

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Laura  
BALIULYTĖ

Aminorūgščių fragmentacijos,  
vykstančios dėl lėtų elektronų poveikio,  
tyrimas kvantinės chemijos metodais

**DAKTARO DISERTACIJA**

Gamtos mokslai  
Biofizika N 011

---

VILNIUS 2020

Disertacija rengta 2015–2019 metais Vilniaus universitete.

**Mokslinė vadovė:**

**dr. Jelena Tamulienė** (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, fizika – N 002).

VILNIUS UNIVERSITY

Laura  
BALIULYTĖ

# Quantum chemical investigations of the fragmentation of amino acids by low energy electrons

**DOCTORAL DISSERTATION**

Natural Sciences  
Biophysics N 011

---

VILNIUS 2020

This dissertation was written between 2015 and 2019 at Vilnius University.

**Academic supervisor**

**Dr. Jelena Tamulienė** (Vilnius University, Natural Sciences, Physics – N 002).

# TURINYS

|   |    |
|---|----|
| SANTRUMPOS .....  | 7  |
| ĮVADAS .....  | 8  |
| Tikslas .....   | 10 |
| Uždaviniai .....  | 10 |
| Darbo naujumas .....  | 10 |
| Ginamieji teiginiai .....   | 11 |
| 1. LITERATŪROS APŽVALGA .....   | 12 |
| 1.1. Aminorūgštys .....   | 12 |
| 1.1.1. Aminorūgščių svarba .....  | 12 |
| 1.2. Aminorūgščių fragmentacija vakuume .....   | 14 |
| 1.3. Kvantinės chemijos metodai .....   | 16 |
| 2. METODIKA .....   | 19 |
| 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....   | 25 |
| 3.1. L-treonino fragmentacija .....   | 25 |
| 3.1.1. L-treonino fragmentacijos tyrimas vakuume .....  | 26 |
| 3.1.2. L-treonino fragmentacijos tyrimas vandenyje .....  | 33 |
| 3.2. L-glutamino rūgšties fragmentacija .....   | 36 |
| 3.2.1. L-glutamino rūgšties fragmentacijos tyrimas vakuume .....                                  | 36 |
| 3.3. L-glutamino fragmentacija .....  | 38 |
| 3.3.1. L-glutamino fragmentacijos tyrimas vakuume .....   | 39 |
| 3.3.2. L-glutamino fragmentacijos tyrimas vandenyje .....   | 45 |
| 3.4. L-leucino fragmentacija .....  | 46 |
| 3.4.1. L-leucino fragmentacijos tyrimas vakuume .....   | 47 |
| 3.4.2. L-leucino fragmentacijos tyrimas vandenyje .....   | 52 |
| 3.5. L-izoleucino fragmentacija .....   | 55 |
| 3.5.1. L-izoleucino fragmentacijos tyrimas vakuume .....  | 56 |
| 3.5.2. L-izoleucino fragmentacijos tyrimas vandenyje .....  | 64 |
| 3.6. L-glutamino rūgšties ir L-glutamino fragmentacijos vakuume<br>palyginimas .....              | 67 |
| 3.7. L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos palyginimas .....                                   | 68 |
| 3.8. L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos<br>tyrimas vandenyje ..... | 70 |

|   |    |
|---|----|
| REZULTATŲ APIBENDRINIMAS.....               | 73 |
| IŠVADOS .....                               | 74 |
| LITERATŪROS SĄRAŠAS .....                   | 75 |
| PRIEDAI.....                                | 87 |
| REZULTATŲ PRISTATYMAS IR PUBLIKACIJOS ..... | 90 |
| PADĖKA.....                                 | 93 |
| GYVENIMO APRAŠYMAS .....                    | 94 |

## SANTRUMPOS

- AR – aminorūgštis/aminorūgštys
- B3LYP – metodas, kuriame elektronų pamainų koreliacija įvertinama Becke pasiūlytu metodu, o pamainos – Lee'o, Yang'o ir Parr'o pasiūlytais funkcionalais (*Becke three-parameter hybrid functional combined with Lee–Yang–Parr correlation functional*)
- CAD – molekulių disociacija vykstanti dėl molekulių tarpusavio susidūrimo (*collision activated dissociation*)
- DBDI – dalelių jonizacija plazmoje (*dielectric barrier discharge ionization*)
- DFT – tankio funkcionalo teorija (*Density Functional Theory*)
- HF – Hartrio ir Foko metodas (*Hartree-Fock method*)
- HOMO – aukščiausia užpildyta orbitalė
- LUMO – žemiausia neužpildyta orbitalė
- mTOR – žinduolių rapamicino taikiny
- NIST – Nacionalinis Standartų ir Technologijos institutas
- PCM – poliarizuotos aplinkos modelis (*Polarized Continuum Model*)
- ROS – aktyvios deguonies formos
- ZPE – nulinių virpesių energija (*Zero-point energy*)

## ĮVADAS

Kiekvieną dieną visus gyvus organizmus veikia natūrali jonizuojančioji spinduliuotė, apimanti radono skleidžiamą alfa, kosminę, radionuklidų esančių ore, vandenyje, maiste ir žemėje skleidžiamą spinduliuotę. Per metus gyventojas vidutiniškai patiria 2.4 mSv apšvitą skleidžiamą gamtinių šaltinių (UNSCEAR, 2000). Rentgenodiagnostikos ir radioterapijos procedūrų metu gaunama papildoma apšvita. Tam tikrais atvejais, pvz. atliekant pilvo tomografiją pacientą veikia net 10 mSv apšvita (Brenner & Hall, 2007). Taigi kai kurių medicininių procedūrų metu gaunama momentinė apšvitos dozė, prilygstanti apšvitai, natūraliai patiriamai per kelis metus. Tokios didelės apšvitos dozės gali pažeisti ląsteles, negrįžtamai paveikti biochemines reakcijas, sukelti ląstelių žūtį, pažeisti organus. Dėl to gali išsivysti spindulinė ar onkologinės ligos (UNSCEAR, 2000).

Lėtieji (antriniai) elektronai, kurių energija yra 1-100 eV (Hoffmann & Stroobant, 2007) susidaro dėl rentgeno ir gama spinduliuotės sąveikos su biomolekulėmis. Didžiąją dalį cheminių ir biologinių pažeidimų sukelia ne gama ir rentgeno spinduliuotė, o antriniai elektronai. Šie lėtieji elektronai sukelia organinių molekulių, tarp jų DNR (Boudaïffa ir kiti, 2000; Barrios ir kiti, 2002; Huels ir kiti, 2003; Tonzani & Greene, 2006) nukleobazių (Abdoul-Carime ir kiti, 2005, Chernyshova ir kiti, 2011) peptidų (Ren & Kresin, 2008) bei aminorūgščių (AR) (Ipolvi ir kiti, 2006; Tamuliene ir kiti, 2016; Farajmand & Bahrami, 2016) pažeidimus. Dėl lėtų elektronų poveikio vyksta aminorūgščių fragmentacija. Susidaro teigiamą ir neigiamą krūvį turintys bei neutralūs fragmentai. Aminorūgštys, suskilusios į fragmentus nebeatlieka įprastinių funkcijų. Dėl šios priežasties sumažėja organizmo atsparumas infekcinėms ligoms (Walsh ir kiti, 1999; Li ir kiti, 2007; Wu, 2009; Wu, 2013) ir oksidaciniam stresui, sutrinka peptidų, baltymų ir hormonų (pvz. serotonino (Floc'h ir kiti, 2010; Ogawa ir kiti, 2014), insulino), metabolitų (gliukozės, riebalų rūgščių) (Wu, 2009; Wu, 2013) purinų ir pirimidinų, histamino (Wu, 2009), melanino (Gordon, 2013) bei neuromediatorių (dopamino (Meyers, 2000; Ramdani ir kiti, 2014), acetilcholino (Wu, 2009; Wu, 2013) ir gama amino sviesto rūgšties (GABA) (Petroff, 2002; Wu, 2009) sintezė. Be to, slopsta nervinių impulsų perdavimas (Wu, 2009), bei raumenų augimas. Lėtėja ir žaizdų gijimas. Taip pat pakinta viduląstelinų baltymų degradacija (Wu, 2009; Wu, 2013) ir lipolizė (Wu, 2013). Aminorūgščių fragmentacija lemia kraujagyslių susidarymo ir tonuso bei hemodinaminių atsakų sutrikimus (Wu, 2009). Pakinta ir osmosinis reguliavimas. Kai suskyla aminorūgštys, keičiasi signalinių kelių



valdymas (Wu, 2009; Wu, 2013), ląstelių proliferacija, diferenciacija (Wu, 2009), apoptozė (Wu, 2009; Wu, 2013). Pažeidus biomolekules, žūna daugiau ląstelių nei įprastai. Dėl intensyvios ląstelių apoptozės ir nekrozės, sutrinka audinių ir organų funkcijos. Todėl gali pasireikšti ūmus radiacinis sindromas arba išsivystyti onkologinės ligos (Forshier, 2009). Taigi labai svarbu išsamiai ištirti jonizuojančios spinduliuotės sąveiką su biomolekulėmis, įskaitant ir aminorūgštis.

Masės spektrometrijos metodais ir yra tiriamas būtent lėtųjų elektronų, ne gama ir rentgeno spinduliuotės, poveikis aminorūgštims. Atliekant aminorūgščių fragmentacijos tyrimus minėtais metodais yra nustatoma kokios masės jonai susidaro. Atliekant teorinį modeliavimą identifikuojamos fragmentų cheminės sudėties ir struktūros bei numatoma kokių procesų metu jie susidaro. Remiantis šiais pradiniais duomenimis galima prognozuoti kokie procesai vyksta gyvuose organizmuose paveiktuose jonizuojančia spinduliuote t.y. jeigu yra žinoma, kokie jonai susidaro dėl lėtųjų elektronų poveikio, tiriant jonizuojančios spinduliuotės poveikį gyviesiems organizmams, jau yra žinoma, kad reikia atkreipti dėmesį į padarinius, kurie pasireikštų dėl šių jonų tiesioginio ar netiesioginio (reakcijų su kitais susidariusiais fragmentais, biomolekulėmis) poveikio. Tad masės spektrometre gaunami pirminiai duomenys padeda/padės identifikuoti procesus vykstančius gyvuose organizmuose.

Dauguma biofizikinių procesų ir biocheminių reakcijų vyksta vandenyje. Vandens molekulės sudaro apie 70% ląstelės svorio (Palsson, 2011; Tamminen ir kiti, 2013; Alberts ir kiti, 2014). Dėl sąveikos su vandeniu pasikeičia aminorūgščių struktūra. Aminorūgščių forma vakuume yra  $(\text{NH}_2\text{-CH(R)-COOH})$ , o vandenyje –  $(\text{NH}_3^+\text{-CH(R)-COO}^-)$  (Frederick ir kiti, 2009). Dauguma AR ir vakuume, ir vandenyje yra neutralios. Tuo tarpu, L-glutamato rūgštis (vandenyje esanti jos forma vadinama L-glutamatu) (Roddick-Lanzilotta & McQuillan, 2000; Latha ir kiti, 2007) ir L-aspartato rūgštis (vandenyje esanti jos forma vadinama L-aspartatu) (Leela ir kiti, 2012) yra anijoninės formos, o L-lizinas (Roddick-Lanzilotta ir kiti, 1998), L-argininas (Kuvaeva ir kiti, 2012) ir L-histidinas (Raju ir kiti, 2016) – katijoninės formos.

Eksperimentiškai yra nustatyta, jog didesnių peptidų (tetraglicino) fragmentacija vandenyje yra mažiau slopinama nei mažesnių peptidų (diglicino) (Ren & Kresin, 2008). Taip pat yra išmatuota, kad deuterizuotas vanduo slopina glicino (mažiausios aminorūgšties) fragmentaciją labiau nei triptofano (didžiausios aminorūgšties) (Ren ir kiti, 2007). Denifl su bendraautoriais eksperimentiškai nagrinėjo vandens įtaką valino fragmentacijai

He nanolašeliuose neišterpus ir išterpus deuterizuotą vandenį. Tyrėjų gauti duomenys parodė, jog valino fragmentacija deuterizuotame vandenyje vyksta sunkiau (Denifl ir kiti, 2009). Nepaisant didelės aminorūgščių svarbos žmogaus ir gyvūnų organizmų funkcijoms, eksperimentinių/teorinių duomenų apie vandens įtaką fragmentacijai yra labai nedaug.

Aminorūgščių fragmentacijos tyrimų rezultatai yra svarbūs ne tik jonizuojančios spinduliuotės tyrimams (Ipolyi ir kiti, 2006), bet ir atliekant baltymų sekvenavimo (AR sekų nuskaitymo) eksperimentus (Armirotti ir kiti, 2007; Bagal ir kiti, 2016) bei nagrinėjant potransliacines baltymų modifikacijas (Nalivaeva & Turner, 2001; Hoffmann & Stroobant, 2007). Be to, žinant kokie fragmentai susidaro aminorūgščių fragmentacijos metu ir kiek jų atsiradimui reikia energijos, būtų galima valdyti fragmentacijos procesus vykstančius ląstelėse.

## Tikslas

Šio darbo tikslas: nustatyti, ar skiriasi aminorūgščių fragmentų atsiradimui reikalingos energijos ir fragmentų struktūros, kai molekulių fragmentacija vyksta vakuume ir vandenyje.

## Uždaviniai

- Nustatyti L-treonino, L-glutamino rūgšties, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino molekulių stabiliausius konformerus vakuume ir vandenyje.
- Nustatyti energijas, būtinas įvairių masių fragmentų atsiradimui dėl minėtų aminorūgščių konformerų poveikio lėtaisiais elektronais vakuume ir vandenyje.
- Nustatyti fragmentų struktūrą, susidariusių vakuume ir vandenyje, skirtumus.
- Nustatyti, ar panašios masės (skirtumas – 1 Da), bet skirtingos cheminės sudėties aminorūgščių fragmentacija vyksta skirtingai.
- Nustatyti, ar vienodos masės ir cheminės sudėties, bet skirtingos geometrinės struktūros aminorūgščių fragmentacija vyksta skirtingai.

## Darbo naujumas

- Parodyta, kad aplinka turi įtaką energijos, reikalingos atsirasti fragmentams L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos metu, dydžiui.

- Parodyta, kad aplinka turi įtaką vienodos masės ir cheminės sudėties fragmentų, atsirandančių vykstant minėtų aminorūgščių fragmentacijai vakuume ir vandenyje, struktūrai.
- Pirmą kartą identifikuotos intensyviausius pikus L-glutamino katijonų masės spektre atitinkančių fragmentų cheminės sudėties.
- Pirmą kartą ištirta L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacija vandenyje.

### Ginamieji teiginiai

- Aplinka (vakuumas, vanduo) turi įtakos vienodų (vienodos masės ir cheminės sudėties) fragmentų atsiradimo energijai.
- Labai panašios masės (skirtumas – 1 Da), bet skirtingos cheminės sudėties aminorūgščių fragmentacija vyksta panašiai.
- Vienodos masės ir cheminės sudėties, bet skirtingos geometrinės struktūros aminorūgščių fragmentacija vyksta panašiai.

Praktinė disertacijos reikšmė yra ta, kad gauti rezultatai leidžia interpretuoti eksperimentiškai išmatuotus L-treonino, L-glutamino rūgšties, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektrus. Gauti Leu ir Ile fragmentacijos rezultatai gali būti naudojami baltymų sekvenavimo tyrimuose. Be to, buvo ištirta aplinkos (vakuomo ir vandens) įtaka minėtų aminorūgščių fragmentacijai.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Aminorūgštys

### 1.1.1. Aminorūgščių svarba

Aminorūgštys yra organinės molekulės, turinčios rūgštinę (COOH), amino (NH<sub>2</sub>) ir šoninę (R') grupes. Visos šios grupės ir vandenilio atomas yra prijungti prie aminorūgšties stereogeninės anglies (chiralinio centro). Tam tikros AR, pvz. treoninas (Thr), turi ir antrą chiralinį centrą, prie kurio prijungtos kitos 4 skirtingos grupės/atomai. AR, išskyrus gliciną, turi L- ir D- izomerus. Glicinas neturi L-/D- izomerų, nes jo R' grupė – vandenilio atomas. Aminorūgščių konfigūracija yra lyginama su glicerolio aldehido molekule (Wu, 2009; Rawn & Ouellette; 2014). Proteinogeninės (sudarantios baltymus) aminorūgštys žmonių ir gyvūnų organizmuose yra L-formos, o D-formos aminorūgštys yra randamos bakterijose (Radkov & Luke, 2004; Lam ir kiti, 2009; Cava ir kiti, 2011). Išskyrus proliną, visose baltymus sudarančiose AR karboksi ir amino grupės yra sujungtos su C<sub>α</sub> atomu ir yra vadinamos α aminorūgštimis (Wu, 2009; Garrett & Grisham, 2010).

L-treonino aminorūgšties šoninėje grupėje yra OH grupė. Ši aminorūgštis yra vadinama hidroksi aminorūgštimi. Dėl to, kad jis turi du chiralinius centrus, gali būti skirstomas į L-treoniną (2S,3R) ir L-allo-treoniną (2S,3S). L-treoninas yra esminė aminorūgštis, t.y. žmogaus organizmas negali jo susintetinti. Šią aminorūgštį būtina gauti su maistu (Wu, 2009). Iš L-treonino yra sintetinama kita aminorūgštis – L-glicinas (Wang ir kiti, 2013). Be to, Thr yra reikalingas baltymo mucino, kuris svarbus žarnyno funkcijoms, sintezei (Mao ir kiti, 2011). L-treoninas yra svarbus antikūnų gamybai, limfocitų proliferacijai ir apoptozės slopinimui.

L-glutamato rūgšties (Glu) šoninėje grupėje yra karboksi grupė. Glu yra neesminė aminorūgštis, t.y. ji sintetinama žmogaus organizme (Wu, 2009). L-glutamatas yra gausiausia viduląstelinė AR (koncentracija varijuoja nuo 2 iki 20 mM) (Newsholme ir kiti, 2003a). Iš L-glutamato yra sintetinama kita AR – L-argininas (Lighthart-Melis ir kiti, 2008; Wu, 2009). Mononatrio glutamatas veikia kaip signalinė molekulė aktyvinanti umami skonio receptorių (Lindemann ir kiti, 2002; Brosnan & Brosnan, 2013; Kurihara, 2015). L-glutamatas kartu su L-aspartatu, L-asparaginu ir L-glutaminu (Gln) yra svarbi P-tipo Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPazės sintezei. Minėtas fermentas reikalingas ląstelės tūriui reguliuoti (Heaton ir kiti, 2008).

L-glutamatas yra ne tik proteinogeninė aminorūgštis, bet ir pagrindinis žadinantis neuromediatorius. Iš Glu sintetinamas pagrindinis slopinantis neuromediatorius – GABA (Danbolt, 2001; Petroff, 2002; Brosnan & Brosnan, 2013). Be to, Glu yra gausiausia aminorūgštis žmogaus smegenyse (Tapiero ir kiti, 2002; Zhou & Danbolt, 2014). Ši AR gali pereiti per kraujo-smegenų barjerą ir būti naudojama kaip energijos šaltinis smegenyse (Hawkins, 2009). L-glutamatas taip pat svarbus mokymosi ir atminties procesams (Danbolt, 2001; Tapiero ir kiti, 2002; Riedel ir kiti, 2003).

L-glutamino šoninėje grupėje yra  $\text{NH}_2$  grupė. Gln įprastai yra neesminė aminorūgštis. Tačiau tam tikrais atvejais, pavyzdžiui esant sepsiui (Labow ir kiti, 2000; Karinch ir kiti, 2001; Tapiero ir kiti, 2002; Andrews & Griffiths, 2002; Kao ir kiti, 2013) sveikstant po traumų (Labow ir kiti, 2000; Boelens ir kiti, 2002; Tapiero ir kiti, 2002), operacijų (Blomqvist ir kiti, 1995; Labow ir kiti, 2000; Wilmore, 2001; Tapiero ir kiti, 2002), kaulų čiupų transplantacijos, radioterapijos, chemoterapijos (Ziegler, 2001; Muscaritoli ir kiti, 2002; Tapiero ir kiti, 2002; Ziegler, 2002) bei padidėjusio streso sąlygomis (Wu, 2009) ši AR turi patekti į žmogaus organizmą su maistu. Kaip energijos šaltinis minėta AR gali būti naudojama makrofaguose (Curi ir kiti, 1999), o gyjant po žarnyno pažeidimų – enterocitų ląstelėse (McCauley ir kiti, 1998). Esant oksidaciniam stresui (pvz. radioterapijos ar chemoterapijos metu), susidaro daugiau aktyviųjų deguonies formų (ROS) nei įprastinėmis sąlygomis (Amores-Sánchez & Medina, 1999; Conklin, 2004; Ozben, 2007; CheN ir kiti, 2007; Barrera, 2012), todėl ROS neutralizavimui reikia daugiau antioksidanto glutationo (Amores-Sánchez & Medina, 1999). Gln yra antioksidanto glutationo prekursorius (Amores-Sánchez & Medina, 1999; Newsholme ir kiti 2003b; Le ir kiti, 2012). Gln taip pat yra L-glutamato prekursorius (Varoqui ir kiti, 2000; Bak ir kiti, 2006; Newsholme ir kiti, 2003b). Gal vykti ir atvirkštinis procesas – Gln sintezė iš Glu (DeBerardinis ir kiti, 2008). L-glutaminas yra ir peptidų, baltymų (Newsholme ir kiti, 2003b; Curi ir kiti, 2005), nukleotidų ir nukleorūgščių (Newsholme ir kiti, 2003b; Gaurav ir kiti, 2012), purinų, pirimidinų (Souba ir kiti, 1985; Walsh ir kiti, 1998; Newsholme ir kiti, 2003b) prekursorius. Gln aminorūgštis dalyvauja palaikant pastovų azoto kiekį organizme (Hammarqvist ir kiti, 2001; Van De Poll ir kiti, 2007; Gaurav ir kiti, 2012). Ši AR taip pat naudojama gliukozei sintetinti (Stumvoll ir kiti, 1998; Mithieux ir kiti, 2004). Gln yra svarbus rūgščių-šarmų balansui užtikrinti (Tapiero ir kiti, 2002; Taylor & Curthoys, 2004). L-glutaminas yra labai svarbus imuninės (Nieman & Pedersen, 1999; Amores-Sánchez & Medina, 1999; Wu, 2009; Gaurav ir kiti, 2012) ir virškinimo sistemų

funkcijoms (Amores-Sánchez & Medina, 1999). Jis dalyvauja reguliuojant žinduolių rapamicino taikinio (mTOR) signalinį kelią (Nicklin ir kiti, 2009; Wu, 2009; van der Vos & Coffey, 2012), L-arginino, L-prolino ir L-asparagino sintezėje (Wu, 2009). L-glutaminas stimuliuoja glikogeno sintezę (Young & Ajami, 2001). Be to, L-glutamino ekstraląstelinė koncentracija yra didžiausia (0.7 mM) (Newsholme ir kiti, 2003a). Ši AR, kaip ir Glu, gali pereiti per kraujo-smegenų barjerą (Hawkins, 2009). Taip pat yra žinoma, jog Gln yra gausiausia nesujungta AR kraujo plazmoje (Papaconstantinou ir kiti, 1998; Gleeson, 2008). L-glutaminas stimuliuoja ląstelių augimą (Roth ir kiti, 2002; Kaadige ir kiti, 2009; Wellen ir kiti, 2010; Matés ir kiti, 2010), citokinių (Roth ir kiti, 2002) ir karščio šoko baltymų (Roth ir kiti, 2002; Wischmeyer, 2002) sintezę. Be to, trūkstant Gln gali sustoti ląstelės ciklas nuo  $G_0$  iki  $G_1$  fazės, taip pat slopinama ir apoptozė (Roth ir kiti, 2002). Yra nustatyta, kad Gln yra būtinas ir vėžinių ląstelių augimui (Baggetto, 1992; DeBerardinis ir kiti, 2008; Wise & Thompson, 2010; DeBerardinis & Cheng, 2010). Pastaruoju metu intensyviai nagrinėjama kaip taikant chemo- ir radioterapiją, selektyviai indukuoti tik vėžinių ląstelių žūtį ir mažiau pažeisti/nepažeisti aplinkinių sveikų audinių (Savarese ir kiti, 2003; Wise & Thompson, 2010; Hensley ir kiti, 2013; Altman ir kiti, 2016; Yang ir kiti, 2017).

L-leucinas (Leu) ir L-izoleucinas (Ile) yra šakotosios aminorūgštys. Jos turi patekti į organizmą su maistu (priskiriamos esminėms AR) (Wu, 2009). L-leucinas ir L-izoleucinas kartu su L-valinu yra būtini raumenų funkcijai užtikrinti ir raumenų augimui (Shimomura ir kiti, 2004; Atherton ir kiti, 2010). Leu yra labai svarbus insulino ir gliukozės apykaitos procesams (Yang ir kiti, 2010; Norton & Layman, 2018). L-leucinas aktyvina mTOR signalinį kelią, reguliuojantį baltymų sintezę ir skaidymą (Meijer & Dubbelhuis, 2004; Stipanuk, 2007; Norton & Layman, 2018). L-izoleucinas reikalingas L-glutamino ir L-alanino sintezei (Wu, 2009).

## 1.2. Aminorūgščių fragmentacija vakuume

Farajmand ir Bahrami eksperimentiškai ir teoriškai ištyrė L-treonino ir L-allo-treonino fragmentaciją dėl lėtų elektronų poveikio vakuume. Jie apskaičiavo reakcijų, kurių metu atsiranda teigiamą krūvį turintis (tiriamas) ir neutralus fragmentas, entalpijas. Toliau šioje disertacijoje naudosime terminą „komplementarus fragmentas“ (fragmentas, atsiradęs to pačio fragmentacijos proceso metu, kaip ir tiriamasis katijonas). Šių autorių eksperimentiškai išmatuotame L-treonino katijonų masės spektre intensyviausias pikas yra

ties  $m/z=57$  (Farajmand & Bahrami, 2016). Tuo tarpu, (Serafin ir kiti, 2004) tyrė neutralių fragmentų,  $H_2O$  ( $m/z=18$ ) ir  $H_2O+CO$  ( $m/z=46$ ), atsiradimą iš protonizuoto L-/D-treonino, L-/D-allo-treonino, N-metil-L-/D-treonino ir N-metil-L-/D-allo-treonino dujinėje fazėje vykstant molekulių disociacijai dėl molekulių tarpusavio susidūrimo (CAD). Jie nustatė, kad susidarančių fragmentų kiekis priklauso nuo Thr konformacijos.

Yra žinoma, kad molekulė turi būti jonizuojama tam, kad atsirastų fragmentas (Hoffmann & Stroobant, 2007). Na su bendraautoriais nagrinėjo L-glutamo rūgšties fragmentaciją vakuume dėl dalelių jonizacijos plazmoje (DBDI) (Na ir kiti, 2007). Minėti autoriai pastebėjo, kad vykstant Glu fragmentacijai susidaro  $m/z=148$  ( $[M + H]^+$ ),  $130$  ( $[M + H - H_2O]^+$ ),  $102$  ( $[M + H - HCOOH]^+$ ) ir  $84$  ( $[M + H - HCOOH - H_2O]^+$ ) fragmentai, kur M yra L-glutamo rūgštis. Šie autoriai eksperimentiškai išmatavo, jog pikų intensyvumas ties tam tikromis masėmis Glu teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektre skiriasi priklausomai nuo to, kiek laiko praėjo nuo Glu jonizacijos (Na ir kiti, 2007).

L-leucino ir L-izoleucino aminorūgštys tarpusavyje skiriasi tik vienos metilo ( $CH_3$ ) grupės pozicija molekulėje. L-leucine metilo grupė prijungta prie  $C_\gamma$ , o L-izoleucine – prie  $C_\beta$  atomo. Tačiau šių AR katijonų spektruose pikai ties tam tikromis masėmis yra būdingi tik L-leucinui/L-izoleucinui. L-leucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre unikalus pikas yra ties  $m/z=43$  (NIST (žiūrėta 2017-03-30)). Tuo tarpu, Ile katijonų spektre specifiniai pikai yra ties masėmis  $m/z=27, 29, 56, 57, 69$  ir  $75$  (NIST (žiūrėta 2017-12-30)).

Kita vertus, (Papp ir kiti, 2012) jokių diagnostinių fragmentų, galinčių atsirasti tik Leu/tik Ile fragmentacijos metu, nenustatė. Jie eksperimentiškai bei teoriškai ištyrė leucino ir izoleucino katijonų susidarymą dėl lėtų elektronų poveikio, kai komplementarus fragmentas yra neutralus. Aukščiau minėti autoriai surado fragmentų, kurių masės yra  $m/z=28, 29, 30, 41, 42, 43, 44, 45, 57, 69, 70, 74, 75$  ir  $86$  cheminę sudėtį, eksperimentiškai išmatavo energijas reikalingas atsirasti šiems fragmentams bei apskaičiavo reakcijų entalpijas. Šie autoriai numatė, kad  $m/z=28$  fragmentas, atsirandantis leucino ir izoleucino fragmentacijos metu gali būti  $NHCH^+$  arba  $CO^+$ , bet nepatvirtino, kurio cheminės sudėties katijono atsiradimas yra tikėtinesnis.

Vis dėlto, informacijos apie aminorūgščių fragmentaciją dėl lėtų elektronų poveikio yra nepakankamai. Mūsų žiniomis, nėra duomenų apie Gln katijonų masės spektre esančius pikus atitinkančių fragmentų chemines sudėtis, ar analizės kuo skiriasi panašios masės, bet skirtingas šonines grupes turinčių



AR (Glu ir Gln) fragmentacija. Kaip jau buvo minėta, Gln yra būtinas ne tik įprastinėms ląstelių funkcijoms užtikrinti, bet ir vėžinių ląstelių augimui (Baggetto, 1992; DeBerardinis ir kiti, 2008; Wise & Thompson, 2010; DeBerardinis & Cheng, 2010). Nustačius Glu ir Gln fragmentacijos skirtumus, šiuos duomenims bus galima panaudoti selektyviai indukuojant būtent Gln fragmentaciją ir taip stabdyti vėžinių ląstelių augimą.

### 1.3. Kvantinės chemijos metodai

Pastaruoju metu dažnai taikomi įvairūs kvantinės chemijos metodai norint paaiškinti eksperimentiškai užregistruotų procesų rezultatus (Fahrenkamp-Uppenbrink ir kiti, 2008), tarp jų ir aminorūgščių fragmentacijos (Papp ir kiti, 2012). Be to, tam tikrais atvejais, naudojant kompiuterinio modeliavimo metu gautus rezultatus, galima optimizuoti brangiai kainuojančius eksperimentus, pvz. naudoti mažiau reagentų. Vienas iš plačiai naudojamų kvantinės chemijos metodų yra Hartrio ir Foko (HF) metodas (Friesner, 2004). Taikant šį metodą yra sprendžiama nuo laiko nepriklausoma Šredingerio lygtis. Tačiau vienas pagrindinių HF metodo trūkumų yra tas, kad jį naudojant neišskaitoma elektronų koreliacija. Norint išvengti šio trūkumo, vietoje Šredingerio lygties, kurioje elektronų būseną aprašoma bangine funkcija, sistemos energiją galima nustatyti naudojant elektronų tankį. Toks skaičiavimų principas taikomas tankio funkcionalo teorijos (DFT) metode. Naudojant DFT sprendžiama Kohn ir Sham lygtis. Jos sprendimas trunka trumpiau, dėl to pagreitėja skaičiavimai. Šis metodas remiasi Hohenberg ir Kohn teoremomis: daugiaelektronės sistemos pagrindinės būsenos savybės vienareikšmiškai lemia elektronų tankis, kuris priklauso tik nuo erdvinių koordinačių. Daugiaelektronės sistemos energiją galima nustatyti turint elektronų tankio funkcijas (Orio ir kiti, 2009). Teorinio modeliavimo rezultatai, gauti DFT metodu, gerai sutampa su eksperimentiniais rezultatais, ypač kai yra tinkamai parenkamas funkcionalas (Barth, 2004). Neretai yra naudojami hibridiniai funkcionalai. Juose įtrauktos tankio funkcionalo išraiškos aprašančios pamainas bei elektronų koreliaciją ir HF funkcionalai aprašantys pamainas. Vienas iš dažniausiai naudojamų hibridinių funkcionalų yra B3LYP. Tai matematinis modelis, kuriame elektronų pamainų koreliacija įvertinama Becke pasiūlytu metodu, o pamainos – Lee'o, Yang'o ir Parr'o pasiūlytais funkcionalais (*Becke three-parameter hybrid functional combined with Lee–Yang–Parr correlation functional*) (Young, 2001; Yersin, 2019). Šiuo funkcionalu gauti rezultatai yra vieni tiksliausių (Curtiss ir kiti, 2000).



Tam, kad gauti tikslius rezultatus reikia tinkamai parinkti ne tik funkcionalą, bet ir bazės artinį. Plačiai naudojamos Dunning'o bazės, užrašomos VXZ forma, kur V – nurodo, jog aprašomi valentinėse orbitalėse esantys elektronai, XZ (zeta funkcijų skaičius naudojamas aprašyti valentinėse orbitalėse esančius elektronus)=D,T,Q,5,6 (D – dupletinė, T – tripletinė ir t.t.). Skaičiavimuose, kuriuose yra svarbi elektronų koreliacija, naudojamos bazinės funkcijos žymimos raidėmis „cc-p“ (*correlation-consistent polarized basis set*) (Young, 2001; Lewars, 2001; Wilson ir kiti, 2015). Tokios bazinės funkcijos užrašomos cc-pVXZ forma. Šioje disertacijoje aprašyti tyrimai atlikti su koreliacinės tripolinės zeta bazės artiniu (*correlation consistent valence triple zeta basis set* (cc-pVTZ)). Naudojant cc-pVTZ bazę skirtingi atomai yra aprašomi skirtingu funkcijų skaičiumi. Pavyzdžiui, vandenilio atome yra 1 elektronas, o anglies – 6 elektronai, iš jų 4 – valentiniai. Bendroji vandenilio atomo elektroninė konfigūracija –  $1s^1$ , o anglies –  $1s^2 2s^2 2p^2$ . Norint aprašyti s orbitalę reikia vienos funkcijos, p orbitalę – 3. Taigi minimalus bazinių funkcijų skaičius reikalingas norint aprašyti H atomą yra 1, o norint aprašyti C atomą – 5. Jeigu H atomui aprašyti būtų naudojama TZ/VTZ bazė, tai bazinių funkcijų skaičius reikalingas aprašyti šiam atomui, būtų lygus 3 (bazė tripletinė, funkcijų skaičius trigubinamas). Trigubinama tik valentinius elektronus aprašančios bazės. Kadangi naudojama cc-pVTZ bazė (įskaičiuojama poliarizacija), todėl elektroninė H atomo konfigūracija papildoma  $2p^0 3d^0$  konfigūracijomis. Valentinius elektronus aprašančios bazinės funkcijos yra trigubinamos ( $1s^1$  aprašo 3 funkcijos), pirmą pridėtą orbitalę aprašančios bazės dvigubinamos ( $2p^0$  aprašo 6 funkcijos), o antrą pridėtą orbitalę aprašančios bazės nekeičiamos ( $3d^0$  aprašo 5 funkcijos). Taigi naudojant cc-pVTZ bazę H atomą aprašo 14 funkcijų. Tuo tarpu, C atomo atveju, elektroninė konfigūracija po papildymo orbitalėmis yra  $1s^2 2s^2 2p^2 3d^0 4f^0$ . Tuomet  $1s^2$  orbitalę aprašo 1 bazinė funkcija,  $2s^2 – 3$  (orbitalėje yra valentiniai elektronai, bazė tripletinė, funkcijų skaičius trigubinamas),  $2p^2 – 9$  (šioje orbitalėje taip pat yra valentiniai elektronai, bazė tripletinė, funkcijų skaičius trigubinamas),  $3d^0 – 10$  funkcijų (d orbitalę aprašančios 5 funkcijos dvigubinamos, ne trigubinama),  $4f^0$  orbitalę aprašančių funkcijų skaičius – 7. Taigi naudojant cc-pVTZ bazės artinį, C atomą aprašo 30 funkcijų (Woon & Dunning, 1995; Jensen, 2017).

Aplinka (vakuumas/tirpalas) gali turėti įtakos molekulių savybėms ir vykstantiems biofizikiniams procesams, cheminėms reakcijoms. Įprastai, vertinant aplinkos įtaką naudojamas poliarizuotos aplinkos metodas (PCM). Naudojant PCM metodą, aplinka aprašoma sferomis, turinčiomis tokias

fizikines savybes (dipolinį momentą ir dialektrinę skvarbą), kurios būdingos tam tikram tirpikliui, pvz. vandeniui (Skyner ir kiti, 2015). PCM metodas yra gana tikslus, jo naudojimas nesudėtingas ir nereikalauja didelių kompiuterio resursų. Tačiau PCM ne visada pakankamai tiksliai aprašo vandenilinių ryšių atsiradimą tarp tiriamosios molekulės ir tirpalo. Todėl, tam tikrais atvejais (pvz. norint įvertinti, ar tarpmolekulinių vandenilinių ryšių įtaka yra reikšminga procesui) kartu su PCM metodu, prie tiriamosios molekulės yra patalpinama tirpiklio molekulė/molekulės, t.y. analizuojamoji molekulė Van der Valso sąveikomis sujungiama su „realia“ tirpiklio molekule. Tokiu būdu tiksliau įvertinama vandenilinių ryšių (tarp tirpiklio ir tirpalo) įtaka tiriamiems procesams (Mullin & Gordon, 2009; Skyner ir kiti, 2015).

## 2. METODIKA

Tam, kad būtų nustatytos stabiliausias Thr, Glu, Gln, Leu ir Ile struktūros, apskaičiuota AR jonizacijos energija ir energija reikalinga fragmentams atsirasti naudojome DFT B3LYP metodą cc-pVTZ bazės artinyje. Ši metodą taikėme ankstesniuose aminorūgščių fragmentacijos dėl lėtų elektronų poveikio tyrimuose – valino (Tamuliene ir kiti, 2018), triptofano (Tamuliene ir kiti, 2015), asparagino (Tamuliene ir kiti, 2014), alanino (Tamuliene ir kiti, 2013) bei kitų. Minėtų tyrimų metu gauti teoriniai rezultatai sutampa su eksperimentiniais rezultatais, t.y. apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti fragmentams ( $E_{ap}$ ) sutampa su eksperimentiniais rezultatais esant  $< 5\%$  santykinei paklaidai. Todėl DFT B3LYP kartu su cc-pVTZ buvo parinkti tirti ir L-treonino, L-glutamino rūgšties, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentaciją dėl lėtų elektronų poveikio.

Šio tyrimo metu pirmiausiai nustatėme stabiliausius AR konformerus. Iš pradžių buvo pasirinkta  $NH_2$  grupės pozicija. Tuomet modeliuota kitų grupių padėtis:

- 1) L-treonino šoninės  $R=CH(OH)CH_3$ , COOH ir šoninėje grupėje esančios OH;
- 2) L-glutamino rūgšties  $R=(CH_2)_2COOH$  ir abiejų COOH,
- 3) L-glutamino  $R=(CH_2)_2CO(NH_2)$ , COOH,  $C_\delta-NH_2$  grupių,
- 4) L-leucino  $R=CH_2-CH(CH_3)_2$  šoninės, COOH ir  $C_\delta-CH_3$  grupių,
- 5) L-izoleucino  $R=CH(CH_3)-CH_2-CH_3$  šoninės, COOH ir  $C_\beta-CH_3$  grupių.

Minėtos grupės suktos pagal laikrodžio rodyklę po  $20^\circ$  visose penkiose molekulėse. Buvo surasti 31 L-treonino, 59 L-glutamino rūgšties, 10 L-glutamino, 54 L-leucino ir 52 L-izoleucino stabilūs konformerai. Toliau naudojame  $C'$  indeksą po konformerų numerių, t.y. IC, kad įvardinti, jog tai konformeras vakuume (šiam konformerui būdingos COOH ir  $NH_2$  grupės) bei „Allo“, kad įvardinti, jog tai – allo konformeras.

Norint nustatyti stabiliausius, mažiausios energijos konformerus, AR struktūros buvo optimizuotos ir apskaičiuoti nulinių virpesių dažniai. Atrinkta po vieną žemiausios energijos būsenos Glu, Gln, Leu ir Ile konformerą, kurių fragmentacija dėl lėtų elektronų poveikio buvo ištirta teoriškai. Pasirinkome, po vieną konformerą, nes kitų kiekvienos aminorūgšties konformerų energija yra didesnė už pačio sabiliausio konformero daugiau nei 0.02 eV (šiluminio dalelių judėjimo energija). Tuo tarpu, Thr atveju buvo rastos dvi stabilios struktūros, kurių energija skiriasi 0.02 eV. Todėl buvo tirta abiejų

konformerų – L-treonino (2S,3R) ir L-allo-treonino (2S,3S) fragmentacija. Norėdami palyginti šio darbo metu nustatytų ir kitų autorių rastų ir publikuotų konformerų struktūras, lyginome AR grupių pozicijas erdvėje. Toliau šiame darbe panašiais konformerais laikysime tas struktūras, kurių šoninės grupės padėtis erdvėje bei COOH ir NH<sub>2</sub> grupių vandenilių atomų padėtys yra panašios t.y. minėta grupė ir įvardintų grupių H atomai nukreipti į tą pačią pusę.

Atlikta nustatytų ir atrinktų konformerų ryšių ilgių ir ryšių užpildų (elektronų porų skaičiaus tarp dviejų atomų) analizė, tam, kad būtų surasti silpniausi, lengviausiai nutrūkstantys ryšiai. „Silpniausias ryšys“ yra tas, kurio ilgis jonizuotoje molekulėje labiausiai pailgėja lyginant su ryšio ilgiu tarp tų pačių atomų neutralioje molekulėje, o ryšio užpilda – labiausiai sumažėja (Mulliken, 1955). Svarbu paminėti, jog kai kurie fragmentai atsiranda nutrūkus keliems (dažniausiai silpniausiems) ryšiams. Fragmentacija vyksta kai energija reikalinga atsirasti fragmentams yra didesnė už jonizacijos energiją (IE).

IE apskaičiuota pagal formulę (Young, 2001; Smalø ir kiti, 2010):

$$IE = (E^{A^+} - E^A), \quad (1)$$

kur  $E^{A^+}$  – teigiamą krūvį turinčio konformerio energija,  $E^A$  – neutralaus konformerio energija.

Buvo apskaičiuotos adiabatinės IE, išskyrus L-treonino konformerų, kurių jonizuotos formos yra nestabilios. Šiuo išskirtiniu atveju yra nustatytos vertikalios IE.

Norėdami atrinkti kokių masių fragmentų atsiradimą tirsime teoriniais metodais, naudojome eksperimentiškai užregistruotus teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektrus. L-treonino ir L-glutamino katijonų masės spektrus išmatavo tyrimų partneriai dr. Liudmila Romanova, dr. Vasyl Vukstich, dr. Alexander Papp ir Dr. Sci. Alexander Snegursky iš Ukrainos nacionalinės mokslų akademijos, Elektronų fizikos instituto. Atlikdami eksperimentus partneriai taikė smūginės jonizacijos metodą. Šis metodas naudojamas tiriant termostabilius junginius. Bandinio molekulės būdavo pakaitinamos iki dujinės būsenos (temperatūra neviršijo 150 C°) ir apšaudomos elektronais, kurių energija yra ≤70 eV:



kur AB – tiriamoji molekulė, (AB)\* – molekulinis jonas, A<sup>+</sup> – atsiradęs katijonas, o B<sup>-0/+</sup> – kitas, to pačio proceso metu susidaręs (komplementarus) fragmentas, n – elektronų skaičius.

Dauguma molekulinų jonų skyla į teigiamą ar neigiamą krūvį turinčius bei krūvio neturinčius fragmentus (Hoffmann & Stroobant, 2007). Kolegos išmatavo teigiamą krūvį turinčių jonų spektrus.

Užregistruotame L-treonino katijonų masės spektre intensyviausi pikai yra ties  $m/z=29, 30, 31, 32, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 57, 58, 59, 74$  ir  $75$  (Pav. 2), o L-glutamino – ties  $m/z=28, 41, 56$  ir  $84$  (Pav. 6) masėmis. Šie tyrėjai išmatavo energijas reikalingas katijonams atsirasti Thr (tyrimai tęsiami) ir Gln fragmentacijos metu. Fragmentų masių parinkimui buvo naudotas L-glutamino rūgšties teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektras publikuotas Nacionalinio Standartų ir Technologijos instituto (NIST) duomenų bazėje (NIST) (žiūrėta 2016-06-30), kuriame intensyviausi pikai yra ties  $m/z=28, 41, 56$  ir  $84$ . Modeliuojant L-leucino ir L-izoleucino fragmentaciją dėl lėtų elektronų poveikio buvo naudoti NIST bazėje esantys teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektrai. L-leucino katijonų masės spektre intensyviausi pikai yra ties masėmis  $m/z=28, 30, 41, 43, 44, 74$  ir  $86$  (NIST (žiūrėta 2017-03-30)), o L-izoleucino – ties  $m/z=27, 28, 29, 30, 41, 44, 56, 57, 69, 74, 75$  ir  $86$  (NIST (žiūrėta 2017-12-30)). Tuo tarpu, (Papp ir kiti, 2012) publikavo išmatuotas energijas (bei apskaičiuotas entalpijas) reikalingas atsirasti įvairių masių ( $m/z=28, 29, 30, 41, 42, 43, 44, 57, 69, 70, 74, 75$  ir  $86$ ) fragmentams vykstant Leu ir Ile fragmentacijai. AR katijonų masės spektruose, kurie yra publikuoti NIST duomenų bazėje, informacija apie konkrečias fragmentų atsiradimui reikalingos energijos vertes, chemines fragmentų sudėtis ir procesus, kurių metu atsiranda intensyvius pikus atitinkantys fragmentai, nepateikta.

Energija, reikalinga atsirasti teigiamą krūvį turintiems fragmentams buvo apskaičiuota pagal formulę:

$$E_{atsir.} = |E_{AR}| - |\Sigma(E_i)|, \quad (2)$$

kur  $E_{AR}$  – neutralios tiriamosios AR molekulės energija,  $E_i$  – tiriamojo katijono ir kito to pačio proceso metu atsirandančio (komplementaraus) fragmento energijų suma.

Buvo apskaičiuota energija, reikalinga katijonams atsirasti, kai komplementarus fragmentas turi teigiamą/neigiamą krūvį, ar yra neutralus. Darbe pateikta komplementarių fragmentų, atsirandančių tų pačių procesų metu kaip ir tikėtinausi katijonai, cheminės sudėtys ir krūviai. Visų molekulių ir fragmentų energijos nustatytos atlikus optimizavimo procedūrą.

Tam, kad būtų gautos tikslesnės konformerų, fragmentų ir fragmentų atsiradimui reikalingos energijos vertės, buvo įskaičiuota nulinių virpesių

energija (ZPE). Jeigu kompiuterinio modeliavimo metu apskaičiuota energija reikalinga atsirasti fragmentui skiriasi nuo eksperimentiškai išmatuotos katijono  $E_{ap} < 5\%$  ribose, tai tokios energijos šiame darbe laikomos sutampančiomis. Tikėtinausia, jog atsiras fragmentai, kurių atsiradimui reikia mažiausiai energijos.

Tačiau, tam tikrais atvejais, energija reikalinga atsirasti tokios pačios masės, bet skirtingos cheminės sudėties fragmentams skiriasi labai nedaug (statistinių paklaidų ribose). Tuomet norint nustatyti, kurio fragmento atsiradimas yra tikėtinesnis, buvo apskaičiuota ryšio energija tenkanti atomui ((3) formulė) terminio stabilumo įvertinimui.

$$E_{ryšio} = (E_{fragm.} - |\sum E_i|) / n_{visi}, \quad (3)$$

kur  $E_{fragm.}$  – fragmento energija,  $E_i$  – fragmentą sudarančių cheminių elementų atomų energija,  $n_{visi}$  – fragmentą sudarančių atomų skaičius.

Kuo didesnė ryšio energija tenkanti atomui, tuo fragmentas yra stabilesnis termiškai. Labiau tikėtina, jog masės spektrometru bus aptikti stabilesni fragmentai.

Tam, kad palyginti tiriamų fragmentų cheminį stabilumą ir reakingumą buvo apskaičiuotas elektroneigiamumas (4), giminingumas elektronui (5), cheminis kietumas (6), cheminis minkštumas (7) bei HOMO-LUMO tarpas (8). Elektroneigiamumas – tai parametras parodantis atomo gebėjimą prisitraukti elektronus link savęs (Walker ir kiti, 2013).

$$\lambda = \frac{IE + EA}{2}, \quad (4)$$

kur  $\lambda$  – elektroneigiamumas,  $IE$  – adiabatinė jonizacijos energija,  $EA$  – giminingumas elektronui.

Giminingumas elektronui – tai energija reikalinga išplėsti elektroną iš neigiamą krūvį turinčio fragmento. Adiabatinės EA vertės buvo apskaičiuotos pagal formulę (Smalø ir kiti, 2010):

$$EA = E^A - E^{A-}, \quad (5)$$

kur  $E^A$  – neutralaus fragmento energija, o  $E^{A-}$  – neigiamo fragmento energija. Išimtis – L-treonino konformerų EA ir IE vertės. Jos nustatytos neatlikus optimizacijos procedūros, nes kaip jau minėta, jonizuota L-treonino molekulė suskyla į atskirus fragmentus.

Cheminiis kietumas – tai indeksas parodantis molekulės gebėjimą priešintis elektronų konfigūracijos pokyčiams, t.y. nusako molekulės gebėjimą priešintis dalyvavimui reakcijose. Kuo didesnis cheminis kietumas – tuo fragmentas yra stabilesnis. Cheminis kietumas nustatytas pagal formulę:

$$\eta = \frac{|IE-EA|}{2}, \quad (6)$$

kur  $\eta$  – cheminis kietumas,  $IE$  – jonizacijos energija,  $EA$  – giminingumas elektronui.

Cheminiam kietumui atvirkštinis dydis yra cheminis minkštumas ( $S$ ). Jis skaičiuojamas taip (Domingo ir kiti, 2016):

$$S = \frac{1}{\eta}, \quad (7)$$

kur  $S$  – cheminis minkštumas,  $\eta$  – cheminis kietumas.

HOMO-LUMO tarpas – tai stabilumo parametras. Kuo didesnis HOMO-LUMO tarpas, tuo fragmentas yra stabilesnis chemiškai. Jis skaičiuojamas kaip energijų skirtumas tarp žemiausios neužpildytos molekulinės orbitalės (LUMO) ir aukščiausios užpildytos orbitalės (HOMO) (Walker ir kiti, 2013):

$$GAP = \epsilon_{LUMO} - \epsilon_{HOMO}, \quad (8)$$

kur  $\epsilon_{LUMO}$  – LUMO energija,  $\epsilon_{HOMO}$  – HOMO energija.

Kaip jau minėta, terpė turi įtakos AR struktūroms. Todėl norint nustatyti, kaip fragmentacijos procesai vyksta dėl lėtų elektronų poveikio vandenyje, atlikti tyrimai įskaičiavus vandens įtaką. Naudotas PCM metodas. Vandenyje, kai AR yra cviterjoninės formos, vieni iš pagrindinių struktūrinių skirtumų (COOH ir NH<sub>2</sub> grupių vandenilių padėtys) išnyksta t.y. karboksi grupės vandenilis disocijuoja, o amino grupė prisijungia vandenilį, todėl buvo ištirta mažiau konformerų: šeši L-treonino ir po septynis L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino. Tolimesniems fragmentacijos vandenyje tyrimams atrinkta po vieną stabiliausia cviterjoninį Thr, Gln, Leu ir Ile konformerą, kurių energija yra mažiausia. Toliau, po konformero numeriu naudojame indeksą 'Z' t.y. IZ. Tai leidžia įvardinti, jog nagrinėjamas cviterjoninis konformeras (šiam konformerui būdingos COO<sup>-</sup> ir NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupės) ir jo fragmentacija. Taip pat buvo atlikta cviterjoninių konformerų ryšių analizė. Svarbu paminėti, jog nebuvo analizuojama atsiradusių fragmentų sąveika tarpusavyje ar su terpe.

Ankstesniuose straipsniuose (Roddick-Lanzilotta & McQuillan, 2000; Latha ir kiti, 2007) buvo publikuoti rezultatai parodantys, jog vandenyje dominuoja anijoninė Glu forma. Neigiamą krūvį turinčios molekulės fragmentacija negali vykti dėl lėtų elektronų poveikio, todėl Glu fragmentacija vandenyje nebuvo tiriama.

Norint įvertinti vandenilinių ryšių (tarp AR ir H<sub>2</sub>O) įtaką fragmentacijai, buvo nustatyti ir stabiliausi tiriamųjų aminorūgščių kompleksai (AR-H<sub>2</sub>O) bei apskaičiuota energija reikalinga atsirasti tikėtinausiam fragmentui kiekvieno AR-H<sub>2</sub>O komplekso fragmentacijos metu. Parenkant prie kurio cviterjoninės AR atomo prisijungs vandens molekulė Thr-H<sub>2</sub>O, Gln-H<sub>2</sub>O, Leu-H<sub>2</sub>O ir Ile-H<sub>2</sub>O kompleksuose, buvo pasirinkti karboksi grupės deguonies bei amino grupės vandenilio atomai, nes šios grupės turi krūvį. Ankstesni, kitų autorių atlikti tyrimai (pvz. glicino-H<sub>2</sub>O, alanino-H<sub>2</sub>O kompleksų) parodė, jog stabiliausi yra tie kompleksai, kuriuose vandens molekulė yra prisijungusi prie protonizuotos amino ir deprotonizuotos karboksi grupių (Aikens & Gordon, 2006; Mullin & Gordon, 2009). Sumodeliavus po penkis kompleksus, atrinkta po vieną stabiliausią ir tirtas tikėtiniausių fragmentų atsiradimas vykstant šių kompleksų fragmentacijai.

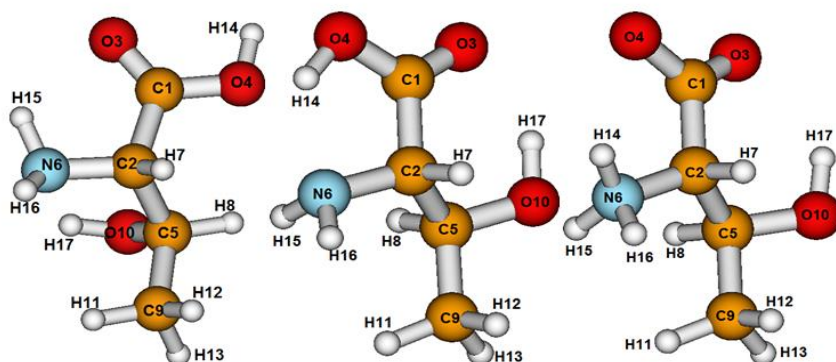
Fragmentacijos dėl lėtų elektronų poveikio tyrimai vakuume ir vandenyje buvo atlikti naudojant Gaussian 03 Rev D.01 (Gaussian 03) ir Gaussian 09 Rev D.01 (Gaussian 09) programas, instaliuotas VU MIF Skaitmeninių tyrimų ir skaičiavimų centre esančiame superkompiuteryje. Taip pat naudota Molden (5.1 ir 5.9) (Gijs & Noordik, 2000) programa.



### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. L-treonino fragmentacija

Stabiliausių L-treonino IC ir L-allo-treonino ICAllo konformerų vaizdai, rasti skaičiavimus atlikus vakuume ir vandenyje (IZAllo) bei atomų numeracijos, kurios naudojamos šioje disertacijoje, yra pateikti Pav. 1. Tyrimo metu rastas stabiliausias L-treonino IC konformeras panašus į (Farajmand & Bahrami, 2016), o L-allo-treoninas ICAllo į (Zhang & Lin, 2006) nustatytą stabiliausią struktūrą.



**Paveikslas 1.** Stabiliausias L-treonino konformeras (IC) vakuume kairėje, L-allo-treonino (ICAllo) vakuume – centre ir vandenyje (IZAllo) – dešinėje. ICAllo konformere yra susidarę vidumolekuliniai vandeniliniai ryšiai tarp O3-H17 ir N6-H14 atomų, o IZAllo konformere – tarp O3-H17 ir O4-H14 atomų.

Jonizuoto (teigiamą krūvį turinčio) L-treonino ryšių ilgių ir ryšių užpildų duomenys yra pateikti Prieduose (Lentelė P1). Silpniausias L-treonino IC, ICAllo ir IZAllo konformerų ryšys yra C2-C5. Šis ryšys IC ir ICAllo molekulėse nutrūksta vykstant molekulių jonizacijai. Kitas silpnas konformerų ryšys yra C1-O3.

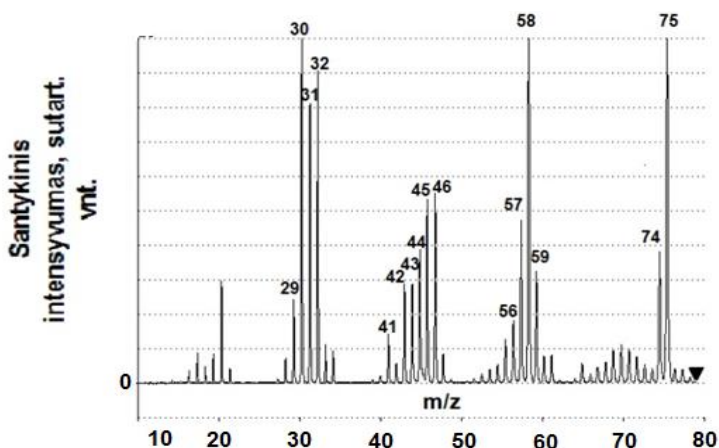
Taip pat buvo apskaičiuotos jonizacijos energijos (IC – 9.31 eV, ICAllo – 9.27 eV ir IZAllo – 9.97 eV), kai jonizuotas Thr yra nesuskilęs. Tačiau pusiausvirinėje būsenoje IC ir ICAllo konformeriai, turėtų būti suskilę (remiantis Thr ryšių (Lentelė P1) analize). Teoriškai nustatytas IC ir ICAllo IE palyginome su apskaičiuotomis (Sarkar & Kronik, 2016) (varijuoja nuo ~9.45 eV iki 10.10 eV, priklausomai nuo naudoto metodo) ir eksperimentiškai išmatuota Thr IE –  $\leq 10.20$  eV (NIST (žiūrėta 2015-10-01)). Šio tyrimo metu nustatytos IE vertės nesutampa su publikuotomis (Sarkar & Kronik, 2016;

NIST (žiūrėta 2015-10-01)). Kita vertus, kaip rodo Thr ryšių analizė, IC ir ICAllo konformerai turėtų skilti vykstant jonizacijai. Todėl IE nustatymas yra sudėtingas. Remiantis skaičiavimų rezultatais, L-treonino jonizacijos energija vakuume yra mažesnė, taigi energija reikalinga fragmentams atsirasti vandenyje turėtų būti didesnė, nei vakuume.

### 3.1.1. L-treonino fragmentacijos tyrimas vakuume

Kaip jau buvo minėta, teorinio modeliavimo metu naudojome eksperimentiškai užregistruotą L-treonino katijonų masės spektrą (Pav. 2). Dauguma pikų, esančių tyrimų partnerių (Pav. 2), (Farajmand & Bahrami, 2016) bei NIST duomenų bazėje (NIST (žiūrėta 2015-10-01)) pateiktuose L-treonino katijonų masės spektruose yra intensyviausi ties tomis pačiomis masėmis:  $m/z=29$ ,  $30$ ,  $45$ ,  $57$ ,  $58$ ,  $74$  ir  $75$ . Tačiau mūsų straipsnių bendraautorių spektre nėra pikų ties masėmis  $m/z=27$ ,  $28$  ir  $56$ . Šie pikai yra užregistruoti (Farajmand & Bahrami, 2016) straipsnyje bei NIST duomenų bazėje pateiktuose Thr teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektruose ( $m/z=28$  yra tik (Farajmand & Bahrami, 2016) katijonų masės spektre). Kita vertus, tyrimų partneriai užregistravo keletą naujų pikų, kurių nėra nei viename aukščiau minėtame literatūros šaltinyje – ties  $m/z=31$ ,  $32$ ,  $41$  ir  $59$ . Pikai ties  $m/z=42$ ,  $43$ ,  $44$  ir  $46$  stebimi mūsų kolegų ir (NIST (žiūrėta 2015-10-01)), bet ne aukščiau minėtų autorių, Thr katijonų masės spektruose.

Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti teigiamą krūvį turintiems jonams vakuume ir vandenyje pateiktos žemiau (Lentelė 1).



**Paveikslas 2.** Eksperimentiškai išmatuotas L-treonino (veikto  $\leq 70$  eV elektronais) katijonų masės spektras (išmatavo dr. Liudmila Romanova, dr. Vasyly Vukstich, dr. Alexander Papp ir Dr. Sci. Alexander Snegursky, Ukrainos nacionalinė mokslų akademija, Elektronų fizikos institutas, Užhorodas, Ukraina).

**Lentelė 1.** Apskaičiuotos energijos, reikalingos atsirasti fragmentams Thr IC ir ICAllo konformerų fragmentacijos metu, vakuume

| Fragmentas  | Komplementa-<br>rus fragmentas<br>(kai skyla<br>Thr IC)    | Komplementa-<br>rus fragmentas<br>(kai skyla<br>Thr ICAllo) | Thr<br>IC                  | Thr<br>ICAllo |
|---|--|---|----------------------------|---------------|
|   |  |   | Atsiradimo<br>energija, eV |               |
| CH <sub>3</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=29)                |  | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> <sup>0</sup>   | 10.20                      | 10.55         |
| CH <sub>4</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=30)                | -  | C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> <sup>0</sup>   | -                          | 8.76          |
| CH <sub>2</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=30)                |  | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> <sup>0</sup>  | 11.63                      | 11.81         |
| CH <sub>3</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=31)                |  | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 11.58                      | 8.19          |
| CH <sub>6</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=32)                |  | C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> <sup>0</sup>   | 9.05                       | 8.77          |
| CH <sub>4</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=32)                | C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> <sup>0</sup>  | 12.18                      | 12.53         |
| C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=41)  |  | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> <sup>0</sup>   | 10.22                      | 11.06         |
| C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=42)  | C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> <sup>0</sup> | C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 9.46                       | 11.92         |
| C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=43)  |  | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 8.96                       | 10.67         |
| C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=44)  | -  | C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> <sup>0</sup>   | -                          | 8.93          |
| CO <sub>2</sub> <sup>+</sup><br>(m/z=44)                  |  | C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> NO <sup>0</sup>               | 13.23                      | 13.48         |
| C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=45)  |  | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 9.03                       | 8.41          |
| CHO <sub>2</sub> <sup>+</sup><br>(m/z=45)                 |  | C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub> <sup>0</sup>  | 11.39                      | 11.44         |
| C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=46)  |  | C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 10.80                      | 10.79         |
| C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO <sup>+</sup><br>(m/z=57) |  | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>   | 11.79                      | 11.59         |
| C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sup>+</sup><br>(m/z=57)  | CH <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> <sup>0</sup>               | CH <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>                | 10.12                      | 8.70          |

Lentelės 1 tęsinys sekančiame puslapyje

Lentelės 1 pradžia ankstesniame puslapyje

| Fragmentas                 | Komplementarus fragmentas<br>(kai skyla Thr IC) | Komplementarus fragmentas<br>(kai skyla Thr ICAlo) | Thr IC                  | Thr ICAlo     |
|----------------------------|---|--|-------------------------|---------------|
|                            |   |  | Atsiradimo energija, eV |               |
| $C_3H_7N^+$<br>(m/z=57)    |   | $CH_2O_3^-$  | 8.86                    | 8.82          |
| $C_2H_4NO^+$<br>(m/z=58)   | $C_2H_5O_2^0$                                   | $C_2H_5O_2^-$                                      | 8.57                    | 9.02          |
| $C_3H_6O^+$<br>(m/z=58)    | $CH_3NO_2^0$                                    | $CH_3NO_2^- / CH_3NO_2^0$                          | 8.40                    | 8.55/<br>8.60 |
| $C_2H_2O_2^+$<br>(m/z=58)  | -   | $C_2H_7NO^0$                                       | -                       | 12.80         |
| $C_2H_5NO^+$<br>(m/z=59)   | $C_2H_4O_2^-$                                   | $C_2H_4O_2^0$                                      | 9.30                    | 8.00          |
| $C_3H_7O^+$<br>(m/z=59)    |   | $CH_2NO_2^0$                                       | 8.61                    | 8.63          |
| $C_3H_9N^+$<br>(m/z=59)    |   | $CO_3^-$   | 8.88                    | 8.00          |
| $C_3H_8NO^+$<br>(m/z=74)   | $CHO_2^0$                                       | $CHO_2^-$  | 8.79                    | 8.24          |
| $C_2H_4NO_2^+$<br>(m/z=74) |   | $C_2H_5O^0$  | 9.41                    | -             |
| $C_3H_9NO^+$<br>(m/z=75)   |   | $CO_2^0$   | 8.77                    | 8.18          |
| $C_2H_5NO_2^+$<br>(m/z=75) | $C_2H_4O^-$                                     | $C_2H_4O^0$  | 9.29                    | -             |

Šių tyrimų metu teoriškai identifikuota piko ties m/z=29 cheminė sudėtis ( $CH_3N^+$ ) sutampa su (Farajmand & Bahrami, 2016) publikuota šios masės katijono chemine sudėtimi.

Gauti rezultatai rodo, jog Thr IC fragmentacijos metu atsirandantis m/z=30 yra  $CH_2O^+$ . Jis atsiranda nutrūkus silpniausiajam C2-C5 bei C5-C9 ryšiams. Tuo tarpu, ICAlo fragmentacijos metu atsiradusio minėtos masės katijono cheminė sudėtis yra  $CH_4N^+$ . Šis jonas atsiranda, kai disocijuoja karboksi ir šoninė grupės, o karboksi grupės vandenilis prisijungia prie  $C_\alpha$  (C2) atomo.

Panaudoję kvantinės chemijos metodus nustatėme, jog m/z=31 yra  $CH_3O^+$ .

Kitas intensyvus pikas L-treonino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre (Pav. 2) yra ties m/z=32. Nagrinėjome, ar piką ties šia mase atitinka

$\text{CH}_6\text{N}^+$  ar  $\text{CH}_4\text{O}^+$  katijonas. Apskaičiavome minėtų katijonų atsiradimui reikalingą energiją.  $\text{CH}_6\text{N}^+$  ( $m/z=32$ ) katijonui atsirasti IC fragmentacijos metu reikia  $E_{\text{ap}}=9.05$  eV,  $\text{CH}_4\text{O}^+$  ( $m/z=32$ ) – 12.18 eV, o ICAllo – atitinkamai 8.77 eV ir 12.53 eV. Taigi mažiau energijos reikia  $\text{CH}_6\text{N}^+$  ( $m/z=32$ ) jonui atsirasti ir jo atsiradimas yra tikėtinesnis.

Nustatėme, kad  $m/z=41$  fragmentas, atsirandantis IC ir ICAllo fragmentacijos metu yra  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$ ,  $m/z=42$  yra  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ , tuo tarpu  $m/z=43$  –  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ .

Fragmentas, kurio masė yra  $m/z=44$  gali būti  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  arba  $\text{CO}_2^+$ . Apskaičiavome minėtų fragmentų atsiradimui reikalingą energiją (Lentelė 1), ją palyginome ir nustatėme, jog IC fragmentacijos metu atsirandantis  $m/z=44$  yra  $\text{CO}_2^+$ , o ICAllo –  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$ .

Nustatėme, kad IC fragmentacijos metu  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$  ( $m/z=45$ ) fragmentui (šoninei L-treonino grupei  $\text{R}=\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3^+$ ) atsirasti reikia mažiau energijos (9.03 eV), nei  $\text{CHO}_2^+$  ( $m/z=45$ ) – 11.39 eV. Be to, mažiau energijos reikia  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$  ( $m/z=45$ ) atsirasti ICAllo fragmentacijos metu – 8.41 eV, tuo tarpu  $\text{CHO}_2^+$  ( $m/z=45$ ) – 11.44 eV. Tyrimų partneriai eksperimentiškai išmatavo, jog  $m/z=45$  teigiamą krūvį turinčiam fragmentui atsirasti reikia  $11.50\pm 0.1$  eV. Palyginę eksperimentines ir teorines vertes galime teigti, jog piką ties minėta mase atitinka karboksi grupės katijonas, nes jo atsiradimui reikalinga energija yra artimesnė eksperimentinei vertei. Šiuo atveju, eksperimentiškai fiksuojamas  $m/z=45$  fragmentas, kurio atsiradimui reikia daugiau energijos. Todėl norint įsitikinti, jog registruojamas būtent  $\text{CHO}_2^+$  katijonas, buvo apskaičiuota  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$  ( $m/z=45$ ) ir  $\text{CHO}_2^+$  ( $m/z=45$ ) ryšio energija tenkanti atomui, HOMO-LUMO tarpas, cheminis kietumas ir cheminis minkštumas (Lentelė 2).

**Lentelė 2.** Apskaičiuotos  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$  ( $m/z=45$ ) ir  $\text{CHO}_2^+$  ( $m/z=45$ ) katijonų, atsirandančių IC ir ICAllo konformerų fragmentacijos metu, ryšio energijos tenkančios atomui, HOMO-LUMO tarpų, cheminio kietumo ir cheminio minkštumo vertės

| Fragmentas<br>$m/z=45$                | IC konformeras                   |                  | ICAllo konformeras               |                  |
|---------------------------------------|----------------------------------|------------------|----------------------------------|------------------|
|                                       | $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$ | $\text{CHO}_2^+$ | $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$ | $\text{CHO}_2^+$ |
| Ryšio energija<br>tenkanti atomui, eV | 3.21                             | 2.54             | 3.22                             | 2.55             |
| HOMO-LUMO<br>tarpas, eV               | 8.21                             | 10.46            | 8.04                             | 10.46            |
| Cheminis kietumas,<br>eV              | 3.69                             | 3.52             | 3.69                             | 3.64             |
| Cheminis<br>minkštumas, eV            | 0.27                             | 0.28             | 0.27                             | 0.27             |

Šio tyrimo rezultatai (Lentelė 2) rodo, jog termiškai stabilesnis yra  $C_2H_5O^+$  ( $m/z=45$ ) katijonas (ryšio energija didesnė), o chemiškai stabilesnis  $CHO_2^+$  ( $m/z=45$ ) fragmentas (didesnis HOMO-LUMO tarpas). Palyginę šių fragmentų cheminį kietumą ir minkštumą (Lentelė 2), galime teigti, jog abu minėti fragmentai vienodai linkę dalyvauti cheminėse reakcijose. Skaičiavimų rezultatai rodo, jog galėtų atsirasti ir  $C_2H_5O^+$  ( $m/z=45$ ), ir  $CHO_2^+$  ( $m/z=45$ ). Tačiau daugiau turėtų atsirasti to fragmento, kurio apskaičiuota  $E_{ap}$  sutampa su eksperimentiškai išmatuota atsiradimui reikalinga energija –  $CHO_2^+$  ( $m/z=45$ ). Tuo tarpu, (Farajmand & Bahrami, 2016) nustatė, jog  $m/z=45$  fragmentas yra  $C_2H_5O^+$ . Kita vertus, minėti autoriai publikavo eksperimentiškai išmatuotą spektrą, bet nepateikė eksperimentiškai išmatuotų energijų reikalingų katijonams atsirasti, tik apskaičiuotas reakcijų entalpijas.

Tyrimo metu identifikuota piko ties  $m/z=46$  cheminė sudėtis –  $C_2H_6O^+$ . Šis katijonas atsiranda nutrūkus C2-C5 ryšiu ir prie disocijavusios šoninės Thr grupės ( $R=CH(OH)-CH_3$ ) prisijungus H14 atomui.

Išanalizavus L-treonino ryšių duomenis (pateiktus Prieduose (Lentelė P1)), pastebėjome, jog fragmento, kurio  $m/z=57$  cheminė sudėtis gali būti  $C_2H_3NO^+$ ,  $C_3H_5O^+$  arba  $C_3H_7N^+$ . L-treonino IC fragmentacijos metu mažiausiai energijos reikia atsirasti  $C_3H_7N^+$  ( $m/z=57$ ). Tuo tarpu, ICAlo fragmentacijos metu  $C_3H_5O^+$  ( $m/z=57$ ) ir  $C_3H_7N^+$  ( $m/z=57$ ) atsiradimui reikalinga energija (Lentelė 1) sutampa. Tačiau palyginus apskaičiuotas  $E_{ap}$  su tyrimų partnerių išmatuota energija ( $12.00 \pm 0.1$  eV), reikalinga atsirasti minėtos masės fragmentui, yra akivaizdu, kad  $C_2H_3NO^+$  katijono atsiradimas yra tikėtinesnis. Literatūroje publikuota  $m/z=57$  cheminė sudėtis –  $C_3H_7N^+$  (Farajmand & Bahrami, 2016). Manome, kad mūsų nustatyta cheminė  $m/z=57$  sudėtis yra tikslesnė, nors ir nesutampa su minėtų autorių rezultatais, kurie nelygino eksperimentinių ir teorinių verčių.

Fragmentas  $m/z=58$  gali būti  $C_2H_4NO^+$ ,  $C_3H_6O^+$  arba  $C_2H_2O_2^+$  (Lentelė 1). Kompiuterinio modeliavimo metu nustatyta, jog energija reikalinga atsirasti  $C_2H_4NO^+$  ( $m/z=58$ ) ir  $C_3H_6O^+$  ( $m/z=58$ ) sutampa. Nustatyta šių fragmentų ryšio energija tenkanti atomui (terminis stabilumas) taip pat sutampa –  $C_2H_4NO^+$  ( $m/z=58$ ) – 3.78 eV, o  $C_3H_6O^+$  ( $m/z=58$ ) – 3.69 eV. Gauti rezultatai rodo, jog  $m/z=58$  atitinka  $C_2H_4NO^+$  ir  $C_3H_6O^+$ . Kita vertus,  $C_2H_2O_2^+$  ( $m/z=58$ ) IC fragmentacijos metu neturėtų atsirasti (žiūrėti Lentelė 1), o ICAlo fragmentacijos metu, jo atsiradimui reikia nemažai energijos (12.80 eV) (Lentelė 1). Tuo tarpu, (Farajmand & Bahrami, 2016) teigia, jog  $m/z=58$  atitinka du jonai –  $C_3H_6O^+$  ( $m/z=58$ ) ir  $C_2H_2O_2^+$  ( $m/z=58$ ). Kita vertus, šie autoriai nemodeliavo  $C_2H_4NO^+$  ( $m/z=58$ ) atsiradimo.

Mūsų tyrimų partnerių užregistruotame Thr teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre (Pav. 2) yra intensyvus pikas ties mase  $m/z=59$ . Pagal gautus  $E_{ap}$  rezultatus (Lentelė 1),  $C_3H_7O^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) atsiradimui IC fragmentacijos metu reikia mažiau energijos nei  $C_2H_5NO^+$  ( $m/z=59$ ). Tuo tarpu, vykstant ICAllo fragmentacijai,  $C_2H_5NO^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) atsiradimui reikia vienodo kiekio energijos (8.00 eV). Norint nustatyti, kokia fragmento, kurio masė  $m/z=59$  cheminė sudėtis, buvo apskaičiuotos ryšio energijos tenkančios atomui (Lentelė 3).  $C_3H_7O^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) katijonų atsirandančių IC fragmentacijos metu ryšio energija tenkanti atomui skiriasi tik 0.06 eV, o  $C_2H_5NO^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) atsirandančių ICAllo fragmentacijos metu – tik 0.07 eV. Tai rodo, jog  $C_3H_7O^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) (IC atveju) bei  $C_2H_5NO^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) (ICAllo atveju) terminis stabilumas yra labai panašus. Taigi Thr IC fragmentacijos metu atsiranda  $C_3H_7O^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ), o ICAllo –  $C_2H_5NO^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) teigiamą krūvį turintys fragmentai.

**Lentelė 3.** Apskaičiuotos  $C_2H_5NO^+$  ( $m/z=59$ ),  $C_3H_7O^+$  ( $m/z=59$ ) ir  $C_3H_9N^+$  ( $m/z=59$ ) katijonų, atsirandančių IC ir ICAllo konformerų fragmentacijos metu, ryšio energijos tenkančios atomui

| Fragmentas $m/z=59$ | IC                                 | ICAllo |
|---------------------|------------------------------------|--------|
|                     | Ryšio energija tenkanti atomui, eV |        |
| $C_2H_5NO^+$        | 3.68                               | 3.69   |
| $C_3H_7O^+$         | 3.66                               | 3.66   |
| $C_3H_9N^+$         | 3.60                               | 3.62   |

Katijonas, kurio masė  $m/z=74$  gali būti  $C_3H_8NO^+$  arba  $C_2H_4NO_2^+$ . Apskaičiavome, jog mažiausios energijos reikalingos jiems atsirasti IC fragmentacijos metu atitinkamai yra 8.79 eV ir 9.41 eV, tuo tarpu ICAllo –  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ) katijonui atsirasti reikia 8.24 eV, o  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) fragmentas neturėtų atsirasti (žiūrėti Lentelė 1). Remiantis tyrimo rezultatais (Lentelė 1), būtų galima teigti, kad  $m/z=74$  yra  $C_3H_8NO^+$ . Tačiau visos šios energijos skiriasi virš 5% statistinės paklaidų ribos palyginus su tyrimų partnerių eksperimentiškai išmatuota atsiradimo energijos verte –  $11.50 \pm 0.1$  eV. Artimiausia eksperimentinei vertei yra 10.06 eV (IC atveju kai atsiranda  $C_2H_4NO_2^+$  ir  $C_2H_5O^-$ ) ir 10.62 eV (ICAllo atveju kai atsiranda  $C_2H_4NO_2^+$  ir  $C_2H_5O^{-/0}$ ). Norėdami įsitikinti, kad Thr teigiamą krūvį turinčių

fragmentų spektre piką esantį ties  $m/z=74$  atitinka  $C_2H_4NO_2^+$  katijonas, apskaičiavome  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ) ir  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) teigiamą krūvį turinčių jonų ryšio energijas tenkančias atomui, HOMO-LUMO tarpus, cheminį kietumą ir minkštumą (Lentelė 4).

Remiantis gautais kompiuterinio modeliavimo rezultatais (Lentelė 4),  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ) ir  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) katijonų, atsirandančių IC ir ICAlo fragmentacijos metu, terminis stabilumas yra labai panašus (ryšio energija tenkanti atomui sutampa).  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ) fragmentas (abiejų konformerų atveju) chemiškai yra stabilesnis (HOMO-LUMO tarpai didesni), kita vertus, jo cheminis kietumas yra mažesnis, nei  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ). Taigi galėtų atsirasti ir  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ), ir  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ). Tačiau  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) atsiradimui reikalinga  $E_{ap}$  yra artimesnė eksperimentiškai išmatuotai energijai reikalingai atsirasti minėtos masės fragmentui. Todėl  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) katijono turėtų atsirasti daugiau. Tuo tarpu, (Farajmand & Bahrami, 2016) teoriniai rezultatai (eksperimentiškai  $E_{ap}$  vertės nematuotos) rodo, jog  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ) atsiradimas yra tikėtinesnis.

**Lentelė 4.** Apskaičiuotos  $C_3H_8NO^+$  ( $m/z=74$ ) ir  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) katijonų, atsirandančių IC ir ICAlo konformerų fragmentacijos metu, ryšio energijos tenkančios atomui, HOMO-LUMO tarpus, cheminio kietumo ir cheminio minkštumo vertės

| Fragmentas<br>$m/z=74$                | IC konformas |                | ICAllo konformas |                |
|---------------------------------------|--------------|----------------|------------------|----------------|
|                                       | $C_3H_8NO^+$ | $C_2H_4NO_2^+$ | $C_3H_8NO^+$     | $C_2H_4NO_2^+$ |
| Ryšio energija<br>tenkanti atomui, eV | 3.87         | 3.96           | 3.85             | 3.92           |
| HOMO-LUMO<br>tarpas, eV               | 5.65         | 4.84           | 5.40             | 4.66           |
| Cheminis kietumas,<br>eV              | 2.87         | 3.23           | 1.51             | 3.02           |
| Cheminis<br>minkštumas, eV            | 0.35         | 0.31           | 0.66             | 0.33           |

Pagal molekulinio modeliavimo rezultatus, fragmento, kurio masė  $m/z=75$  cheminė sudėtis gali būti  $C_3H_9NO^+$  arba  $C_2H_5NO_2^+$ . Apskaičiavome, jog  $C_3H_9NO^+$  ( $m/z=75$ ) fragmento atsiradimui reikia mažiau energijos (Lentelė 1). Tuo tarpu, (Farajmand & Bahrami, 2016) nustatė, jog piką ties  $m/z=75$  atitinka  $C_2H_5NO_2^+$ . Norėdami įsitikinti, kad  $m/z=75$  katijono cheminė sudėtis yra  $C_3H_9NO^+$ , apskaičiavome minėtų fragmentų ryšio energiją tenkančią atomui, HOMO-LUMO tarpus, cheminį kietumą ir minkštumą (Lentelė 5).



Kaip rodo tyrimų rezultatai (Lentelė 5),  $C_3H_9NO^+$  ( $m/z=75$ ) ir  $C_2H_5NO_2^+$  ( $m/z=75$ ) katijonų terminis stabilumas yra panašus. Kita vertus,  $C_3H_9NO^+$  ( $m/z=75$ ) katijonas yra chemiškai stabilesnis (didesnė HOMO-LUMO tarpo vertė) ir mažiau linkęs dalyvauti cheminėse reakcijose (didesnė cheminio kietumo vertė). Taigi buvo nustatyta, kad  $m/z=75$  cheminė sudėtis –  $C_3H_9NO^+$ .

**Lentelė 5.** Apskaičiuotos  $C_3H_9NO^+$  ( $m/z=75$ ) ir  $C_2H_5NO_2^+$  ( $m/z=75$ ) katijonų, atsi-randančių IC ir ICAlo konformerų fragmentacijos metu, ryšio energijos tenkančios atomui, HOMO-LUMO tarpu, cheminio kietumo ir cheminio minkštumo vertės

| Fragmentas<br>$m/z=75$                | IC konformeras |                | ICAllo konformeras |                |
|---------------------------------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|
|                                       | $C_3H_9NO^+$   | $C_2H_5NO_2^+$ | $C_3H_9NO^+$       | $C_2H_5NO_2^+$ |
| Ryšio energija<br>tenkanti atomui, eV | 3.60           | 3.70           | 3.64               | -              |
| HOMO-LUMO<br>tarpas, eV               | 5.61           | 2.22           | 4.67               | -              |
| Cheminis kietumas,<br>eV              | 5.65           | 5.07           | 5.30               | -              |
| Cheminis minkštumas,<br>eV            | 0.18           | 0.19           | 0.19               | -              |

### 3.1.2. L-treonino fragmentacijos tyrimas vandenyje

Nustatytų L-treonino IZ ir L-allo-treonino IZAllo energijos skyrėsi virš 0.02 eV – Thr IZAllo energija yra mažesnė, todėl buvo tirta tik jo fragmentacija vandenyje. Toliau (Lentelė 6) yra pateiktos energijos reikalingos atsirasti katijonams vykstant L-allo-treonino IZAllo (Pav. 1) fragmentacijai vandenyje.

Žemiau yra pateikti nustatyti pagrindiniai L-allo-treonino fragmentacijos vakuume ir vandenyje rezultatų skirtumai. 3.1.1. skyriuje išnagrinėta, kurio kiekvienos masės fragmento atsiradimas yra tikėtiniausias vakuume. Nustatyta, kad visi tam tikros masės, tokios pačios cheminės sudėties fragmentai yra tikėtiniausi ir vandenyje. Todėl šiame skyriuje pateikiami tik tikėtiniausių kiekvienos masės fragmentų struktūrų palyginimai vakuume ir vandenyje. Remiantis tuo, kad tie patys ryšiai (C2-C5 ir C1-O3) yra silpniausi ir vakuume dominuojančioje struktūroje, ir cviterjoniniame konformere, galime paaiškinti, kodėl tikėtiniausių fragmentų cheminės sudėtys vakuume ir vandenyje sutampa.

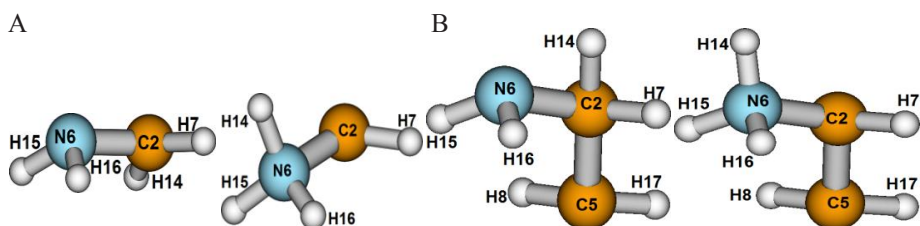
**Lentelė 6.** Apskaičiuotos energijos, reikalingos atsirasti fragmentams L-allo-treonino IZAllo fragmentacijos metu vandenyje

| Fragmentas                                      | Komplementarus fragmentas                       | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui vandenyje, eV |
|---|---|---|
| $\text{CH}_3\text{N}^+$<br>(m/z=29)             | $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3^0$<br>(m/z=90)  | 11.32   |
| $\text{CH}_4\text{N}^+$<br>(m/z=30)             | $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$<br>(m/z=89)  | 9.32  |
| $\text{CH}_3\text{O}^+$<br>(m/z=31)             | $\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2^-$<br>(m/z=88) | 12.19   |
| $\text{CH}_6\text{N}^+$<br>(m/z=32)             | $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3^0$<br>(m/z=87)  | 9.56  |
| $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$<br>(m/z=41)    | $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3^0$<br>(m/z=78)  | 11.79   |
| $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$<br>(m/z=42)    | $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2^-$<br>(m/z=77) | 13.01   |
| $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$<br>(m/z=43)    | $\text{C}_2\text{H}_6\text{NO}_2^-$<br>(m/z=76) | 11.43   |
| $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$<br>(m/z=44)    | $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_3^0$<br>(m/z=75)  | 9.51  |
| $\text{CHO}_2^+$<br>(m/z=45)                    | $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}^0$<br>(m/z=74)   | 12.36   |
| $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}^+$<br>(m/z=46)    | $\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}_2^-$<br>(m/z=73) | 11.62   |
| $\text{C}_2\text{H}_3\text{NO}^+$<br>(m/z=57)   | $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2^-$<br>(m/z=62)  | 12.41   |
| $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}^+$<br>(m/z=58)    | $\text{CH}_3\text{NO}_2^0$<br>(m/z=61)          | 9.46  |
| $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}^+$<br>(m/z=59)   | $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^0$<br>(m/z=60)  | 9.83  |
| $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^+$<br>(m/z=74) | $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^-$<br>(m/z=45)    | 11.43   |
| $\text{C}_3\text{H}_9\text{NO}^+$<br>(m/z=75)   | $\text{CO}_2^0$<br>(m/z=44)                     | 9.22  |

Fragmentų atsiradimo energijos, nustatytos skaičiavimus atlikus vakuume ir vandenyje, palyginimas parodė keletą skirtumų. Nustatyta, kad, energija reikalinga atsirasti tokios pačios masės ir cheminės sudėties fragmentams

vykstant L-treonino ICAlo konformero fragmentacijai vakuume yra mažesnė nei vykstant IZAllo konformero fragmentacijai vandenyje.

Taip pat pastebėta, jog  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=44$ ) fragmentų struktūros yra nevienodos, kai jie atsiranda vykstant ICAlo ir IZAllo fragmentacijai, atitinkamai, vakuume ir vandenyje (Pav. 3). Pagrindiniai šių fragmentų struktūrų skirtumai yra dėl amino grupės ( $\text{NH}_2$ )/protonizuotos amino grupės ( $\text{NH}_3^+$ ) ir karboksi grupės ( $\text{COOH}$ )/deprotonizuotos karboksi grupės ( $\text{COO}^-$ ). Taigi fragmentacijos terpė gali turėti įtaką ne tik energijos, reikalingos fragmentams atsirasti, dydžiui, bet ir fragmentų struktūroms.



**Paveikslas 3.** L-treonino fragmentų, kurių masės ir cheminės sudėtys yra vienodos, struktūros vakuume ir vandenyje: A –  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ), B –  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=44$ ).

Buvo tikrinta, ar fragmentai vakuume atsiradę iš ( $\text{NH}_2\text{-CH(R)-COOH}$ ) struktūros, taip pat turės būdingas  $\text{NH}_2$  ir  $\text{COOH}$  grupes, o atsiradę vandenyje iš cviterjoninės ( $\text{NH}_3^+\text{-CH(R)-COO}^-$ ) formos – būdingas  $\text{NH}_3^+$  ir  $\text{COO}^-$  grupes. Apskaičiuotos  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=44$ ) katijonų energijos pateiktos toliau (Lentelė 7).

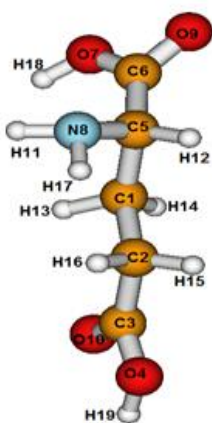
**Lentelė 7.** Fragmentų energijos vakuume ir vandenyje

| Fragmentas                                       | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_2$ ir $\text{COOH}$ grupes, energijos, a.v. (vakuume) | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_3^+$ ir $\text{COO}^-$ grupes, energijos, a.v. (vakuume) | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_2$ ir $\text{COOH}$ grupes, energijos, a.v. (vandenyje) | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_3^+$ ir $\text{COO}^-$ grupes, energijos, a.v. (vandenyje) |
|--|--|---|--|---|
| $\text{CH}_4\text{N}^+$<br>( $m/z=30$ )          | -95.015  | -95.000   | -95.035  | -95.048   |
| $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$<br>( $m/z=44$ ) | -131.645   | -131.519  | -131.920   | -131.991  |

Taigi H atomo migracija tarp karboksi ir amino grupių nevyks nei vakuume, nei vandenyje (Lentelė 7). Katijonai atsiradę iš  $\text{NH}_2\text{-CH(R)-COOH}$  struktūros vakuume, turės  $\text{NH}_2$  ir  $\text{COOH}$  grupes, o atsiradę iš  $\text{NH}_3^+\text{-CH(R)-COO}^-$  –  $\text{NH}_3^+$  ir  $\text{COO}^-$  grupes.

### 3.2. L-glutamato rūgšties fragmentacija

Stabilios Glu struktūros buvo rastos ir publikuotos kitų tyrėjų (Meng & Lin, 2011; Peña ir kiti, 2012). Buvo sumodeliuotos Glu struktūros panašios/nepanašios į šių autorių rastus konformerus. Šio tyrimo metu rastas žemiausios energijos būsenoje esantis L-glutamato rūgšties konformeras (Pav. 4) nėra panašus į aukščiau minėtų autorių rastus stabiliausius konformerus. Apskaičiavome, jog IC konformero IE 8.93 eV (kai molekulė ir jonizuota jos forma yra žemiausioje energijos būsenoje). Apskaičiuota konformero jonizacijos energija buvo palyginta su (Sarkar & Kronik, 2016) rasta IE. Minėtų autorių nustatyta IE varijuoja nuo ~9.50 eV iki 9.90 eV, priklausomai nuo



**Paveikslas 4.** Stabiliausias L-glutamato rūgšties konformeras IC.

naudoto metodo (Sarkar & Kronik, 2016). Šiame darbe aprašomo molekulinio modeliavimo metu nustatyta IE nesutampa su (Sarkar & Kronik, 2016) apskaičiuota Glu jonizacijos energija. Gali būti, kad autoriai nustatė Glu IE, kai molekulė yra pusiausvirinėje būsenoje, o jonizuota jos forma – dar nepasiekus žemiausios energijos būsenos. Mūsų ir minėtų autorių rastos IE taip pat gali nesutampyti dėl skirtingų tirtų Glu konformerų. Be to, mūsų žiniomis, nėra literatūros šaltinių, kuriuose publikuota eksperimentiškai išmatuota Glu IE vertė. Taip pat buvo analizuoti L-glutamato rūgšties IC konformero ryšių ilgiai ir užpildos (pateikta Prieduose (Lentelė P2)). Nustatyta, jog silpniausias L-glutamato rūgšties ryšys yra C5-C6.

#### 3.2.1. L-glutamato rūgšties fragmentacijos tyrimas vakuume

Kaip jau buvo minėta, Glu fragmentacijos metu atsirandančių katijonų masių atrinkimui buvo naudotas NIST duomenų bazėje publikuotas spektras. Intensyviausi pikai yra ties masėmis  $m/z=28$ , 41, 56 ir 84 (NIST (žiūrėta

2016-06-30)). Identifikuoti intensyviausius pikus atitinkantys fragmentai ir apskaičiuotos energijos reikalingos jiems atsirasti pateikti žemiau. Katijonas, kurio  $m/z=28$  gali būti  $\text{CH}_2\text{N}^+$  arba  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  (Lentelė 8).

**Lentelė 8.** Apskaičiuotos energijos reikalingos  $\text{CH}_2\text{N}^+$  ( $m/z=28$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  ( $m/z=28$ ) katijonams atsirasti Glu IC fragmentacijos metu vakuume, ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas                               | Komplementarus fragmentas                            | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui vakuume, eV | Ryšio energija tenkanti atomui, eV | HOMO-LUMO tarpas, eV |
|--|--|---|------------------------------------|----------------------|
| $\text{CH}_2\text{N}^+$<br>( $m/z=28$ )  | $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_4^-$<br>( $m/z=119$ )  | 11.62   | 2.30                               | 6.13                 |
| $\text{C}_2\text{H}_4^+$<br>( $m/z=28$ ) | $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}_4^0$<br>( $m/z=119$ ) | 11.10   | 2.72                               | 5.68                 |

Energija reikalinga  $\text{CH}_2\text{N}^+$  ( $m/z=28$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  ( $m/z=28$ ) atsiradimui sutampa. Dėl šios priežasties buvo apskaičiuotas ir palygintas fragmentų terminis stabilumas –  $\text{CH}_2\text{N}^+$  (ryšio energija tenkanti atomui 2.30 eV) ir  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  (ryšio energija tenkanti atomui 2.72 eV). Palygintas ir HOMO-LUMO tarpas –  $\text{CH}_2\text{N}^+$  (6.13 eV) ir  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  (5.68 eV). Taigi termiškai stabilesnis yra  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  ( $m/z=28$ ), o chemiškai –  $\text{CH}_2\text{N}^+$  ( $m/z=28$ ). Todėl abiejų fragmentų atsiradimas yra vienodai tikėtinas.

Fragmentas, kurio masė  $m/z=41$  gali būti  $\text{C}_2\text{HO}^+$  arba  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  (Lentelė 9). Energija, reikalinga šiems katijonams atsirasti, sutampa (Lentelė 9). Todėl buvo įvertintas jų stabilumas. Apskaičiavome, jog ryšio energija tenkanti atomui yra 2.60 eV ( $\text{C}_2\text{HO}^+$ ) ir 3.20 eV ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$ ), HOMO-LUMO tarpai – 2.27 eV ( $\text{C}_2\text{HO}^+$ ) ir 5.60 eV ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$ ). Skaičiavimų rezultatai rodo, jog  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  ( $m/z=41$ ) yra stabilesnis ir termiškai, ir chemiškai. Taigi šio fragmento turėtų atsirasti daugiau. Jis atsiranda, kai nutrūksta C1-C2, C1-H13 ir C5-C6 ryšiai (komplementarus fragmentas –  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_4^-$ ).

Buvo patikrinta dviejų  $m/z=56$  teigiamą krūvį turinčių fragmentų atsiradimo galimybė:  $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$  ir  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}^+$ . Nustatyta, kad energija, reikalinga atsirasti  $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$  yra mažesnė (9.89 eV) nei energija reikalinga  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}^+$  (10.51 eV). Taigi piką ties mase  $m/z=56$  atitinka  $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$  fragmentas. Minėtos cheminės sudėties teigiamą krūvį turintis jonas atsiranda disocijavus dviems COOH grupėms ir H17 atomui (komplementarus fragmentas –  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_4^0$ ).

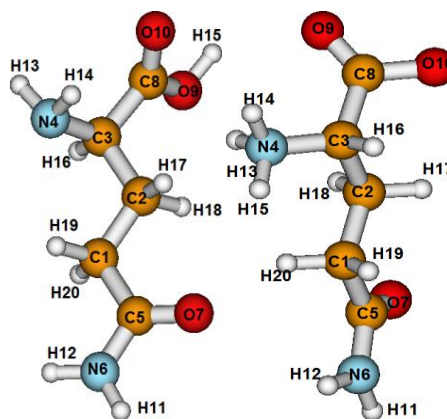
**Lentelė 9.** Apskaičiuotos energijos reikalingos  $C_2HO^+$  ( $m/z=41$ ) ir  $C_2H_3N^+$  ( $m/z=41$ ) katijonams atsirasti Glu IC fragmentacijos metu vakuume, ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas                  | Komplementarus fragmentas       | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui vakuume, eV | Ryšio energija tenkanti atomui, eV | HOMO-LUMO tarpas, eV |
|-----------------------------|---------------------------------|---|------------------------------------|----------------------|
| $C_2HO^+$<br>( $m/z=41$ )   | $C_5H_9NO_4^-$<br>( $m/z=106$ ) | 12.43   | 2.60                               | 2.27                 |
| $C_2H_3N^+$<br>( $m/z=41$ ) | $C_3H_6O_4^-$<br>( $m/z=106$ )  | 12.77   | 3.20                               | 5.60                 |

Nustatyta, kad piką ties  $m/z=84$  atitinka  $C_4H_6NO^+$  fragmentas. Jis gali atsirasti kai nutrūksta silpniausias C5-C6 (disocijuoja COOH grupė) ir C3-O10, C5-H12 ryšiai. Rasta cheminė fragmento sudėtis sutampa su publikuota literatūroje (Na ir kiti, 2007). Be to, pastebėjome, jog  $C_4H_6NO^+$  fragmento atsiradimui Glu fragmentacijos metu reikia mažiausiai energijos (9.39 eV). Taigi jo atsiradimas yra tikėtinausias. NIST duomenų bazėje esančiame L-glutamato rūgšties teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre intensyviausias pikas taip pat yra ties  $m/z=84$  (NIST (žiūrėta 2016-06-30)).

### 3.3. L-glutamino fragmentacija

Šio tyrimo metu rastas stabiliausias Gln konformeras vakuume IC ir vandenyje IZ yra pateikti žemiau (Pav. 5). Mūsų nustatytas IC nėra panašus į literatūroje publikuotą (Pang ir kiti, 2013) patį stabiliausią Gln konformerą. Sumodeliavome ir į minėtų autorių panašų Gln konformerą. Tačiau gauti rezultatai parodė, jog Gln IC (Pav. 5) energija yra žemesnė, t.y. nustatyta konformero struktūra yra stabiliausia.

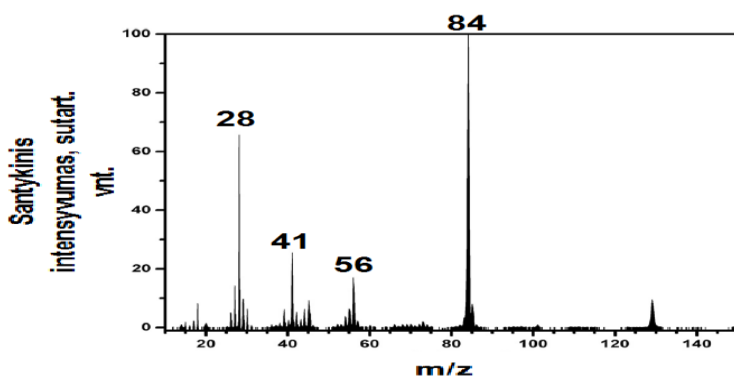


**Paveikslas 5.** Stabiliausias L-glutamino konformeras IC vakuume kairėje ir IZ vandenyje dešinėje. IZ konformere yra susidarę vidumolekuliniai vandeniliniai ryšiai tarp O9-H14 atomų.

Apskaičiavome, kad L-glutamino jonizacijos energija yra 8.52 eV. Ši vertė sutampa su (Bezerril ir kiti, 2011) DFT metodu nustatyta IE – 8.52 eV.

### 3.3.1. L-glutamino fragmentacijos tyrimas vakuume

Jonizuotų Gln IC ir IZ ryšių ilgių ir ryšių užpildų duomenys yra pateikti Prieduose (Lentelė P3). Silpniausias Gln ryšys yra C3–N4. Taigi būtų labiausiai tikėtina, kad jis nutrūks ir atsiras  $\text{NH}_2^+$  ( $m/z=16$ ) ir  $\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_3^+$  ( $m/z=130$ ) fragmentai. Tačiau eksperimentiškai užregistruotuose tyrimų partnerių (Pav. 6) ir (NIST (žiūrėta 2017-05-01)) duomenų bazėje esančiame Gln katijonų spektruose pikai ties minėtomis masėmis yra neintensyvūs.



**Paveikslas 6.** Eksperimentiškai išmatuotas L-glutamino (veikto  $\leq 70$  eV elektronais) katijonų masės spektras (išmatavo dr. Liudmila Romanova, dr. Vasyl Vukstich, dr. Alexander Papp ir Dr. Sci. Alexander Snegursky, Ukrainos nacionalinė mokslų akademija, Elektronų fizikos institutas, Ukraina, Užhorodas).

Dėl šių priežasčių buvo padaryta prielaida, kad fragmentai, kurių masės yra  $m/z=16$  ir  $m/z=130$  nėra katijonai ir jų naudojamais masės spektrometrais negalima užregistruoti, arba jie yra nestabilūs, t.y. atsiradę šių masių fragmentai iškart suskyla. Todėl buvo nustatytas  $\text{NH}_2^+$  ( $m/z=16$ ) ir  $\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_3^+$  ( $m/z=130$ ) fragmentų terminis stabilumas (ryšio energija tenkanti atomui) ir cheminis aktyvumas (elektroneigiamumas) (Lentelė 10).

**Lentelė 10.** Apskaičiuotos  $\text{NH}_2^+$  ( $m/z=16$ ) ir  $\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_3^+$  ( $m/z=130$ ) katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir katijonų elektroneigiamumo vertės

| Fragmentas  | Ryšio energija tenkanti atomui, eV | Elektroneigiamumas, eV |
|---|------------------------------------|------------------------|
| $\text{NH}_2^+$ ( $m/z=16$ )                      | 1.15                               | 3.09                   |
| $\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_3^+$ ( $m/z=130$ ) | 4.27                               | 4.22                   |

$C_5H_8NO_3^+$  ( $m/z=130$ ) fragmento elektroneigiamumas yra didesnis (4.22 eV), nei  $NH_2^+$  ( $m/z=16$ ) – (3.09 eV), šis rezultatas parodo  $C_5H_8NO_3^+$  ( $m/z=130$ ) polinkį prisijungti elektronus (jis yra akceptorius). Tai paaiškina, kodėl spektre nėra piko ties  $m/z=130$ . Dėl C3–N4 ryšio nutrūkimo galėtų atsirasti  $m/z=16$  katijonas ir  $m/z=130$  anijonas. Tačiau pikas ties  $m/z=16$  teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektruose ((Pav. 6), NIST (žiūrėta 2017-05-01)) yra neintensyvus, nes šios masės fragmentas yra termiškai nestabilus (žiūrėti Lentelė 10).

L-glutamino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektruose intensyviausi pikai yra ties masėmis  $m/z=28$ , 41, 56 ir 84 (Pav. 6, NIST (žiūrėta 2017-05-01)). Piką ties  $m/z=28$  gali atitikti fragmentas, kurio cheminė sudėtis yra  $CH_2N^+$  ( $HC-NH^+$ ) arba  $CO^+$  (Lentelė 11).

**Lentelė 11.** Apskaičiuotos energijos reikalingos  $CO^+$  ( $m/z=28$ ) ir  $CH_2N^+$  ( $m/z=28$ ) katijonams atsirasti Gln IC fragmentacijos metu vakuume

| Fragmentas<br>$m/z=28$ | Komplementarus<br>fragmentas               | Komplementarus<br>fragmento<br>krūvis | Energija, reika-<br>linga atsirasti<br>fragmentui, eV |
|------------------------|--|---------------------------------------|---|
| $CO^+$                 | $NH_2+C_4H_8NO_2$                          | -1                                    | 16.30   |
|                        |  | 0                                     | 15.23   |
|                        | $OH+C_4H_8NO_2$                            | -1                                    | 15.67   |
|                        |  | 0                                     | 14.93   |
|                        | $OH+H+C_4H_7NO_2$                          | -1                                    | 16.41   |
|                        |  | 0                                     | 14.93   |
| $HC-NH^+$              | $O+C_4H_8NO_2$<br>( $CH_2CH_2CHNH_2COOH$ ) | -1                                    | 12.56   |
|                        |  | 0                                     | 14.96   |
|                        | $COOH+H+C_3H_6NO$<br>( $NH_2COCH_2CH_2$ )  | -1                                    | 13.52   |
|                        |  | 0                                     | 13.93   |

Vykstant L-glutamino fragmentacijai  $CH_2N^+$  ( $m/z=28$ ) gali atsirasti dviem skirtingais būdais: 1) nutrūkus C1-C5 ir C5-O7 ryšiams; 2) nutrūkus C2-C3, C3-C8 ir N4-H13 ryšiams. Energijos, reikalingos atsirasti  $CH_2N^+$  ( $m/z=28$ ) fragmentui 1) ir 2) būdais, skiriasi 2.68 eV. Nustatyta, jog  $CH_2N^+$  atsiradimas yra labiau tikėtinas, kai nutrūksta C2-C3, C3-C8 ir N4-H13 ryšiai. Energijos reikalingos atsirasti šioms fragmentams yra pateiktos Lentelėje 11. Eksperimentiškai išmatuota energija reikalinga atsirasti  $m/z=28$  fragmentui yra  $13.90\pm 0.1$  eV.



Palygintos teoriškai apskaičiuotos energijos, reikalingos  $m/z=28$  teigiamą krūvį turintiems fragmentams atsirasti (Lentelė 11) su eksperimentine verte ( $13.90\pm 0.1$  eV). Pastebėta, jog eksperimentinei vertei artimiausios yra šios  $\text{CH}_2\text{N}^+$  fragmento  $E_{\text{ap}}$ : 13.52 eV (kai komplementarus fragmentas  $(\text{NH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2+\text{COOH}+\text{H})^-$ ) ir 13.93 eV (kai komplementarus fragmentas  $(\text{NH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2+\text{COOH}+\text{H})^0$ ).

Nustatyta, kad  $m/z=41$  fragmentas gali būti  $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  arba  $\text{C}_2\text{HO}^+$ . Apskaičiuotos minėtų fragmentų energijos, bei energijos reikalingos fragmentams atsirasti, ryšio energijos tenkančios atomams, cheminis kietumas ir HOMO-LUMO tarpai pateikti Lentelėje 12.

**Lentelė 12.** Apskaičiuotos  $\text{C}_3\text{H}_5^+$  ( $m/z=41$ ),  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  ( $m/z=41$ ) ir  $\text{C}_2\text{HO}^+$  ( $m/z=41$ ) katijonų atsirandančių Gln IC konformero fragmentacijos metu, energijos, bei energijos reikalingos jų atsiradimui, ryšio energijos tenkančios atomui, cheminio kietumo ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=41$                                       | Frag-<br>mento<br>energija,<br>a.v. | Energija,<br>reikalinga<br>atsirasti<br>framen-<br>tui, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui,<br>eV | Che-<br>minis<br>kietu-<br>mas,<br>eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|--|-------------------------------------|--|--|---------------------------------------|--------------------------------|
| $\text{C}_3\text{H}_5^+$<br>( $\text{CH}_2\text{CHCH}_2^+$ ) | -116.945                            | 9.74   | 3.26   | 2.62                                  | 2.27                           |
| $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$<br>( $\text{NHCCH}_2^+$ )   | -132.406                            | 10.34  | 2.93   | 3.47                                  | 6.93                           |
| $\text{C}_2\text{HO}^+$<br>( $\text{OCCH}^+$ )               | -151.561                            | 13.13  | 2.46   | 1.13                                  | 2.27                           |

Remiantis gautais teoriniais rezultatais (Lentelė 12),  $\text{C}_3\text{H}_5^+$  ( $m/z=41$ ) jono terminis stabilumas yra didžiausias, o energija reikalinga atsirasti šiam fragmentui – mažiausia. Kita vertus,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  ( $m/z=41$ ) fragmento HOMO-LUMO tarpas ir cheminis kietumas yra didžiausias, taigi  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  ( $m/z=41$ ) yra stabiliausias chemiškai. Tikėtina, jog  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  katijonas atsiras vykstant šiems procesams: 1) disocijavus  $\text{CH}_2\text{O}_2^0$  ir  $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}^0$  fragmentams, 2) disocijavus  $\text{H}_2^0$  ir  $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}_3^-$ . Apskaičiuota, kad energija reikalinga  $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}^+$  ( $m/z=41$ ) fragmentui atsirasti 1) būdu yra 10.34 eV, o 2) būdu – 10.58 eV. Eksperimentiškai išmatuota energija reikalinga atsirasti  $m/z=41$  fragmentui yra  $12.20\pm 0.1$  eV. Teoriškai apskaičiuotos energijos, reikalingos šiam fragmentui (Lentelė 12) atsirasti ir eksperimentiškai išmatuota  $E_{\text{ap}}$  vertės skiriasi virš paklaidų ribų.

Taip pat modeliavome fragmentacijos procesą, kurio metu iš L-glutamino atsiranda  $C_4H_6NO^-$  ( $OCCH_2CH_2CHNH^-$ ), o iš  $C_4H_6NO^- - C_3H_5^+$  katijonas. Energija, reikalinga atsirasti  $C_3H_5^+$  ( $m/z=41$ ) fragmentui aukščiau minėto pakopinio proceso metu yra 11.92 eV. Ši vertė yra artima eksperimentiškai išmatuotai  $E_{ap}$ . Taigi teoriniai rezultatai rodo, kad  $C_3H_5^+$  ( $m/z=41$ ) gali atsirasti iš  $OCCH_2CH_2CHNH^-$  ( $m/z=84$ ), o ne tiesiogiai dėl lėtų elektronų poveikio. Manome, jog šio tarpinio proceso nagrinėjimas eksperimentiniais metodais, galėtų būti sekančiu tyrimų etapu.

Molekulinio modeliavimo metu buvo nustatyta, kad  $m/z=56$  katijonas yra  $C_2H_2NO^+$ . Žemiau pateiktos apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_2H_2NO^+$  ( $m/z=56$ ) fragmentui (Lentelė 13).

**Lentelė 13.** Apskaičiuotos energijos, reikalingos  $C_2H_2NO^+$  ( $m/z=56$ ) katijonui atsirasti Gln IC fragmentacijos metu vakuume

| <b>Fragmentas<br/><math>C_2H_2NO^+</math><br/>(<math>m/z=56</math>)</b> | <b>Komplementarus<br/>fragmentas/fragmento krūvis</b> | <b>Energija,<br/>reikalinga<br/>fragmentui<br/>atsirasti eV</b> |
|---|---|---|
|   | $CH_2CHNH_2COOH+2H$                                   |   |
|   | -1  | 11.53   |
|   | 0   | 12.12   |
|   | 1   | 17.43   |

Eksperimentiškai išmatuota energija, reikalinga atsirasti  $m/z=56$  katijonui –  $13.30 \pm 0.1$  eV. Artimiausia eksperimentiškai užregistruotai, apskaičiuota  $E_{ap}$  yra 12.12 eV (Lentelė 13). Toks procesas yra tikėtiniausias nepaisant ~9% skirtumo tarp teoriškai apskaičiuotos ir eksperimentiškai išmatuotos  $E_{ap}$ . Išanalizavus kitus tirtus (~50) fragmentacijos procesus, apskaičiuota energija reikalinga atsirasti  $C_2H_2NO^+$  ( $m/z=56$ ) fragmentui skiriasi nuo eksperimentinės vertės daug ženkliau. Taigi buvo nustatyta, kad  $C_2H_2NO^+$  atsiranda nutrūkus C1–C2 ryšiui ir disocijavus dviems H atomams.

Eksperimentiškai užregistruotuose L-glutamino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektruose (Pav. 6 ir NIST (žiūrėta 2017-05-01)) intensyviausias pikas yra ties mase  $m/z=84$ . Tyrimų partnerių išmatuota energija reikalinga atsirasti šiam fragmentui –  $8.50 \pm 0.1$  eV. Tam, kad rasti stabiliausią ir energiškai tikėtiniausią  $m/z=84$  fragmentą buvo apskaičiuota  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) ir  $C_4H_6NO^+$  ( $m/z=84$ ) katijonų energija, energija reikalinga atsirasti fragmentams ir ryšio energija tenkanti atomui (Lentelė 14).

**Lentelė 14.** Apskaičiuotos  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) ir  $C_4H_6NO^+$  ( $m/z=84$ ) katijonų atsiran-  
dančių Gln IC konformero fragmentacijos metu, energijos, bei energijos reikalingos  
jų atsiradimui ir ryšio energijos tenkančios atomui

| Teigiamą krūvį<br>turinčio $m/z=84$<br>fragmento<br>struktūra  | Fragmento<br>energija,<br>a.v. | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV |
|--|--------------------------------|--|---|
| $C_4H_8N_2^+$  |                                |  |   |
| NHCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub> <sup>+</sup><br>(M <sup>+</sup> -COOH-O-H)  | -266.395                       | 8.86   | 3.99  |
| NH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CNH <sub>2</sub> <sup>+</sup><br>(M <sup>+</sup> -COOH-O-H)                                   | -266.329                       | 10.64  | 3.86  |
| NH=CH-CH=CH-CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> iš<br>NHCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub> <sup>+</sup>              | -266.377                       | 10.15  | 3.95  |
| NH=CH-CH=CH-CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> <sup>+</sup> iš<br>NH <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CNH <sub>2</sub> <sup>+</sup> | -266.367                       | 9.88   | 3.93  |
| $C_4H_6NO^+$   |                                |  |   |
| OCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CNH <sub>2</sub> <sup>+</sup><br>(M <sup>+</sup> -COOH-N6*H <sub>2</sub> )                                   | -285.655                       | 10.75  | 4.00  |
| OCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHNH <sup>+</sup><br>(M <sup>+</sup> -COOH-N6*H <sub>2</sub> )   | -285.689                       | 9.84   | 4.07  |
| NH <sub>2</sub> OCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C <sup>+</sup><br>(M <sup>+</sup> -COOH-N4*H <sub>2</sub> )                                  | -285.635                       | 11.30  | 3.95  |

\* Lentelėje 4/6 tai L-glutamino atomo numeris (žiūrėti Pav. 5)

Palyginus ryšio energijos tenkančios atomui vertes, pastebėta, jog  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) ir  $C_4H_6NO^+$  ( $m/z=84$ ) fragmentų terminis stabilumas yra panašus (Lentelė 14). Taip pat buvo palygintos energijos reikalingos atsirasti  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) ir  $C_4H_6NO^+$  ( $m/z=84$ ) katijonams (Lentelė 14). Nustatyta, kad NHCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNH<sub>2</sub><sup>+</sup> (M<sup>+</sup>-COOH-O-H, kur M<sup>+</sup> – L-glutaminas) atsiradimui reikalinga energija yra mažiausia ir jo susidarymas yra tikėtinausias.

Tyrimų partnerių išmatuotame (Pav. 6) ir NIST (žiūrėta 2017-05-01) bazėje publikuotame L-glutamino katijonų masės spektruose yra pikas ties  $m/z=129$ . Fragmentas, kurio masė  $m/z=129$  gali būti arba tiesinės, arba ciklinės struktūros, pvz. piroglutamino rūgštis. Cannington ir Ham išmatavę mažos energijos fotoelektronų spektrą parodė, jog glutaminas gali ciklizuoti į piroglutamino rūgštį (Cannington & Ham, 1979). Yra žinoma, jog L-glutamino

deamininimas yra viena iš dažniausių potransliacinių modifikacijų vykstančių gyvuose organizmuose (Nalivaeva & Turner, 2001; Hoffmann & Stroobant, 2007). Piroglutamato rūgštis gali atsirasti nuo L-glutamino molekulės disocijavus amino grupei, t.y. N(4)H<sub>2</sub> (N(4) – tai Gln N atomas pažymėtas „4“ Pav. 5 ir dar vienam H atomui. Piroglutamato rūgšties (Cannington & Ham, 1979) ir L-glutamino teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektrai (Pav. 6 ir NIST (žiūrėta 2017-05-01)) yra panašūs – intensyviausi pikai yra ties tomis pačiomis masėmis – m/z=28, 41, 56 ir 84. Tačiau pikai ties masėmis m/z=16, 18 ir 101 yra būdingi tik L-glutaminui. Fragmentas, kurio masė yra m/z=101 atsiranda kai nuo L-glutamino disocijuoja karboksi grupė. Atsiradęs m/z=18 fragmentas yra vanduo, o m/z=16 – NH<sub>2</sub><sup>+</sup>.

Buvo apskaičiuotos fragmentų, kurių masė vienoda (m/z=129), bet struktūra skirtinga, energijos (Lentelė 15).

**Lentelė 15.** Apskaičiuotos skirtingų masių ir krūvių m/z=129 fragmentų energijos

| Fragmento struktūra                                     | Fragmento energija, a.v. ir krūvis |          |          |
|---|------------------------------------|----------|----------|
|   | -1                                 | 0        | 1        |
| OCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub> COO | -475.242                           | -475.211 | -474.955 |
| NH <sub>2</sub> COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHCOO | -475.282                           | -475.205 | -474.864 |
| OCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CNH <sub>2</sub> COOH | -475.209                           | -475.153 | -474.927 |
| NH <sub>2</sub> COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CCOOH | -475.205                           | -475.146 | -474.913 |
| Piroglutamato rūgštis                                   | -475.238                           | -475.249 | -474.912 |

Pastebėta, kad minimali fragmento energija labai priklauso nuo fragmentų struktūrų ir krūvių. Piroglutamato rūgšties energija yra mažiausia tarp neutralių fragmentų.

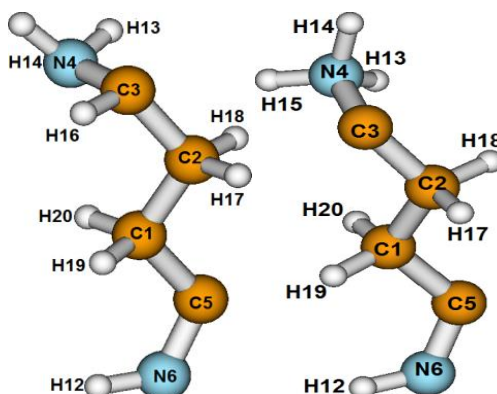
Apskaičiuota, jog mažiausiai energijos (12.77 eV) reikia atsirasti neciklinės struktūros C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z=129) katijonui, kurio formulė – OCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNH<sub>2</sub>COO<sup>+</sup>. Taip pat nustatyta, jog tam, kad susidarytų neutrali piroglutamato rūgštis iš OCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNH<sub>2</sub>COO<sup>+</sup> reikia 11.01 eV, o iš OCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CNH<sub>2</sub>COOH<sup>+</sup> – 11.16 eV. Buvo nustatyta, kad L-glutamino fragmentacijos metu gali atsirasti tik neutrali (o ne turinti teigiamą krūvį) piroglutamato rūgštis. Eksperimentiniuose Gln katijonų masės spektruose (Pav. 6) ir NIST (žiūrėta 2017-05-01) pikas ties m/z=129 taip pat yra neintensyvus. Be to, nustatėme, kad m/z=28, 41, 56 bei 84 katijonai atsiranda tik iš Gln, o ne iš piroglutamato rūgšties.

### 3.3.2. L-glutamino fragmentacijos tyrimas vandenyje

Teoriniais metodais nustatyta, kad Gln IZ IE=8.97 eV. Buvo apskaičiuotos energijos, reikalingos atsirasti teigiamą krūvį turintiems fragmentams ( $m/z=28$ , 41, 56 ir 84) (Lentelė 16). Daugiau energijos reikia atsirasti tokios pačios masės ir cheminės sudėties fragmentams vandenyje. Taip pat nustatėme, kad  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) fragmento atsirandančio vakuume ir vandenyje struktūros yra skirtingos (Pav. 7).

**Lentelė 16.** Apskaičiuotos energijos, reikalingos atsirasti fragmentams L-glutamino fragmentacijos metu vandenyje

| Fragmentas                    | Komplementarus fragmentas         | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui, kai fragmentacija vyksta vandenyje, eV |
|-------------------------------|-----------------------------------|---|
| $CH_2N^+$<br>( $m/z=28$ )     | $C_4H_8NO_3^-$<br>( $m/z=118$ )   | 14.79   |
| $C_3H_5^+$<br>( $m/z=41$ )    | $C_2H_5N_2O_3^-$<br>( $m/z=105$ ) | 12.79   |
| $C_2H_2NO^+$<br>( $m/z=56$ )  | $C_3H_8NO_2^0$<br>( $m/z=90$ )    | 12.98   |
| $C_4H_8N_2^+$<br>( $m/z=84$ ) | $CH_2O_3^-$<br>( $m/z=62$ )       | 9.37  |



**Paveikslas 7.** L-glutamino  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) fragmento struktūros vakuume (kairėje) ir vandenyje (dešinėje).

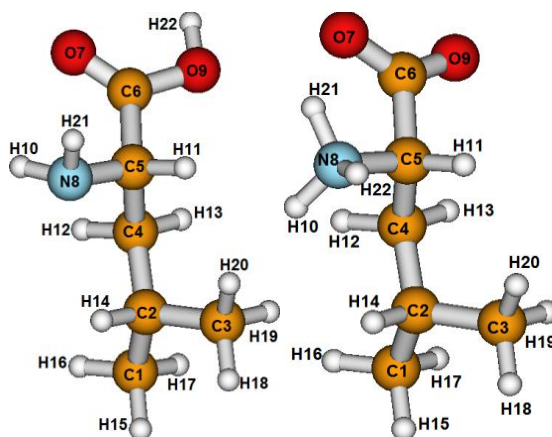
Lentelė 17.  $C_4H_8N_2^+$  energijos vakuume ir vandenyje

| Fragmentas                    | Fragmento, turinčio $NH_2$ ir $COOH$ grupes, energija, a.v. (vakuume) | Fragmento, turinčio $NH_3^+$ ir $COO^-$ grupes, energija, a.v. (vakuume) | Fragmento, turinčio $NH_2$ ir $COOH$ grupes, energija, a.v. (vandenyje) | Fragmento, turinčio $NH_3^+$ ir $COO^-$ grupes, energija, a.v. (vandenyje) |
|-------------------------------|---|--|---|--|
| $C_4H_8N_2^+$<br>( $m/z=84$ ) | -266.395  | -266.383   | -266.400  | -266.413   |

Gauti rezultatai (Lentelė 17), parodo, jog  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ), turintis  $NH_2$  ir  $COOH$  grupes dominuoja vakuume, o turintis  $NH_3^+$  ir  $COO^-$  grupes – vandenyje.

### 3.4. L-leucino fragmentacija

Toliau pateikti (Pav. 8) nustatyti stabiliausi Leu konformeriai vakuume (IC) ir vandenyje (IZ). IC konformeras yra panašus į eksperimentiškai ir teoriškai nustatytą patį stabiliausią (Cocinero ir kiti, 2007) ir teoriškai rastus stabiliausius (Rai ir kiti, 2009; Dokmaisrijan ir kiti, 2010) konformerus.



**Paveikslas 8.** Stabiliausias L-leucino konformeras IC vakuume kairėje ir IZ vandenyje dešinėje.

Jonizuoto L-leucino IC ir IZ ryšių ilgiai ir užpildos pateikti Prieduose (Lentelė P4). Silpniausias L-leucino IC ir IZ konformerų ryšys yra C5-C6. Kitas silpnas IC ir IZ ryšys yra C2-C4. Šio tyrimo metu apskaičiuota L-leucino

jonizacijos energija vakuume (8.50 eV) palyginta su eksperimentiškai išmatuota IE pateikta NIST (žiūrėta 2017-03-30) duomenų bazėje – 8.51 eV ir išmatuota IE –  $8.85 \pm 0.05$  eV bei G3MP2 metodu apskaičiuota IE – 8.88 eV (Papp ir kiti, 2012). Gauti rezultatai sutampa su eksperimentinėmis (Papp ir kiti, 2012; NIST (žiūrėta 2017-03-30)) ir teorine verte (Papp ir kiti, 2012). L-leucino jonizacijos energija vandenyje yra lygi 9.11 eV. Taigi Leu IE vakuume yra mažesnė nei vandenyje. Todėl energija reikalinga fragmentams susidaryti vandenyje turėtų būti didesnė.

### 3.4.1. L-leucino fragmentacijos tyrimas vakuume

Kaip jau minėta, L-leucino fragmentacijos tyrimų metu buvo naudotas NIST duomenų bazėje publikuotas spektras ir (Papp ir kiti, 2012) išmatuotos energijos, reikalingos atsirasti katijonams. Remiantis šiais dviem literatūros šaltiniais, vykstant Leu fragmentacijai atsiranda  $m/z=28, 30, 41, 43, 44, 74$  ir  $86$  teigiamą krūvį turintys fragmentai. Papp su bendraautorais taip pat nustatė, kad L-leucino fragmentacijos metu atsiranda  $m/z=29, 42, 57, 69, 70$  ir  $75$  fragmentai. Identifikavome aukščiau minimų ( autorių nustatytų bei pateiktų NIST bazėje) masių fragmentų chemines sudėtis ir apskaičiavome atsiradimui reikalingas energijas.

Atlikdami molekulinio modeliavimo tyrimą apskaičiavome  $m/z=28$  katijonų, turinčių skirtingas chemines sudėtis ( $\text{CH}_2\text{N}^+$  ir  $\text{C}_2\text{H}_4^+$ ), atsiradimui reikalingas energijas, ryšio energijas tenkančias atomui ir HOMO-LUMO tarpus (Lentelė 18).

**Lentelė 18.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $\text{CH}_2\text{N}^+$  ( $m/z=28$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  ( $m/z=28$ ) katijonams Leu IC fragmentacijos metu, katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=28$   | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|--------------------------|--|---|--------------------------------|
| $\text{CH}_2\text{N}^+$  | 9.61   | 2.86  | 10.97                          |
| $\text{C}_2\text{H}_4^+$ | 12.98  | 2.72  | 5.96                           |

Nustatėme, jog  $\text{CH}_2\text{N}^+$  ( $m/z=28$ ) katijono atsiradimui reikia mažiau energijos (9.61 eV), jis yra ir termiškai, ir chemiškai stabilesnis už  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  ( $m/z=28$ ) (Lentelė 18). Tačiau (Papp ir kiti, 2012) išmatuota  $E_{\text{ap}}$  reikalinga atsirasti  $m/z=28$  fragmentui yra daug didesnė –  $13.53 \pm 0.05$  eV. Tuo tarpu,

$C_2H_4^+$  ( $m/z=28$ ) atsiradimui reikalinga energija 12.98 eV (Lentelė 18) yra artima išmatuotai minėtų autorių. Taigi manome, jog  $m/z=28$  fragmento cheminė sudėtis gali būti ir  $CH_2N^+$ , ir  $C_2H_4^+$ , bet daugiau turėtų atsirasti  $C_2H_4^+$  (komplementarus jonas –  $C_4H_9NO_2^-$ ). Kaip jau minėta, (Papp ir kiti, 2012) nėra patvirtinę, kuris iš jų tirtų fragmentų ( $NHCH^+$  arba  $CO^+$ ), atitinka piką ties  $m/z=28$ .

Nagrinėjome kokios cheminės sudėties ( $CH_3N^+$ ,  $C_2H_5^+$  ar  $CHO^+$ ) fragmentas atitinka piką esantį ties  $m/z=29$ . Toliau pateikiamos energijos reikalingos atsirasti  $m/z=29$  teigiamą krūvį turintiems fragmentams, jų ryšio energija tenkanti atomui ir HOMO-LUMO tarpai (Lentelė 19).

**Lentelė 19.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $CH_3N^+$  ( $m/z=29$ ),  $C_2H_5^+$  ( $m/z=29$ ) ir  $CHO^+$  ( $m/z=29$ ) katijonams Leu IC fragmentacijos metu, katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=29$ | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|------------------------|--|---|--------------------------------|
| $CH_3N^+$              | 11.44  | 2.59  | 7.96                           |
| $C_2H_5^+$             | 13.24  | 2.86  | 8.97                           |
| $CHO^+$                | 12.47  | 1.19  | 8.94                           |

Pagal gautus rezultatus (Lentelė 19), mažiau energijos reikia  $CH_3N^+$  ( $m/z=29$ ) nei  $C_2H_5^+/CHO^+$  ( $m/z=29$ ) atsirasti. Tačiau  $C_2H_5^+$  ( $m/z=29$ ) katijonas yra termiškai ir chemiškai stabilesnis, o jo atsiradimui reikalinga energija sutampa su eksperimentine ( $12.98 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012).  $CHO^+$  ( $m/z=29$ ) yra stabilesnis chemiškai už  $CH_3N^+$  ( $m/z=29$ ) ir jo atsiradimui reikalinga energija taip pat nedaug skiriasi nuo eksperimentinės vertės. Taigi vykstant Leu fragmentacijai dėl lėtų elektronų poveikio gali atsirasti visi trys minėti fragmentai, bet daugiausiai turėtų atsirasti  $C_2H_5^+$  ( $m/z=29$ ) katijono (komplementarus fragmentas –  $C_4H_8NO_2^-$ ). Tuo tarpu, (Papp ir kiti, 2012) rezultatai rodo, jog labiau tikėtina, kad  $m/z=29$  fragmento cheminė sudėtis yra  $CHO^+$  (ne  $CH_3N^+$ ). Minėti autoriai netyrė  $C_2H_5^+$  ( $m/z=29$ ) fragmento atsiradimo galimybes.

NIST duomenų bazėje esančiame L-leucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre vienas iš intensyviausių pikų yra ties mase  $m/z=30$  (NIST (žiūrėta 2017-03-30)). Nustatėme, jog  $m/z=30$  fragmentas yra  $CH_4N^+$  (komplementarus fragmentas yra  $C_5H_9O_2^-$ ). Identifikuota fragmento cheminė



sudėtis sutapo su (Papp ir kiti, 2012) publikuotais duomenimis. Atlikę tyrimus pastebėjome, jog tam, kad atsirastų šis fragmentas, turi ne tik nutrūkti C4-C5, C5-C6 ( $C_{\alpha}$ -C), O9-H22 ryšiai, bet ir įvykti H atomo migracija – H22 disocijuoja nuo O9 atomo ir prisijungia prie C5. Apskaičiuota energija reikalinga atsirasti šiam fragmentui yra 10.79 eV. Ji atitinka (Papp ir kiti, 2012) išmatuotą  $E_{ap}=10.93\pm 0.05$  eV.

Išnagrinėję Leu IC ryšių ilgių ir užpildų duomenis (Lentelė Prieduose P4), pastebėjome, kad piką ties mase  $m/z=41$  gali atitikti  $C_2H_3N^+$ ,  $C_2HO^+$  ir  $C_3H_5^+$  katijonai. Nustatyta, jog mažiausiai energijos reikia atsirasti  $C_3H_5^+$  (komplementarus fragmentas –  $C_3H_8NO_2^-$ ) teigiamą krūvį turinčiam jonui, be to jis yra stabiliausias termiškai (Lentelė 20).

**Lentelė 20.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_3H_5^+$  ( $m/z=41$ ),  $C_2H_3N^+$  ( $m/z=41$ ) ir  $C_2HO^+$  ( $m/z=41$ ) katijonams Leu IC fragmentacijos metu ir katijonų ryšio energijos tenkančios atomui

| Fragmentas<br>$m/z=41$ | Energija, reikalinga<br>fragmentui atsirasti, eV | Ryšio energija tenkanti<br>atomui, eV |
|------------------------|--|---------------------------------------|
| $C_3H_5^+$             | 12.87  | 3.59                                  |
| $C_2H_3N^+$            | 13.64  | 3.18                                  |
| $C_2HO^+$              | 14.40  | 2.60                                  |

Papp su bendraautoriais piką ties mase  $m/z=41$  taip pat identifiko kaip atitinkantį fragmentą, kurio cheminė sudėtis –  $C_3H_5^+$  (Papp ir kiti, 2012). Jų išmatuota  $E_{ap}=12.31\pm 0.05$  eV. Mūsų apskaičiuota energija reikalinga atsirasti  $C_3H_5^+$  fragmentui sutampa su išmatuota minėtų autorių.

Ištyrėme  $m/z=42$  fragmentų atsiradimą. Molekulinio modeliavimo metu nustatėme, jog šios masės fragmento cheminė sudėtis yra  $C_3H_6^+$  (tokia pati, kaip ir rasta (Papp ir kiti, 2012)). Tyrimų rezultatai parodė, jog šis teigiamą krūvį turintis fragmentas atsiranda nutrūkus C2-C3 ir C4-C5 ryšiams. Mūsų apskaičiuota fragmento  $E_{ap}=12.43$  eV. Komplementarus fragmentas atsirandantis to paties proceso metu yra  $C_3H_7NO_2^0$ . Tuo tarpu,  $C_2H_2O^+$  ( $m/z=42$ ) atsiradimas L-leucino fragmentacijos metu yra mažiau tikėtinas, nes apskaičiuota energija reikalinga atsirasti šiam fragmentui ( $E_{ap}=14.36$  eV) yra didesnė virš paklaidų ribų už eksperimentiškai išmatuotą  $E_{ap}=12.16\pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012). Be to,  $C_3H_6^+$  katijonas (ryšio energija tenkanti atomui – 3.45 eV) yra termiškai stabilesnis už  $C_2H_2O^+$  (ryšio energija tenkanti atomui – 2.90 eV).

Tyrėme, ar  $m/z=43$  yra  $C_3H_7^+/C_2H_5N^+$ . Nustatėme, jog abi cheminės sudėtys galimos, t.y. apskaičiuota energija reikalinga atsirasti  $C_3H_7^+$  ( $m/z=43$ ) ir  $C_2H_5N^+$  ( $m/z=43$ ) fragmentams (Lentelė 20) sutampa su eksperimentiškai išmatuota energija reikalinga atsirasti  $m/z=43$  katijonui ( $11.85\pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012). Kadangi abi minėtos cheminės sudėtys yra tikėtinos, buvo apskaičiuota ryšio energija tenkanti atomui ir HOMO-LUMO tarpai (Lentelė 21).

$C_2H_5N^+$  fragmentas yra stabilesnis ir termiškai, ir chemiškai (Lentelė 21). Taigi mūsų duomenimis, piką ties mase  $m/z=43$  atitinka  $C_2H_5N^+$  (komplementarus fragmentas –  $C_4H_8O_2^-$ ).

**Lentelė 21.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_3H_7^+$  ( $m/z=43$ ) ir  $C_2H_5N^+$  ( $m/z=43$ ) katijonams Leu IC fragmentacijos metu, ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=43$ | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|------------------------|--|---|--------------------------------|
| $C_3H_7^+$             | 11.34  | 3.40  | 2.24                           |
| $C_2H_5N^+$            | 12.36  | 3.67  | 5.11                           |

Papp su bendraautoriais gauti rezultatai rodo, jog  $m/z=43$  masės teigiamą krūvį turintis fragmentas yra  $C_3H_7^+$  (Papp ir kiti, 2012). Kita vertus, duomenų apie  $C_2H_5N^+$  ( $m/z=43$ ) fragmento atsiradimo tyrimus aukščiau minėti autoriai nepateikė.

NIST duomenų bazėje publikuotame Leu katijonų masės spektre pikas ties mase  $m/z=44$  yra labai intensyvus (NIST (žiūrėta 2017-03-30)). Mūsų nustatyta cheminė fragmento sudėtis –  $C_2H_6N^+$  (komplementarus fragmentas –  $C_4H_7O_2^0$ ). Apskaičiavome, jog energija reikalinga atsirasti šiam fragmentui yra 10.16 eV, o ryšio energija tenkanti atomui (REA) – 3.60 eV, tuo tarpu  $C_3H_8^+$  ( $m/z=44$ )  $E_{ap}$  yra didesnė (11.18 eV), o terminis stabilumas – mažesnis (REA=1.42 eV). Papp su bendraautoriais nustatyta cheminė ši piką atitinkančio fragmento sudėtis yra tokia pati –  $C_2H_6N^+$ . Jų išmatuota  $E_{ap}=10.63\pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012). Nustatėme, jog šis katijonas atsiranda, kai nutrūksta C5-C6 (disocijuoja karboksi grupė) ir C2-C4 (disocijuoja CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), o H22 atomas prisijungia prie C5 (C<sub>α</sub>) atomo.

Fragmentas, kurio  $m/z=57$  galėtų būti  $C_4H_9^+$  arba  $C_2H_3NO^+$ . Nustatėme, jog  $C_4H_9^+$  ( $E_{ap}=10.19$  eV) fragmento atsiradimui reikia mažiau energijos nei

$C_2H_3NO^+$  ( $E_{ap}=11.53$  eV).  $C_4H_9^+$  ( $m/z=57$ ) fragmentas yra Leu šoninė grupė ( $R=-CH_2-CH-(CH_3)_2^+$ ). Be to, mūsų apskaičiuota  $E_{ap}=10.19$  eV sutampa su (Papp ir kiti, 2012) išmatuota verte –  $10.65\pm 0.05$  eV. Sutampa ir rasta cheminė sudėtis –  $C_4H_9^+$ . Mūsų nustatytas komplementarus fragmentas –  $C_2H_4NO_2^0$ .

Nagrinėjome trijų galimų, skirtingas chemines sudėtis turinčių ( $C_5H_{10}^+$ ,  $C_3H_2O_2^+$  ir  $C_3H_4NO^+$ )  $m/z=70$  fragmentų atsiradimą. Gauti rezultatai pateikti žemiau (Lentelė 22).

**Lentelė 22.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_5H_{10}^+$  ( $m/z=70$ ),  $C_3H_2O_2^+$  ( $m/z=70$ ) ir  $C_3H_4NO^+$  ( $m/z=70$ ) katijonams Leu IC fragmentacijos metu ir katijonų ryšio energijos tenkančios atomui

| Fragmentas<br>$m/z=70$ | Energija, reikalinga<br>fragmentui atsirasti, eV | Ryšio energija tenkanti<br>atomui, eV |
|------------------------|--|---------------------------------------|
| $C_5H_{10}^+$          | 9.94   | 3.80                                  |
| $C_3H_2O_2^+$          | 10.47  | 2.14                                  |
| $C_3H_4NO^+$           | 10.85  | 3.23                                  |

Pastebėjome, jog  $C_5H_{10}^+$  (komplementarus fragmentas –  $CH_3NO_2^0$ ) fragmento atsiradimui reikia mažiausiai energijos (9.94 eV), ji sutampa su eksperimentine verte ( $9.52\pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012), be to, šis fragmentas yra termiškai stabiliausias (Lentelė 22). Literatūroje (Papp ir kiti, 2012) pikas ties mase  $m/z=70$  taip pat identifikuojamas kaip  $C_5H_{10}^+$ . Pagal mūsų kompiuterinio modeliavimo rezultatus,  $C_5H_{10}^+$  atsiranda disocijavus dviems L-leucino grupėms: karboksi ir amino.

Dar vieną intensyvų piką L-leucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektre ties mase  $m/z=74$  NIST (žiūrėta 2017-03-30) atitinka  $C_2H_4NO_2^+$ . Nustatyta cheminė fragmento sudėtis ( $C_2H_4NO_2^+$ ) sutampa su publikuota (Papp ir kiti, 2012). Apskaičiavome, kad  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ )  $E_{ap}$  yra 10.03 eV. Ši vertė sutampa su eksperimentiškai išmatuota  $E_{ap}=10.52\pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012).  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ) atsiranda kai disocijuoja šoninė tiriamosios AR grupė ( $C_4H_9^0$ ).

Nustatėme, jog  $m/z=75$  katijono cheminė sudėtis yra  $C_2H_5NO_2^+$  ( $E_{ap}=9.45$  eV). Papp su bendraautoriais piką tie šia mase taip pat identifikavo kaip  $C_2H_5NO_2^+$ . Jų išmatuota minėtos masės fragmento atsiradimo energija yra  $9.11\pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012). Mūsų apskaičiuota ir autorių išmatuota energija sutampa.  $C_2H_5NO_2^+$  ( $m/z=75$ ) fragmentas atsiranda kai nutrūksta

C4-C5 ryšys, o H13 atomas disocijuoja nuo C4 ir prisijungia prie C5 atomo (atsiranda komplementarus fragmentas –  $C_4H_8^0$ ).

Intensyviausias pikas eksperimentiškai užregistruotame L-leucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre (NIST (žiūrėta 2017-03-30)) yra ties  $m/z=86$ . Tyrėme dviejų skirtingų katijonų –  $C_5H_{12}N^+$  ( $m/z=86$ ) ir  $C_3H_4NO_2^+$  ( $m/z=86$ ) atsiradimą. Nustatėme, jog energiška palankesnis yra  $C_5H_{12}N^+$  atsiradimas. Tokiam procesui reikia 8.93 eV – mažiausiai iš visų Leu fragmentų. Papp su bendraautorais taip pat nustatė, jog šį piką atitinka fragmentas, kurio cheminė sudėtis yra  $C_5H_{12}N^+$ ; jų išmatuota  $E_{ap}=9.24\pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012). Modeliavimo rezultatai rodo, kad minėtas jonas atsiranda nutrūkus silpniausiajam C5-C6 ryšiui (žiūrėti Pav. 8), t.y. disocijavus neutraliai karboksi grupei.

Literatūriniais duomenimis piko ties mase  $m/z=69$  cheminė sudėtis –  $C_5H_9^+$  (Papp ir kiti, 2012). Tačiau mūsų teorinio tyrimo rezultatai rodo, jog šios masės fragmentas neturėtų atsirasti. NIST duomenų bazėje publikuotame Leu katijonų masės spektre pikas ties minėta mase yra labai mažo intensyvumo (NIST (žiūrėta 2017-03-30)), t.y. jo atsiradimas mažai tikėtinas.

### 3.4.2. L-leucino fragmentacijos tyrimas vandenyje

Apskaičiavome energijas būtinas atsirasti katijonams Leu fragmentacijos metu vandenyje (Lentelė 23). Taip pat išanalizavome ir toliau pateikiame nustatytus fragmentacijos skirtumus vakuume ir vandenyje.

**Lentelė 23.** Apskaičiuotos energijos, reikalingos atsirasti fragmentams L-leucino fragmentacijos metu vandenyje

| Fragmentas                 | Komplementarus fragmentas       | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui, kai fragmentacija vyksta vandenyje, eV |
|----------------------------|---------------------------------|---|
| $C_2H_4^+$<br>( $m/z=28$ ) | $C_4H_9NO_2^-$<br>( $m/z=103$ ) | 13.73   |
| $C_2H_5^+$<br>( $m/z=29$ ) | $C_4H_8NO_2^-$<br>( $m/z=102$ ) | 13.98   |
| $CH_4N^+$<br>( $m/z=30$ )  | $C_5H_9O_2^-$<br>( $m/z=101$ )  | 11.35   |
| $C_3H_5^+$<br>( $m/z=41$ ) | $C_3H_8NO_2^-$<br>( $m/z=90$ )  | 13.58   |

Lentelės 23 tęsinys sekančiame puslapyje

| Fragmentas                 | Komplementarus fragmentas  | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui, kai fragmentacija vyksta vandenyje, eV |
|----------------------------|----------------------------|---|
| $C_3H_6^+$<br>(m/z=42)     | $C_3H_7NO_2^0$<br>(m/z=89) | 13.15   |
| $C_2H_5N^+$<br>(m/z=43)    | $C_4H_8O_2^-$<br>(m/z=88)  | 13.04   |
| $C_2H_6N^+$<br>(m/z=44)    | $C_4H_7O_2^0$<br>(m/z=87)  | 10.74   |
| $C_4H_9^+$<br>(m/z=57)     | $C_2H_4NO_2^0$<br>(m/z=74) | 11.15   |
| $C_5H_{10}^+$<br>(m/z=70)  | $CH_3NO_2^0$<br>(m/z=61)   | 10.46   |
| $C_2H_4NO_2^+$<br>(m/z=74) | $C_4H_9^0$<br>(m/z=57)     | 11.13   |
| $C_2H_5NO_2^+$<br>(m/z=75) | $C_4H_8^0$<br>(m/z=56)     | 9.98  |
| $C_5H_{12}N^+$<br>(m/z=86) | $CHO_2^0$<br>(m/z=45)      | 9.41  |

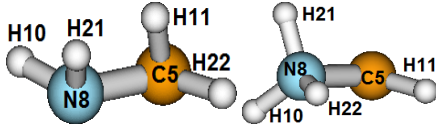
Nustatėme, jog energija reikalinga atsirasti tokios pačios masės ir cheminės sudėties fragmentams (pvz. labiausiai tikėtino  $C_5H_{12}N^+$  (m/z=86)) vykstant L-leucino IC konformero fragmentacijai vakuume yra mažesnė nei vykstant IZ konformero fragmentacijai vandenyje.

Keletos katijonų –  $CH_4N^+$  (m/z=30),  $C_2H_5N^+$  (m/z=43),  $C_2H_6N^+$  (m/z=44),  $C_2H_4NO_2^+$  (m/z=74),  $C_2H_5NO_2^+$  (m/z=75) ir  $C_5H_{12}N^+$  (m/z=86) geometrinės struktūros skiriasi, kai katijonai susidaro vykstant L-leucino IC ir IZ fragmentacijai, atitinkamai, vakuume ir vandenyje (Pav. 9).

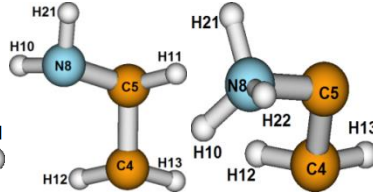
Norint nustatyti, ar katijonai vakuume atsiradę iš IC konformero struktūros, taip pat turės  $NH_2$  ir  $COOH$  grupes, o atsiradę vandenyje iš IZ konformero – būdingas  $NH_3^+$  ir  $COO^-$  grupes, apskaičiavome fragmentų, turinčių  $NH_2/NH_3$  bei  $COOH/COO^-$  grupes vakuume ir vandenyje, atitinkamai, energijas (Lentelė 24).

Pagal teorinio tyrimo rezultatus (Lentelė 24), iš konformero, kuriam būdingos  $NH_2$  ir  $COOH$  grupės atsirast fragmentai, turinys tokias pačias grupes, o iš koformero turinčio  $NH_3^+$  ir  $COO^-$  grupes – katijonai taip pat turintys protonizuotą amino ir deprotonizuotą karboksi grupes.

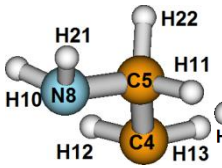
A



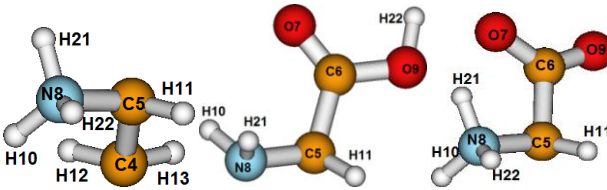
B



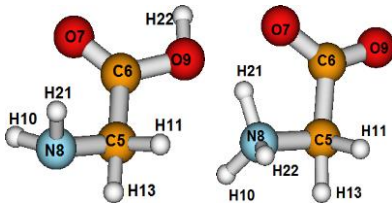
C



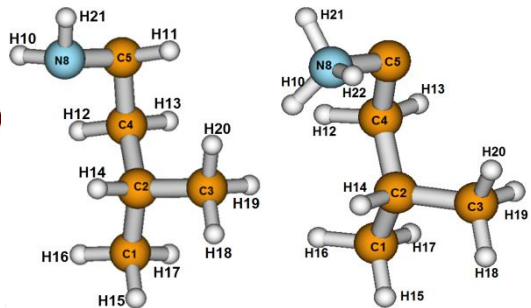
D



E



F



**Paveikslas 9.** L-leucino fragmentų, kurių masės ir cheminės sudėties yra tokios pačios, struktūros vakuume ir vandenyje: A –  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ), B –  $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}^+$  ( $m/z=43$ ), C –  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=44$ ), D –  $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^+$  ( $m/z=74$ ), E –  $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$  ( $m/z=75$ ) ir F –  $\text{C}_3\text{H}_{12}\text{N}^+$  ( $m/z=86$ ).

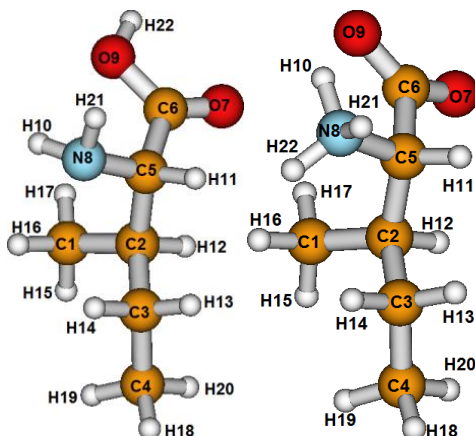
**Lentelė 24.** Fragmentų energijos vakuume ir vandenyje

| Fragmentas  | Fragmentų, turinčių NH <sub>2</sub> ir COOH grupes, energijos, a.v. (vakuume) | Fragmentų, turinčių NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ir COO <sup>-</sup> grupes, energijos, a.v. (vakuume) | Fragmentų, turinčių NH <sub>2</sub> ir COOH grupes, energijos, a.v. (vandenyje) | Fragmentų, turinčių NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ir COO <sup>-</sup> grupes, energijos, a.v. (vandenyje) |
|---|---|--|---|--|
| CH <sub>4</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=30)                | -94.961   | -94.734  | -94.993   | -95.025  |
| C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=43)  | -133.645  | -133.622   | -133.718  | -133.747   |
| C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=44)  | -134.289  | -134.115   | -134.419  | -134.441   |
| C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO <sup>+</sup><br>(m/z=74) | -283.587  | -283.566   | -283.615  | -283.650   |
| C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sup>+</sup><br>(m/z=75) | -284.140  | -284.100   | -284.175  | -284.211   |
| C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=86) | -252.194  | -252.176   | -252.449  | -252.476   |

### 3.5. L-izoleucino fragmentacija

Žemiau yra pateikta stabiliausio Ile konformero vakuume (IC) ir vandenyje (IZ) vaizdai ir atomų numeracijos (Pav. 10). Tiriant kuris Ile konformeras yra stabiliausias, buvo sumodeliuoti ir konformeraai, kurių amino bei karboksi grupių vandenilių ir R=CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> grupės padėtys yra panašios į anksčiau publikuotų konformerų atitinkamų vandenilių/grupės padėtis. Mūsų surastas IC konformeras (Pav. 10) nėra panašus į anksčiau publikuotus (Lesarri ir kiti, 2005; Boeckx ir kiti, 2012) Ile konformerus. Rezultatai, kuriuos gavome, parodė, jog Ile IC (Pav. 10) yra stabiliausias.

Nustatėme, jog L-izoleucino IC IE (kai molekulė ir jos katijonas yra pusiausvirinėje būsenoje) – 8.34 eV vakuume. Palyginta IC IE su eksperimentiškai išmatuota IE pateikta NIST duomenų bazėje – 9.50±0.20 eV (NIST (žiūrėta 2017-12-30)) ir 8.79±0.05 eV (Papp ir kiti, 2012). Mūsų apskaičiuota IE sutampa su (Papp ir kiti, 2012) eksperimentiškai nustatyta IE. L-izoleucino jonizacijos energija vandenyje (mūsų duomenimis) yra lygi 9.11 eV.



**Paveikslas 10.** Stabiliausias L-izoleucino konformeris IC vakuume kairėje ir IZ vandenyje dešinėje.

Jonizuoto (teigiamą krūvį turinčio) IC ir IZ L-izoleucino ryšių ilgių ir ryšių užpildų duomenys yra pateikti Prieduose (Lentelė P5). Silpniausias L-izoleucino IC ir IZ konformerų ryšys yra C5-C6. Kitas silpnas IC ir IZ ryšys – C2-C5.

### 3.5.1. L-izoleucino fragmentacijos tyrimas vakuume

L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre publikuotame NIST (žiūrėta 2017-12-30) duomenų bazėje intensyviausi pikai yra ties masėmis  $m/z=27$ , 28, 29, 30, 41, 44, 56, 57, 69, 74, 75 ir 86. Papp su bendraautoriais nustatė, jog Ile fragmentacijos metu atsiranda ne tik aukščiau minimi, bet ir  $m/z=42$ , 43 bei 70 katijonai. Toliau yra pateiktos apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti aukščiau įvardintų masių katijonams.

Tyrimo metu analizavome  $C_2H_3^+$  ( $m/z=27$ ) atsiradimo galimybę. Pikas ties šia mase yra užregistruotas NIST (žiūrėta 2017-12-30) publikuotame Ile katijonų spektre, tačiau (Papp ir kiti, 2012) jo atsiradimo netyrė. Šio tyrimo metu apskaičiuota skirtingų geometrinių struktūrų fragmentų energija, taip pat energijos reikalingos atsirasti fragmentams, ryšio energija tenkanti atomui ir HOMO-LUMO tarpai (Lentelė 25).

Pagal pateiktus rezultatus (Lentelė 25),  $H_2C-CH^+$  ( $m/z=27$ ) ir  $C-CH_3^+$  ( $m/z=27$ ) fragmentų atsiradimui reikalinga energija sutampa, tačiau  $H_2C-CH^+$  ( $m/z=27$ ) fragmentas yra termiškai stabilesnis. Kita vertus, abiejų minėtų geometrinių struktūrų HOMO-LUMO tarpo vertės sutampa. Taigi  $C-CH_3^+$  gali virsti  $H_2C-CH^+$  (jo energija žemesnė).



**Lentelė 25.** Apskaičiuotos  $C_2H_3^+$  ( $m/z=27$ ) katijonų energijos, energijos reikalinga jų atsiradimui, ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=27$                         | Fragmento<br>energija,<br>a.v. | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|--|--------------------------------|--|---|--------------------------------|
| $C_2H_3^+$<br>( $H_2C-\dot{C}H$ ) <sup>+</sup> | -77.582                        | 12.79  | 2.67  | 5.35                           |
| $C_2H_3^+$<br>( $C-\dot{C}H_3$ ) <sup>+</sup>  | -77.508                        | 13.05  | 2.26  | 5.54                           |

Toliau pateiktos mūsų apskaičiuotos  $m/z=28$  fragmentų energijos, bei energijos reikalingos atsirasti šios masės fragmentams ir ryšio energija tenkanti atomui (Lentelė 26).

**Lentelė 26.** Apskaičiuotos  $C_2H_4^+$  ( $m/z=28$ ) ir  $CH_2N^+$  ( $m/z=28$ ) katijonų energijos, energijos reikalingos jų atsiradimui ir ryšio energijos tenkančios atomui vertės

| Fragmentas<br>$m/z=28$                       | Fragmento<br>energija,<br>a.v. | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV |
|--|--------------------------------|--|---|
| $C_2H_4^+$                                   | -78.195                        | 12.71  | 2.72  |
| $CH_2N^+$<br>( $HN-\dot{C}H$ ) <sup>+</sup>  | -93.717                        | 11.15  | 2.86  |
| $CH_2N^+$<br>( $H_2\dot{N}-C$ ) <sup>+</sup> | -93.636                        | 11.47  | 2.30  |

Apskaičiuota, jog mažiausiai energijos reikia  $CH_2N^+$  ( $HN-\dot{C}H$ )<sup>+</sup> ir  $CH_2N^+$  ( $H_2N-\dot{C}$ )<sup>+</sup> atsirasti (jų  $E_{ap}$  sutampa) (Lentelė 26). Kita vertus, gautos  $E_{ap}$  vertės ženkliai skiriasi nuo (Papp ir kiti, 2012) išmatuoto energijos kiekio reikalingo  $m/z=28$  fragmento atsiradimui ( $13.39 \pm 0.05$  eV). Palyginus ryšio energijas tenkančias atomui  $C_2H_4^+$  (REA=2.72 eV),  $HN-\dot{C}H^+$  (REA=2.86 eV) ir  $H_2N-\dot{C}^+$  (REA=2.30 eV), pastebėjome, jog  $C_2H_4^+$  ( $m/z=28$ ) ir  $HN-\dot{C}H^+$  ( $m/z=28$ ) terminis stabilumas yra panašus (jų ryšio energijos tenkančios atomui sutampa). Nustatyta, kad tik  $C_2H_4^+$  ( $m/z=28$ ) atsiradimui reikalinga energija (12.71 eV) sutampa su (Papp ir kiti, 2012) išmatuota. Taigi piką ties mase  $m/z=28$  atitinka  $C_2H_4^+$  (komplementarus fragmentas –  $C_4H_9NO_2^-$ ).

Teorinių tyrimų metu patikrinome, ar piką ties mase  $m/z=29$  atitinka  $\text{CH}_3\text{N}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  arba  $\text{CHO}^+$ . Gauti rezultatai pateikti Lentelėje 27.

**Lentelė 27.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=29$ ),  $\text{CH}_3\text{N}^+$  ( $m/z=29$ ) ir  $\text{CHO}^+$  ( $m/z=29$ ) katijonams Iše IC fragmentacijos metu, katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=29$   | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|--------------------------|--|---|--------------------------------|
| $\text{C}_2\text{H}_5^+$ | 12.45  | 2.86  | 8.97                           |
| $\text{CH}_3\text{N}^+$  | 12.86  | 2.59  | 6.85                           |
| $\text{CHO}^+$           | 13.46  | 1.16  | 8.96                           |

Palyginus šio tyrimo metu apskaičiuotas  $E_{\text{ap}}$  (Lentelė 27) su ekperimentiškai išmatuota energija reikalinga atsirasti  $m/z=29$  fragmentui ( $12.40 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012), pastebima, jog ir  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=29$ ), ir  $\text{CH}_3\text{N}^+$  ( $m/z=29$ ) fragmentams atsirasti reikalinga energija yra artima eksperimentinei vertei. Tačiau  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=29$ ) fragmentas yra termiškai ir chemiškai stabilesnis už  $\text{CH}_3\text{N}^+$  ( $m/z=29$ ). Taigi  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=29$ ) atsiradimas yra tikėtinausias, nors manome, jog galėtų atsirasti ir  $\text{CH}_3\text{N}^+$  ( $m/z=29$ ) katijonas. Skylant Iše molekulei atsiranda  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=29$ ) fragmentui komplementarus anijonas –  $\text{C}_4\text{H}_8\text{NO}_2^-$ . Tuo tarpu, (Papp ir kiti, 2012) rezultatai rodo, jog labiau tikėtina, kad  $m/z=29$  fragmentas yra  $\text{CHO}^+$ . Tačiau mūsų rezultatai rodo, kad  $\text{CHO}^+$  ( $m/z=29$ ) atsiradimui reikia daugiausiai energijos ir jis yra mažiausiai termiškai stabilus. Tuo tarpu, minėti autoriai netyrė  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=29$ ) teigiamą krūvį turinčio fragmento atsiradimo galimybes.

NIST duomenų bazėje publikuotame L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre vienas intensyviausių pikų yra ties  $m/z=30$ . Tyrėme, ar piką ties  $m/z=30$  atitinka  $\text{CH}_4\text{N}^+$ , ar  $\text{C}_2\text{H}_6^+$  (Lentelė 28).  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ) atsiradimui reikia mažiau energijos ( $E_{\text{ap}}=10.58$  eV) ir ji sutampa su išmatuota  $E_{\text{ap}}$  ( $10.24 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012). Be to,  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ) fragmentas yra termiškai stabilesnis už  $\text{C}_2\text{H}_6^+$  ( $m/z=30$ ). Remdamiesi gautais molekulinio modeliavimo rezultatais (Lentelė 28) galime teigti, jog  $m/z=30$  fragmento cheminė sudėtis yra  $\text{CH}_4\text{N}^+$  (komplementarus fragmentas –  $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2^0$ ). Tam, kad atsirastų  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ) turi ne tik disocijuoti karboksi ir šoninė L-izoleucino grupės, bet ir disocijavęs karboksi grupės H22 atomas prisijungti prie C5 atomo. Mūsų ir (Papp ir kiti, 2012) nustatyta cheminė  $m/z=30$  fragmento sudėtis sutampa.

**Lentelė 28.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_6^+$  ( $m/z=30$ ) katijonams Ile IC fragmentacijos metu ir katijonų ryšio energijos tenkančios atomui

| Fragmentas<br>$m/z=30$   | Energija, reikalinga<br>fragmentui atsirasti, eV | Ryšio energija<br>tenkanti atomui, eV |
|--------------------------|--|---------------------------------------|
| $\text{CH}_4\text{N}^+$  | 10.58  | 2.99                                  |
| $\text{C}_2\text{H}_6^+$ | 11.24  | 2.65                                  |

Išnagrinėję Ile ryšių ilgius ir užpildas (prieduose Lentelė P5) nusprendėme patikrinti, ar  $m/z=41$  piką atitinka  $\text{C}_3\text{H}_5^+$ , ar  $\text{C}_2\text{HO}^+$ . Apskaičiavome, jog  $E_{\text{ap}}(\text{C}_3\text{H}_5^+)=12.49$  eV,  $E_{\text{ap}}(\text{C}_2\text{HO}^+)=13.26$  eV. Taigi  $\text{C}_3\text{H}_5^+$  ( $m/z=41$ ) atsiradimui reikia mažiau energijos ir ji sutampa su eksperimentiškai išmatuota  $E_{\text{ap}}$  verte –  $12.61\pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012). Todėl  $m/z=41$  piką atitinkantį fragmentą identifikavome kaip  $\text{C}_3\text{H}_5^+$ . Jis atsiranda, kai nutrūksta L-izoleucino C1-C2, C2-C5 ir C2-H12 ryšiai. Šio proceso metu taip pat susidaro komplementarus anijonas –  $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_2^-$ . Nustatyta cheminė minėtos masės fragmento sudėtis sutampa su pateikta literatūroje (Papp ir kiti, 2012).

Šio tyrimo, atlikto kvantinės chemijos metodais, metu apskaičiavome  $\text{C}_3\text{H}_6^+$  ( $m/z=42$ ),  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$  ( $m/z=42$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+$  ( $m/z=42$ ) fragmentų atsiradimui reikalingas energijas ir fragmentų ryšio energijas tenkančias atomui (Lentelė 29).

Pagal gautus rezultatus ( $E_{\text{ap}}$  ir ryšio energiją tenkančią atomui),  $\text{C}_3\text{H}_6^+$  ( $m/z=42$ ) jono atsiradimas yra tikėtiniausias – jo atsiradimui reikia mažiausiai energijos ir jis yra termiškai stabiliausias (Lentelė 29). Buvo palyginta mūsų apskaičiuota ir (Papp ir kiti, 2012) išmatuota  $E_{\text{ap}}$  ( $12.45\pm 0.05$  eV) – atsiradimo energijos sutampa. Nustatėme, jog  $m/z=42$  yra  $\text{C}_3\text{H}_6^+$ . Surasta cheminė sudėtis sutampa su minėtų autorių rezultatais.  $\text{C}_3\text{H}_6^+$  ( $m/z=42$ ) atsiranda nutrūkus C1-C2 ir C2-C5 ryšiams. Komplementarus fragmentas –  $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2^-$ .

**Lentelė 29.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $\text{C}_3\text{H}_6^+$  ( $m/z=42$ ),  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$  ( $m/z=42$ ) ir  $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+$  ( $m/z=42$ ) katijonams Ile IC fragmentacijos metu ir ryšio energijos tenkančios atomui vertės

| Fragmentas<br>$m/z=42$           | Energija, reikalinga<br>fragmentui atsirasti, eV | Ryšio energija tenkanti<br>atomui, eV |
|----------------------------------|--|---------------------------------------|
| $\text{C}_3\text{H}_6^+$         | 11.87  | 3.84                                  |
| $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ | 13.09  | 2.90                                  |
| $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+$ | 13.46  | 3.43                                  |

Šio molekulinio modeliavimo metu tyrėme  $m/z=43$  fragmentų –  $C_3H_7^+$  ir  $C_2H_5N^+$  atsiradimą. Nustatytos atsiradimui reikalingos  $E_{ap}$ , ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpai (Lentelė 30).

**Lentelė 30.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_3H_7^+$  ( $m/z=43$ ) ir  $C_2H_5N^+$  ( $m/z=43$ ) katijonams Iše IC fragmentacijos metu, katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=43$ | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|------------------------|--|---|--------------------------------|
| $C_3H_7^+$             | 12.29  | 3.47  | 7.24                           |
| $C_2H_5N^+$            | 11.56  | 3.57  | 6.37                           |

Apskaičiavome, jog  $C_2H_5N^+$  ( $m/z=43$ ) fragmento atsiradimui reikia mažiau energijos (Lentelė 30). Abiejų fragmentų ryšio energija tenkanti atomui sutampa. Taigi terminis šių fragmentų stabilumas vienodas. Tačiau eksperimentinei vertei ( $12.70 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012) artimesnė  $E_{ap} = 12.29$  eV – tiek energijos reikia  $C_3H_7^+$  ( $m/z=43$ ) atsirasti. Be to,  $C_3H_7^+$  ( $m/z=43$ ) yra stabilesnis chemiškai. Taigi mūsų teorinio modeliavimo rezultatai rodo, jog dominuojantis  $m/z=43$  yra  $C_3H_7^+$ . Jis atsiranda kai nutrūksta šie Iše ryšiai: C1-C2, C2-C5, C5-H11 ir įvyksta H11 migracija (minėtas vandenilio atomas prisijungia prie C2). To paties proceso metu atsiranda ir  $C_3H_6NO_2^-$  (komplementarus fragmentas). Tuo tarpu, (Papp ir kiti, 2012) teigia, jog  $m/z=43$  nėra  $C_3H_7^+$ , bet kitokių galimų variantų jie nenagrinėjo.

Kompiuterinio modeliavimo tyrimų rezultatai parodė, jog piką ties mase  $m/z=44$  NIST duomenų bazėje publikuotame Iše teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektre galime identifikuoti kaip  $C_2H_6N^+$  (komplementarus jonas –  $C_4H_7O_2^-$ ).  $C_2H_6N^+$  atsiradimui reikalinga energija (11.46 eV) yra artimesnė eksperimentiškai išmatuotai vertei ( $11.09 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012) nei  $C_3H_8^+$  (11.93 eV). Be to,  $C_2H_6N^+$  ( $m/z=44$ ) fragmentas yra termiškai stabilesnis už  $C_3H_8^+$  (Lentelė 31). Nustatytasis fragmentas ( $C_2H_6N^+$ ) atsiranda L-izoleucino fragmentacijos metu nutrūkus C1-C2, C1-H15, C2-C3, C5-C6 (disocijuoja karboksi grupė) ir O9-H22 ryšiams bei įvykus H15 ir H22 atomų migracijai – disocijavę šie atomai prisijungia prie C2 ir C5 atomų, atitinkamai. Minėti autoriai šios masės fragmentą taip pat identifikavo kaip  $C_2H_6N^+$ .

**Lentelė 31.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_2H_6N^+$  ( $m/z=44$ ) ir  $C_3H_8^+$  ( $m/z=44$ ) katijonams Iše IC fragmentacijos metu ir ryšio energijos tenkančios atomui vertės

| Fragmentas<br>$m/z=44$ | Energija, reikalinga<br>fragmentui atsirasti, eV | Ryšio energija tenkanti<br>atomui, eV |
|------------------------|--|---------------------------------------|
| $C_2H_6N^+$            | 11.46  | 4.63                                  |
| $C_3H_8^+$             | 11.93  | 3.23                                  |

NIST duomenų bazėje publikuotame L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų spektre yra pikas ties mase  $m/z=56$ , tačiau (Papp ir kiti, 2012) duomenų apie šios masės piko atsiradimą nepateikė. Todėl kyla klausimas, ar šios masės fragmentas galėtų atsirasti, ir jei galėtų, kokia yra jo cheminė sudėtis. Apskaičiavome energijas reikalingas atsirasti  $C_3H_6N^+$  ( $m/z=56$ ) ir  $C_2H_2NO^+$  ( $m/z=56$ ) fragmentams, jų ryšio energijas tenkančias atomui bei HOMO-LUMO tarpus (Lentelė 32).

**Lentelė 32.** Apskaičiuotos  $C_3H_6N^+$  ( $m/z=56$ ) ir  $C_2H_2NO^+$  ( $m/z=56$ ) katijonų energijos, energijos reikalingos jų atsiradimui, ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=56$                 | Frag-<br>mento<br>energija,<br>a.v. | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|--|-------------------------------------|--|---|--------------------------------|
| $C_3H_6N^+$<br>( $H_2N-CH-C-CH_3^+$ )  | -172.303                            | 13.14  | 3.84  | 3.15                           |
| $C_3H_6N^+$<br>( $H_2N-CH-CH-CH_2^+$ ) | -172.378                            | 13.24  | 4.05  | 5.22                           |
| $C_2H_2NO^+$                           | -207.047                            | 13.96  | 3.93  | 3.63                           |

Tam, kad atsirastų  $C_3H_6N^+$  fragmentas ( $H_2N-CH-C-CH_3^+$  arba  $H_2N-CH-CH-CH_2^+$ ) reikia mažiau energijos nei atsirasti  $C_2H_2NO^+$  (Lentelė 32).  $H_2N-CH-CH-CH_2^+$  katijonas yra ir termiškai, ir chemiškai stabilesnis.  $H_2N-CH-CH-CH_2^+$  atsiranda po karboksi ir dviejų metilo grupių disociacijos nuo Iše molekulės (atsiranda ir komplementarus fragmentas –  $C_3H_7O_2^-$ ).

Patikrinome, kurio iš šių –  $C_4H_9^+$  ( $m/z=57$ ),  $C_3H_7N^+$  ( $m/z=57$ ),  $C_2H_3NO^+$  ( $m/z=57$ ) bei  $C_2HO_2^+$  ( $m/z=57$ ) katijonų atsiradimas yra tikėtiniausias. Energijos reikalingos atsirasti minėtiems teigiamą krūvį turintiems fragmentams bei jų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpai pateikti Lentelėje 33.

**Lentelė 33.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_4H_9^+$  ( $m/z=57$ ),  $C_3H_7N^+$  ( $m/z=57$ ),  $C_2H_3NO^+$  ( $m/z=57$ ) ir  $C_2HO_2^+$  ( $m/z=57$ ) katijonams Iše IC fragmentacijos metu, katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=57$ | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti atomui,<br>eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|------------------------|--|---|--------------------------------|
| $C_4H_9^+$             | 10.16  | 3.73  | 5.68                           |
| $C_3H_7N^+$            | 10.40  | 3.68  | 5.17                           |
| $C_2H_3NO^+$           | 10.59  | 3.91  | 6.38                           |
| $C_2HO_2^+$            | 11.26  | 2.94  | 4.64                           |

Nustatėme, jog  $C_4H_9^+$  ( $m/z=57$ ),  $C_3H_7N^+$  ( $m/z=57$ ) ir  $C_2H_3NO^+$  ( $m/z=57$ ) fragmentų atsiradimui reikalinga energija (Lentelė 33) sutampa su eksperimentine  $E_{ap}$  ( $10.64 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012). Visų trijų minėtų katijonų terminis stabilumas yra panašus, o chemiškai stabiliausias –  $C_2H_3NO^+$  ( $m/z=57$ ) katijonas. Gauti rezultatai rodo, jog  $C_2H_3NO^+$  ( $m/z=57$ ) atsiradimas Iše fragmentacijos metu yra tikėtiniausias (kai komplementarus fragmentas –  $C_4H_6O_2^-$ ), tačiau galėtų atsirasti ir  $C_4H_9^+$  ( $m/z=57$ ) bei  $C_3H_7N^+$  ( $m/z=57$ ) katijonai. Tuo tarpu literatūroje pateikiamos cheminės šios masės fragmento sudėtys –  $C_4H_9^+$  ir  $C_3H_7N^+$  (Papp ir kiti, 2012).

Fragmentas, kurio masė  $m/z=69$  galėtų būti  $C_5H_9^+$ ,  $C_4H_5O^+$  arba  $C_4H_7N^+$ . Apskaičiavome šių fragmentų  $E_{ap}$ , ryšio energiją tenkančią atomui ir HOMO-LUMO tarpus (Lentelė 34). Nustatėme, jog su eksperimentine  $E_{ap}=11.41 \pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012) sutampa visų tirtų fragmentų –  $C_5H_9^+$  ( $m/z=69$ ),  $C_4H_5O^+$  ( $m/z=69$ ) ir  $C_4H_7N^+$  ( $m/z=69$ ) atsiradimui reikalinga energija (Lentelė 34). Pagal ryšio energiją tenkančią atomui stabiliausi yra  $C_4H_5O^+$  ( $m/z=69$ ) ir  $C_4H_7N^+$  ( $m/z=69$ ) fragmentai (jų ryšio energija tenkanti atomui sutampa). Tuo tarpu, palyginus  $C_4H_5O^+$  ( $m/z=69$ ) ir  $C_4H_7N^+$  ( $m/z=69$ ) HOMO-LUMO tarpus, matome, jog  $C_4H_5O^+$  ( $m/z=69$ ) yra stabilesnis chemiškai (Lentelė 34). Taigi remiantis mūsų tyrimo rezultatais galima teigti, jog  $m/z=69$  gali būti ir  $C_4H_5O^+$ , ir  $C_4H_7N^+$ , tačiau daugiau turėtų atsirasti  $C_4H_5O^+$  katijono (komplementarus fragmentas –  $C_2H_8NO^-$ ).  $C_4H_5O^+$  ( $m/z=69$ ) atsiranda kai nutrūksta Iše C2-C3 ryšys, ir taip pat disocijuoja  $NH_2$  ir OH grupės. Tuo tarpu, (Papp ir kiti, 2012) teigimu, minėtos masės fragmentas yra  $C_5H_9^+$ . Kita vertus, šie autoriai nagrinėjo tik  $C_5H_9^+$  ( $m/z=69$ ) katijono atsiradimą.

**Lentelė 34.** Apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti  $C_5H_9^+$  ( $m/z=69$ ),  $C_4H_5O^+$  ( $m/z=69$ ) ir  $C_4H_7N^+$  ( $m/z=69$ ) katijonams Iše IC fragmentacijos metu, katijonų ryšio energijos tenkančios atomui ir HOMO-LUMO tarpų vertės

| Fragmentas<br>$m/z=69$ | Energija,<br>reikalinga<br>fragmentui<br>atsirasti, eV | Ryšio<br>energija<br>tenkanti<br>atomui, eV | HOMO-<br>LUMO<br>tarpas,<br>eV |
|------------------------|--|---|--------------------------------|
| $C_5H_9^+$             | 11.21  | 3.94  | 2.59                           |
| $C_4H_5O^+$            | 11.72  | 4.30  | 5.78                           |
| $C_4H_7N^+$            | 11.59  | 4.16  | 4.54                           |

Norint nustatyti, kokia yra fragmento, kurio masė  $m/z=70$  cheminė sudėtis, tyrėme du galimus variantus ( $C_5H_{10}^+$  ir  $C_4H_8N^+$ ). Mažiausiai energijos reikia  $C_5H_{10}^+$  ( $m/z=70$ ) fragmento atsiradimui (9.49 eV), o eksperimentinei vertei ( $11.36 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012) artimiausia vertė yra 10.86 eV – tiek energijos reikia  $C_4H_8N^+$  ( $m/z=70$ ) katijonui (komplementarus fragmentas –  $C_2H_5O_2^0$ ) atsirasti. Ryšio energija tenkanti atomui yra 3.94 eV ( $C_5H_{10}^+$ ) ir 4.12 eV ( $C_4H_8N^+$ ) – šios vertės sutampa. Taigi tyrimo metu gauti rezultatai rodo, kad piką ties  $m/z=70$  atitinka ir  $C_4H_8N^+$ , ir  $C_5H_{10}^+$ , bet tikėtinesnis  $C_4H_8N^+$  ( $m/z=70$ ) atsiradimas. Tuo tarpu, minėti autoriai nagrinėjo tik  $C_5H_{10}^+$  atsiradimą ir teigia, jog jis atitinka piką ties  $m/z=70$ .

Išanalizavę Iše ryšių ilgių ir užpildų duomenis (Lentelė Prieduose P5) bei atlikę molekulinį modeliavimą, nustatėme, kad L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre esantį piką ties mase  $m/z=74$  NIST (žiūrėta 2017-12-30) atitinka fragmentas  $C_2H_4NO_2^+$ . Jo atsiradimui reikia 9.86 eV energijos. Mūsų gauta  $E_{ap}$  sutampa su (Papp ir kiti, 2012) išmatuota  $E_{ap}$  ( $10.29 \pm 0.05$  eV). Nustatyta cheminė sudėtis ( $C_2H_4NO_2^+$ ) taip pat sutampa su (Papp ir kiti, 2012) nustatytąja. Molekulinio modeliavimo rezultatai parodė, jog katijonas atsiranda disocijavus šoninei L-izoleucino grupei ( $C_4H_9^0$ ).

Nustatėme, jog fragmentas, kurio masė  $m/z=75$  yra  $C_2H_5NO_2^+$ . Tam, kad jis atsirastų turi ne tik nutrūkti C2-C5 ir C2-H12 ryšiai, bet ir įvykti disocijavusio H12 atomo migracija – vandenilio atomas prisijungia prie C5 ( $C_a$ ) atomo. Šio proceso metu atsiranda komplementarus  $C_4H_8^0$  fragmentas. Mūsų apskaičiuota energija reikalinga  $C_2H_5NO_2^+$  ( $m/z=75$ ) fragmento atsiradimui yra 9.48 eV, o literatūroje pateikta išmatuota eksperimentiškai yra artima –  $9.71 \pm 0.05$  eV (Papp ir kiti, 2012). Nustatėme tokią pačią  $m/z=75$  katijono formulę kaip ir minėti autoriai –  $C_2H_5NO_2^+$ .

Tyrėme, ar piką ( $m/z=86$ ) galime įvardinti kaip atitinkantį fragmentą, kurio cheminė sudėtis yra  $C_5H_{12}N^+$ , ar  $C_3H_4NO_2^+$ . Pagal tyrimo rezultatus,  $C_5H_{12}N^+$  ( $m/z=86$ ) atsiradimui reikia 8.74 eV, o  $C_3H_4NO_2^+$  ( $m/z=86$ ) – 9.58 eV. Apskaičiuota  $E_{ap}$  (8.74 eV) sutampa su išmatuota  $E_{ap}$  ( $9.11 \pm 0.05$  eV) (Papp ir kiti, 2012). Taip pat sutampa mūsų ir minėtų autorių surastos cheminės šios masės fragmento sudėtys.  $C_5H_{12}N^+$  ( $m/z=86$ ) atsiranda nutrūkus silpniausiajam C5-C6 ( $C_{\alpha}$ -C) ryšiui, t.y. disocijavus neutraliai karboksi grupei. Šios masės fragmento atsiradimas, remiantis mūsų tyrimų duomenimis, yra tikėtiniausias Ile fragmentacijos metu. NIST duomenų bazėje publikuotame L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektre intensyviausias pikas yra ties  $m/z=86$ .

### 3.5.2. L-izoleucino fragmentacijos tyrimas vandenyje

Toliau yra pateiktos energijos reikalingos atsirasti tikėtiniausiems teigiamą krūvį turintiems jonams Ile IZ fragmentacijos metu vandenyje (Lentelė 35) bei pagrindiniai skirtumai, kai Ile fragmentacija vyksta vakuume ir vandenyje.

Energija reikalinga atsirasti tokios pačios masės ir cheminės sudėties fragmentams Ile fragmentacijos metu, kaip ir kitų tirtų AR atvejais, vakuume yra mažesnė nei vykstant cviterjoninio konformero fragmentacijai vandenyje.

Taip pat pastebėta, jog keletos fragmentų –  $CH_4N^+$  ( $m/z=30$ ),  $C_2H_6N^+$  ( $m/z=44$ ),  $C_3H_6N^+$  ( $m/z=56$ ),  $C_4H_8N^+$  ( $m/z=70$ ),  $C_2H_4NO_2^+$  ( $m/z=74$ ),  $C_2H_5NO_2^+$  ( $m/z=75$ ) ir  $C_5H_{12}N^+$  ( $m/z=86$ ) struktūros yra skirtingos, kai jie susidaro vykstant IC ir IZ fragmentacijai, atitinkamai, vakuume ir vandenyje (Pav. 11).

**Lentelė 35.** Apskaičiuotos energijos, reikalingos atsirasti fragmentams L-izoleucino IZ fragmentacijos metu vandenyje

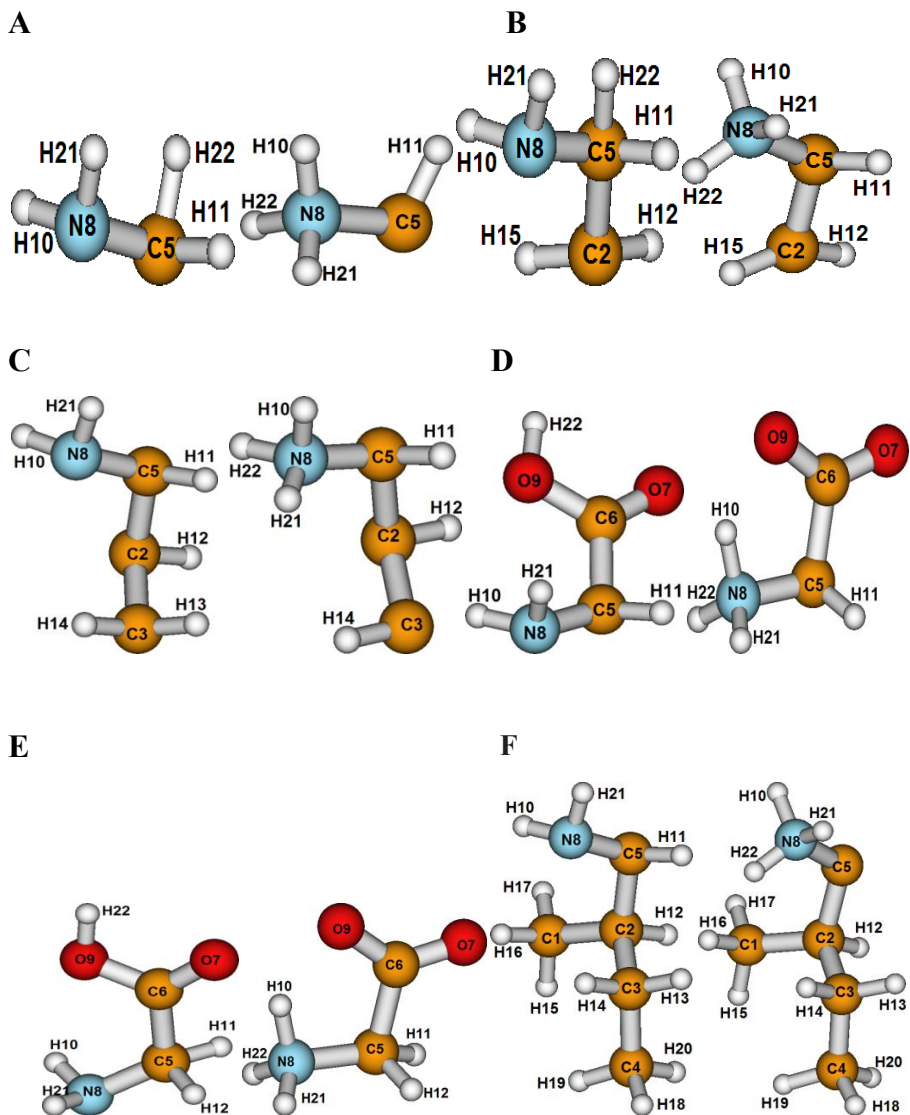
| Fragmentas                 | Komplementarus fragmentas          | Energija, reikalinga atsirasti fragmentui, kai fragmentacija vyksta vandenyje, eV |
|----------------------------|------------------------------------|---|
| $C_2H_3^+$<br>( $m/z=27$ ) | $C_4H_{10}NO_2^-$<br>( $m/z=104$ ) | 14.05   |
| $C_2H_4^+$<br>( $m/z=28$ ) | $C_4H_9NO_2^-$<br>( $m/z=103$ )    | 13.53   |

Lentelės 35 tęsinys sekančiame puslapyje



Lentelės 35 pradžia ankstesniame puslapyje

| <b>Fragmentas</b>          | <b>Komplementarus fragmentas</b> | <b>Energija, reikalinga atsirasti fragmentui, kai fragmentacija vyksta vandenyje, eV</b> |
|----------------------------|----------------------------------|--|
| $C_2H_5^+$<br>(m/z=29)     | $C_4H_8NO_2^-$<br>(m/z=102)      | 13.12  |
| $CH_4N^+$<br>(m/z=30)      | $C_5H_9O_2^0$<br>(m/z=101)       | 11.29  |
| $C_3H_5^+$<br>(m/z=41)     | $C_3H_8NO_2^-$<br>(m/z=90)       | 13.34  |
| $C_3H_6^+$<br>(m/z=42)     | $C_3H_6^+$<br>(m/z=42)           | 12.48  |
| $C_3H_7^+$<br>(m/z=43)     | $C_3H_6NO_2^-$<br>(m/z=88)       | 13.05  |
| $C_2H_6N^+$<br>(m/z=44)    | $C_4H_7O_2^-$<br>(m/z=87)        | 12.24  |
| $C_3H_6N^+$<br>(m/z=56)    | $C_3H_7O_2^-$<br>(m/z=75)        | 13.99  |
| $C_2H_3NO^+$<br>(m/z=57)   | $C_4H_6O_2^-$<br>(m/z=74)        | 11.47  |
| $C_4H_5O^+$<br>(m/z=69)    | $C_2H_8NO^-$<br>(m/z=62)         | 12.37  |
| $C_4H_8N^+$<br>(m/z=70)    | $C_2H_5O_2^0$<br>(m/z=61)        | 11.47  |
| $C_2H_4NO_2^+$<br>(m/z=74) | $C_4H_9^0$<br>(m/z=57)           | 11.15  |
| $C_2H_5NO_2^+$<br>(m/z=75) | $C_4H_8^0$<br>(m/z=56)           | 10.08  |
| $C_5H_{12}N^+$<br>(m/z=86) | $CHO_2^0$<br>(m/z=45)            | 9.58   |



**Paveikslas 11.** L-izoleucino fragmentų, kurių masės ir cheminės sudėtys yra tokios pačios, struktūros vakuume ir vandenyje: A –  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ), B –  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=44$ ), C –  $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=56$ ), D –  $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^+$  ( $m/z=74$ ), E –  $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$  ( $m/z=75$ ) ir F –  $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}^+$  ( $m/z=86$ ).

Nustatyta (Lentelė 36), kad  $\text{CH}_4\text{N}^+$  ( $m/z=30$ ),  $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=44$ ),  $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$  ( $m/z=56$ ),  $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^+$  ( $m/z=74$ ),  $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$  ( $m/z=75$ ) ir  $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}^+$  ( $m/z=86$ ) fragmentai, turintys  $\text{NH}_2$  ir  $\text{COOH}$  grupes vyrauja vakuume, o turintys  $\text{NH}_3^+$  ir  $\text{COO}^-$  grupes – labiau tikėtini vandenyje.

**Lentelė 36.** Fragmentų energijos vakuume ir vandenyje

| Fragmentas  | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_2$ ir $\text{COOH}$ grupes, energijos, a.v. (vakuume) | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_3^+$ ir $\text{COO}^-$ grupes, energijos, a.v. (vakuume) | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_2$ ir $\text{COOH}$ grupes, energijos, a.v. (vandenyje) | Fragmentų, turinčių $\text{NH}_3^+$ ir $\text{COO}^-$ grupes, energijos, a.v. (vandenyje) |
|---|--|---|--|---|
| $\text{CH}_4\text{N}^+$<br>( $m/z=30$ )             | -94.958  | -94.753   | -94.993  | -95.045   |
| $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}^+$<br>( $m/z=44$ )    | -134.453   | -134.362  | -134.636   | -134.773  |
| $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}^+$<br>( $m/z=56$ )    | -172.554   | -172.397  | -172.946   | -173.030  |
| $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}_2^+$<br>( $m/z=74$ ) | -283.723   | -283.669  | -283.919   | -284.050  |
| $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2^+$<br>( $m/z=75$ ) | -284.300   | -284.206  | -284.403   | -284.467  |
| $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}^+$<br>( $m/z=86$ ) | -252.530   | -252.397  | -252.607   | -252.773  |

### 3.6. L-glutamato rūgšties ir L-glutamino fragmentacijos vakuume palyginimas

L-glutamato rūgšties ir L-glutamino fragmentacijos vakuume rezultatų palyginimas pateiktas žemiau (Lentelė 37).

Viena vertus, L-glutamato rūgšties ir L-glutamino masės yra labai panašios ir jų fragmentacijos metu atsiranda tokios pačios masės fragmentai. Kita vertus, dėl skirtingų šoninių grupių ir skirtingose molekulių dalyse esančių silpniausių ryšių, trijų iš keturių vienodos masės fragmentų cheminės sudėtys yra skirtingos, kai šie fragmentai atsiranda Glu ir Gln fragmentacijos metu.

**Lentelė 37.** L-glutamato rūgštis ir L-glutamino fragmentacijos vakuume palyginimas

|   | L-glutamato rūgštis                        | L-glutaminas   |   |
|---|--|--|---|
| <b>Panašumai</b>  |  |  |   |
| Molekulinė masė   | 147  | 146  |   |
| <b>Skirtumai</b>  |  |  |   |
| Šoninė grupė  | R=-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -(COOH) | R=-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -CO(NH <sub>2</sub> ) |   |
| Silpniausias ryšys  | C <sub>α</sub> -C (C5-C6) (Pav. 4)         | C <sub>α</sub> -N (C3-N4) (Pav. 5)                       |   |
| Aminorūgštis krūvis vandenyje   | neigiamas                                  | neutralus  |   |
| Fragmentacija vandenyje   | negali vykti                               | vyksta   |   |
| Fragmentai, kurių masės yra vienodos, bet cheminės sudėtys skirtingos | m/z=41                                     | C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N <sup>+</sup>             | C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>                |
|   | m/z=56                                     | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup>             | C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> NO <sup>+</sup>             |
|   | m/z=84                                     | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> NO <sup>+</sup>            | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> |

### 3.7. L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos palyginimas

Toliau yra pateikti L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos vakuume ir vandenyje sutapimai ir skirtumai (Lentelė 38).

Tai, kad Leu ir Ile masės ir cheminės sudėtys yra vienodos, o silpniausias ryšys yra toje pačioje Leu ir Ile molekulių dalyje (C<sub>α</sub>-C) galėtų paaiškinti, kodėl dauguma Leu ir Ile fragmentacijos metu atsirandančių fragmentų yra vienodi. Taip pat pastebėjome, jog daugumos vienodos masės ir vienodos cheminės sudėties fragmentų atsiradimui reikalingos energijos sutampa. Kita vertus, skirtinga vienos metilo grupės padėtis lemia, jog keletos vienodos masės fragmentų atsirandančių Leu ir Ile fragmentacijos metu cheminės sudėtys yra skirtingos, o energijos reikalingos atsirasti vienodiems fragmentams skiriasi. Be to, buvo nustatyta, jog C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>/C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>N<sup>+</sup> (m/z=69) atsiranda tik Ile fragmentacijos metu. Taigi m/z=69 fragmentą galima laikyti diagnostiniu, norint masės spektrometrijos metodais atskirti Leu ir Ile aminorūgštis. Diagnostinis pikas ties šia mase yra ir Ile katijonų masės spektre publikuotame NIST duomenų bazėje (žiūrėta 2017-12-30).

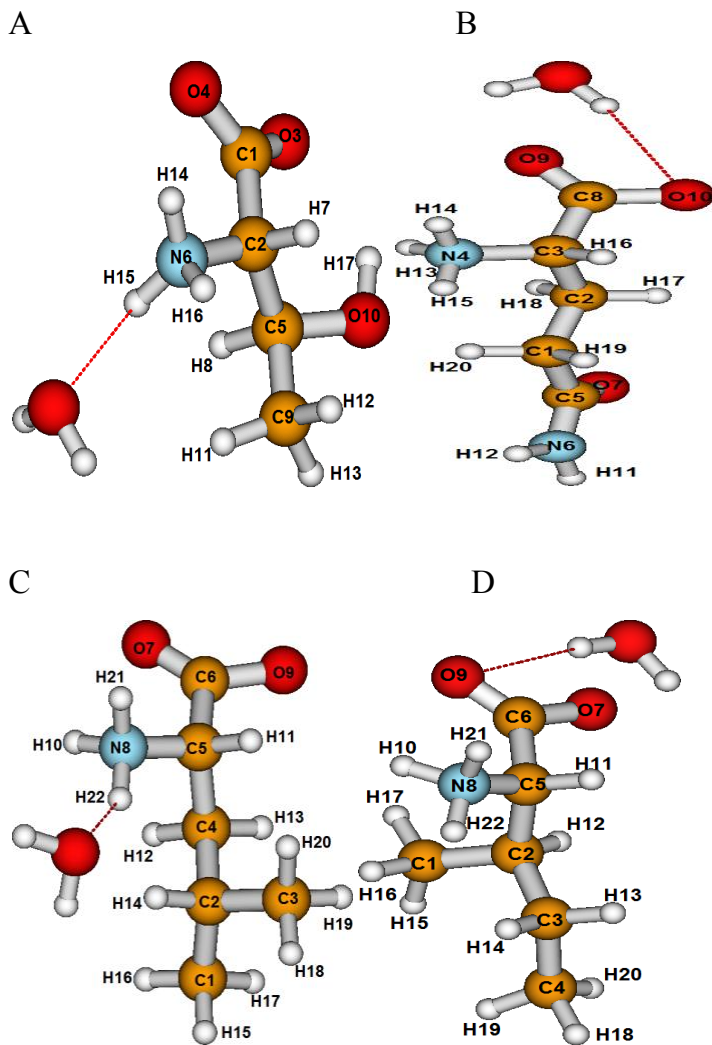
**Lentelė 38.** L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos vakuume ir vandenyje sutapimai ir skirtumai

|   |  | L-leucinas                                    | L-izoleucinas  |
|---|--|---|--|
| <b>Sutapimai</b>  |  |   |  |
| Molekulinė masė   |  | 131 Da  |  |
| Silniausias ryšys   |  | C <sub>α</sub> -C (C5-C6)<br>(Pav. 8)         | C <sub>α</sub> -C (C5-C6)<br>(Pav. 10)   |
| Vienodos cheminės sudėtys (ir vakuume, ir vandenyje)  | m/z=28   |   | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> <sup>+</sup>   |
|   | m/z=29   |   | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>   |
|   | m/z=30   |   | CH <sub>4</sub> N <sup>+</sup>   |
|   | m/z=41   |   | C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>   |
|   | m/z=42   |   | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> <sup>+</sup>   |
|   | m/z=44   |   | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup>   |
|   | m/z=74   |   | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>   |
|   | m/z=75   |   | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>   |
| m/z=86  |  | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sup>+</sup> |  |
| <b>Skirtumai</b>  |  |   |  |
| Metilo (-CH <sub>3</sub> ) grupės padėtis   |  | sujungta su C <sub>γ</sub> atomu (Pav. 8)     | sujungta su C <sub>β</sub> atomu (Pav. 10)   |
| Diagnostinis fragmentas   |  | -   | C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> O <sup>+</sup> /C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=69) |
| Fragmentai, kurių masės yra vienodos, bet cheminės sudėtys skirtingos   | m/z=43   | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N <sup>+</sup>  | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>   |
|   | m/z=57   | C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> <sup>+</sup>    | C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO <sup>+</sup>  |
|   | m/z=70   | C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> <sup>+</sup>   | C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sup>+</sup>   |
| Fragmentai, kurių masės ir cheminės sudėtys vienodos, bet atsiradimui reikalinga energija skirtinga (vakuume)   | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup><br>(m/z=29)                 | E <sub>ap</sub> =13.24 eV                     | E <sub>ap</sub> =12.45 eV  |
|   | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=44)               | E <sub>ap</sub> =10.16 eV                     | E <sub>ap</sub> =11.46 eV  |
|   | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> <sup>+</sup><br>(m/z=74) | E <sub>ap</sub> =10.03 eV                     | E <sub>ap</sub> =10.56 eV  |
| Fragmentai, kurių masės ir cheminės sudėtys vienodos, bet atsiradimui reikalinga energija skirtinga (vandenyje) | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup><br>(m/z=29)                 | E <sub>ap</sub> =13.98 eV                     | E <sub>ap</sub> =13.12 eV  |
|   | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> <sup>+</sup><br>(m/z=42)                 | E <sub>ap</sub> =13.15 eV                     | E <sub>ap</sub> =12.47 eV  |
|   | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sup>+</sup><br>(m/z=44)               | E <sub>ap</sub> =10.74 eV                     | E <sub>ap</sub> =12.24 eV  |

### 3.8. L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijos tyrimas vandenyje

Kaip jau minėta, nustatėme, jog vienodiems fragmentams (vienodos masės ir cheminės sudėties) atsirasti vykstant L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijai vandenyje reikia daugiau energijos nei vakuume. Buvo iškelta prielaida, kad vandenyje susidarantys vandeniliniai ryšiai tarp Thr ir vandens, Gln ir vandens, Leu ir vandens bei Ile ir vandens molekulių apsunkina AR fragmentaciją, nes tarpmolekuliniams ryšiams nutraukti reikia papildomos energijos. Kaip jau buvo minėta, PCM metodas ne visada pakankamai tiksliai aprašo vandenilinių ryšių susidarymą tarp molekulės ir tirpiklio molekulių. Tam, kad patikrinti aukščiau minimą prielaidą, atlikome papildomus tyrimus. Pirma, buvo nustatyti mažiausios energijos Thr-H<sub>2</sub>O, Gln-H<sub>2</sub>O, Leu-H<sub>2</sub>O, Ile-H<sub>2</sub>O kompleksai (Pav. 12). Antra, atrinkome, tikėtiniausias kiekvienos AR fragmentacijos metu atsirandančius fragmentus – C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub><sup>+</sup> (m/z=84) ir C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>N<sup>+</sup> (m/z=86) vandenyje ir apskaičiavome jų atsiradimui reikalingą energiją Gln-H<sub>2</sub>O, Leu-H<sub>2</sub>O, Ile-H<sub>2</sub>O kompleksų (Pav. 12) fragmentacijos metu (Lentelė 39). Tuo tarpu, Thr IZAllo atveju keletos katijonų (CH<sub>4</sub>N<sup>+</sup> (m/z=30), CH<sub>6</sub>N<sup>+</sup> (m/z=32), C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N<sup>+</sup> (m/z=44), C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sup>+</sup> (m/z=58), C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>NO<sup>+</sup> (m/z=75)) atsiradimui reikalingos energijos yra apytiksliai lygios. Todėl buvo pasirinkta tirti fragmento, kurio E<sub>ap</sub> mažiausia (C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>NO<sup>+</sup> (m/z=75)) atsiradimą Thr-H<sub>2</sub>O komplekso fragmentacijos metu. Apskaičiuotos E<sub>ap</sub> buvo palygintos su vienodų atitinkamų fragmentų atsiradimui reikalingomis energijomis, kai AR fragmentacija vyksta vandenyje, bet Thr (Pav. 1), Gln (Pav. 5), Leu (Pav. 8) ir Ile (Pav. 10) vandeniliniiais ryšiais nesujungtos su vandens molekulėmis.

Palyginus gautus rezultatus (Lentelės 6, 16, 23, 35 ir 39) pastebima, jog padidėja energija reikalinga atsirasti C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>NO<sup>+</sup> (m/z=75), C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub><sup>+</sup> (m/z=84), C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>N<sup>+</sup> (m/z=86) katijonams, kai prie L-treonino IZAllo, L-glutamino IZ, L-leucino IZ ir L-izoleucino IZ, atitinkamai, prijungiama po vieną vandens molekulę. Taigi gauti rezultatai parodo, jog vienodiems fragmentams atsirasti vandenyje reikia daugiau energijos nei vakuume, dėl susidarantių vandenilinių ryšių tarp AR ir vandens molekulių.



**Paveikslas 12.** Stabiliausi aminorūgščių kompleksai vandenyje: A – L-treonino IZAllo-H<sub>2</sub>O, B – L-glutamino IZ-H<sub>2</sub>O, C – L-leucino IZ-H<sub>2</sub>O ir D – L-izoleucino IZ-H<sub>2</sub>O.

**Lentelė 39.** Apskaičiuotos energijos reikalingos  $C_3H_9NO^+$  ( $m/z=75$ ),  $C_4H_8N_2^+$  ( $m/z=84$ ) ir  $C_5H_{12}N^+$  ( $m/z=86$ ) atsiradimui vykstant L-treonino IZAllo- $H_2O$ , L-glutamino, L-leucino IZ- $H_2O$  ir L-izoleucino IZ- $H_2O$ , atitinkamai, fragmentacijai vandenyje

| Kompleksas    | L-treoninas<br>IZAllo- $H_2O$ | L-glutaminas<br>IZ- $H_2O$    | L-leucinas<br>IZ- $H_2O$       | L-izoleucinas<br>IZ- $H_2O$    |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Fragmentas    | $C_3H_9NO^+$<br>( $m/z=75$ )  | $C_4H_8N_2^+$<br>( $m/z=84$ ) | $C_5H_{12}N^+$<br>( $m/z=86$ ) | $C_5H_{12}N^+$<br>( $m/z=86$ ) |
| $E_{ap}$ , eV | 9.73                          | 9.88                          | 10.01                          | 10.06                          |



## REZULTATŲ APIBENDRINIMAS

Naudojant DFT B3LYP metodą cc-pVTZ bazės artinyje buvo teoriškai ištirta L-treonino, L-glutamino rūgšties, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino aminorūgščių fragmentacija dėl lėtų elektronų poveikio vakuume.

Nustatyti du stabiliausi L-treonino ir po vieną stabiliausią L-glutamino rūgšties, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino konformerus vakuume, po vieną Thr, Gln, Leu ir Ile – vandenyje, bei po vieną Thr-H<sub>2</sub>O, Gln-H<sub>2</sub>O, Leu-H<sub>2</sub>O ir Ile-H<sub>2</sub>O kompleksą vandenyje. Teigiamą krūvį turinčių fragmentų atrinkimui buvo naudoti eksperimentiškai išmatuoti tyrimų partnerių dr. Liudmilos Romanovos, dr. Vasyly Vukstich, dr. Alexander Papp ir Dr. Sci. Alexander Snegursky (Ukrainos nacionalinė mokslų akademija, Elektronų fizikos institutas, Užhorodas, Ukraina) L-treonino ir L-glutamino katijonų masės spektrai. Taip pat naudoti L-glutamino rūgšties, L-leucino ir L-izoleucino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektrai publikuoti NIST duomenų bazėje (žiūrėta 2016-06-30, 2017-03-30 ir 2017-12-30, atitinkamai) bei (Papp ir kiti, 2012) išmatuotos energijos reikalingos atsirasti katijonams leucino ir izoleucino fragmentacijos metu. Identifikuotos intensyviausius pikus atitinkančių fragmentų cheminės sudėtys, apskaičiuotos energijos reikalingos atsirasti katijonams ir nustatyti komplementarūs fragmentai.

Naudojant PCM metodą buvo įvertinta vandens įtaka L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijai (atsiradimo energijoms ir fragmentų struktūroms) dėl lėtų elektronų poveikio.

Teorinio tyrimo metu gauti rezultatai parodė, jog L-glutamino fragmentacijos metu C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup> (m/z=41) fragmentas galėtų atsirasti ne tiesiogiai iš L-glutamino, o vykstant pakopiniam procesui: pirmiausiai susidaro neigiamą krūvį turintis C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>NO<sup>-</sup> (m/z=84) jonas, tada iš jo atsiranda C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup> (m/z=41).

Nustatėme, jog aplinka (vakuumas/vanduo) turi įtaką L-treonino, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino fragmentacijai dėl lėtų elektronų poveikio. Vienodiems fragmentams (vienodos masės ir cheminės sudėties) atsirasti vandenyje reikia daugiau energijos nei vakuume. Taigi mūsų teoriniai rezultatai sutampa su (Ren ir kiti, 2007; Denifl ir kiti, 2009) eksperimentiškai gautais duomenimis parodančiais, jog vanduo slopina AR fragmentaciją. Kaip jau minėta, Thr, Gln, Leu ir Ile konformerai vakuume yra ne cviterjoniniai, o vandenyje – cviterjoniniai. Dėl šios priežasties, tam tikrų vienodų (vienodos masės ir cheminės sudėties) fragmentų struktūros vakuume ir vandenyje yra skirtingos.

Buvo nustatyta, jog vienodiems fragmentams atsirasti vandenyje reikia daugiau energijos nei vakuume, dėl susidarančių vandenilinių ryšių tarp AR ir vandens molekulių.

## IŠVADOS

Suradus stabiliausius L-treonino, L-glutamato rūgštis, L-glutamino, L-leucino ir L-izoleucino molekulių konformerus vakuume ir vandenyje buvo nustatyta, kad

1. Vienodų katjonų atsiradimui vandenyje reikia daugiau energijos nei vakuume.
2. Vienodų (vienodos masės ir cheminės sudėties) fragmentų struktūra priklauso nuo aplinkos (vakuumas, vanduo);
3. L-glutamato rūgštis ir L-glutamino, kurių masės skiriasi 1 Da, o cheminės sudėtys yra labai skirtingos, fragmentacija vyksta panašiai.
4. L-leucino ir L-izoleucino, kurių ir masės, ir cheminės sudėtys yra vienodos, bet geometrinės struktūros – skirtingos, fragmentacija vyksta panašiai.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

- [1] UNSCEAR. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. Sources and effects of ionizing radiation. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. United Nations, New York. 2000.
- [2] Brenner DJ & Hall EJ (2007). Computed tomography—an increasing source of radiation exposure. *N Engl J Med* **357**(22), 2277-2284.
- [3] de Hoffmann E & Stroobant V (2007). *Mass Spectrometry Principles and Applications*. 3th edition. England. John Wiley & Sons, Ltd.
- [4] Boudaïffa B, Cloutier P, Hunting D, Huels MA & Sanche L (2000). Resonant formation of DNA strand breaks by low-energy (3 to 20 eV) electrons. *Science* **5458**(287), 1658-1660.
- [5] Barrios R, Skurski P, and Simons J, (2002). Mechanism for damage to DNA by low-energy electrons. *J Phys Chem B* **106**(33), 7991–7994.
- [6] Huels MA, Boudaïffa B, Cloutier P, Hunting D, & Sanche L (2003). Single, Double, and Multiple Double Strand Breaks Induced in DNA by 3–100 eV Electrons. *J Am Chem Soc* **125**(15), 4467-4477.
- [7] Tonzani S & Greene CH (2006). Low-energy electron scattering from DNA and RNA bases: Shape resonances and radiation damage. *J Chem Phys* **124**(5), 1–43.
- [8] Abdoul-Carime H, Langer J, Huels MA & Illenberger E (1955). Decomposition of purine nucleobases by very low energy electrons. *Eur Phys J D* **23**(10), 1833–1840.
- [9] Chernyshova IV, Kontros JE, Shpenik OB, Tamuliene J & Balevicius ML (2011). Low-energy Electron Collisions with Gas-phase Thymine Molecule. *Medziagotyra* **17**(3), 322–325.
- [10] Ren Y & Kresin VV (2008). Suppressing the fragmentation of fragile molecules in helium nanodroplets by coembedding with water: Possible role of the electric dipole moment. *J Chem Phys* **128**(7), 1–9.
- [11] Ipolyi I, Cicman P, Denifl S, Matejčík V, Mach P, Urban J, Scheier P., Märk TD & Matejčík Š (2006). Electron impact ionization of alanine: Appearance energies of the ions. *Int J Mass Spectrom* **252**(3), 228-233.
- [12] Tamuliene J, Romanova L, Vukstich V, Papp A, Shkurin S, Baliulyte L & Snegursky A (2016). On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: proline. *Eur Phys J D* **70**(6), 143.

- [13] Farajmand B and Bahrami H (2016). Electron ionization of serine and threonine: A Discussion about Peak Intensities. *Phys Chem Res* **4**(4),539- 551.
- [14] Walsh NP, Blannin AK, Robson PJ & Gleeson M (1999). Glutamine, exercise and immune function: Links and possible mechanisms. *Sport Med* **26**(3),177–191.
- [15] Li P, Yin YL, Li D, Kim SW & Wu G (2007). Amino acids and immune function. *Br J Nutr* **98**(2), 237.
- [16] Wu G (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition, *Amino Acids* **37**(1), 1—17.
- [17] Wu G (2013). Functional amino acids in nutrition and health, *Amino Acids* **45**(3), 407–411.
- [18] Le Floc’h N, Otten W & Merlot E (2011). Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. *Amino Acids* **41**(5), 1195–1205.
- [19] Ogawa H, Fujii S, Koga N, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Noda T, Higuchi T, Motohashi N & Kunugi H (2014). Plasma L-tryptophan concentration in major depressive disorder: new data and meta-analysis. *J Clin Psychiatry* **75**(9), 906-915.
- [20] Gordon M (2013). *Pigment Cell Growth: Proceedings of the Third Conference on the Biology of Normal and Atypical Pigment Cell Growth*. New York. Academic Press.
- [21] Meyers S (2000). Use of neurotransmitter precursors for treatment of depression. *Altern Med Rev* **5**(1), 64-71.
- [22] Ramdani C, Carbonnell L, Vidal F, Béranger C, Dagher A & Hasbroucq T (2015). Dopamine precursors depletion impairs impulse control in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* **232**(2), 477–487.
- [23] Petroff OA (2002). Book review: GABA and glutamate in the human brain. *The Neuroscientist* **8**(6), 562-573.
- [24] Forshier S (2009). *Essentials of radiation biology and protection*, 2nd edition. New York, NY: Delmar, Cengage Learning.
- [25] Palsson BØ (2011). *Systems Biology: Simulation of Dynamic Network States*. 1st edition. United Kingdom, Cambridge University Press.
- [26] Tamminen S, Webster A, Vermeulen N (2013). *Bio-objects– Life in the 21st Century*. United Kingdom, Ashgate Publishing.

- [27] Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson AD, Lewis J, Raff M, Roberts K & Walter P (2014). *Essential Cell Biology*. 4th edition. United States of America, Garland Science.
- [28] Frederick AB, William HB, Mary KC, Shawn OF (2009). *Introduction to General, Organic and Biochemistry*. 9th edition. United States of America, Cengage Learning.
- [29] Roddick-Lanzilotta AD and McQuillan AJ (2000). An in situ infrared spectroscopic study of glutamic acid and of aspartic acid adsorbed on TiO<sub>2</sub>: Implications for the biocompatibility of titanium *J Colloid Interface Sci* **227**(1), 48–54.
- [30] Latha MP, Rao VM, Rao TS & Rao GN (2007). Determination of protonation constants of L- glutamic acid and L-methionine in 1,2-propanediol-water mixtures. *Acta Chim Slov* **54**(1), 160–165.
- [31] Leela AC, Rani RS, and Rao GN (2012). Solvent effect on protonation equilibria of L-aspartic acid and ethylenediamine in dioxan-water mixtures. *Proc Natl Acad Sci India Sect A - Phys Sci* **82**(3), 197–204.
- [32] Roddick-Lanzilotta AD, Connor PA, & McQuillan AJ (1998). An in situ infrared spectroscopic study of the adsorption of lysine to TiO<sub>2</sub> from an aqueous solution. *Langmuir* **14**(22), 6479–6484.
- [33] Kuvaeva ZI, Koval'Chuk IV, Vodop'Yanova LA & Soldatov VS (2013). Phase equilibria in a system of aqueous arginine with an octane solution of sulfonic acid. *Russ J Phys Chem A* **87**(5), 772–776.
- [34] Raju S, Naik KBK, Kumar BA & Rao GN (2016). Protonation Equilibria Of L-Glutamic Acid And L-Histidine In Low Dielectric Media. *Glob res dev j eng* **2**(1), 11–17.
- [35] Ren Y, Moro R & Kresin VV (2007). Changing the fragmentation pattern of molecules in helium nanodroplets by co-embedding with water. *Eur Phys J D* **43**(1–3), 109–112.
- [36] Denifl S, Mähr I, da Silva FF, Zappa F, Märk TD & Scheier P (2009). Electron impact ionization studies with the amino acid valine in the gas phase and (hydrated) in helium droplets. *Eur Phys J D* **51**(1), 73–79.
- [37] Armirotti A, Millo E & Damonte G (2007). How to Discriminate Between Leucine and Isoleucine by Low Energy ESI-TRAP MSn. *J Am Soc Mass Spectrom* **18**(1), 57–63.
- [38] Bagal D, Kast E & Cao P (2017). Rapid Distinction of Leucine and Isoleucine in Monoclonal Antibodies Using Nanoflow LCMSn. *Anal Chem* **89**(1), 720–727.

- [39] Nalivaeva NN & Turner AJ (2001). Post-translational modifications of proteins: Acetylcholinesterase as a model system. *Proteomics* **1**(6), 735–747.
- [40] Ouellette RJ & Rawn JD (2014). *Organic Chemistry– Structure, Mechanism, Synthesis*. 1st edition. United States of America, Elsevier.
- [41] Radkov AD & Moe LA (2014). Bacterial synthesis of D-amino acids. *Appl Microbiol Biotechnol* **98**(12) 5363–5374.
- [42] Lam H, Oh D, Cava F, Takacs C, Clardy J, De Pedro M & Waldor M (2009). D-Amino Acids Govern Stationary Phase. *Science* **5947**(325) 1552–1555.
- [43] Cava F, Lam H, De Pedro MA & Waldor MK (2011). Emerging knowledge of regulatory roles of d-amino acids in bacteria. *Cell Mol Life Sci* **68**(5) 817–831.
- [44] Garrett RH & Grisham CM (2008). *Biochemistry*. 4th edition. Canada. Cengage Learning.
- [45] Wang W, Wu Z, Dai Z, Yang Y, Wang J & Wu G (2013). Glycine metabolism in animals and humans: Implications for nutrition and health. *Amino Acids* **45**(3), 463–477.
- [46] Mao X, Zeng X, Qiao S, Wu G & Li D (2011), Specific roles of threonine in intestinal mucosal integrity and barrier function. *Front Biosci (Elite Ed)* **3**, 1298–1307.
- [47] Newsholme P, Procopio J, Maria M, Lima R & Pithon-curi TC (2002a). Glutamine and glutamate – their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct* **21**(1), 1–9.
- [48] Ligthart-Melis GC, van de Poll MC, Boelens PG, Dejong CH, Deutz NE & van Leeuwen PA (2008). Glutamine is an important precursor for de novo synthesis of arginine in humans. *Am J Clin Nutr* **87**(5) 1282–1289.
- [49] Lindemann B, Ogiwara Y & Ninomiya Y (2002). The discovery of umami. *Chem senses* **27**(9), 843–844.
- [50] Brosnan JT & Brosnan ME (2013). Glutamate: A truly functional amino acid. *Amino Acids* **45**(3), 413–418.
- [51] Kurihara K (2015). Umami the fifth basic taste: history of studies on receptor mechanisms and role as a food flavor. *Biomed Res Int*.
- [52] Heaton AL, Moision RM, and Armentrout PB (2008). Experimental and theoretical studies of sodium cation interactions with the acidic amino acids and their amide derivatives. *J Phys Chem A* **112**(15) 3319–3327.

- [53] Danbolt NC (2001). Glutamate uptake. *Prog Neurobiol* **65**(1), 1–105.
- [54] Tapiero H, Mathe G, Couvreur P & Tew KD (2002). II. Glutamine and glutamate. *Biomed Pharmacother* **56**(9),446-457.
- [55] Zhou Y & Danbolt NC (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J Neural Transm* **121**(8), 799–817.
- [56] Hawkins RA (2009). The blood-brain barrier and glutamate. *AM J CLIN NUTR* **90**(3), 867-874.
- [57] Riedel G, Platt B & Micheau J (2003). Glutamate receptor function in learning and memory. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res* **140**(1-2), 1-47.
- [58] Labow BI, Souba WW (2000). Glutamine. *World J Surg* **24**(12), 1503-1513.
- [59] Karinch AM, Pan M, Lin CM, Strange R, Souba WW (2001). Glutamine Metabolism in Sepsis and Infection. *J Nutr* **131**(9), 2535–2538.
- [60] Andrews FJ & Griffiths RD (2002). Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. *Br J Nutr* **87**(1).
- [61] Kao C, Hsu J, Bandi V & Jahoor F (2013). Alterations in glutamine metabolism and its conversion to citrulline in sepsis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **304**(12), 1359-1364.
- [62] Boelens PG, Houdijk AP, de Thouars HN, Teerlink T, van Engeland MI, Haarman HJ & Van Leeuwen PA (2003). Plasma taurine concentrations increase after enteral glutamine supplementation in trauma patients and stressed rats, *Am J Clin Nutr* **77**(1), 250–256.
- [63] Blomqvist BI, Hammarqvist F, von der Decken A & Wernerman J (1995). Glutamine and  $\alpha$ -ketoglutarate prevent the decrease in muscle free glutamine concentration and influence protein synthesis after total hip replacement. *Metabolism* **44**(9), 1215-1222.
- [64] Wilmore DW (2001). The Effect of Glutamine Supplementation in Patients Following Elective Surgery and Accidental Injury. *J Nutr* **131**(9), 2543–2549.
- [65] Ziegler TR (2001). Glutamine Supplementation in Cancer Patients Receiving Bone Marrow Transplantation and High Dose Chemotherapy. *J Nutr* **131**(9), 2578–2584.
- [66] Muscaritoli M, Grieco G, Capria S, Paola Iori A & Rossi Fanelli F (2002). Nutritional and metabolic support in patients undergoing bone marrow transplantation. *Am J Clin Nutr* **75**(2), 183-190.

- [67] Ziegler TR (2002). Glutamine supplementation in bone marrow transplantation (BMT). *Top Clin Nutr* **87**(1), 9-15.
- [68] Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, Sellitti DF, Procopio J, Pithon-Curi TC, Corless M, Newsholme P (2005), Molecular Mechanisms of Glutamine Action. *J Cell Physiol* **204**(2), 392-401.
- [69] McCauley R, Kong SE & Hall J (1998). Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. *JPEN* **22**(2), 105-111.
- [70] Amores-Sánchez MI & Medina MÁ (1999). Glutamine, as a precursor of glutathione, and oxidative stress. *Mol Genet Metab* **67**(2), 100–105.
- [71] Conklin KA, Chemotherapy-associated oxidative stress: Impact on chemotherapeutic effectiveness (2004). *Integr Cancer Ther* **3**(4), 294–300.
- [72] Ozben T (2007). Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *J Pharm Sci* **96**(9), 2181-2196.
- [73] Chen Y, Jungsuwadee P, Vore M, Butterfield DA & St Clair DK (2007). Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues. *Mol Interv* **7**(3), 147-156.
- [74] Barrera G (2012). Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy *ISRN Oncol*, 1–21.
- [75] Newsholme P, Lima MMR, Procopio J, Pithon-Curi TC, Bazotte RB & Curi R (2003b). Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Brazilian J Med Biol Res* **36**(2),153–163.
- [76] Le A, Lane AN, Hamaker M, Bose S, Gouw A, Barbi J, Tsukamoto T, Rojas CJ, Slusher BS, Zhang H, Zimmerman LJ, Liebler DC, Slebos RJC, Lorkiewicz PK, Higashi RM, Fan TWM & Dang CV (2012). Glucose-Independent Glutamine Metabolism via TCA Cycling for Proliferation and Survival in B Cells. *Cell Metabolism* **15**(1), 110-121.
- [77] Varoqui H, Zhu H, Yao D, Ming H, & Erickson JD (2000). Cloning and functional identification of a neuronal glutamine transporter. *J Biol Chem* **275**(6), 4049-4054.
- [78] Bak L K, Schousboe A & Waagepetersen HS (2006). The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. *J Neurochem* **98**(3), 641-653.
- [79] DeBerardinis RJ, Sayed N, Ditsworth D & Thompson (2008). Brick by brick: metabolism and tumor cell growth. *Curr Opin Genet Dev* **18**(1), 54- 61.



- [80] Gaurav K, Goel RK, Shukla M & Pandey M (2012). Glutamine: A novel approach to chemotherapy-induced toxicity. *Indian J Med Paediatr Oncol* **33**(1), 13.
- [81] Souba WW, Smith RJ & Wilmore DW (1985). Glutamine metabolism by the intestinal tract. *JPEN* **9**(5), 608-617.
- [82] Hammarqvist F, Sandgren A, Andersson K, Essén P, McNurlan MA, Garlick PJ, & Wernerman J (2001). Growth hormone together with glutamine-containing total parenteral nutrition maintains muscle glutamine levels and results in a less negative nitrogen balance after surgical trauma. *Surgery* **129**(5), 576-586.
- [83] Van De Poll MC, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, Deutz NE, Van Leeuwen PA & Dejong CH (2007). Intestinal and hepatic metabolism of glutamine and citrulline in humans. *J Physiol* **581**(2), 819-827.
- [84] Stumvoll M, Meyer C, Kreider M, Perriello G & Gerich J (1998). Effects of glucagon on renal and hepatic glutamine gluconeogenesis in normal postabsorptive humans. *Metabolism* **47**(10), 1227-1232.
- [85] Mithieux G, Rajas F & Gautier-Stein A (2004). A novel role for glucose 6-phosphatase in the small intestine in the control of glucose homeostasis. *J Biol Chem* **279**(43) 44231–44234.
- [86] Taylor L & Curthoys NP (2004). Glutamine metabolism: Role in acid-base balance. *Biochem Mol Bioll Edu* **32**(5), 291-304.
- [87] Nieman DC & Pedersen BK (1999). Exercise and immune function. *Sports Med* **27**(2), 73-80.
- [88] Nicklin P, Bergman P, Zhang B, Triantafellow E, Wang H, Nyfeler B, Yang H, Hild M, Kung C, Wilson C, Myer VE, MacKeigan JP, Porter JA, Wang YK, Cantley LC, Finan PM, Murphy LO (2008). Bidirectional Transport of Amino Acids Regulates mTOR & Autophagy. *Cell* **136**(3), 521-534.
- [89] Van Der Vos KE & Coffey PJ (2012). Glutamine metabolism links growth factor signaling to the regulation of autophagy. *Autophagy* **12**(8), 1862–1864, 2012.
- [90] Wilmore D & Rombeau J (2001). Glutamine: The Emperor or His Clothes. *J Nutr* **131**(9), 2449-2459.
- [91] Papaconstantinou HT, Hwang KO, Rajaraman S, Hellmich MR, Townsend Jr CM & Ko TC (1998). Glutamine deprivation induces apoptosis in intestinal epithelial cells. *Surgery* **124**(2), 152-160.

- [92] Gleeson M (2008). Dosing and Efficacy of Glutamine Supplementation in Human Exercise and Sport Training. *J Nutr* **138**(10), 2045–2049.
- [93] Roth E, Oehler R, Manhart N, Exner R, Wessner B, Strasser E & Spittler A (2002). Regulative potential of glutamine—relation to glutathione metabolism. *Nutrition* **18**(3), 217-221.
- [94] Kaadige MR, Looper RE, Kamalanaadhan S & Ayer DE (2009). Glutamine-dependent anapleurosis dictates glucose uptake and cell growth by regulating MondoA transcriptional activity. *Proc Natl Acad Sci* **106**(35), 14878-14883.
- [95] Wellen KE, Lu C, Mancuso A, Lemons JMS, Ryczko M, Dennis JW, Rabinowitz JD, Collier HA & Thompson CB (2010). The hexosamine biosynthetic pathway couples growth factor-induced glutamine uptake to glucose metabolism. *Genes Dev* **24**(24), 2784–2799, 2010.
- [96] Matés JM, Pérez-Gómez C, de Castro IN, Asenjo M & Márquez J (2002). Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol* **34**(5), 439–458.
- [97] Wischmeyer PE (2002). Glutamine and heat shock protein expression. *Nutrition* **18**(3), 225-228.
- [98] Baggetto LG (1992). Deviant energetic metabolism of glycolytic cancer cells. *Biochimie* **74**(11), 959-974.
- [99] Wise DR & Thompson CB (2010). Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer. *Trends Biochem Sci* **35**(8), 427-433.
- [100] DeBerardinis RJ & Cheng T (2010). Q’s next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. *Oncogene* **29**(3), 313-324.
- [101] Savarese DM, Savy G, Vahdat L, Wischmeyer PE & Corey B (2003). Prevention of chemotherapy and radiation toxicity with glutamine. *Cancer Treat Rev* **29**(6), 501-513.
- [102] Hensley CT, Wasti AT & DeBerardinis RJ (2013). Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *J Clin Invest* **123**(9), 3678-3684.
- [103] Altman BJ, Stine ZE & Dang CV (2016). From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **16**(10), 619.
- [104] Yang L, Venneti S & Nagrath D (2017). Glutaminolysis: a hallmark of cancer metabolism. *Annu Rev Biomed Eng* **19**, 163-194.

- [105] Shimomura Y, Murakami T, Nakai N, Nagasaki M & Harris RA (2004). Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *J Nutr* **134**(6), 1583- 1587.
- [106] Atherton PJ, Smith K, Etheridge T, Rankin D & Rennie MJ (2010). Distinct anabolic signalling responses to amino acids in C2C12 skeletal muscle cells. *Amino acids* **38**(5), 1533-1539.
- [107] Norton LE & Layman DK (2018). Leucine Regulates Translation Initiation of Protein Synthesis in Skeletal Muscle after Exercise. *J Nutr* **136**(2) 533–537.
- [108] Yang J, Chi Y, Burkhardt BR, Guan Y & Wolf BA (2010). Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev* **68**(5), 270–279.
- [109] Meijer AJ & Dubbelhuis PF (2004). Amino acid signalling and the integration of metabolism. *Biochem Biophys Res Commun* **313**(2), 397-403.
- [110] Stipanuk MH (2007). Leucine and protein synthesis: mTOR and beyond. *Nutr Rev* **65**(3), 122-129.
- [111] Serafin SV, Zhang K, Aurelio L, Hughes AB & Morton TH (2004). Decomposition of protonated threonine, its stereoisomers, and its homologues in the gas phase: Evidence for internal backside displacement. *Org Lett* **6**(10), 561–1564.
- [112] Na N, Zhao M, Zhang S, Yang C & Zhang X (2007). Development of a Dielectric Barrier Discharge Ion Source for Ambient Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* **18**(10) 1859–1862.
- [113] National Institute of Standards, Standard Reference Database: Chemistry Webbook. <http://webbook.nist.gov/chemistry/>.
- [114] Papp P, Shchukin P, Kočíšek J & Š Matejčík Š (2012). Electron ionization and dissociation of aliphatic amino acids. *J Chem Phys* **137**(10).
- [115] Fahrenkamp-Uppenbrink J, Szuromi P, Yeston J & Coontz R (2008). Theoretical possibilities. *Science* **5890**(321), 783.
- [116] Friesner RA (2005). Ab initio quantum chemistry: Methodology and applications. *Proc Natl Acad Sci* **102**(19), 6648-6653.
- [117] Orio M, Pantazis DA & Neese F (2009). Density functional theory. *Photosynth Res* **102**(2-3), 443-453.

- [118] von Barth U (2004). Basic density-functional theory—an overview. *Phys Scripta* **2004**(109).
- [119] Young D C (2001). *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems*. United States of America. John Wiley & Sons.
- [120] Yersin H (2019). *Highly Efficient OLEDs— Materials Based on Thermally Activated Delayed*. 1st edition. Germany. John Wiley & Sons.
- [121] Curtiss LA, Raghavachari K, Redfern PC & Pople JA. (2000). Assessment of Gaussian-3 and density functional theories for a larger experimental test set. *J Phys Chem* **112**(17), 7374-7383.
- [122] Lewars EG (2011). *Computational Chemistry— Introduction to the Theory and Applications of molecular and quantum mechanics*. 2th edition. Canada. Springer Science & Business Media.
- [123] Angela AW & Peterson KA & Woon DE (2015). *Thom H. Dunning, Jr.: A Festschrift from Theoretical Chemistry Accounts*. 3th edition. Germany. Springer.
- [124] Woon DE & Dunning Jr TH (1995). Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. V. Core-valence basis sets for boron through neon. *J Chem Phys* **103**(11), 4572-4585.
- [125] Jensen F (2019). *Introduction to Computational Chemistry Introduction to Computational Chemistry*. 2th edition. England. John Wiley & Sons Ltd.
- [126] Skyner RE, McDonagh JL, Groom CR, Van Mourik T & Mitchell JBO. (2015). A review of methods for the calculation of solution free energies and the modelling of systems in solution. *Phys Chem Chem Phys* **17**(9), 6174-6191.
- [127] Aikens CM & Gordon MS (2006). Incremental solvation of nonionized and zwitterionic glycine. *J Am Chem Soc* **128**(39), 12835-12850.
- [128] Tamuliene J, Romanova L, Vukstich V, Papp A, Baliulyte L & Snegursky A (2018). On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: Valine case. *Lith J Phys* **58**(2).
- [129] Tamuliene J, Romanova LG, Vukstich VS, Papp AV & Snegursky AV. (2015). Electron-impact-induced tryptophan molecule fragmentation. *Eur Phys J D* **69**(1).

- [130] Tamulienė J, Romanova LG, Vukstich VS, Papp AV & Snegursky AV (2014). Electron-impact-induced asparagine molecule fragmentation. *Eur Phys J D* **68**(5), 118.
- [131] Tamulienė J, Romanova LG, Vukstich VS & Snegursky AV (2013). Mechanisms of the electron-induced alanine molecule fragmentation. *Lith J Phys* **53**(4).
- [132] Mulliken RS (1955). Electronic population analysis on LCAO–MO molecular wave functions. I. *J Chem Phys* **23**(10), 1833-1840.
- [133] Smalo HS, Astrand PO & Ingebrigtsen S (2010). Calculation of ionization potentials and electron affinities for molecules relevant for streamer initiation and propagation. *IEEE Trans Dielectr Electr Insul* **17**(3), 733-741.
- [134] Walker JD, Michael C, Enache NM (2013). *Fundamental QSARs for Metal Ions*. 1st edition. Boca Raton, United States of America. CRC Press.
- [135] Domingo LR, Ríos-Gutiérrez M & Pérez P (2016). Applications of the conceptual density functional theory indices to organic chemistry reactivity. *Molecules* **21**(6).
- [136] Mullin JM & Gordon MS (2009). Alanine: then there was water. *J Phys Chem B* **113**(25), 8657-8669.
- [137] Frisch MJ et al (2004) GAUSSIAN 03, Revision D.02, Gaussian Inc., Wallingford, CT.
- [138] Frisch MJ et al (2016) GAUSSIAN 09, Revision D.02, Gaussian, Inc. Wallingford CT.
- [139] Schaftenaar G & Noordik JH (2000). Molden: a pre-and post-processing program for molecular and electronic structures. *J Comput Aid Mol Des* **14**(2), 123-134.
- [140] Zhang M & Lin Z (2006). Ab initio studies of the conformers and conformational distribution of the gaseous hydroxyamino acid threonine. *J Mol Struct Theochem* **760**(1-3), 159-166.
- [141] Sarkar S & Kronik L (2016). Ionisation and (de-) protonation energies of gas-phase amino acids from an optimally tuned range-separated hybrid functional. *Mol Phys* **114**(7-8), 1218-1224.
- [142] Meng L & Lin Z (2011). Comprehensive computational study of gas-phase conformations of neutral, protonated and deprotonated glutamic acids. *Comput Theor Chem* **976**(1-3), 42-50.

- [143] Peña I, Sanz ME, López JC & Alonso JL (2012). Preferred conformers of proteinogenic glutamic acid. *J Am Chem Soc* **134**(4), 2305- 2312.
- [144] Pang R, Guo M, Ling S & Lin Z. (2013). Thorough theoretical search of conformations of neutral, protonated and deprotonated glutamine in gas phase. *Comput Theor Chem* **1020**, 14-21.
- [145] Bezerril LM, Fulco UL, Oliveira JIN, Corso G, Albuquerque EL, Freire VN & Caetano EWS (2011). Charge transport in fibrous/not fibrous  $\alpha$  3-helical and (5 Q, 7 Q)  $\alpha$  3 variant peptides. *Appl Phys Lett* **98**(5).
- [146] Cannington PH & Ham NS (1979). The photoelectron spectra of amino-acids: A survey. *J Electron Spectrosc* **15**(1), 79-82.
- [147] Cocinero EJ, Lesarri A, Grabow JU, López JC & Alonso JL (2007). The shape of leucine in the gas phase. *ChemPhysChem* **8**(4), 599-604.
- [148] Rai AK, Song C & Lin Z (2009). An exploration of conformational search of leucine molecule and their vibrational spectra in gas phase using ab initio methods. *Spectrochim Acta- Part A Mol Biomol Spectrosc* **73**(5), 865- 870.
- [149] Dokmaisrijan S, Lee VS & Nimmanpipug P (2010). The gas phase conformers and vibrational spectra of valine, leucine and isoleucine: An ab initio study. *J Mol. Struct. THEOCHEM* **953**(1-3), 28-38.
- [150] Lesarri A, Sánchez R, Cocinero EJ, López JC & Alonso JL (2005). Coded amino acids in gas phase: The shape of isoleucine. *J Am Chem Soc* **127**(37), 12952-12956.
- [151] Boeckx B, Nelissen W & Maes G (2012). Potential energy surface and matrix isolation FT-IR study of isoleucine. *J Phys Chem A* **116**(12), 3247-3258.

## PRIEDAI

**Lentelė P1.** Jonizuoto L-treonino IC, jonizuoto L-allo-treonino ICAllo ir jonizuoto cviterjoninio L-allo-treonino IZ konformerų ryšių ilgiai ir užpildos, atitinkamai vakuume ir vandenyje

| Ryšys  | L-treoninas IC vakuume |               | L-allo-treoninas ICAllo vakuume |               | L-allo-treoninas IZAllo vandenyje |               |
|--------|------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|
|        | Ryšio ilgis, Å         | Ryšio užpilda | Ryšio ilgis, Å                  | Ryšio užpilda | Ryšio ilgis, Å                    | Ryšio užpilda |
| C1-C2  | 1.489                  | 0.248         | 1.409                           | 0.397         | 1.537                             | 0.173         |
| C1-O3  | 1.203                  | 0.763         | 1.284                           | 0.514         | 1.287                             | 0.597         |
| C1-O4  | 1.335                  | 0.466         | 1.321                           | 0.467         | 1.222                             | 0.750         |
| C2-C5  | 2.410                  | 0.132         | 4.499                           | 0.000         | 1.623                             | 0.073         |
| C2-N6  | 1.324                  | 0.382         | 1.341                           | 0.376         | 1.494                             | 0.234         |
| C5-C9  | 1.478                  | 0.336         | 1.478                           | 0.354         | 1.520                             | 0.351         |
| C5-O10 | 1.312                  | 0.397         | 1.224                           | 0.601         | 1.437                             | 0.274         |

**Lentelė P2.** Jonizuotos L-glutamato rūgšties IC konformero ryšių ilgiai ir užpildos vakuume

| Ryšys  | L-glutamato rūgštis IC vakuume |               |
|--------|--------------------------------|---------------|
|        | Ryšio ilgis, Å                 | Ryšio užpilda |
| C1-C2  | 1.534                          | 0.243         |
| C1-C5  | 1.519                          | 0.280         |
| C2-C3  | 1.526                          | 0.263         |
| C3-O4  | 1.336                          | 0.471         |
| C3-O10 | 1.202                          | 0.761         |
| C5-C6  | 1.803                          | 0.239         |
| C5-N8  | 1.370                          | 0.336         |
| C6-O7  | 1.297                          | 0.450         |
| C6-O9  | 1.177                          | 0.716         |

**Lentelė P3.** Jonizuotų L-glutamino konformerų IC ir IZ ryšių ilgiai ir užpildos vakuume ir vandenyje, atitinkamai

| Ryšys  | L-glutaminas IC vakuume |               | L-glutaminas IZ vandenyje |               |
|--------|-------------------------|---------------|---------------------------|---------------|
|        | Ryšio ilgis, Å          | Ryšio užpilda | Ryšio ilgis, Å            | Ryšio užpilda |
| C1-C2  | 1.536                   | 0.921         | 1.526                     | 0.253         |
| C1-C5  | 1.517                   | 0.847         | 1.528                     | 0.140         |
| C2-C3  | 1.581                   | 0.930         | 1.526                     | 0.271         |
| C3-N4  | 1.414                   | 0.837         | 1.538                     | 0.047         |
| C3-C8  | 1.535                   | 0.872         | 1.511                     | 0.174         |
| C5-N6  | 1.333                   | 1.185         | 1.347                     | 0.479         |
| C5-O7  | 1.234                   | 1.662         | 1.225                     | 0.792         |
| C8-O9  | 1.327                   | 1.081         | 1.262                     | 0.764         |
| C8-O10 | 1.200                   | 1.920         | 1.244                     | 0.662         |

**Lentelė P4.** Jonizuotų L-leucino konformerų IC ir IZ ryšių ilgiai ir užpildos vakuume ir vandenyje, atitinkamai

| Ryšys | L-leucinas IC vakuume |               | L-leucinas IZ vandenyje |               |
|-------|-----------------------|---------------|-------------------------|---------------|
|       | Ryšio ilgis, Å        | Ryšio užpilda | Ryšio ilgis, Å          | Ryšio užpilda |
| C1-C2 | 1.530                 | 0.342         | 1.532                   | 0.340         |
| C2-C3 | 1.531                 | 0.327         | 1.531                   | 0.336         |
| C2-C4 | 1.545                 | 0.320         | 1.550                   | 0.332         |
| C4-C5 | 1.521                 | 0.282         | 1.521                   | 0.280         |
| C5-C6 | 1.646                 | 0.236         | 1.598                   | 0.082         |
| C5-N8 | 1.391                 | 0.288         | 1.507                   | 0.066         |
| C6-O7 | 1.183                 | 0.746         | 1.245                   | 0.684         |
| C6-O9 | 1.322                 | 0.472         | 1.232                   | 0.798         |



**Lentelė P5.** Jonizuotų L-izoleucino konformerų IC ir IZ ryšių ilgiai ir užpildos vakuume ir vandenyje, atitinkamai

| Ryšys | L-izoleucinas IC vakuume |               | L-izoleucinas IZ vandenyje |               |
|-------|--------------------------|---------------|----------------------------|---------------|
|       | Ryšio ilgis, Å           | Ryšio užpilda | Ryšio ilgis, Å             | Ryšio užpilda |
| C1-C2 | 1.520                    | 0.316         | 1.533                      | 0.325         |
| C2-C3 | 1.536                    | 0.316         | 1.500                      | 0.331         |
| C2-C5 | 1.576                    | 0.235         | 1.565                      | 0.179         |
| C3-C4 | 1.532                    | 0.324         | 1.528                      | 0.330         |
| C5-C6 | 1.575                    | 0.229         | 1.650                      | 0.088         |
| C5-N8 | 1.385                    | 0.257         | 1.508                      | 0.181         |
| C6-O7 | 1.189                    | 0.756         | 1.242                      | 0.604         |
| C6-O9 | 1.328                    | 0.449         | 1.245                      | 0.663         |

## REZULTATŲ PRISTATYMAS IR PUBLIKACIJOS

### Publikacijos disertacijos tema

#### *Straipsniai Clarivate Analytics Web of Science pagrindinio sąrašo žurnaluose*

1. Tamuliene J., Romanova L., Vukstich V., Papp A., **Baliulyte L.**, Snegursky A. The impact of low-energy ionizing radiation on glutamine. International Journal of Mass Spectrometry 2019; 444.
2. **Baliulyte L.**, Tamuliene J., On the influence of water on fragmentation of the amino acid L-threonine. Open physics 2019; 17(1):250-262.

#### *Konferencijų pranešimų medžiaga*

#### **Straipsnis nerecenzuojamoje užsienio tarptautinės konferencijos medžiagoje**

1. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. In silico of the influence of water on the L-leucine and L-isoleucine molecules fragmentation. EP-2019 International Conference of young scientists and post-graduates, 2019 05 21-24; Uzhhorod, Ukraine.

#### **Konferencijų tezės nerecenzuojamuose leidiniuose**

1. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. In silico study of L-glutamic acid and L-glutamine fragmentation by low energy electrons 63rd international conference for students of physics and natural sciences Open Readings 2020; 2020 03 17-20; Vilnius, Lietuva.
2. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. A study on the influence of water on the L-leucine fragmentation. 62th Scientific Conference for Young Students of Physics and Natural Science Open Readings 2019; 2019 03 19-22; Vilnius, Lietuva.
3. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. In silico of the influence of water on the L-isoleucine molecule fragmentation. Baltic biophysics conference 2018; 2018 10 04-05, Kaunas, Lietuva.
4. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. Vandens įtaka L-glutamo rūgšties fragmentacijai. 8-oji jaunųjų mokslininkų konferencija Fizinių ir technologijos mokslų tarpdalykiniai tyrimai 2018; 2018 02 08, Vilnius, Lietuva.
5. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. Vandens įtakos L-treonino fragmentacijai

- tyrimas taikant ab initio metodus. 42-oji Lietuvos nacionalinė fizikos konferencija 2017; 2017 10 04-06; Vilnius, Lietuva.
6. Snegursky A.V., Tamulienė J., Romanova L.G., Vukstich V.S., Papp A.V., **Baliulytė L.**, Snegurskaya T.A. On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: glutamine. 4th General Meeting COST Action CM1204, 2017 03 14-16; Prague, Czech Republic.
  7. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. Theoretical study of threonine molecule fragmentation by low energy electrons. Fourth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (RAD 2016); 2016 05 23-27; Niš, Serbija.
  8. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. Treonino fragmentacijos dėl lėtų elektronų poveikio tyrimas. Fizinių ir technologijos mokslų tarpdalykiniai tyrimai: šeštoji jaunųjų mokslininkų konferencija 2016; 2016 02 10; Vilnius, Lietuva.
  9. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. Threonine fragmentation by low energy electrons. International conference Vita Scientia 2016; 2016 01 04; Vilnius, Lietuva.

#### **Tezės kituose recenzuojamuose leidiniuose**

1. Demes S., Tamulienė J., **Baliulytė L.**, Romanova L., Vukstich V., Papp A. and Snegursky A. Fragmentation of Glutamine Molecule by Low-Energy Electron-Impact. XX International workshop on Low-Energy Positron and Positronium Physics, XXI International Symposium on Electron-Molecule Collisions and Swarms, V Workshop on Non-Equilibrium Processes; 2019 07 18-21; Belgrade, Serbia.
2. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. In silicio of the influence of water on the L-leucine molecule. FEBS3+ conference of Latvian, Lithuanian and Estonian biochemical societies 2019; 2019 06 17-19; Riga, Latvian.
3. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. A study on the influence of water on the L-glutamic acid fragmentation. 7th International Conference Aspects of Neuroscience 2017; 2017 11 24-26; Warsaw, Poland.

#### **Tezės tarptautinėse duomenų bazėse**

1. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. A study on the influence of water on the L-isoleucine fragmentation. Journal of analytical & bioanalytical techniques, vol. 9.2018.

#### **Pranešimas konferencijoje**

1. **Baliulytė L.**, Tamulienė J. A study on the influence of water on the L-leucine fragmentation. 4th Life sciences baltics 2018; 2018 09 26-27; Vilnius, Lietuva.

## Publikacijos ne disertacijos tema

### *Straipsniai Clarivate Analytics Web of Science pagrindinio sąrašo žurnaluose*

1. Tamuliene J., Romanova L., Vukstich V., Papp A., **Baliulyte L.**, Snegursky A., On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: valine. Lithuanian Journal of Physics 2018; 58(2):135-148.
2. Tamuliene J., Romanova L., Vukstich V., Papp A., Shkurin S., **Baliulyte L.**, & Snegursky A. On the influence of low-energy ionizing radiation on the amino acid molecule: proline. The European Physical Journal D 2016; 70(6):1-10.

### *Konferencijų pranešimų medžiaga*

#### **Recenzuojamos išplėstinės tezės**

1. Papp P., Vukstich V., Romanova L., Tamuliene J., **Baliulyte L.**, Snegursky A. Mass-spectrometric studies of the valine molecule fragmentation by electron impact. ECAMP 12: 12th European Conference on Atoms Molecules and Photons, 2016 10 05-09; Frankfurt am Main, Germany.

## PADĖKA

Pirmiausiai, reiškiu didelę padėką savo vadovei dr. Jelenai Tamulienei už nuolatinę mokslinę pagalbą, diskusijas, idėjas, skirtą brangų laiką, puikų vadovavimą ir palaikymą visos doktorantūros metu.

Taip pat dėkoju ITAPC valdymo grupės vadovui doc. dr. Linui Bukauskui už suteiktą prieigą prie VU MIF Skaitmeninių tyrimų ir skaičiavimų centro superkompiuterio resursų.

Esu dėkinga dr. Liudmilai Romanovai, dr. Vasyl Vukstich, dr. Alexander Papp ir dr. sc. Alexander Snegursky, dirbantiems Ukrainos nacionalinėje mokslų akademijoje, Elektronų fizikos institute už leidimą disertacijoje naudoti jų išmatuotus L-treonino ir L-glutamino teigiamą krūvį turinčių fragmentų masės spektrus.

Dėkoju dr. Aušrai Vektarienei ir dr. Jonui Šarlauskui už naudingas pastabas ir korekcijas skaitant disertacijos juodraštį. Taip pat norėčiau padėkoti gynimo tarybos nariams už skirtą laiką.

Esu dėkinga prof. dr. Osvaldai Rukšėnui už patarimus administraciniais klausimais doktorantūros studijų metu.

Dėkoju prof. dr. Aidui Alaburdai už vertingus patarimus ir pagalbą.

Reiškiu padėką savo *Alma Mater*- Vilniaus universitetui už suteiktą galimybę įžengti į mokslo pasaulį. Noriu padėkoti Neurobiologijos ir biofizikos katedros kolegoms už patarimus ir palaikymą.

Ypatingai dėkoju artimiesiems už stiprų moralinį palaikymą.

## GYVENIMO APRAŠYMAS

### **Laura Baliulytė**

baliulyte.laura@gmail.com

[https://www.researchgate.net/profile/Laura\\_Baliulyte](https://www.researchgate.net/profile/Laura_Baliulyte)

---

### **Išsilavinimas**

|           |   |
|-----------|---|
| Nuo 2015  | Doktorantūros studijos, biofizika, Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biomokslų institutas |
| 2013-2015 | Magistrantūros studijos, biofizika, Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakultetas                  |
| 2009-2013 | Bakalauro studijos, biofizika, Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakultetas                       |

---

### **Kvalifikacijos kėlimas**

|               |   |
|---------------|---|
| 2019 10 07-11 | Gaussian Workshop „Introduction to Gaussian: Theory and Practice“ (Ulm University, Ulm, Germany).   |
| 2016 09 19    | „Workshop on academic publishing“ course (Vilniaus Gedimino technikos universitetas, Vilnius, Lietuva).   |
| 2015 10 05-07 | „Nuclear engineering intensive course 5th term-radiation applications and ABWR summary 1/2“ (Kauno technologijos universitetas, Kaunas, Lietuva). |

---

### **Profesinė narystė**

|           |                                |
|-----------|--------------------------------|
| 2017-2019 | Inovatyvios medicinos draugija |
|-----------|--------------------------------|

---

---

**Moksliniai interesai**      Organinių ir neorganinių molekulių, jų kompleksų, biofizikinių reakcijų ir biocheminių procesų teorinis tyrimas

---

**Patirtis molekulinio modeliavimo srityje**      Turiu daugiau nei 8 metų (nuo 2011-10) patirtį molekulinio modeliavimo srityje. Didžiausia patirtis – darbas Gaussian programa. Taip pat naudoju GAMESS, Molden, GaussView ir Avogadro programas.

---

Vilniaus universiteto leidykla  
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius  
El. p.: [info@leidykla.vu.lt](mailto:info@leidykla.vu.lt), [www.leidykla.vu.lt](http://www.leidykla.vu.lt)  
Tiražas 12 egz.