

Vilniaus universiteto
Fizikos fakulteto
Cheminės fizikos institutas

Lukas Mikalauskas
BIOAKTYVIŲJŲ JONINIŲ SKYSČIŲ BMR DOSY TYRIMAS

Magistrantūros studijų baigiamasis darbas

Cheminės fizikos studijų programa

Studentas

Lukas Mikalauskas

Darbo vadovas

dr. Vytautas Klimavičius

Instituto direktorius

prof. dr. Darius Abramavičius

Vilnius 2026

Turinys

1. Įvadas	3
2. Teorinis įvadas	3
2.1. Bioaktyvieji joniniai skysčiai	3
2.2. Branduolių magnetinis rezonansas.	5
2.3. DOSY BMR spektrometrija	10
3. Tyrimo metodika	13
4. Rezultatai ir jų aptarimas	14
4.1. [Cho][Gly] vandeninių mišinių ¹H DOSY BMR rezultatai	14
4.2. [Cho][Lys] vandeninių mišinių ¹H DOSY BMR rezultatai	16
4.3. [Cho][Trp] vandeninių mišinių ¹H DOSY BMR rezultatai	18
4.4. Anijonų įtaka mišinio struktūrai	20
5. Pagrindiniai rezultatai ir išvados	23
Santrauka	24
Abstract	25
Literatūros sąrašas	26
Priedas	30

1. Įvadas

Kambario temperatūros joniniai skysčiai (toliau JS) yra druskų rūšis, kuri yra sudaryta iš organinio katijono bei organinio arba neorganinio anijono. JS pasižymi žema lydymosi temperatūra ir žemu garavimo slėgiu [1], [2]. Dėl šių savybių JS dar yra vadinami „žaliaisiais“ tirpikliais. Dėl savo temperatūrinio stabilumo ir gero elektrinio laidumo, JS gali būti pritaikomi kaip elektrolitai elektrocheminiuose taikymuose. Keičiant įvairias anijono ir katijono posistemų kombinacijas galima derinti JS fizikines ir chemines savybes [3].

Viena iš JS klasių yra bioaktyvieji joniniai skysčiai (b-JS). Kitaip nei įprasti JS, b-JS anijonų ir katijonų posistemės yra sudarytos iš biomolekulių. Todėl manoma, kad jie yra suderinami su gyvaisiais organizmais. Ši savybė yra labai naudinga medicinos srityje, pavyzdžiui, netirpių vaistų tirpumui didinti vandenyje arba atlikti vaistų nešiklio funkciją [4], [5]. Norint tirti b-JS molekuliniame lygmenyje yra taikomi įvairūs eksperimentiniai metodai, kaip FTIR (Fourier transform infrared), Ramano ar UV spektroskopijos. Vienas iš tinkamiausių eksperimentinių metodų yra branduolių magnetinio rezonanso spektroskopija (BMR). BMR yra ganėtinai jautrus metodas, nes net maži molekulinės aplinkos pokyčiai lemia spektrinius pokyčius. Tuo pačiu, BMR metodas yra nedestruktyvus, greitas, tikslus, pasižymi spektrų atkartojamumu, tinkamas tirti visoms jonų poroms ir leidžia išnagrinėti molekulių struktūrą [6],[7],[8]. Vienas iš BMR metodų, tinkamas tirti molekulinę dinamiką, yra DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) metodas, kurį naudojant, įmanoma išmatuoti molekulės ar molekulių agregatų difuzijos koeficientus. Išmatavus difuzijos koeficientą, esant skirtingai b-JS vandeninių mišinių koncentracijai, galima įvertinti procesus, vykstančius šiose sistemose molekuliniame lygmenyje. Atsižvelgiant, kas paminėta aukščiau, suformuluojamas darbo tikslas - ištirti cholino pagrindo bioaktyviųjų joninių skysčių vandeninių mišinių difuzijos koeficiento priklausomybę nuo joninio skysčio molinės dalies taikant ^1H DOSY BMR metodiką. Tikslui pasiekti yra suformuluojami uždaviniai:

1. Užregistruoti cholino glicinato [Cho][Gly], cholino lizinato [Cho][Lys] ir cholino triptofanato [Cho][Trp] vandeninių mišinių ^1H DOSY BMR spektrus.
2. Atlikti DOSY eksperimentinių duomenų spektrinę analizę, įvertinti difuzijos koeficiento pokyčius esant skirtingai joninio skysčio molinei daliai.
3. Įvertinti anijonų įtaką H_2O ir b-JS jonų difuzijos koeficientų priklausomybei.

2. Teorinis įvadas

2.1. Bioaktyvieji joniniai skysčiai

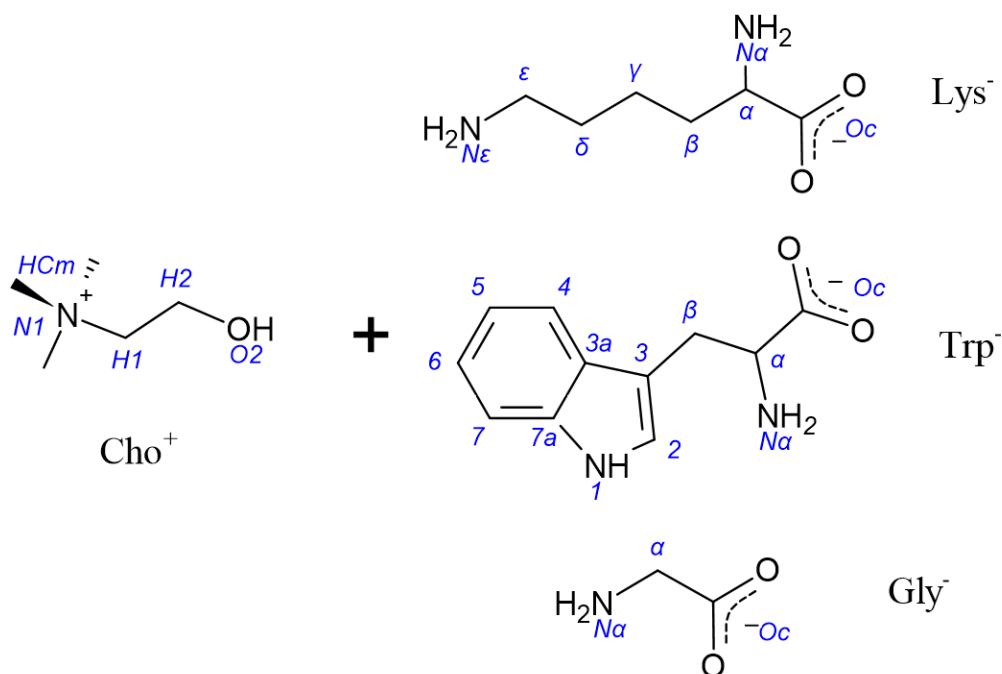
Joniniai skysčiai (JS) yra druskos, kurių lydymosi temperatūra yra žemesnė nei 100°C . Jie yra populiarūs dėl žemo sočiųjų garų garavimo slėgio, terminio stabilumo [9]. Tuo pačiu galima

derinti skirtingas katijono ir anijono poras, dėl kurių gali keistis bandinio fizikinės ir cheminės savybės. Joniniai skysčiai yra pritaikomi elektrochemijos, chromatografijos srityse [9-11], medžiagų sintezėje ar katalizėje [12]. Tuo pačiu galima pritaikyti pesticidų gamyboje [13] arba gaminant giluminius eutektinius tirpiklius (angl. deep eutectic solvents) [14]. Viena iš joninių skysčių klasių yra bioaktyvieji joniniai skysčiai (b-JS). b-JS gali būti suderinami su gyvaisiais organizmais. Dėl šios priežasties bioaktyvieji joniniai skysčiai yra populiarūs mokslinių tyrimų tema, kadangi b-JS galima pritaikyti įvairiose medicinos srityse. Pavyzdžiui, vaistų pernešimo sistemoje, gali padidinti vandenyje netirpių vaistų tirpumą, dar b-JS pasižymi antimikrobinėmis savybėmis [15].

Darbe buvo tiriami trys cholino pagrindo joniniai skysčiai: cholino lizinatas ([Cho][Lys]), cholino glicinatas ([Cho][Gly]) ir cholino triptofanatas ([Cho][Trp]) (1 pav). Cholinai $[\text{Cho}]^+$ yra svarbi molekulė, kadangi ji prisideda prie normalios kepenų funkcijos palaikymo, smegenų vystymosi veiklos [16], [17]. Cholinai yra linkę dalyvauti vandeniliniuose ryšiuose su kitomis molekulėmis, nes gali sudaryti vandenilinius ryšius per OH funkcinę grupę. Glicinas yra mažiausia amino rūgštis. Jis yra pritaikomas baltymų biosintezėje, atlieka neurotransmiterio funkciją [18]. Lizinas yra svarbus metabolizmo, žaizdų gijimo procesuose [19], [20]. Triptofanas dažniausiai yra pritaikomas sprendžiant miego sutrikimus ar gydant depresiją, dalyvauja baltymų biosintezėje [21], [22].

[Cho][Lys] vandeninis mišinys gali būti pritaikytas efektyviam biomasės pirminiam apdorojimui, ištraukiant didelį cukraus kiekį [23]. Tuo pačiu, turi potencialo CO_2 pagavimo srityse [24]. Cholino glicinatas ([Cho][Gly]) pasižymi didele CO_2 absorbcijos talpa, gali būti pritaikomas farmacijoje arba gali kontroliuoti bioplėvelių augimą [25-29]. Tiek [Cho][Lys], tiek [Cho][Gly] teoriškai gali būti pritaikomas norint išgauti retuosius žemės elementus [30]. [Cho][Trp] pasižymi didžiausia klampa palyginus su kitais cholino tipo joniniais skysčiais [31]. [Cho][Trp] vandeninis mišinys gali būti pritaikytas sėklų daiginimo procese [32]. Tuo pačiu gali padidinti netirpių vaistų tirpumą [33].

Šiame darbe tyrimai buvo atlikti vandeniniuose b-JS mišiniuose, kadangi yra atsižvelgiama į pritaikomumą medicinos srityse. Vanduo yra labiausiai paplitęs tirpiklis, todėl atsižvelgiama į vandens svarbą biologiniuose procesuose. Vandens molekulė yra polinė ir vandens molekulė gali atlikti tiek vandenilinio ryšio donoro, tiek akceptorius vaidmenį. ^1H DOSY BMR matavimas leistų charakterizuoti tarpusavio jonų bei jonų ir vandens sąveikas esant skirtingai b-JS molinei daliai.



1 pav. Cholino ir skirtingų anijonų cheminių grupių pozicijos.

2.2. Branduolių magnetinis rezonansas.

Atomo branduolys yra charakterizuojamas sukinio kvantiniu skaičiumi I . Branduolys yra patalpinamas magnetiniame lauke $\mathbf{B}$, kuris paprasčiausiu atveju yra nukreiptas z ašies kryptimi. Magnetiniame lauke išsigimęs sukininis energijos lygmuo skyla į lygmenis, kuriuos charakterizuoja magnetinis kvantinis skaičius $m_i = -I, -I + 1, \dots, I - 1, I$. Branduolys turi masę, tai tuo pačiu branduolys turi judesio kiekio momentą $\mathbf{L}$. Branduolys turi magnetinį dipolinį momentą $\boldsymbol{\mu}$. Magnetinio dipolinio momento ir judesio kiekio momento proporcingumo koeficientas yra vadinamas giromagnetiniu santykiu:

$$\gamma = \frac{|\boldsymbol{\mu}|}{|\mathbf{L}|} \quad (1)$$

Magnetiniame lauke magnetinį dipolinį momentą $\boldsymbol{\mu}$ veikia jėgos momentas $\mathbf{M}$:

$$\mathbf{M} = \boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B} \quad (2)$$

Tuo pačiu $\mathbf{M} = \frac{d\mathbf{L}}{dt}$, tai įstatę (2) formulę, gaunamas dipolio momento pokytis laike:

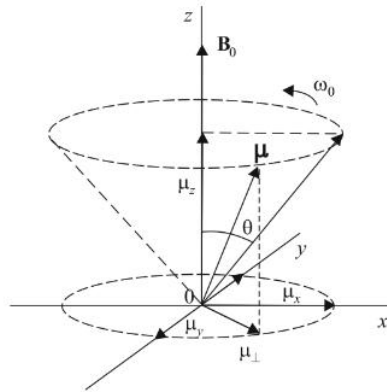
$$\frac{d\boldsymbol{\mu}}{dt} = \gamma(\boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B}) \quad (3)$$

Kadangi magnetinio lauko indukcijos kryptis yra lygiagreti z ašiai, tai magnetinio dipolio momentas z projekcijai nesikeičia laikui bėgant (išvestinė lygi 0), bet x ir y projekcijos:

$$\frac{d\mu_x}{dt} = \gamma\mu_y B_0 \quad (4)$$

$$\frac{d\mu_y}{dt} = \gamma \mu_x B_0 \quad (5)$$

Tai reiškia, kad branduolio magnetinis dipolinis momentas precesuoja aplink magnetinio lauko kryptį (2 pav.).



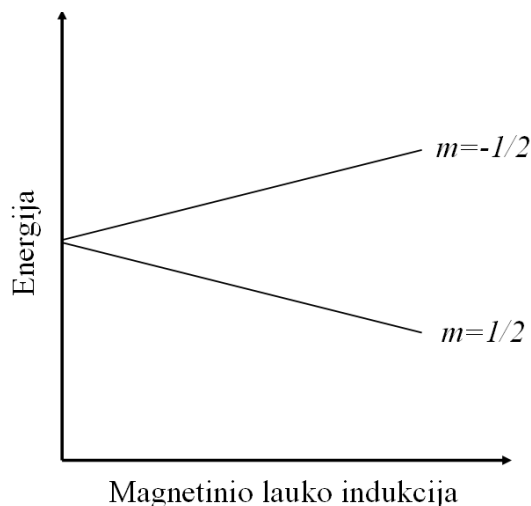
2 pav. Elementaraus magnetinio dipolio precesija magnetiniame lauke. Adaptuota pagal [34] literatūrą

Galima apskaičiuoti precesijos dažnį:

$$\omega_0 = \gamma B \quad (6)$$

Šis reiškiny yra vadinamas Larmoro precesija.

Jei branduolys, kurio sukinys yra I , yra patalpinamas į magnetinį lauką, tai jo energijos lygmenys skyla į $2I + 1$ lygmenų [35]. Šis reiškiny yra vadinamas Zeeman'o efektu. Dažniausiai nagrinėjami branduoliai yra tie, kurių $I = \frac{1}{2}$. Iš čia seka, jog magnetinis kvantinis skaičius gali būti $\frac{1}{2}$ ir $-\frac{1}{2}$. Atitinkamai, šios vertės atitinka $|\alpha\rangle$ (*spin up*) arba $|\beta\rangle$ (*spin down*) sukinines būsenas. Energijos lygmenys yra pavaizduoti 3 pav. Kai $\gamma > 0$, tai turėsime $m = -1/2$ ir tos būsenos energija bus didesnė nei $m = 1/2$ esanti būseną. Dėl to $|\alpha\rangle$ būsenos energija yra mažesnė nei $|\beta\rangle$ būsenos. Skirtumas tarp energijos lygmenų, išreikštas dažniu, yra lygus Larmoro precesijos dažniui. Pagal atrankos taisyklę, galimi šuoliai kai $\Delta m = \pm 1$.



3 pav. Energijos lygmenų diagrama.

Sukinių ansamblį aprašantis dydis yra įmagnetėjimo vektorius. Įmagnetėjimo vektorius yra aprašomas kaip visų branduolių magnetinių momentų suma:

$$\mathbf{M} = \sum_i \boldsymbol{\mu}_i \quad (7)$$

Kai magnetinio lauko indukcija lygi 0, tai $\mathbf{M}$ yra lygus 0, nes sukinių magnetinių momentų vektoriai yra išsidėstę chaotiškai. Jei turime išorinį magnetinį lauką, nukreiptą z ašimi, tai magnetiniai momentai persiorientuoja taip, kad turi lygiagrečias arba antilygiagrečias projekcijas į z ašį. Kadangi galioja Bolcmano pasiskirstymas, žemesniuose energijos lygmenyse bus daugiau sukinių. Kai $\gamma < 0$, $\mathbf{M}$ bus nukreiptas z ašies kryptimi. Sukiniai gali būti vienoje iš energijos būsenų, tai galime įvertinti tos būsenos užpildą (tikimybę toje būsenoje būti) pritaikę Bolcmano skirstinį:

$$p_i = \frac{e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}}}{\sum_{i=1}^k e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}}}, \quad (8)$$

kur k yra galimų būsenų skaičius. Didėjant energijai, mažėja tikimybė, kad sukiny bus aukštesnės energijos būsenoje. Populiacijos skirtumas bus proporcingas:

$$\Delta n \propto N \frac{\gamma B_0}{kT} \quad (9)$$

Paveikiant sistemą radijo dažnio magnetinio lauko impulsais, įmagnetėjimo vektorius yra nukreipiamas nuo pusiausvyros padėties. Įvyksta šuolis iš žemesnės energijos būsenos n_1 į aukštesnės energijos būseną n_2 . Šuolių tikimybės iš pirmos į antrą būseną ir atvirkščiai atitinkamai yra w_{12} ir w_{21} . Pusiausvyros atveju $n_1 w_{12} = n_2 w_{21}$ ir pagal tai, jog būsenos užpilda yra aprašoma pagal Bolcmano skirstinį, galima įmagnetėjimo vektoriaus z komponentę aprašyti:

$$M_z(t) = M_0(1 - \exp(t - T_1)) \quad (10)$$

T_1 yra išilgine relaksacijos trukmė ir ji yra atvirkščiai proporcinga vidutinei šuolio tikimybei. T_1 yra dar vadinamas sukinio-gardelės relaksacijos laikas, kur gardelė yra vadinama visuma, supanti sukinius [42]. Iš 10 formulės matome, jog per laiką T_1 įmagnetėjimo vektorius $\mathbf{M}$ sugrįžta į pusiausvyros padėtį. Nukreipus įmagnetėjimo vektorių dar yra gaunamos x ir y įmagnetėjimo vektoriaus komponentės. Jos yra gaunamos, pasukant $\mathbf{M}$ vektorių tam tikru kampu. Skersinė relaksacijos trukmė apibūdina sąveikas tarp sukinių. Galima aprašyti komponentių kitimo spartą, kadangi skersinės relaksacijos sparta apibūdina, kaip komponentės artėja link 0:

$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} \quad (11)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2} \quad (12)$$

T_2 yra sukinio-sukinio relaksacijos laikas, kuris atsiranda dėl sukinių kuriamo lokalaus magnetinio lauko. Turime, kad komponentės yra priklausomos viena nuo kitos ir kiti dydžiai kinta laike. Įmagnetėjimo vektoriaus $\mathbf{M}$ sandų kitimą laike galima aprašyti:

$$\begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= \gamma M_y B_0 - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\gamma M_x B_0 - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} &= -\frac{M_z - M_0}{T_2} \end{aligned} \quad (13)$$

Prieš tai buvo minėta, kad sistema yra sužadinama paveikiant ją radijo dažnio magnetinio lauko impulsais. Tam yra naudojamas magnetinis laukas $\mathbf{B}_1$, kuris dažnu atveju yra nukreiptas x ašies kryptimi. Tuo pačiu turime besisukančią sistemą, kuri sukasi Ω_{rot} dažniu. Taip yra daroma, nes radijo dažnio magnetinis laukas yra besisukantis. Kai sistema sukasi, tai pats magnetinis laukas, besisukančios sistemos atžvilgiu, tampa statiškas [35]. Tai yra naudinga, nes sukinių Hamiltonianas tampa nepriklausomas nuo laiko [35]. Iš čia gauname besisukančios sistemos Larmoro dažnį ir efektyvų magnetinį lauką.

Norint aprašyti sąveikas tarp sukinių, reikia įvesti tankio operatorių. Tai yra dydis, kuris apibūdina sistemos populiacijas ir koherentiškumus. ^1H sukinio tankio operatorius yra aprašomas:

$$\hat{\rho} = \begin{pmatrix} \rho_{\alpha\alpha} & \rho_{\alpha\beta} \\ \rho_{\beta\alpha} & \rho_{\beta\beta} \end{pmatrix}, \quad (14)$$

kur $\rho_{\alpha\alpha}$ ir $\rho_{\beta\beta}$ apibūdina populiacijas $|\alpha\rangle$ ir $|\beta\rangle$ būsenose atitinkamai, o $\rho_{\alpha\beta}$ ir $\rho_{\beta\alpha}$ apibūdina koherentiškumą iš $|\beta\rangle$ į $|\alpha\rangle$ ir iš $|\alpha\rangle$ į $|\beta\rangle$ būsenas atitinkamai. Koherentiškumas $\rho_{\alpha\beta}$ apibūdina įmagnetėjimo vektoriaus kryptį, kai $\rho_{\beta\beta}$ neturi realios fizikinės prasmės. Pusiausvyros atveju, pagal

Bolemano skirstinį, užpildas galima aprašyti pagal 15 ir 16 formules. Kadangi gautos eksponentės yra mažų verčių, tai jas galime aproksimuoti Taylor'o eilute.

$$\exp\left(-\frac{\hbar\omega_{\alpha}}{kT}\right) = \exp\left(\frac{1}{2}\mathbb{B}\right) \cong 1 + \frac{1}{2}\mathbb{B} \quad (15)$$

$$\exp\left(-\frac{\hbar\omega_{\beta}}{kT}\right) = \exp\left(-\frac{1}{2}\mathbb{B}\right) \cong 1 - \frac{1}{2}\mathbb{B} \quad (16)$$

kur $\mathbb{B} = \frac{\hbar\gamma B_0}{kT}$. Koherentiškumai pusiausvyros atveju yra lygūs 0. Įskaitant tą faktą, kad populiacijų suma turi būti lygi 1, tai tankio operatorius pusiausvyros atveju yra aprašomas:

$$\hat{\rho} = \begin{pmatrix} \frac{1}{2} + \frac{1}{4}\mathbb{B} & 0 \\ 0 & \frac{1}{2} - \frac{1}{4}\mathbb{B} \end{pmatrix} \quad (17)$$

Galime aprašyti sąryšį tarp populiacijos, koherentiškumų ir įmagnetėjimo vektorių komponentių M_x, M_y, M_z :

$$\rho_{\alpha} = \frac{1}{2} + \frac{1}{4}\mathbb{B}M_z, \rho_{\beta} = \frac{1}{2} - \frac{1}{4}\mathbb{B}M_z \quad (18)$$

$$\rho_{\oplus} = \frac{1}{4}\mathbb{B}(M_x - iM_y), \rho_{\ominus} = \frac{1}{4}\mathbb{B}(M_x + iM_y) \quad (19)$$

Paveikę sistemą, pavyzdžiui, $\pi/2$ impulsu, gauname, jog populiacijos abiejose būsenose yra vienodos. Tuo pačiu metu atsiranda koherentiškumai. Sistemos tankios operatorius šiuo atveju būtų aprašomas taip:

$$\hat{\rho} = \begin{pmatrix} \frac{1}{2} & -\frac{1}{4i}\mathbb{B} \\ \frac{1}{4i}\mathbb{B} & \frac{1}{2} \end{pmatrix} \quad (20)$$

Nagrinėjant sistemas, kur branduolys sąveikauja su kitais branduoliais, reikia įskaityti aplink branduolius esančių elektronų debesėlių įtaką. Pagal Lentz'o taisyklę, šie judantys elektronai tarsi sukuria antrinį magnetinį lauką, kurio kryptis yra priešinga išoriniam magnetiniam laukui [36]. Branduoliai patiria ne išorinio magnetinio lauko poveikis, o vidinį, t. y. lokalų magnetinį lauką. Šį magnetinį lauką galima aprašyti (21 formulė) įvedant naują dydį – ekranavimo konstantą σ . Šis dydis parodo magnetinio lauko pokytį dėl elektronų įtakos.

$$B_v = B_0(1 - \sigma) \quad (21)$$

Larmoro precesijos dažnis priklauso nuo magnetinio lauko dydžio, t.y. skirtinguose spektrometruose precesijos dažnis bus kitokios vertės. Dėl šios priežasties yra įvedamas santykis dydis – cheminis poslinkis:

$$\delta = \frac{\omega_b - \omega_{\text{ref}}}{\omega_{\text{ref}}}, \quad (22)$$

ω_b yra protono precesijos dažnis, ω_{ref} – atskaitinės molekulės precesijos dažnis. Atskaitinė molekulė yra parenkama tokia, kurios magnetinio lauko poveikio nepriklauso nuo kitų išorinių sąlygų ir nesąveikauja su kitomis molekulėmis, pavyzdžiui, tetrametilsilanas (TMS). Turint ekvivalenčius protonus, turime vienodą cheminio poslinkio vertę. Pavyzdžiui, TMS turi 12 protonų, bet signale yra matoma tik viena juosta ties 0 ppm.

2.3. DOSY BMR spektrometrija

Įprastai difuzija yra aprašoma kaip atsitiktinis molekulės judėjimas esant koncentracijos gradientui. DOSY metodu yra registruojamas savidifuzijos (angl. self diffusion) reiškiny, kada molekulė juda izotropinėje terpėje. Šis judėjimas yra sudarytas iš transliacinės ir rotacinės komponentių.

Pati paprasčiausia DOSY impulsų seka yra pavaizduota 4 pav. Tegul magnetinio lauko indukcijos vektorius B_0 būna nukreiptas z ašimi, o įmagnetėjimo vektorius M irgi yra nukreiptas ta pačia kryptimi. Norint gauti signalą spektre, pirmiausia reikia sužadinti sukinių sistemą $(\pi/2)_x$ impulsu (4 pav. a). Įmagnetėjimo vektorius M yra nukreipiamas 90° kampu link y ašies (4 pav. b). Įmagnetėjimo vektorius išsifazuoja, nes jis yra sudarytas iš atskirų sukinių ansamblio. Pačios komponentės juda skirtingu greičiu xy plokštumoje. Po laiko τ sistemai yra paveikiamas π_x impulsas. Impulso metu, įmagnetėjimo komponentės yra apverčiamos 180° kampu. Tos komponentės, kurios iki impulso judėjo greičiau, po antrojo impulso atsidurs gale. Komponentės, kur judėjo lėčiau, atsidurs priekyje po antrojo impulso. Po laiko τ įmagnetėjimo vektoriaus komponentių kryptys sutampa, t.y. sugrįžta į pradinę padėtį.

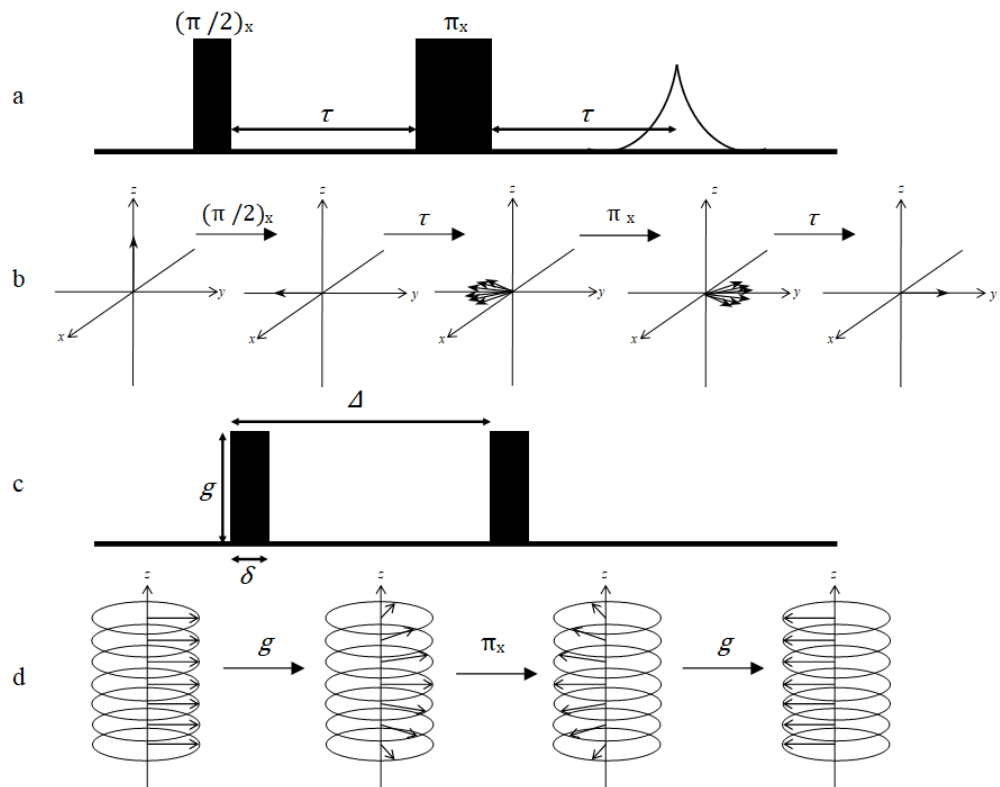
Po $(\pi/2)_x$ impulso, yra pritaikomas gradientas g , kurio trukmė yra δ , išilgai z ašies (4 pav. c). Išilgai bandinio yra sukuriamas nevienalytis magnetinis laukas. Pavyzdžiui, bandinio viršuje magnetinis laukas yra stipriausias, o apačioje jis yra silpniausias. Dėl magnetinio lauko stiprumo skirtumo, turime skirtingus sukinių Larmor'o precesijos dažnius. Tai reiškia, jog įmagnetėjimo vektoriai išsifazuoja išilgai bandinio (4 pav. d). Po laiko Δ , kuris yra vadinamas difuzijos laiku, yra pritaikomas antrasis gradientas, kuris yra to paties didumo ir trukmės, kaip pirmasis. Po antrojo gradiento įmagnetėjimo vektoriai susifazuoja erdvėje. Antrasis gradientas yra pritaikomas po π_x impulso.

Sužadinimo pabaigoje yra stebimas sukinių aidas (Hahn Echo) (4 pav. a). Signalas yra registruojamas nuo sukinių aido maksimumo, kada visos komponentės sugrįžta į pradinę padėtį. Tokiu atveju užregistruotas signalo intensyvumas yra didžiausias. Tuo pačiu yra mažinama tikimybė gauti artefaktus spektre. Po aido maksimumo turime relaksacijos procesą, kada įmagnetėjimo

vektorius pradeda precesuoti link pusiausvyros padėties, t.y. z ašies. Pritaikę Furje transformaciją (23 formulė) yra gaunamas signalas. Gautas signalas yra Lorentzo formos.

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-i\omega t} dt \quad (23)$$

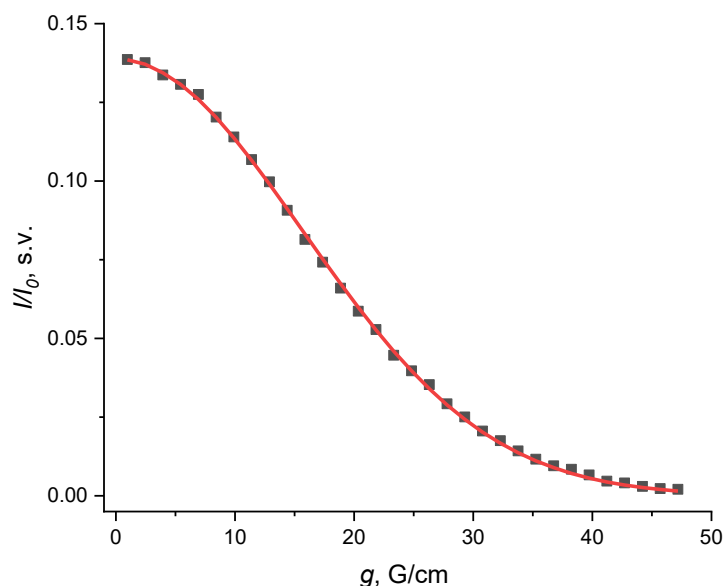
Jei molekulės nejudėtų, tai po antrojo magnetinio lauko gradiento visos komponentės išilgai bandinio sugrįžtų į pradinę padėtį. Realybėje molekulės nuolatos juda, todėl nevisos komponentės sugrįžta į pradinę padėtį. Tai reiškia, jog yra prarandama dalis signalo. Registruotas signalo intensyvumas yra aprašomas pagal Stejskal-Tanner lygtį, kuri yra aprašyta 24 formulėje.



4 pav. Paprasčiausia DOSY impulsų seka

$$I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)}, \quad (24)$$

čia D – difuzijos koeficientas, δ – gradiento trukmė, Δ – difuzijos laikas. Stebint, kaip kinta intensyvumas, galima nustatyti difuzijos koeficientą. Tam padaryti reikia iš anksto gerai parinkti δ ir Δ parametrus. δ ir Δ vertės yra nustatomos pagal ^1H juostos intensyvumo, 98% nuo pradinio intensyvumo, ir ^1H juostos intensyvumo, 2% nuo pradinio intensyvumo, santykį. Gradiento ir difuzijos laikai eksperimento metu išlieka pastovūs. Norint pritaikyti Stejskal-Tanner modelį, yra atliekami eksperimentai su keičiama g verte. Atlikus eksperimentą yra gaunama intensyvumo priklausomybė nuo magnetinio lauko gradiento (5 pav.). Aproximavus pagal Stejskal-Tanner modelį, yra apskaičiuojamos protono difuzijos koeficiento vertė.



5 pav. *Ha* pozicijoje esančio protono ^1H BMR spektrinės juostos intensyvumo santykio priklausomybė nuo magnetinio gradiento dydžio. Koncentracija 0,14 mol.d.

Tuo pačiu turime sąryšį tarp difuzijos koeficiento ir hidrodinaminio spindulio, klampos ir temperatūros. Sąryšį aprašo Stokes'o ir Einstein'o dėsnis. Jei laikoma, kad molekulė yra sfera, tai difuzijos koeficientas yra aprašomas:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r_s}, \quad (22)$$

čia k yra Boltzmann'o konstanta, T – temperatūra, η – klampa ir r_s yra hidrodinaminis molekulės spindulys. Difuzijos koeficientas taip pat priklauso nuo tirpalo koncentracijos, molekulės dydžio ir formos. Žinant D galima apibūdinti, kaip molekulės tarpusavyje sąveikauja. Pavyzdžiui, esant didelei klampai, molekulinis judėjimas yra apribotas.

3. Tyrimo metodika

Tyrimo metu buvo naudojamas 600 MHz *Bruker AVANCE NEO BMR* spektrometras. Temperatūra buvo 298K ir ji nebuvo keičiama. Buvo naudojamas D₂O + DSS kapiliaras magnetinio lauko stabilizavimui ir cheminio poslinkio atskaitai. Buvo registruojami [Cho][Gly], [Cho][Lys] ir [Cho][Trp] ¹H DOSY BMR spektrai vandeniniuose mišiniuose. H₂O yra naudojamas atsižvelgiant į šios molekulės svarbą biologiniuose procesuose. Ankstesniame darbe buvo atlikti ¹H-¹H COSY, ¹H-¹³C bei ¹H-¹⁵N HSQC ir HMBC 2D matavimai, kurie buvo skirti spektrinių juostų priskyrimui (12,14,16 pav.).

DOSY tyrimui buvo naudojama ledbpgp2s impulsų seka. Ši impulsų seka buvo naudojama, nes leidžia sumažinti konvekcijos ir sukūrinių srovių daromų artefaktų įtaką [37]. Visuose eksperimentuose, vieno matavimo metu buvo registruojami ¹H BMR juostų intensyvumas, 32 skanavimai buvo atlikti keičiant magnetinio lauko gradientą g. [Cho][Lys] vandeninio mišinio gradiento trukmės buvo tarp 650 ir 4500 μs, difuzijos laikas tarp 0,05 s ir 0,1 s, nagrinėtas intervalas buvo tarp 0,01 ir 0,25 mol.d. [Cho][Gly] vandeninio mišinio atveju gradiento trukmės δ buvo nustatytos nuo 650 iki 7500 μs, difuzijos laikas Δ ties 0,05 s, nagrinėtas intervalas buvo tarp 0,01 ir 0,36 mol.d. Galiausiai, [Cho][Trp] vandeninio mišinio atveju, gradiento trukmės buvo parinktos tarp 750 ir 6750 μs, difuzijos laikas ties 0,05 s, nagrinėtas intervalas tarp 0,01 mol.d. ir 0,2 mol.d. Šių molinių dalių intervalai buvo pasirinkti, nes yra stebimi protonų cheminių poslinkių minimumai/maksimumai ir dėl b-JS klampumo nebuvo galima išmatuoti esant didelei b-JS molinei daliai.

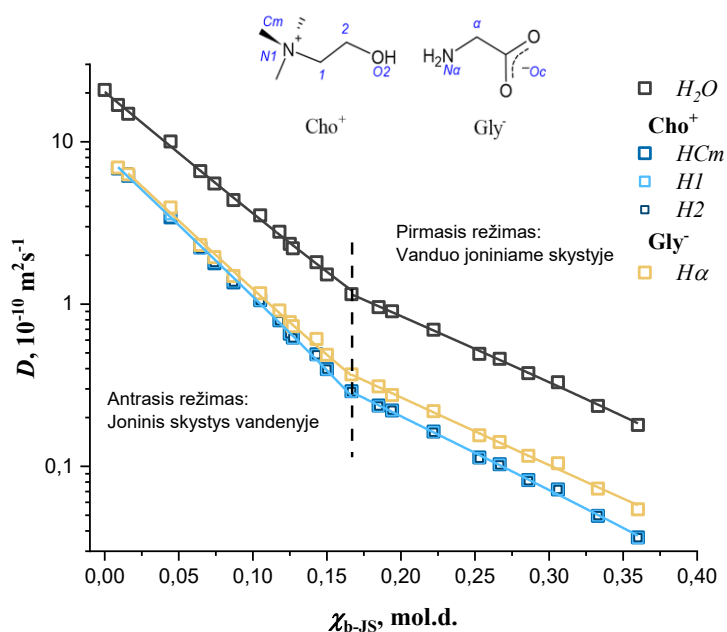
Gauti eksperimentiniai duomenys buvo apdoroti naudojant *Origin* ir *MestReNova* programomis.

4. Rezultatai ir jų aptarimas

4.1. [Cho][Gly] vandeninių mišinių ^1H DOSY BMR rezultatai

Buvo užregistruoti [Cho][Gly] vandeninio mišinio ($\chi_{\text{b-JS}} = 3 \cdot 10^{-5} - 0,96$ mol.d.) ^1H BMR spektrai. Specifinės koncentracijos ^1H BMR spektras ir juostų priskyrimas yra pateiktas prieduose 12 pav. Buvo analizuotos [Cho][Gly] protonų spektrinių juostų cheminio poslinkio priklausomybės nuo mišinio molekulių molinės sudėties, atvaizduotos kreivės yra pateiktos prieduose 13 pav. Cholino katijonai HCm ir HI pozicijose esančių protonų, cheminio poslinkio priklausomybėje buvo stebėti minimumai ties $\chi_{\text{b-JS}} = 0,12$ mol.d. Tuo tarpu vandens ^1H cheminio poslinkio priklausomybėje buvo stebimas maksimumas esant tai pačiai molinei daliai ($\chi_{\text{b-JS}} = 0,12$ mol.d.). H2 pozicijose esančio protono cheminio poslinkio minimumas yra ties $\chi_{\text{b-JS}} = 0,3$ mol.d., tačiau minimumas yra mažiau ryškus palyginus su anksčiau aptartais cheminio poslinkio minimumais. Ha pozicijose esančių protonų ^1H cheminio poslinkio priklausomybė nuo mišinio molinės dalies sudėties kito monotoniškai – didinant vandens kiekį, cheminis poslinkis didėjo. ^1H BMR spektruose spektrinės juostos, kurios atitiko chemines grupes, dalyvaujančias dinaminiuose cheminiuose mainuose su H_2O , tai yra cholino OH ir glicinato NH_2 spektrinės juostos, buvo stebimos kaip H_2O spektrinė juosta. Įvertinant mišinio koncentraciją iš juostų integralų verčių, į tai buvo atsižvelgta.

Buvo užregistruoti ^1H DOSY BMR spektrai, esant $\chi_{\text{b-JS}} = 0,01 - 0,36$ mol.d. b-JS vandeninio mišinio molinės sudėties. 6 pav. yra pavaizduotos cholino ir glicinato protonų difuzijos koeficientų priklausomybės nuo mišinio molinės sudėties. Visų molekulių protonų difuzijos koeficientai didėja didėjant vandens koncentracijai mišinyje. H_2O protonų difuzija yra sparčiausia, kai cholino difuzija yra lėčiausia visame tirtajame molinės dalies diapazone.



6 pav. Protonų difuzijos koeficiento priklausomybė nuo b-JS molinės dalies

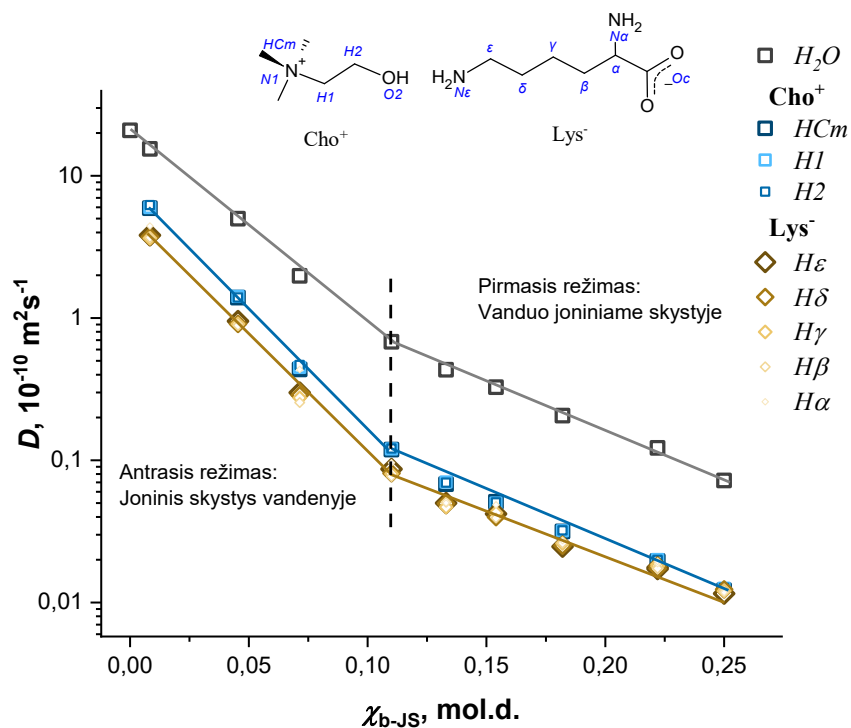
Grynajame b-JS dominuoja kuloninė sąveika tarp anijono COO^- ir cholino $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ grupių. Tarp katijono OH bei anijono NH_2 ir COO^- grupių pasireiškia stiprus vandenilinis ryšys [38], [39], [40]. Tuo pačiu vandens tarpusavio sąveikos energija yra mažesnė palyginus su sąveika tarp vandens molekulių ir jono (ypatingai vandens sąveikos energija su anijonu) [38]. Iš 13 pav. galima pastebėti, jog HCm ir H1 pozicijose esančių protonų cheminių poslinkių pokytis yra didžiausias, kai yra didinama vandens koncentracija. Šių pokyčių vertės yra atitinkamai -0,17 ir -0,18 ppm. Šios vertės buvo apskaičiuotos atėmus cheminį poslinkį, esant cheminio poslinkio minimumui, ir cheminį poslinkį, esant didžiausiai išmatuotai b-JS molinei daliai. Vanduo gali formuoti vandenilinius ryšius su anijonu COO^- ir NH_2 grupėmis, tačiau vien iš $\text{H}\alpha$ cheminio poslinkio pokyčio yra sunku nustatyti. Vanduo sumažina kuloninės ir vandenilinio ryšio sąveikos stiprumus tarp anijono ir katijono. Tai paaiškintų protonų difuzijos koeficiento didėjimą, didinant vandens koncentraciją. Kita vertus, vis tiek dominuoja kuloninė sąveika tarp jonų, nes difuzijos koeficiento pokyčio augimo tempas yra mažas. Yra stebimas lūžio taškas difuzijos koeficiento priklausomybėje, kai joninio skysčio koncentracija yra $\chi_{\text{b-JS}} = 0,16$ mol.d. (1:5 IL:H₂O). Tai gali reikšti, kad yra du skirtingi difuzijos režimai: vanduo joninio skysčio aplinkoje ir joninis skystis vandeninėje aplinkoje. Pereinant iš pirmojo režimo (vanduo joninio skysčio aplinkoje) į antrąjį režimą (joninis skystis vandeninėje aplinkoje) gali susiformuoti ištisinis vandens molekulių tinklas. Taip pat, gali prasidėti katijono ir anijono solvatacija, taip dar labiau sumažinant kuloninę ir vandenilinio ryšio sąveikas tarp jonų. Tai buvo nustatyta pagal lėtesnį katijono ir anijono ^1H cheminio poslinkių augimą, kai buvo didinama

vandens koncentracija. Tuo pačiu metu vandens ^1H cheminio poslinkio vertės mažėja. Pirmame režime anijono ir katijono protonų difuzijos koeficiento vertės artėja viena prie kitos. Šių verčių suartėjimas gali būti paaiškinta glicino zwitterion'o susiformavimu, nes anijono protono $\text{H}\alpha$ ^1H cheminio poslinkio vertė toliau auga, kai katijono ir vandens ^1H cheminio poslinkio vertės jau būna nusistovėjusios. Papildoma priežastis katijono ir anijono difuzijos koeficientų verčių artėjimui yra anijono dydis, kadangi anijonas ir katijonas yra daugmaž vienodo dydžio.

4.2. [Cho][Lys] vandeninių mišinių ^1H DOSY BMR rezultatai

Anksčiau buvo užregistruoti [Cho][Lys] vandeninio mišinio ($\chi_{\text{b-JS}} = 10^{-5} - 0,67$ mol.d.) ^1H BMR spektrai. ^1H BMR spektras ir juostų priskyrimas yra pateiktas prieduose 14 pav. Buvo analizuotos [Cho][Lys] protonų ^1H BMR spektrinių juostų cheminio poslinkio priklausomybės nuo mišinio koncentracijos, atvaizduotos kreivės yra pateiktos prieduose (16 pav.). Išmatavę ^1H cheminio poslinkio priklausomybę nuo b-JS koncentracijos, buvo pastebėti cholino protonų cheminio poslinkio minimumai ir anijono protonų, esančių $\text{H}\gamma$ ir $\text{H}\beta'$ pozicijose, cheminio poslinkio minimumai. Minėti minimumai yra stebimi ties $\chi_{\text{b-JS}} = 0,11$ mol.d. koncentracija, išskyrus $\text{H}2$, kurio minimumas yra ties 0,3 mol.d. Kitų protonų cheminiai poslinkiai kito monotoniškai, t.y. ^1H cheminis poslinkis nuolat didėja didinant vandens koncentraciją. Vandens ^1H cheminis poslinkis monotoniškai didėja iki tol, kol vandens koncentracija mišinyje pasiekia $\chi_{\text{H}_2\text{O}} = 0,99$ mol.d. Aukštoje vandens koncentracijoje, vandens ^1H juostos cheminis poslinkis nusistovi. Panašiai, kaip su [Cho][Gly] vandeniniu mišiniu, ^1H BMR spektrinės juostos, kurios atitiko chemines grupes, dalyvaujančias dinaminiuose cheminiuose mainuose su H_2O , tai yra cholino OH ir lizinato abi NH_2 spektrinės juostos, buvo stebimos kaip viena plati H_2O spektrinė juosta.

Buvo užregistruoti ^1H DOSY BMR spektrai, esant $\chi_{\text{b-JS}} = 0,01 - 0,25$ mol.d. b-JS vandeninio mišinio koncentracijai. 7 pav. yra pavaizduotos katijono, anijono ir vandens ^1H difuzijos koeficiento priklausomybės nuo joninio skysčio koncentracijos. Didėjant vandens koncentracijai, didėja difuzijos koeficientai. H_2O difuzija yra sparčiausia, kai lizino anijono difuzija yra lėčiausia visame tirtajame koncentracijų diapazone. Jonų difuzijos koeficiento vertės artėja viena link kitos, esant mišinio koncentracijai $\chi_{\text{b-JS}} > 0,25$ mol.d.



7 pav. [Cho][Lys] ir vandens protonų difuzijos koeficientų priklausomybė nuo b-JS molinės dalies

Grynajame b-JS gali būti cholino agregacija tarp *HCm*, *N1* ir *O2* cheminių grupių [41]. Yra žinoma, kad aukštoje b-JS molinėje dalyje gali būti sąlyginai stipri kuloninė sąveika tarp cholino *N1* ir lizinato *Oc* grupių. Taip pat sąlyginai stiprios sąveikos tarp *HCm* grupių ir amino grupių lizinate. Tai būtų viena iš priežasčių, kuri galėtų paaiškinti difuzijos koeficientų artėjimą link tos pačios vertės aukštoje b-JS molinėje dalyje. Didinant vandens koncentraciją, jonai labiau sąveikauja su vandens molekulėmis. Yra panašumų su [Cho][Gly] vandeniniu mišiniu, kadangi *HCm* ir *H1* ^1H cheminio poslinkio pokytis yra didžiausias (atitinkamai -0,15 ppm ir -0,16 ppm) lyginus su kitais jonų protonais.

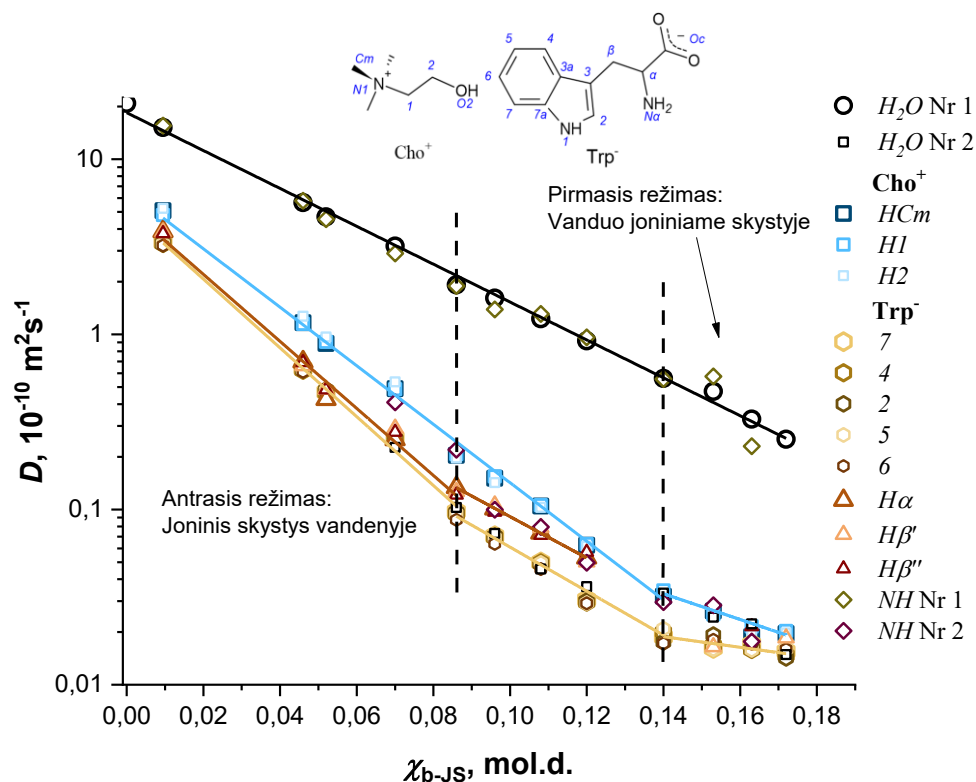
Difuzijos koeficiento nuo b-JS koncentracijos priklausomybėje yra stebimas lūžio taškas ties $\chi_{b-JS} = 0,11$ mol.d. (1JS:8H₂O). Čia yra stebimi du skirtingi difuzijos režimai. Pirmame režime pradeda dominuoti kuloninė sąveika tarp katijono ir anijono, tuo pačiu gali prasidėti cholino agregacija [41]. Stiprią sąveiką tarp jonų galima būtų paaiškinti, nes yra stebimas gana stiprūs jonų ^1H cheminių poslinkių pokyčiai pirmame režime. Dar viena priežastis, kuri nurodytų beprasidedantį kuloninės sąveikos vyravimą, yra jonų difuzijos koeficientų verčių artėjimas link vienos vertės. Panašiai, kaip [Cho][Gly] vandeniniame mišinyje, antrame režime susiformuoja nenutrūkstantis vandens tinklas. Prasideda jonų solvatacijos procesas. Katijono bei anijono difuzijos koeficientai sparčiau kinta nei vandens difuzijos koeficientas. Vandens ^1H cheminis poslinkis antrame režime yra pastovus (jis pakinta per 0,08 ppm palyginus su ~1 ppm pirmame režime). Tai gali koreliuotis su

lėtesniu vandens difuzijos koeficiento pokyčiu antrame difuzijos režime. Lėtesnį vandens difuzijos koeficiento augimą galima sieti su sparčiai didėjančiu cheminių grupių koordinaciniu skaičiumi tarp vandens molekulių [41].

4.3. [Cho][Trp] vandeninių mišinių ^1H DOSY BMR rezultatai

Panašiai, kaip su [Cho][Lys] ir [Cho][Gly] vandeniniais mišiniais, buvo užregistruoti [Cho][Trp] vandeninio mišinio ($3 \cdot 10^{-5} - 0,2$ mol.d.) ^1H BMR spektrai. Specifinės koncentracijos ^1H BMR spektras ir juostų priskyrimas yra pateiktas prieduose 16 pav. Buvo analizuotos [Cho][Trp] protonų spektrinių juostų cheminio poslinkio priklausomybės nuo mišinio molinės sudėties, atvaizduotos kreivės yra pateiktos prieduose (17 pav., 18 pav. ir 19 pav.). Visų protonų, išskyrus vandens, ^1H cheminiai poslinkiai monotoniškai didėja, kai yra didinama vandens koncentracija. Tik su vandens juosta yra stebimas cheminio poslinkio minimumas ties $\chi_{b-JS} = 0,11$ mol.d. Šiuo atveju yra stebima labai plati NH protono ^1H spektrinė juosta. Tai rodo, kad yra vidutinės spartos protonų dinaminiai mainai tarp vandens molekulių ir NH grupės. Iš to seka, kad NH juostos integrinis intensyvumas yra mažesnis nei 1, todėl įvertinant koncentracijų vertes yra atsižvelgiama į tai.

Buvo užregistruoti [Cho][Trp] ^1H DOSY BMR spektrai, režiuose $\chi_{b-JS} = 0,01 - 0,17$ mol.d. b-JS vandenyje. 8 pav. yra pavaizduotos b-JS ir vandens protonų difuzijos koeficientų priklausomybė nuo b-JS koncentracijos mišinyje. Difuzijos koeficientai didėja, didėjant vandens koncentracijai mišinyje. Triptofanato difuzija yra lėtesnė visame tirtajame koncentracijų diapazone.



8 pav. [Cho][Trp] vandeninių mišinių 1H difuzijos koeficiento priklausomybė nuo b-JS molinės dalies

Panašiai, kaip [Cho][Lys] ir [Cho][Gly] vandeniniuose mišiniuose, difuzijos koeficiento priklausomybėje yra stebimas lūžis ties $\chi_{b-JS} = 0,14$ mol.d. (1JS:6H₂O). Vandens difuzijos koeficiento priklausomybėje lūžio nėra. Vandens difuzijos koeficientas monotoniškai mažėja, kai b-JS molinė dalis didėja. Dėl [Cho][Trp] klampumo nepavyko išmatuoti difuzijos koeficientų molinėje dalyje, kuri yra $\chi_{b-JS} > 0,17$ mol.d.

Įdomu tai, kad ties $\chi_{b-JS} 0,08$ mol.d. yra stebimas dar vienas lūžis triptofanato difuzijos koeficiento priklausomybėje. $H\alpha$ ir $H\beta$ protonų difuzijos koeficientai yra didesni nei indolo grupės protonų difuzijos koeficientai. To paties anijono difuzijos koeficiento skirtumai gali reikšti, kad $H\alpha$ ir $H\beta$ protonai yra labiau labilūs palyginus su protonais iš aromatinės dalies. Greičiausiai taip atsitinka, nes $H\alpha$ ir $H\beta$ protonai gali laisviau suktis palyginus su indolo grupe, kitaip pasakius, patiria didesnę rotacinę dinamiką. Anijono protonų difuzijos koeficientų vertės sutampa esant vandens koncentracijai $\chi_{H_2O} > 0,93$ mol.d. Taip atsitinka, nes anijonas yra solvatuotas vandens molekulių. Triptofanato $H\alpha$, $H\beta$, indolo grupės protonų difuzijos koeficientų priklausomybėje esant koncentracijai $\chi_{b-JS} = 0,14$ mol.d. pastebimas antrasis lūžis, ir difuzijos koeficientai pradeda artėti link tos pačios vertės. Ši koncentracijos vertė sutampa su lūžio verte stebima katijono difuzijos koeficiento priklausomybėje. Esant koncentracijai $\chi_{b-JS} > 0,17$ mol.d. stebima, kad katijono ir

anijono difuzijos koeficientų vertės ima sutapti, ką galima būtų paaiškinti kuloninės sąveikos beprasidedančiu vyrovimu.

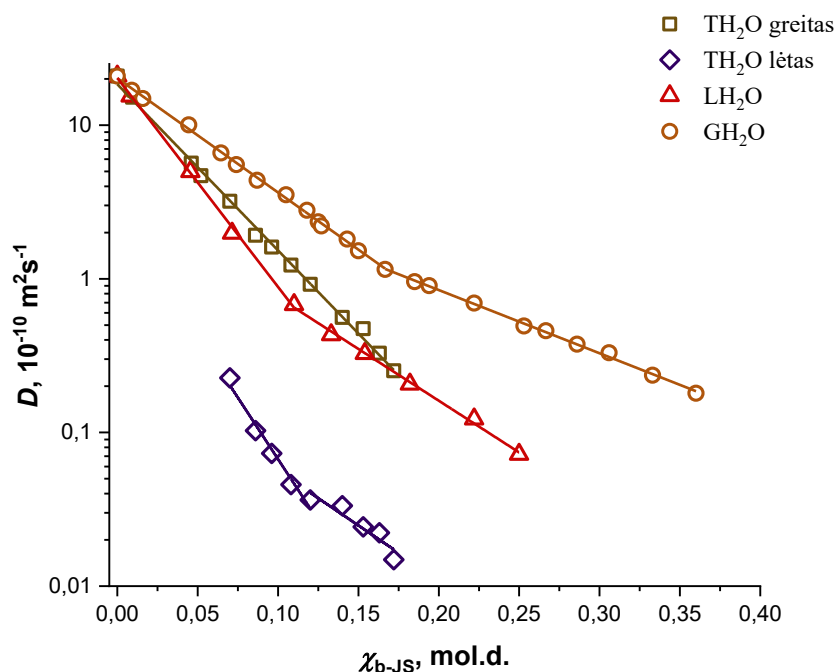
Šioje difuzijos koeficiento priklausomybė yra pastebimas dar vienas efektas, kuris yra susijęs su NH ir H₂O protonų difuzijos koeficientais. Kuomet buvo stebimos tiek H₂O, tiek NH juostos, aproksimuojant viena-eksponentiniu vyksmu ($I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)}$), aproksimacijos kreivė nesutapo su eksperimentu gauta kreive, todėl buvo aproksimuojama dviem eksponentėmis. NH grupės protonų difuzijos koeficientas sutampa su vandens protonų difuzijos koeficientu. H₂O ir NH protonų difuzijos koeficientų sutapimas gali būti dėl greitų dinaminių protonų mainų. Antros mažesnės NH ir H₂O protonų difuzijos koeficientų stebimos, kai b-JS koncentracija yra didesnė nei $\chi_{b-JS} \approx 0,07$ mol.d. Nuo panašios koncentracijos, NH ¹H BMR cheminio poslinkio vertė pradeda didėti bei spektrinė juosta ima siaurėti ir intensyvėti, kas reiškia, kad dinaminiai mainai lėtėja. Taip NH protonų spektrinės juostos integrinis intensyvumas ima artėti link 1, kas patvirtina šią hipotezę. Esant panašioms koncentracijoms stebima, kad lėtesnio NH ir H₂O difuzijos proceso indėlis ima didėti. Esant panašiai koncentracijai yra stebimas anksčiau minėtasis lūžis triptofanato difuzijos koeficiento priklausomybėje. Įdomu, kad įvertinant lėtesnę difuzijos koeficiento priklausomybę yra stebimas lūžis ties $\chi_{b-JS} = 0,14$ mol.d., kaip ir [Cho][Trp] protonų difuzijos priklausomybėje.

4.4. Anijonų įtaka mišinio struktūrai

Prieš analizuojant skirtingų anijonų difuzijos koeficiento įtaką priklausomybėms nuo mišinio molinės sudėties, reikia įvesti vieną žymėjimą. Protonų pozicijos [Cho][Lys] vandeniniame mišinyje bus žymimos su L raide priekyje, pavyzdžiui, LH₂O arba LHCm. Pozicijos [Cho][Gly] vandeniniame mišinyje bus žymima su G raide priekyje, o [Cho][Trp] bus žymima su T raide.

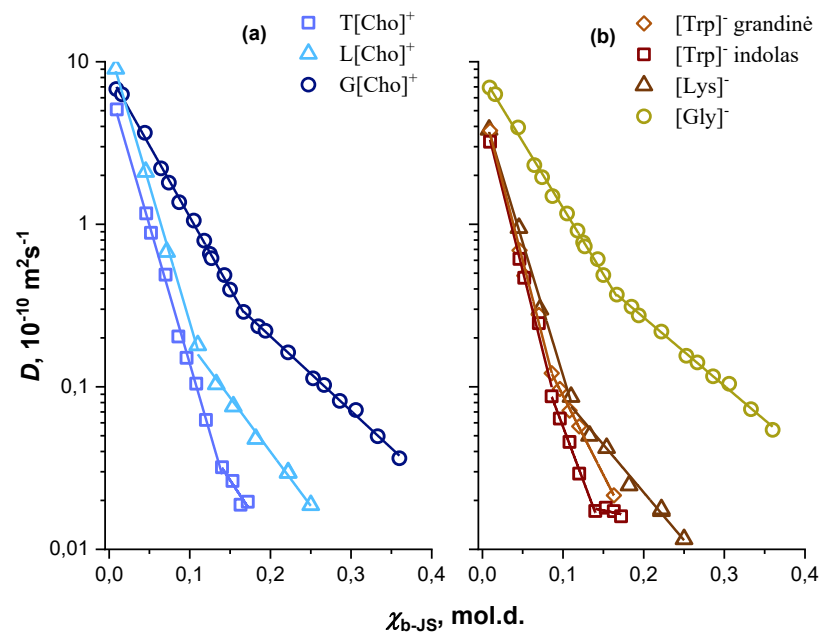
Vandens difuzijos koeficiento priklausomybė nuo b-JS molinės dalies skirtinguose vandeniniuose mišiniuose yra pavaizduota 9 pav. [Cho][Gly] vandeniniame mišinyje H₂O difuzija yra sparčiausia. Spartesnė vandens difuzija [Cho][Gy] vandeniniame mišinyje gali būti paaiškinta dėl mažesnio anijono ir mažiau funkcinų grupių, kur vanduo gali sudaryti vandenilinius ryšius. Iš to seka, jog vanduo gali laisviau judėti mišinyje. Lizino anijono difuzija yra pakankamai lėta. Lizinate yra daugiau funkcinų grupių, kur vanduo gali sudaryti vandenilinius ryšius. Triptofanatas, panašiai, kaip lizino anijonas, yra pakankamai didelis ir turi kelias funkcinės grupės, kurios galima sudaryti vandenilinius ryšius su vandens molekulėmis. Kita vertus, triptofanatas yra priskiriamas prie hidrofobiškų molekulių, todėl TH₂O difuzija (spartesnės difuzijos) yra šiek tiek spartesnė nei LH₂O. [Lys]⁻ ir [Trp]⁻ didesnis funkcinų grupių skaičius gali paaiškinti, kodėl GH₂O protonų difuzijos koeficientas lėčiau kinta palyginus su LH₂O ir TH₂O. Ryškiausi lūžiai protonų difuzijos koeficiento priklausomybėje yra stebimas [Cho][Gly] ir [Cho][Lys] vandeniniuose mišiniuose. Tai gali reikšti,

jog vandens struktūra stipriai kinta [Cho][Lys] ir [Cho][Gly] vandeniniuose mišiniuose. Galiausiai, vandens difuzijos koeficiento vertės artėja viena link kitos, kai vandens koncentracija visuose mišiniuose $\chi_{\text{H}_2\text{O}} > 0,99$ mol.d. Panašiose koncentracijose, dauguma jonų būna solvatuoti vandens molekulių.



9 pav. Vandens difuzijos koeficientų priklausomybė nuo anijono tipo ir JS koncentracijos

10 a pav. yra pavaizduota cholino katijono difuzijos koeficientų priklausomybė nuo b-JS koncentracijos skirtinguose b-JS vandeniniuose mišiniuose. Gautoje priklausomybėje yra stebima panaši tendencija, kaip su vandens difuzijos koeficientu. [Cho][Gly] vandeniniame mišinyje cholino difuzija yra sparčiausia, o protonų difuzijos koeficiento pokyčio sparta yra mažesnė lyginus su T[Cho]⁺ ir L[Cho]⁺, o protonų difuzijos koeficiento priklausomybės lūžis yra ryškesnis. [Cho][Trp] vandeniniame mišinyje T[Cho]⁺ difuzija yra lėčiausia lyginus su kitomis cholino difuzijos visame tirtajame koncentracijų intervale. Tai gali reikšti, jog anijonas yra labiau linkęs sąveikauti su katijonu, kad galėtų minimizuoti sąveikas su vandeniu. Tą galima būtų teigti, nes spartesnės TH₂O difuzijos koeficientai yra šiek tiek didesni nei LH₂O, t.y. dominuojantis kuloninis ryšys tarp [Trp]⁻ ir [Cho]⁺.



10 pav. Cholino, esant skirtingai anijono porai, (a) ir skirtingų anijonų arba anijono dalių (b) difuzijos koeficiento priklausomybės nuo b-JS koncentracijos.

10 b pav. yra pavaizduotas anijonų difuzijos koeficientų priklausomybės nuo b-JS molinės dalies. Yra panašios tendencijos su 10 a paveikslu, nes glicinato protonų difuzijos koeficientas yra didžiausias, o triptofanato yra mažiausias. $[\text{Trp}]^-$ ir $[\text{Lys}]^-$ difuzijos koeficientai daugmaž sutampa antrajame režime (b-JS vandenyje). Tai gali reikšti, jog lizino ir triptofano anijonų įtaka mišinio struktūrai yra daugmaž vienoda antrame režime. Skirtingai nuo 10 a pav., triptofanato protonų difuzijos koeficientų vertės lėčiau kinta pirmajame difuzijos režime (vanduo joniniame skystyje). Tai reikštų stipresnę sąveiką tarp cholino ir triptofano jonų lyginant su sąveika tarp cholino ir glicino jonų.

5. Pagrindiniai rezultatai ir išvados

1. Užregistravus [Cho][Gly], [Cho][Lys] ir [Cho][Trp] vandeniniuose mišiniuose ^1H DOSY BMR spektrus, buvo išmatuotos ^1H spektrinių juostų intensyvumo priklausomybės nuo magnetinio lauko gradiento. Aproximavus kreives pagal Stejskal-Tanner modelį buvo nustatytos molekulių difuzijos koeficientų vertės. Visų ^1H BMR spektrinių juostų, kurios atitinka katijoną arba anijoną, apart triptofanato, tos pačios molekulės protonų difuzijos koeficientai yra vienodi.
2. Buvo nustatytos protonų difuzijos koeficientų verčių priklausomybės nuo [Cho][Gly], [Cho][Lys] ir [Cho][Trp] koncentracijos vandeniniuose mišiniuose (6 pav., 7 pav. ir 8 pav. atitinkamai). Visų b-JS vandeninių mišinių protonų, išskyrus TH_2O , difuzijos koeficiento priklausomybėje yra stebimas lūžio taškas. Gaunami du difuzijos režimai. Pirmame režime (vanduo joninio skystyje) dominuoja kuloninės sąveikos tarp cholino ir anijonų. Antrame režime (joninis skystis vandenyje) dominuoja vandenilinio ryšio sąveikos tarp jonų ir vandens. Papildomai, $[\text{Trp}]^-$ difuzijos koeficiento priklausomybėje yra stebimas tarpinis difuzijos režimas.
3. Buvo nustatyta, kad vandens difuzijos yra sparčiausia [Cho][Gly] vandeniniame mišinyje. Spartesnės vandens difuzijos [Cho][Trp] vandeniniuose mišiniuose yra šiek tiek didesnis, nei vandens difuzija [Cho][Lys] mišinyje. Pirmame difuzijos režime, [Cho][Trp] jonų protonų difuzijos koeficientų pokytis yra lėčiausias. Antrame režime, [Cho][Gly] jonų difuzijos koeficiento pokytis yra mažiausias.

Santrauka

Bioaktyvieji joniniai skysčiai yra kambario temperatūroje išlydytos druskos, kurios yra suderinamos su gyvaisiais organizmais. Įprasti JS yra populiarūs mokslo srityje dėl daugybės jonų posistemų kombinacijų, kurios leidžia keisti chemines arba fizikines savybes. b-JS yra pritaikomi medicinos srityje, kadangi gali padidinti netirpių vaistų tirpumą vandenyje arba dalyvauti vaistų nešiklio sistemoje. Vienas iš svarbių JS parametrų yra difuzijos koeficientas, kadangi jis leidžia charakterizuoti molekulę ir padeda nagrinėti sąveikas tarp skirtingų molekulių ir kaip šios sąveikos priklauso nuo išorinių parametrų. Šio darbo tikslas yra užregistruoti cholino pagrindo joninių skysčių (choline glicinatas [Cho][Gly], cholino lizinatas [Cho][Lys] ir cholino triptofanatas [Cho][Trp]) vandeninių mišinių ^1H DOSY BMR spektrus ir atlikti eksperimentinių duomenų analizę.

Minėti JS gali būti pritaikomi medicinoje, CO_2 absorbcijoje, sėklų dygimo procesuose. DOSY (angl. diffusion-ordered spectroscopy) yra galingas branduolių magnetinio rezonanso metodas. Eksperimento metu yra pritaikomas magnetinio lauko gradiento, dėl kurio sukinių įmagnetėjimo vektoriaus kryptys nesutampa išilgai bandinio. Dėl nuolatinio molekulės judėjimo, užregistruotų ^1H BMR juostų intensyvumas tampa mažesnis nei esant vienalyčiam magnetiniam laukui. Pagal Stejskal-Tanner lygtį, aproksimavus ^1H BMR juostų intensyvumo priklausomybę nuo gradiento yra nustatomas protono difuzijos koeficientas.

Buvo nustatyta, jog vandens molekulės difuzijos koeficientas yra daug didesnis tiek už katijono, tiek už anijono difuzijos koeficientus. Visų b-JS vandeninių mišinių difuzijos koeficiento priklausomybėje buvo pastebėti lūžio taškai ties $\chi_{\text{b-JS}} = 0,16 \text{ mol.dal.} ([\text{Cho}][\text{Gly}])$, $\chi_{\text{b-JS}} = 0,11 \text{ mol.dal.} ([\text{Cho}][\text{Lys}])$ ir $\chi_{\text{b-JS}} = 0,14 \text{ mol.dal.} ([\text{Cho}][\text{Trp}])$. Lūžio taško egzistavimas parodo dviejų difuzijos režimų buvimą: vanduo JS aplinkoje ir JS vandeninėje aplinkoje. Pirmame režime dominuoja kuloninės ir vandenilinio ryšio sąveikos tarp jonų. Antrame režime gali susiformuoti ištisinė besisąveikaujančių vandens molekulių grandinė. Tuo pačiu, antrame režime dominuoja vandenilinio ryšio sąveikos tarp vandens ir jonų ir prasideda jonų solvatacijos procesas. Papildomai yra stebimi du skirtingi vandens ir NH difuzijos koeficientai bei skirtingus [Trp]⁻ indolo grupės bei grandinėje esančių protonų difuzijos koeficientus [Cho][Trp] vandeniniuose mišiniuose.

Abstract

Bioactive room temperature ionic liquids (b-RTILs) are room temperature-molten salts compatible with living organisms. RTILs are becoming more popular in the scientific community due to the high number of ion combinations and tunability. Specifically, b-RTILs are applied in the medical field in drug delivery systems and to increase non-soluble drug solubility in water. One of the important parameters of ILs is diffusion because it gives us information about the size or structure of molecules and how molecules interact with each other due to the change in concentration. The main objective is to investigate diffusion of choline type ionic liquids (choline glycinate [Cho][Gly], choline lysinate [Cho][Lys] and choline tryptophanate [Cho][Trp]) in the water mixtures.

Besides medicine, these ionic liquids could be used in CO₂ absorption, biofilm growth regulation, seed germination and elongation. DOSY (Diffusion-Ordered Spectroscopy) is a powerful NMR (Nuclear Magnetic Resonance) method. The gradient of a magnetic field is applied to the sample. Due to magnetic field inhomogeneity, the magnetic spin orientation of protons across the sample differs. Also, due to the constant movement of molecules, the intensity of the spectra is lower than with a homogenous magnetic field across the sample. The change in the intensity also depends on the size of the molecule. Using Stejskal-Tanner equation, diffusion coefficient of a specific proton can be approximated from ¹H NMR spectral intensity dependency from magnetic field gradient.

Using the DOSY method, it was found that the diffusion coefficient of water molecule is larger than the diffusion coefficient of ions in all b-RTIL water mixtures. Also, there are two diffusion regimes present in b-RTILS water mixtures: H₂O in IL and IL in H₂O. The breaking points in [Cho][Gly], [Cho][Lys] and [Cho][Trp] water mixtures are observed at $\chi_{\text{RTIL}} = 0.16$ mol. frac., $\chi_{\text{RTIL}} = 0.11$ mol. frac. and $\chi_{\text{RTIL}} = 0.14$ mol. frac. respectively. The only difference is that in [Cho][Trp], the breaking point in water diffusion coefficient dependency is not observed clearly. The occurrence of two separate regimes is due strong hydrogen and Coulombic bonds between choline and glycine anion and water's ability to break those bonds and themselves forming hydrogen bonds with those ions. In addition, fast and slow diffusion of H₂O and NH can be observed in [Cho][Trp] water mixture. Also, the diffusion coefficient values of [Trp] anion's ring and chain parts differ.

Literatūros sąrašas

- [1] A. Lewandowski ir A. Świdorska-Mocek, „Ionic liquids as electrolytes for Li-ion batteries—An overview of electrochemical studies“, *J. Power Sources*, t. 194, nr. 2, p. 601–609, gruodž. 2009, doi: 10.1016/j.jpowsour.2009.06.089.
- [2] A. Eftekhari, Y. Liu, ir P. Chen, „Different roles of ionic liquids in lithium batteries“, *J. Power Sources*, t. 334, p. 221–239, gruodž. 2016, doi: 10.1016/j.jpowsour.2016.10.025.
- [3] S. K. Singh ir A. W. Savoy, „Ionic liquids synthesis and applications: An overview“, *J. Mol. Liq.*, t. 297, p. 112038, saus. 2020, doi: 10.1016/j.molliq.2019.112038.
- [4] A. T. Silva, C. Teixeira, E. F. Marques, C. Prudêncio, P. Gomes, ir R. Ferraz, „Surfing the Third Wave of Ionic Liquids: A Brief Review on the Role of Surface-Active Ionic Liquids in Drug Development and Delivery“, *ChemMedChem*, t. 16, nr. 17, p. 2604–2611, 2021, doi: 10.1002/cmdc.202100215.
- [5] D. Dobler, T. Schmidts, I. Klingenhöfer, ir F. Runkel, „Ionic liquids as ingredients in topical drug delivery systems“, *Int. J. Pharm.*, t. 441, nr. 1, p. 620–627, saus. 2013, doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.10.035.
- [6] „Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy — Principles & Uses“, ConductScience. Žiūrėta: 2026 m. balandžio 30 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://conductscience.com/nuclear-magnetic-resonance-spectroscopy>
- [7] K. Zia, T. Siddiqui, S. Ali, I. Farooq, M. S. Zafar, ir Z. Khurshid, „Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Medical and Dental Applications: A Comprehensive Review“, *Eur. J. Dent.*, t. 13, nr. 1, p. 124–128, vas. 2019, doi: 10.1055/s-0039-1688654.
- [8] „Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy | History | Research Starters | EBSCO Research“, EBSCO. Žiūrėta: 2026 m. balandžio 30 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.ebsco.com>
- [9] K. Ghandi, „A Review of Ionic Liquids, Their Limits and Applications“, *Green Sustain. Chem.*, t. 04, saus. 2013, doi: 10.4236/gsc.2014.41008.
- [10] N. V. Plechkova ir K. R. Seddon, „Applications of ionic liquids in the chemical industry“, *Chem. Soc. Rev.*, t. 37, nr. 1, p. 123–150, gruodž. 2007, doi: 10.1039/B006677J.
- [11] „Application of Ionic Liquids to Energy Storage and Conversion Materials and Devices | Chemical Reviews“. Žiūrėta: 2025 m. gruodžio 29 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.6b00504>
- [12] T. Welton, „Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis“, *Chem. Rev.*, t. 99, nr. 8, p. 2071–2084, rugpj. 1999, doi: 10.1021/cr980032t.

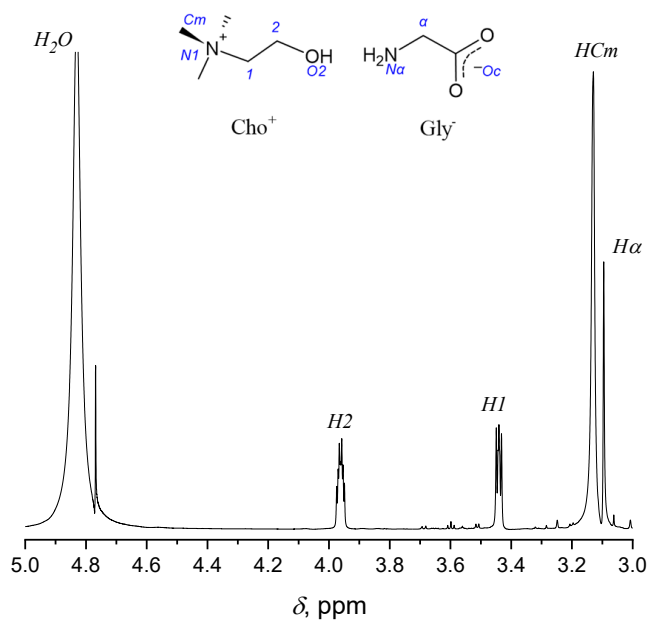
- [13] D. K. Kaczmarek, T. Rzemieniecki, D. Gwiazdowska, T. Kleiber, T. Praczyk, ir J. Pernak, „Choline-based ionic liquids as adjuvants in pesticide formulation“, *J. Mol. Liq.*, t. 327, p. 114792, bal. 2021, doi: 10.1016/j.molliq.2020.114792.
- [14] Q. Zhang, K. D. O. Vigier, S. Royer, ir F. Jérôme, „Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications“, *Chem. Soc. Rev.*, t. 41, nr. 21, p. 7108–7146, spal. 2012, doi: 10.1039/C2CS35178A.
- [15] „Ionic Liquids in Pharmaceutical and Biomedical Applications: A Review“. Žiūrėta: 2025 m. gruodžio 29 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.mdpi.com/1999-4923/16/1/151>
- [16] „Choline and human nutrition - PubMed“. Žiūrėta: 2025 m. gruodžio 29 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7946521/>
- [17] S. H. Zeisel ir K.-A. da Costa, „Choline: an essential nutrient for public health“, *Nutr. Rev.*, t. 67, nr. 11, p. 615–623, lapkr. 2009, doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00246.x.
- [18] M. A. Razak, P. S. Begum, B. Viswanath, ir S. Rajagopal, „Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review“, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, t. 2017, nr. 1, p. 1716701, 2017, doi: 10.1155/2017/1716701.
- [19] Q. Yang, D. Zhao, C. Zhang, N. Sreenivasulu, S. S.-M. Sun, ir Q. Liu, „Lysine biofortification of crops to promote sustained human health in the 21st century“, *J. Exp. Bot.*, t. 73, nr. 5, p. 1258–1267, kovo 2022, doi: 10.1093/jxb/erab482.
- [20] M. Holeček, „Lysine: Sources, Metabolism, Physiological Importance, and Use as a Supplement“, *Int. J. Mol. Sci.*, t. 26, nr. 18, p. 8791, rugs. 2025, doi: 10.3390/ijms26188791.
- [21] J. Kałużna-Czaplińska, P. Gałtarek, S. Chirumbolo, M. S. Chartrand, ir G. Bjørklund, „How important is tryptophan in human health?“, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, t. 59, nr. 1, p. 72–88, saus. 2019, doi: 10.1080/10408398.2017.1357534.
- [22] D. M. Richard, M. A. Dawes, C. W. Mathias, A. Acheson, N. Hill-Kapturczak, ir D. M. Dougherty, „L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications“, *Int. J. Tryptophan Res.*, t. 2, p. IJTR.S2129, saus. 2009, doi: 10.4137/IJTR.S2129.
- [23] J. A. Pérez-Pimienta ir kt., „Ionic liquid-water mixtures enhance pretreatment and anaerobic digestion of agave bagasse“, *Ind. Crops Prod.*, t. 171, p. 113924, lapkr. 2021, doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113924.
- [24] S. Mazzotta ir kt., „In-depth characterization of choline lysinate ([Cho][Lys]) in ethylene glycol for optimized CO₂ capture conditions“, *J. Mol. Liq.*, t. 437, p. 128359, lapkr. 2025, doi: 10.1016/j.molliq.2025.128359.

- [25] „Thermodynamic and spectroscopic studies of biotin supplement in aqueous solution of biocompatible choline amino acid ionic liquids | Journal of the Iranian Chemical Society“. Žiūrėta: 2025 m. rugsėjo 26 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13738-023-02777-y>
- [26] G. Latini *ir kt.*, „Efficient and reversible CO₂ capture in bio-based ionic liquids solutions“, *J. CO₂ Util.*, t. 55, p. 101815, saus. 2022, doi: 10.1016/j.jcou.2021.101815.
- [27] A. Rita Pereira, I. B. Gomes, ir M. Simões, „Choline-based ionic liquids for planktonic and biofilm growth control of *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens*“, *J. Mol. Liq.*, t. 346, p. 117077, saus. 2022, doi: 10.1016/j.molliq.2021.117077.
- [28] E. Liu, F. Segato, R. A. Prade, ir M. R. Wilkins, „Exploring lignin depolymerization by a bi-enzyme system containing aryl alcohol oxidase and lignin peroxidase in aqueous biocompatible ionic liquids“, *Bioresour. Technol.*, t. 338, p. 125564, spal. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125564.
- [29] S. Liu *ir kt.*, „Improved CO₂ separation performance of aqueous choline-glycine solution by partially replacing water with polyethylene glycol“, *Fluid Phase Equilibria*, t. 495, p. 12–20, rugs. 2019, doi: 10.1016/j.fluid.2019.05.006.
- [30] J. Afridi *ir kt.*, „Extraction of rare earth elements from ion adsorption clay using bio-based ionic liquid via COSMO-RS: Computational and experimental validation“, *J. Rare Earths*, t. 43, nr. 10, p. 2276–2284, spal. 2025, doi: 10.1016/j.jre.2024.11.002.
- [31] Q.-P. Liu, X.-D. Hou, N. Li, ir M.-H. Zong, „Ionic liquids from renewable biomaterials: synthesis, characterization and application in the pretreatment of biomass“, *Green Chem.*, t. 14, nr. 2, p. 304–307, 2012, doi: 10.1039/C2GC16128A.
- [32] X. Chen *ir kt.*, „Effect of choline amino acid ionic liquids on maize seed germination and endogenous plant hormone levels“, *RSC Adv.*, t. 14, nr. 1, p. 382–389, 2024, doi: 10.1039/D3RA07433A.
- [33] M. A. Alawi, I. I. Hamdan, Als. A. Sallam, ir N. A. Heshmeh, „Solubility enhancement of glibenclamide in choline–tryptophan ionic liquid: Preparation, characterization and mechanism of solubilization“, *J. Mol. Liq.*, t. 212, p. 629–634, gruodž. 2015, doi: 10.1016/j.molliq.2015.10.006.
- [34] V. Chizhik, Y. Chernyshev, A. Donets, V. Frolov, A. Komolkin, ir M. Shelyapina, *Magnetic Resonance and Its Applications*. 2014, p. 782. doi: 10.1007/978-3-319-05299-1.
- [35] „Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance, 2nd Edition | Wiley“, Wiley.com. Žiūrėta: 2025 m. gruodžio 29 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.wiley.com/en->

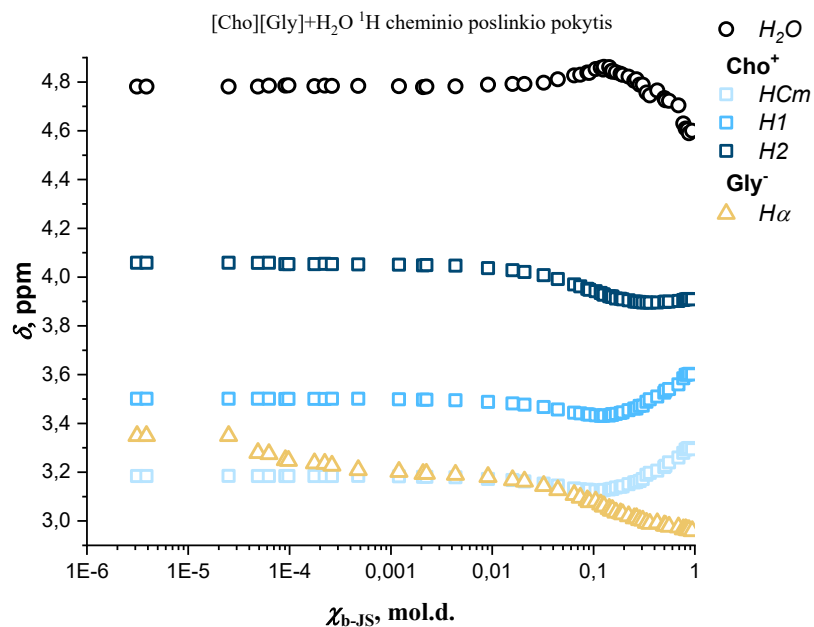
us/Spin+Dynamics%3A+Basics+of+Nuclear+Magnetic+Resonance%2C+2nd+Edition-p-9781118681848

- [36] D. N. Sathyanarayana, *Introduction to Magnetic Resonance Spectroscopy ESR, NMR, NQR*. I.K. International Publishing House Pvt. Limited, 2014.
- [37] „An Improved Diffusion-Ordered Spectroscopy Experiment Incorporating Bipolar-Gradient Pulses - ScienceDirect“. Žiūrėta: 2025 m. gruodžio 31 d. [Interaktyvus]. Adresas: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S106418588571176X>
- [38] M. V. Fedotova, S. E. Kruchinin, ir G. N. Chuev, „Features of local ordering of biocompatible ionic liquids: The case of choline-based amino acid ionic liquids“, *J. Mol. Liq.*, t. 296, p. 112081, gruodž. 2019, doi: 10.1016/j.molliq.2019.112081.
- [39] J. Chen, X. Zeng, ir L. Chen, „Regulation nature of water-choline amino acid ionic liquid mixtures on the disaggregation behavior of starch“, *Carbohydr. Polym.*, t. 272, p. 118474, lapkr. 2021, doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118474.
- [40] F. Khorrami ir M. H. Kowsari, „Tracing Local Nanostructure of the Aqueous Solutions of the Biocompatible [Cho][Gly] Ionic Liquid: Importance of Hydrogen Bond Attraction between Like-Charged Ions“, *J. Phys. Chem. B*, t. 124, nr. 18, p. 3770–3783, geg. 2020, doi: 10.1021/acs.jpcb.0c01796.
- [41] E. Sipavičius, L. Mikalauskas, V. Klimavicius, ir K. Aidas, „Intermolecular organization in aqueous mixtures of choline lysinate studied via NMR and molecular dynamics/quantum mechanics“, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, t. 27, nr. 28, p. 14790–14803, liep. 2025, doi: 10.1039/D5CP00861A.
- [42] V. Balevičius, L. Kimtys, ir G.A. Misiūnas, *Magnetinio rezonanso spektrometrija*. Vilniaus universiteto leidykla, 2000, 171p. ISBN 9986-19-9

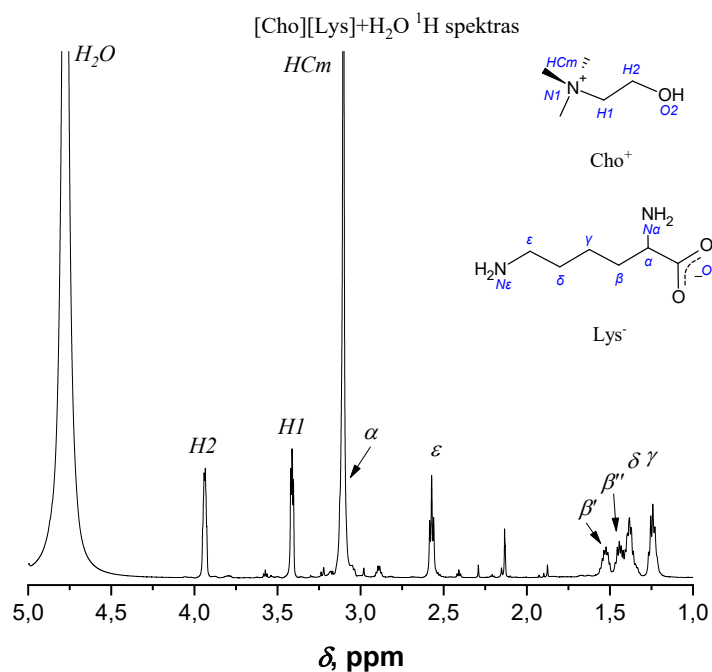
Priedas



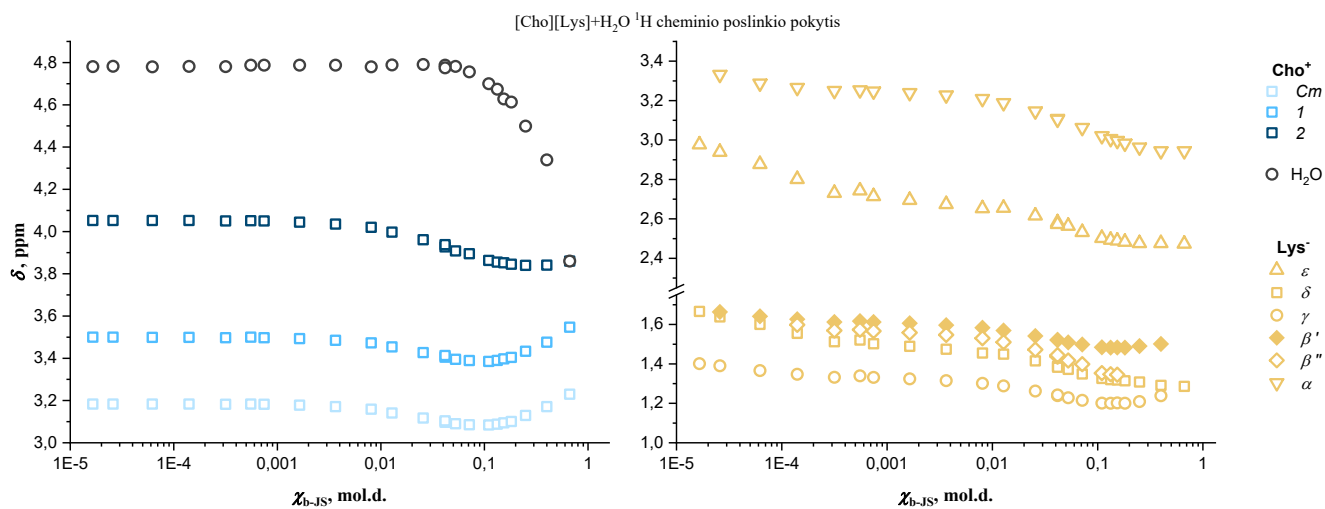
12 pav. [Cho][Gly] vandeninio mišinio ^1H BMR spektras ir spektrinių juostų priskyrimas. Koncentracija $\chi_{b-JS} = 0,07$ mol.d.



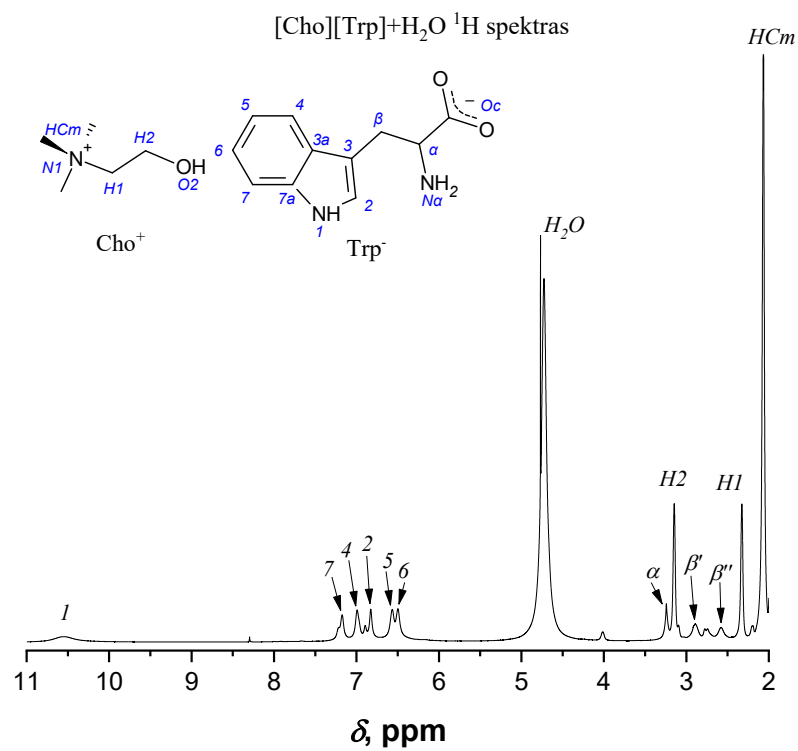
13 pav. Vandens ir jonų ^1H cheminio poslinkio priklausomybė nuo JS koncentracijos vandeniniuose [Cho][Gly] mišiniuose.



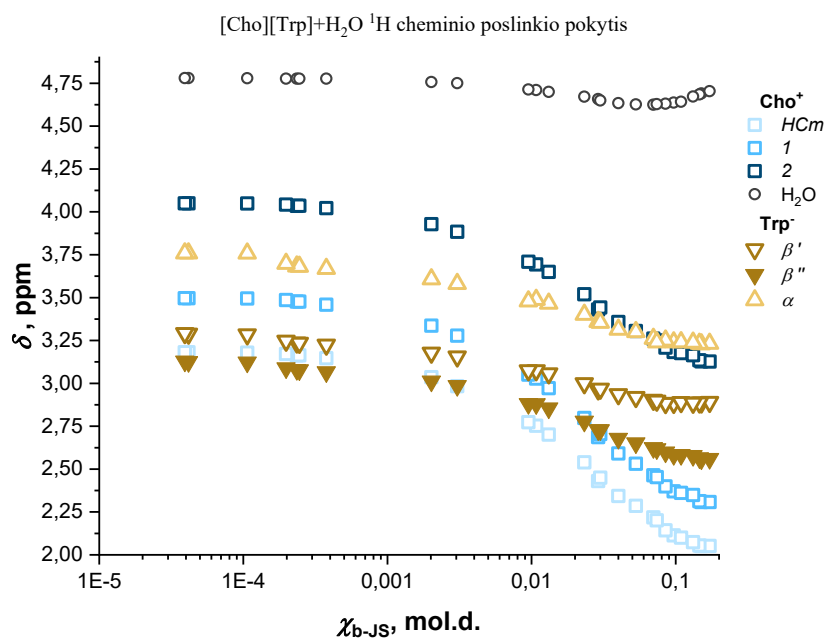
14 pav. [Cho][Lys] vandeninio mišinio ¹H BMR spektras ir spektrinių juostų priskyrimas. Protonų, kurie yra *Cm* ir α pozicijoje, spektrinės juostos persikloja. Koncentracija $\chi_{b-JS} = 0,05$ mol.d.



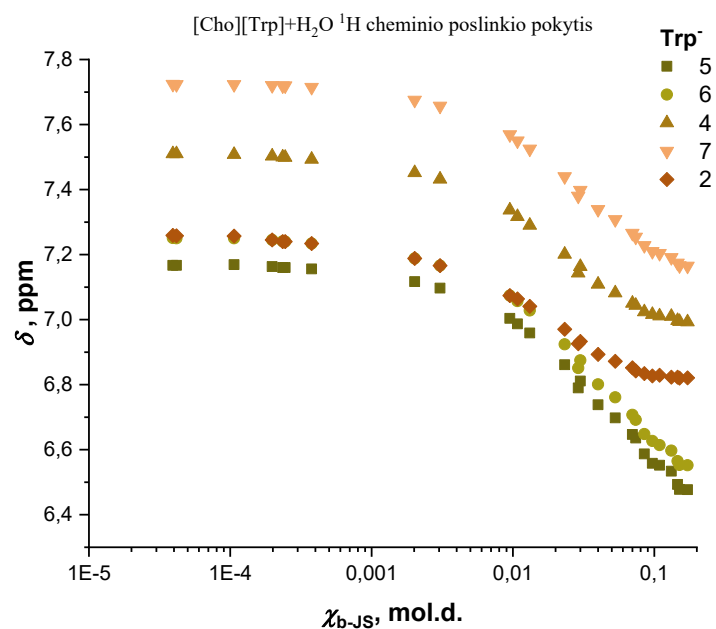
15 pav. Cholino, lizino anijono ir vandens ¹H cheminio poslinkio priklausomybės nuo b-JS koncentracijos



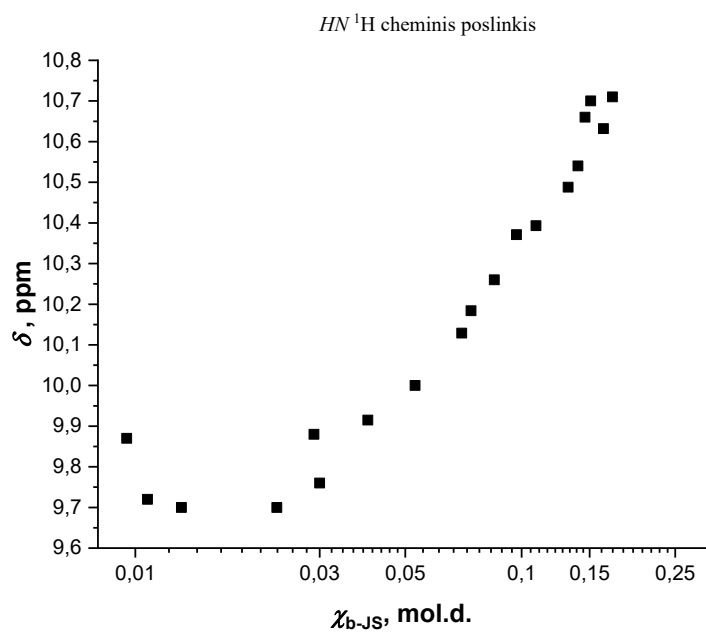
16 pav. [Cho][Trp] vandeninio mišinio ¹H BMR spektras ir spektrinių juostų priskyrimas, kai $\chi_{b-JS} = 0,14$ mol.d.



17 pav. Cholino, vandens ir triptofanato protonų, esančių $H\alpha$ ir $H\beta$ pozicijose, ¹H cheminio poslinkio priklausomybė nuo b-JS koncentracijos.



18 pav. Triptofanato protonų, esančių žiede, ¹H cheminio poslinkio priklausomybė nuo b-JS koncentracijos



19 pav. Triptofanato protono, esančio 1 pozicijoje, ¹H cheminio poslinkio priklausomybė nuo b-JS koncentracijos