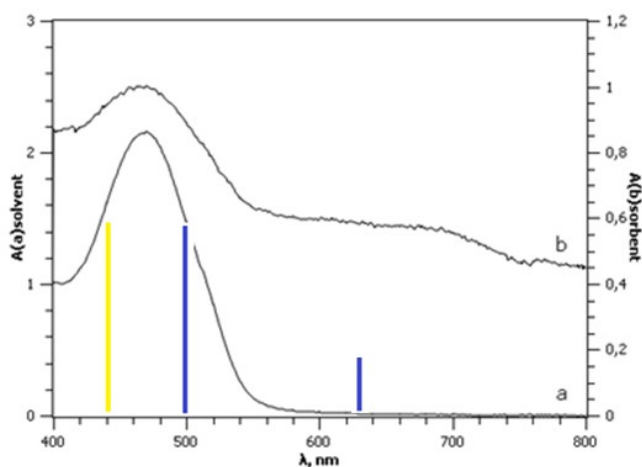


Figure 6. Absorption of the indicator in solution over the sorbent (a) and on the surface of silica gel modified with dimethoxysilane $SiO_2 \sim O-Si(OCH_3)(CH_3)_2$ (b)

In general, it can be seen that the calculated data are in satisfactory agreement with the experimental data.

Conclusion

It is known that silanol groups on the surface of unmodified silica differ in terms of pKa. [15, 16] Chemical modification of the silica surface results in a greater diversity of surface sites differing in their acidity. Analysis of the absorption spectra of NY adsorbed on the surface of various organosilica materials, in combination with theoretical calculations, enables a more accurate evaluation of the influence of different local environments on the spectral characteristics of the indicator.

The presented work describes the application of a quantum-chemical method for calculating the spectral properties of the NY indicator on a silicon surface. It is shown that a satisfactory description of the spectrum can be achieved using a relatively cost-effective method in a sufficiently simple double-split basis.

Acknowledgement

This work was supported by the Ministry of Education and Science of Ukraine (grant BF/32-2021, registration number 0121U112886).

References

1. Wenker H. Nitrazine Yellow, a New Indicator *Ind. Eng. Chem.* **1934**, 26 (3), 350 <https://doi.org/10.1021/ie50291a027>
2. Wenker H., Elizabeth N.J. Azo Dyes. United States Patent 1975340, 1934
3. Sabnis R.W. Handbook of Acid-Base Indicators. CRC Press, New York. 2008, 398 p. <https://doi.org/10.1201/9780849382192>
4. Mao Z., Lu J., Lu Z., Wang Z., Zhou W. Reagent and method for identifying fresh and stale rice *Chem. Abstr.* 2006, 144, 232019.
5. Gutman I. R., Mil'man V. M., Vladimirskaia A.Y. Determination of the acidity of distillates of diesel fuels and kerosines. *Chem. Abstr.* 1968, 68, 61300.
6. Brown J. E., Diaz L., Christoff-Tempesta T., Nesbitt K. M., Reed-Betts J., Sanchez J., Davies K.W. Characterization of Nitrazine Yellow as a Photoacoustically Active pH Reporter Molecule *Anal. Chem.* 2015, 87(7), 3623–3630. <https://doi.org/10.1021/ac503515k>
7. Jonathan J. P., Almeida M., Sray L., McKelvie I., Kolev S. Development of a micro-distillation microfluidic paper-based analytical device as a screening tool for total ammonia monitoring in freshwaters. *Analytica Chimica Acta* 2019, 1079, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.05.050>
8. Trovato V., Vitale A., Bongiovanni R., Ferri A., Rosace G., Plutino M.R. Development of a Nitrazine Yellow-glycidyl methacrylate coating onto cotton fabric through thermal-induced radical polymerization reactions: A simple approach towards wearable pH sensors applications. *Cellulose* **2021**, 28(2), 3847–3868. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03733-w>
9. Van der Schueren L., De Meyer T., Steyaert I., Ceylan O., Hemelsoet K., Van Speybroeck V., De Clerck K. Polycaprolactone and polycaprolactone/chitosan nanofibres functionalised with the pH-sensitive dye Nitrazine Yellow. *Carbohydrate Polymers* **2013**, 91 (1), 284–293. doi: [10.1016/j.carbpol.2012.08.003](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.003)
10. Van der Schueren L., Hemelsoet K., Van Speybroeck V., De Clerck K. The influence of a polyamide matrix on the halochromic behaviour of the pH-sensitive azo dye Nitrazine Yellow. *Dyes and Pigments* **2012**, 94 (3), 443–451. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2012.02.013>
11. Ielo I., Giacobello F., Sfameni S., Rando G., Galletta M., Trovato V., Rosace G., Plutino M. R. Nanostructured Surface Finishing and Coatings: Functional Properties and Applications. *Materials (Basel)* **2021**, 14(11), 2733. <https://doi.org/10.3390/ma14112733>
12. Guido E., Colleoni C., De Clerck K., Plutino M.R., Rosace G. Influence of catalyst in the synthesis of a cellulose based sensor: Kinetic study of 3-glycidoxypolytrimethoxysilane epoxy ring opening by Lewis acid. *Sens Actuators, B Chem.* **2014**, 203, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.06.126>

13. Христенко І. В., Іванов. В. В. Спектри поглинання індикатора нітразиновий жовтий. Експериментальні дані та квантовохімічні оцінки. *Kharkiv University Bulletin. Chemical Series*. **2024**, 42(65), С. 68-76. <https://doi.org/10.26565/2220-637X-2024-42-08>
14. Gaussian 09, Revision A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
15. Onizhuk M.O., Panteleimonov A.V., Kholin Yu. V., Ivanov V.V. Dissociation constants of silanol groups of silic acids: quantum chemical estimations. *Journal of Structural Chemistry* **2018**, 59(2), 261-271. <https://doi.org/10.1134/S0022476618020026>
16. Khristenko I.V., Panteleimonov A.V., Iliashenko R. Yu., Doroshenko A.O., Ivanov V.V., Tkachenko O.S., Benvenuti E.V., Kholin Yu.V. Heterogeneous polarity and surface acidity of silica-organic materials with fixed 1-n-propyl-3-methylimidazolium chloride as probed by solvatochromic and fluorescent dyes. *Colloids and Surfaces A*. **2018**, 538, 280-286. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.11.018>

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 14.05.2025

Accepted 25.06.2025

І. В. Христенко, В. В. Іванов. Квантово-хімічне та експериментальне дослідження нітразинового жовтого на поверхні кремнезему.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

У статті представлено результати дослідження спектральних характеристик (УФ-область) індикаторного барвника нітразинового жовтого (NY), адсорбованого на поверхні кремнійорганічних матеріалів. Експериментальні дані порівнюються з результатами теоретичних (квантово-хімічних) розрахунків.

В спектрах поглинання спостерігається значне розширення смуг поглинання NY, що обумовлено різноманітним утворенням комплексів барвника з поверхневими групами. Враховуючи, що поверхня кремнезему має складну будову, розглянуто кілька модельних сценаріїв, в яких поверхня кремнійорганічних матеріалів представлена характерними структурними особливостями, зокрема ізольованими групами Si(OH), віцинальними парами Si(OH)-O-Si(OH) та гемінальними групами Si(OH)₂.

Квантово-хімічні розрахунки були проведені з використанням ab initio теорії функціоналу густини, залежного від часу (TD-DFT), функціоналу CAM-B3LYP та базисного набору LANL2DZ.

Одержані результати свідчать про задовільний опис впливу навколишнього середовища на спектри поглинання трьох форм нітразинового жовтого на поверхні кремнезему.

Ключові слова: нітразиновий жовтий, поверхня кремнезему, TD-DFT, УФ/Видиме поглинання.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 14.05.2025

Прийнято до друку 25.06.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

ПЕРЕВІРКА ПРОГНОСТИЧНОЇ ЗДАТНОСТІ ДЕЯКИХ ФУНКЦІЙ РОЗПОДІЛУ ЙМОВІРНОСТЕЙ У ТЕСТОВОМУ АНАЛІЗІ

А.В. Пантелеймонов^а, Н.О. Нікітіна^б

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

а) ✉ panteleimonov@karazin.ua
б) ✉ nikitina@karazin.ua

 <https://orcid.org/0000-0003-0265-1264>
 <https://orcid.org/0000-0002-8792-4403>

Запропоновано комплексний метод оцінки прогностичної здатності функцій розподілу ймовірностей виявлення аналіту в методиках якісного хімічного аналізу. За результатами розрахунків визначені функції розподілу ймовірностей, які характеризуються максимальною прогностичною здатністю.

Ключові слова: тестовий аналіз, криві ефективності, область ненадійності, перехресне оцінювання, функції розподілу ймовірностей, статистичні критерії адекватності.

Вступ

Підвищений інтерес хіміків-аналітиків до тестових методів аналізу обумовлюється їхньою експресністю та відносною простотою виконання. Не викликає сумніву необхідність тестових методик для аналізу токсичних речовин у навколишньому середовищі [1-4], харчових продуктах [4, 5] та товарах загального вживання [4, 6]. Тестові аналізи можуть бути корисними також при медичній діагностиці, нарко- та допінг-контролі [7, 8]. Разом із збільшенням на ринку кількості тест-систем, бурхливо розвиваються і теоретичні методи визначення метрологічних характеристик методик тестового аналізу [9-14]. Підбір функцій розподілу ймовірностей та оцінка їхніх параметрів у процедурах якісного аналізу з бінарним відгуком та методиках напівкількісного визначення – добре досліджена проблема [9, 10, 14-16]. У той же час досить мало уваги приділено такому аспекту, як оцінка прогностичної здатності таких моделей.

Найчастіше потрібно оцінити значення порогової концентрації [10, 15] за ймовірності виявлення компонента, що виходить за межі дослідженої області ненадійності тестової реакції. В даній роботі, для цієї мети, застосовувалася процедура перехресного оцінювання – метод дослідження прогностичної здатності математичних моделей.

Загальні відомості про тестові методики

Поряд із вражаючим розвитком методів кількісного аналізу, безперервно розширюється і сфера застосування якісного аналізу. У якісному аналізі широко використовуються методики виявлення з бінарним відгуком (аналіт виявлений / аналіт не виявлений, ТАК / НІ), що не передбачає, зазвичай, використання дорогого обладнання, доставки проб до лабораторії, залучення висококваліфікованого персоналу [9, 10]. Виявлення може виконуватися за допомогою методик з органолептичною фіксацією аналітичного сигналу, що безпосередньо дають висновок про присутність або відсутність аналіту в пробі (до таких методик відносяться, наприклад, поширені "spot tests"). Широко застосовуються і методики, що використовують для вимірювання сигналу інструментальні методи і дозволяють встановити, чи є аналіт у пробі в концентрації, що перевищує заздалегідь встановлену межу. Обидва типи методик відносять до процедур скринінгу [9, 10, 12].

Аналітичним сигналом для цих методик може бути виникнення, або зміна, забарвлення при хромогенній реакції, виникнення або гасіння флуоресценції, утворення осаду, поява запаху, прискорення або інгібування ферментативних реакцій, зміни в життєдіяльності організмів та ін [9, 17].

Як середовище для проведення реакцій виявлення використовуються індикаторні реагентні папери, пінополіуретан, желатинові плівки, модифіковані кремнеземи, індикаторні трубки тощо [9-11, 17].

Основні вимоги до реакцій та методик, що використовуються:

- а) селективність по відношенню до однієї речовини або класу речовин;
- б) низька межа виявлення;
- в) простота реєстрації та стійкість аналітичного сигналу;
- г) експресність;
- д) стійкість аналітичних форм під час зберігання. [9-11, 17].

Основний підхід до оцінки метрологічних характеристик методик з бінарним відгуком заснований на вивченні залежності ймовірності виявлення аналіту (P) з його концентрації (c), тобто. побудова кривих ефективності (рис. 1).

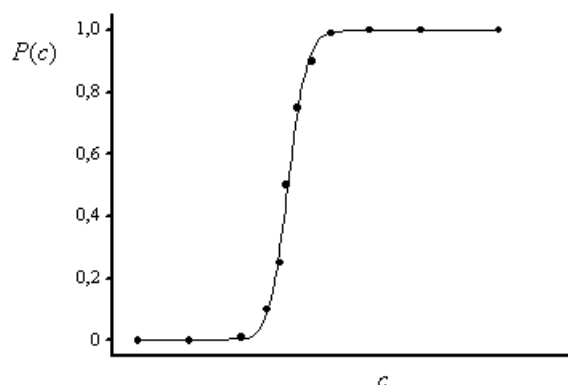


Рис. 1. Загальний вигляд кривої ефективності
Fig. 1. General view of the efficiency curve

Важливо, щоб криві ефективності отримували за фіксованих умов експерименту – розмірі та об'єму крапель розчинів, що змішуються (в краплинних методах), порядку їх змішування, температурі, тривалості, освітленні (у візуальних методах) тощо [10].

В ідеальному випадку крива ефективності є одиничною зміщеною функцією Хевісайда [9]:

$$P(c) = \begin{cases} 0, & c < c^* \\ 1, & c > c^* \end{cases} \quad (1)$$

де c^* – деяка гранична концентрація. У цьому випадку методика з бінарним відгуком завжди призводить до виявлення аналіту при $c > c^*$ (область нульової ймовірності помилки I роду) і висновку про його відсутність при $c < c^*$ (область нульової ймовірності помилки II роду).

На практиці порогова концентрація розмивається в інтервал ненадійності (Δc) – інтервал концентрацій аналіту, в якому для частини ідентичних проб приходять до позитивного висновку про присутність аналіту, а в частині – до негативного. Таким чином, замість порогової концентрації c^* доводиться обговорювати ліву і праву межі інтервалу ненадійності. Ключовою метрологічною характеристикою методики виявлення з бінарним відгуком було запропоновано вважати інтервал ненадійності [9, 10]. Оскільки при скринінгу важливіше уникнути помилки I роду, як верхню межу доцільно прийняли $c_{99\%}$ (при концентраціях, що перевищують $c_{99\%}$, $\alpha < 1\%$), а нижнім пороговим значенням вважали $c_{5\%}$. Вперше детальне дослідження такого інтервалу було проведено М.П. Комарем [18].

Процедури оцінки параметрів кривих ефективності

На практиці криву ефективності підбирають як функцію, що апроксимує емпіричну залежність частот виявлення $P^{\text{емп}}$ від c . Для отримання такої залежності вибирають кілька (M) концентрацій c_i всередині інтервалу ненадійності, для кожної з них проводять N_i випробувань, фіксують число позитивних результатів виявлення аналіту (n_i) та обчислюють емпіричну частоту виявлення аналіту [9, 10]:

$$P_i^{\text{emp}} = \frac{n_i}{N_i} \quad (2)$$

Для апроксимації залежності P^{emp} від c можна, в принципі, використовувати будь-яку неспадну функцію, обмежену 0 і 1. Такі властивості мають, наприклад, інтегральні функції розподілу випадкових величин [9, 19].

В даній роботі для оцінки прогностичної здатності використали 3 види функцій – експоненційного, логістичного та нормального розподілів відповідно до рекомендацій, що висловлено в роботі [10].

Таблиця 1. Функції розподілу, випробувані при апроксимації кривих ефективності

Table 1. Distribution functions tested at approximation efficiency curves

Розподіл Distribution	Вираз для $P(c)$, область визначення, підгінні параметри Expression for $P(c)$, domain of definition, fitting parameters
Експоненційний Exponential	$P(c) = 1 - \exp\left(\frac{-c-a}{b}\right), a < c < \infty, a > 0, b > 0$
Логістичний Logistic	$P(c) = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{-c-k}{t}\right)}, k < c < \infty, k > 0, t > 0$
Нормальний Normal	$P(c) = \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^c \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{\bar{c}-x}{s}\right)^2\right) dx, -\infty < c < \infty, \bar{c} > 0, s > 0$

Прогностична здатність функцій розподілу ймовірностей

У роботах [9, 10, 20] досліджувалося адекватність апроксимуючих функцій, проте доволі часто виникає потреба оцінити значення концентрацій, що виходять за межі дослідженої області ненадійності тестової реакції. Задля підвищення надійності отриманих оцінок, необхідно дослідити прогностичну здатність математичної моделі, яку не надає проста апроксимація за допомогою нелінійного методу найменших квадратів.

Як метод дослідження прогностичної здатності математичних моделей, в роботі використовувався метод перехресного оцінювання.

Перехресне оцінювання (Cross-Validation) є процедурою оцінки точності прогнозування за допомогою даних із спеціальної тестової вибірки (використовується також термін крос-перевірна вибірка) шляхом порівняння точності прогнозу з тією, що досягається на навчальній вибірці, тобто на вибірці, за якою власне будувалася модель. Отже, модель будується за навчальною вибіркою, а точність прогнозу моделі оцінюється за тестовою вибіркою. В ідеалі, коли є досить велика вибірка, частину спостережень (наприклад, половину або дві третини) можна використовувати для навчальної вибірки, а спостереження – для тестової [21-22].

В роботі використали один з видів перехресного оцінювання – Leave one out cross validation. Суть його полягає в тому, що проводиться одиничне оцінювання однієї точки, решта – навчальна вибірка.

Спочатку, вилучаючи з розрахунків першу експериментальну точку (c_1, P_1) , решту емпіричних даних апроксимують заданою функцією і знаходять підгінні параметри. Використовуючи оцінки цих параметрів та концентрацію c_1 , обчислюють прогнозовану ймовірність P'_1 . Потім до навчальної вибірки повертають точку (c_1, P_1) та вилучають (c_2, P_2) . Процедuru повторюють N ітерацій, отримуючи набір прогнозованих значень ймовірностей для кожної концентрації P'_i , $i = 1 \dots N$.

Критерії адекватності прогностичної спроможності функцій розподілу ймовірностей

Застосовувався комплекс статистичних критеріїв відповідності підібраних методом перехресного оцінювання ймовірностей розподілів з емпіричними ймовірностями: коефіцієнт лінійної кореляції між P^{emp} та P^{CV} – прогнозованою ймовірністю, аналіз нев'язок та розрахунок статистики χ^2 , а також аналіз значень коефіцієнтів кореляції між підгінними параметрами.

Коефіцієнт лінійної кореляції розраховувався між ймовірностями, отриманими методом перехресного оцінювання та емпіричними за формулою

$$R = \frac{\sum (P^{CV} - \overline{P^{CV}})(P^{emp} - \overline{P^{emp}})}{\sqrt{\sum (P^{CV} - \overline{P^{CV}})^2 \sum (P^{emp} - \overline{P^{emp}})^2}} \quad (3)$$

Чим ближче розрахований коефіцієнт кореляції до 1, тим апроксимуюча функція вважалася адекватнішою.

Проводився, також, аналіз незважених нев'язок

$$\xi_i = P_i^{emp} - P_i^{CV} \quad (4)$$

За коливанням значень нев'язок від -1 до +1 відносно вісі P^{CV} робили висновок щодо адекватності моделі (чим рівномірніше розташування, тим адекватніша модель [23]).

Статистику χ^2 розраховували як

$$\chi^2 = \sum_i \xi_i^2 \quad (5)$$

Отримані значення статистики χ^2 порівнювали з критичним значеннями, у випадку виконання нерівності

$$\chi^2 < \chi_{f,5\%}^2 \quad (6)$$

де f – число ступенів свободи, $\chi_{f,5\%}^2$ – 5%-ва точка розподілу χ^2 з f ступенями свободи, модель визнавалася адекватною.

Оцінювали, також, значення коефіцієнтів кореляції між підгінними параметрами

$$s_{ij} = \frac{D_{ij}}{\sqrt{D_{ii} D_{jj}}}, \quad (7)$$

де D_{ij} , D_{ii} , D_{jj} – елементи коваріаційних матриць підгінних параметрів, розрахованих за алгоритмом, наведеним у [23]. При значеннях s_{ij} близьких до ± 1 модель перевизначена [9].

Експериментальні дані, результати та їх обговорення

Відомості про методики виявлення представлені в роботі [10]. Хромогенні реакції проводилися в розчинах, на фільтрувальному папері, реагентних індикаторних паперах, пінополіуретані, поверхні гелю метилкремніевої кислоти, фторопластових пластинах, желатинових плівках; досліджувалися реакції різного типу за участю широкого набору реагентів та аналітів.

Експериментальні дані за допомогою методу перехресного оцінювання апроксимувалися функціями експоненційного, нормального та логістичного розподілів Розрахунки проводилися за допомогою програмного пакету Matlab.

Для всіх методик були розраховані значення статистики χ^2 , коефіцієнти кореляції з емпіричними частотами, а також коефіцієнти кореляції між параметрами (таблиці 2-4).

Таблиця 2. Статистика χ^2 для експериментальних даних

Table 2. χ^2 statistics for experimental data

Методика* Method*	χ^2 , розраховані за рівнянням (5) χ^2 , calculated by the equation (5)			
	Експоненційний розподіл Exponential distribution	Логістичний розподіл Logistic distribution	Нормальний розподіл Normal distribution	$\chi_{f,5\%}^2$
2	2.24×10^{-2}	1.30×10^{-3}	1.40×10^{-3}	12.59
4	1.60×10^{-3}	1.10×10^{-3}	1.10×10^{-3}	14.07
5	1.54×10^{-2}	2.00×10^{-4}	2.00×10^{-4}	15.51
6	1.90×10^{-2}	2.90×10^{-3}	1.70×10^{-3}	12.59
7	4.09×10^{-2}	7.60×10^{-3}	6.70×10^{-3}	11.07
8	2.94×10^{-1}	3.70×10^{-3}	2.10×10^{-3}	9.49
9	6.49×10^{-1}	1.50×10^{-3}	3.10×10^{-3}	9.49
10	7.50×10^{-3}	9.00×10^{-4}	1.00×10^{-3}	14.07
11	8.10×10^{-3}	7.00×10^{-4}	5.00×10^{-4}	14.07

12	8.00×10^{-3}	2.00×10^{-3}	1.50×10^{-3}	11.07
13	1.00×10^{-2}	1.15×10^{-2}	1.14×10^{-2}	11.07
14	2.33×10^{-2}	8.10×10^{-3}	7.00×10^{-3}	11.07
15	2.93×10^{-2}	1.60×10^{-3}	1.80×10^{-3}	15.51
16	4.80×10^{-3}	8.00×10^{-4}	8.00×10^{-4}	14.07
17	1.74×10^{-2}	1.30×10^{-3}	1.00×10^{-3}	9.49
18	2.04×10^{-2}	1.50×10^{-3}	1.40×10^{-3}	12.59
19	2.04×10^{-2}	9.20×10^{-3}	9.70×10^{-3}	11.07
20	1.66×10^{-2}	9.00×10^{-4}	7.00×10^{-4}	11.07
21	2.73×10^{-2}	1.97×10^{-2}	1.93×10^{-2}	12.59
22	7.92×10^{-2}	1.02×10^{-2}	1.07×10^{-2}	7.81
23	2.00×10^{-3}	2.40×10^{-3}	2.70×10^{-3}	14.07
25	1.74×10^{-2}	4.00×10^{-4}	5.00×10^{-4}	12.59
26	3.56×10^{-1}	3.00×10^{-4}	9.00×10^{-4}	7.81
27	2.70×10^{-3}	9.70×10^{-3}	9.30×10^{-3}	9.49

* тут і далі номер методики відповідає номеру в роботі [10]

* here and below, the method number corresponds to the number in the [10]

Таблиця 3. Коефіцієнти лінійної кореляції між емпіричними та прогностичними ймовірностями

Table 3. Linear correlation coefficients between empirical and predictive probabilities

Методика Method	R^2 , розрахований за рівнянням (3) R^2 , calculated by equation (3)		
	Експоненційний розподіл Exponential distribution	Логістичний розподіл Logistic distribution	Нормальний розподіл Normal distribution
2	0.945	0.995	0.995
4	0.983	0.988	0.988
5	0.930	0.999	0.999
6	0.941	0.992	0.995
7	0.913	0.974	0.977
8	0.818	0.992	0.996
9	0.592	0.997	0.993
10	0.956	0.994	0.994
11	0.956	0.996	0.997
12	0.943	0.985	0.988
13	0.862	0.844	0.845
14	0.913	0.966	0.970
15	0.919	0.995	0.995
16	0.969	0.995	0.994
17	0.923	0.993	0.994
18	0.927	0.994	0.995
19	0.947	0.966	0.964
20	0.923	0.995	0.996
21	0.838	0.887	0.889
22	0.773	0.958	0.956
23	0.979	0.974	0.970
25	0.945	0.999	0.998
26	0.961	0.999	0.998
27	0.991	0.968	0.970

Таблиця 4. Коефіцієнти кореляції між підгінними параметрами
Table 4. Correlation coefficients between fitted parameters

Методика Method	s_{ij} , розраховані за рівнянням (7) s_{ij} , calculated by the equation (7)		
	Експоненційний розподіл Exponential distribution	Логістичний розподіл Logistic distribution	Нормальний розподіл Normal distribution
2	0.618	0.051	0.053
4	0.878	0.202	0.216
5	0.717	0.035	0.041
6	0.504	0.449	0.463
7	0.635	0.039	0.041
8	0.501	0.002	0.009
9	0.549	0.017	0.002
10	0.800	0.128	0.144
11	0.772	0.032	0.036
12	0.875	0.257	0.278
13	0.907	0.206	0.215
14	0.749	0.089	0.101
15	0.527	0.014	0.010
16	0.815	0.178	0.198
17	0.832	0.005	0.005
18	0.661	0.041	0.028
19	0.643	0.036	0.040
20	0.818	0.108	0.122
21	0.802	0.595	0.629
22	0.821	0.511	0.545
23	0.887	0.522	0.556
25	0.683	0.074	0.082
26	0.652	0.298	0.286
27	0.703	0.256	0.253

Аналіз описаних статистичних критеріїв показує наступні результати. За значеннями критерію χ^2 (табл. 2) всі апроксимуючі функції призводять до адекватних результатів. Значення коефіцієнтів лінійної кореляції між емпіричними та прогностичними ймовірностями (табл. 3), окрім поодиноких випадків (наприклад, спроба апроксимувати систему №9 експоненційним розподілом), також демонструють адекватність пропонованих моделей. Цікавішим виявився аналіз нев'язок та значень коефіцієнтів кореляції між підгінними параметрами для апроксимуючих функцій (табл. 4). Всі без виключення значення s_{ij} , розраховані для підгінних параметрів експоненційного розподілу перевищують 0.5, у деяких випадках сягаючи 0.91 (система №13), що вказує на доволі сильний взаємозв'язок між підгінними параметрами, що, у свою чергу, спричиняє негативний вплив на стійкість знайдених оцінок та їх прогностичну здатність. Більш того, для 80% методик розподіл нев'язок для експоненційної функції не призводить до адекватних результатів, натомість логістичний і нормальний розподіли показують характерну для адекватних моделей поведінку нев'язок. Характерний приклад наведений на рис. 2 (система №8).

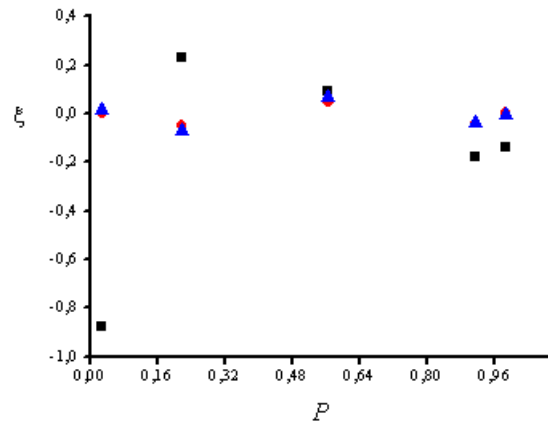


Рис. 2. Розподіл нев'язок у випадку апроксимації системи №8 функціями експоненційного (■), логістичного (▲) та нормального (●) розподілів

Fig. 2. Distribution of residuals in the case of approximation of system No. 8 by exponential (■), logistic (▲) and normal (●) distribution functions

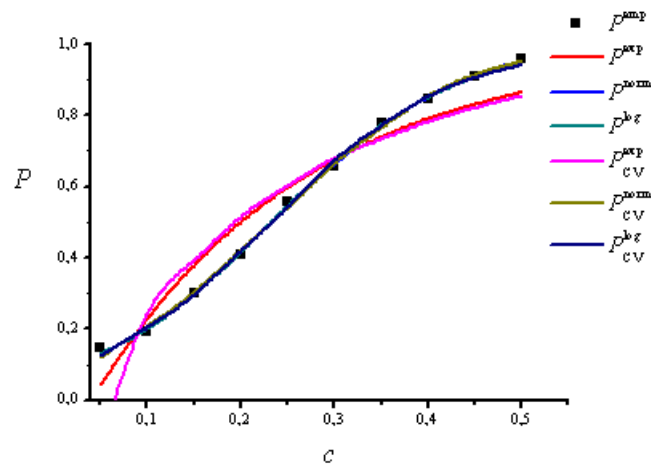


Рис. 3. Емпіричні залежності P^{emp} та їх апроксимація функціями експоненційного P^{exp} , логістичного P^{log} та нормального P^{norm} розподілів та їх співставлення з аналогічними, розрахованими з залученням процедури крос-валідації ($P_{\text{CV}}^{\text{exp}}$, $P_{\text{CV}}^{\text{log}}$, $P_{\text{CV}}^{\text{norm}}$ відповідно)

Fig. 3. Empirical dependences P^{emp} and their approximation by exponential P^{exp} , logistic P^{log} and normal P^{norm} distribution functions and their comparison with similar ones calculated using the cross-validation procedure ($P_{\text{CV}}^{\text{exp}}$, $P_{\text{CV}}^{\text{log}}$, $P_{\text{CV}}^{\text{norm}}$, respectively)

Успішність застосування методу перехресного оцінювання можна помітити й на наступному прикладі (тестова методика №5, рис. 3). Для експоненційного розподілу з крос-валідацією навіть візуально спостерігається відмінність функції, розрахованої за допомогою МНК від функції перехресного оцінювання.

Висновки

Запропоновано метод перевірки прогностичної здатності функцій експоненційного, логістичного та нормального розподілів для апроксимації області ненадійності тестових методик з бінарним відгуком. Для окреслення набору функцій, що можуть бути використані в оцінці метрологічних характеристик методик тестового аналізу, було використано процедуру перехресного оцінювання. Аналіз комплексу статистичних критеріїв адекватності показав перевагу використання функцій нормального та логістичного розподілів. Функція експоненційного розподілу не характеризується прийнятною прогностичною здатністю.

Список використаних джерел

1. Colorimetric water analysis: proven, practical, precise [Електроний ресурс]: <https://www.chemetrics.com/colorimetric-water-analysis-proven-practical-precise>
2. Reshetnyak E.A., Nemets N.N., Chernyshova O.S., Panteleimonov A.V., Ostrovskaya V.M. Visual Binary Testing of Hydrogen Sulfide Dissolved in Return Underground Local-Water of Oil and Gas Condensate Fields *Methods Objects Chem. Anal.* **2019**, 14(3), 146-152 <https://doi.org/10.17721/moca.2019.146-152>
3. Li Y.D., Chai H.H., Zhang S.J., Lu Z.S., Li C.M., Yu L. Sensitive and portable colorimetric detection of copper in water by cotton thread based pre-concentration *Microchemical Journal.* **2019**, 148, 735-742 <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.05.056>
4. Castro R.C., Ribeiro D.S.M., Santos J.L.M. Visual detection using quantum dots sensing platforms *Coordination Chemistry Reviews.* **2021**, 429, 213637 <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213637>
5. Jeber J.N., Hassan R.F., Hammood M.K., Al-Jeilawi O.H.R. Sensitive and simple colorimetric methods for visual detection and quantitative determination of semicarbazide in flour products using colorimetric reagents. *Sensors & Actuators: B. Chemical.* **2021**, 341, 130009 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130009>
6. Sukma W., Boonyakong C., Chaipheth T., Chamni S. A simple and rapid colorimetric detection of methanol, ethanol, and isopropanol and its application toward alcohol-based hand sanitizer quality control *Green Chemistry Letters and Reviews.* **2024**, 17(1), 2298982 <https://doi.org/10.1080/17518253.2023.2298982>
7. Singh R. Narration and Legacy of Important Chemical Spot Tests in Forensic Investigation. *Critical Reviews in Analytical Chemistry.* **2020**, on-line <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1785837>
8. Philp M., Shimmom R., Stojanovska N., Tahtouh M., Fu S. Development and validation of a presumptive colour spot test method for the detection of piperazine analogues in seized illicit materials. *Anal. Methods*, **2013**, 5 (20), 5402. DOI: 10.1039/c3ay40511g
9. Пантелеймонов А.В. Нові хемометричні засоби обробки даних аналітичного експерименту. Автореферат дисертації на здобуття наук. ступ. канд. хім. наук за спец. 02.00.02 – аналітична хімія, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, 2009. – 18 с.
10. Panteleimonov A.V., Nikitina N.A., Reshetnyak E.A., Loginova L.P., Bugaevskii A.A., Kholin Y.V. Binary response procedures of qualitative analysis: metrological characteristics and calculation aspects. *Methods Objects Chem. Anal.* **2008**, 3 (2), 128-146.
11. Нікітіна Н.О. Тест-методи хімічного аналізу з візуальною індикацією: метрологічне забезпечення, нові тест-системи. Автореферат дисертації на здобуття наук. ступ. канд. хім. наук за спец. 02.00.02 – аналітична хімія, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, 2006. – 18 с.
12. Ríos A., Barceló D., Buydens L., Cárdenas S., Heydorn K., Karlberg B., Klemm K., Lendl B., Milman B., Neidhart B., Stephany R.W., Townshend A., Zschunke A., Valcárcel M. Quality assurance of qualitative analysis in the framework of the European project “MEQUALAN”. *Accred. Qual. Assur.* **2003**, 8, 68–77. <https://doi.org/10.1007/s00769-002-0556-x>
13. Cárdenas S., Valcárcel M. Analytical features in qualitative analysis. *Trends Anal. Chem.* **2005**, 24(6), 477-487. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.03.006>
14. Ellison S.L.R., Fearn T. Characterizing the performance of qualitative analytical methods: Statistics and terminology. *Trends Anal. Chem.* **2005**, 24(6), 468–476. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.03.007>
15. Trullols E., Ruisánchez I., Rius F.X. and Huguet J. Validation of qualitative methods of analysis that use control samples. *Trends in Anal. Chem.* **2005**, 24, 516. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.04.001>
16. Milman B., Konopel'ko L. Uncertainty of Qualitative Chemical Analysis: General Methodology and Binary Test Methods. *Journal of Analytical Chemistry.* **2004**, 59 (12), 1128-1141 DOI:10.1023/B:JANC.0000049712.88066.e7
17. Zolotov Y.A., Ivanov V.M., Amelin V.G. Chemical Test Methods of Analysis (Comprehensive Analytical Chemistry, Volume 36) 1st Edition. Publisher: Elsevier Science, 2002, 336 p.
18. Комарь М.П. Основи якісного хімічного аналізу. І. Іонні рівноваги. – Харків: Вид-во Харківського університету, 1955. – 448 с.

19. Hastings N. A. J., Peacock J. B. Statistical Distributions. Publisher: Architectural Press, 1974, 144 p.
20. Reshetnyak E.A., Nikitina N.A., Loginova L.P., Ostrovskaya V.M. Limit of detection in test methods of analysis with visual indication: affecting factors. *Journal of analytical chemistry*. **2005**, 60(10), P. 982-989. <https://doi.org/10.1007/s10809-005-0221-8>
21. Kohavi R. A study of cross-validation and bootstrap for accuracy estimation and model selection. *Artificial Intelligence: Fourteenth International Joint Conference: 2 December 1995.*: abstr. – San Mateo, CA, **1995**, p. 1137–1143.
22. Richard R.P., Cook L., Dennis M. Cross-Validation of Regression Models. *Journal of the American Statistical Association*. **1984**, 79 (387), 575–583.
23. Холін Ю.В. Кількісний фізико-хімічний аналіз комплексоутворення в розчинах і на поверхні хімічно модифікованих кремнеземів: змістовні моделі, математичні методи та їх застосування. – Харків: Фоліо, 2000. – 288 с.

Конфлікт інтересів: автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Надіслано до редакції 19.05.2025

Прийнято до друку 25.06.2025

A.V. Panteleimonov, N.O. Nikitina. Verification of the predictive ability of some probability distribution functions in test analysis.

V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody sqr., 61022 Kharkiv, Ukraine

The increased interest of analytical chemists in test methods of analysis is due to their expressivity and relative simplicity of implementation. There is no doubt about the need for test methods for the analysis of toxic substances in the environment, food products and general consumer goods. Test analyses can also be useful in medical diagnostics, drug and doping control. Along with the increase in the number of test systems on the market, theoretical methods for determining the metrological characteristics of test analysis methods are also developing rapidly. The selection of a probability distribution function and the estimation of their parameters in qualitative analysis procedures with a binary response and semi-quantitative determination methods is a well-studied problem. At the same time, relatively little attention has been paid to such an aspect as the assessment of the predictive ability of such models. Most often, it is necessary to estimate the value of the threshold concentration for the probability of detecting a component that goes beyond the studied area of unreliability of the test reaction. In this work, for this purpose, the cross-evaluation procedure was used - a method for studying the predictive ability of mathematical models.

A comprehensive method for assessing the predictive ability of probability distribution functions for analyte detection in qualitative chemical analysis methods is proposed. Based on the results of calculations, probability distribution functions characterized by maximum predictive ability are determined. The increased interest of analytical chemists in test methods of analysis is due to their expressivity and relative simplicity of implementation. There is no doubt about the need for test methods for the analysis of toxic substances in the environment, food products and general consumer goods. Test analyses can also be useful in medical diagnostics, drug and doping control. Along with the increase in the number of test systems on the market, theoretical methods for determining the metrological characteristics of test analysis methods are also developing rapidly. The selection of a probability distribution function and the estimation of their parameters in qualitative analysis procedures with a binary response and semi-quantitative determination methods is a well-studied problem. At the same time, relatively little attention has been paid to such an aspect as the assessment of the predictive ability of such models. Most often, it is necessary to estimate the value of the threshold concentration for the probability of detecting a component that goes beyond the studied area of unreliability of the test reaction. In this work, for this purpose, the cross-evaluation procedure was used - a method for studying the predictive ability of mathematical models.

A method for testing the predictive ability of exponential, logistic, and normal distribution functions for approximating the uncertainty region of binary response test methods is proposed. A cross-validation procedure was used to define a set of functions that can be used to assess the metrological characteristics of test analysis methods. Analysis of the set of statistical adequacy criteria showed the advantage of using normal and logistic distribution functions. The exponential distribution function is not characterized by acceptable predictive ability.

Keywords: test analysis, efficiency curves, uncertainty region, cross-validation, probability distribution functions, statistical adequacy criteria.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 19.05.2025

Accepted 25.06.2025

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

АНАТОЛІЙ ПЕТРОВИЧ ШКУМАТ
(09.02.1951 - 31.03.2025)



31 березня 2025 р. закінчив свій земний шлях Анатолій Петрович Шкумат, багаторічний викладач нашого факультету. Він народився 9 лютого 1951 року в селі Шкумати Сумської області. Навчався в звичайній сільській школі, до якої кожного дня ходив пішки в інше село. Закінчив Протасівську середню школу в 1968 році. З 1968 по 1970 роках проходив строкову військову службу в ракетних військах збройних сил. Зацікавившись хімією в шкільні роки, проявивши наполегливість та цілеспрямованість, у 1971 році вступив до Харківського державного університету імені О. М. Горького на хімічний факультет. Після закінчення хімічного факультету залишився працювати на кафедрі органічної хімії. Кандидатську дисертацію захистив в 1983 році під керівництвом Віктора Костянтиновича Полякова. З 1975 по 1993 роки працював у науково-дослідній частині університету. З часом перейшов працювати на кафедру технічної хімії, зараз - кафедра хімічного матеріалознавства. Коло його наукових інтересів охоплювало синтез, властивості й використання органічних люмінофорів із п'яти та шестичленними гетероциклами, що містять Оксиген, Нітроген та Сульфур; реакційну здатність оксосполук ароматичного й гетероциклічного рядів. Анатолій Петрович був талановитим фахівцем у галузі органічної та фізико-органічної хімії, справжнім викладачем, який вмів поєднувати вимогливість з доброзичливим ставленням до студентів. Студенти його любили. Він викладав доволі широкий спектр дисциплін на хімічному, біологічному, геолого-географічному та медичному факультетах: сучасний органічний синтез, фізико-хімічні методи дослідження, хімія високомолекулярних сполук, біологічна та біоорганічна хімія, органічна та аналітична хімія для біологів, хімія нафти та газу для геологів, токсикологія: трансформація та моніторинг ксенобіотиків (міжфакультетська дисципліна), наркотичні засоби, психотропні та токсичні речовини синтетичного та рослинного походження. Він є автором більше 110 наукових праць, у тому числі 11 винаходів і патентів, а також п'яти навчальних посібників. Майже 30 років Анатолій Петрович виконував обов'язки ученого секретаря Вченої ради хімічного факультету. У спілкуванні з колегами та студентами він незмінно був привітним і нерідко дивував своєю ерудицією. Інтереси Анатолія Петровича не обмежувалися тільки органічною хімією. Він також займався вивченням лікарських трав, продуктів бджолярства, використанням їх у медицині, багато часу приділяв садівництву, любив живопис, серйозно займався фотографією. У пам'яті всіх, хто його знав, він залишиться як світла людина.

**ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА РЕШЕТНЯК
(26.11.1954 - 24.04.2025)**



24 квітня після тяжкої хвороби раптово пішла з життя кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімічної метрології Олена Олександрівна Решетняк. Все її життя було присвячено служінню нашому університету. Після закінчення середньої школи вона у 1972 році вступила до хімічного факультету, який закінчила в 1977 році і була залишена на кафедрі хімічної метрології. Працювала спочатку в НДЧ кафедри, потім стала асистентом, а в подальшому – доцентом. Десятки років вона викладала на кафедрі хімічної метрології загальні та спеціальні курси, підготувала і виховала не одно покоління випускників-хіміків.

Наукова діяльність Олени Олександрівни починалася під керівництвом доцента (а згодом професора) Лідії Павлівни Логінової і була присвячена іоноселективним електродам та їх використанню при дослідженні рідинних систем. Кандидатська дисертація "Влияние ионной среды на результаты ионометрии многокомпонентных систем" була успішно захищена в 1989 році в Київському університеті імені Тараса Шевченка.

Продовжуючи співпрацю з професором Л. Логіною, а в подальшому – і з професором Ю. Холіним, Олена Олександрівна поступово сформулювала свій самостійний напрям досліджень, який успішно розвивала останні роки. Він пов'язаний із створенням нових систем для експрес-аналізу об'єктів довкілля, харчових систем та оцінкою метрологічних характеристик методик визначення із використанням отриманих тест-систем. Новим напрямом було і впровадження систем для бінарного тестування з використанням одного зразка порівняння. Вона запропонувала використовувати желатинові шари фотоплівки для виготовлення індикаторних плівок для експрес-аналізу. Поведінку органічних реагентів та барвників в отриманих системах було ретельно вивчено, а результати роботи опубліковано в наукових виданнях міжнародного рівня. Це був новий напрям в аналітичній хімії для нашого факультету і України.

Олена Олександрівна не тільки систематично проводила науково-дослідну роботу, але й залучала до неї студентів, дипломників та аспірантів. Під керівництвом доцента О. Решетняк було захищено кандидатські дисертації Н. Нікітіної, Н. Івченко та В. Шевченка. Вона почала працювати над докторською дисертацією і суттєво просунулася в цьому напрямку.

Навчальні курси, які викладала Решетняк, були пов'язані з її науковими дослідженнями. Це «Аналітична хімія», «Йонні рівноваги в організованих розчинах», «Сучасні експрес-методи хімічного аналізу» та «Крапельний та тестовий аналіз в криміналістиці». Олена Олександрівна систематично вдосконалювала навчальний процес. Зустрічаючись з труднощами та невдачами, які бувають на будь-якому шляху, вона підбадьорювала себе та навколишніх фразою яку засвоїла ще в час навчання в музичній школі: «Помилився – грай далі!», і наполегливо йшла далі.

Багато уваги Олена Олександрівна приділяла профспілковій роботі. З 1989 р. вона очолювала профбюро хімічного факультету, а з 1995 була членом профкому університету, відповідала з питання охорони праці. Все, за що вона бралася, вона завжди робили «на відмінно».

Олена Олександрівна Решетняк була життєрадісною та доброзичливою, але в той же час принциповою людиною. Вона завжди була готова допомогти як студентам, так і колегам. Для всіх, хто її знав, її смерть є важкою втратою. Висловлюємо щирі співчуття рідним і близьким Олени Олександрівни. Пам'ять про неї буде зберігатися в наших серцях.

Kharkiv University Bulletin. Chemical Series. Issue 44 (67), 2025

ЕТИЧНІ НОРМИ ПУБЛІКАЦІЇ НАУКОВИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ЇХ ПОРУШЕННЯ.

Редакційна колегія робить все можливе для дотримання етичних норм, прийнятих міжнародним науковим товариством, і для запобігання будь-яких порушень цих норм. Така політика є важливою умовою плідної участі журналу в розвитку цілісної системи знань в галузі хімії та суміжних галузях. Діяльність редакційної колегії значною мірою спирається на рекомендації Комітету з етики наукових публікацій (Committee of Publication Ethics), а також на цінний досвід міжнародних журналів та видавництв. Подання статті на розгляд означає, що вона містить отримані авторами нові нетривіальні наукові результати, які раніше не були опубліковані. Кожну статтю рецензують щонайменше два експерти, які мають усі можливості вільно висловити мотивовані критичні зауваження щодо рівня та ясності представлення матеріалу, його відповідності профілю журналу, новизни та достовірності результатів. Рекомендації рецензентів є основою для прийняття остаточного рішення щодо публікації статті. Якщо статтю прийнято, вона розміщується у відкритому доступі; авторські права зберігаються за авторами. За наявності будь-яких конфліктів інтересів (фінансових, академічних, персональних та інших), учасники процесу рецензування мають сповістити редакційну колегію про це. Всі питання, пов'язані з можливим плагіатом або фальсифікацією результатів ретельно обговорюються редакційною колегією, рівно як спори щодо авторства та доцільність роздроблення результатів на невеличкі статті. Доведені плагіат чи фальсифікація результатів є підставами для безумовного відхилення статті.

STATEMENT ON THE PUBLICATION ETHICS AND MALPRACTICE. The Editorial Board has been doing its best to keep the ethical standards adopted by the world scientific community and to prevent the publication malpractice of any kind. This policy is considered to be an imperative condition for the fruitful contribution of the journal in the development of the modern network of knowledge in chemistry and boundary fields. The activity of the Editorial Board in this respect is based, in particular, on the recommendations of the Committee of Publication Ethics and valuable practice of world-leading journals and publishers. The submission of a manuscript implies that it contains new significant scientific results obtained by authors that were never published before. Each paper is peer reviewed by at least two independent experts who are completely free to express their motivated critical comments on the level of the research, its novelty, reliability, readability and relevance to the journal scope. These comments are the background for the final decision about the paper. Once the manuscript is accepted, it becomes the open-access paper, and the copyright remains with authors. All participants of the review process are strongly asked to disclose conflicts of interest of any kind (financial, academic, personal, etc.). Any indication of plagiarism or fraudulent research receives extremely serious attention from the side of the Editorial Board, as well as authorship disputes and groundless subdivision of the results into several small papers. Confirmed plagiarism or fraudulent research entail the categorical rejection of the manuscript.

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ. Журнал публікує статті російською, англійською та українською мовами. До публікації приймаються: огляди (за погодженням з редколегією); оригінальні статті, обсяг 6-10 журнальних сторінок; короткі повідомлення, обсяг до 3 журнальних сторінок. Крім звичайного списку літератури, в статті обов'язково повинен бути другий список, всі посилання якого дані латиницею. Правила підготовки цього списку наведені в розділі «Транслітерація» на сайті журналу. Обидва списки повинні бути повністю ідентичні. При рецензуванні статей один з критеріїв - наявність посилань на публікації останніх років. Стаття обов'язково повинна містити резюме російською, українською та англійською мовами. У всіх трьох необхідно вказати назву статті, прізвища авторів і ключові слова. Орієнтовний обсяг резюме - 1800 знаків (без урахування заголовку і ключових слів). Редакція приймає електронний (MS Word) і два роздрукованих (для харків'ян) тексту рукопису. Адреси вказані в розділі «Контакти» на сайті журналу. Супровідний лист до статті, виправленої відповідно до зауважень рецензента, повинен містити відповіді на всі зауваження. Подається електронний і один роздрукований (для харків'ян) варіант. Рукописи, які пройшли рецензування, прийняті до публікації і оформлені відповідно до правил для авторів, приймаються у форматі doc (не docx) електронною поштою (chembull@karazin.ua). Роздрукований варіант не потрібен. Докладніша інформація розміщена на сайті журналу <http://chembull.univer.kharkov.ua>.

INFORMATION FOR AUTHORS. Papers in Ukrainian, Russian and English are published. These may be invited papers; review papers (require preliminary agreement with Editors); regular papers; brief communications. In preparing the manuscript it is mandatory to keep the statement on the publication ethics and malpractice, which can be found on the web-site and in each issue. The article should contain summaries in English, Russian, and Ukrainian. In all three it is necessary to indicate the title of the article, the names of the authors and the keywords. The approximate volume of summary is 1800 characters (excluding the title and key words). The help in translation is provided by request for foreign authors.. Any style of references is acceptable, but all references within the paper must be given in the same style. In addition, the second, transliterated, list of references is required if at least one original reference is given in Cyrillic. See section "Transliteration" of the web-site for details. Please use papers of previous issues as samples when prepare the manuscript. The MS Word format is used. Standard fonts (Times New Roman, Arial, Symbol) are preferable. Figures and diagrams are required in vector formats. Figure captions are given separately. All figures, tables and equations are numbered. Please use MS Equation Editor or MathType to prepare mathematical equations and ISIS Draw to prepare chemical formulas and equations. The decimal point (not coma) is accepted in the journal. Please avoid any kind of formatting when prepare the manuscript. Manuscripts may be submitted to the Editor-in-Chief via e-mail chembull@karazin.ua. For more detailed information see the journal web-site <http://chembull.univer.kharkov.ua>.

Наукове видання

Вісник
Харківського національного університету
імені В.Н. Каразіна

Серія «Хімія»
Вип. 44 (67)
Збірник наукових праць
Українською та англійською мовами.

Технічний редактор:
Д.О. Анохін

Підписано до друку «03» липня 2025. Формат 60х84/8.
Зам. № 24/25. Ум.-друк. Арк. 6,96 Обл.-вид. арк. 8,7.
Тираж 100 пр. Ціна договірна.

61022, Харків, майдан Свободи, 4
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,
Видавництво Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна

Надруковано: ХНУ імені В.Н. Каразіна
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.
Тел.: 705-24-32

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.09