

Orgaanisten yhdisteiden kiinteän tilan rakennemääritysmenetelmät

Pro gradu -tutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

Orgaanisen kemian pääaine

9.8.2011

Aku Suhonen

Tiivistelmä

Pro gradu -tutkielmassa käydään läpi 16 yleistä orgaanisten yhdisteiden kiinteän tilan rakennemäärittämis menetelmää. Kaikki menetelmät esitellään yleisesti ja tärkeimmistä menetelmistä käydään lisäksi lyhyesti läpi teoria, johon menetelmä perustuu, laitteet, joita menetelmässä käytetään ja tärkeimmät tekniikat, joita menetelmän käyttöä varten on kehitetty. Erityistä huomiota on tutkielmassa osoitettu röntgendiffraktiolle, kiinteän tilan NMR-spektroskopialle ja infrapunaspektroskopialle.

Erikoistyössä valmistettiin kaksi uutta amidofoldameeriä ja yksi uusi sulfonyylifoldameeri. Valmistettujen yhdisteiden liukoisuus- ja sulamisominaisuuksia tutkittiin ja kaikista määritettiin ainakin yksi kiderakenne tai solvaattikiderakenne. Tulosten perusteella havaittiin, että amidofoldameereillä esiintyy itselaskostumista. Erityisesti pyridiinifoldameeri oli vahvasti laskostunut. Lisäksi tutkittiin amidofoldameerien kompleksointiominaisuuksia pääasiassa kiinteässä tilassa. Tuloksena saatiin mitattua yhden dimeerisen fluori-bentseenifoldameerikompleksin kiderakenne. Liuostilan kompleksoitumista tutkittiin bentseenifoldameerille ja TBA-F:lle tehdyllä NMR-titrauksella, josta saatiin mielenkiintoisia, mutta vaikeaselkoisia tuloksia, jotka kuitenkin viittaavat siihen, että yhdiste sitoo fluoridia liuostilassa. Myös pyridiinifoldameerin kanssa havaittiin liuostilan kompleksoitumista NMR-mittauksissa, jotka tehtiin pyridiinifoldameeri-anioni seoksille.

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	ii
Sisällysluettelo	iii
Esipuhe.....	vi
Lyhenteet.....	vii
<u>Kirjallinen osa</u>	
1 Johdanto.....	1
2 Diffraktiomenetelmät.....	1
2.1 Röntgendiffraktio	2
2.1.1 Teoria	3
2.1.2 Röntgensäteiden valmistus ja muokkaus	5
2.1.3 Detektorit.....	7
2.1.4 Yksikidediffraktio	8
2.1.5 Pulveridiffraktio	9
2.1.6 Tulosten käsittely ja rakenteen määrittäminen	9
2.1.7 Esimerkkejä röntgendiffraktion käytöstä foldameerien rakennemäärittämisessä	11
2.2 Neutronidiffraktio	11
2.2.1 Teoria	12
2.2.2 Neutronisäteiden valmistus- ja mittausmenetelmät.....	13
2.3 Elektronidiffraktio.....	15
2.3.1 Teoria	16
2.3.2 Mittaukset ja tulosten käsittely.....	16
3 Spektroskooppiset menetelmät	18
3.1 Infrapunaspektroskopia	19
3.1.1 Teoria	19
3.1.2 Mittaukset ja tulosten käsittely.....	20
3.2 Raman-spektroskopia	24
3.2.1 Teoria	24
3.2.2 Mittaukset ja laitteistot.....	25
3.3 Ydinmagneettinen resonanssi (NMR).....	27
3.3.1 Teoria	28

3.3.2	Kiinteän tilan NMR-laitteistot	31
3.3.3	Kiinteän tilan NMR-tekniikat	33
3.4	Muut spektroskooppiset menetelmät.....	36
3.4.1	Elektronispektroskopia.....	36
3.4.2	Elektronin paramagneettinen resonanssispektroskopia (EPR).....	37
3.4.3	Röntgenspektroskopia	38
3.4.4	Ultravioletti- ja näkyvän valon spektroskopia (UV/Vis)	39
3.5	Esimerkkejä spektroskooppisten menetelmien hyödyntämisestä foldameeri- tutkimuksessa	40
4	Termoanalyttiset menetelmät	40
4.1	Termogravimetria (TG tai TGA)	40
4.2	Differentiaalinen termoanalyysi (DTA) ja differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria (DSC)	42
5	Mikroskopia.....	44
5.1	Elektronimikroskopia.....	44
5.2	Atomivoimamikroskopia	46
6	Yhteenveto	48
<u>Kokeellinen osa</u>		
7	Työn tarkoitus	51
8	Työssä käytetyt laitteet, liuottimet ja reagenssit	52
8.1	Laitteet.....	52
8.2	Liuottimet ja reagenssit.....	53
9	Synteesiohjeet	55
9.1	<i>N</i> -bentsoyyli-2-aminoaniliini (1)	57
9.2	<i>N</i> ¹ , <i>N</i> ³ -bis(2-bentsamidofenyyl)ibentseeni-1,3-dikarboksamidi (2).....	59
9.3	<i>N</i> ² , <i>N</i> ⁶ -bis(2-bentsamidofenyyl)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (3)	63
9.4	<i>N</i> ¹ , <i>N</i> ³ -bis(2-bentsamidofenyyl)ibentseeni-1,3-disulfonamidi (4)	65
10	Kiteytys- ja kompleksointitutkimukset.....	66
10.1	<i>N</i> ¹ , <i>N</i> ³ -bis(2-bentsamidofenyyl)ibentseeni-1,3-dikarboksamidin ominaisuudet (2)	67
10.1.1	Puhtaan aineen kiteytykset.....	68
10.1.2	Kompleksointikokeet	73

10.1.3	Liuostilan kompleksoituminen.....	78
10.2	N^2,N^6 -bis(2-bentsamidofenyylipyridiini-2,6-dikarboksamidin ominaisuudet (3) ..	84
10.2.1	Puhtaan aineen kiteytykset.....	84
10.2.2	Kompleksointikokeet	90
10.2.3	Liuostilan kompleksoituminen.....	92
10.3	N^1,N^3 -bis(2-bentsamidofenyyl)bentseeni-1,3-disulfonamidin ominaisuudet (4)....	94
11	Yhteenveto	95
12	Syntetisoidut molekyylit	98
13	Kirjallisuusluettelo.....	99
	LIITE 1: N-bentsoyyli-2-aminoaniliinin ^1H ja ^{13}C NMR-spektrit.....	104
	LIITE 2: Bentseenifoldameerin 2 synteesimenetelmällä 2 saadun raakatuotteen NMR-spektri.....	107
	LIITE 3: Bentseenifoldameerin 2 NMR-spektrit.....	108
	LIITE 4: Pyridiinifoldameerin 3 NMR-spektrit	113
	LIITE 5: Sulfonylifoldameerin 4 NMR-spektrit	118
	LIITE 6: Pulveridiffraktiomittaukset.	123
	LIITE 7: ATR-IR-mittaukset	127
	LIITE 8: Yksikideröntgendiffraktio mittaukset	131
	LIITE 9: Bentseenifoldameerin 2 ja TBA-F:n julkaisematon rakenne	138
	LIITE 10: NMR-titrauksen tulokset	140

Esipuhe

Pro gradu -tutkielma on kirjoitettu maaliskuun 2010 ja heinäkuun 2011 välisenä aikana lukuun ottamatta syyskuun 2010 ja helmikuun 2011 välistä aikaa, jolloin tehtiin työn kokeellinen osa ja sen raportti. Tutkielman ohjaajana toimi professori Maija Nissinen. Tutkielmassa käytettiin lähteenä lähinnä aiheeseen keskittynyttä mahdollisimman uutta kirjallisuutta, joka etsittiin Jyväskylän yliopiston kirjaston kokoelmista. Tutkielmassa esimerkkeinä käytetyt artikkelit löydettiin SciFinder Scholar -ohjelmalla tai Googlen avulla. Erikoistyö suoritettiin professori Maija Nissisen tutkimusryhmässä, Jyväskylän yliopiston kemian laitoksella. Työn ohjaajina toimivat tutkija Elisa Nauha ja tutkija Kaisa Helttunen. Erikoistyössä käytetty kirjallisuus löydettiin joko yliopiston kirjastosta, SciFinder Scholarilla tai ohjaajien avustuksella.

Haluan kiittää kaikkia työtä ohjanneita kärsivällisyydestä, jolla he ovat tutkimusraporttejani lukuineet ja niiden kirjoitusta tukeneet ja avusta sekä neuvoista, jotka olen heiltä saanut erikoistyön suorituksen aikana. Lisäksi haluan kiittää erikoislaboratoriomestari Reijo Kauppista hänen avustaan NMR-titrauksen suorittamisessa ja monimutkaisempien NMR-spektrien tulkinnassa sekä professori Erkki Kolehmaista hänen avustaan NMR-titrauksen tulosten tulkinnassa.

Lyhenteet

AEFS	absorptioreunan hienorakenne
AES	Auger elektronispektroskopia
ATR	vaimentuneen säteilyn kokonaisreflektanssi
ATR-IR	Attenuated total reflectance infrared, vaimentuneen säteilyn kokonaisreflektanssi-infrapuna
Bentseenifoldameeri	N ¹ ,N ³ -bis(2-bentsamidofenyyl)ibentseeni-1,3-dikarboksamidi
CBED	konvergoituvien säteiden elektronidiffraktio
COSY	correlation spectroscopy, korrelaatio-spektroskopia
DCM	dikloorimetaani
DMA	dimetyyliasetamidi
DMF	dimetyyliformamidi
DMSO	dimetyylisulfoksidi
DSC	differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria
DTA	differentiaalinen termoanalyysi
EBSD	elektronin takaisinsiroamisdiffraktio
EPR	elektronin paramagneettinen resonanssispektroskopia
ESCA	kemiallisen analyysin elektronispektroskopia
ESI-TOF	Electrospray ionization time-of-flight, sähkösumutus-ionisaatio lento-aika
ESR	elektroni-spin resonanssi spektroskopia
EtOAc	etyyliasetatti
EXAFS	jatketun röntgenabsorption hienorakenne
FE-SEM	kenttäemissio pyyhkäisyelektronimikroskoopi
FT	Fourier-muunnos
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence, useiden eriytimisten sidosten koherenssi
HMQC	heteronuclear multiple quantum coherence, useiden eriytimisten sidosten kvanttikoherenssi
HREM	korkean resoluution elektronimikroskopia
HRPD	korkean resoluution pulveridiffraktio

IR	infrapuna
MAS	maagisessa kulmassa pyöritys
MIR	monta sisäistä reflektanssia
NMR	ydinmagneettinen resonanssi
Pyridiinifoldameeri	N ² ,N ⁶ -bis(2-bentsamidofenyylipyridiini-2,6-dikarboksamidi
PXRD	powder X-ray diffraction, pulveriröntgendiffraktio
RF	radiotaajuus
SAED	valitun alueen elektronidiffraktio
SEM	pyyhkäiselektronimikroskopia
SERS	pintavoimistettu Raman-spektroskopia
Sulfonyylifoldameeri	N ¹ ,N ³ -bis(2-bentsamidofenyyl)bentseeni-1,3-disulfonamidi
TBA	tetrabutyyliammonium
TEA	tetraetyyliammonium
TEM	läpäiselektronimikroskopia
TG(A)	termogravimetria (analyysi)
THF	tetrahydrofuraani
TMA	tetrametyyliammonium
TOF	lentoaika
UPS	ultraviolettifotoelektronispektroskopia
UVRR	ultravioletiresonanssi-Raman
UV/Vis	ultravioletti/näkyvä valo
XPS	röntgenfotoelektronispektroskopia
XRD	single crystal X-ray diffraction, yksikideröntgendiffraktio
XRF	röntgenfluoresenssi
Å	Ångström, 10 ⁻¹⁰ m

NMR-lyhenteet

m	multiplletti
st	singletti tripletti
dd	dupletin dupletti
td	tripletin dupletti
tt	tripletin tripletti

1 Johdanto

Kiinteiden orgaanisten aineiden rakenteen mahdollisimman tarkka määrittäminen on useimmiten välttämätöntä. Tätä tarkoitusta varten on kehitetty monia eri menetelmiä, joilla kiinteiden aineiden rakenteesta saadaan erilaista tietoa. Tässä tutkielmassa on esitelty 16 suhteellisen erilaista kiinteän tilan rakenteen määrittämiseksi käytettyä menetelmää. Yksityiskohtaisemmin esitellään tärkeimmät menetelmät, röntgendiffraktio, kiinteän tilan NMR-spektroskopia ja infrapunaspektroskopia, mutta kaikista esitellyistä menetelmistä on pyritty kertomaan, millaisiin tutkimuksiin menetelmää yleensä käytetään, millaisille aineilla menetelmä sopii ja mihin menetelmä perustuu. Menetelmien yhteydessä käytetyt esimerkit on valittu kokeellista osaa tukevasti foldameerien tutkimuksista.

Tutkielmassa esitellyt menetelmät on jaettu neljään kategoriaan sen perusteella mihin ilmiöön ne perustuvat. Ensimmäisessä osuudessa käsitellään diffraktioon perustuvia menetelmiä. Diffraktio on ilmiö, jossa säde siroaa kiteisestä aineesta siten, että sen intensiteetti muuttuu. Toisessa osiossa käsitellään spektroskooppisia menetelmiä. Spektroskooppisilla menetelmillä tutkitaan aineen absorboiman tai emittoiman energian intensiteettiä energian funktiona. Kolmannessa osiossa käydään läpi yleisimmät termoanalyttiset menetelmät. Termoanalyysissä tutkittavien aineiden ominaisuuksia tutkitaan lämpötilan muutosten avulla. Viimeisessä osiossa esitellään rakenteen määrittämiseksi yleisimmin käytetyt mikroskooppiset menetelmät. Mikroskopiassa tarkoituksena on saada tutkittavasta näytteestä suurennettu kuva, jonka perusteella voidaan saada tietoa tutkittavan aineen rakenteesta. Tärkeimmistä menetelmistä on annettu perustietojen lisäksi laitteistokuvaus, ja erillinen kuvaus teoriasta, johon menetelmä perustuu sekä eritelty tärkeimmät tekniikat, joita menetelmän soveltamista varten on kehitetty.

2 Diffraktiomenetelmät

Diffraktio on ilmiö, jossa säde siroaa kiteestä siten, että sen intensiteetti muuttuu. Intensiteetin muutos riippuu osittain tutkittavan kiteen kiderakenteesta ja sen yhdisteen rakenteesta, josta kite on muodostunut. Tämän ominaisuuden ansiosta diffraktioon

perustuvista menetelmistä on tullut erittäin tärkeä, ellei jopa tärkein, menetelmä kiinteiden orgaanisten aineiden rakenteenmäärittämisessä.

Tällä hetkellä diffraktio voidaan suorittaa kolmella eritavalla: röntgendiffraktiolla, neutronidiffraktiolla tai elektronidiffraktiolla. Näistä tavoista yleisin ja käyttökelpoisin on röntgendiffraktio. Röntgendiffraktiolaitteistot ovat halpoja verrattuna neutronidiffraktiolaitteistoihin ja niillä saadut tulokset ovat paljon tarkempia kuin mihin elektronidiffraktiolla yleensä pystytään. Muita diffraktiomenetelmiä käytetäänkin yleensä vain, jos röntgendiffraktiolla ei saada tuloksia tai jos tuloksia pitää joiltakin osin tarkentaa. Neutronidiffraktiolaitteistot ovat erittäin kalliita ja tästä syystä ne ovat paljon harvinaisempia kuin röntgendiffraktiolaitteistot. Neutronidiffraktion merkittävin etu on, että sen avulla pystytään havaitsemaan myös kevyemmät alkuaineet kuten vety, joka on joskus vaikea havaita röntgendiffraktiolla. Elektronidiffraktiolaitteistoja on olemassa ainakin kaasumaisille näytteille, mutta yleensä elektronidiffraktiossa käytetään elektronimikroskooppilaitteistoja. Elektronidiffraktion tärkein etu on se, että tarvittava näytemäärä on hyvin pieni ja näytteeksi käyvät myös erittäin pienet kiteet.

2.1 Röntgendiffraktio

Röntgendiffraktio on rakenteen määrittämenetelmä, jossa kiinteän aineen rakennetta tutkitaan kohdistamalla siihen röntgensäteilyä. Röntgensäteet, joiden aallonpituus on noin ångströmin (\AA , 10^{-10} m) suuruusluokkaa, sopivat diffraktioon erityisen hyvin, koska diffraktio tapahtuu vain, kun säteilyn aallonpituus on verrattain lähellä sirontaa aiheuttavien kohteiden etäisyyttä toisistaan.¹ Yhdisteestä diffraktoituneiden röntgensäteiden intensiteetit mitataan ja intensiteettien avulla voidaan määrittää elektronitiheyden jakautuminen tutkittavan yhdisteen kiteen alkeiskopissa ja yhdisteessä itsessään. Tätä kautta voidaan määrittää yhdisteen kiderakenne ja koostumus. Rakenteen määrittäminen tapahtuu useimmiten joko yksikideröntgenkristallografialla, jossa yhdisteen rakenne määritetään yhdestä kiteestä diffraktoituneesta röntgensäteilystä saadun tiedon perusteella, tai pulveridiffraktiolla, jossa yhdisteen rakenne määritetään useista samankokoisista kiteistä muodostuvasta pulverista diffraktoituvasta säteilystä saadun tiedon perusteella.

Menetelmän kehitys alkoi vuonna 1896, kun Wilhelm Röntgen kuvaili röntgensäteiden tärkeimmät ominaisuudet.² Seuraava edistysaskel tuli vuonna 1912, kun Max von Laue ehdotti kiteiden käyttämistä röntgensäteiden diffraktion tutkimiseen. Röntgenin oppilaat Friedrich ja Knipping suorittivat kokeen onnistuneesti, ja jo vuonna 1913 Bragg ja Laue käyttivät röntgendiffraktiolla saatuja mallinnuksia NaCl:n, KCl:n, KBr:n ja KI:n kiderakenteen määrittämiseen. Vuonna 1916 Debye ja Scherrer raportoivat ensimmäiset pulveridiffraktiomallit.¹ Tämän jälkeen röntgendiffraktiosta on tullut yksi kiinteiden aineiden rakenne määrittämisen tärkeimpiä apuvälineitä.

2.1.1 Teoria

Tutkittavan yhdisteen kiderakenteen ratkaisu röntgendiffraktiolla perustuu siihen, että atomien elektroneihin osuessaan röntgensäteiden vaihesiirtymä muuttuu ja tämä atomin paikasta ja laadusta riippuva muutos voidaan havaita detektorilla.¹ Vaihesiirtymä on intensiteettiero, joka syntyy, kun kaksi muuten identtistä elektromagneettisen säteilyn aaltoa eivät ole samanaikaisia toisiinsa nähden. Röntgendiffraktiossa käytetään Fraunhofer-approksimaatiota näiden intensiteettien laskemiseen. Approksimaatiossa sanotaan, että etäisyys säteilyn lähteestä sinne, missä diffraktio tapahtuu, samoin kuin etäisyys diffraktiopisteestä detektorille, on paljon suurempi kuin diffraktioita aiheuttavien atomeiden välimatka toisiinsa nähden. Tämä on hyvä approksimaatio, koska atomeiden etäisyys toisistaan on usein noin \AA :n suuruusluokkaa. Tämän approksimaation avulla intensiteetit saadaan laskettua kaavalla (1)

$$I = \left[\sum_j A_j \exp(i\varphi_j) \right]^2 \quad (1)$$

missä vaiheet φ_j ja sitä kautta intensiteetti I riippuvat atomien j sijainnista ja saapuvien ja siroavien säteiden suunnista.¹ Lähteen aaltovektorit ja siroavat aallot ovat tunnettuja, joten atomien suhteelliset paikat voidaan laskea havaittujen intensiteettien perusteella.

Braggin yhtälöllä (2) röntgendiffraktio kuvataan joukkona hilatasoja, joista röntgensäteet heijastuvat niin kuin näkyvä valo heijastuu peilistä.¹ Nämä tasot ovat yhdensuuntaisia toisiinsa nähden ja samalla etäisyydellä toisistaan. Toisin kuin näkyvä valo, röntgensäteet

tunkeutuvat syvälle tutkittavaan materiaaliin ja heijastuvat monista samansuuntaisista tasoista. Suurimmalle osalle näistä heijastuvista säteistä löytyy toinen säde, joka heijastuu sellaisessa suunnassa, että se kumoaa ensimmäisen säteen täysin, mutta osa säteistä, jotka siroavat juuri oikeassa kulmassa vahvistuvat muiden säteiden ansiosta. Näiden säteiden intensiteetti on tarpeeksi suuri mittausta varten. Braggin yhtälöllä (2) ratkaistaan kulmat, joissa säde pitää tutkittavaan kiteeseen kohdistaa, jotta mittauksia voi suorittaa.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (2)$$

Yhtälössä n on aaltoluvun λ kerroin, d on samansuuntaisten tasojen etäisyys toisistaan ja 2θ on diffraktiokulma eli yhdisteeseen tulevien ja sieltä heijastuvien röntgensäteiden välinen kulma. Vaikka kaikki Braggin yhtälön oletukset eivät täysin päde röntgendiffraktiossa, sitä soveltamalla on saatu erinomaisia tuloksia kiteisten aineiden diffraktiotutkimuksissa.¹

Käänteishila, joka auttaa Braggin yhtälöllä saadun tiedon soveltamisessa, on tärkeä teoreettinen työkalu röntgendiffraktiossa. Käänteishila muodostuu seuraavanlaisesti: Jos kidehilan hilaparametrit ovat $a, b, c, \alpha, \beta, \gamma$ ja sen yksikön tilavuus V , käänteishilan parametrit ovat $a^*, b^*, c^*, \alpha^*, \beta^*, \gamma^*$ ja yksikön tilavuus V^* ja niiden aloituspaikka on sama.¹ Lisäksi vektoreiden ominaisuudet ovat kuten yhtälöissä (3) ja (4)

$$a \cdot b^* = a \cdot c^* = b \cdot c^* = a^* \cdot b = a^* \cdot c = b^* \cdot c = 0 \quad (3)$$

$$a \cdot a^* = b \cdot b^* = c \cdot c^* = 1 \quad (4)$$

Käänteishila sijaitsee teoreettisessa käänteisavaruudessa, jonka jokainen piste vastaa yhtä kidehilan tasoa.¹ Braggin yhtälöstä ja käänteishilan ominaisuuksista voidaan johtaa tulos, jonka mukaan diffraktio tapahtuu aina, kun sirontavektori on yhtä suuri kuin käänteishilan hilavektori. Sirontavektori muodostuu, kun lähteestä saapuvan säteilyn vektori vähennetään kohteesta siroavan säteilyn vektorista. Käänteishilan hilavektori on vektori käänteishilan aloituspisteestä yhteen käänteishilan pisteeseen, joka määräytyy kidehilan ominaisuuksien mukaan. Esimerkiksi valittaessa kidehilalta piste hkl , diffraktio tapahtuu vain siinä kulmassa, jonka sirontavektori on yhtä suuri kuin käänteishilan hilavektori, jonka suuruus riippuu kidehilan pisteestä. Tämä on erittäin hyödyllinen tieto, jota käytetään Ewaldin rakennelman hyödyntämisessä.

Sirontavektorin suuruus ja suunta riippuvat säteilyn lähteestä ja käänteishilan hilavektorin suuruus ja suunta puolestaan tarkasteltavasta kidehilan pisteestä. Ewaldin rakennelmassa yhdistetään nämä käsitteet siten, että sen avulla voidaan päätellä, missä diffraktio voi käytännössä tapahtua.¹ Ewaldin rakennelmassa piirretään ensin pallo, jonka säde on $1/\lambda$, ja se sijoitetaan niin, että Braggin yhtälö täyttyy ja diffraktio tapahtuu aina, kun käänteishilan piste osuu pallon pintaan. Tämän jälkeen detektori voidaan asettaa oikeaan kohtaan ja diffraktio saadaan mitattua.

2.1.2 Röntgensäteiden valmistus ja muokkaus

Röntgensäteet ovat sähkömagneettisen säteilyn laji, jonka aallonpituus on 10 nanometristä 0,01 nanometriin. Röntgendiffraktiossa käytettävää monokromaattista röntgensäteilyä valmistetaan seuraavalla tavalla: korkeajännitteellä kiihdytetty elektronisuihku osuu metallipintaan, jolloin elektronit törmäävät metalliatomeihin ja menettävät useiden törmäysten aikana huomattavan osan nopeudestaan.³ Tämän seurauksena syntyy jatkuva spektri röntgensäteitä, jota kutsutaan valkoiseksi säteilyksi. Jos metalliatomiin osuvien elektronien energia on tarpeeksi suuri, erottuu myös toisen tyyppinen röntgenspektri valkoisen säteilyn aiheuttaman spektrin lisäksi. Tämä spektri ei ole jatkuva vaan siinä erottuu teräviä piikkejä. Lisäksi spektri on jokaiselle aineelle tunnusomainen, sillä siinä erottuvat piikit sijaitsevat tietyllä aineella aina samalla aallonpituudella. Näiden piikkien voimakasta röntgensäteilyä käytetään röntgendiffraktion säteilylähteinä. Vain kahden metallin, kuparin ja molybdeenin, tunnusomaisilla piikeillä on tarpeeksi voimakas intensiteetti käytettäväksi röntgendiffraktiossa, minkä takia diffraktiota varten käytössä olevien aallonpituuksien määrä on rajallinen. Röntgensäteiden valmistukseen tällä tavalla käytetään useimmiten joko sinetöityä putki- tai pyöriväänodigeneraattoria.

Röntgensäteitä voi valmistaa myös synkrotronilla. Synkrotroni on hiukkaskiihdytin, jossa varatut partikkelit kiertävät samaa kehää erittäin tehokkaassa vakuuissa.³ Tällöin syntyy elektromagneettista säteilyä, mm. röntgensäteilyä, jonka laji riippuu elektronien nopeudesta. Synkrotronilla tuotetun röntgensäteilyn etu on se, että sitä saadaan tuotettua erittäin laajalla aaltopituusalueella, jolloin kokeessa käytetty aallonpituus voidaan määrittää tarkasti optimaalisten tulosten saamiseksi tai diffraktioita voidaan mitata laajalla aallonpituusalueella, lisäksi synkrotronilla tuotettu säteily on hyvin voimakasta. Synkrotronilla saadaan

tuloksia nopeammin, tutkittavia aineita tarvitaan vähemmän ja spektrien resoluutio on parempi verrattuna perinteisiin röntgendiffraktiomenetelmiin. Synkrotronimenetelmän avulla suoritettun röntgendiffraktion suurin ongelma onkin hinta. Synkrotronit ovat ympärysmitaltaan vähintään useita kymmeniä metrejä ja monet niiden valmistukseen tarvittavat komponentit ovat erittäin kalliita. Tästä syystä synkrotroneja on vain harvoilla tutkimuslaitoksilla. Maailman suurin synkrotroni on tällä hetkellä CERNissä sijaitseva vuonna 2008 valmistunut Large Hadron Collider, jonka ympärysmitta on 27 kilometriä.⁴

Diffraktiossa käytettävän röntgensäteilyn tulee olla rajattu mahdollisimman tarkasti vain yhdelle aallonpituudelle ja säteilyn tulee tulla kohteeseen tarkasti määritellystä suunnasta mahdollisimman kapeana säteenä.³ Optimaalisesti säteen tulisi olla vain yhtä aallonpituutta ja mahdollisimman keskitetty. Röntgensäteilyn aallonpituutta ja kapeutta muokataan monin tavoin. Säteily voidaan esimerkiksi suodattaa väärää aallonpituuksia suodattavan suodattimen läpi. Kuparia käytettäessä saadaan valkoisen säteilyn lisäksi vahva K_{α} -dupletti- ja heikompi K_{β} -singlettipiikki, joista K_{β} -piikki suodatetaan pois ohuen nikkelisuodattimen avulla. Toinen apuväline aallonpituuden muuttamisessa halutuksi on kidemonokromaattori. Kun kidemonokromaattoriin kohdistetaan röntgensäteilyä, kiteestä diffraktoituu säteilyä, joka on vain yhtä aallonpituutta. Tämä aallonpituus riippuu kiteen muodosta ja laadusta. Lisäksi siihen vaikuttaa kulma, jossa säde kohdistetaan kiteeseen ja kulma, josta kiteestä monokromatoitu säde otetaan talteen.

Kollimaattoreita puolestaan käytetään mahdollisimman kapean röntgensäteen tuottamiseen.³ Tämä tapahtuu ohjaamalla säde ohuen neulanreiän läpi, jolloin vain neulanreiän suuntaisesti kulkevat säteet pääsevät jatkamaan matkaa. Myös peilejä käytetään apuna säteen muokkaamisessa. Niiden avulla sädettä voidaan keskittää kapeammaksi ja oikein asetelluilla peileillä väärää aallonpituuksia voidaan suodattaa pois. Perinteisissä röntgendiffraktiomenetelmissä käytetään röntgensäteen muokkaamiseen useimmiten suodattimia ja kollimaattoreita. Synkrotronilla tehtävän röntgensäteilyn muokkaukseen käytetään puolestaan useimmiten kidemonokromaattoreita ja peilejä.

2.1.3 Detektorit

Röntgendiffraktiossa käytettävät detektorit voidaan luokitella kolmeen eri luokkaan: pistedetektoreihin, lineaarisiin detektoreihin ja aluedektoreihin.⁵ Nykyään röntgendiffraktiossa käytetään lähes pelkästään aluedektoreita niiden erinomaisen mittaussopeuden ansiosta.⁶ Lisäksi niillä saadaan tuloksia heikompileatuisista kiteistä. Liian vähäisistä heijastuksista johtuvat tulkinnat ovat myös epätodennäköisempiä, koska aluedektoreilla saadaan kerättyä paljon heijastuksia kerralla.

Pistedetektorit mittaa diffraktiota nimensä mukaisesti vain yhdestä pisteestä.⁵ Tästä syystä joko sitä tai näytettä pitää liikuttaa, jotta kaikki diffraktiointensiteetit saadaan mitattua. Pistedetektorin etuna on, että toisinkuin lineaariset detektorit ja aluedetektorit pistedetektorit mittaa diffraktion vain yhdestä kohtaa, jolloin se ei ole niin altis mittaamaan ilmasta tai näyteympäristöstä johtuvaa häiriösäteilyä. Pistedetektorin haittana on sen hitaus. Yleisin laboratorioista löytyvä pistedetektorit on nimeltään tuikeilmaisoin (scintillation counter), joka toimii siten, että röntgensäteilyfotonit törmäävät fosforipintaan vapauttaen fotoneita, joiden aallonpituus on valon sinisellä alueella. Fotonit muutetaan tämän jälkeen sähköpulsseiksi, joiden suuruus on suoraan verrannollinen alkuperäisen röntgensäteen energiamäärään.

Lineaariset detektorit mittaavat röntgensäteilyn diffraktiota suuremmalta alueelta kuin pistedetektorit.⁵ Mittaus tapahtuu siten, että kaasulla täytettyyn kammioon laitettu lineaarinen detektorit, joko metallilanka tai muu vastaava, toimii anodina. Röntgensäteilyn fotonit ionisoivat kammion inertin kaasun (esim. argon) atomeita, jolloin muodostuu elektroni-ionipareja. Ioniparit siirtyvät anodia kohti, jolloin anodilla vapautuu sähköpulsseja mittaustaikasta anodin molempiin päihin. Näin saadaan laskettua röntgensäteiden paikka ja tulokulma.

Aluedetektorit mittaavat röntgensäteilyä pinta-alalta. Niillä saadaan tuloksia nopeasti ja pulveridiffraktiossa niillä voi tallentaa kerralla kokonaisia Debye-Scherrer renkaita.⁵ Ensimmäiset aluedetektorit käyttivät mittaukseen röntgenvalokuvausfilmiä. Nykyaikaiset aluedetektorit puolestaan käyttävät useimmiten joko Image Plate- tai CCD-kennoa, joka on fosforikalvoon valokuiduilla kiinnitetty pieni lastu. Mittaus tapahtuu siten, että CCD kenno havaitsee kaikki fosforikalvolle osuvat röntgensäteilyfotonit ja muodostaa niistä kuvan, joka siirtyy CCD-kennoilta tietokoneelle. CCD-kenno muodostaa näitä kuvia erittäin

nopeasti, usein kuva saadaan mitattua alle sekunnissa. Image Plate-kennot ovat CCD-kennoja paljon suurempia aluedetektoreita, joissa diffraktoituvat röntgensäteet tallentuvat fosforilevyille, josta tiedot pitää erikseen lukea.⁶ Image Plate-kennoissa on hyvä avaruudellinen resoluutio ja tallennusteho. Lisäksi ne ovat suhteellisen halpoja. Niiden huono puoli on, että Image Plate-kennolla suoritettut mittaukset ovat paljon hitaampia kuin CCD-kennolla tehdyt mittaukset.

2.1.4 Yksikidediffraktio

Yksikidediffraktiossa röntgendiffraktiota mitataan yhdestä tarpeeksi suuresta (0,1-1 mm) ja hyvälaatuisesta kiteestä ja yhdisteen rakenne pyritään määrittämään saadun tiedon perusteella. Tätä varten kiteestä pitää pystyä mittaamaan kaikki erilaiset diffraktoituvat intensiteetit.³ Tämä onnistuu kahdella tavalla: Joko kidettä tulee säteilyttää niin monella eri röntgensäteilyn aallonpituudella, että kaikki eri intensiteetit saadaan mitattua tai kidettä pitää käännellä ja liikuttaa niin, että kaikki intensiteetit saadaan mitattua. Ensimmäistä näistä tavoista kutsutaan Lauen menetelmäksi ja tällä tavalla tehtiin ensimmäiset röntgendiffraktiomääritykset. Lauen menetelmää käytetään nykyään vain synkrotronilla suoritettavissa röntgendiffraktioissa, koska muut laitteistot toimivat monokromaattisella säteilyllä, jolloin käytössä olevien aallonpituuksien määrä on rajallinen. Laitteistoilla, jotka käyttävät monokromaattista säteilyä, röntgendiffraktio suoritetaan kääntelemällä tutkittavaa kidettä eri tavoin. Yleisin näytteen liikutteluun käytetty tapa on nelikehädiffraktometri. Nelikehädiffraktometrillä tutkittavaa kidettä voi käännellä neljällä eri tavalla, jolloin kaikki rakenteen määrittämiseen tarvittavat heijastukset saadaan mitattua.

Kristallografian suurin ongelma on tarvittavien kiteiden valmistus. Tutkittava yhdiste pitää saada kiteytymään riittävän suureksi ja hyvälaatuiseksi yksittäiskiteeksi. Jos kiteytys onnistuu, voidaan kristallografiolla saada erittäin tarkkoja tietoja yhdisteen rakenteesta. Orgaanisten molekyylien tapauksessa saatu tieto riippuu vahvasti tutkittavan kiteen koosta ja laadusta ja tutkittavan molekyylin koosta.⁴ Parhaista kiteistä saadaan atomien sidospituudet Ångströmin tuhannesosien tarkkuudella, mutta varsinkin erittäin suurilla molekyyleillä ja heikommin kiteytyvillä aineilla tarkkuus voi jäädä Ångströmin kymmenesosiin. Koska orgaanisissa molekyyleissä atomien välisten sidosten pituudet vaihtelevat vain vähän (esimerkiksi hiili-hiili yksittäissidoksen pituus on 1,54 Å:a,

kaksoissidoksen 1,33 Å:a ja kolmoissidoksen 1,20 Å:a.), erilaisten sidostyyppien määrittämiseksi mahdollisimman suuri tarkkuus on erittäin tärkeää.

2.1.5 Pulveridiffraktio

Pulveridiffraktiossa näyte ei ole yksittäiskide, vaan se koostuu erittäin suuresta määrästä pieniä satunnaisesti asettuneita samanlaisia kiteitä.³ Tästä syystä se soveltuu hyvin näytteille, joita on vaikea kiteyttää riittävän suuriksi yksittäiskiteiksi. Jos diffraktiossa käytetty näyte on hyvälaatuinen, siitä saadaan mitattua riittävästi diffraktiointensiteettejä vain yhdellä aallonpituudella ja liikuttelematta näytettä. Tämä johtuu siitä, että näytteen kiteet ovat satunnaisesti asettuneita, jolloin osa näytteestä on aina oikeassa asennossa jokaista mahdollista diffraktiota varten. Usein näyte ei kuitenkaan ole täydellinen ja sitä pitää käänellä kuten yksikidediffraktiossa. Toisin kuin yksikidediffraktiossa, jossa diffraktio ilmenee yhtenä pisteenä detektorilla, pulveridiffraktiossa röntgensäteily diffraktoituu näytteestä joukkona moniin erisuuntiin suuntautuvia pisteitä, jotka yhdessä muodostavat kartion pinnan, jonka kärki on näytteen kohdalla. Näitä kartioita kutsutaan Debye-Scherrer -kartioiksi. Jos detektori on tasainen levy, ne muodostavat muiden diffraktioiden kanssa joukon Debye-Scherrer -renkaita. Usein näytteen kääntämisen lisäksi diffraktiota mitataan mahdollisuuksien mukaan myös eri aallonpituuksilla, jolloin jokaisella aallonpituudella saadaan muodostettua oma joukkonsa Debye-Scherrer -renkaita. Pulveridiffraktiolla ei saada yhtä tarkkoja tuloksia kuin yksikideröntgenkristallografiolla, mutta sen etu on näytteen valmistuksen helppous ja nopeus. Sitä käytetäänkin paljon tuntemattomien aineiden nopeaan tunnistamiseen, koska näyte on nopea mitata ja sen jälkeen suhteellisen helppo tunnistaa käyttäen erilaisia kattavia tietokantoja kuten Powder Diffraction File (PDF).

2.1.6 Tulosten käsittely ja rakenteen määrittäminen

Pulveridiffraktiolla saatujen tulosten perusteella voidaan joskus ratkaista tutkittavan yhdisteen rakenne, mutta se on erittäin haastavaa jopa silloin kun tutkitaan suhteellisen pieniä epäorgaanisia molekyyliä. Yksikidediffraktiomittauksessa tulokseksi on saatu suuri joukko heijastuksia, ja jokaisesta niistä on mitattu *hkl*-indeksit, joita kutsutaan myös Millerin indekseiksi.⁸ Indeksit määrittävät paikan, jossa diffraktio tapahtui. Lisäksi on

mitattu heijastuneen säteilyn intensiteetti ja laskettu jokaiselle intensiteetille keskihajonta $\sigma(I)$. Keskihajonta on mittaustarkkuuden ja mittauksen luotettavuuden mitta, ja se lasketaan röntgensäteiden valmistusmenetelmästä ja diffraktioprosessin ominaisuuksista tilastoitujen tietojen avulla.

Ennen rakenteen määrittystä suoritetaan mittaustulosten käsittely (data reduction), jossa mitattuja intensiteettejä käsitellään eri tavoin.⁸ Käsittelytavat riippuvat mm. säteilyn osittaisesta polarisoitumisesta, mittaolosuhteista ja mittaustulostesta. Tällä tavalla mitatut intensiteetit saadaan muutettua muotoon, jossa niitä voi käyttää rakenteen ratkaisuun.

Rakenteen ratkaisu pelkästään mitattujen intensiteettien avulla ei ole mahdollista.⁸ Tämä johtuu siitä, että röntgendiffraktiota mitattaessa saadaan mitattua vain diffraktoituneen röntgensäteilyn suhteellinen intensiteetti, mutta ei säteilyn suhteellista vaihetta, mikä vaikeuttaa yhdisteen rakenteen matemaattista ratkaisua huomattavasti. Tätä kutsutaan faasiongelmaksi. Faasiongelman ratkaisemiseksi on kehitetty useita eri menetelmiä, joista tärkeimmät ovat Pattersonin menetelmä ja suorat menetelmät.

Pattersonin menetelmää kutsutaan myös Pattersonin synteetiksi, Pattersonin funktioksi ja Pattersonin kartaksi.⁸ Pattersonin menetelmässä suoritetaan ensin Fourier-muunnos, jossa kaikki säteilyn vaiheet on asetettu nolaksi ja jossa hyödynnetään mitattujen intensiteettien avulla laskettuja diffraktoituneiden säteiden amplitudeja. Fourier-muunnoksen avulla saadaan tulokseksi malli, jossa näkyy miten atomit ovat asettuneet toisiinsa nähden, mutta siitä ei selviä, miten atomit ovat asettuneet kiteen alkeiskopissa. Pattersonin kartasta voidaan myös erottaa, mitkä atomit ovat atomipainoltaan ”raskaita” ja mitkä ”kevyitä”, koska piikin suuruudet spektrissä riippuvat osittain piikkiä vastaavan atomin järjestysluvusta. Pattersonin menetelmä sopii parhaiten yhdisteille, joissa on paljon kevyitä atomeja ja joitakin raskaita atomeja.

Suorat menetelmät soveltuvat usein paremmin puhtaasti orgaanisten yhdisteiden ratkaisuun, koska niissä on paljon saman tai melkein saman järjestysluvun omaavia atomeja.⁸ Suorat menetelmät tarkoittavat tapoja, joissa tutkittavasta aineesta mitattujen heijastusten vaiheet pyritään ratkaisemaan lähes ainoastaan mitattujen intensiteettien perusteella. Suorissa menetelmissä valitaan mitattujen heijastusten joukosta ne, jotka vaikuttavat eniten Fourier-

muunnokseen. Seuraavaksi selvitetään näiden heijastusten vaiheiden väliset suhteet. Tämän jälkeen joidenkin lupaavien vaiheiden arvojen, heijastusten suhteiden ja mitattujen intensiteettien arvoilla lasketaan Fourier-muunnokset, joista yritetään nähdä tunnistettavia molekyylin piirteitä. Suorien menetelmien onnistuneella käytöllä voidaan usein ratkaista molekyylin kaikkien atomien paikat vetyatomeja lukuun ottamatta.

Usein vain osa tutkittavan yhdisteen rakenteesta saadaan selville Pattersonin synteessin ja/tai suorien menetelmien avulla. Tällaisessa tapauksessa saatua osittaista rakennetta voidaan tarkentaa hienontamalla, jolloin tunnetun osittaisrakenteen vaiheille tehdään Fourier-muunnos ja saatua diffraktiomallia verrataan mitattuun diffraktioon.⁸ Tämän jälkeen tehdään taas Fourier-muunnos käyttäen mitattuja amplitudiarvoja ja tunnetun osittaisrakenteen avulla arvioituja vaiheen arvoja. Näin saadaan parempi rakenne, josta voidaan löytää uusia atomeja. Tämän jälkeen menetelmää toistetaan kunnes kaikki atomit on löydetty. Yhdisteen kaikkien atomien, vetyatomeja lukuun ottamatta, löytymisen jälkeen saatu rakenne muokataan lopulliseen muotoon, joka vastaa mahdollisimman hyvin Fourier-muunnoksella laskettua diffraktiomallia ja mitattua diffraktiomallia.

2.1.7 Esimerkkejä röntgendiffraktion käytöstä foldameerien rakennemäärittämisissä

Lee *et al.*⁹ ovat määrittäneet röntgenkristallografiolla anti-apoptoottiseen proteiiniin Bcl-x_L sitoutuneen kierteisen α/β -peptidifoldameerin rakenteen. Rakenteen määrittämiseen käytettiin pyöriväänodigeneraattorilla tuotettuja monokromaattisia CuK _{α} -röntgensäteitä, joiden aallonpituus oli 1,54 Å. Yhdiste kiteytettiin sitting-drop menetelmällä. Tässä menetelmässä proteiinitippa on erillisellä korokkeella liuottimen yläpuolella.

Angelici *et al.*¹⁰ käyttivät pulveridiffraktiota mm. foldameerin Boc-(L-Phe-D-Oxd)₂-OBn rakenteen määrittämiseen. Materiaali oli erittäin hyvin kiteytynyt, mikä ilmeni kuviossa näkyvistä terävistä diffraktiopiikeistä. Kuviot mitattiin käyttäen CuK _{α} säteilyä ($\lambda=1,5418\text{Å}$).

2.2 Neutronidiffraktio

Neutronidiffraktio on menetelmä, jolla aineen rakenteesta pyritään saamaan uutta tietoa kohdistamalla siihen neutronisäteilyä ja tutkimalla diffraktoituneesta säteilystä saatuja

tietoja. Neutronidiffraktometrit ovat erittäin kalliita ja niiden ylläpito on erittäin vaativaa. Tekniikkaa käytetäänkin yleensä vain, jos rakennetta ei saada ratkaistua muilla tavoilla.

Vuonna 1936 Elsasser ennusti, että neutronit diffraktoituisivat kiteisistä materiaaleista, mikä todistettiin jo samana vuonna Halbanin ja Preiswerkin sekä Mitchellin ja Powersin toimesta.¹¹ Ensimmäinen neutronidiffraktometri valmistettiin Argonnessa USA:ssa vuonna 1945.

2.2.1 Teoria

Neutroni kuvataan usein atomin ytimen osana, jolla ei ole mitattavaa sähkövarausta. Toisin kuin röntgensäteilyllä neutroneilla on massa ja spin, joka on $\frac{1}{2}$.¹² Neutronin aallonpituus riippuu tästä syystä sen nopeudesta De Broglien yhtälön (5) mukaisesti:

$$\lambda = \frac{h}{m_n v} \quad (5)$$

Yhtälössä h on Planckin vakio, v on hiukkasen nopeus, m_n on neutronin massa ja λ on aallonpituus. Neutronit ovat varauksettomia, joten ne läpäisevät useimpia materiaaleja hyvin.¹² Poikkeuksina ovat näytteet, jotka sisältävät gadoliniumia ja samariumia sekä tiettyjä isotooppeja, kuten ^6Li ja ^{10}B . Näiden aineiden ytimet absorboivat neutroneja tehokkaasti ja vapauttavat γ -säteilyä. Lisäksi neutroneilla on elektromagneettista vuorovaikutusta sellaisten ytimien kanssa, joilla on spin. Vuorovaikutuksen suuruus riippuu ytimen spin-tilasta. Esimerkiksi ^1H protonin spin-ylös- ja spin-alas-tilasta johtuvat vuorovaikutukset aiheuttavat huomattavan häiriön mittauksen taustalla. Tästä syystä neutronidiffraktio mittauksissa käytetään mieluiten deuteroituja näytteitä. Neutronidiffraktion vahvuus riippuu myös ytimen rakenteesta ja voi vaihdella huomattavasti jopa alkuaineen eri isotooppien välillä.

Neutronit diffraktoituvat atomien ytimistä vahvojen vuorovaikutusten takia.¹² Vahvat vuorovaikutukset ovat yksi neljästä hiukkasfysiikan standardimallin vuorovaikutuksista. Se on voima, joka sitoo yhteen atomien ytimen protonit ja neutronit sekä kvarkit, joista mm. protoni ja neutroni koostuvat. Magneettisista aineista neutronit voivat diffraktoitua myös atomin elektroneista.¹¹ Neutronidiffraktiossa käytettävien neutronien aallonpituudeksi

mainitaan usein 1,8 Å, joka sopii hyvin rakenteen ratkaisuun tähtääviin mittauksiin.¹² Neutroneiden siroamisamplitudi ei vaihtelee kovinkaan paljon atomin järjestysluvun mukaan.¹¹ Esimerkiksi lyijyatomien siroamisamplitudi on vain noin 50 % suurempi kuin hiiliatomien vastaava amplitudi. Röntgensäteilyn vastaava amplitudien suhde on 20:1. Amplitudin suuruus riippuu sen sijaan vahvasti ytimen rakenteesta.¹² Tästä syystä se voi vaihdella huomattavasti alkuaineen eri isotooppien välillä. Amplitudin vaihtelu alkuaineen eri isotooppien välillä voi olla yhtä suurta kuin vaihtelu suhteellisen kevyen ja raskaan atomin välillä. Tästä syystä eri atomien tunnistus neutronidiffraktion avulla on vaikeaa. Neutroni diffraktion kenties tärkein etu on kuitenkin se, että sen avulla voidaan havaita myös tutkittavassa aineessa olevat kevyet atomit, esimerkiksi vetyatomit, joita on usein vaikea havaita röntgendiffraktion avulla.¹³ Neutronidiffraktio tapahtuu kiteessä Braggin yhtälöllä (2) lasketussa kulmassa.¹¹ Myös muut diffraktion teorian perusasiat kuten käänteishila ja Ewaldin pallot, joista puhuttiin röntgendiffraktion teorian yhteydessä (kpl 2.1.1), pätevät neutronidiffraktioon.

2.2.2 Neutronisäteen valmistus- ja mittausmenetelmät

Nykyään on käytössä kaksi tapaa valmistaa neutronisäteilyä, joka on riittävän intensiivistä diffraktiomittauksia varten. Molemmat tekniikat perustuvat fissioon ja ovat erittäin kalliita ja vaativia.¹² Tästä syystä niitä ei ole mahdollista suorittaa tavallisissa laboratorioolosuhteissa.

Ensimmäinen tavoista on neutronisäteilyn tuottaminen ydinreaktorin avulla. Reaktorissa vahvasti rikastetulle ²³⁵U:lle tapahtuu fissioreaktio, jonka seurauksena vapautuu neutroneita.¹² Tarpeeksi tehokasta reaktiota varten uraania tarvitaan useita kiloja. Reaktiota jäähdytetään raskaalla vedellä (D₂O, 35 °C), joka myös heijastaa neutroneita ja auttaa keskittämään niitä mahdollisimman pienelle alueelle. Raskas vesi myös hidastaa neutroneita, jolloin muodostuu raskaan veden lämpötilaa vastaava aallonpituuksien Maxwellin jakauma. Näin saadaan valmistettua neutroneita, joiden aallonpituus on 1-2 Å:a. Jos mittausta varten tarvitaan neutroneita, joilla on suurempi tai pienempi aallonpituus, neutroneiden lämpötilaa muuttamalla voidaan valmistaa eri aallonpituuden omaavaa neutronisäteilyä.

Toinen tapa valmistaa neutronisäteilyä diffraktiomittauksia varten on spallaatio, jossa raskasmetallikohdetta pommitetaan korkean energian omaavilla hiukkasilla.¹² Reaktiossa käytetään metallina mm. Pb:ä, W:a, Ta:a tai Hg:aa. Reaktiossa käytetyt korkeaenergiset hiukkaset ovat yleensä protoneita, jotka on kiihdytetty jopa 1 GeV energiaan asti. Törmäyksessä vapautuu korkean energian omaavia neutroneita, jonka jälkeen neutronisäde ohjataan vesikerroksen tai nestemäistä metaania sisältävän kerroksen läpi neutroneiden hidastamiseksi ja niiden lämpötilan tasaamiseksi.

Neutroneilla ei ole varausta ja ne eivät ionisoi atomeja eivätkä molekyyliä.¹² Tämä tekee niiden havainnoinnista röntgensäteilyn havainnointia vaikeampaa. Kiteestä diffraktoituvia neutroneita havainnoidaan useimmiten suhteellisella kaasudetektorilla (proportional gas type detector). Detektorin toiminta perustuu siihen, että detektorissa käytettyjen kaasuatomien ytimet absorboivat neutroneita. Tämän jälkeen niistä vapautuu γ -säteilyfotoneja, jotka voidaan havaita. Yleisin detektoreissa käytetty kaasu on ^3He , joka sopii parhaiten neutroneille, joiden aallonpituus on 1-2 Å luokkaa. Toinen on $^{10}\text{BF}_3$, joka sopii parhaiten neutroneille, joilla on suurempi aallonpituus.

Neutronidiffraktiomittauksissa käytetään joko monokromaattisia tekniikoita tai lentoaikatekniikoita (TOF).¹² Molemmilla tekniikoilla on omat hyvät puolensa. Lentoaikatekniikoilla suuri osa polykromaattisella neutronilähteellä tuotetuista neutroneista saadaan käytettyä ja kaikki tarvittavat tiedot korkearesoluutiomallia varten saadaan mitattua kerralla. TOF-tekniikalla mitattuun spektriin tulevien huippujen muotojen mallinnus on monimutkaisempaa ja huomioon pitää ottaa joitakin energiasta riippuvia tekijöitä kuten neutronilähteen tarkka intensiteettijakauma ja näytteen absorptio. Monokromaattisilla tekniikoilla on helpompi mitata suuret kiteen hilatasojen väliset etäisyydet ja spektriin tulevien huippujen muodon ja mitattujen intensiteettien mallinnus on yksinkertaisempaa.

Monokromaattisissa tekniikoissa neutronisäde muokataan haluttuun aallonpituuteen kidemonokromaattorilla.¹² Vaikka neutroneiden valmistuksessa syntyy vain valkoista säteilyä, jonka intensiteetti on suurin piirtein tasaista kaikilla aallonpituuksilla, kidemonokromaattorilla voidaan tuottaa vain joitakin neutronisäteilyn aallonpituuksia. Tämä johtuu kiteen hilan ominaisuuksista, joiden takia diffraktio kiteestä voi tapahtua vain tietyissä kulmissa ja siten vain tietyillä aallonpituuksilla. Käytössä olevien aallonpituuksien

määrä ja aallonpituudet riippuvat kidemonokromaattoreista ja joissain tapauksissa myös diffraktometrin kulmasta, mikäli diffraktometriä voidaan käänellä. Lopuksi monokromaattorilla muokatusta säteestä suodatetaan pois viimeisetkin hitaampien neutronien aiheuttamat aallonpituudet, joita monokromaattorilla muokattuun säteilyyn väistämättä jää.

Lentoaikatekniikoissa (TOF) hyödynnetään De Broglie'n yhtälön osoittamaa suhdetta, jonka mukaan neutronin aallonpituus on kääntäen verrannollinen sen nopeuteen. Tällöin neutronit, joilla on suurempi aallonpituus, saapuvat detektorille myöhemmin kuin ne neutronit, joilla on lyhyempi aallonpituus.¹² TOF-tekniikassa käytetään polykromaattista pulssitettua neutronisädettä ja jokaisen neutronin saapumisaika detektorille tallennetaan. Tämän tiedon avulla voidaan laskea neutronin aallonpituus ja kiteen, josta se diffraktoitui, kiderakenteen etäisyys toisistaan. TOF-tekniikoissa neutronit tuotetaan yleensä spallaatiotekniikalla.

2.3 Elektronidiffraktio

Elektronidiffraktio on harvinaisempi menetelmä, jota voidaan myös käyttää kiteisten aineiden rakenteen ratkaisuun.¹⁴ Yleensä rakenteen ratkaisu tehdään elektronidiffraktiomallien ja elektronimikroskoopilla mitattujen kuvien avulla. Vaikka on olemassa myös elektronidiffraktometrejä, elektronidiffraktio suoritetaan yleensä elektronimikroskopia-laitteistoilla, erityisesti läpivalaisuelektronimikroskoopeilla (TEM).

Vuonna 1924 de Broglie tuli laskujensa perusteella tulokseen, jonka mukaan lähes valonnopeudella liikkuvilla hiukkasilla on oma aallonpituutensa, joka riippuu hiukkasen nopeudesta ja massasta.¹⁵ Tämä todistettiin kokeellisesti vuonna 1927 Davissonin ja Germerin sekä Thomsonin toimesta diffraktiomittausten avulla. Ensimmäinen elektronimikroskooppi rakennettiin Berliinissä Max Knollin johtamassa tutkimusryhmässä. Elektronimikroskoopin käsite esiintyy ensimmäisen kerran kirjallisuudessa vuonna 1931, kun Reinhold Ruedenberg haki sille patenttia Siemensin instrumenttiosaston puolesta. Vainshtein kollegoineen käytti elektronidiffraktiota ensimmäisen kerran kiderakenteiden ratkaisuun Neuvostoliitossa 1940-luvulla.¹⁶

2.3.1 Teoria

Elektronin lepomassa on $9,109 \cdot 10^{-31}$ kg ja sillä on negatiivinen sähkövaraus, jonka suuruus on $1,602 \cdot 10^{-19}$ C:a, eli yksi alkeisvaraus (e).¹⁷ Kuten neutronin, elektronin aallonpituus riippuu de Broglien yhtälöstä (5), jonka mukaan elektronin aallonpituus riippuu sen nopeudesta ja massasta.

Vaikka röntgendiffraktio on paras tapa tarkkaa ja täydellistä kiderakenteen ratkaisua varten, elektronidiffraktiolla on ominaisuuksia, jotka joissakin tapauksissa tekevät siitä rakenteen ratkaisun kannalta paremman vaihtoehdon tai sillä voidaan ainakin saada röntgendiffraktiolla saatuja tuloksia täydentävää tietoa.¹⁴ Elektronit siroavat aineesta paljon tehokkaammin kuin neutronit tai röntgensäteet. Tästä syystä elektronidiffraktio sopii hyvin näytteille, joita on saatavilla vain erittäin pieniä määriä, tai näytteille, jotka muodostavat erittäin pieniä kiteitä. Elektronidiffraktiolla tutkittavat kiteet voivat olla jopa 10^{-4} μm^3 :n suuruusluokkaa. Elektronidiffraktion mittaus onnistuu myös näytteistä, jotka ovat ohuilla kalvoilla.¹⁸ Elektronit eroavat röntgensäteistä ja neutroneista myös siinä, että ne voidaan keskittää magneettilinssien avulla korkean resoluution elektronimikroskooppikuvaksi (HREM, high resolution electron microscopy), josta voidaan löytää vaihearvoja, joita elektronidiffraktiointensiteeteistä ei voida saada selville.¹⁴ Elektronidiffraktiolla voidaan myös mitata elektrostaattisen potentiaalın jakaantumista kiteessä.

2.3.2 Mittaukset ja tulosten käsittely

Elektronisäteilyä valmistetaan erilaisten elektronisäteilimien tai elektronitykkien avulla.¹⁹ Tällaisia elektronitykkeitä löytyy myös kuvaputkitelevisioista ja -näytöistä. Säteilyn valmistus tapahtuu siten, että metallipinnasta irrotetaan elektroneja esimerkiksi fotoniemissiolla, jossa metallipintaa pommitetaan fotoneilla, kuumennusemissiolla (thermonic emission), jossa metallia kuumennetaan ja vapautetaan elektroneja, tai sekundääriemissiolla, jossa metallipintaa pommitetaan elektroneilla. Viimeksi mainittua tapaa käytetään kuvanmuodostukseen. Kenttäemissiossa (field emission) vahva positiivinen varaus vetää elektronit irti metallista. Elektronimikroskooppien elektronitykit käyttävät kuumennusemissiota tai kenttäemissiota. Kuumennusemissiossa käytetty metalli tai metalliseos voi olla esimerkiksi volframia (W) tai lantaaniheksaboridia (LaB_6).

Toisin kuin röntgensäteilyä ja neutroneita elektroneja varten voidaan valmistaa linssi, jolla diffraktoituneet elektronit voidaan keskittää kuvaksi.²⁰ Tästä syystä näytteeseen kohdistetuista elektroneista saadaan muodostettua sekä mikroskooppikuva että mitattua diffraktiointensiteetit. Elektronimikroskoopeissa käytettävät magneettiset linssit voivat olla vain positiivisia. Positiivissa linssissä linssille saapuva säteily keskitetään polttopisteeseen. Magneettisessa linssissä elektronisäde kulkee magneettikentän läpi, joka keskittää elektronit yhteen pisteeseen

Elektronidiffraktiomittauksia voidaan suorittaa monilla eri tekniikoilla, jotka tukevat osittain toisiaan. Suurin osa niistä suoritetaan TEM-laitteistoilla, lukuun ottamatta elektronin takaisinsiroamisdiffraktiota (EBSD, electron backscatter diffraction), joka suoritetaan pyyhkäisyelektronimikroskooppilaitteistolla (SEM, scanning electron microscope). Tavallisia tekniikoita ovat mm. valitun alueen elektronidiffraktio (SAED, selected area electron diffraction),²¹ konvergoituvien säteiden elektronidiffraktio (CBED, convergent beam electron diffraction),²¹ mikrodiffraktio (microdiffraction) ja elektronipresessio (electron precession). SAED-tekniikassa valitaan mitattavasta näytteestä 0,1-1 µm suuruinen alue, josta mitataan diffraktio. Valitun alueen minimikoko riippuu TEM-laitteiston linssistä.²¹ CBED-tekniikassa mitataan diffraktio useissa eri kulmissa samanaikaisesti kohdistamalla elektronit moniin eri kohtiin. SAED on TEM-laitteistolla suoritettavissa elektronidiffraktiomittauksissa standarditekniikka ja CBED on erityisen hyödyllinen tekniikka kiderakenteen määrittämisessä.

Kiderakenteen ratkaisu elektronidiffraktiolla perustuu elektronien siroamiseen tutkittavan kiteen elektrostaattisesta potentiaalista.¹⁴ Kiteen elektrostaattinen potentiaali on kolmiulotteinen funktio, joka on tasaista atomien välillä, mutta jonka arvo nousee jyrkästi atomien ytimien läheisyydessä. Rakenteen ratkaisua varten on tärkeää, että mitatut intensiteetit riippuvat mahdollisimman tarkasti vain vaihesiirtymästä. Tästä syystä elektronidiffraktiota voi mitata vain erittäin ohuista kiteistä. Isommissa kiteissä ongelmaksi muodostuu elektronien huono läpäisykyky sekä monista kohdista tapahtuva siroaminen, jossa kerran sironnut elektroni siroaa uudelleen ja voi tällöin aiheuttaa epätarkkuutta mitatuissa intensiteeteissä. Mittauksia varten elektronien pitää myös sirota elastisesti eli niin, että ne muuttavat siroamisen yhteydessä vain suuntaansa eivätkä nopeuttaan. Näistä

syistä johtuen elektronidiffraktiolla mitatut intensiteetit ovat usein epätarkempia kuin röntgendiffraktiossa mitatut intensiteetit.¹⁸

Kübel *et al.*²² ovat käyttäneet SAED-tekniikkaa oligo(*m*-fenyleenietyynyleeni)foldameerien morfologian ja pakkautumisen tutkimiseen. TEM-kuvassa näkyvät aaltoilevat viivat johtuvat kutistumisesta johtuvista foldameeri heliksien orientaation muutoksista. Tähän tulokseen päädyttiin vertaamalla SAED-tekniikalla aaltoilevien viivojen eri osista mitattuja elektronidiffraktiokuvioita.

3 Spektroskooppiset menetelmät

Spektroskooppisilla menetelmillä tutkitaan aineen absorboiman tai emittoiman energian intensiteettiä energian funktiona. Spektrissä tämä energia ilmaistaan useimmiten säteilyn aallonpituutena tai taajuutena. Yleensä mitataan elektromagneettista säteilyä, mutta myös muita energioita, kuten ääniaaltojen ja hiukkasten energioita, voidaan mitata. Aineen kanssa vuorovaikuttanutta energiaa tutkitaan joko absorption tai emission kautta. Absorptiospektroskopiassa tutkitaan aineen absorboiman säteilyn intensiteettiä ja emissiospektroskopiassa tutkitaan aineen emittoiman säteilyn intensiteettiä. Spektroskooppisia menetelmiä käytetään yleisesti kiinteiden orgaanisten aineiden tutkimuksessa. Uusien aineiden rakenteen määrittämisessä käytetään pääasiassa diffraktiomenetelmiä, mutta usein spektroskooppisilla menetelmillä saadaan tietoja, jotka täydentävät ja tarkentavat varsinkin pulveridiffraktiolla saatuja tuloksia.

Tärkeimmät spektroskooppiset menetelmät kiinteiden orgaanisten yhdisteiden rakenteen tutkimuksessa ovat ydinmagneettinen resonanssi- (NMR) ja infrapunaspektroskopia (IR). Kiinteän tilan NMR ei ole vielä niin yleisesti käytetty ja monipuolinen tekniikka kuin liuostilan NMR, mutta siitä on mittaustekniikoiden kehityksen myötä muodostunut paljon käytetty ja erittäin hyödyllinen spektroskooppinen menetelmä. Infrapunaspektroskopialla voidaan tutkia monenlaisia eri yhdisteitä ja saada monipuolista tietoa, nopeasti, helposti ja luotettavasti. Tämä ja IR-laitteistojen suhteellisen edullinen hinta ovat tehneet IR-spektroskopiasta erittäin tärkeän ja yleisen analyysimenetelmän.

3.1 Infrapunaspektroskopia

Infrapunaspektroskopiaa on käytetty kaupallisesti 1940-luvulta asti. Aineen rakenteen määrittäminen infrapunaspektroskopialla perustuu molekyylin atomien värähtelyyn.²³ Tutkittavaan näytteeseen kohdistetaan infrapunasäteilyä ja näytteen absorboiman säteilyn energia ja aallonpituus mitataan. Tämän perusteella voidaan päätellä tutkittavan aineen rakenne tai ainakin tunnistaa joitakin näytteessä olevia funktionaalisia ryhmiä. Infrapunaspektroskopia on erittäin yleinen ja monipuolinen analyysimenetelmä. Mittauksia voidaan suorittaa mitä erilaisimmista näytteistä ja monenlaisilla eri tekniikoilla. Nämä ominaisuudet ovat tehneet infrapunaspektroskopiasta yhden tärkeimmistä tällä hetkellä käytössä olevista analyysitekniikoista. Nykyaikaiset infrapunaspektrometrit hyödyntävät Fourier-muunnosta, jonka avulla mitattujen spektrien laatu on parempi ja mittaukset saadaan suoritettua paljon nopeammin.

3.1.1 Teoria

Infrapunaspektroskopia perustuu heteroatomien sähköisen dipolimomentin muutoksien aiheuttamien atomien värähtelyiden takia tapahtuvien infrapuna-absorptioiden mittaukseen ja tulkintaan.²³ Värähtelyt voivat olla joko sidoksen venymisiä tai taipumisia.

Infrapunasäteily on elektromagneettista säteilyä, jonka aaltoluvut ovat välillä 13000 cm^{-1} ja 100 cm^{-1} .²³ Infrapunasäteily voidaan jakaa kolmeen eri alueeseen: Lähi-infrapuna-alueeseen ($13000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$), keski-infrapuna-alueeseen ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) ja kauko-infrapuna-alueeseen ($400\text{--}100\text{ cm}^{-1}$).

Lähi-infrapuna-alueella ($13000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$) havaitut piikit ovat yleensä sellaisten värähtelyiden aiheuttamia, joiden peruspiikit havaitaan alueella $3000\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$.²³ Lähi-infrapuna-alueen piikit ovat näiden värähtelyiden yhdistelmä- tai taustasäteilypiikkejä. Yleisimmät värähtelyt, jotka aiheuttavat tällaisia piikkejä, ovat C-H, O-H ja N-H venymiset. Havaitut piikit ovat yleensä heikkoja verrattuna keski-infrapuna-alueen piikkeihin ja niissä on usein päällekkäisyyttä muiden piikkien kanssa. Tästä syystä keski-infrapuna-alueen piikit ovat yleensä hyödyllisempiä kvalitatiivisissa analyysissä.

Keski-infrapuna-alue ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$), joka voidaan jakaa neljään osaan, on yleisin infrapunaspektroskopiassa käytetty alue.²³ X-H venymisalueelta ($4000\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$), löytyy pääasiassa O-H, C-H ja N-H venymisten aiheuttamia piikkejä ja kolmoissidosalueelta ($2500\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$), $\text{C}\equiv\text{C}$ ja $\text{C}\equiv\text{N}$ sidosten aiheuttamat piikit sekä raskaampiin atomeihin, kuten fosforiin ja piihin, kiinnittyneen vedyn aiheuttamat piikit. Kaksoissidosalueelta ($2000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$), löytyy selkeästi tunnistettava C=O absorptiopiikki sekä heikommat C=C ja C=N piikit. Neljäs alue on niin kutsuttu sormenjälkialue ($1500\text{--}600\text{ cm}^{-1}$), jonka nimi tulee siitä, että alueella voi olla jopa sata piikkiä, joiden aaltoluku vaihtelee huomattavasti johtuen molekyylin pienistäkin steerisistä ja sähköisistä vaikutuksista. Tästä syystä aluetta voidaan pitää jokaisen molekyylin ”sormenjälkenä”.

Kauko-infrapuna-alueelta mitattua spektriä ($400\text{--}100\text{ cm}^{-1}$) on paljon vaikeampi käyttää rakenteen määrittämiseen, mutta sieltä voidaan havaita raskaita atomeja sisältävien molekyylien värähtelyitä ja molekyylin runkovärähtelyitä, vääntymisistä ja kiteiden kidehilan värähtelystä johtuvia piikkejä.²⁶ Kidehilan värähtelystä johtuvat piikit syntyvät kokonaisten molekyyliketjujen liikkeistä toisiinsa nähden kiteisissä aineissa.

3.1.2 Mittaukset ja tulosten käsittely

Infrapunasäteilyn tuottamiseen on käytetty monia tapoja. Nykyään käytetään yleisimmin globar-laitetta.²³ Globar, jonka nimi tulee sanoista *glow bar*, on piikarbiditanko, joka lämmitetään sähkövirralla noin 1200 asteeseen, jolloin vapautuu infrapunasäteilyä.²⁴ Nernstin hehkuja (The Nernst Glower) on toinen infrapunasäteilyn valmistukseen usein käytetty laite, joka toimii lähes samalla tavalla kuin globar. Fourier-muunnosinfrapunaspektrometreissä (FT-IR) globaria ja Nernstin hehkuja käytetään usein keski-IR-alueen mittauksiin.²³ Kauko-IR-alueen mittaukseen käytetään esimerkiksi korkean paineen elohopealamppua ja lähi-IR-alueen mittaukseen tungsten-halogenilamppuja.

Kuten diffraktiossakin infrapunasäteen muokkaukseen ja suuntaukseen käytetään erilaisia peilejä, monokromaattoreita, kollimaattoreita ja suodattimia. Infrapunaspektroskopiassa käytetyt detektorit voidaan jakaa kahteen luokkaan: selektiivisiin detektoreihin ja lämpödetektoreihin.²³ Selektiivisten detektorien vaste riippuu saapuvan säteilyn aallonpituudesta ja lämpödetektorien vaste säteilyn lämmittävästä vaikutuksesta.

Lämpödetektorit sopivat hyvin kaikille aallonpituuksille ja paremmin spektroskooppisiin mittauksiin. FT-IR-laitteissa keski-IR-alueen detektoreina käytetään usein pyroelektronista laitetta, jossa on deuteriumtriglysiinisulfaattia lämpöä kestävässä alkalihalidi-ikkunassa.²³ Kauko-IR-alueella käytetään germaniumdetektoreita tai indium-antimonidektoreita, joiden käyttämiseen tarvitaan nestemäisen heliumin lämpötiloja. Lähi-IR-alueella käytetään usein lyijysulfidivalojohtimia.

Hajauttavat IR-spektrometrit ovat IR-laitteistoja, joiden toiminta perustuu IR-säteilyn ohjaamiseen kollimaattorin läpi monokromaattorin ja hilan kautta näytteelle, jolloin mitataan vain pieni aallonpituusalue kerrallaan. Monokromaattorin sisällä olevaa hilaa kääntelemällä saadaan valittua monokromaattorista näytteeseen kohdistuvan säteilyn aallonpituus. Ensimmäiset hajauttavat IR-spektrometrit hyödynsivät prismoja, mutta niiden käyttö väheni 1960-luvulta alkaen, kun opittiin valmistamaan halpoja ja hyvälaatuisia hiloja.²³ Hajauttavien spektrometrien ongelma on, että monokromaattorin kautta näytteeseen voidaan kohdistaa vain pieni aallonpituusalue säteilyä kerrallaan, jolloin mittaajat pitenevät. Tämä on ongelma näytteille, joiden spektri pitää mitata nopeasti, mutta ongelma on ratkaistu Fourier-muunnosspektrometreillä. Myös ilmakehässä olevien CO₂:n ja H₂O:n aiheuttama absorptio pitää ottaa huomioon IR-laitteistoissa. Tämä ongelma ratkaistaan usein käyttämällä kaksisädekojärjestelyä, jolloin toinen säde kulkee näytteen kautta detektorille ja toinen koalueen kautta detektorille. Näin mitatun tiedon avulla spektristä saadaan poistettua ilmakehän absorption aiheuttamat muutokset.

Fourier-muunnosinfrapunaspektroskopiassa hyödynnetään interferometriä spektrin mittauksessa.²³ Yleisin FT-IR-laitteissa käytetty interferometri on Michelsonin interferometri, joka koostuu säteenjakajasta ja kahdesta peilistä, joista toinen on liikuteltava.²⁴ Interferometri toimii siten, että aluksi säteilyn lähteestä kohdistetaan säde säteenjakajaan, jolloin puolet säteestä ohjautuu paikallaan olevalle peilille ja puolet liikkuvalla peilille. Peileistä säteet kimpoavat takaisin säteenjakajalle, josta ne ohjautuvat detektorille ja takaisin lähteeseen. Peileiltä palaavien säteiden kohdatessa säteenjakajalla syntyy säteiden kulkeman matkan eroista johtuvaa interferenssiä. Interferenssi voi olla liikkuvan peilin asemasta riippuen joko vahvistavaa tai hajottavaa ja interferenssin määrä ja laatu riippuvat liikuteltavan peilin asemasta ja säteen aallonpituudesta. Kun liikuteltava peili on samassa asemassa kuin paikallaan oleva peili, syntyy maksimitehoista vahvistavaa

interferenssiä detektorille suuntaavalle säteelle ja täysin hajottavaa interferenssiä säteilyn lähteelle suuntaavalle säteelle kaikilla aallonpituuksilla. Yhtä kaukana toisistaan olevien peilien tilanteessa syntyy maksimitehoinen vahvistava interferenssi detektorille suuntautuvalla säteelle. Jos liikuteltava peili siirretään aallonpituuden $\lambda/4$ etäisyyden verran kauemmaksi kuin paikallaan oleva peili suhteessa säteenjakajaan, saadaan aallonpituutta λ vastaavalle polykromaattisen säteen detektoria kohti suuntaavalle osalle täysin hajottava interferenssi. Etäisyydellä $\lambda/2$ saadaan taas mahdollisimman vahva vahvistava interferenssi detektorille suuntaavalle säteilylle. Tällä tavalla, kun peiliä liikutetaan suurinta mitattavaa aallonpituutta vastaavalla maksimivälillä ($\lambda/2$ etäisyys), saadaan mitattua koko polykromaattisen säteilyn aallonpituusalueen interferogrammit, joka kuvaa detektorille saapuvan säteen interferenssistä johtuvan säteen vahvuuden vaihtelua.

FT-IR-mittauksissa mitataan ensin interferogrammit ilman näytettä ja tämän jälkeen niin, että näyte on paikallaan.²⁴ Näitä tietoja vertaamalla ja sen jälkeen, kun interferogrammeille tehdään Fourier-muunnos, saadaan FT-IR-spektri. Signaali-kohinasuhteen parantamiseksi ja resoluution nostamiseksi mittauksia tehdään aina useita. Tämä tapahtuu kasvattamalla säteen kulkemaa matkaa liikkuvan peilin avulla ja laskemalla saaduista interferogrammeista keskiarvo, jonka perusteella spektri muodostetaan.

Interferometrin jälkeen IR-säde kulkee näytteen kautta detektoriin ja sieltä vahvistimen kautta digitaalimuuntajaan ja sieltä tietokoneelle, jossa sille suoritetaan Fourier-muunnos.²³ FT-IR-spektrometreillä on monia etuja verrattuna vanhempiin hajauttaviin IR-spektrometreihin. FT-IR spektrometreilla on parempi signaali-kohina-mittaussuhde, jossa signaali on näytteen absorptio ja kohinalla tarkoitetaan ympäristöstä ja muista syistä johtuvia häiriöabsorptioita. FT-IR-spektrometrien läpi voidaan ohjata IR-säteilyä ilman monokromaattoreita tai kollimaattoreita, jolloin detektorille saapuva energia on paljon suurempi. Näin saadaan vahvempia signaaleja ja tarkempia spektrejä. FT-IR-spektrometrin etu on myös nopeus, sillä mittaus voidaan suorittaa millisekunneissa.

Transmissiomenetelmä on vanhin IR-menetelmä.²³ Se perustuu näytteen läpi kulkeneen IR-säteen absorptio mittaukseen tietyllä aallonpituudella. Kiinteitä aineita voidaan tutkia kolmella eri tavalla transmissiomenetelmällä: Alkalihalidilevyissä näyte sekoitetaan ensin kuivaan alkalihalidipulveriin, joista yleisin on KBr. Tämän jälkeen pulveri puristetaan

läpinäkyväksi levyksi, josta mitataan IR-spektri. Alkalihalidilevyä valmistettaessa on tärkeä ottaa huomioon näytteen ja alkalihalidin suhde pulverissa, sillä näytettä tarvitaan vain 1-2 mg:aa 100 mg:aa alkalihalidia kohti. Levyjen optimipaksuus on 1 mm. Näyte-pulveriseos kannattaa jauhaa huumareessa, jotta kidekoko ei ole liian suuri.

Jauhatusmekaniikassa näytettä hienonnetaan ensin jauhamalla.²³ Näytteeseen voidaan sekoittaa pari pisaraa jauhatuseruainetta. Yleisimmin käytetty jauhatuseruaine on Nujol (nestemäinen parafiini). Myös jauhatuseruainemäärä on tärkeää ottaa huomioon eruainetta ja näytteen suhde.

Kolmas tapa kiinteän aineen mittauksiin transmissiomenetelmällä on kalvojen käyttäminen. Kalvojen valmistus tapahtuu joko liuotin- tai sulatusvalamisella. Liuotinvalamisessa näyte liuotetaan sopivaan konsentraatioon, minkä jälkeen saatu seos levitetään tasaiseksi kerrokseksi sopivalle levyille, esimerkiksi mikroskoopin lasilevyille. Tämän jälkeen liuotin haihdutetaan ja saatu kalvo irrotetaan varovasti levyiltä. Matalassa lämpötilassa sulavista näytteistä voidaan valmistaa kalvo myös sulatusvalamisen avulla. Tämä tapahtuu siten, että näyte kuumapuristetaan kahden lämmitetyn metallilevyn väliin.

Reflektanssimenetelmää käytetään usein näytteisiin, joita on vaikea analysoida transmittanssimenetelmällä.²³ Reflektanssilla tarkoitetaan heijastuneen valon osuutta heijastavasta pinnasta. Reflektanssimenetelmää voi käyttää kolmella tavalla: Sisäisillä reflektanssimenetelmillä kiteeseen, joka on näytteen vieressä, kohdistetaan säteilyä sellaisessa kulmassa, että heijastus tapahtuu aallonpituuden murto-osan matkaa näytteen sisällä. Tällöin osa säteestä absorboituu, jolloin heijastuneen ja vaimentuneen säteen avulla saadaan laskettua IR-spektri. Jos tuotetaan vain yksi reflektanssiheijastus, menetelmää kutsutaan vaimentuneen säteilyn kokonaisreflektanssimenetelmäksi (ATR, attenuated total reflectance). Monen sisäisen reflektanssin tekniikka (MIR, multiple internal reflectance) on muuten samanlainen kuin ATR-tekniikka, mutta siinä mitataan heijastuksia monesta kohtaa samanaikaisesti hyödyntäen erityisesti siihen tarkoitukseen valmistettua kideä.

Ulkoisilla reflektanssi-menetelmillä mitataan näytteen pinnasta heijastuvaa säteilyä.²³ Mitattavan näytteen pitää siis olla heijastava tai se pitää olla kiinnitettynä heijastavaan tukirakennelmaan. Heijastuva säteily voi olla peilimäistä tai hajautunutta. Kolmas reflektanssimenetelmä on fotoakustinen spektroskopia (photoacoustic spectroscopy). Tässä

tekniikassa näytteeseen kohdistettu säteily läpäisee näytteen pintaa vain muutaman mikrometrin verran. Näyte on sijoitettu akustisesti eristettyyn säiliöön, joka on täytetty inertillä kaasulla. Näyte absorboi siihen kohdistettua säteilyä ja vapauttaa sen lämpönä. Vapautuneen lämmön aiheuttamat paineen muutokset kammiossa mitataan mikrofonilla ja koska näyte absorboi säteilyä vain vibraatiota vastaavissa viritystiloissa, mitattujen akustisten vaihteluiden perusteella saadaan Fourier-muunnoksen avulla muodostettua IR-spektri.

Infrapunaspektroskopiaa on käytetty myös yhdessä joidenkin muiden kiinteän aineen rakennemääritys menetelmien kanssa. Mikro-otannassa (microsampling) IR-mittauksia tehdään mikroskooppilaitteiston kanssa, jolloin pystytään tutkimaan näytteitä, joiden koko on mikrometrin luokkaa.²³ Termoanalyttisessä IR-spektroskopiassa IR-laitteisto yhdistetään termoanalyysilaitteistoon, jolloin saadaan lisää tietoa näytteessä termisten prosessien seurauksena tapahtuvista muutoksista.

3.2 Raman-spektroskopia

Raman-spektroskopia perustuu niin kutsuttuun Raman-ilmiöön eli Raman-sirontaan.²⁵ Se on nimetty keksijänsä C.V. Ramanin mukaan, joka todisti vuonna 1928 Raman-sirontan olemassaolon. Aluksi Raman-mittaukset olivat epäsovivien säteilylähteiden takia vaikeita suorittaa, mutta laserin keksimisen jälkeen ala alkoi jälleen kasvaa.²⁶ Nyt tietokoneiden kehittyttyä ja uusien parempien suodattimien ja detektoreiden myötä Raman-spektroskopiasta on tullut hyödyllinen analyysimenetelmä.

3.2.1 Teoria

Raman-sironnalla tarkoitetaan epäelastista sirontaa, jossa siroavan säteilyn taajuus muuttuu siroamisen seurauksena.²⁵ Taajuuden muutokset vastaavat tutkittavan näytteen atomien eri vibraatioita. Raman-spektroskopiassa näytteeseen kohdistetaan intensiivinen elektromagneettisesta säteilystä koostuva monokromaattinen säde, jonka aallonpituus on yleensä näkyvän valon alueella. Suurin osa sironnasta tapahtuu Rayleigh-sirontana tai elastisena sirontana, jolloin siroavan fotonin energia tai taajuus ei muutu sirontan yhteydessä. Raman-spektrometrillä Raman-sironta saadaan kuitenkin erotettua Rayleigh-

sironnasta. Raman-sironnassa siroavan fotonin aallonpituus muuttuu, koska törmäyksessä molekyylin kanssa molekyylin vibraatio- tai rotaatioenergia muuttuu ΔE_m :n verran. Tällöin energian säilymislain mukaisesti siroavan fotonin energia muuttuu ΔE_m :n verran. Spektriin muodostuvat positiiviset Stokes-linjat, kun fotonin energia kasvaa siroamisen yhteydessä. Anti-Stokes-linjat puolestaan muodostuvat, kun fotoni menettää energiaa siroamisen yhteydessä.

Sekä Raman-spektroskopia että IR-spektroskopia perustuvat molekyylien vibraatioiden ja rotaatioiden tarkasteluun. Koska spektrien piikkien vahvuus perustuu siihen, miten tehokkaasti fotonin energia siirtyy molekyyllille, ja mekanismi, jolla fotonin energia siirtyy molekyyllille ja molekyylliltä pois, eroavat IR- ja Raman-spektroskopiassa toisistaan, IR- ja Raman-spektrit eivät ole toistensa kopioita, vaan toisiaan täydentäviä spektrejä.²⁵ Molekyylin vibraatio on Raman-aktiivinen vain, jos se aiheuttaa muutoksen molekyylin polarisaatiossa. Polarisaatiolla tarkoitetaan molekyylin elektronipilven muodonmuutoskykyä elektromagneettisen säteilyn aiheuttaman sähkökentän takia. Sähkökentässä molekyylin elektroneihin ja protoneihin kohdistuu vastakkaisia voimia, jolloin molekyyllille muodostuu ulkoisesti aiheutettu dipolimomentti.

3.2.2 Mittaukset ja laitteistot

Ensimmäisiin Raman-mittauksiin tarvittava säteily tuotettiin useimmiten elohopeakaarilampun avulla.²⁵ Elohopealampussa intensiivisin aallonpituus oli 4358 Å:ä. Muut aallonpituudet suodatettiin pois erilaisilla apuvälineillä. Ensimmäisten lasereiden tullessa käyttöön vuonna 1960 niiden hyöty Raman-spektroskopiaan tarvittavina säteilylähteinä huomattiin heti. Lasereilla saatiin tuotettua intensiivistä monokromaattista säteilyä, joka voitiin kohdistaa pienelle alueelle. Tästä syystä johtuen laserit ovat osoittautuneet ihanteellisiksi säteilylähteiksi Raman-spektroskopiassa.

Raman-mittauksia voidaan suorittaa monenlaisilla laitteistoilla. Hajauttavissa Raman-laitteistoissa mittaukset suoritetaan kohdistamalla näytteeseen monokromaattista säteilyä laserista ja ohjaamalla näytteestä siroava säteily monokromaattoriin, jossa Raman-sironta erotetaan hajautuselementin avulla Rayleigh-sironnasta.²⁶ Tämän jälkeen säteily ohjataan

vielä kahden tai kolmen monokromaattorin läpi, jotta saadaan muodostettua säde, joka koostuu riittävän suurelta osin Raman-sironneesta säteilystä.

Raman-mittausten suurin ongelma on Raman-sironnan heikkous.²⁶ Vain yksi noin 10^8 :sta siroavasta fotonista siroaa Raman-sironnalla. Tämä muodostuu ongelmaksi esimerkiksi tapauksessa, jossa näytteen sekaan on jäänyt pienikin määrä fluoresoivaa ainetta. Vaikka fluoresoivaa ainetta olisi vain miljoonasosa näytteestä, jokaista Raman-sironnutta fonia kohti fluoresoituisi silti 100 fonia. Tämä vaikeuttaa mittauksia huomattavasti. Ongelma on pyritty ratkaisemaan Fourier-muunnos Raman-laitteistoilla, joissa näytteeseen kohdistettu säteily on lähi-IR-alueella, jolloin fluoresointia tapahtuu paljon vähemmän. FT-Ramanin hyötyjä ovat myös interferometriasta johtuvat hyvä säteen keräysteho, erinomainen aallonpituustarkkuus, helposti muuteltava resoluutio ja laaja spektrialue. FT-Ramanin ongelmana on detektoreista johtuva huono signaali-kohinasuhde. Myös FT-Raman-instrumenteissa Rayleigh-sironta pitää suodattaa pois ennen signaalin saapumista detektorille.

Resonanssi-Raman spektroskopiassa siroavan säteen energia on hyvin lähellä näytteen molekyylin sähköistä energiatilaa.²⁶ Tällöin molekyyliä ympäröivä elektronipilvi on herkempi elektromagneettisen säteilyn aiheuttamille muutoksille, jolloin Raman-ilmiö voi resonoiden vibraatioiden osalta vahvistua moninkertaiseksi. Resonanssi-Raman-spektroskopiaa voidaan tehdä myös ultraviolettiresonanssi-Raman-laitteistolla (UVR), jolloin näytteen vibraatiospektriä ja elektroniviritysspektriä voidaan tutkia samanaikaisesti. UVR-spektroskopian hyötyjä ovat herkkyys ja fluoresenssin puuttuminen. Haittoja puolestaan ovat molekyylien tuhoutuminen fotoeksiteilla, molekyylien foto-oksidaatio, spektrien vääristyminen valosaturaation takia ja valon aiheuttaminen hetkellisten molekyylien syntyminen. Lisäksi ongelmana on siroavan valon intensiteetin vaihtelu heterogeenisissä näytteissä.

Raman-spektroskopiassa resoluutiota voidaan joskus myös parantaa kiinnittämällä tutkittavia näytteitä metalliklustereihin, joiden kokoluokka on kymmeniä nanometrejä.²⁶ Tässä tapauksessa mittauksiin tarvittavan näytteen määrä voi olla hyvin pieni. Tätä tekniikkaa kutsutaan pintavahvistetuksi Raman-spektroskopiaksi (SERS, surface-enhanced Raman spectroscopy). Käytettyjen metalliklustereiden pitää olla näkyvän valon

aallonpituuksiin verrattavissa olevaa kokoluokkaa. Sopivissa olosuhteissa näytteen Raman-aktiivisuus voi kasvaa jopa 10^5 kertaiseksi. Metalleina käytetään usein jalometalleja kuten kultaa tai platinaa.

Uuden polven Raman-spektrometreissä monokromaattorit ja valovahvistimet on korvattu polykromaattorilla ja monikanavadetektorilla.²⁶ Polykromaattorilla eli spektrografilla säde voidaan jakaa moneen eri aallonpituusalueeseen samanaikaisesti ja monikanavadetektorin avulla koko spektri mitata samanaikaisesti. Näiden parannusten avulla spektrien mittaukseen tarvittava aika on lyhentynyt huomattavasti. Lisäksi eri Raman-alueiden intensiteettien mittaaminen tarkentuu ja helpottuu.

3.3 Ydinmagneettinen resonanssi (NMR)

Aineen rakenteen määrittäminen ydinmagneettisella resonanssispektroskopiolla (NMR) perustuu tietyn spinin omaaville magneettisille atomiytimille tapahtuvaan sähkömagneettisen säteilyn absorptioon ja uudelleen emittoimiseen magneettikentässä, kun niihin kohdistetaan elektromagneettinen pulssi oikealla resonanssi taajuudella.²⁷ Pulssin aallonpituus on radiotaajuusalueella. Aluksi NMR-tutkimuksissa keskityttiin nestemäisten näytteiden tutkimukseen, koska kiinteiden näytteiden spektrien resoluutio oli usein erittäin huono. Kiinteän tilan NMR-tekniikat alkoivat kehittyä nopeasti vasta 1980-luvulla, jolloin korkean resoluution spektrien mittaamiseen oli kehittynyt parempia tapoja ja tutkittiin kemiallisia ongelmia, joiden ratkaisemiseen kiinteän tilan NMR sopi hyvin. Kiinteän tilan NMR:stä on muodostunut monipuolinen tekniikka, jota voidaan käyttää monenlaisiin näytteisiin monilla eri tavoilla.

Kiinteän tilan NMR-tekniikoita käytetään usein molekyylin rakenteen ja aineen ja sen molekyylien sisäisen pakkautumisen tutkimiseen sekä täydentämään pulveriröntgendiffraktiolla saatuja tietoja.²⁷ Kiinteän tilan NMR-tekniikoita voidaan käyttää myös atomien ydinten välisten etäisyyksien tarkkoihin mittauksiin. Lisäksi kiinteän tilan NMR-tekniikoilla saadaan hyödyllistä rakenteellista tietoa amorfisten ja järjestäytymättömien aineiden, kuten orgaanisten polymeerien rakenteesta, jota ei nykyään saada selville muilla tekniikoilla. Kiinteän tilan NMR-tekniikoilla voidaan myös tutkia sopivissa lämpötiloissa materiaaleissa tapahtuvia konformaatioiden muutoksia, joista riippuu mm. materiaalin

hauraus ja joustavuus. Kiinteän aineen NMR-spektroskopiolla voidaan myös yksiselitteisesti erottaa yhdisteen eri polymorfit toisistaan ja tutkia kiteisiä näytteitä. Niistä mitatut spektrit ovat paljon tarkempia kuin amorfisista näytteistä mitatut. Kiteisten aineiden rakenteen määrittäminen NMR:llä ei ole kuitenkaan kovin yleistä, koska röntgendiffraktiolla saadaan selvitettyä samat tiedot paljon helpommin.²⁸

3.3.1 Teoria

Atomin NMR-aktiivisuus riippuu sen ytimen spinistä, joka ei NMR-aktiivisella atomiytimellä saa olla nolla.²⁹ Ydin on NMR-aktiivinen, kun atomin atomimassa on pariton ja/tai, kun atomin atomiluku on pariton. Eräillä tärkeillä tavallisilla atomiytimillä kuten ¹²C, ¹⁶O ja ³²S spin on nolla. Tästä syystä näiden aineiden NMR-mittauksissa havainnoidaan aineiden harvinaisempia isotooppeja, kuten ¹³C:tä. Atomin spinin arvo on tärkeä, koska sen ydinmagneettinen momentti riippuu suoraan ytimen spinin arvosta kaavan (6) mukaisesti.

$$\mu = \frac{\gamma I h}{2\pi} \quad (6)$$

Kaavassa (6) μ on ydinmagneettinen momentti, γ on suhteellisuusvakio, jota kutsutaan magnetogyriseksi vakioksi ja jonka arvo on vakio samanlaisilla atomiytimillä. I on atomin spinin arvo ja h on Planckin vakio. Kaavan perusteella nähdään, että ytimellä, jolla ei ole spiniä, ei ole ydinmagneettista momenttia eikä se siis ole NMR-aktiivinen.

On olemassa monta tapaa kuvailla, mitä atomiytimelle tapahtuu NMR-kokeessa. Tässä yhteydessä käydään lyhyesti läpi kaksi yleisintä tapaa, klassinen vektorimalli ja kvanttimekaaninen malli. Vektorimalli kuvaa hyvin näytteitä, joissa ei tapahdu protonien välistä kytkentää (coupling).²⁷ Vektorimallin mukaan ulkoisen magneettikentän puuttuessa atomiydinten ydinmagneettisilla momenteilla on satunnainen orientaatio, jolloin nettomagnetisoitumista ei tapahdu. Kun ytimet joutuvat ulkoiseen magneettikenttään, niiden ydinmagneettinen momentti asettuu magneettikentän suuntaiseen orientaatioon. Termisistä syistä johtuen täydellistä magneettikentän mukaista orientoitumista ei tapahdu. Magneettikentän takia atomiytimille syntyy kuitenkin nettomagneettinen tila, jolla tarkoitetaan ydinten yhdessä muodostamaa magneettista momenttia. Seuraavaksi näytteeseen kohdistetaan radiotaajuuksinen (rf) elektromagneettisen säteilyn aaltoon

kuuluva värähtelevä magneettikenttä. Radiotaajuudella värähtelevä magneettikenttä vuorovaikuttaa ulkoisen magneettikentän ja näytteen kanssa. Rf-aalto suunnataan niin, että magneettikenttä värähtelee suunnassa, joka on kohtisuorassa ulkoiseen magneettikenttään nähden. Vektorimallissa paikallaan oleva magneettikenttä on asetettu z -akselin suuntaiseksi, jolloin siihen nähden kohtisuora rf-aalto voi tulla x - ja y -akselien määrittämältä alueelta. Rf-aallon aiheuttama magneettikenttä vuorovaikuttaa ulkoisen magneettikentän kanssa, jolloin muodostuu näiden magneettikenttien yhteisvaikutuksesta johtuva tasapainomagneettisuus, jonka suunta riippuu rf-pulssin suunnasta, koska paikallaan oleva magneettikenttä on aina z -akselin suuntainen. NMR-kokeissa näytteeseen kohdistetaan erilaisia rf-pulseja ja niiden vaikutukset mitataan.

Kvanttimekaanisessa mallissa otetaan huomioon myös näytteen ydinten välillä tapahtuvat kytkennät.²⁷ Sen käyttö aloitetaan tarkastelemalla yksittäisiä atomiytimiä ja tämän kautta muodostetaan malli, joka sopii kaikille näytteen ytimille. Tätä kutsutaan kokonaiskeskiarvoksi (ensemble average). Spin-järjestelmällä (spin-system) tarkoitetaan yhtä spiniä tai usean spinin joukkoa tietyssä ympäristössä. Yksinkertaisin spin-järjestelmä koostuu yksittäisestä erillään olevasta spinistä tasaisessa magneettikentässä. Jokainen tasapainossa oleva spin-järjestelmä on yksi monesta mahdollisesta ominaistilasta (Eigenstate). NMR-kokeessa tutkittava näyte koostuu monesta samanlaisesta spin-järjestelmästä, koska kyseessä on joukko samanlaisia molekyyliä samanlaisissa kemiallisissa olosuhteissa. Jokainen näistä spin-järjestelmistä on yhdessä mahdollisista ominaistiloista. Spin-järjestelmien suhteelliset määrät eri ominaistiloissa termisessä tasapainossa olevalle näytteelle saadaan Boltzmannin jakauman perusteella. Koska NMR-kokeessa mitataan koko näytteen käyttäytymistä kokeen aikana, tätä varten muodostetaan yhdistelmätila, jossa otetaan huomioon kaikki mahdolliset ominaistilat ja niiden esiintymistodennäköisyydet. Tämän yhdistelmätilan perusteella syntyy näytteen nettomagneettisuus. Näytteeseen kohdistetaan seuraavaksi rf-pulssin avulla oskilloiva magneettikenttä. Koska magneettikentän suunta ja vahvuus ovat ajasta riippuvaisia, myös spin-järjestelmien ominaistilat ja energiat ovat ajasta riippuvaisia. Muutoksia mallintavien monimutkaisten laskujen perusteella päästään samoihin tuloksiin kuin vektorimallin avulla eli rf-pulssin seurauksena muodostuu tasapainomagneettisuus, jonka suunta riippuu rf-pulssin suunnasta suhteessa staattisen magneettikentän suuntaan.

NMR-kokeessa näytteeseen vaikuttaa monenlaisia magneettikenttiä.²⁷ ulkoiset magneettikentät, kuten staattinen magneettikenttä ja rf-pulssin aiheuttama oskilloiva magneettikenttä, sekä sisäiset magneettikentät, jotka voivat erityisesti kiinteän tilan NMR:ssä aiheuttaa huomattavaa spektriviivojen levenemistä. Tärkeimmät näistä sisäisten magneettikenttien aiheuttamista ilmiöistä ovat kemiallinen varjostus, dipolikytkennät ja kvadrupolikytkennät. Koska staattinen magneettikenttä on vahvuudeltaan monikymmenkertaisesti suurempi kuin näytteeseen muodostuvat sisäiset magneettikentät, vain pienellä osalla sisäisistä magneettikentistä on mitään vaikutusta näytteen spin-tiloihin. Spektriin vaikuttavat sisäiset magneettikentät ovat yhdensuuntaisia tai vastakkaissuuntaisia staattiseen magneettikenttään nähden tai staattiseen magneettikenttään nähden kohtisuorassa olevalla tasolla olevia komponentteja, joiden taajuus on lähellä spin-järjestelmän resonanssitaajuutta.

Kemiallinen siirtymä ja –varjostus liittyvät vahvasti toisiinsa.²⁷ Molemmat johtuvat atomin elektronien muodostaman sekundäärisen magneettikentän vaikutuksesta. Tämä johtuu siitä, että sekundäärinen magneettikenttä vaikuttaa atomiytimen magneettikenttään, jolloin magneettikentän muuttuessa ytimen resonanssitaajuus ja -vahvuus muuttuvat. NMR-kokeessa spektrin absoluuttinen taajuus vaihtelee käytettyjen magneettikenttien vahvuuden mukaan. Tästä syystä absoluuttisen taajuuden sijaan mitataan spektrin piikkien suhteellinen etäisyys tunnetun vertailuaineen aiheuttamasta piikistä. Tätä kutsutaan kemialliseksi siirtymäksi. Varjostus johtuu kahdesta komponentista, diamagneettisesta ja paramagneettisesta. Diamagneettisessa komponentissa ulkoinen magneettikenttä saa elektronit kiertämään ytimien ympärillä, jolloin kiertoliikkeen keskustaan muodostuu sekundäärinen magneettikenttä, joka vastustaa ulkoista magneettikenttää. Tämä kenttä varjostaa useimmiten atomiydintä. Diamagneettinen varjostus muodostuu useimmiten atomin peruselektroneista, joten samanlaiset atomit muodostavat samankaltaisen diamagneettisen varjostuksen olosuhteista riippumatta. Myös kaikki ympärillä olevat atomit muodostavat omat diamagneettiset varjostuksensa, jotka vaikuttavat toisiinsa. Paramagneettisessa komponentissa ulkoinen magneettikenttä vääristää elektronien jakautumista, jolloin osa atomin elektroneista saa paramagneettisia ominaisuuksia. Tällöin syntyy magneettikenttä, joka vahvistaa ulkoista magneettikenttää ja heikentää siten varjostusta. Paramagneettisella tarkoitetaan hiukkasta, joka muuttuu magneettiseksi

ulkoisen magneettikentän vaikutuksesta. Paramagneettisen komponentin vahvuus riippuu vahvasti atomiytimen ympäristöstä.

Dipoli-dipolikytkentä eli dipolaarinen kytkentä on tapahtuma, jossa atomien ytimien spinit muodostavat magneettikentän ja kentät reagoivat keskenään.²⁷ Nestemäisissä näytteissä Dipoli-dipolikytkentä ei ole merkittävä tekijä, koska liuoksissa dipolaarisen kytkennän vaikutus heikkenee tehokkaasti molekyylien liikkeen takia. Kiinteän tilan NMR-kokeissa dipoli-dipolikytkennät voivat johtaa spektrihiikkien vahvaan leviämiseen. Dipoli-dipolikytkennän vahvuus riippuu ytimien etäisyyksistä toisistaan sekä molekyylien orientaatiosta.

Atomiytimet, joiden spin on suurempi kuin $\frac{1}{2}$, ovat kvadrupolisia ytimiä eli niillä on ydinsähköinen kvadrupolimomentti, joka voi reagoida ytimen sähkökenttien gradienttien kanssa, joka taas vaikuttaa ytimien spinien energiatasoihin.²⁷ Tällaisia gradientteja muodostuu kaikilla kiinteillä aineilla, jotka eivät kiinteässä tilassa pakkaudu kuutiosymmetrisesti, johtuen näiden ytimien lähellä olevista muista ytimistä ja elektroneista. Sähköinen kvadrupolimomentti muodostuu atomiytimessä sen varauksen jakautumisen perusteella. Varaus muodostuu esimerkiksi ytimen protonien jakautumisen perusteella. Kvadrupolikytkennän vahvuus riippuu kvadrupolimomentin suuruudesta ja sähkökentän suuruudesta.

Toisin kuin muissa spektroskopian lajeissa, NMR-spektroskopiassa mittauksissa ei havainnoida energiatiloissa tapahtuvia muutoksia.²⁷ NMR-kokeissa havainnoidaan epätasapainoon asetetun spin-järjestelmän kokonaiskeskiarvon muutoksia ajan suhteen. Kokonaiskeskiarvon muutokset tapahtuvat taajuuksilla, jotka ovat eri spin-systeemeille ominaisia, ja joiden perusteella tutkittavan näytteen rakenne voidaan määrittää. Tällä tavalla mitatut tulokset käsitellään usein Fourier-muunnoksella, jolloin saadaan kaksiulotteinen taajuusspektri.

3.3.2 Kiinteän tilan NMR-laitteistot

Kiinteän tilan NMR-laitteistoissa muodostetaan ensin rf-pulssi, mikä tapahtuu yleensä sekoittamalla kaksi tai useampia rf-aaltoja, joilla on eri taajuudet.²⁷ Toinen taajuuksista on vakiotajuus, joka on sama kaikille mitattaville ytimille. Toisen rf-aallon taajuus vaihtelee

ja se riippuu kokeeseen tarvittavasta spektritaajuudesta, joka syntyy sekoitetuista rf-aalloista. Tällä tavoin varmistetaan, että rf-pulssilla ja näytteestä tehdyillä mittauksilla on sama faasikoherenssi. Rf-pulssin pituutta säädellään monilla tavoilla. Yleensä se tapahtuu muokkaamalla vakiotaajuuden omaava pulssi sopivan pituiseksi ennen sekoitusta. Seuraavaksi rf-pulssin faasi säädetään sopivaksi alkuperäiseen kanta-aaltoon nähden, jolloin muodostuu sopivan pituinen vahvempi rf-pulssi. Näin on saatu pulssi, joka on sopivan pituinen ja suhteellisen vahva, mutta jossa on vielä sekoituksen seurauksena monia eri taajuuksia. Tämän takia pulssista suodatetaan vielä lopuksi pois taajuudet, joita kokeeseen ei haluta. Jäljelle jää sopivan pituinen ja vahvuinen rf-pulssi, joka koostuu pääasiassa taajuuksista, jotka ovat suhteellisen lähellä kokeessa käytettävää taajuutta.

Seuraavaksi staattisessa magneetikentässä olevaa näytettä käsitellään sopivista rf-pulsseista koostuvalla sekvenssillä, joka yleensä koostuu kolmesta pulssista.²⁷ Tällä näyte saadaan sopivaan koherenssitilaan, jonka muutoksista aiheutuvat signaalit mitataan spektrin muodostusta varten. Signaalien havainnointi aloitetaan vahvistamalla signaalia sopivan vahvistimen avulla. Jos haluttu taajuusalue tunnetaan, vahvistin voidaan säätää vahvistamaan vain tiettyä taajuusaluetta, jolloin signaalissa oleva kohina ei vahvistu halutun signaalin mukana. Seuraavaksi signaali muokataan vakiotaajuuden ja näytteestä aiheutuvan taajuusmuutoksen yhdistelmän sekoitukseksi. Sekoitus tapahtuu siten, että havaittua ja vahvistettua signaalia muokataan samanlaisella signaalilla kuin se, jolla vakiotaajuutta sekoitettiin rf-pulssin valmistuksen yhteydessä. Tämän jälkeen signaali suodatetaan sopivalla suodattimella. Tällöin saadaan erotettua haluttu taajuusalue, jolla on vain vakiotaajuus, johon näytteestä aiheutuneet muutokset ovat vaikuttaneet. Koska jokaisella atomiytimellä käytetään samaa vakiotaajuutta, NMR-laitteistossa voidaan käyttää juuri oikeanlaisia suodattimia, joilla saadaan haluttu taajuus alue eroteltua tehokkaasti. Lisäksi vakiotaajuus on valittu niin, että se on mahdollisimman sopiva mittauksia varten siten, että kohina minimoituu ja halutun signaalin taajuus tarkkuus ja faasin stabiilisuus ovat optimaalisia. Näin saadusta, vieläkin monimutkaisesta signaalista pitää vielä erottaa oikea komponentti signaalissa mukana olevasta imaginaarisesta komponentista. Tämä tapahtuu jakamalla signaali kahtia ja sekoittamalla molempia vakiotaajuussignaaleilla. Näiden signaalien faasit eroavat toisistaan 90° :n verran eli niin, että toisen faasin aallon ollessa mahdollisimman suuri tietyllä ajan hetkellä, samalla ajan hetkellä toisen faasin aalto on suuruudeltaan 0. Tämän jälkeen molemmat signaalin puolikkaat suodatetaan siten, että

jäljelle jää vain vakiotajuudesta poikkeava signaalin osuus. Näin saatuja signaaleja sanotaan kantataajuudeksi. Toinen signaaleista on nyt *in-phase* komponentti ja toinen kvadratuurikomponentti. Lopuksi signaalit muutetaan digitaalisiksi, jonka jälkeen ne varastoidaan tietokoneelle muokkausta varten.

3.3.3 Kiinteän tilan NMR-tekniikat

Kiinteän tilan NMR-kokeissa mitatut näytteet ovat useimmiten pulverimaisia, jolloin näyte koostuu monista pienistä kiteistä, joiden orientaatio on satunnainen.²⁷ Tästä seuraa, että tutkittava aine esiintyy näytteessä samanaikaisesti kaikissa sille mahdollisissa orientaatioissa. Aineen kemiallinen varjostus, dipoli-dipolikytkennät ja kvadrupoliset kytkennät riippuvat kuitenkin aineen orientaatiosta eli ne ovat anisotrooppisia, jolloin mittauksissa, joissa käsitellään pulverimaisia näytteitä spektriviivat levenevät, koska aineen spektri mitataan kaikissa näytteen orientaatioissa samanaikaisesti. Tämä voi johtaa spektreihin, joiden resoluutio on niin huono, että mittauksista ei saada mitään tietoa. Erityisesti paljon ¹H-atomeja sisältävien näytteiden mittauksissa mittauksen resoluutio on huono, koska ¹H on erittäin yleinen vedyn isotooppi, jolloin orgaanisten aineiden mittauksissa dipoli-dipolikytkennät ovat usein erityisen vahvoja. Tästä syystä kiinteän tilan NMR-mittausten tärkeimmät tekniikat ovat niitä, joilla saadaan mitattua spektri, jolla on mahdollisimman hyvä resoluutio.

Tärkein tekniikoista, joilla resoluutiota parannetaan, on maagisessa kulmassa pyöritys (MAS, magic-angle spinning).²⁷ MAS-tekniikkaa käytetään lähes jokaisessa kiinteän tilan NMR-mittauksessa. Sen tärkein ominaisuus on kemiallisen siirtymän anisotrooppisuudesta johtuvien vaikutusten poistaminen ja eriytimisten atomien dipoli-dipolikytkentöjen vaikutusten poistamisessa avustaminen. Sillä voidaan myös kaventaa kvadrupolisten ytimien spektriviivoja ja nykyään sitä käytetään usein myös samaytimisten atomien dipoli-dipolikytkentöjen vaikutusten poistamiseen silloin, kun se on mahdollista. Samaytimisten atomien dipoli-dipolikytkentöjen poistaminen vaatii erittäin korkeita pyöritysnopeuksia, joita ei ole mahdollista käyttää kaikissa laboratorioissa. Nestemäisillä NMR-näytteillä tehdyissä mittauksissa dipoli-dipolikytkentää ja anisotrooppista vaikutusta kemialliseen siirtymään ei useimmiten havaita. Tämä johtuu siitä, että nesteessä molekyylien orientaation muutos on niin nopeaa, että NMR havaitsee vain orientaatioiden vaikutuksen

keskiarvon. Tällöin näytteen orientaatioiden vaihdellessa nopeasti kaikkiin suuntiin anisotrooppisten vaikutuksien keskiarvo on nolla. MAS-tekniikalla saadaan sama tulos kiinteille näytteille. MAS-tekniikassa näytettä pyöritetään $54,74^\circ$ kulmassa, jolloin näytteen molekyylien orientaatio muuttuu näytteen mukana. MAS-tekniikassa käytetty pyöritys kulma on valittu niin, että anisotrooppisten vaikutusten aiheuttamat muutokset saadaan joiltakin osin poistettua kokonaan ja joiltakin osin niitä saadaan heikennettyä. Kulma on laskettu seuraavalla kaavalla (7):

$$\langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle = \frac{1}{2}(3\cos^2\theta_R - 1)(3\cos^2\beta - 1) \quad (7)$$

Kaavassa (7) θ on kulma joka kuvaa spinvuorovaikutustensorin orientaatiota eli esimerkiksi kemiallisen varjostuksen tapauksessa varjostustensorin orientaatiota. $3\cos^2\theta - 1$ kuvaa molekyylin orientaation vaikutusta. θ_R on staattisen magneettikentän ja pyörimisakselin välinen kulma ja β on pyörimisakselin ja tensorin akselin välinen kulma. Jos θ_R :n arvoksi valitaan $54,74^\circ$ saadaan $(3\cos^2\theta_R - 1) = 0$, jolloin myös vaikutusten keskiarvo $\langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle$ on nolla.

Eriytimisten atomien kytkentöjen irtautus (decoupling) on myös tärkeää kiinteän tilan NMR:ssä, varsinkin orgaanisia aineita tutkittaessa.²⁷ Tämä johtuu siitä, että usein näytteessä on paljon ^1H -atomeja, joiden läsnäolo aiheuttaa eriytimisten atomien kytkentää. Tämä voi olla ongelma varsinkin spektrien kanssa, jotka eivät ole kovin vahvoja, kuten ^{13}C -atomista mitatut spektrit ja jopa MAS-tekniikalla mitatuissa spektreissä. Eriytimisten atomien kytkentöjen irtautus onnistuu kuitenkin rf-säteilytyksellä. Tätä tekniikkaa kutsutaan suurtehoiseksi irtautustekniikaksi (High-power decoupling). Sitä voidaan käyttää kaikkien eriytimisten atomien kytkentöjen vaikutuksen poistamiseen. Esimerkiksi jos halutaan poistaa ^1H - ^{13}C kytkentöjen vaikutukset ^{13}C mittauksen yhteydessä, tämä tapahtuu säteilyttämällä näytettä erittäin suurtehoisella (100–1000 wattia) säteilyllä protoniresonanssin taajuudella. Samaan aikaan, kun säteilytystä jatketaan, suoritetaan ^{13}C -mittaukset normaalisti. Säteilytys toimii siten, että protonin resonanssi-taajuutta lähellä oleva rf-säteily aiheuttaa ^1H -ytimen spintilan toistuvia muutoksia säteilyn amplitudista riippuvalla nopeudella. Dipoli-dipolikytkennän voimakkuus riippuu ^1H -ytimen spinin z-vektorin suuntaisesta komponentista, joten kun vaihtelu spintilojen välillä on tarpeeksi

nopeaa, dipoli-dipolikytkennän vaikutukseksi tulee spintilojen vaikutusten keskiarvo, joka on nolla, koska tilat ovat $\pm 1/2$. Suurtehoisen irtautustekniikan käytössä pitää ottaa huomioon sen näytettä kuumentava vaikutus etenkin, jos näyte sisältää vettä. Molekulaarinen liike näytteessä saattaa myös johtaa tekniikan häiriintymiseen ja spektriviivojen levenemiseen.

Samaytimisten kytkeytymisten irtautuksessa voidaan käyttää MAS-tekniikkaa, jos näytteen pyöritysnopeus saadaan tarpeeksi suureksi. Jos tämä ei onnistu, irtautukseen käytetään sitä varten erikseen suunniteltuja pulssisekvenssejä, joita kutsutaan yleisesti monen pulssin sekvensseiksi (multiple pulse sequences).²⁷ Nämä sekvenssit on suunniteltu siten, että sekvenssin aikana on hetkiä, jolloin samaytimisten dipoli-dipolikytkentöjen vaikutus on nolla. Tällaisten sekvenssien käyttö on monimutkaista, koska mittaukset pitää suorittaa tarkasti juuri oikeina aikoina sekvenssin aikana. Aika riippuu lisäksi osittain käytetystä spektrometrillä, joten sekvenssi pitää hienosäätää jokaiselle spektrometrille erikseen. Lisäksi pulssien pitää olla suurtehoisia ja lyhytkestoisia. Useimmiten mittausten aikana käytetään lisäksi MAS-tekniikkaa, jolloin sekvenssiä pitää muokata lisää, jotta se ottaisi huomioon MAS-tekniikan aiheuttamat muutokset.

MAS-tekniikan jälkeen yleisin kiinteän tilan NMR:ssä käytetty tekniikka on ristipolarisaatio (cross-polarization).²⁷ Sitä hyödynnetään mittausten tekemiseen, joissa tutkitaan ytimiä, joita on näytteissä suhteellisen vähän, kuten ^{13}C . Sitä hyödynnetään myös spektrien editoinnissa ja sen avulla hankitaan tietoja siitä, mitkä ytimet ovat avaruudellisesti lähellä toisiaan. ^{13}C -NMR-mittauksissa on useita ongelmia, joista ainakin huono signaali-kohinasuhde ja pitkät relaksaatioajat voidaan ratkaista ristipolarisaatiolla. ^{13}C -ytimelliset hiilen isotoopit ovat suhteellisen harvinaisia, jolloin signaali-kohinasuhde on väistämättä huono tavallisissa mittauksissa. Lisäksi harvinaisempien ydinten relaksaatioajat ovat useimmiten hyvin pitkiä, koska samaytimisten atomien dipoli-dipolivuorovaikutuksia, jotka nopeuttavat relaksaatiota, on vain vähän. Nämä ongelmat tekevät ^{13}C -mittauksista erittäin aikaa vieviä, koska riittävää signaali-kohinasuhdetta varten pitää tehdä tuhansia mittauksia ja mittausten väliin pitää jättää useita minuutteja hitaan relaksaation takia. Ristipolarisaatiosekvenssillä nämä ongelmat ratkaistaan siirtämällä harvinaiselle ytimelle magneettisuutta yleisempien magneettisten ytimien joukolta, kuten ^1H .

3.4 Muut spektroskooppiset menetelmät

3.4.1 Elektronispektroskopia

Elektronispektroskopia eroaa monista muista spektroskopian lajeista siinä, että elektronispektroskopiassa tutkitaan näytteistä emittoituvia elektroneja eikä näytteistä emittoituvia fotoneja, kuten useimmissa muissa spektroskopisissa menetelmissä.³⁰ Elektroni-spektroskopiaa on käytetty pääasiassa kiinteiden- ja kaasumaisten näytteiden tutkimuksessa, mutta nykyään sillä voidaan tutkia myös nestemäisiä näytteitä. Elektronispektroskopiolla voidaan tunnistaa näytteistä heliumia ja vetyä lukuun ottamatta kaikki eri alkuaineet, sekä alkuaineen hapetustila ja millaiseen atomiin se on sitoutunut. Lisäksi sen avulla voidaan saada hyödyllistä tietoa tutkittavan molekyylin elektronirakenteesta. Elektronispektroskopian perusperiaatteet ymmärrettiin jo 1900-luvun alkupuolella, mutta vasta 1960-luvun lopussa detektorit olivat kehittyneet niin paljon, että elektronien energiat saatiin mitattua tarpeeksi hyvällä tarkkuudella.

Elektronien huonon läpäisykyvyn takia elektronispektroskopiolla voidaan yleensä tutkia vain kiinteiden näytteiden pintakerroksen (20–50 Å) koostumusta.³⁰ Tämä voi olla ongelmallista, koska näytteen pinnan koostumus voi olla huomattavan erilainen näytteen yleiseen koostumukseen verrattuna. Tämä voi kuitenkin olla myös etu, ja yleisimmät tämän hetkiset elektronispektroskopian sovellukset liittyvätkin kiinteiden aineiden pintakerroksen ominaisuuksien tutkimukseen. Kiinteiden aineiden pinnan tutkimukseen käytetään pääasiassa kolmea elektronispektroskopian menetelmää: Röntgenfotoelektronispektroskopia (XPS), Auger elektronispektroskopia (AES) ja ultraviolettifotoelektronispektroskopia (UPS). Näistä yleisin on röntgenfotoelektronispektroskopia, jota kutsutaan myös kemiallisen analyysin elektronispektroskopiaksi (ESCA). XPS-menetelmässä tutkittavaan näytteeseen kohdistetaan röntgensäde, jolloin näytteestä emittoituu elektroneja. Emittoituneiden elektronien kineettinen energia mitataan ja spektri muodostetaan emittoituneiden elektronien määrän tai elektronisäteen vahvuuden suhteen emittoituneiden elektronien mitattuun energiaan, taajuuteen tai aallonpituuteen. XPS-menetelmällä saadaan tietoa näytteen alkuainekoostumuksesta, sen rakenteesta ja hapetusluvusta. Kuten XPS-menetelmässä myös Auger elektronispektroskopiassa mitataan emittoituneiden elektronien kineettinen energia. AES-menetelmässä näytteeseen kohdistetaan ensin elektroni- tai

röntgensäde, jolloin muodostuu virittynyt ioni. Ionin viritystila voi purkautua kahdella tavalla: joko fluoresenssin kautta, jolloin emittoituu fotoni, tai elektronin emittoimisen kautta. Tätä emittoitunutta elektronia kutsutaan Auger elektroniksi. Auger elektronin energia ei riipu molekyylin virittäneen fotonin tai elektronin energiasta, joten AES-menetelmässä voidaan käyttää polykromaattista säteilynlähdettä. AES-menetelmällä saadaan tietoa näytteen koostumuksesta ja rakenteesta. Menetelmä sopii paremmin havainnoimaan atomeja, joilla on pienet atomiluvut (10 tai alle) kun taas suuremmilla atomiluvuilla XPS-menetelmällä saadaan parempia tuloksia. Ultravioletti-fotoelektronispektroskopiassa elektroni emittoidaan näytteestä monokromaattisella ultraviolettisäteellä. UPS-menetelmä on paljon vähemmän käytetty kuin XPS- ja AES-menetelmä.

3.4.2 Elektronin paramagneettinen resonanssispektroskopia (EPR)

Elektronin paramagneettisessa resonanssispektroskopiassa (EPR), jota kutsutaan myös elektroni-spin resonanssispektroskopiaksi (ESR) tai elektronin magneettinen resonanssispektroskopiaksi, tutkitaan elektromagneettisen säteilyn ja magneettisten momenttien välistä vuorovaikutusta.³¹ Tässä mielessä se muistuttaa huomattavasti NMR-spektroskopiaa, mutta toisin kuin NMR:ssä EPR:ssä tutkittava magneettinen momentti muodostuu atomeiden elektroneissa eikä ytimissä. Ensimmäiset kokeelliset EPR-havainnot tehtiin vuonna 1945, tämän jälkeen EPR-laitteistot yleistyivät nopeasti laitteistojen hyvän saatavuuden ja suhteellisen edullisuuden ansiosta. EPR-spektroskopiaa voi soveltaa kiinteisiin, nestemäisiin ja kaasumaisiin näytteisiin. EPR-spektroskopiassa käytetään mikroaaltosäteilyä, josta muodostetaan magneettikenttä B_1 laitteessa olevan resonoivan näyteonkalon avulla. Samalla näytteeseen kohdistetaan staattinen magneettikenttä B kuten NMR-spektroskopiassa.

Kiinteän tilan EPR-spektroskopiaa on käytetty vapaiden radikaalien ja siirtymämetalli-ionien tutkimukseen. Lisäksi sitä on käytetty kiinteiden aineiden paikallisten virheiden tutkimukseen, esimerkiksi kun kiteeseen tai lasiin on muodostunut paikka, jossa negatiiviselle ionille varattuun tilaan onkin jäänyt elektroni. EPR-spektroskopiolla on myös tutkittu systeemejä, joissa on useampi kuin yksi pariton elektroni, kuten biradikaalit ja systeemejä, joissa on jännitettä johtavia elektroneja kuten metallit.

3.4.3 Röntgenspektroskopia

Röntgensäteilyä voidaan käyttää myös spektroskooppisissa emissio- ja absorptiotekniikoissa.³² Emissiotekniikoissa mitataan röntgenemissiospektri ja absorptiotekniikoissa mitataan, miten näyte absorboi siihen kohdistettua röntgensäteilyä. Röntgenspektroskopiaa käytetään pääasiassa epäorgaanisten aineiden analysointiin.

Emissioröntgenspektroskopiassa näytettä pommitetaan korkean energian omaavilla elektroneilla, jolloin atomista saattaa irrota sisemmän elektronikuoren elektroneja.³² Tällöin ulomman kuoren elektronit siirtyvät sisemmiltä kuorilta vapautuneille energiatiloille ja ylimääräinen energia vapautuu elektromagneettisena säteilynä, kuten röntgensäteilynä. Tämä säteily detektoidaan ja sen perusteella muodostetaan emissiospektri. Spektri koostuu terävistä piikeistä ja jokaisella alkuaineella on sille ominainen spektri. Tämä johtuu siitä, että vapautuneen säteilyn energia riippuu elektronitilojen välisistä energiaeroista, jotka puolestaan riippuvat atomiluvusta. Tämän ominaisuuden takia emissiospektroskopiaa voidaan käyttää kvalitatiiviseen elementtianalyysiin. Myös kvantitatiivinen analyysi onnistuu sopivan kalibrointikäyrän avulla, sillä mitattujen piikkien intensiteetti vaihtelee näytteessä olevien alkuaineiden osuuksien mukaan. Tärkein teollisuuden emissiotekniikka on elementtianalyysitekniikkana käytetty röntgenfluoresenssi (XRF), jossa näytteen atomit ja niiden määrät määritetään sen fluoresoiman röntgensäteilyn perusteella. Röntgenemissiospektroskopiolla voidaan myös selvittää joidenkin epäorgaanisten yhdisteiden atomien koordinaatioluvut ja sidospituudet, koska atomien piikkien asema spektrissä riippuu myös atomin lähiympäristöstä. Kun tuloksia verrataan tunnettuihin arvoihin, saadaan atomin koordinaatioluku selville.

Absorptioröntgenspektroskopiassa röntgensäde läpäisee ohuen näytekerroksen, jolloin säteen teho laskee tapahtuvan absorption ja hajonnan takia.³³ Hajonnan aiheuttaman tehon lasku on kuitenkin niin heikkoa, että se voidaan jättää huomiotta muiden kuin kevyimpien alkuaineiden kohdalla. Mittaamalla absorboitumaton säteily voidaan muodostaa spektri, joka koostuu selkeistä piikeistä. Spektrin piikkien aallonpituudet ovat jokaiselle alkuaineelle ominaisia ja pääasiassa riippumattomia atomien kemiallisesta tilasta. Spektrin tärkeä ominaisuus on niin kutsuttu piikkien absorptioreuna, joka ilmenee terävänä absorptiokertoimen laskuna ja epäjatkuvuutena spektrissä piikin huipun jälkeen.

Absorptioreuna muodostuu, koska piikin huippu ilmentää sitä energiamäärä, joka tarvitaan havaitun piikin aiheuttaneen elektronin irrottamiseen atomista. Tämän jälkeen energia ei riitä minkään jäljellä olevan elektronin irrottamiseen, jolloin tapahtuu selkeä absorptiokertoimen lasku. Absorptioreuna on tärkeä, koska sille muodostuu hienorakenne, jonka muoto riippuu atomin sisemmällä elektronikuorilla tapahtuvista muutoksista. Absorptioröntgenspektroskopiaan tarvittava säteily tuotetaan useimmiten synkrotronin avulla. Yleisimpiä tekniikoita ovat absorptioreunan hienorakenne (AEFS) ja jatkettun röntgenabsorption hienorakenne (EXAFS).³² Molemmissa tekniikoissa tutkitaan absorptioreunojen alueen spektriä.

3.4.4 Ultravioletti- ja näkyvän valon spektroskopia (UV/Vis)

UV/Vis-spektroskopiassa tutkittavan näytteen koostumuksesta ja sen aineen tai aineiden rakenteesta pyritään saamaan tietoja mittaamalla miten tehokkaasti ja millä aallonpituuksilla näyte absorboi ultravioletti ja näkyvän valon aallonpituudella olevaa elektromagneettista säteilyä.³⁴ UV/Vis-spektroskopiaa käytetään kiinteiden aineiden rakenteen määrittämisessä lähinnä täydentämään muilla keinoin saatuja tietoja.

Ultravioletti-alue on aallonpituudeltaan 100–3800 Å:a ja näkyvän valon aallonpituusalue on 3800–7800 Å:a.³⁴ Absorptiospektroskopia perustuu ilmiöön, jossa läpinäkyvän näytteen läpäisevästä elektromagneettisesta säteilystä osa absorboituu näytteeseen läpäisyn yhteydessä. Absorptio perustuu molekyylin eksitaatioon, jossa näytteen atomin elektroni absorboi tarvittavan suuruisen energiakvantin ja siirtyy korkeimmalta miehityltä molekyyliorbitaalilta (HOMO) matalimmalle miehittämättömälle molekyyliorbitaalille (LUMO). Näytteen absorptio perustuu kahteen lakiin. Lambertin laki toteaa, että läpinäkyvän näytteen absorboivan valon osuus ei riipu valon intensiteetistä, ja että jokainen näytteen kerros absorboi samansuuruisen osuuden siihen saapuvasta valosta. Lambert-Beerin laki puolestaan kertoo, että absorboidun valon osuus riippuu osittain molekyylien määrästä, jotka valo läpäisee näytteen läpi kulkiessaan. Tutkittavan aineen rakenteen määrittäminen perustuu siihen, että absorption seurauksena tapahtuvat elektronitilojen muutokset tapahtuvat suurelta osin UV/Vis-alueella, ja näiden muutosten aiheuttamien absorptioiden aallonpituudet ja intensiteetit ovat osittain riippuvaisia tutkittavan aineen rakenteesta sekä komplekseista, joita näytteen aine tai aineet ovat saattaneet muodostaa keskenään.

3.5 Esimerkkejä spektroskooppisten menetelmien hyödyntämisestä foldameeritutkimuksessa

Angelici *et al.*¹⁰ ovat mitanneet foldameerin Boc-(L-Phe-D-Oxd)₂-OBn FT-IR spektrin. Spektri on mitattu seoksesta jossa oli 1 % kiinteää foldameeriä ja 99 % KBr:a. Mittausten avulla tutkittiin vetysidosten vaikutusta kuitujen muodostumisessa. Kiinteän tilan FT-IR-mittauksista voitiin päätellä, että yhdisteellä on kelatoituneita vetyatomeja. Tämä pääteltiin alueen 3250–3400 cm⁻¹ N-H-piikeistä.

Angelici *et al.*¹⁰ ovat käyttäneet tutkimuksissaan kiinteän tilan NMR-mittauksia oligomeerien itsejärjestäytymisen tutkimiseen kiinteässä tilassa. Tutkimuksessa käytettiin ristipolarisaatio- ja MAS-tekniikkaa ¹³C-mittauksissa sekä erilaisia pulssisekvenssejä eriyttämisen kytkentymisen irtautukseen ja ¹H-¹H kytkentöjen irtautukseen. Lisäksi ¹³C-¹H kytkösten vahvuuden määrittämiseen käytettiin DIPSHIFT (dipolar chemical shift correlation) kokeita.

4 Termoanalyttiset menetelmät

4.1 Termogravimetria (TG tai TGA)

Termogravimetriassa mitataan näytteen massan muutosta lämpötilan funktiona, kun näytteeseen kohdistetaan hallittu lämmitysohjelma.³⁵ Tulokset esitetään näytteen massan suhteena lämpötilaan tai aikaan. Tekniikka sopii hyvin orgaanisille aineille, sillä varsinkin puhtaiden orgaanisten aineiden sulamispisteet ovat tarkasti määriteltävissä ja sulaminen ja kiinteytyminen tapahtuvat nopeasti. Termogravimetrian etuna on myös se, että tutkittavia näytteitä ei tarvitse etukäteen valmistella, vaan tutkittavaa materiaalia voidaan käsitellä sellaisessa muodossa kuin sitä käsiteltäisiin normaalisti. Esimerkiksi lasia muodostavia yhdisteitä voidaan tutkia lasimuodossa eikä näytettä tarvitse liuottaa tai näytteen aineita eritellä tutkimuksia varten.

Termogravimetriaa käytetään usein erilaisten materiaalien, esimerkiksi polymeerien, rakenteen pysyvyyden ja muutosten tutkimuksessa.³⁵ Esimerkiksi jos tutkittavaa yhdistettä on tarkoitus käyttää korkeissa lämpötiloissa, termogravimetrialla voidaan selvittää, mitä

yhdisteelle tapahtuu kuumennettaessa ja miten stabiilina yhdiste pysyy korkeassa lämpötilassa. Termogravimetrialla voidaan myös selvittää kuinka paljon näytteessä on epäpuhtautena esimerkiksi liuotinta, jos näytteen koostumus tunnetaan ja liuotin tai liuottimet haihtuvat näytteestä ennen puhtaan tutkittavan yhdisteen hajoamista. Sen avulla voidaan myös analysoida hiilen, polymeerien ja kumin koostumusta. Näytettä kuumentamalla voidaan näytteestä erottaa ensin kosteus, sitten helposti haihtuvat yhdisteet ja yhdisteiden osat ja lopuksi hiilen ja muiden palavien aineiden määrä. Sitä voidaan hyödyntää myös kiinteän tilan reaktioiden tutkimuksessa, jos tapahtuvat reaktiot tunnetaan. Näytteen massan muutoksista voidaan määrittää milloin reaktio alkaa, miten nopeasti se etenee ja miten suuri osa näytteestä reagoi. Lisäksi termogravimetriaa voidaan käyttää epäorgaanisten aineiden tutkimuksessa metallien hapettumisen tutkimiseen, jolloin näytteen massa lisääntyy kokeen aikana, ja lasin valmistuksessa tapahtuvien prosessien ja reaktioiden tutkimiseen. Termogravimetriaa antaa vain harvoin tarpeeksi tietoa tutkittavista yhdisteistä ja sitä käytetäänkin usein yhdessä muiden menetelmien kanssa. Esimerkiksi näyteastian jäänyt jäämä voidaan analysoida IR-spektroskopian ja elektronimikroskopian avulla. Joskus voidaan käyttää apuna jopa röntgendiffraktiota. Näin saadaan selville millaisia tuotteita reaktiossa syntyy. Näiden tietojen avulla voidaan joskus päätellä tarkasti, mitä kuumennuksen aikana tapahtui ja millaisia kuumennetut aineet olivat.

Yksinkertaisimmillaan termogravimetrialaitteisto koostuu upokkaasta, johon näyte asetetaan, mikrova'asta, johon upokas on kiinnitetty, ja uunista, joka on upokkaan ympärillä.³⁵ Sulatusastioita valmistetaan useista materiaaleista. Sulatusastia ei saa reagoida kaasujen tai sulien materiaalien kanssa ja sillä tulee olla korkea sulamispiste. Sulatusastiat ovat joko keraamisia tai ne valmistetaan piidioksidista tai eri metalleista. Jotkut kalliit mallit valmistetaan jopa platinasta, joka sopii hyvin sulatusastioiden valmistukseen. Termogravimetriassa on aikojen kuluessa käytetty monenlaisia mikrovaakoja, mutta yleisin nykyään käytetty vaaka on kiertotapin varassa ja sitä käytetään elektronisesti siten, että näyte pysyy uunissa samassa asemassa koko mittauksen ajan ja massan muutokset saadaan mitattua tarkasti. Termogravimetriassa käytettävät uunit on valmistettu niin, että niitä voidaan käyttää 1100 °C:een asti, joitakin jopa 1600 °C:een asti. Uunin keskelle muodostuu tasaisen lämpötilan alue ja niiden lämpötilaa ja lämpenemisnopeutta voidaan säädellä tarkasti. Yleensä laitteistot valmistetaan lisäksi niin, että uunin ilmakehää voidaan säädellä, jolloin mittaus voidaan tehdä esimerkiksi argonkaasun alla tai jopa vakuuissa.

4.2 Differentiaalinen termooanalyysi (DTA) ja differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria (DSC)

Differentiaalinen termoinen analyysi (DTA) ja differentiaalinen pyyhkäisykalorimetria (DSC) ovat yleisimmin käytetyt termisen analyysin menetelmät.³⁶ Tekniikoilla hankitaan tietoa näytteen termisistä muutoksista lämmittämällä tai jäähdyttämällä sitä inertin vertailunäytteen kanssa. DTA ja DSC eroavat termogravimetriasta siinä, että niissä näytteen ei tarvitse menettää massaa mittauksia varten. DSC on tekniikoista uudempi ja siinä tutkitaan näytteen ja vertailunäytteen lämpötehoa eli mitataan kuinka paljon energiaa vaatii lämmittää tai jäähdyttää näyte tiettyyn lämpötilaan ja verrataan tätä vertailunäytteelle suoritettuun vastaavaan lämpötilanmuutokseen. DTA-menetelmässä näytteeseen ja vertailunäytteeseen kohdistetaan samanlainen lämmitysteho ja mitataan näytteeseen ja vertailunäytteeseen syntyvä lämpötilaero. Toisin kuin DTA:a DSC:aa voidaan käyttää kvantitatiivisiin kalorimetrisiin mittauksiin ja se on nykyään yleisemmin käytetty tekniikka 1600 °C:n lämpötilaan asti. Tekniikoita käytetään pääasiassa kiinteiden näytteiden tutkimuksessa, mutta niitä voidaan käyttää joskus myös nestemäisten näytteiden kanssa. Mittaukset ovat suhteellisen nopeita ja helppoja ja niissä tarvitaan vain muutama milligramma näytettä.

DTA ja DSC ovat erittäin tärkeitä menetelmiä materiaalien tutkimuksessa. Niitä voidaan käyttää lähes kaikenlaisten kiinteiden materiaalien tutkimuksessa.³⁶ Näytteet voivat olla kiteisiä tai amorfisia, orgaanisia tai epäorgaanisia, puhtaita aineita tai seoksia, pieniä molekyyliä tai polymeerejä. Jos DTA:aa ja DSC:aa käytetään yhdessä, niitä voidaan käyttää aineiden tunnistukseen, sillä aineiden DTA ja DSC yhdistelmäkäyrä on jokaiselle aineelle ominainen. Tämä tekniikka on erityisen hyödyllinen lääketieteelle, sillä sen avulla voidaan usein erottaa yhdisteen eri polymorfit toisistaan. Toinen lääketieteellisuuden kannalta merkittävä ominaisuus on menetelmien kyky selvittää, miten tutkittavan lääkkeen komponentit reagoivat toistensa kanssa, sillä reaktioiden aiheuttama lämpötehon tai lämpötilan muutos voidaan havaita DTA:lla ja DSC:lla. DTA- ja DSC-menetelmillä on suuri merkitys myös polymeerien termisen vakauden tutkimuksessa. Menetelmien avulla voidaan seurata polymeerisissä näytteissä tapahtuvia muutoksia lämpötilan muutoksen ja muutosnopeuden seurauksena. Myös mineraaleja ja savimaisia yhdisteitä on tutkittu paljon, ja joissakin tapauksissa DTA ja DSC ovat ainoat menetelmät, joilla mineraali voidaan

tunnistaa. Menetelmiä käytetään paljon myös sementtien tutkimuksessa. Ne osoittautuivat erityisen hyödyllisiksi korkean alumiinipitoisuuden omaavan sementin rakenteellisen kestävyuden tunnistuksessa. Huomattiin, että alumiinisementin komponenteissa tapahtui reaktioita, joiden seurauksena sementin kantokyky heikkeni. Joissakin tapauksissa tämä johti jopa sementtirakenteiden pettämiseen. DTA:lla ja DSC:llä voitiin nopeasti ja luotettavasti havaita sementin tila ja niitä käytetään vielä monimutkaisempien sementtirakenteiden tutkimuksessa. DSC-menetelmää voidaan myös käyttää erilaisissa kvantitatiivisissä tutkimuksissa. Menetelmää on käytetty määrittämään näytteiden lämpökapasiteetti, puhtaus, höyrynpaine, kemiallinen kinetiikka, lämmönjohtokyky ja sen muutosten ja siirtymätilojen entalpiat.

DSC- ja DTA-laitteistot koostuvat näyteastioista, tarkoista lämpötilasensoreista ja lämpötilaa ja ilmakehää säätelevästä reaktioastiasta.³⁶ DSC-laitteistoja on kolmea tyyppiä: tehon kompensointilaitteisto, lämpövaihtelulaitteisto ja Calvet-tyypin laitteisto. Tehon kompensointilaitteistossa näytteellä ja vertailunäytteellä on erillinen näyteastia ja lämmitin sekä erilliset lämpötilasensorit. Jos näytteelle ja vertailunäytteelle muodostuu lämpötilaero, laite muuttaa lämmitystehoa siten, että näytteet pysyvät samassa lämpötilassa. Lämmitystilan erot mitataan. Lämpövaihtelulaitteistossa näytettä ja vertailunäytettä lämmitetään samassa uunissa ja näytteen ja vertailunäytteen lämpötilaero mitataan lämpötilasensoreilla, jotka ovat yleensä lämpösähköpareja. Lähes kaikki DTA-laitteistot ovat lämpövaihtelulaitteiston kaltaisia. Ne eroavat lähinnä siinä, että DSC-laitteistossa näytteiden lämpötilaero muutetaan lämpötehoksi, kun DTA:ssa mitataan suoraan lämpötilaeroja. Calvet-laitteistossa näyte ja vertailunäyte asetetaan suuren jäähdytyslevynä toimivan kalorimetrin sisälle. Laitteistolla mitataan lämpövaihtelu näytteen ja kalorimetrin välillä sekä vertailunäytteen ja laitteen välillä. Laitteisto on suunniteltu yleensä siten, että sitä käytetään vain yhdessä lämpötilassa. Laitteiston etuna on, että sillä voidaan mitata suuriakin näytteitä ja lämpötila pysyy tasaisena. Haittana on hyvin hidas lämmitys- ja jäähdytysnopeus sekä vasteaika.

5 Mikroskopia

5.1 Elektronimikroskopia

Elektronimikroskopian tarkoituksena on saada tutkittavasta näytteestä suurennettu kuva kohdistamalla objektiin elektronisäde.³⁷ Elektronien suhteellisen lyhyen aallonpituuden ansiosta elektronimikroskoopeilla saadaan huomattavasta tehokkaampi suurennus kuin optisilla mikroskoopeilla. Elektronimikroskopian avulla ei saada juuri tietoa tutkittavan aineen atomirakenteesta tai yksittäisten molekyylien kiderakenteesta, mutta sillä voidaan saada arvokasta tietoa aineen kiteiden tai polymeerikimppujen rakenteesta. Monet elektronimikroskopiassa tärkeät käsitteet, kuten magneettiset linssit ja elektronisäteen valmistus, ovat samankaltaisia kuin elektronidiffraktiossa, ja ne on käyty tarkemmin läpi elektronidiffraktio-osiossa (luku 2.3). Tässä osiossa keskitytään vain laitteistoon ja tekniikoihin.

Elektronimikroskoopin tärkeimmät osat ovat elektronitykki, jolla saadaan tarvittavat elektronit, magneettiset linssit, joilla elektroneja muokataan, sekä näytekammio ja detektori, jolla elektronit lopuksi havaitaan.³⁷ Lisäksi modernit laitteistot on usein suunniteltu niin, että niillä voidaan mitata samalla laitteella näytteestä elektronidiffraktiokuvio, elektronispektroskopiaspektri ja elektronimikroskopiakuva. Monissa laitteistoissa on myös lisälaitteita, joilla voidaan mitata näytteestä vapautuvaa röntgen-, UV/VIS- ja lämpösäteilyä. Laitteiden avulla voidaan laitteistosta riippuen saada yli miljoonakertainen suurennus. Yleisimmät elektronimikroskopian lajit ovat pyyhkäiselektronimikroskopia (SEM) ja läpäiselektronimikroskopia (TEM). Elektronimikroskopiassa mitatut elektronit ovat pääasiassa sironneet elastisella siroamisella eli Rutherfordin siroamisella. Elektronien elastinen siroaminen tarkoittaa siroamista, jossa siroavan elektronin suunta muuttuu, mutta jonka energia ei mainittavasti muutu. TEM-menetelmässä mitatut elektronit ovat näyteen ohuudesta johtuen sironneet vain kerran tai eivät kertaakaan. Laitteisto on lisäksi aseteltu niin, että elektronit, jotka siroavat liian suuressa kulmassa eivät pääse detektorille asti. Tällä muodostuu kuva, jossa näyteen alueet, josta elektronit siroavat useammin näkyvät tummempina kuin alueet, jotka eivät aiheuta niin paljon sirontaa. SEM-menetelmässä puolestaan mitatut elektronit ovat sironneet ainakin yhden kerran, yleensä useammin. Tämä

johtuu näytteestä, jonka läpäisykyky on yleensä paljon huonompi kuin TEM-mittauksissa käytettyjen näytteiden.

Läpäisyelektronimikroskoopit on suunniteltu siten, että niillä voidaan saada tietoa ohuiden näytteiden sisäisestä rakenteesta, kun taas pyyhkäisyelektronimikroskoopeilla saadaan tietoa suurempien näytteiden pinnasta tai hyvin läheltä sen pintaa.⁴⁰ TEM-laitteistolla saadaan tehokkaampia suurennuksia kuin SEM-laitteistolla. TEM-laitteistolla saatava kuva muodostetaan hyvin samankaltaisesti kuin optisilla mikroskoopeilla. Kuva muodostuu kaikilta osin samanaikaisesti ja sitä varten näytteeseen kohdistetaan elektronisäde sen takaa, jolloin säde läpivalaisee näytteen. Tästä syystä TEM-laitteistoissa pitää käyttää ohuita, alle mikrometrin paksuisia näytteitä, ja valmistusmenetelmä saa vaikuttaa näytteen koostumukseen vain vähän. Näytteen tulee lisäksi olla niin kestävä, että sitä voidaan käsitellä ainakin mittauksen ajan ja sen pitää kuvata mitattavaa materiaalia mahdollisimman kokonaisvaltaisesti. Nämä vaatimukset ovat käytännössä hyvin vaikeita saavuttaa, mutta näytteiden valmistuksessa tulisi pyrkiä näytteeseen, joka täyttää vaatimukset mahdollisimman hyvin.

SEM-laitteistoilla näytteen ei oleteta olevan läpinäkyvä ja elektronisäde kohdistetaan siihen näytteen etupuolelta. Tämän lisäksi näytteen koko kuvaa ei mitata kerralla vaan se koostuu peräkkäin mitatuista palasista, joista saadun tiedon perustella kuva muodostetaan. SEM-mittauksissa käytetty näyte voi olla huomattavasti suurempi kuin TEM-mittauksiin tarvittava näyte ja sen valmistus on helpompaa kuin TEM-näytteen. SEM-menetelmän tärkein vaatimus näytteelle on, että näytteen pinnan pitää johtaa sähköä. Tämä voi aiheuttaa ongelmia sähköä johtamattomien keraamisten, polymeerimuotoisten ja biologisten näytteiden kanssa.

Baruah *et al.*³⁸ ovat valmistaneet laskoksia muodostavia foldameerejä. Foldameerit on levitetty hiilellä päällystetylle polymeerikalvolle ja mittaukset suoritettiin JEOL 1200 TEM-laitteistolla. Kalvon päällä foldameerit ovat muodostaneet neulamaisia kiteitä. Kwon *et al.*³⁹ puolestaan ovat valmistaneet β -peptidi foldameerin. SEM-kuvat mitattiin kenttäemissio pyyhkäisyelektronimikroskoopilla (FE-SEM), kun näytteet oli ensin päällystetty platinalla.

5.2 Atomivoimamikroskopia

Toisinkuin muut mikroskopian lajit, jotka perustuvat näytteestä siroavan säteilyn mittaukseen suhteellisen kaukana näytteestä, atomivoimamikroskopiassa (AFM) mittaus suoritetaan vain joidenkin nanometrien etäisyydellä näytteestä.⁴⁰ Menetelmä ei myöskään perustu säteilyyn vaan näytteen mekaaniseen skannaukseen atomivoimien avulla. AFM:n avulla voidaan tehdä mittauksia molekyyli- ja atomitason tarkkuudesta aina yli 125 μm :n tarkkuuteen asti. Tekniikalla voidaan tutkia myös näytteitä, jotka ovat suhteellisen epätasaisia, sillä tekniikan vertikaalinen liikkumavara on jopa 8-10 μm :ä. AFM on suhteellisen uusi tekniikka: ensimmäinen atomivoimamikroskooppi rakennettiin vuonna 1986. AFM:n etuina ovat erittäin tehokas suurennus, erinomainen resoluutio ja näytteiden valmistuksen helppous verrattuna muihin mikroskopian lajeihin. Lisäksi näytteestä saadaan hyvin tarkka kolmiulotteinen mallinnus näytteen pinnan muodoista aina nanometrin kymmenyksien tarkkuuteen asti. Tekniikan haittana on, että sillä voidaan skannata vain suhteellisen pieniä näytealueita. Lisäksi mittaukset ovat hitaita ja pehmeiden näytteiden käsittely on vaikeaa.

Atomivoimamikroskoopin tärkein osa on kärki, jolla mittaus suoritetaan ja kannatin, johon kärki on kiinnitetty. Ensimmäisissä AFM-laitteissa kärki oli pieni timanttisiru, joka oli liimattu pieneen palaseen kultafoliota.⁴⁰ Nykyään kärki ja kannatin valmistetaan piistä tai piinitridistä. Kärjen tärkein ominaisuus on sen terävyys, sillä usein terävimmällä kärjellä saadaan tarkimmat tulokset. Erityisesti kiteiden atomiresoluution määrittämisessä parhaat tulokset on saatu vakioterävyyden omaavilla piinitridikärjillä. Nykyään käytetään lähinnä kolmenlaisia kärkiä. vakiokärki on 3 μm :ä korkea pyramidi, jonka kärjen säde on 30 nm:ä, joka on valmistettu piinitridistä. Superkärjet, jossa kärjen päähän on lisätty materiaalia elektronisäteen avulla. ovat terävämpiä kuin muut kärjet, mutta ne ovat myös paljon muita kärkiä hauraampia. Kolmas kärkityyppi on valmistettu joko monikiteisestä tai yksikiteisestä piistä. Ne ovat valmistustekniikkansa ansiosta suhteellisen teräviä ja kestäviä. Kannatin, johon kärki on kiinnitetty, on kiinnitetty lasiseen siruun, jonka avulla laitetta on helpompi käsitellä. Kannattimia on olemassa kahdenlaisia: V:n muotoisia ja yhdestä palkista muodostuvia. Niiden ominaisuudet ja sitä kautta käyttötarkoitus riippuvat niiden muodosta ja valmistusmateriaalista.

Sensori on atomivoimamikroskoopin osa, jonka tehtävänä on mitata kannattimen poikkeama pikometrien tarkkuudella.⁴⁰ Sensorit toimivat optisen vivun eli säteenkimpoamisen periaatteella. Tässä menetelmässä lasersäde heijastetaan kannattimen takapuolelta herkälle fotodetektorille, joka huomaa pienetkin muutokset säteen paikassa. AFM-laitteistoon kuuluu myös erittäin tarkka skanneri, koska AFM-kuva muodostetaan mittaamalla kärjen ja näytteen väliset atomivoimat. Kun kärki kuljetetaan skannattavan alueen yli, pitää kärjen liikkeen olla tarkkaan säädelyä. Skannerin tehtävänä on liikuttaa kärkeä tai näytettä siten, että erittäin pieni mitta-alue saadaan tarkasti ja kokonaan skannattua. Viimeinen tärkeä osa laitteistoa on näytepidike, joita on kahdenlaisia. Yleisimpiä ovat laitteistot, joissa näyte liikkuu kärjen alla ja kärki pysyy paikallaan. Toisessa laitteistossa kärki liikkuu mittauksen aikana. Tämän kaltaiset laitteistot ovat tulleet myöhemmin markkinoille, sillä niitä varten piti kehittää säteen-heijastus laitteisto, joka toimii kannattimen liikkeestä huolimatta.

Atomivoimamikroskooppia voidaan käyttää kahdella yleisellä toimintatavalla. Staattisessa moodissa mitataan vain paikallaan olevaan kärkeen kohdistuvat voimat.⁴⁰ Resonanssimoodissa kärki saadaan oskilloimaan näytteen lähellä ja kärkeen kohdistuvien voimien suoran tarkkailun sijaan seurataan kärjen oskillaation amplitudia. Staattisen moodin yleisin mittaustapa on kontaktimoodi, jossa kärki tuodaan suoraan kontaktiin näytteen pinnan kanssa ja kannattimen vastus pidetään tasaisena koko mittauksen ajan, jolloin kärki seuraa tarkasti näytteen pinnan muotoja. Vastuksen aiheuttavat atomien repulsiivoimat. Tekniikalla saadaan tarkkoja kuvia ja sitä voidaan käyttää myös nesteessä olevien näytteiden mittauksessa. Tekniikan ongelmana on näytteen pinnan vahingoittuminen skannauksen aikana. Kiteiden mittauksessa on sovellettu kontaktimoodin muunnosta, jossa kärki on ohjelmoitu painamaan kovemmin näytteen rosoisia kohtia ja heikommin näytteen painanteita. Menetelmää kutsutaan poikkeama- tai virhemoodiksi ja se sopii näytteille, jotka ovat jäykkiä ja rosoisia.

Resonanssimoodissa kannatin saadaan oskilloimaan pietsosähköisellä moottorilla (akustinen moodi) tai liikuttamalla laitteen ulkoisten käämien ohi anturi, joka on päällystetty kerroksella magneettista ainetta. (magneettinen moodi). Resonanssimoodiin sisältyy useita tapoja skannata näyte. Yksi tapa on ei-kontaktimoodi, jossa näyte tuodaan lähelle oskilloivaa kärkeä, jolloin siihen vaikuttavat van der Waalsin vetovoimat, jotka

aiheuttavat muutoksen kannattimen resonanssitaajuudessa. Kuva saadaan aikaan pitämällä resonanssitaajuuden muutos samansuuruisena koko mittauksen ajan, jolloin kuva saadaan kannattimen amplitudin muutoksia tarkkailemalla. Amplitudi muuttuu näytteen pinnan muotojen mukaan, koska resonanssitaajuuden muutos pidetään samansuuruisena koko mittauksen ajan. Tekniikalla ei saada niin tarkkaa resoluutiota kuin muilla menetelmillä, ja tekniikkaa voi käyttää vain kuivissa oloissa. Tekniikan hyvä puoli on, että kärki ja näyte eivät ole kontaktissa, joilla pintavaurioita ei synny. Resoluutiomoodin toinen tärkeä tekniikka on kontakti ja ei-kontaktimoodin välimuoto kosketusmoodi. Tämä tekniikka on muuten samankaltainen kuin ei-kontaktimoodi, mutta siinä kärki tuodaan kosketukseen näytteen kanssa, jolloin siihen vaikuttavat van der Waalsin vetovoimien lisäksi samat repulsiivoimat kuin kontaktimoodissa. Tekniikka on suosittu, koska sillä saadaan suhteellisen hyvän resoluution kuvia ja laitteen kärki on vain vähäisessä kontaktissa näytteen pinnan kanssa. Tekniikkaa voidaan myös käyttää liuostilassa.

6 Yhteenveto

Kiinteiden orgaanisten aineiden rakenteen määrittystä varten on kehitetty monenlaisia menetelmiä. Näiden menetelmien tunteminen edes pintapuolisesti on erittäin hyödyllinen apuväline tutkijoille, jotka valmistavat uudenlaisia molekyyliä ja tutkivat niiden rakennetta ja ominaisuuksia kiinteässä tilassa. Tärkeimmistä menetelmistä käytiin yleisluontoisen esittelyn lisäksi lyhyesti läpi teoria, johon menetelmä perustuu, menetelmässä tarvittava laitteisto ja eriteltiin tärkeimmät tekniikat, joilla menetelmää käytetään. Menetelmän tarkempi ymmärtäminen on usein ensiarvoisen tärkeää menetelmää valittaessa ja erityisesti tuloksia ja niiden tarkkuutta tulkittaessa. Tutkielmassa esiteltyjen menetelmien syvällistä ymmärtämistä varten on suositeltavaa tutustua tarkemmin menetelmistä julkaistuun kirjallisuuteen, esimerkiksi tutkielmassa lähteinä käytettyihin kirjoihin.

Tutkielmassa kuvatuilla menetelmillä saadaan selville hyvin erilaisia ominaisuuksia tutkittavista aineista ja eri menetelmillä voidaan käsitellä hyvin erilaisia näytteitä. Kaksi erittäin yleisesti käytettyä ja tärkeää tutkielmassa esiteltyä menetelmää ovat yksikideröntgendiffraktio ja infrapunaspektroskopia. Näitä menetelmiä vertaamalla voidaan nähdä monia eroja niiden ominaisuuksissa ja käyttötavoissa, jotka korostavat miten hyödyllistä monenlaisten menetelmien tunteminen on. Yksikideröntgendiffraktiolla saadaan

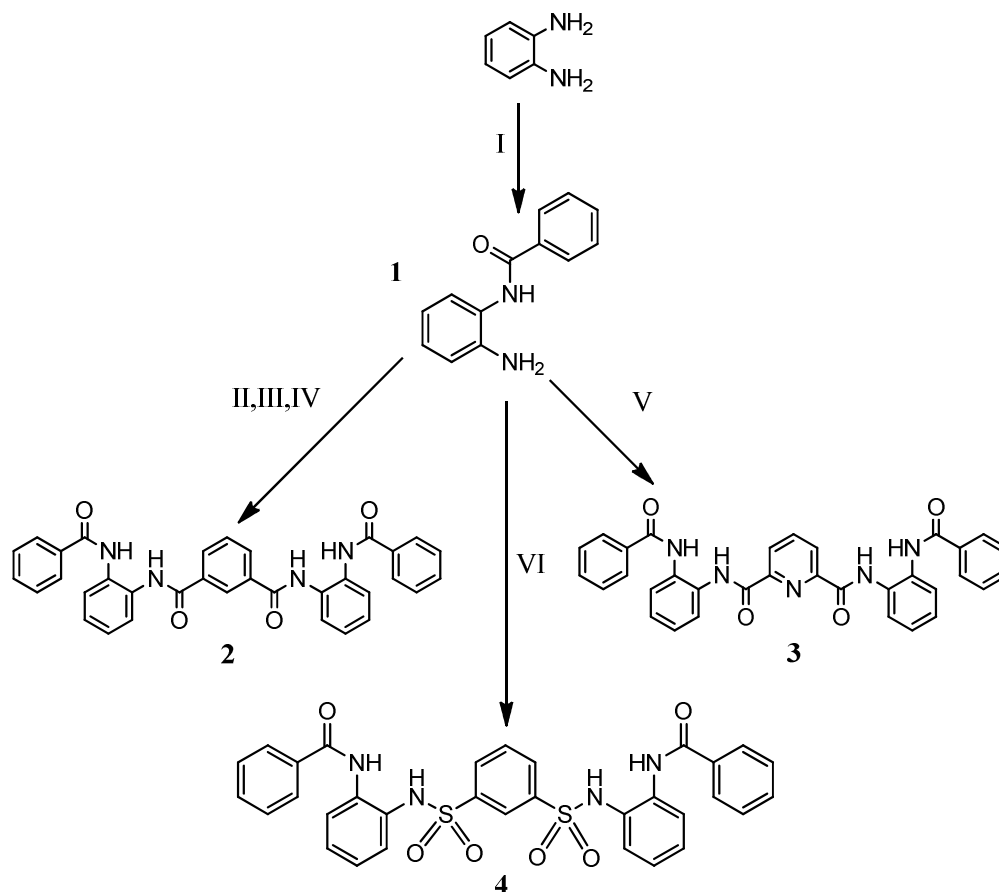
erittäin tarkasti selville tutkittavan kiteen kiderakenne ja kiteen muodostavien molekyylien atomi- ja sekundäärirakenne. Se on suosituin ja tärkein kiinteiden aineiden rakenteen määrittäminen, jonka etuna on sen ylivoimainen tarkkuus muihin menetelmiin verrattuna. Yksikideröntgendiffraktion ongelmana on kuitenkin se, että mittausta varten tarvitaan hyvälaatuinen kide, jonka valmistaminen voi olla erittäin vaikeaa tai mahdotonta. Aina ei ole myöskään tarkoituksenmukaista tutkia näytteen ainetta tai aineita kidemuodossa. Esimerkiksi, jos ainetta on tarkoitus käyttää lasimaisessa olotilassa kiteisen tilan sijaan, on hyödyllisempää tutkia aineen rakennetta ja ominaisuuksia lasimaisessa tilassa. Tätä tarkoitusta varten on kehitetty menetelmiä, joilla voidaan saada tietoa aineiden rakenteista niiden olomuodosta riippumatta, kuten infrapunaspektroskopia. IR-spektroskopian avulla voidaan tutkia mitä erilaisimpia näytteitä ja saada paljon hyödyllistä tietoa niiden rakenteesta ja ominaisuuksista erittäin nopeasti, tehokkaasti ja suhteellisen halvalla. IR-spektri on myös jokaiselle aineelle ja usein myös jokaiselle aineen polymorfiselle muodolle ominainen ja sitä voidaan käyttää hyvin tunnetun aineen tunnistukseen ja sen polymorfisen muodon määrittämiseen rutiininomaisesti. IR-spektroskopia ongelmana on tarkkuuden puute. Sen avulla aineen rakenteesta saadut tiedot eivät ole läheskään niin kattavia kuin yksikideröntgendiffraktiolla saadut ja sen avulla saadut tiedot aineen ominaisuuksista ovat yleensä vain suuntaa antavia ja ne pitää varmistaa huolellisesti muilla menetelmillä.

Kokeellinen osa

Amidofoldameerien synteesi, kidemuodot ja kompleksointi

7 Työn tarkoitus

Työn tarkoituksena oli valmistaa *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliinista (**1**) potentiaalisia amidofoldameerejä, *N*¹,*N*³-bis(2-bentsamidofenyyl)ibentseeni-1,3-dikarboksamidi (**2**) ja *N*²,*N*⁶-bis(2-bentsamidofenyyl)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (**3**), nukleofiilisellä substitutioreaktiolla (kuva 1) ja tutkia niiden kompleksoitumisominaisuuksia erilaisten anionien kanssa pääasiassa kiinteässä, mutta myös liuostilassa. Lisäksi valmistettiin samanlaisella reaktiolla *N*¹,*N*³-bis(2-bentsamidofenyyl)ibentseeni-1,3-disulfonamidia (**4**). Myös *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliini (**1**) valmistettiin itse *o*-fenyleenidiamiinista (**5**) ja bentsoyylikloridista (**6**).



Kuva 1. Työssä valmistettujen tuotteiden reaktiokaavio. I) Et₃N, CH₂Cl₂, bentsoyylikloridi, II) pyridiini, isoftaloyylidikloridi, III) Et₃N, THF, isoftaloyylidikloridi, IV) CH₃COOAg, THF, isoftaloyylidikloridi, V) Et₃N, THF, 2,6-pyridiinidikarbonyylidikloridi, VI) pyridiini, bentseeni-1,3-disulfonyylidikloridi.

Kompleksointitutkimusta varten tutkittiin valmistettujen yhdisteiden liukoisuutta eri liuottimiin ja liuotinseoksiin ja näiden vaikutusta aineiden kompleksoitumiseen ja kiteytymiseen. Lisäksi tutkittiin, esiintyykö valmistetuilla aineilla polymorfiaa ja pyrittiin selvittämään niiden kiderakenne ja varsinkin tapahtuuko niille foldameereille tyypillistä laskostumista.

8 Työssä käytetyt laitteet, liuottimet ja reagenssit

8.1 Laitteet

Synteeseissä ja aineiden tutkimuksessa käytetyt laitteet on esitelty taulukossa 1. Elementtianalyysit suoritti laboratoriomestari Elina Hautakangas ja NMR-mittaukset Avance DRX 500 NMR-spektrometrillä (NMR-titraus, COSY, HMBC ja HMQC) suoritti erikoislaboratoriomestari Reijo Kauppinen.

Taulukko 1. Työssä käytetyt laitteet, niiden valmistaja ja malli

Menetelmä:	Valmistaja ja malli:
Flash-kromatografia	Teledyne Isco Combiflash Companion
NMR-spektroskopia	Bruker Avance DPX 250 Bruker Avance DRX 500
Sulamispisteen määrittäminen	Stuart Scientific SMP3
Massaspektrometria	LCT Micromass
Elementtianalyysi	Vario EL III
ATR-IR spektroskopia	Bruker Tensor27
Pulveriröntgendiffraktio	PANalytical X'Pert PRO MPD
Yksikideröntgendiffraktio	Bruker Nonius KappaCCD

ESI-TOF massaspektrometriset mittaukset tehtiin siten, että ensin pieni määrä tutkittavaa ainetta liuotettiin metanoliin (1 ml). Tämän jälkeen saatu liuos laimennettiin vielä kaksi kertaa siten, että 10 µl liuosta siirrettiin toiseen astiaan, johon lisättiin tämän jälkeen metanolia (1 ml). Tarvittaessa mittauksissa käytettiin vahvempia liuoksia. Aineista mitattiin

[M+addukti] ja [M-addukti] ja näitä arvoja verrattiin laskettuihin suhteellisiin molekyyli-massoihin. Mittaukset suoritti pääasiassa erikoislaboratoriomestari Mirja Lahtiperä.

Pulveriröntgendiffraktiomittauksissa aine jauhettiin tarvittaessa morttelissa ja tämän jälkeen asetettiin erikoishiotulle piilevylle, joka oli useimmiten voideltu vaseliinilla, ja tasoitettiin. Mittaus suoritettiin huoneenlämpötilassa (25 °C). Röntgenputki oli PW3373/10 Cu LFF DK 270683, teholla 45 kV 30 mA. Goniometri oli PW3050/60 ($\theta/2\theta$). Näytepidikkeenä oli Reflection Transmission Spinner PW3064. Tulevan säteen siroamisen estävä rako oli 4°, tulevan säteen maski oli 10 mm ja diffraktoidun säteen AS rako oli 8,7 mm. 2θ kulma mitattiin välillä 3-35° ja askelaika oli 75 s 0,016° resoluutiolla. Tulosten käsittelyyn käytettiin X'Pert Highscore Plus-ohjelmaa.

Yksikideröntgendiffraktiomittaukset suoritettiin Bruker AXS APEX II CCD-detektorilla grafiittimonokromatisoidulla CuK α -säteilyllä ($\lambda=1.54178 \text{ \AA}$). Rakenne ratkaistiin suorilla menetelmillä ja hienonnettiin Fourier-tekniikoilla SHELXTL⁴² ohjelmalla. Rakenteiden käsittelyssä käytettiin WinGX⁴³, Platon⁴⁴ ja Mercury⁴⁵ ohjelmia. Absorptiokorjaukset tehtiin Denzo 1997 -ohjelmalla.⁴⁶ Mittaukset suoritti ja tulokset käsitteli pääasiassa tutkija Elisa Nauha.

8.2 Liuottimet ja reagenssit

Dikloorimetaani kuivattiin ennen käyttöä siten, että ensin 250 ml:n kolviin laitettiin mahdollisimman suuri määrä dikloorimetaania. Kolviin lisättiin kuivausaineksi kalsiumkloridia ja kolvi peitettiin kalsiumkloridiputkella. Dikloorimetaani tislattiin kolvista säilytysastiaan, jonka pohjalla oli uunissa kuivattuja molekyyliseuloja. Lopuksi säilytysastia tyetettiin, peitettiin septumilla ja parafilmillä ja säilytettiin jääkaapissa. THF kuivattiin refluksoimalla Na-langan ja bentsofenonin kanssa argon-virtauksessa. Työssä käytetyt liuottimet ja reagenssit on esitelty taulukoissa 2 ja 3.

Taulukko 2. Erikoistyössä käytetyt liuottimet. Deuteroituja liuottimia käytettiin NMR-mittauksissa.

Liutin:	Puhtaus:	Valmistaja:
Asetoni	99,5	Aldrich
Asetoni-d ₆	99,8	Euriso-top
Asetonitriili	99,8	VWR
Butanoli	99,5	VWR
Dikloorimetaani*	99,9	Aldrich
Dimetyyliasetamidi	99	Merck
Dimetyyliformamidi	99,8	Lab-Scan
Dimetyylisulfoksidi	99,5	Lab-scan
Dimethylsulfoksidi-d ₆	99,8	Euriso-top
Etanoli (abs.)	99,5	Altia
Etyyliasetatti	99,5	Aldrich
Heksaani	-	Rathburn
Kloroformi-d ₃	99,8	Aldrich
Metanoli	-	Aldrich
Tetrahydrofuraani*	99,7	VWR
Tolueeni	99,7	Riedel-De Haen

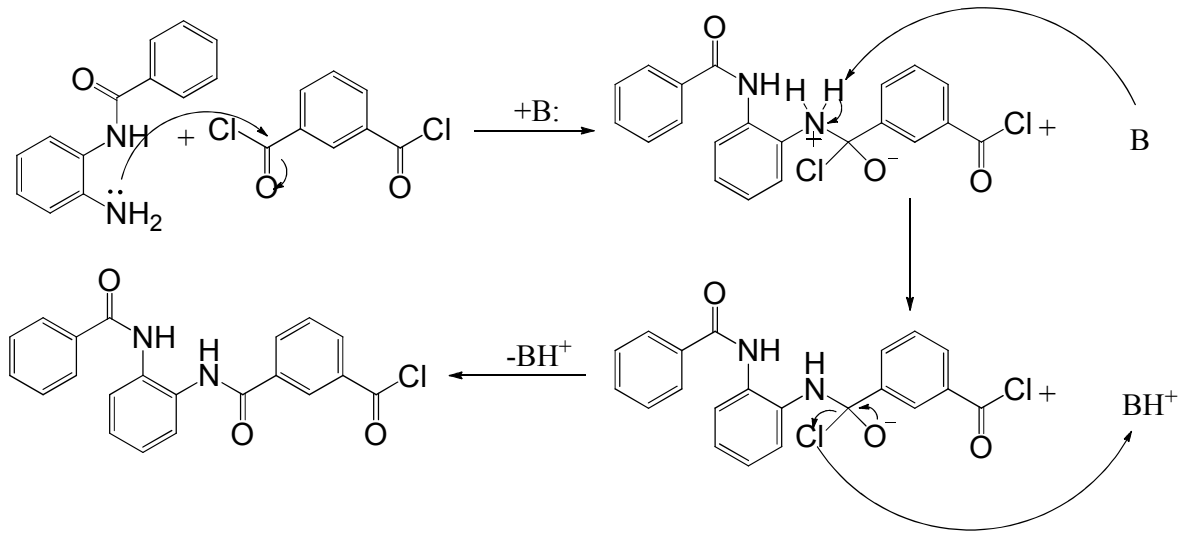
*kuivattu

Taulukko 3. Erikoistyössä käytetyt reagenssit

Reagenssi:	Puhtaus:	Valmistaja:
Bentseeni-1,3-disulfonyylikloridi	97	Fluka
Bentsoyylikloridi	99,5	Fluka
<i>o</i> -fenyleenidiamiini	98	Merck
Hopea-asetatti	purum 64 % Ag	Fluka
Isoftaloylidikloridi	98	Aldrich
Natriumsulfaatti	99	Aldrich
Pyridiini	99,5	BDH
2,6-Pyridiinidikarboonyylikloridi	97	Aldrich
Silika	-	Merck
Tetrabutyyliammoniumbromidi	99	Fluka
Tetrabutyyliammoniumfluoridi	97	Fluka
Tetrabutyyliammoniumkloridi	97	Fluka
Tetraetyyliammoniumbromidi	99	Aldrich
Tetraetyyliammoniumkloridi	98	Sigma
Tetrametyyliammoniumfluoridi	97	Aldrich
Trietyyliamiini	99	Merck

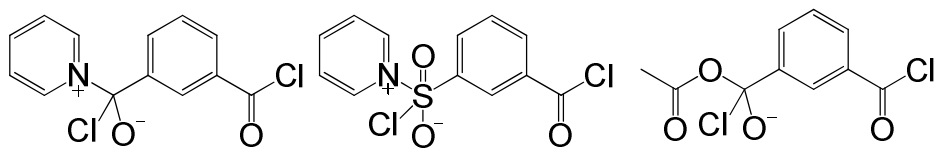
9 Synteesiohjeet

Työssä valmistettujen yhdisteiden synteesit tapahtuivat nukleofiilisellä substituutio-reaktiolla.⁴⁷ Reaktioissa aminoryhmästä muodostuu sidos karbonyyli- tai sulfonyyliryhmään, ja karbonyyli- tai sulfonyyliryhmään kiinnittynyt kloori irtoaa (kuva 2). Reaktion ensimmäisessä vaiheessa aminoryhmän typhen elektronipari muodostaa sidoksen karbonyyliryhmän hiileen tai sulfonyyliryhmän rikkiin, jolloin karbonyyliryhmän kaksoissidoksen π -sidoksia purkautuu ja jäljelle jää vain δ -sidoksia, ja happi saa negatiivisen varauksen π -sidoksen elektroniparin siirtyessä sille. Tämän jälkeen muodostuneen tetraedrisen välituotteen positiivisen varauksen omaavasta tyypestä irtoaa emäksen avustuksella protoni, ja karbonyyliryhmän kaksoissidos palautuu, jolloin Cl^- -anioni irtoaa ja muodostaa emäksen kanssa kloridisuolan.



Kuva 2. Bentseenifoldameerin **2** reaktio-mekanismi.

Emäksenä käytettyjen yhdisteiden pK_{aH} arvojen perusteella voidaan olettaa, että jos emäksenä käytetään pyridiiniä tai hopea-asetaattia reaktion alussa muodostuu todennäköisesti jonkin verran pyridiini- tai hopea-asetattiväliuotteita, koska yhdisteiden nukleofiilisyyden on samaa luokkaa. Trietyyliamiinilla nukleofiilisyyttä ennustava pK_{aH} arvo on huomattavasti huonompi.⁴⁷ Nämä väliuotteet hajoavat kuitenkin pian, ja muodostuu stabiilimpia amidisidoksen omaavia ryhmiä (kuva 3). Tämän jälkeen reaktio etenee yleisen reaktiomekanismin mukaisesti (kuva 2). *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliinin **1** pK_{aH} arvon arvioitiin olevan samaa suuruusluokkaa aniliinin pK_{aH} arvon kanssa (taulukko 4). Synteeseissä emästä käytetään reaktiossa syntyvän vetykloridihapon poistamiseksi reaktioseoksesta, mikä todennäköisesti parantaa reaktion saantoa.

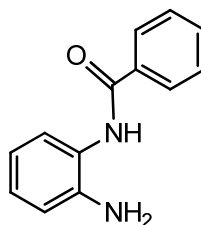


Kuva 3. Pyridiinin ja hopea-asetatin kanssa reaktioissa mahdollisesti muodostuvat väliuotteet.

Taulukko 4. Pyridiinin, asetaatin, trietyyliamiinin ja aniliinin pK_{aH} -arvot.⁴⁷

Aine:	pK_{aH} :
Aniliini	4,6
Asetaatti	4,8
Pyridiini	5,2
Trietyyliamiini	10,7

9.1 *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliini (1)



1

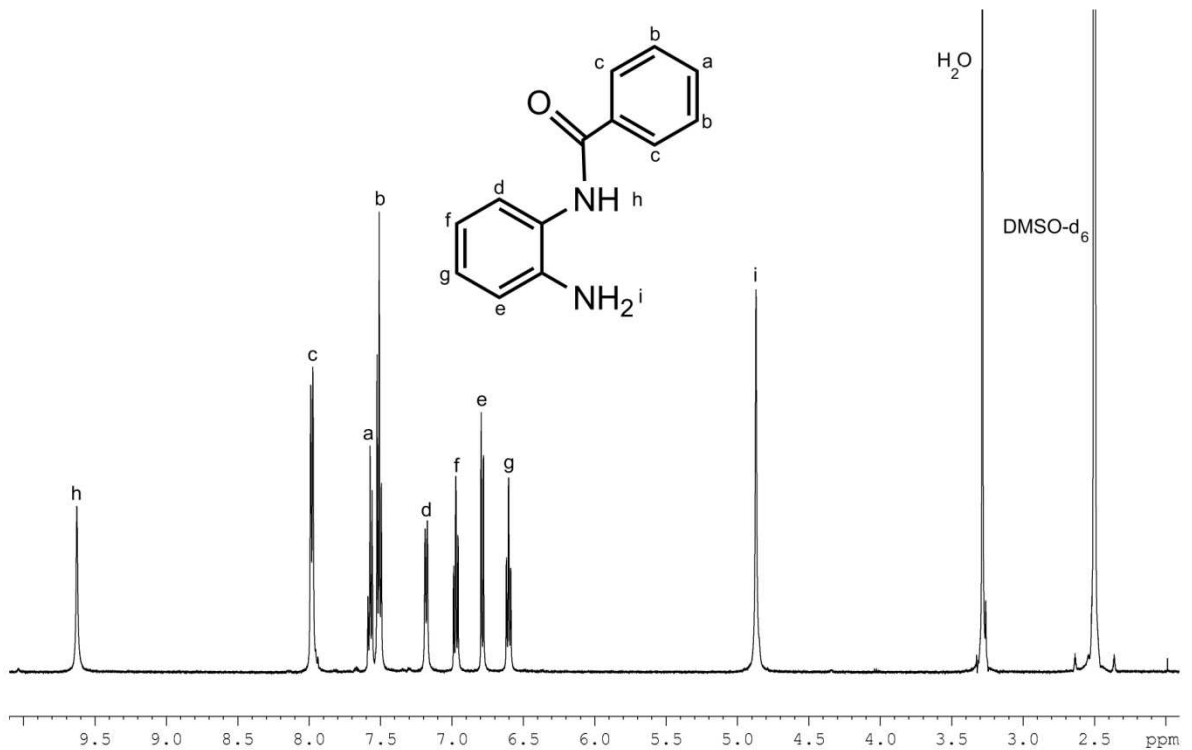
Lähtöaine **1** valmistettiin Riia Annalan työkirjan ohjeiden mukaan.⁴⁸ Synteesi tehtiin kuivatuissa lasiastioissa typpi-ilmakehässä. *O*-fenyleenidiamiini liuotettiin (3,00 g; 27,7 mmol) dikloorimetaaniin (90 ml). Liuokseen lisättiin trietyyliamiinia (1,0 ml; 7,2 mmol) ja se kuumennettiin refluksitumislämpötilaan. Liuokseen lisättiin tipoitain dikloorimetaaniin (70 ml) liuotettu bentsoyylikloridi (0,97 g; 6,9 mmol). Tämän jälkeen seoksen annettiin refluksoitua kahden tunnin ajan. Refluksoinnin aikana saattoi muodostua vihreää sakkaa. Seokseen lisättiin silikaa (5 g) ja se konsentroidiin rotavaporilla, jolloin jäljelle jäi vihreää sakkaa. Tuote erotettiin flash-kromatografialla käyttäen eluenttina etyyliasetaatti:heksaani seosta (1:1). Fraktiot tutkittiin TLC:n avulla, ja fraktiot, joissa oli merkittäviä määriä tuotetta, konsentroidiin rotavaporilla. Saatu sakka uudelleenkiteytettiin etyyliasetaatista (5-10 ml) ja heksaanista (50-100 ml), tarvittaessa useita kertoja, ja kuivattiin vakuumissa. Synteesi toistettiin kolme kertaa (taulukko 5). Paras saanto oli 58,9 %. (LIITE 1)

Taulukko 5. Yhdisteen **1** synteesit

Synteesi:	Synteetikoodi:	Saanto %:	saanto (mg):
1	TDZ-005	5,5	81,0
2	TDZ-008	45,6	668,1
3	TDZ-011	58,9	862,3

Sulamispiste: 149-151 °C

^1H NMR (DMSO- d_6) 500 MHz: 4.87 (s, 2H), 6.60 (td, 1H, $J_{\text{HH}}=1.2$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.6$ Hz), 6.79 (dd, 1H, $J_{\text{HH}}=1.3$ Hz, $J_{\text{HH}}=8.1$ Hz), 6.97 (td, 1H, $J_{\text{HH}}=1.2$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.6$ Hz), 7.18 (d, 1H, $J_{\text{HH}}=7.7$ Hz), 7.51 (t, 2H, $J_{\text{HH}}=7.4$ Hz), 7.55-7.60 (m, 1H), 7.97-7.99 (d, 2H, $J_{\text{HH}}=7.4$ Hz), 9.63 (s, 1H) ppm



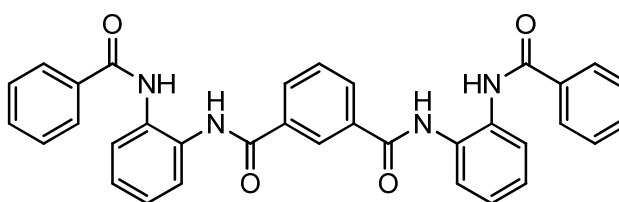
MS (ESI-TOF) m/z: 235,08 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_1$: 212,25 g/mol

Taulukko 6. Elementtianalyysi C₁₃H₁₂N₂O₁.

Alkuaine:	Teor. arvo (%):	Mitattu (%):	Virhe (%):
N	13,20	13,32	0,12
C	73,56	73,77	0,21
H	5,69	5,57	0,12

9.2 *N*¹,*N*³-bis(2-bentsamidofenyyl) bentseeni-1,3-dikarboksamidi (2)



2

Menetelmä 1

Synteesissä käytettiin kuivattuja lasiastioita ja se suoritettiin typpi-ilmakehässä. *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliini **1** (0,11 g; 0,5 mmol) liuotettiin kuivattuun THF:iin (20 ml) sekoituksen avulla. Seokseen lisättiin trietyyliamiinia (0,2 ml) ja seoksen annettiin reagoida huoneenlämmössä ja sekoitettuna tunnin ajan. Tämän jälkeen seosta kuumennettiin kunnes se alkoi refluksoitua, jonka jälkeen lisättiin tiputussuppilosta tipoittain kuivaan THF:iin (20 ml) liuotettua isoftaloylidikloridia (0,059 g; 0,3 mmol). Lisäyksen jälkeen refluksointia jatkettiin kahden tunnin ajan. Seokseen muodostuu reaktion aikana valkoista sakkaa, joka on trietyyliammoniumkloridisuolaa ja synteesituotetta.

Synteesituotteen voi erottaa reaktioseoksesta usealla eri tavalla. Jos THF:a käytetään ohjeen mukaisesti, reaktioseokseen sakkautuu iso osa synteesituotteesta. Tuotteen voi erottaa suodattamalla ja pesemällä vedellä. THF-liuokseen jää vielä jonkin verran tuotetta, jonka voi erottaa lisäämällä reaktioseokseen vettä moninkertaisesti käytettyyn THF:n määrään verrattuna, jolloin tuote sakkautuu reaktioseoksesta muutamien minuuttien kuluessa. Reaktiosta saadussa tuotteessa on erotusmenetelmästä riippumatta aina mukana THF:a ja saadun sakan liukoisuusominaisuudet vaihtelevat. Reaktioseoksesta vedellä sakkautettu

tuote on huomattavasti liukoisempaa kuin reaktioseokseen sakkautunut tuote ja vakuumikuivattu tuote. Synteesi toistettiin neljä kertaa reaktioaikoja ja lähtöainemääriä vaihdellen (taulukko 7). Paras saanto saatiin 2 h:n reaktioajalla, jolloin saantoprosentti oli 80,0 %. Saantoprosentti on epätarkka, koska tuotteessa oli mukana THF:a.

Menetelmä 2

N-bentsoyyli-2-aminoaniliini **1** (0,11 g; 0,5 mmol) liuotettiin pyridiiniin (5 ml; 62,0 mmol) 250 ml:n kaksikaulakolvissa, joka oli varustettu pystyjäähdyttäjällä. Seosta sekoitettiin 20 minuutin ajan, jonka jälkeen siihen lisättiin isohtaloyylidikloridia (0,059 g; 0,3 mmol). Sekoitusta jatkettiin yön yli (n. 22h). Seuraavana aamuna seokseen lisättiin vettä (20 ml), jolloin muodostui valkoista sakkaa. Sakka suodatettiin imusuodatuksella ja sitä pestiin vedellä (3x20 ml) kunnes pyridiinin hajua ei enää havaittu. Tämän jälkeen sakka asetettiin kellolasille kuivumaan. Synteesi toistettiin kaksi kertaa (taulukko 7). Paras saanto oli 42,7 %:a. Tuotteessa epäpuhtauksia. Mahdollisesti bentsoyylikloridia (LIITE 2). Epäpuhtaan tuotteen sulamispiste on 251-253 °C:a.

Menetelmä 3

Synteesissä käytettiin kuivattuja lasiastioita ja se suoritettiin typpi-ilmakehässä. *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliini **1** (0,10 g; 0,5 mmol) liuotettiin kuivattuun THF:iin (40 ml) sekoituksen avulla ja syntyneeseen liuokseen lisättiin hopea-asetaattia (0,16 mg). Tuotteen annettiin reagoida huoneenlämmössä ja sekoituksessa 90 min ajan. Tämän jälkeen seokseen lisättiin tiputussuppilosta hitaasti tipoittain kuivaan THF:iin (10 ml) liuotettua isohtaloyylidikloridia (0,048 g; 0,2 mmol). Refluksointia jatkettiin kahden tunnin ajan. Seoksessa oleva sakka, joka oli pääasiassa hopea-asetaattia, suodatettiin erilleen. THF-liuokseen lisättiin ionivaihdettua vettä (200 ml), jolloin seokseen muodostui valkoista sakkaa. Sakka suodatettiin ja kuivattiin vakuumissa. Sakka oli tuotetta, jossa oli mukana THF:a. Saanto oli 59,6 %:a (taulukko7).

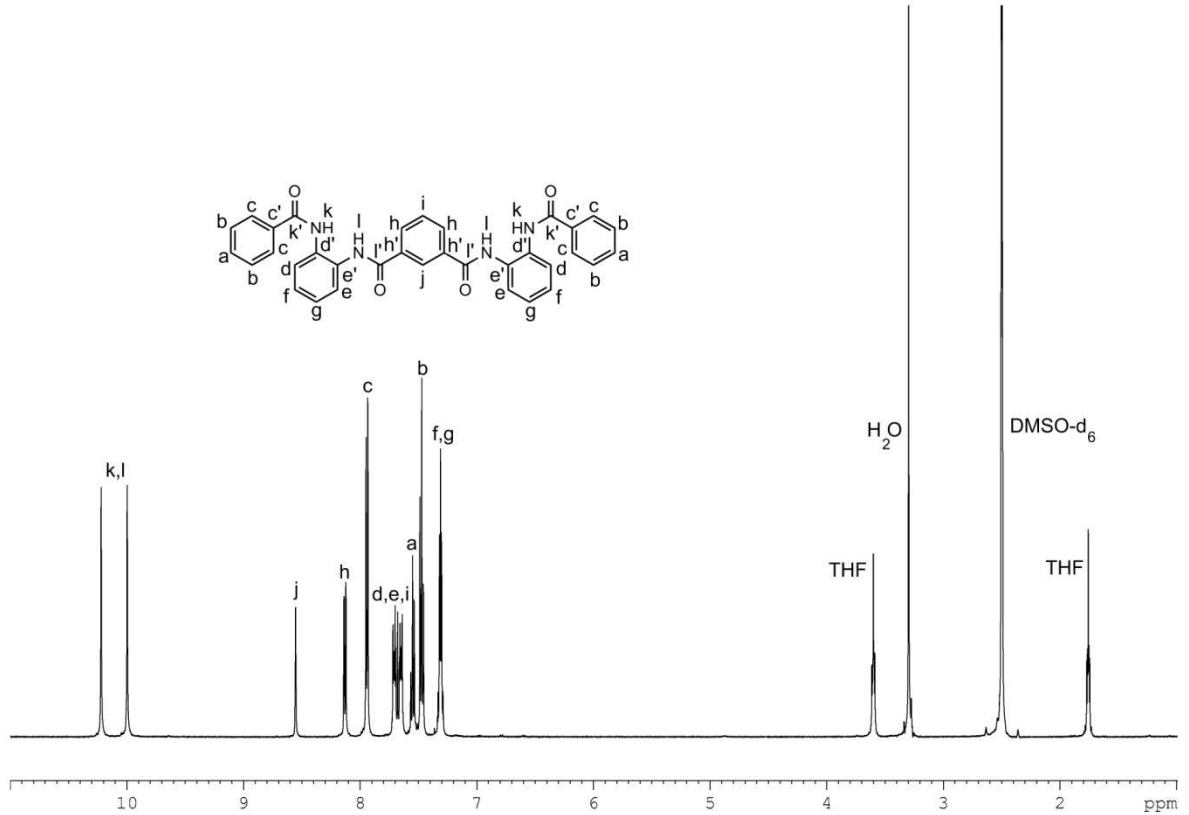
Taulukko 7. Yhdisteen 2 synteesit.

Synt.	Synt. koodi	Reaktioaika (h)	Saanto %*	Saanto (mg)	Menet.
1	TDZ-002	4	-	-	1
2	TDZ-004	2	-	-	1
3	TDZ-006	1,5	74,6	404,9	1
4	TDZ-013	2	80,0	313,3	1
5	TDZ-001	22h	42,7	62,8	2
6	TDZ-003	2h	-	-	2
7	TDZ-015	2	59,6	77,4	3

*Tuotteessa on epäpuhtautena THF:a

Sulamispiste: 253-254°C

¹H NMR (DMSO-d₆) 500 MHz: 7.29-7.34 (m, 4H), 7.47 (t, 4H, $J_{\text{HH}}=7.5$ Hz), 7.55 (tt, 2H, $J_{\text{HH}}=1.4$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.4$ Hz), 7.64-7.73 (m, 5H), 7.93-7.96 (m, 4H), 8.13 (dd, 2H, $J_{\text{HH}}=1.7$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.7$ Hz), 8.55 (s, 1H), 10.00 (s, 2H), 10.22 (s, 2H) ppm. Muut NMR-spektrit ovat LIITTEESSÄ 3.



^{13}C -NMR (DMSO- d_6): 125.5 (f/g), 125.6 (f/g), 125.8 (d,e), 127.0 (j), 127.4 (c), 128.4 (b), 128.8 (i), 130.5 (h), 131.0 (d'), 131.4 (e'), 131.7 (a), 134.2 (c'), 134.6 (h'), 164.9 (l'), 165.4 (k') ppm THF: 25.0, 66.9 ppm

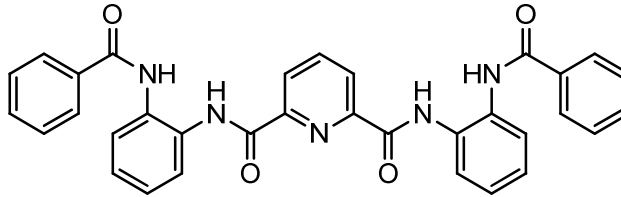
MS (ESI-TOF) m/z : 577,14 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

$\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$: 554,59 g/mol

Taulukko 8. Elementtianalyysi $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$. Virheet suurehkoja, koska tuotteessa on mukana THF:a.

Alkuaine:	Teor. arvo (%):	Mitattu (%):	Virhe (%):
N	10,10	9,32	0,78
C	73,63	73,32	0,31
H	4,73	5,09	0,36

9.3 N^2,N^6 -bis(2-bentsamidofenyli)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (3)



3

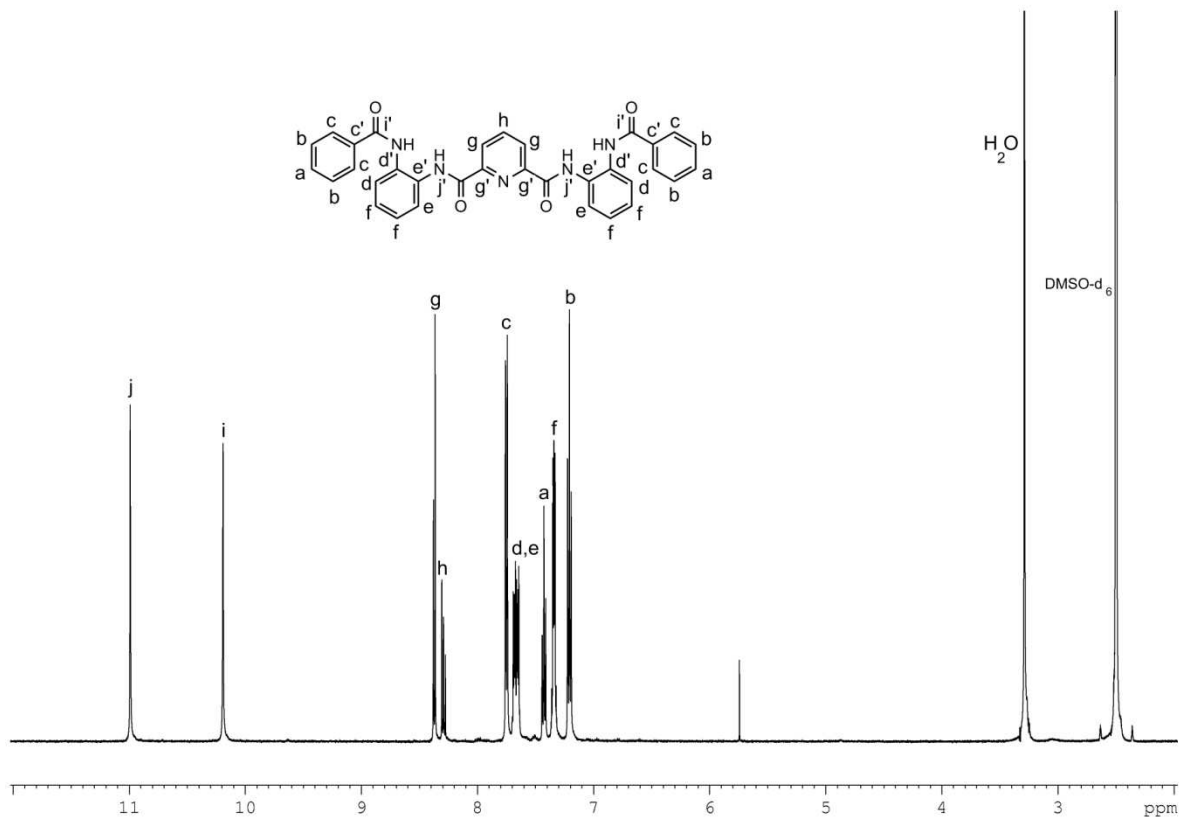
Synteesi suoritettiin kuivatuissa lasiastioissa typpi-ilmakehässä. *N*-bentsoyyli-2-aminoaniiliini **1** (0,080 g; 0,4 mmol) liuotettiin THF:iin (25 ml), jonka jälkeen liuokseen lisättiin trietyyliamiini (0,06 ml; 0,4 mmol). Liuoksen annettiin reagoida sekoitettuna huoneenlämmössä tunnin ajan. Seuraavaksi liuos kuumennettiin refluksoitumaan ja siihen lisättiin tipoitain THF:iin (15 ml) liuotettu 2,6-pyridiinidikarbonyylidikloridi (0,038 g; 0,2 mmol), ja seoksen annettiin refluksoitua tunnin ajan. Seokseen muodostunut valkoinen sakka suodatettiin pois ja THF haihdutettiin pois suodoksesta rotavaporilla, jolloin jäljelle jäi oranssin vihertävä sakka. Jos sakassa havaittiin epäpuhtauksia, suoritettiin uudelleenkiteytys etyyliasetaatista. Synteesi suoritettiin kolme kertaa eri ainemäärillä. Paras saanto oli 67,9 %:a (LIITE 4).

Taulukko 9. Yhdisteen **3** synteesit

Synteesi:	Synteesikoodi:	Saanto %:	Saanto (mg):
1	TDZ-007	64,9	67,2
2	TDZ-009	67,9	356
3	TDZ-014	53,5	211,5

Sulamispiste: 251,4–252,5 °C

^1H NMR (DMSO- d_6) 500 MHz: 7.21 (t, 4H, $J_{\text{HH}}=7.9$ Hz), 7.31-7.37 (m, 4H), 7.43 (tt, 2H, $J_{\text{HH}}=1.2$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.4$ Hz), 7.63-7.71 (m, 4H), 7.75 (dd, 4H, $J_{\text{HH}}=1.2$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.1$ Hz), 8.27-8.31 (m, 1H), 8.36-8.38 (m, 2H), 10.19 (s, 2H), 10.99 (s, 2H) ppm



^{13}C NMR (DMSO- d_6): 125.0 (g), 125.5 (e), 125.6 (f), 125.7 (d), 127.5 (c), 128.0 (b), 130.7 (d'), 131.1 (e'), 131.5 (a), 134.0 (c'), 140.3 (h), 148.2 (g'), 161.2 (j'), 165.9 (i') ppm

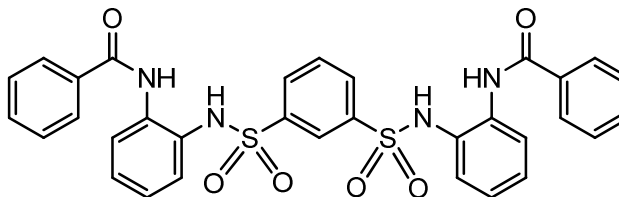
MS (ESI-TOF) m/z : 578.16 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

$\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4$: 555,58 g/mol

Taulukko 10. Elementtianalyysi $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4$.

Alkuaine:	Teor. arvo (%):	Mitattu (%):	Virhe (%):
N	12,61	12,66	0,05
C	71,34	71,16	0,18
H	4,54	4,36	0,18

9.4 N^1,N^3 -bis(2-bentsamidofenyli)bentseeni-1,3-disulfonamidi (4)



4

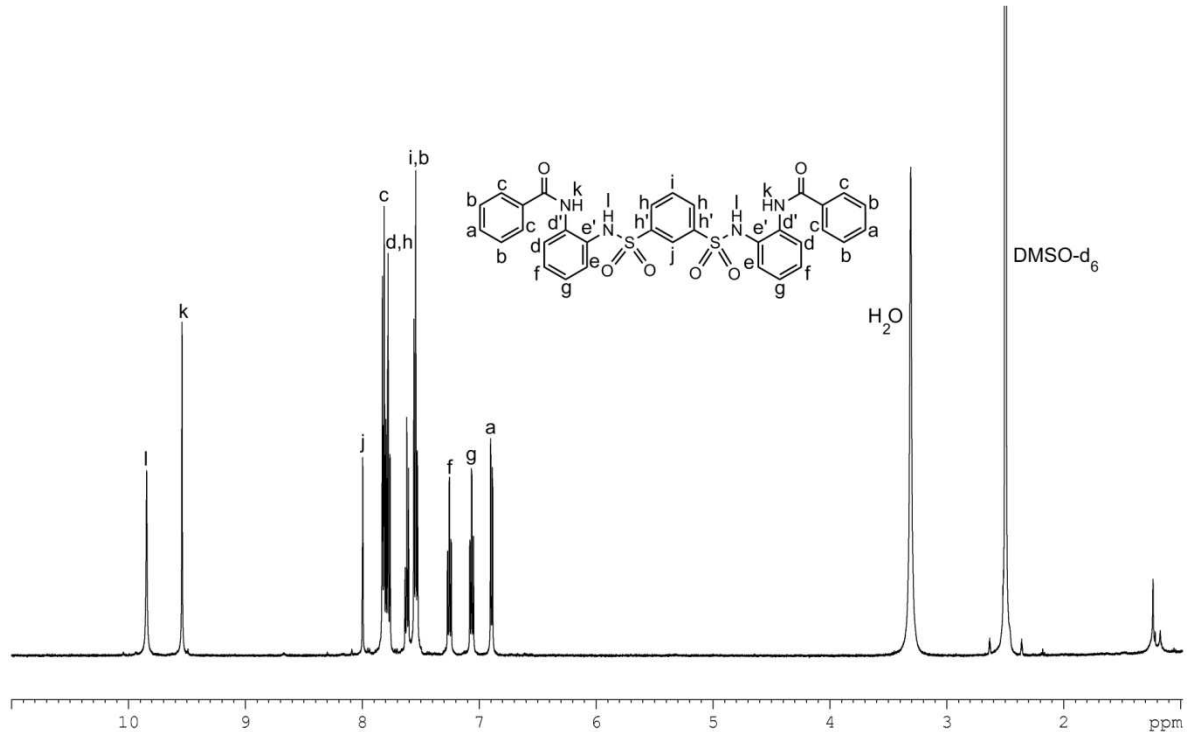
Synteesi suoritettiin kuivatuissa lasiastioissa typpi-ilmakehässä. *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliini **1** (0,094 g; 0,4 mmol) liuotettiin pyridiiniin (3 ml). Tämän jälkeen sekoitettuun liuokseen lisättiin tipoitain bentseeni-1,3-disulfonyylikloridi (0,061 g; 0,2 mmol), joka oli liuotettu pyridiiniin (3 ml). Sekoitusta jatkettiin 24 tunnin ajan. Reaktioseokseen lisättiin 2 M HCl:a (20 ml), jolloin muodostui sakkaa. Saatu sakka suodatettiin, mutta se muodosti tiiviin kerroksen sintterin pinnalle. Sintterin pinnalla oleva sakka liuotettiin absoluuttiseen etanoliin ja etanoliliuos haihdutettiin rotavaporilla. Saatu sakka liuotettiin uudelleen absoluuttiseen etanoliin, ja tuote saostettiin lisäämällä vettä. Sakka suodatettiin ja kuivattiin vakuuimissa. Synteesi suoritettiin kaksi kertaa (taulukko 11). Parhaaksi saannoksi saatiin 47,2 %:a (LIITE 5).

Taulukko 11. Yhdisteen **4** synteesit

Synteesi:	Synteesikoodi:	Reaktioaika (h):	Saanto %:	Saanto (mg):
1	TDZ-012	24	16,0	15,5
2	TDZ-017	22	47,2	65,3

Sulamispiste: 213,0–215,6 °C

^1H NMR (DMSO- d_6): 6.90 (dd, 2H, $J_{\text{HH}}=1.5$ Hz, $J_{\text{HH}}=8.1$ Hz), 7.07 (td, 2H, $J_{\text{HH}}=1.4$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.8$ Hz), 7.26 (td, 2H, $J_{\text{HH}}=1.4$ Hz, $J_{\text{HH}}=7.8$ Hz), 7.52-7.57 (m, 5H), 7.62 (tt, 2H, $J_{\text{HH}}=1.5$ Hz, 7.3 Hz), 7.76-7.80 (m, 4H), 7.81-7.84 (m, 4H), 8.00 (st, 1H), 9.54 (s, 2H), 9.84 (s, 2H) ppm



^{13}C NMR (DMSO- d_6): 124.73 (d/j), 124.76 (d/j), 125.3 (g), 126.2 (e), 127.0 (f), 127.3 (c), 127.8 (d'), 128.5 (b), 130.6 (i), 130.8 (h), 131.8 (a), 133.2 (e'), 134.0 (c'), 140.3 (h'), 165.1 (k') ppm

MS (ESI-TOF) m/z: 625,26 [M-H]⁻

$\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_2$: 626,70 g/mol

Taulukko 12. Elementtianalyysi $\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_2$.

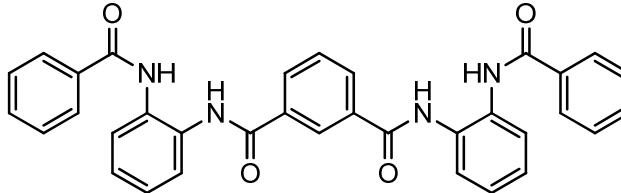
Alkuaine:	Teor. arvo (%):	Mitattu (%):	Virhe (%):
N	8,94	7,61	1,33
C	61,33	57,40	3,93
H	4,18	4,29	0,11

10 Kiteytys- ja kompleksointitutkimukset

Valmistetuilla yhdisteillä suoritettiin useita kiteytys- ja kompleksointikokeita, joiden tarkoituksena oli tutkia yhdisteiden kiteytymis- ja kompleksoitumisominaisuuksia, etsiä mahdollista polymorfiaa ja tutkia aineiden kiderakenteista mahdollista laskostumista.

Lisäksi kiteytyskokeiden yhteydessä selvitettiin aineiden liukoisuusominaisuuksia, joiden perusteella valittiin sopivia liuottimia ja liuotinseoksia kompleksoitumiskokeita varten.

10.1 N^1, N^3 -bis(2-bentsamidofenyyl) bentseeni-1,3-dikarboksamidin ominaisuudet (2)



2

Bentseenifoldameeri **2** koostuu viidestä bentseenirenkaasta, jotka ovat liittyneet toisiinsa amidisidoksilla. Aineen liukoisuusominaisuudet ovat suhteellisen huonot, ja ne vaihtelevat synteesterästä ja puhdistustavasta riippuen. Tämä vaikeutti aineen tutkimista. Työn aikana huomattiin kuitenkin, että heti synteessin jälkeen THF:sta vedellä sakkautetun tuotteen liukoisuusominaisuudet olivat huomattavasti paremmat kuin kuivumaan ehtineen synteessituotteen. Heti synteessin jälkeen saadusta tuotteesta huomattava osa liukenee suhteellisen heikkoja vetysidoksia muodostaviin orgaanisiin liuottimiin (DCM ja THF), kun taas vakuumikuivattu tuote, liukenee vain suhteellisen vahvoja vetysidoksia muodostaviin liuottimiin (DMSO, DMA ja DMF). Hyvänä esimerkkinä tästä on synteesi 3 (TDZ-006), jossa synteessin aikana muodostui reaktioseokseen valkoista sakkaa. Synteessin jälkeen sakka yritettiin liuottaa dikloorimetaaniin, jolloin osa sakasta liukeni, mutta huomattava osa jäi liukenematta. Dikloorimetaani haihdutettiin ja saatu sakka kuivattiin vakuumissa. Seuraavana päivänä dikloorimetaaniin aiemmin liuennutta sakkaa yritettiin liuottaa uudelleen dikloorimetaaniin, mutta vain hyvin pieni osa liukeni. Pulveridiffraktiomittauksissa huomattiin, että dikloorimetaaniin heti synteessin jälkeen liukenematon osa oli kidemuotoa, jota bentseenifoldameeri **2** muodostaa THF-liuoksesta (LIITE 6). Dikloorimetaaniin aluksi liuennut, mutta kuivauksen jälkeen liukenematon muoto taas on muotoa, jonka aine muodostaa dikloorimetaaniliuoksesta.

Myös aineen puhdistus muodostui synteessivaiheessa ongelmalliseksi. Mitatuissa NMR-näytteissä näkyy aina epäpuhtautena liuotinta, johon näyte on viimeksi liuotettu tai jossa ainetta oli viimeksi käsitelty, jopa silloin kun aine ei ollut liuennut käsittelyn yhteydessä.

Synteesituotteesta, jossa oli THF:a liuottimena, yritettiin poistaa liuotin jäämät kuivaamalla sitä vakuuissa, ja kun tämä ei toiminut, kuumentamalla näytettä 100 °C:n lämpötilassa, vakuuissa yön yli. Tämän jälkeenkin näytteessä oli THF:a, mutta sen määrä oli vähentynyt. Liuotin voitaisiin tällä tavalla poistaa tuotteesta todennäköisesti kokonaan, mutta koska epäpuhtautena olevalla liuottimella oli vain pieni vaikutus kiteytyksiin ja kompleksointikokeisiin, täydellistä kuivausta ei tehty.

Bentseenifoldameeriä **2** yritettiin aluksi kiteyttää ainoastaan yhdellä liuottimella, mutta yhdisteen huonon liukoisuuden takia päädyttiin käyttämään liuotinseoksia. Yhdiste liuotettiin suhteellisen nopeasti haihtuvaan liuottimeen (EtOAc, MeCN), johon oli sekoitettu mahdollisimman pieni määrä hitaammin haihtuvaa, mutta huomattavasti paremmat liuotusominaisuudet omaavaa liuotinta (DMSO, DMF). Kaikki kompleksointikokeet suoritettiin liuosseoksilla.

10.1.1 Puhtaan aineen kiteytykset

Bentseenifoldameerin **2** synteesillä TDZ-006 saadusta tuotteesta (taulukko 7), valmistettiin kuusi kiteytystä, joissa käytettiin vain yhtä liuotinta (taulukko 13). Tämä tapahtui siten, että painokansipurkkiin punnittiin sopiva määrä ainetta (n. 5 mg) ja purkkiin lisättiin liuotinta, joko suoraan haluttu määrä tai pienemmissä erissä. Tämän jälkeen näytteitä sekoitettiin yön yli jonka jälkeen näytteen siirrettiin koeputkiin, lukuunottamatta asetonikiteytysnäytettä, josta asetoni ehti haihtua ennen siirtoa koeputkeen. Koeputket peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin pieni reikä. Liuottimen haihduttua kaikista näytteistä mitattiin ATR-IR-spektri ja pulveridiffraktiokuvio painokansipurkkiin jääneestä aineesta. Mittaukset tehtiin myös koeputkeen muodostuneesta sakasta, jos sitä oli tarpeeksi mittauksia varten.

Taulukko 13. Yhdisteestä **2** (erä TDZ-006) yhdellä liuottimella valmistetut kiteytykset, joissa mittaukset tehtiin myös painokansipurkkiin jääneestä aineesta

Liuotin:	m(2) (mg):	V(ml):	Muuta:
Asetoni	5,2	1+2+1+2	Sakkaa
DCM	4,9	1+2+1+2	Sakkaa
EtOAc	5,1	1+2+1+2	Sakkaa
MeCN	5,3	1+2+1+2	Sakkaa
MeCN	5,3	6	Koeputkesta mitattu, valkoista pulveria
MeOH	4,9	1+2+1+2	Sakkaa
MeOH	4,9	6	Koeputkesta mitattu, valkoista pulveria
Tolueeni	5,3	6	Sakkaa

Bentseenifoldameerin **2** synteesistä TDZ-013 valmistettiin viisi kiteytystä siten, että painokansipurkkiin punnittiin noin 15 mg ainetta (taulukko 14). Tämän jälkeen purkkiin lisättiin 6 ml liuotinta ja seosta sekoitettiin viikonlopun yli (n. 70 h). Sakan annettiin laskeutua seuraavaan päivään, jonka jälkeen purkeissa olevasta liuottimesta siirrettiin mahdollisimman suuri osa koeputkiin. Dikloorimetaani- ja asetonikiteytyksen tapauksessa sakka jouduttiin poistamaan suodattamalla. Koeputkiin lisättiin liuotinta noin 25 %:a koeputkessa olevasta määrästä liian nopean saturaation välttämiseksi. Lopuksi koeputket peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin reikä.

THF-kiteytys valmistettiin kuten edellä, mutta lähtöaineena käytettiin tuotetta (myös synteesistä TDZ-013), joka oli saatu siten, että reaktioseokseen oli synteesin jälkeen lisätty vettä, ja muodostunut sakka oli suodatettu erilleen. Tämän erän liukoisuus oli huomattavasti parempi kuin aikaisemmissa kiteytyksissä käytetyn erän ja se liukeni THF:iin kokonaan ilman pitkää sekoitusta tai kuumennusta

Taulukko 14. Yhdisteestä **2** (erä TDZ-013) yhdellä liuottimella valmistetut kiteytykset

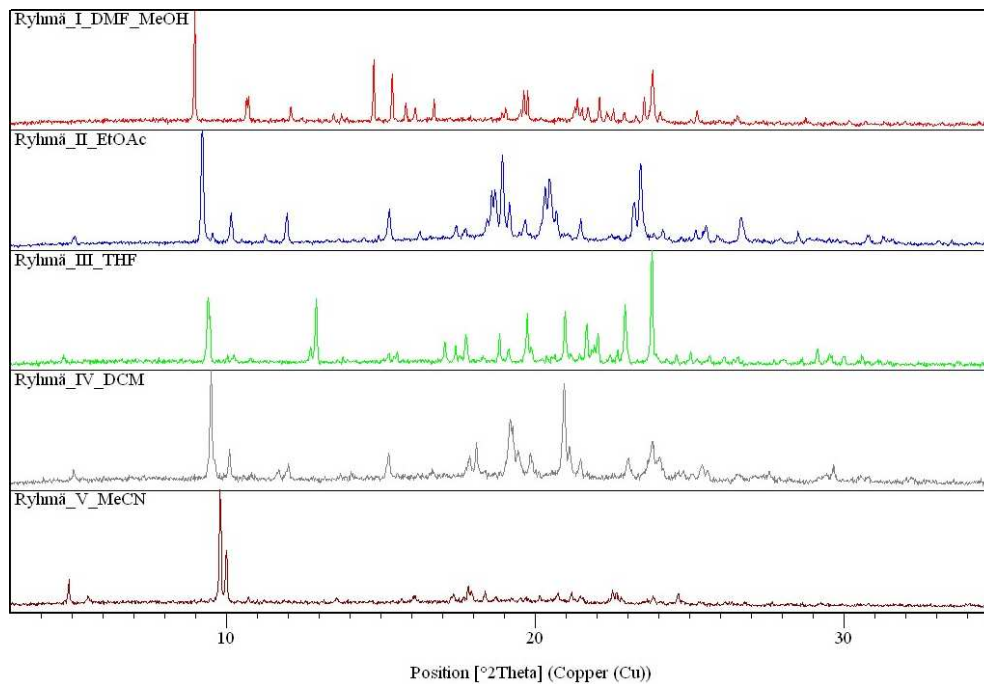
Liutotin:	m(2) (mg):	V(ml):	Muuta:
Asetoni	15,3	6+25 %	Ei liukene
DCM	14,8	6+25 %	Suodatettiin sakan erottamiseksi, ei liukene
EtOAc	15,7	6+25 %	Ei liukene
MeCN	14,8	6+25 %	Suodatettiin sakan erottamiseksi, ei liukene
MeOH	15,4	6+25 %	Ei liukene
THF	15,6	6+25 %	Valmistettu eri erästä (kts. teksti), ATR-IR ja PXRD.

Näiden kiteytysten lisäksi bentseenifoldameerista **2** valmistettiin vielä neljä eri kiteytystä, joissa tuotteen liuotukseen käytettiin kahden eri liuottimen seosta (taulukko 15). Etyyliasettaatti-DMSO-kiteytys valmistettiin siten, että 5,0 mg tuotetta liuotettiin pieneen määrään EtOAc-DMSO 10:1 seosta painokansipurkissa. Tämän jälkeen liuos siirrettiin koeputkeen, ja peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin pieniä reikiä. Toinen etyyliasettaatti-DMSO näyte valmistettiin punnitsemalla painokansipurkkiin 50,1 mg:a yhdistettä **2**. Tämän jälkeen purkkiin lisättiin 2 ml:a EtOAc:DMSO 9:1 seosta ja liuosta sekoitettiin 2 tunnin ajan, jonka jälkeen seos kuumennettiin kiehumispisteeseen asti. Kun enempää ainetta ei liuennut, sakan annettiin laskeutua purkin pohjalle. Tämän jälkeen mahdollisimman suuri osa liuoksesta siirrettiin koeputkeen siten, että kaikki liukenematon aine jäi purkkiin. Lopuksi koeputkeen lisättiin vielä EtOAc:DMSO liuotinseosta noin 25 % koeputkessa olevan liuoksen tilavuuden verran ja koeputki peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin pieni reikä. Butanoli-DMA ja butanoli-DMF kiteytykset valmistettiin liuottamalla n. 10 mg tuotetta pieneen määrään DMA:a tai DMF:a koeputkessa. Tämän jälkeen koeputkeen lisättiin butanolia ja koeputki peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin reikiä.

Taulukko 15. Yhdisteestä **2** (erä TDZ-006) kahden liuottimen seoksella valmistetut kiteytykset

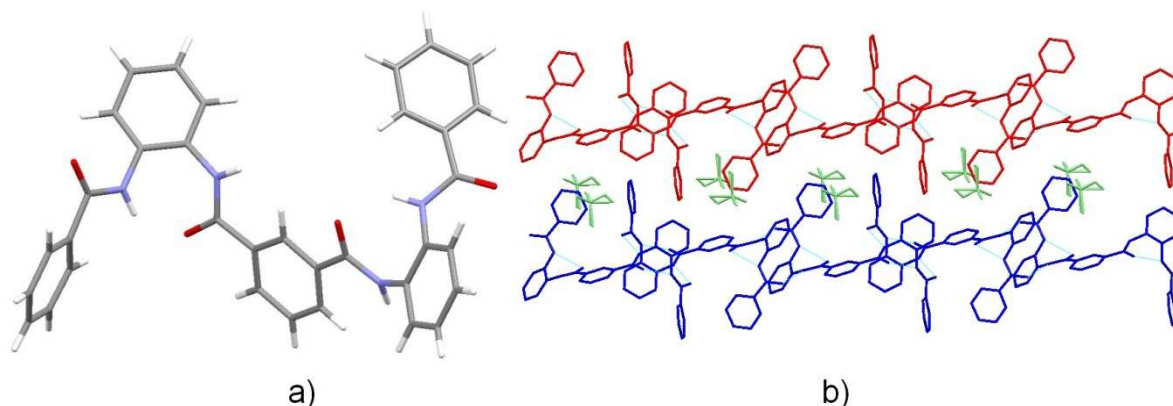
Liuottimet	Suhde	V(ml)	m(2) (mg)	Muuta:
EtOAc:DMSO	10:1	0,74+0,074	5,0	Neul. kiteitä, ATR-IR ja PXRD
Butanoli:DMA	90:1	3,6+0,04	9,8	Ei kiteitä
Butanoli:DMF	90:1	3,6+0,04	10,0	Ei kiteitä
EtOAc:DMSO	9:1	2ml+25 %	50,1	Kiteitä, XRD

Kaikkien yhdisteestä **2** mitattujen pulveridiffraktiokuvioiden perusteella on mahdollista, että yhdiste **2** muodostaa useiden eri liuottimien kanssa erittäin stabiileja solvaatteja, joiden diffraktiokuviot eroavat jonkin verran toisistaan (kuva 4, LIITE 6). Mitattujen PXRD-kuvioiden perusteella yhdiste **2** muodostaa ainakin viittä erilaista kidemuotoa (kuva 4, ja LIITE 6). Joidenkin liuottimien mahdolliset solvaatit muistuttavat toisiaan. Yhdisteen **2** muodostamien solvaattien liuottamiseen tarvitaan suhteellisen vahvoja vetysidoksia muodostavia liuottimia (DMSO, DMF, DMA). Poikkeuksena on heti reaktion jälkeen saatu sakka, jonka liukoisuus on huomattavasti parempi kuin muiden muotojen. Tämä johtuu mahdollisesti siitä, että tämä sakka on saatu muodostettua niin sanotusti pakottamalla se sakkautumaan joko haihduttamalla THF:a seoksesta tai lisäämällä THF-liuokseen vettä, jolloin myös muodostuu sakkaa. Tällöin aine ei ole vielä stabiilissa järjestäytyneemmässä muodossa, vaan rakenne on amorfisempi ja siten liukoisempi. ATR-IR-spektrien perusteella ei voida erottaa yhdisteen **2** eri solvaatteja toisistaan (LIITE 7).



Kuva 4. Bentseenifoldameerin **2** pulveridiffraktiokuvioita. Samankaltaiset kuviot on ryhmitelty ja tähän kuvaan valittu tyypilliset esimerkit jokaisesta ryhmästä. Ryhmitellyt kuviot kaikista mittauksista on esitetty liitteessä 6. Ryhmien eroavaisuudet havaitaan esimerkiksi 10 asteen lähellä olevan piikin asemasta.

EtOAc:DMSO seoksesta kiteytetystä tuotteesta saatiin yksittäiskiteitä (taulukko 15, alin kiteytys, LIITE 8), joista saatiin mitattua bentseenifoldameerin **2** kiderakenne. Rakenteesta nähtiin, että molekyyli pakkautuu ketjuiksi, joiden välissä on DMSO-liuotinta (kuva 5b). Kiteistä ei mitattu PXRD kuvioita, joten ei voida sanoa mihin ryhmään ne mahdollisesti kuuluvat. Ketjujen välille ei muodostu vetysidoksia, vaan ne ovat yhteydessä vain niiden välissä olevien liuottimien avulla. Tämä viittaa siihen, että liuotinkerroksen koko saattaa riippua liuottimesta eikä bentseenifoldameerista **2**, jolloin stabiileja solvaatteja voi muodostua useiden erilaisten liuottimien kanssa. Lisäksi ainakin aineen tällä muodolla havaittiin löyhää laskostumista.



Kuva 5. a) Bentseenifoldameerin **2** rakenne. Mitattu EtOAc-DMSO liuotineseoksesta kiteytetystä näytteestä. b) Bentseenifoldameerin **2** pakkautuminen, kun yhdiste **2** on kiteytetty EtOAc-DMSO seoksesta. Vihreät molekyylit ovat DMSO-liuotinta, joissa jonkin verran epäjärjestystä. Sininen katkoviiva merkitsee vetysidosta.

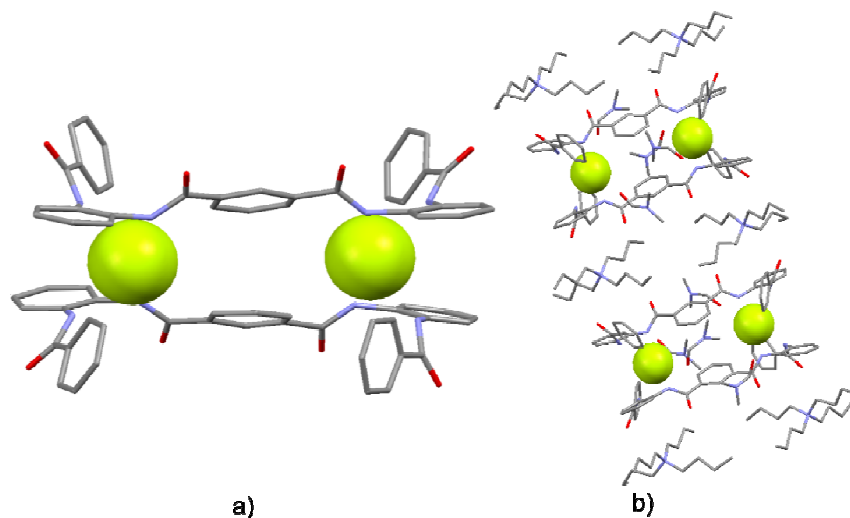
10.1.2 Kompleksointikokeet

Yhdisteestä **2** (TDZ-006) valmistettiin yhteensä 12 eri kompleksointikoetta (taulukko 16). Kompleksointinäytteet valmistettiin siten, että painokansipurkkiin punnittiin n. 10 mg yhdistettä **2**. Punnitun massan perusteella laskettiin kuinka paljon ammoniumsuolaa pitää punnita, jotta aineiden moolisuhteeksi tulisi 1:1. Ammoniumsuolan lisäyksen jälkeen purkkiin lisättiin 0,4 ml liuotineseosta ja aineet liuotettiin sekoituksen ja kuumennuksen avulla. Lopuksi liuokset siirrettiin koeputkiin, jotka peitettiin parafilmillä, johon tehtiin muutamia pieniä reikiä. Kaikista näytteistä mitattiin ATR-IR-spektrit ja PXRD-kuviot.

Taulukko 16. Yhdisteen 2 (TDZ-006) kompleksointikiteytykset.

Liuot. seos 9:1	m(2) (mg)	m(suola)	Suola:	Muuta:
EtOAc:DMSO	10,1	1,6	TMA-F	-
EtOAc:DMSO	10,0	8,4	TBA-F	Neulamaisia kiteitä
EtOAc:DMSO	9,7	2,8	TEA-Cl	Neulamaisia kiteitä
EtOAc:DMSO	9,8	7,0	TBA-Cl	Neulamaisia kiteitä
EtOAc:DMSO	10,1	4,8	TEA-Br	Rakeista sakkaa pohjalla
EtOAc:DMSO	9,8	5,6	TBA-Br	Valkoista sakkaa pohjalla
MeCN:DMF	10,2	1,7	TMA-F	Sakkaa pohjalla
MeCN:DMF	9,9	9,3	TBA-F	Neulamaisia kiteitä
MeCN:DMF	10,2	3,1	TEA-Cl	Sakkaa pohjalla
MeCN:DMF	9,8	4,8	TBA-Cl	Sakkaa pohjalla
MeCN:DMF	10,2	3,7	TEA-Br	Valkoista sakkaa
MeCN:DMF	10,1	6,4	TBA-Br	Valkoista sakkaa

ATR-IR- ja pulveridiffraktiomäärittysten jälkeen TBA-F näytteet (taulukko 16) liuotettiin uudestaan samoilla liuotinseoksilla (1 ml), ja jätettiin uudelleen kiteytymään yksikidediffraktioon soveltuvien kiteiden saamiseksi. Koeputkiin muodostui kiteitä ja näytteestä MeCN:DMF TBA-F (taulukko 16) saatiin määritettyä kiderakenne (kuva 38, LIITE 8).



Kuva 6. a) Bentseenifoldameerin 2 ja fluorin muodostama 2:2 kompleksi. b) kompleksin pakkautuminen TBA:n ja DMF:n kanssa.

Yhdisteestä **2** (TDZ-013) valmistettiin lisäksi neljä kompleksointierää (taulukko 17) siten, että noin 15 mg tuotetta punnittiin painokansipurkkiin. Tämän jälkeen purkkiin punnittiin ammoniumsuolaa niin, että aineiden moolisuhteeksi tuli 1:1 ja aineet liuotettiin 2 ml:n liuotinseokseen sekoituksen ja kuumennuksen avulla. Lopuksi liuokset siirrettiin parafilmillä peitettyyn koeputkeen, johon puhkaistiin reikä. Kaikista eristä muodostui pieniä kiteitä. Erät valmistettiin yksikidediffraktioon soveltuvien kiteiden saamiseksi, mutta vain yhdestä näytteestä saatiin mitattua kiderakenne, josta ei saatu uutta tietoa ja se oli huonolaatuisempi kuin aikaisemmin mitattu näyte.

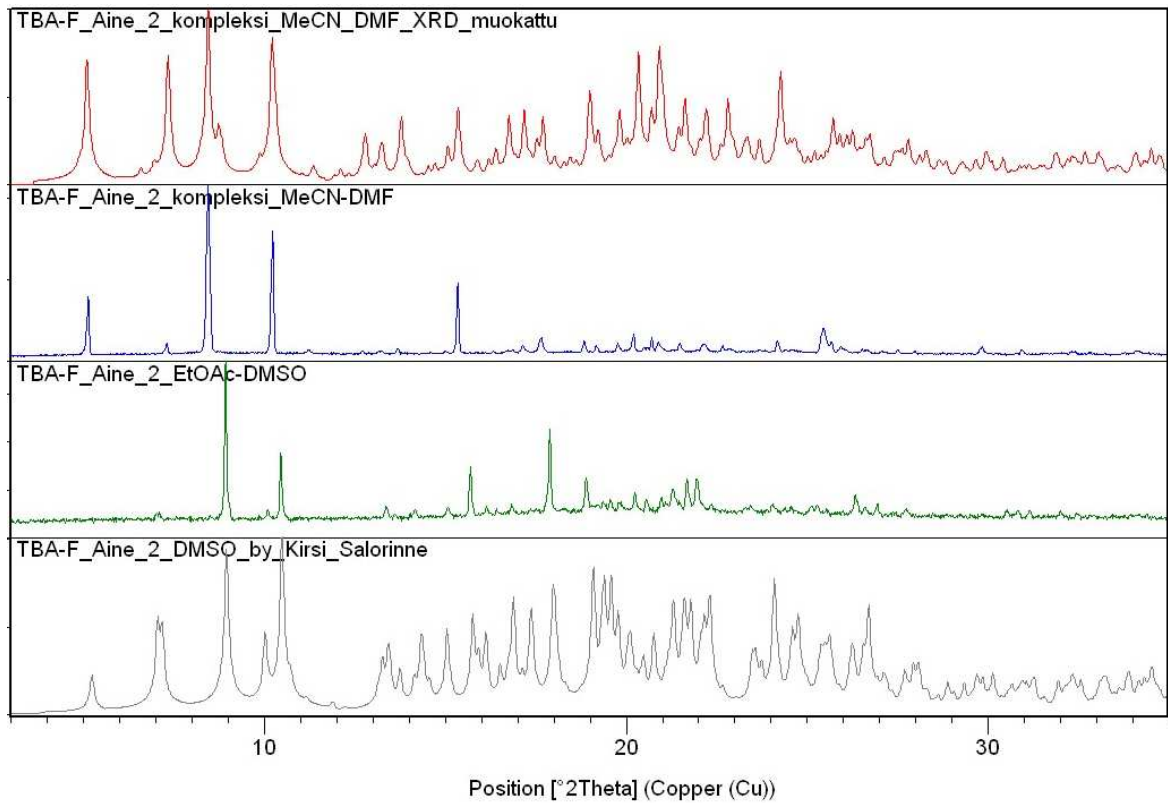
Taulukko 17. Yhdisteestä **2** (TDZ-013) valmistetut kompleksoinnit

Liuot. seos 9:1	m(2) (mg)	m(suola)	suola:	Muuta:
EtOAc:DMSO	15,5	7,1	TBA-F	-
EtOAc:DMSO	15,3	7,8	TBA-Cl	-
MeCN:DMF	15,2	7,2	TBA-F	XRD
MeCN:DMF	14,8	9,3	TBA-Br	-

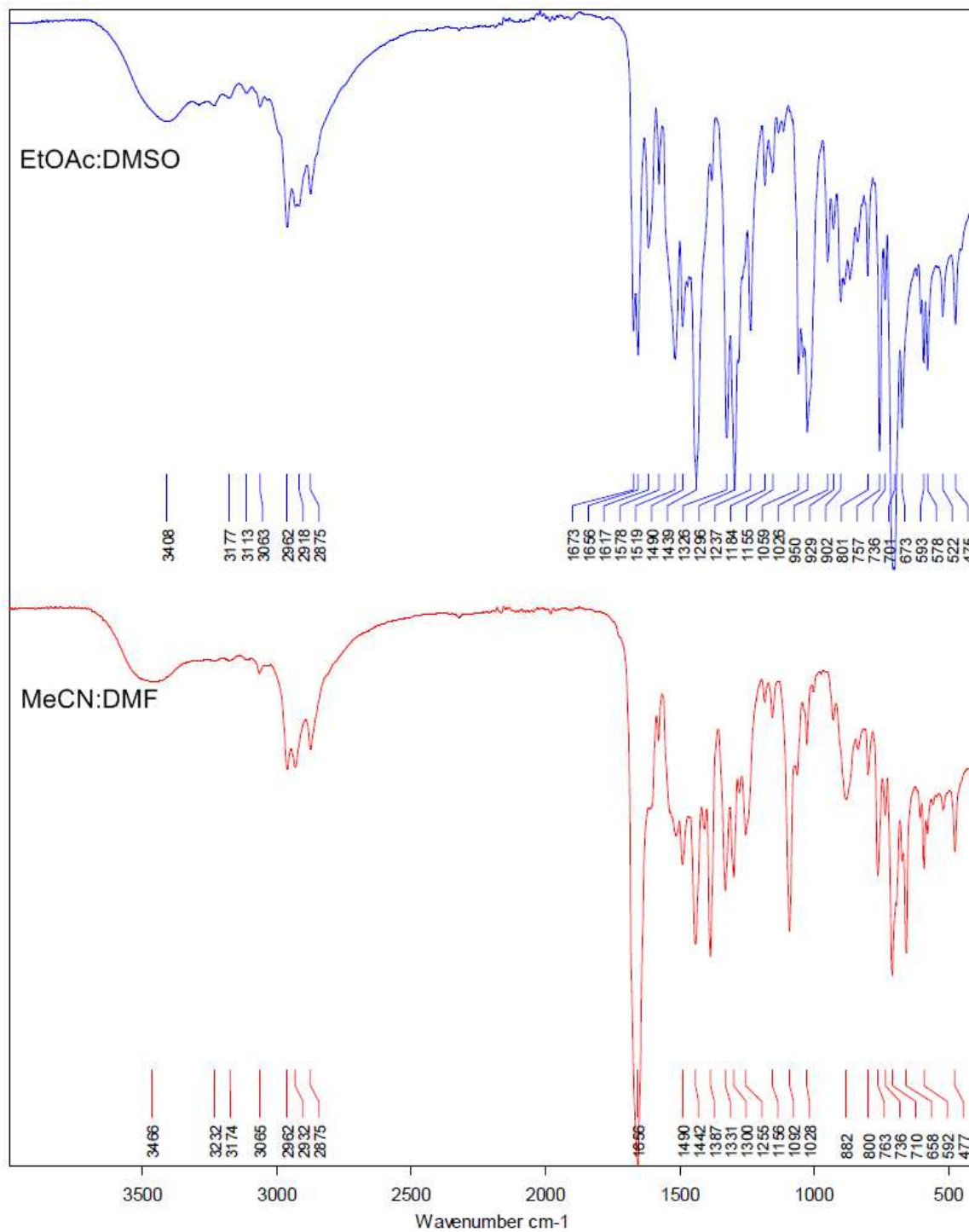
Kokeiden perusteella merkkejä kiinteän tilan kompleksoitumisesta havaittiin vain TBA-F:lla tehdyissä kompleksointikokeissa. Tämä saattaa johtua kiteytyksissä käytetyistä vahvoja vetysidoksia muodostavista liuottimista (DMSO ja DMF), jotka kilpailevat foldameerin vetysidospaikoista anionien kanssa. TBA-F:n kanssa bentseenifoldameeri **2** muodostaa dimeerisiä komplekseja. Tämä saatiin varmistettua yksikidediffraktiolla MeCN:DMF liuotinseoksesta kiteytetystä näytteestä mitatusta rakenteesta (kuva 6a). Nämä dimeeriset kompleksit pakkautuvat siten, että kahden bentseenifoldameerimolekyylin väliin jää kaksi fluori-anionia. Näitä yksiköitä puolestaan ympäröi kaksi TBA-kationia ja kaksi liuotin-molekyylä. Liuotinmolekyylit ovat DMF:a, mutta epäjärjestyksen perusteella kiteessä on mahdollisesti mukana myös asetonitriiliä (kuva 6b).

Merkkejä kompleksoitumisesta voidaan nähdä myös pulveridiffraktiokuvioista (kuva 7). MeCN:DMF-kiteytyksen pulveridiffraktiokuviossa kompleksoitumiseen viittaa sen merkittävä samankaltaisuus yksikidediffraktiorakenteesta saadun laskennallisen kuvion kanssa (kuva 7, LIITE 8). Samoin EtOAc:DMSO seoksen kompleksoitumiseen viittaa sen huomattava samankaltaisuus Kirsi Salorinteen aiemmasta kiderakenne määrittämisestä saatuun laskennalliseen PXRD kuvioon (LIITE 9).⁴⁹ ATR-IR-spektrien perusteella ei voida

sanoa onko kompleksoitumista tapahtunut, mutta niissäkin voidaan nähdä merkkejä siitä, että näytteessä on mukana TBA-F:a (kuva 8).



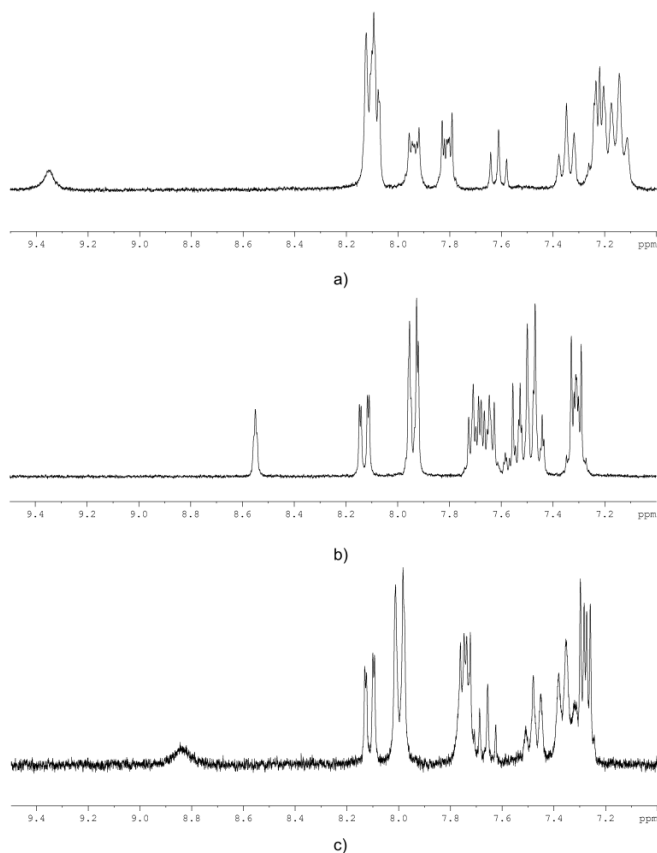
Kuva 7. TBA-F:bentseenifoldameeri **2** kompleksoitumiskokeista, EtOAc-DMSO ja MeCN-DMF liuotinseoksissa mitatut PXRD-kuviot, sekä kiderakenteiden perusteella lasketut PXRD-kuviot.⁸



Kuva 8. TBA-F:bentseenifoldameeri **2** kompleksoitumiskokeista EtOAc-DMSO ja MeCN-DMF liuotinsöksissä mitatut ATR-IR-spektrit. Suoria merkkejä kompleksoitumisesta ei spektreistä voi nähdä, mutta aineessa on mukana TBA-F:a, josta johtuvia piikkejä nähdään alueella 2800-3000 cm⁻¹.

10.1.3 Liuostilan kompleksoituminen

Bentseenifoldameerin **2** liuostilan kompleksoitumista tutkittiin NMR-mittausten avulla. Mittauksissa valmistettiin tutkittavista aineista (TBA-F, TMA-F, TBA-Cl ja TBA-Br) ja yhdisteestä **2** NMR-näyte, jonka konsentraatio tunnettiin (8 mM), liuotin oli DMSO-d₆. Saatuja NMR-spektrejä verrattiin NMR-spektriin, joka oli mitattu vain bentseenifoldameeriä **2** sisältävästä näytteestä. Spektrejä vertaamalla nähtiin, että yhdisteillä TBA-F ja TMA-F tapahtui kompleksoitumista, sillä yhdisteiden spektreissä tapahtui huomattavia muutoksia (kuva 9). TBA-Cl ja TBA-Br eivät näyttäneet muodostavan komplekseja bentseenifoldameerin **2** kanssa, mikä voi johtua kokeissa käytetyn liuottimen (DMSO-d₆) muodostamista kilpailevista vetysidoksista.



Kuva 9. NMR-spektrin alue 7.0-9.5 ppm. a) Bentseenifoldameerin **2** ja TBA-F seoksta. b) Bentseenifoldameerin **2** spektri. c) Bentseenifoldameerin **2** ja TMA-F seoksesta. Kaikissa näytteissä liuottimena oli DMSO-d₆ ja aineiden konsentraatiot 8 mM.

10.1.3.1 Kompleksien stoikiometrian määrittäminen

Bentseenifoldameerin **2** liuostilan kompleksoitumista ja erityisesti sen stoikiometriaa TBA-F:n kanssa tutkittiin myös Jobin kuvaaja-kokeella. Koetta varten tehtiin ensin bentseenifoldameeristä **2** ja TBA-F:sta kaksi DMSO-d₆-pohjaliuosta, joiden konsentraatiot olivat 8 mM (taulukko 18). Näitä liuoksia sekoittamalla valmistettiin Jobin kuvaajaa varten ensin neljä liuosta ja myöhemmin valmistettiin vielä neljä liuosta (taulukko 19), joilla oli haluttu ainemäärien suhde sekä muuttumaton 8 mM:n kokonaiskonsentraatio. Pohjaliuoksia valmistettiin kahdessa erässä, koska liuoksista valmistettujen näytteiden mittaukset tapahtuivat eri päivinä. Ensin mitattiin taulukon 19 ylempinä olevien liuosten spektrit ja myöhemmin valmistettiin vielä toinen erä näytteitä, koska mittausta haluttiin tarkentaa. Taulukossa 18 ylempät pohjaliuokset vastaavat taulukon 19 ylempiä liuoksia. Näytteen, jossa oli vain bentseenifoldameeriä **2**, mittaus tehtiin NMR-titrausta varten tehdystä näytteestä ennen NMR-titrauksen alkua.

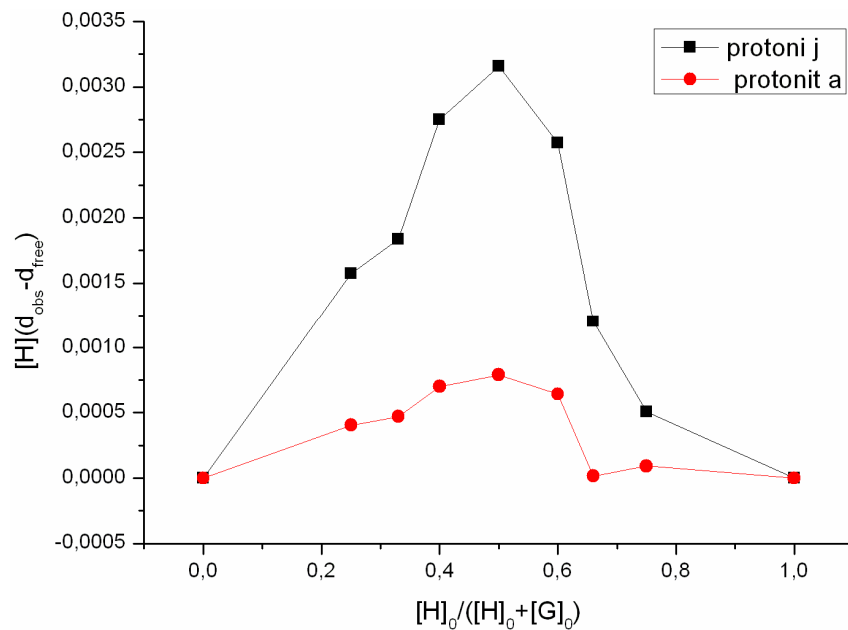
Taulukko 18. Bentseenifoldameeristä **2** ja TBA-F:sta valmistetut pohjaliuokset.

Aine:	m(mg)	V(μl)	Erä
2	4,3	969	1
TBA-F	4,3	1703	1
2	6,8	1533	2
TBA-F	4,0	1585	2

Taulukko 19. Bentseenifoldameeristä **2** ja TBA-F:sta Job kuvaajaa varten tehdyt NMR-näytteet.

suhde (2:TBAF)	V(2)(μ l)	V(TBAF)(μ l)	C(2)(mM)	C(TBAF)(mM)	Erä:
3:1	435	145	6	2	1
1:1	290	290	4	4	1
1:3	145	435	2	6	1
0:1	0	580	0	8	1
2:1	400	200	5,33	2,67	2
3:2	360	240	4,80	3,20	2
2:3	240	360	3,20	3,20	2
1:2	200	400	2,67	5,33	2

Mitatuista NMR-spektreistä valittiin kaksi piikkiä, joiden NMR-siirtymän muutoksia konsentraation muuttuessa seurattiin. Näiden tietojen perusteella piirrettiin kuvaaja (kuva 20), josta nähdään, että liuoksessa muodostuu 1:1 komplekseja. Tässä tapauksessa todellinen suhde on 2:2.



Kuva 20. Jobin kuvaaja bentseenifoldameerin **2** ja TBA-F:n seokselle. Jobin kuvaajaa varten seuratuksi piikiksi on assignoitu bentseenifoldameerin **2** protoneille **j** ja **a** (s.14).

Seurattujen signaalien arvot konsentraation kasvaessa eivät ole täysin tarkkoja. Tämä johtuu protonin **j** tapauksessa seuratun piikin huomattavasta levenemisestä ja protonin **a** tapauksessa seuratun piikin siirtymistä niin lähelle muita piikkejä, että sen erottaminen oli vaikeaa. Moolisuhteella 1:3 valmistetun näytteen spektrissä havaittiin mahdollinen piikki arvolla 16,1 ppm. Tämä on yleensä merkki siitä, että seoksessa muodostuu HF_2^- anionia, kun TBA-F:n konsentraatio on huomattavasti bentseenifoldameerin **2** konsentraatiota suurempi.⁵⁰ Tulosten perusteella HF_2^- -anioni on myös kiinnittynyt bentseenifoldameeriin **2**, koska vapaana liuoksessa signaali havaittaisiin arvolla 15,4 ppm.⁵¹ Anionin muodostumisesta havaittiin merkkejä myös NMR-titrauksen yhteydessä.

10.1.3.2 NMR-titraus

Bentseenifoldameerille **2** ja TBA-F:lle tehtiin NMR-titraus, jonka avulla tutkittiin bentseenifoldameerin **2** liuostilan kompleksoitumista. Titrausta varten valmistettiin kolme liuosta:

Liuos 1: 721 μl DMSO- d_6 :a, johon liuotettiin 3,2 mg bentseenifoldameeriä **2** 600 μl liuosta siirrettiin NMR-putkeen ($C_1=0,008$ M).

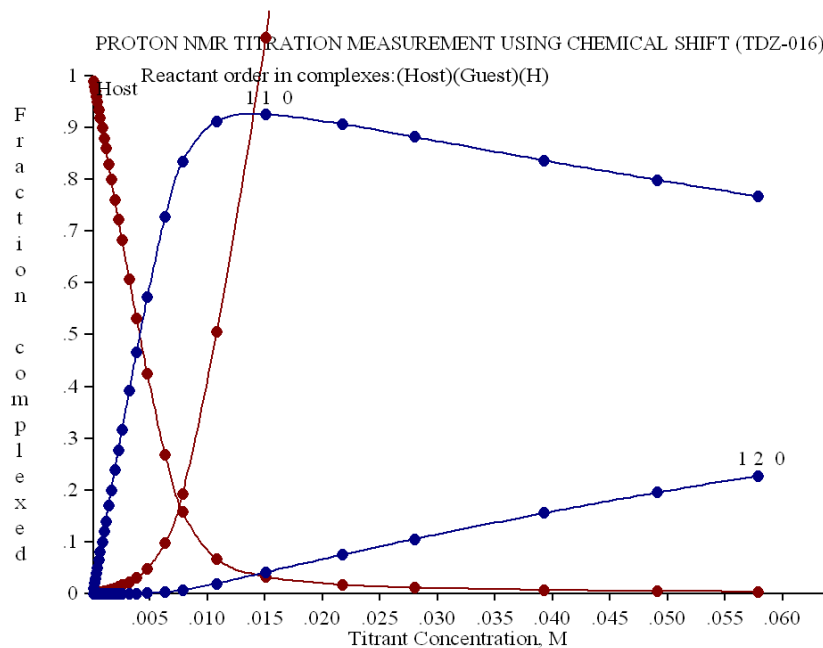
Liuos 2: 1017 μl DMSO- d_6 :a, johon liuotettiin 64,2 mg TBA-F:a, (TBA-F \cdot 3H $_2$ O) ($C_2=0,2$ M).

Liuos 3: Valmistettiin lisäämällä 25 μl :n liuosta **2** 75 μl :aan DMSO- d_6 :a ($C_3=0,05$ M).

NMR-putkessa olevaan liuokseen **1** lisättiin liuosta **2** tai **3**. Lisätyn liuoksen määrä vaihteli. Piikkien levenemisen takia mittauksen yhteydessä mitattujen skannien määrää nostettiin kokeen kuluessa. Mittauksissa 1-6 tehtiin kahdeksan skannia, mittauksissa 7-10 16 skannia, mittauksessa 11 24 skannia ja mittauksissa 17-28 32 skannia. Ennen mittausta näytteiden annettiin olla parin minuutin ajan spektrometrissa, jotta lämpötila tasaantuisi. Tarkemmat tiedot mittauksista on esitetty liitteessä 10.

Titrauksesta saatujen tulosten tulkintaa varten sovitettiin saadut tulokset (LIITE 10) WinEQNMR ohjelmaan.⁵² Ensin käytettiin mallia 1:1 ja tämän jälkeen mallia 1:2. Tulosten perusteella pääteltiin, että TBA-F:n konsentraation ollessa paljon bentseenifoldameerin **2**

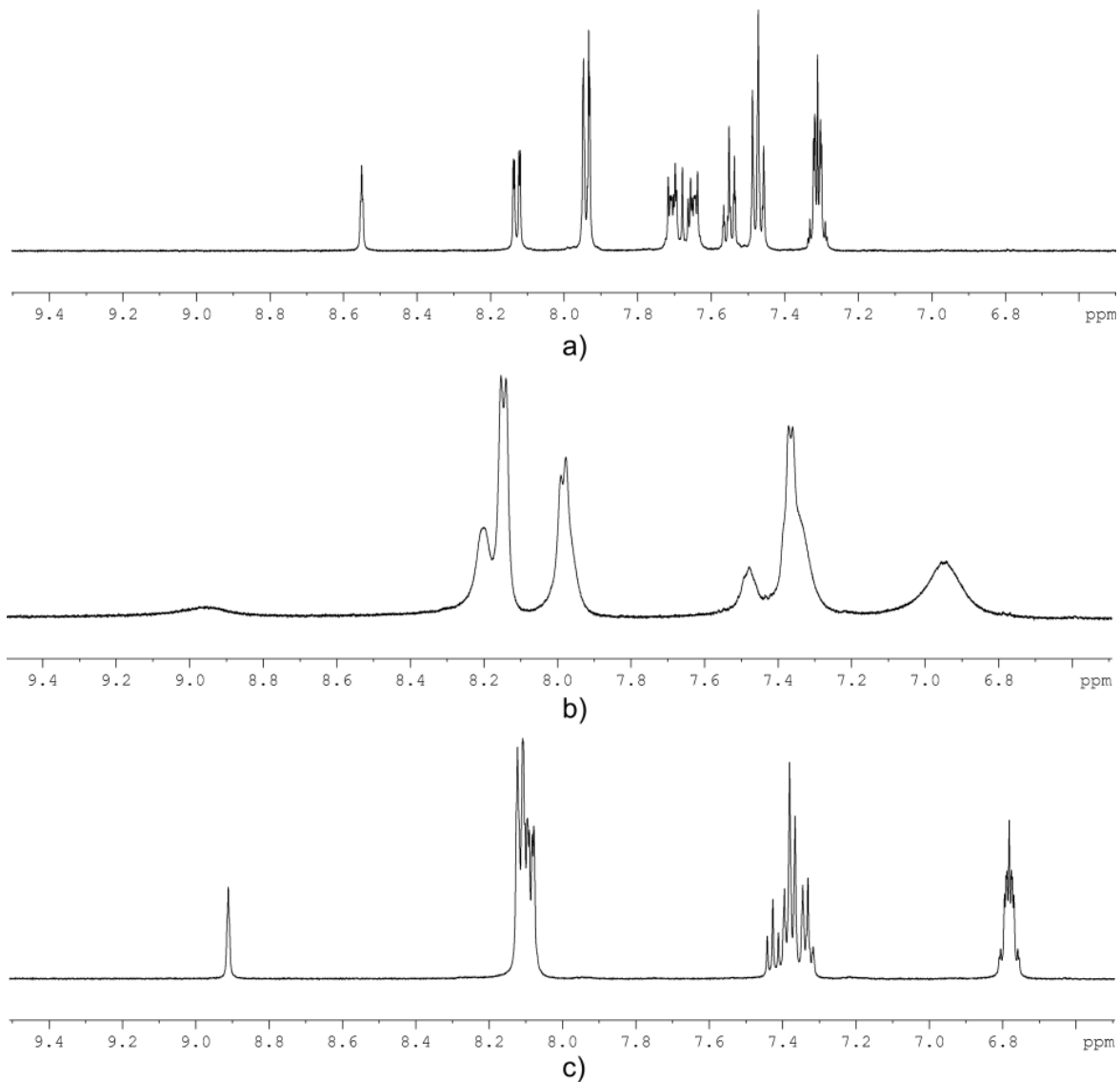
konsentraatiota pienempi, muodostuu pelkästään kompleksia moolisuhteella 1:1 (kuva 21). TBA-F:n konsentraation kasvaessa paljon bentseenifoldameerin **2** konsentraatiota suuremmaksi alkaa Jobin kuvaajan yhteydessä mitattujen tulosten perusteella tapahtua deprotonaatiota, jossa tyypen sitoutunut vety irtoaa, ja muodostuu suhteellisen stabiileja HF_2^- -anioneja. Jobin kuvaajan mittausten perusteella nämä anionit ovat myös kompleksoituneet bentseenifoldameerin **2** kanssa. Kuvassa 21 nähty 1:2 kompleksien muodostuminen ei ole todennäköisesti luotettavaa tietoa, sillä käytetty ohjelma vain sovittaa tulokset tiettyihin annettujen parametrien perusteella, eikä osaa tulkita tapahtuuko reaktiossa todella 1:2 kompleksin muodostusta. Kuvaajan perusteella voidaan kuitenkin sanoa, että seoksessa ei muodostu enää vain 1:1 komplekseja TBA-F konsentraation kasvaessa suureksi.



Kuva 21. ^1H NMR-titraukset. Kuvassa sinisellä kompleksien 1:1 ja 1:2 osuus seoksessa. Tuloksen mukaan aluksi muodostuu lähes pelkästään 1:1 komplekseja, mutta titrantin konsentraation kasvaessa huomattavaksi alkaisi muodostua 1:2 komplekseja.

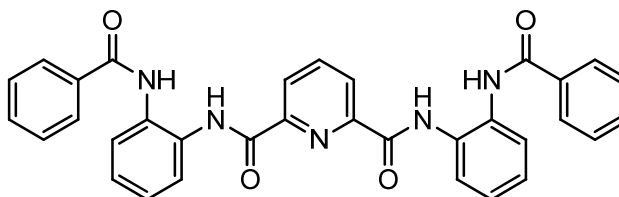
Lisäksi huomattiin, että TBA-F:n konsentraation kasvaessa, tapahtuu ensin piikkien siirtymistä ja levenemistä 2:2 kompleksien muodostumisesta johtuen, mutta TBA-F:n konsentraation kasvaessa huomattavasti bentseenifoldameerin **2** konsentraatiota

suuremmaksi (1:625) spektrin piikit alkavat uudestaan terävöityä ja joidenkin siirtymis-
suunta muuttuu aikaisemmin havaittuihin muutoksiin verrattuna (kuva 22). Tämä saattaa
johtua TBA-kationien koordinoitumisesta bentseenifoldameeriin **2** ja sen yhdistettä
stabiloivasta vaikutuksesta tai bentseenifoldameerien **2** tyyppien deprotonaatiosta.



Kuva 22. a) Bentseenifoldameerin **2** NMR-spektri b) bentseenifoldameerin **2** ja TBA-F:n seos, aineiden moolisuhde 1:3,1 (mahdollisimman suuri leveneminen) c) bentseenifoldameerin **2** ja TBA-F:n seos, aineiden moolisuhde 1:10,4. Alue 6,5-9,5 ppm.

10.2 N^2,N^6 -bis(2-bentsamidofenyylipyridiini-2,6-dikarboksamidin ominaisuudet (3)



3

Toinen erikoistyön aikana valmistettu aine oli N^2,N^6 -bis(2-bentsamidofenyylipyridiini-2,6-dikarboksamidi **3**. Yhdisteen rakenne on muuten samanlainen kuin bentseenifoldameerin **2**, mutta keskimmäisen bentseenirenkaan tilalla on pyridiinirengas. Pyridiinifoldameerin **3** paremmat liukoisuusominaisuudet mahdollistivat sen, että aineen liuostilan kompleksoitumista voitiin tutkia monella eri liuottimella. Liuotukseen ei tarvinnut käyttää vahvoja liuottimia tai liuotinseoksia, mutta liuotukseen tarvittiin silti usein sekoitusta ja kuumennusta. Lisäksi NMR-liuoksia valmistaessa huomattiin, että vaikka aine liukenee kloroformiin, se sakkautuu sieltä pian ulos (n. 20 min). Asetoniin pyridiinifoldameeri **3** liukenee huomattavasti helpommin ja se vaikutti sopivimmalta liuottimelta liuostilan tutkimuksia varten. Kiteytyksissä parhaaksi liuottimeksi osoittautui metanoli, mutta myös etyyliasetaatista ja etanolista saatiin kiteitä. Reaktioeristä parhaiten liukeni etyyliasetaatista ja heksaanista uudelleenkiteytetty yhdiste (TDZ-014), jossa oli jonkin verran liuotinta jäljellä jopa sen jälkeen, kun se oli ollut yön yli vakuumissa kuivumassa. Huonoimmin liukenee THF:stä reaktion aikana sakkautunut tuote.

10.2.1 Puhtaan aineen kiteytykset

Yhdisteestä **3** (TDZ-007) valmistettiin seitsemän kiteytystä siten, että painokansipurkkeihin punnittiin noin 5 mg tuotetta (taulukko 20) ja purkkeihin lisättiin 1 ml liuotinta, ja jos kaikki ei liuennut, lisättiin vielä 1 ml liuotinta. Liukeneminen varmistettiin kuumennuksen avulla ja liuokset siirrettiin koeputkiin, jotka peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin muutamia reikiä. Kaikista näytteistä mitattiin ATR-IR-spektrit ja PXRD-kuviot.

Taulukko 20. Yhdisteestä **3** (TDZ-007) valmistetut kiteytykset. Tolueeni ei ole PXR:n perusteella kumpaakaan muotoa.

Liuos:	m(3):	Muuta:	Muoto:
Asetoni	5,1	neulamaisia kiteitä seinäm.	II
DCM	4,8	valkoista sakkaa	I
DCM	4,9	valkoista sakkaa	I
EtOAc	4,9	neulamaisia kiteitä seinäm.	II
MeCN	4,9	mittauskelpoinen näyte	I
MeOH	4,9	neul. kiteitä pohjalla	III
Tolueeni	4,9	Kasvustomaisia kasaumia	?

Yhdisteestä **3** (TDZ-009) valmistettiin kolme lähes kylläistä kiteytystä siten, että ensin tuotetta punnittiin sopiva määrä painokansipurkkiin, purkkiin lisättiin 4 ml liuotinta, ja purkit jätettiin sekoittumaan viikonlopun yli (n. 70 h), lukuun ottamatta etyyliasettaattinäytettä (taulukko 21), joka liukeni nopeasti lähes kokonaan. Liuokset siirrettiin koeputkiin siten, että kaikki kiinteä aines jäi purkkeihin. Koeputkiin lisättiin liuotinta siten, että liuoksen tilavuus oli kasvanut 25 %:lla, kylläisen liuoksen nopean muodostumisen välttämiseksi. Lopuksi koeputket peitettiin parafilmillä johon puhkaistiin pieni reikä (taulukko 21). Etyyliasettaattinäytteeseen oli muodostunut paljon sakkaa, joten sakka liuotettiin uudelleen kuumennuksen avulla, noin puolet liuoksesta siirrettiin toiseen koeputkeen ja molempiin putkiin lisättiin 2 ml etyyliasettaattia ja putket peitettiin taas parafilmillä, johon puhkaistiin reikä (taulukko 21).

Taulukko 21. Yhdisteellä **3** (TDZ-009) tehdyt kiteytykset. Kaikista näytteistä mitattiin ATR-IR-spektri ja PXR-kuvio

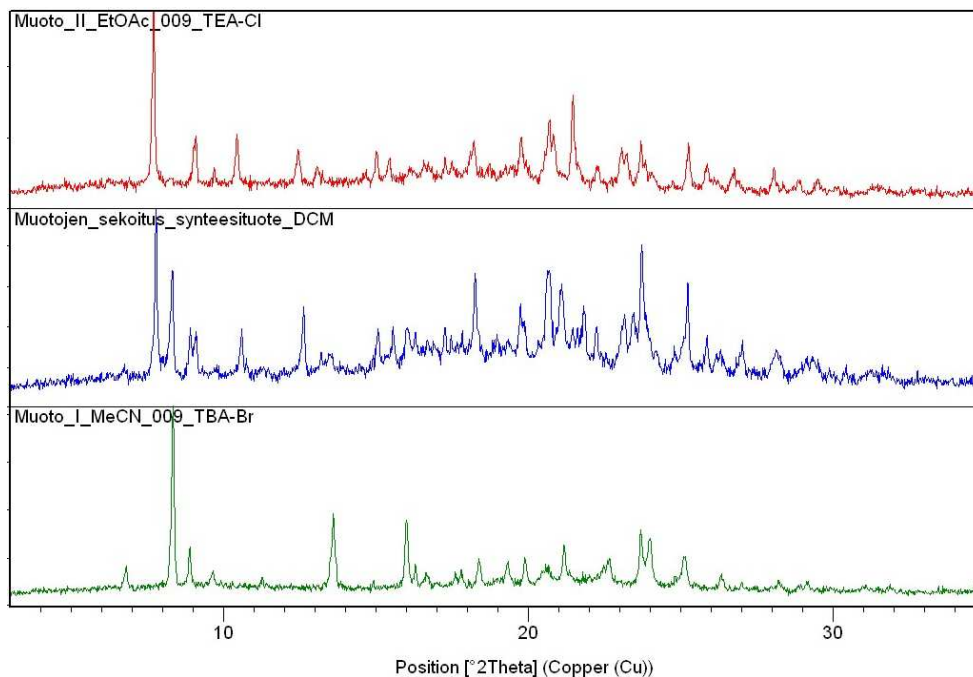
Liuos:	m(3) (mg):	Muuta:	Muoto:
Asetoni	40,5	valkoista sakkaa	I
EtOAc	30,0*	valkoista sakkaa, XRD	III
EtOAc	30,0*	valkoista sakkaa	III
MeOH	40,0	Kiteitä reunoilla, XRD	solvaatti

Yhdiste **3** (TDZ-014) valmistettiin kolme kiteytystä siten, että noin 3 mg tuotetta punnittiin painokansipurkkiin, johon lisättiin 2 ml liuotinta. Tuote liuotettiin sekoituksen ja kuumennuksen avulla ja liuokset siirrettiin koeputkeen, johon lisättiin vielä 1 ml liuotinta. Lopuksi koeputket peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin reikä, paitsi asetonin tapauksessa, jossa parafilmiin ei puhkaistu reikää (taulukko 22).

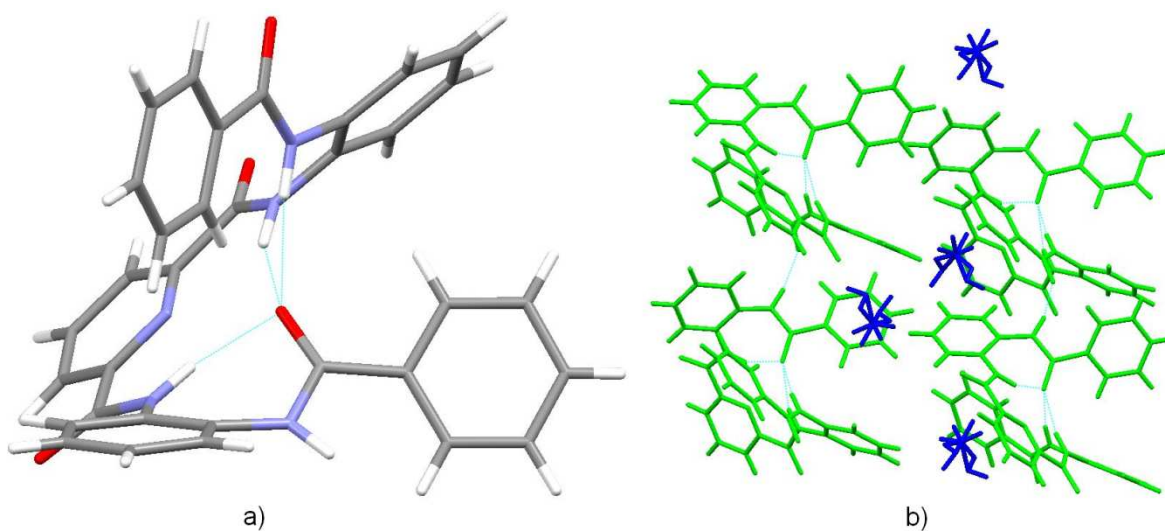
Taulukko 22. Yhdiste **3** (TDZ-014) tehdyt kiteytykset yksikidediffraktiota varten.

Liuotin:	m(3) (mg):	Muuta:
Asetoni	2,9	Valkoista sakkaa
EtOAc	3,0	Valkoista sakkaa
EtOH	3,0	Neulamaisia kiteitä, XRD

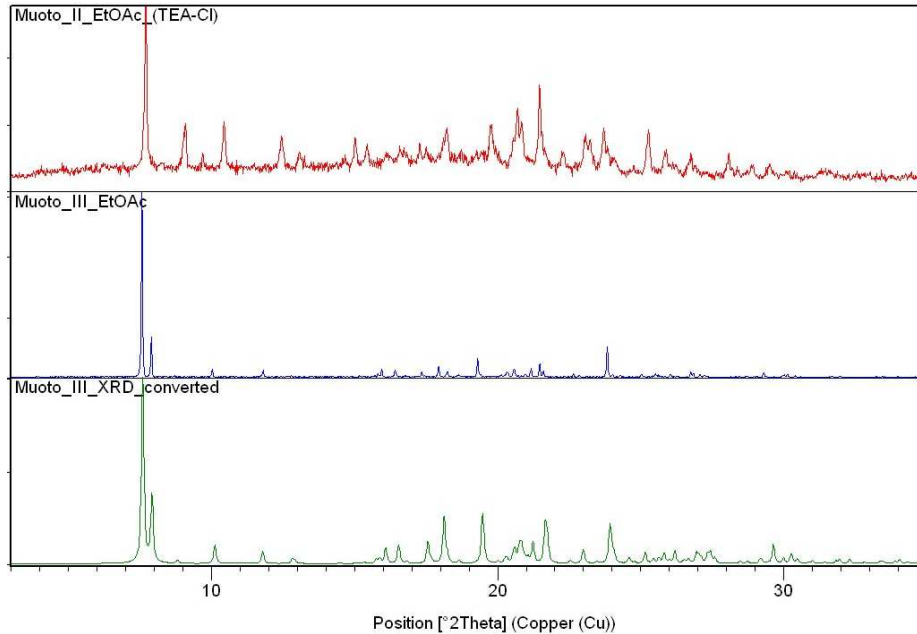
Pyridiinifoldameerin **3** kiteytymistä tutkittiin alustavasti ATR-IR- ja pulveridiffraktio- mittauksilla. Näiden perusteella havaittiin, että pyridiinifoldameerillä **3** on ainakin kaksi huomattavan erilaista polymorfista muotoa (kuva 23). Muotojen rakenteen polymorfian puolesta puhuu se, että yhdisteen synteessituotteesta (TDZ-007) mitatun PXRD-kuvion perusteella synteessissä muodostuu näiden muotojen (I ja II) sekoitusta (kuva 23). Yhdisteelle **3** muodostuu mitattujen yksikidediffraktiokuvioiden perusteella myös metanolisolveatti (taulukko 21, taulukko 24, kuva 24a, LIITE 8) ja etanolisolveatti (taulukko 22, LIITE 8). Näiden solveattien kiderakenteet sekä niiden PXRD-kuviot muistuttavat huomattavasti toisiaan. Etyyliasetaatista kiteytetyn näytteen kiderakenteen perusteella muodostuu lisäksi polymorfista muotoa III (taulukko 21, LIITE 8), jonka kiderakenne on samantapainen kuin metanolista ja etanolista saatujen solveattien, mutta rakenteessa ei ole liuotinta. Muotojen pulveridiffraktiokuviot eroavat toisistaan (kuva 25). Muotojen I ja II pulveridiffraktiokuviot on esitetty liitteessä 6.



Kuva 23. Pyridiinifoldameerin **3** muotojen I ja II vertailua synteesituotteeseen. Synteesituote on sakkautettu haihuttamalla dikloorimetaaniin liuotetusta tuotteesta dikloorimetaani rotavaporilla.

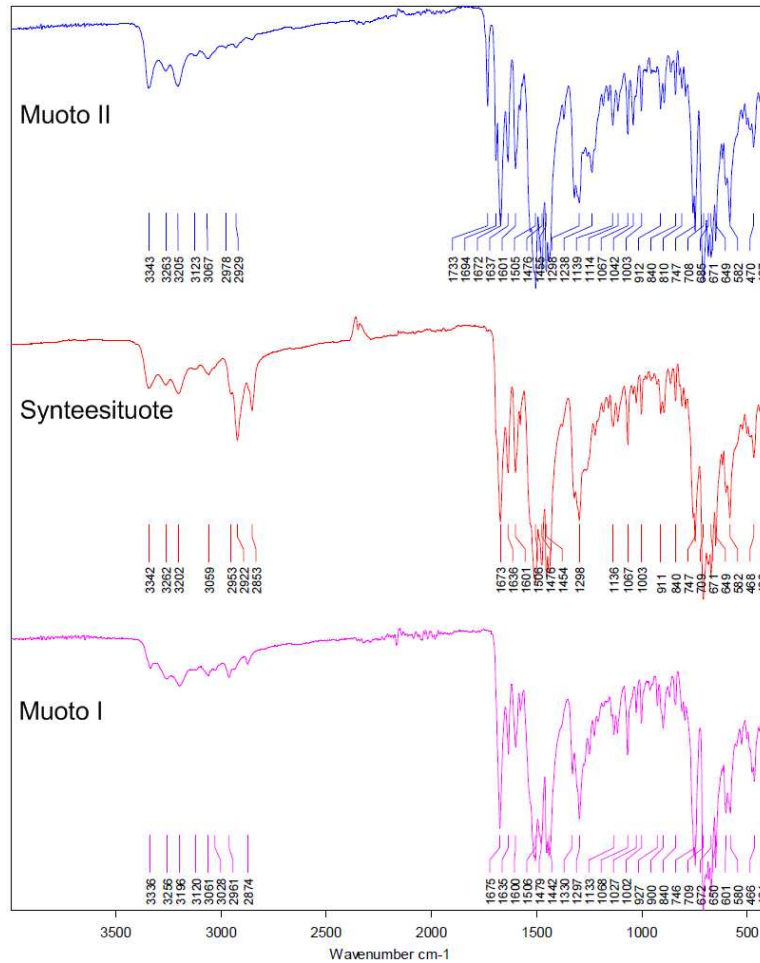


Kuva 24. a) Pyridiinifoldameerin **3** laskostunut rakenne (metanolisolvatti). b) Pyridiinifoldameerin **3** metanolisolvatin pakkautuminen. Siniset molekyylit ovat metanolia joissa näkyy epäjärjestäytymistä.



Kuva 25. Muotojen II ja III vertailua. Alin diffraktiokuva on yksikiderakenteesta saatu laskennallinen diffraktiokuva.⁴ Yhdisteen korkein piikki on molemmilla muodoilla samalla kohdalla, mutta muiden 10 asteen alueella olevien piikkien sijainnit vaihtelevat ja muodolla III on suuren piikin oikealla puolella pienempi piikki, jota muodon II kuviossa ei näy.

Myös aineesta mitatuista ATR-IR-spektreistä voitiin erottaa, että aineesta muodostuu ainakin kahta eri muotoa. Myös muotojen rakenteesta voidaan IR-spektrien perusteella tehdä päätelmiä. Muodolla I karbonyylihapen piikki arvolla 1676 cm^{-1} on hyvin terävä, muodolla II taas karbonyylipiikillä on olkapää, joka viittaa siihen, että yksi muodon II karbonyyliryhmistä on selkeästi eri asennossa kuin muut karbonyyliryhmät, koska se on vetysitoutuneempi kuin muut karbonyyliryhmät (kuva 26). Myös muodon III karbonyylipiikki on jakaantunut (LIITE 7). Synteesituotteessa piikissä näkyy, jonkin verran merkkejä mahdollisesta toisesta muodostuvasta piikistä.

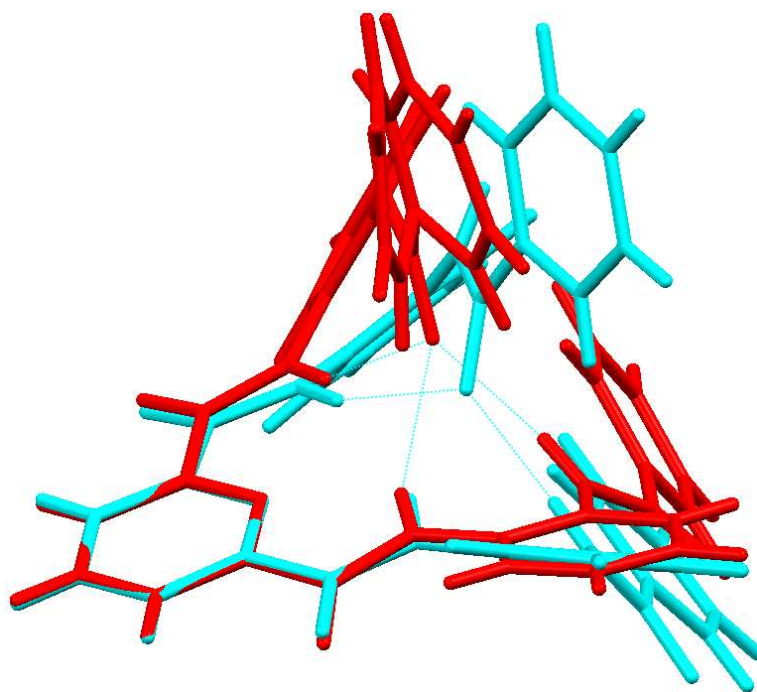


Kuva 26. IR-spektrit eri muodoista. Suurin ero näkyy karbonyyliryhmiä vastaavassa piikissä (n. 1690 cm^{-1}). Piikki aaltoluvulla 1733 cm^{-1} johtuu etyyliasetaatista.

Pyridiinifoldameerin **3** metanolisolvaatin, etanolisolvaatin ja muodon III kiderakenteiden perusteella nähdään, että ainakin nämä rakenteet ovat vahvasti laskostuneet, toisin kuin bentseenifoldameeri **2**, jolla tapahtuu löyhempää laskostumista. Ilmeisesti niinkin pieni ero kuin bentseenirenkaan korvautuminen pyridiinirenkaalla aiheuttaa selkeän muutoksen aineiden rakenteessa (kuva 24a). Foldameerien rakenne-eron syy voi olla bentseenin vetyatomi, joka jäisi laskostuneen bentseenifoldameerin **2** sisälle, ja tekisi laskostuneesta rakenteesta liian ahtaan.

Yhdiste **3** pakkautuu siten, että molekyylien välissä oleva metanoli on epäjärjestäytynyt, mikä viittaa siihen, että kiderakenteeseen sopisi myös jonkin verran suurempi liuotin (kuva 24b). Tämä varmistettiin mittaamalla etanolista kiteytetyn solvaatin kiderakenne, joka

muistutti huomattavasti metanolisolvaatin rakennetta (kuva 27). Rakenteiden samankaltaisuus viittaa siihen, että yhdisteen kiderakenteen määrittää pyridiinifoldameeri **3**, kun taas bentseenifoldameerillä **2** liuotin vaikuttaa todennäköisesti vahvasti kiderakenteeseen. Pyridiinifoldameeristä **3** mitattiin myös rakenne kiteestä, joka oli saatu etyyliasetaatista kiteytetystä näytteestä. Rakenne oli muuten hyvin samantapainen kuin metanolisolvaatti (kuva 24), mutta kiderakenteessa ei ollut liuotinta. Rakenteessa oli kuitenkin tyhjiä alueita, joka voisi viitata siihen, että aine voisi järjestyä tiiviimmin. Tyhjän alueen koko oli Mercuryn⁴ mukaan 12.97 Å³:ä. Aineen bentseenirenkaissa oli jonkin verran tästä johtuvaa epäjärjestystä.



Kuva 27. Pyridiinifoldameerin **3** rakenne. Sinisellä metanolisolvaattia ja punaisella muoto III. Rakenteet ovat monella tapaa samankaltaisia, mutta rakenteessa on jonkin verran pakkautumisesta ja liuottimesta johtuvia eroja.

10.2.2 Kompleksointikokeet

Yhdisteestä **3** (TDZ-009) valmistettiin yhteensä 15 kompleksointikoetta. Ensimmäiset 12 kompleksointikoetta valmistettiin siten, että painokansipurkkiin punnittiin noin 10 mg yhdistettä **3** (taulukko 23). Tämän jälkeen astioihin punnittiin tarvittava määrä suolaa siten, että aineiden moolisuhde oli 1:1. Purkkeihin lisättiin 2 ml:a liuottimia ja aineet liuotettiin

kuumennuksen avulla, jonka jälkeen liuokset siirrettiin koeputkiin ja koeputket peitettiin parafilmillä, johon tehtiin muutamia reikiä. Etyyliasettaatti TEA-Cl näyte ei liennut kokonaan, joten siihen lisättiin 2 ml liuotinta ja näytettä kuumennettiin uudestaan, jolloin sakkaa jäi edelleen liukenematta. Liuos siirrettiin koeputkeen ja kaikki kiinteä aines jäi painokansipurkkiin. Kaikista näytteistä, joista ei muodostunut amorfista öljyä, mitattiin ATR-IR-spektri ja PXRD-kuvio (taulukko 23).

Taulukko 23. Yhdisteestä **3** (TDZ-009) tehdyt ensimmäiset 12 kompleksointikoetta

Liutotin:	m(3) (mg)	m(suola)	Suola:	Muuta:
EtOAc	9,9	1,6	TMA-F	-
EtOAc	10,0	4,9	TBA-F	Amorfista öljyä
EtOAc	10,0	3,3	TEA-Cl	-
EtOAc	9,9	5,0	TBA-Cl	Amorfista öljyä
EtOAc	10,2	3,8	TEA-Br	-
EtOAc	10,0	5,9	TBA-Br	Amorfista öljyä
MeCN	9,9	1,7	TMA-F	-
MeCN	9,9	5,0	TBA-F	-
MeCN	9,9	2,9	TEA-Cl	-
MeCN	10,2	7,6	TBA-Cl	-
MeCN	10,0	3,9	TEA-Br	-
MeCN	10,1	6,3	TBA-Br	-

Loput kolme kompleksointikoetta (taulukko 24) valmistettiin siten, että noin 20 mg:a yhdistettä punnittiin painokansipurkkiin. Tämän jälkeen astioihin punnittiin tarvittava määrä suolaa siten, että aineiden moolisuhde oli 1:1 ja purkkiin lisättiin 4 ml liuotinta. Yhdisteet yritettiin liuottaa kuumennuksen avulla, mutta kun kaikki aine ei liennut, jätettiin purkit sekoitukseen viikonlopun ajaksi (n. 70 h). Koeputkiin lisättiin vielä 2 ml liuotinta ja niitä yritettiin taas kumentaa, mutta kaikki aine ei silti liennut. Lopuksi seosten liuososat siirrettiin purkeista koeputkiin, jotka tämän jälkeen peitettiin parafilmillä, johon puhkaistiin pieni reikä.

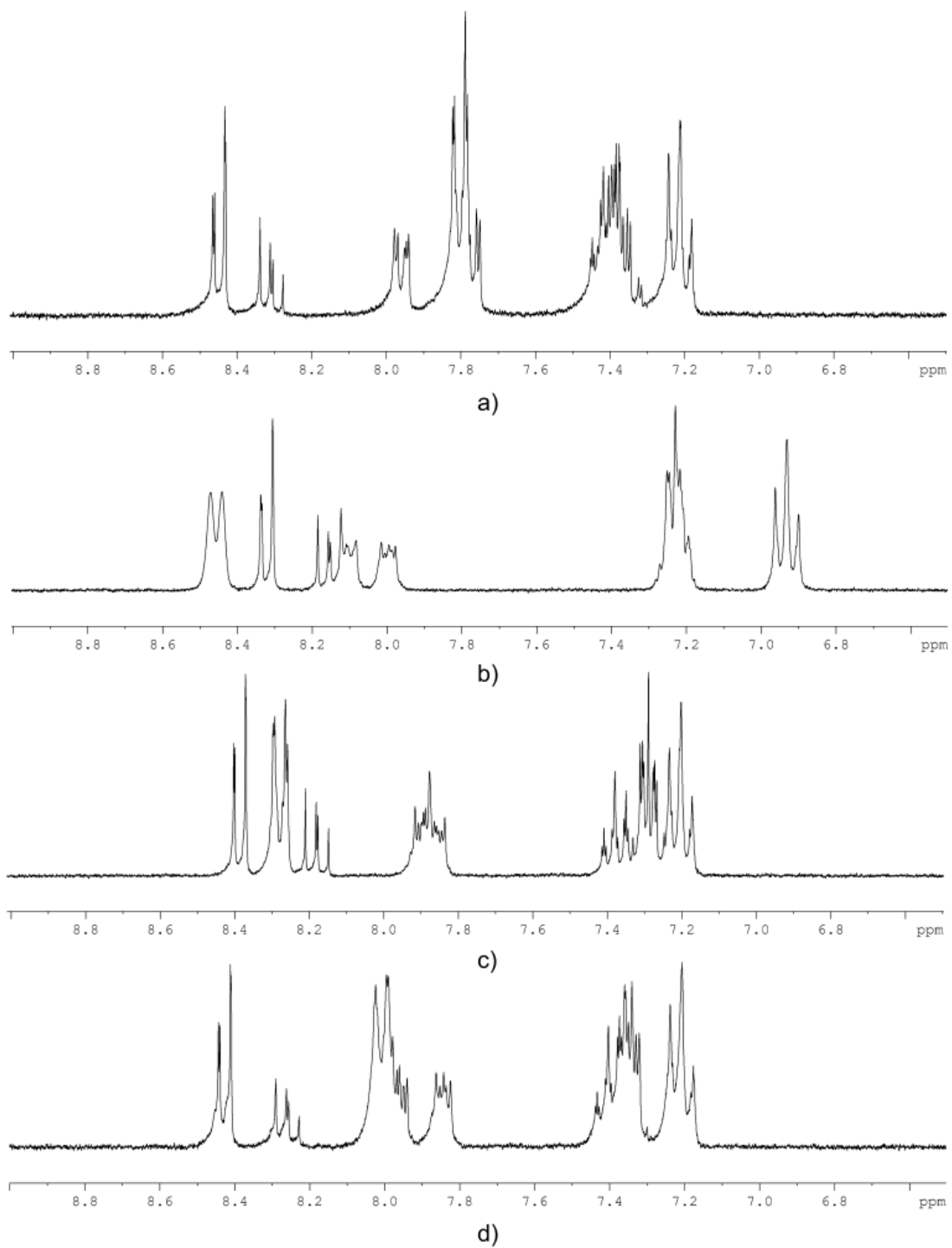
Taulukko 24. Yhdisteestä **3** (TDZ-009) tehdyt toiset kompleksointikokeet.

Liutotin:	m(2) (mg)	m(suola)	Suola:	Muuta:
MeOH	20,0	3,4	TMA-F	Valkoista sakkaa ATR-IR ja PXRD
MeOH	20,1	9,6	TBA-F	Pieniä kiteitä, Koeputki rikkoutui
MeOH	20,3	10,3	TBA-Cl	Kiteitä, XRD

Pyridiinifoldameerin **3** kiinteän tilan kompleksoinneista mitattujen ATR-IR-spektrien ja pulveridiffraktiokuvioiden perusteella ei havaittu merkkejä kiinteän tilan kompleksoitumisesta.

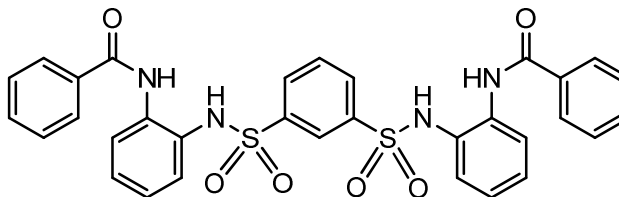
10.2.3 Liuostilan kompleksoituminen

Pyridiinifoldameerin **3** liuostilan kompleksoitumista tutkittiin valmistamalla siitä ja eri ammoniumsuoloista NMR-näytteitä, joiden konsentraatio oli 8 mM kahdessa eri liuottimessa. Käytetyt suolat olivat TBA-F, TBA-Cl ja TBA-Br ja liuottimet asetonid₆ ja CDCl₃. Lisäksi mitattiin vertailunäytteinä 8 mM pyridiinifoldameeri **3** näyte. Selkeimmät tulokset saatiin asetonid₆:ssa suoritetuissa mittauksissa. Näiden mittausten perusteella pyridiinifoldameerille **3** tapahtuu kompleksoitumista kaikkien tutkittujen suolojen kanssa. Selkeimmät merkit kompleksoitumisesta nähdään TBA-F:lla ja heikoimmat TBA-Br:lla (kuva 28). CDCl₃:ssa pyridiinifoldameerin **3** sakkautuminen liuottimesta häytti mittauksia. Sakkaa muodostui muutamassa minuutissa, näytteisiin, joissa oli vain pyridiinifoldameeria **3** ja näytteeseen, jossa oli myös TBA-Br kationia. Näytteeseen, jossa oli pyridiinifoldameerin **3** lisäksi TBA-Cl:a, muodostui sakkaa joidenkin tuntien kuluessa, ja näytteeseen, jossa oli myös TBA-F:a, ei muodostunut sakkaa.



Kuva 28. NMR-spektrit alueella 6.5–9.0 ppm, liuottimena asetoni-d₆ ja aineiden konsentraatio on 8mM. a) vain pyridiinifoldameeri **3** b) pyridiinifoldameeri **3** ja TBA-F c) pyridiinifoldameeri **3** ja TBA-Cl d) pyridiinifoldameeri **3** ja TBA-Br.

10.3 N^1, N^3 -bis(2-bentsamidofenyyl)bentseeni-1,3-disulfonamidin ominaisuudet (4)



4

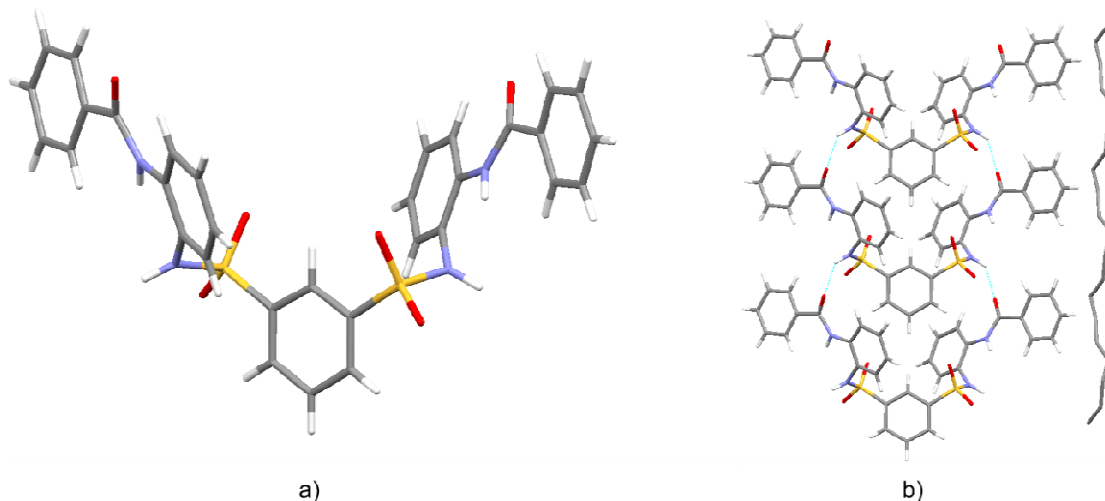
Kolmas erikoistyössä valmistettu aine oli N^1, N^3 -bis(2-bentsamidofenyyl)bentseeni-1,3-disulfonamidi **4**. Sulfonyylifoldameeri **4** on muuten samanlainen kuin bentseenifoldameeri **2**, mutta aineen sisemmät karbonyyliryhmät on korvattu sulfonyyliryhmillä. Aineen liukoisuutta ehdittiin tutkia jonkin verran ja huomattiin, että aine liukenee ainakin etyyliasetaattiin, etanoliin ja asetonitriiliin kohtuullisesti. Synteesituotteesta mitatun pulveridiffraktiokuvion perusteella yhdiste oli amorfista.

Yhdisteestä **4** (TDZ-017) valmistettiin yhteensä kolme höyrydiffuusiokiteytystä eri liuottimissa (taulukko 25). Kiteytykset valmistettiin siirtämällä 0,25 ml:a ilman kuumennusta tuotteella saturoitua liuotinta (liuotin 1) autoklaavin näyteputkeen, johon lisättiin tämän jälkeen liuotinta vielä 0,25 ml:a. Purkin pohjalle lisättiin 1 ml:a toista liuotinta (liuotin 2), purkin suulle siveltiin vakuumirasvaa, siihen laitettiin kansi päälle ja sen suuaukon ympärille laitettiin parafilmiä.

Taulukko 25. Sulfonyylifoldameeristä **4** valmistetut kiteytykset

Liuot 1:	Liuot 2:	m(4) (mg)	Muuta:
EtOAc	Hex	2,0	neulamaisia kiteitä, XRD
EtOH	dH ₂ O	2,1	valkoista Sakkaa
MeCN	tolueeni	2,1	Ei kiteitä tai sakkaa

XRD rakenteen perusteella yhdisteellä ei tapahdu laskostumista (kuva 29, LIITE 8) eikä myöskään ATR-IR-spektrissä näkynyt samanlaisia merkkejä itselaskostumisesta kuin pyridiinifoldameerillä **3**. Mittausten perusteella sulfonyylifoldameeri on sulfonyyliryhmien vaikutuksesta taipuneessa ja vääntyneessä konformaatioissa (kuva 29a), joka pakkautuu tiiviisti kerroksiksi vetysidosten avulla (kuva 29b).



Kuva 29. Sulfonyylifoldameerin **4** a) konformaatio kiderakenteessa ja b) pakkautuminen. Kuvassa näkyvät vain normaalit vetysidokset. Yhdisteen hapet, myös sulfonyyliryhmän hapet, muodostavat lisäksi heikkoja vetysidoksia ympäröivien molekyylien bentseeni-renkaidenrenkaiden vetyihin. Heksaani on epäjärjestäytynyt.

11 Yhteenveto

Erikoistyön tavoitteena oli amidofoldameerien synteesi ja niiden kompleksoitumisen ja kiderakenteen tutkimus. Synteeseissä valmistettiin amidofoldameerit **2** ja **3** nukleofiilisellä substituutioreaktiolla. Lisäksi valmistettiin samalla reaktiolla vielä sulfonyylifoldameeria **4**. Myös lähtöaine, *N*-bentsoyyli-2-aminoaniliini **1**, valmistettiin samalla reaktiolla. Aineiden syntetisointi nukleofiilisen substituutioreaktion avulla oli suhteellisen nopeaa ja reaktioiden saannot olivat erittäin hyvät. Ainoastaan bentseenifoldameerin **2** puhdistus tuotti ongelmia. Tämä johtui aineen kyvystä sitoa tehokkaasti liuottimia.

Erikoistyössä valmistettujen aineiden samankaltaisuuden takia työssä voitiin vertailla niiden ominaisuuksia. Erityisen kiinnostava ominaisuus oli aineiden itselaskostuminen. Mikä saa pyridiinifoldameerin **3** laskostumaan hyvin tehokkaasti, kun bentseenifoldameerillä **2** tapahtuu vain heikkoa laskostumista ja sulfonyylifoldameerillä **4** laskostumista ei havaittu ollenkaan? Aineiden itselaskostumisen toteamiseen erityisen hyödyllinen on yksikidediffraktio. Mahdollisesti myös IR-spektrin karbonyyliryhmän

piikin muodosta voitaisiin päätellä, onko tämäntapainen aine laskostunut vai ei. Tämä hypoteesi vaatii jatkotutkimuksia.

Bentseenifoldameeri muodostaa suhteellisen huonoliukoisia kiteitä, joiden rakenteisiin jää todennäköisesti aina merkittäviä määriä liuotinta. Kiderakenteeseen voi jäädä hyvin erilaisia liuottimia, joiden ominaisuudet ja koko voivat vaihdella merkittävästi. Pyridiinifoldameerin rakenteen merkittävin ominaisuus on aineen kyky itselaskostua, jolloin molekyyli asettuu kierteksi (kuva 24). Syntyvien vetysidosten takia laskostunut rakenne on suhteellisen stabiili. Yhdisteen kiderakenteeseen jää kuitenkin aukkoja, joihin voi kiteytymisen yhteydessä jäädä liuotinta, jos käytetty liuotin on tarpeeksi pienikokoinen (MeOH, EtOH). Sulfonyylifoldameerin kiderakenne puolestaan on ilmeisesti vetysidoksista johtuen suhteellisen tiivis ja vääntynyt, mutta ei laskostunut.

Kiinteän tilan kompleksoitumisesta nähtiin merkkejä vain bentseenifoldameerin **2** tapauksessa ja silloinkin vain TBA-F:n kanssa. Bentseenifoldameeri **2** muodostaa TBA-F:n kanssa 2:2 komplekseja, joissa kahden bentseenifoldameerin välissä on kaksi fluorianionia. Kompleksoitumista TBA-F:n kanssa havaittiin myös liuostilassa. Pyridiinifoldameerillä **3** ei havaittu kiinteän tilan kompleksoitumista, mutta liuostilan kompleksoitumisesta nähtiin merkkejä monen eri ammoniunhalidisuolan kanssa. Nämä kompleksit eivät kuitenkaan ole ilmeisesti niin stabiileja, että muodostuisi myös kiinteän tilan komplekseja tai työn aikana ei ehditty löytää sopivia kiteytys olosuhteita. Pyridiinifoldameerin bentseenifoldameeriä monipuolisemmat liuostilan kompleksointiominaisuudet johtuvat todennäköisesti siitä, että sitä tutkittiin vähemmän polaaristen liuottimien avulla.

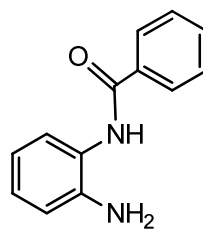
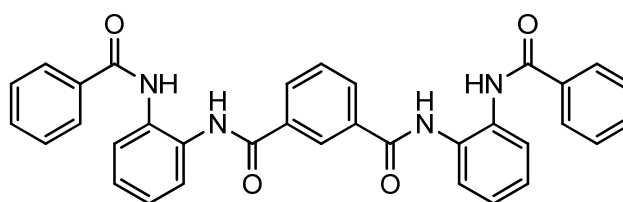
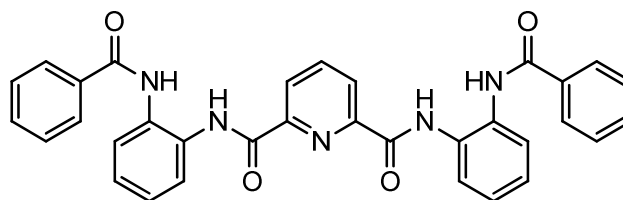
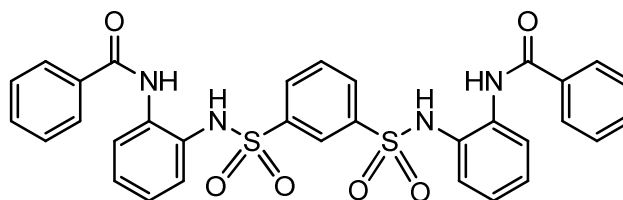
Erikoistyön kuluessa saadut tulokset edistävät osaltaan samantapaisten aineiden tutkimusta ja helpottavat vastaavanlaisten aineiden valmistusta tulevaisuudessa. Työssä varmistettiin, että synteeseissä käytetyllä reaktiolla voi valmistaa amidi- ja sulfonyylisidoksen omaavia aineita nopeasti, helposti ja suhteellisen hyvällä saannolla. Tällaisten aineiden tutkimus on hyödyllistä pääasiassa kahdesta syystä. Yhdisteen rakenne, jossa on biologisesti erittäin tärkeä amidisidos, on samankaltainen kuin aminohappoja proteiineissa yhdistävä peptidisidos. Lisäksi valmistetut yhdisteet sisältävät useita aromaattisia renkaita, joita ei yleisesti esiinny aminohapoissa lähellä peptidisidosta. Kiinnostava tutkimusaihe olisi myös

jatkaa amidisidoksen omaavan aineen ominaisuuksien vertailua valmistetun sulfonyylisidoksen omaavan aineen ominaisuuksiin.

Molekyylien laskostumisominaisuudet ovat toinen merkittävä syy. Proteiinien ominaisuuksiin vaikuttaa merkittävästi niiden sekundäärirakenne, ja suhteellisen yleinen ja tärkeä sekundäärirakenteen muoto on heliksi eli kierre, jollaisen alkeellinen muoto pyridiinifoldameerille **3** muodostuu. Erikoistyössä valmistetuilla aineilla voidaan tutkia, millaisia ominaisuuksia aineella pitää laskostumista varten olla. Syntetisoiduilla aineilla tarvittiin yksi karbonyylihappi, johon oli vetysidoksilla kiinnittynyt kolme amidityppiryhmän vetyatomia, jotka olivat sopivalla etäisyydellä toisistaan ja karbonyylihapesta. Lisäksi tarvittiin tilaa muodostaa vetysidokset, sillä toisin kuin pyridiinifoldameerillä **3** bentseenifoldameerillä **2** havaittiin vain heikkoa laskostumista ja yhdisteellä **4** ei havaittu laskostumista ollenkaan.

Erikoistyön aikana saatiin paljon kiinnostavia tuloksia, mutta työn kuluessa heräsi myös paljon kysymyksiä, joihin ei saatu vastauksia ja joita pitää tutkia lisää. Jatkotutkimuksena voisi esimerkiksi tehdä bentseenifoldameerin **2** kiteytys ja kompleksointikokeita, hyödyntäen reaktiosta vedellä sakkauttamalla saatua liukoisempaa synteesituotetta. Pyridiinifoldameerin **3** muotoa I ja II ei saatu myöskään kiteytettyä tarpeeksi isoina kiteinä yksikidediffraktiota varten. Tätä voisi yrittää liuottimista, joissa muotoa tiedetään syntyvän (MeCN ja DCM). Sulfonyylituotteen ominaisuuksia ei ehditty tutkia juuri ollenkaan ja vastaavanlaiset kiteytys- ja kompleksoitumistutkimukset kuin aineille **2** ja **3** ovat kiinnostavia. Myös aineiden liuostilan kompleksoitumista voi tutkia enemmän. Erityisesti kiinnostavaa voisi olla selvittää mitä bentseenifoldameerille **2** tapahtui NMR-titrauksessa, kun TBA-F:a oli liuoksessa ylimäärin, ja millaisia liuostilan komplekseja pyridiinifoldameeri **3** muodostaa. Samankaltaisia aineita voidaan syntetisoida lisää ja valmistaa pyridiinifoldameerin **3** perusteella oligomeeriä, jossa olisi useampi laskostuva yksikkö.

12 Syntetisoidut molekyylit

**1****2****3****4**

13 Kirjallisuusluettelo

1. R. E. Dinnebier ja S. J. L. Billinge, Principles of Powder Diffraction. Kirjassa: R. E. Dinnebier ja S. J. L. Billinge (toim.), *Powder Diffraction Theory and Practice*, RSC Publishing, Cambridge, UK, 2008, ss. 1-15.
2. C. Giacovazzo, The diffraction of X-rays by crystals. Kirjassa: C. Giacovazzo (toim.), *Fundamentals of Crystallography*, Oxford University Press, Oxford, UK, 1992, ss. 141-142.
3. H. L. Monaco, Experimental methods in X-ray crystallography. Kirjassa: C. Giacovazzo (toim.), *Fundamentals of Crystallography*, Oxford University Press, Oxford, UK, 1992.
4. CERN FAQ LHC the guide, <http://cdsmedia.cern.ch/img/CERN-Brochure-2008-001-Eng.pdf>, the European organization for nuclear research, CERN Document Server (26.4.2010).
5. J. K. Cockcroft ja A. N. Finch, Experimental setups. Kirjassa: R. E. Dinnebier ja S. J. L. Billinge (toim.), *Powder Diffraction Theory and Practice*, RSC Publishing, Cambridge, UK, 2008, ss. 30-34.
6. S. Plate, Practical Aspects of Data Collection. X-ray structure analysis, *Proc. Intensive teaching school in X-ray structure analysis*, Trevelyan College, University of Durham, UK, 28.3-6.4.2009.
7. G. Gilli, Molecules and molecular crystals, Kirjassa: C. Giacovazzo (toim.), *Fundamentals of Crystallography*, Oxford University Press, Oxford, UK, 1992, ss. 465-467.
8. W. Clegg, *Crystal Structure Determination*, Oxford University Press, Avon, UK, 1998, ss. 33-49.
9. E. F. Lee, J. D. Sadowsky, B. J. Smith, P. E. Czabotar, K. J. Peterson-Kaufman, P. M. Colman, S. H. Gellman, and W. D. Fairlie, High-resolution structural

- characterization of a helical α/β -peptide foldamer bound to the anti-apoptotic protein Bcl-x_L, *Angew. Chem.*, **2009**, 121, 4382-4386.
10. G. Angelici, G. Falini, H-J. Hofmann, D. Huster, M. Monari, and C. Tomasini, Nanofibers from oxazoloni-2-one containing hybrid foldamers: What is the right molecular size?, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 8037-8048
 11. G. E. Bacon, *Neutron Diffraction*, 2. Painos, Oxford University Press, London, 1962, ss. 1-16.
 12. J. K. Cockcroft ja A. N. Finch, Experimental setups. Kirjassa: R. E. Dinnebier ja S. J. L. Billinge (toim.), *Powder Diffraction Theory and Practice*, RSC Publishing, Cambridge, UK, 2008, ss. 46-57.
 13. G. E. Bacon, *Neutron Diffraction*, 2. Painos, Oxford University Press, London, UK, 1962, ss. 210.
 14. M. Vippola ja T. Lepistö, *Electron Crystallography*, raportti, Tampereen teknillinen korkeakoulu, materiaaliopin laitos, Tampere, 1999.
 15. G. A. Meek, *Practical Electron Microscopy for Biologists*, 2. painos, Wiley Interscience Publications, Surrey, UK, 1976, ss. 48-59.
 16. L. A. Bendersky ja F. W. Gayle, Electron diffraction using transmission electron microscopy, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* **2001**, 106(6), 997-1012.
 17. C. E. Housecroft ja E. C. Constable, *Chemistry*, 2. painos, Prentice Hall, Italy, 2002, ss. 6-7.
 18. A. R. West, *Basic Solid State Chemistry*, 2. painos, John Wiley & sons, Wiltshire, UK, 1999, ss. 160-161.
 19. J. T. Black, The scanning electron microscope. Kirjassa: M.A. Hayat (toim.) *Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy Volume 1: Biological Applications*, Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA, 1974, ss. 20-23.

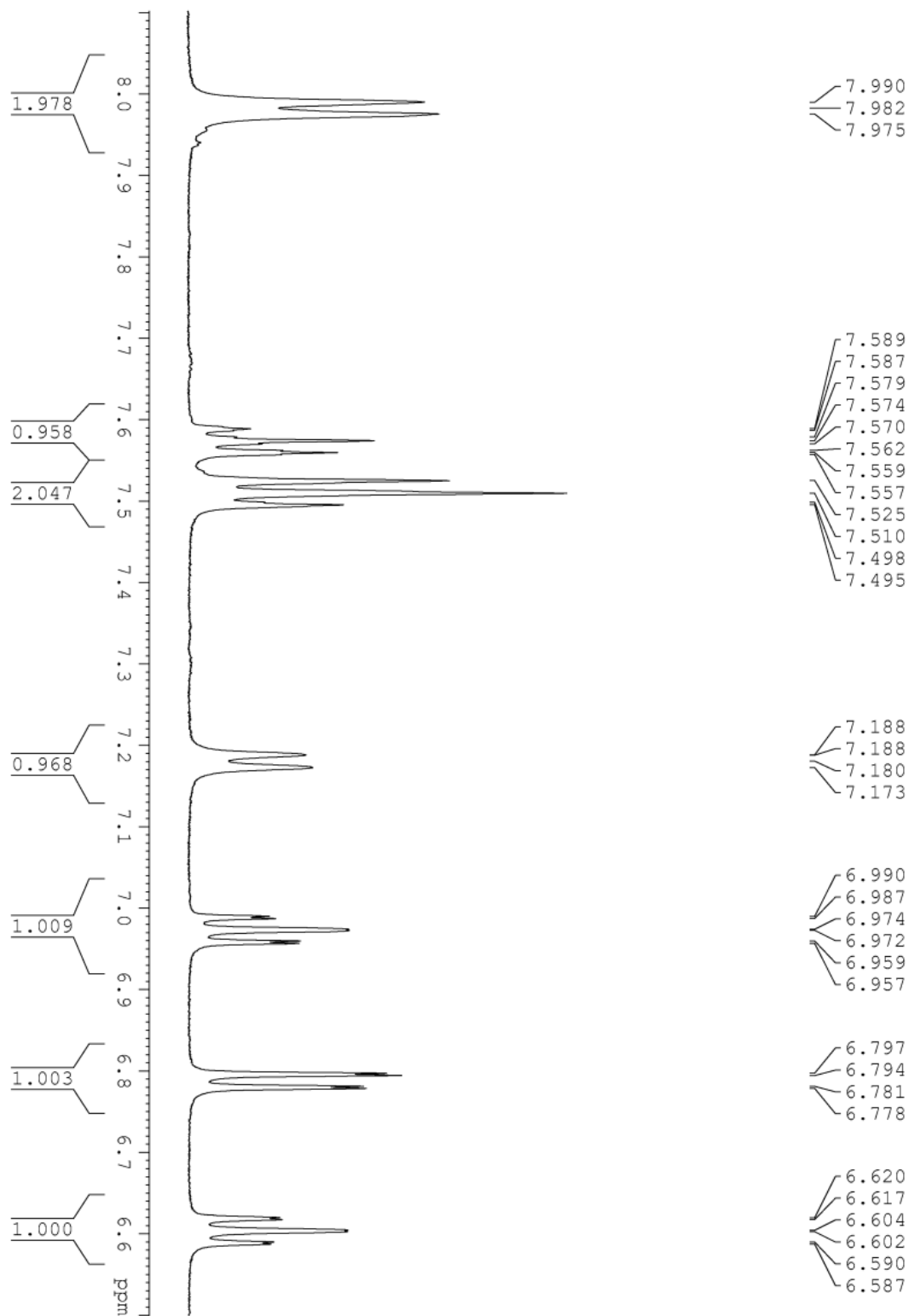
20. G. A. Meek, *Practical Electron Microscopy for Biologists*, 2. painos, Wiley Interscience Publications, Surrey, UK, 1976, ss. 8–12.
21. L. Reimer ja H. Kohl, *Transmission Electron Microscopy*, 5. painos, Springer, New York, USA, 2008, ss. 329–331.
22. C. Kübel, M. J. Mio, J.S. Moore, and D. C. Martin, Molecular Packing and Morphology of Oligo(m-phenylene ethynylene) Foldamers, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8605–8610.
23. B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy : Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Chippenham, UK, 2004.
24. N. B. Colthup, L. H. Daly ja S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3. painos, Academic Press, USA, 1990, ss. 75-83.
25. N. B. Colthup, L. H. Daly ja S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 3. painos, Academic Press, USA, 1990, ss. 60–73.
26. J. L. Koenig, *Infrared and Raman Spectroscopy of Polymers*, Smithers Rapra, UK, 2001, ss.9-11.
27. M. J. Duer, *Introduction to Solid-State NMR Spectroscopy*, Blackwell Publishing Ltd, UK, 2004.
28. O. N. Antzutkin, Molecular Structure Determination: Applications in Biology. Kirjassa: M. J. Duer (toim.), *Solid-State NMR Spectroscopy: Principles and Applications*, Blackwell Publishing Ltd, UK, 2002, ss. 280-281
29. R. J. Abraham, J. Fisher ja P. Loftus, *Introduction to NMR Spectroscopy*, 2. Painos, John Wiley & Sons Ltd, UK, 1988, ss. 1-7.
30. D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*, 5. Painos, Saunders College Publishing, USA, 1998, ss. 537-547.

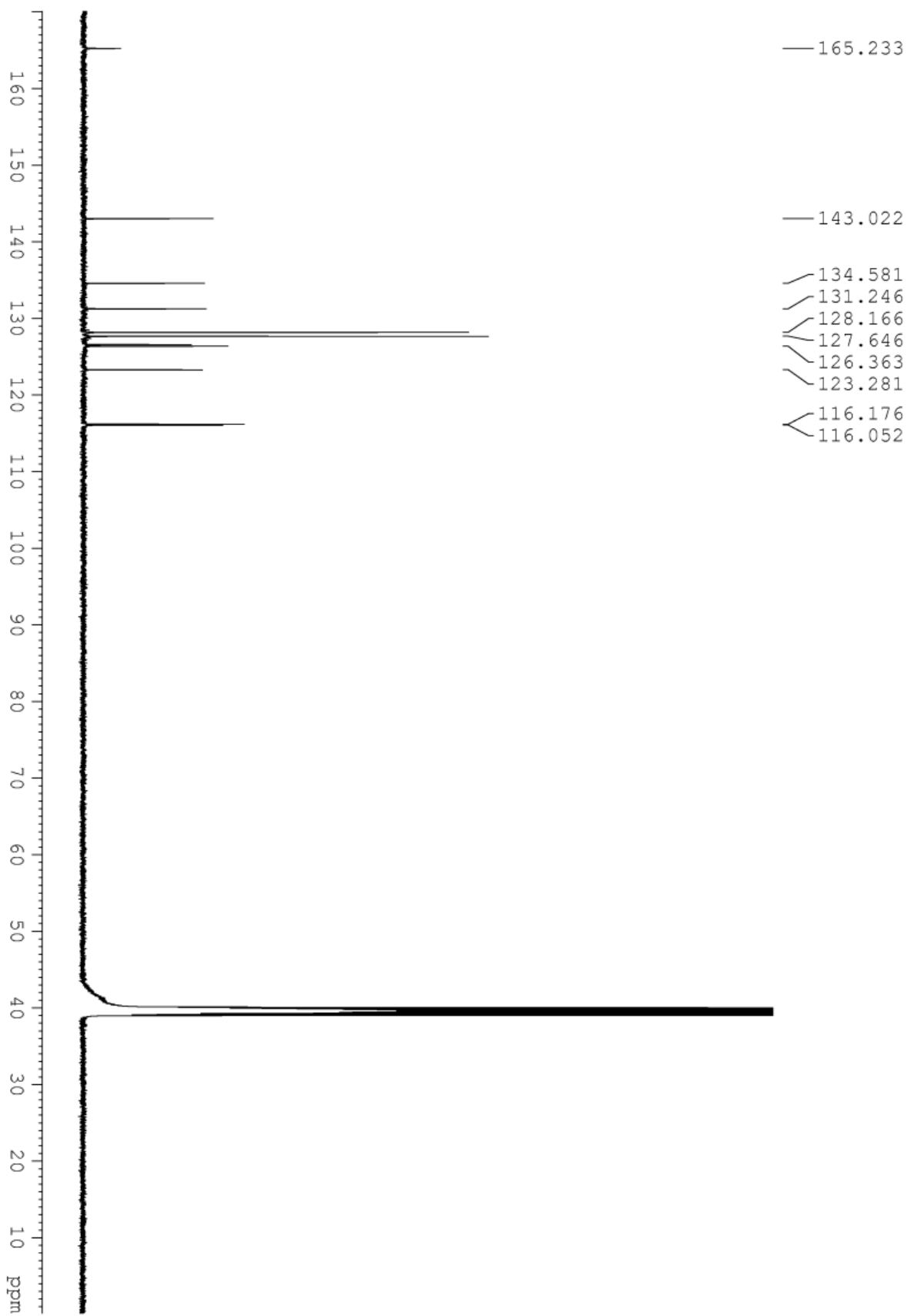
31. J. A. Weil, J. R. Bolton, J. E. Wertz, *Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and Practical Applications*, Wiley Interscience, USA, 1994, ss.1-32.
32. A. R. West, *Basic Solid State Chemistry*, 2. painos, John Wiley & sons, Wiltshire, UK, 1999, ss. 189-195.
33. D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*, 5. Painos, Saunders College Publishing, USA, 1998, ss. 272-298.
34. H. H. Jaffé ja M. Orchin, *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*, John Wiley & Sons, USA, 1962, ss. 1-15.
35. G. R. Heal, Thermogravimetry and Derivative Thermogravimetry. Kirjassa: P. J. Haines (toim.), *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*, RSC, Cambridge, UK, 2002.
36. P. G. Laye, Differential Thermal Analysis and Differential Scanning Calorimetry. Kirjassa: P. J. Haines (toim.), *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*, RSC, Cambridge, UK, 2002.
37. P. J. Goodhew, J. Humphreys, R. Beanland, *Electron Microscopy and Analysis*, 3. Painos, Taylor & Francis, London, UK, 2000.
38. P. K. Baruah, N. K. Sreedevi, B. Majumdar, R. Pasricha, P. Poddar, R. Gonnade, S. Ravindranathan ja G. J. Sanjayan, Sheet-forming abiotic hetero foldamers, *Chem. Commun.*, **2008**, 712-714.
39. S. Kwon, A. Jeon, S. H. Yoo, I. S. Chung, H-S. Lee, Unprecedented molecular architectures by the controlled self-assembly of a β -peptide foldamer, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 8232-8236.
40. P. C. Braga ja D. Ricci, How the Atomic Force Microscope Works ja Imaging Methods in Atomic Force Microscopy. Kirjassa: P. C. Braga ja D. Ricci (toim.), *Atomic Force Microscopy Biomedical Methods and Applications*, Humana Press, Totowa, USA, 2004, ss. 3-23.

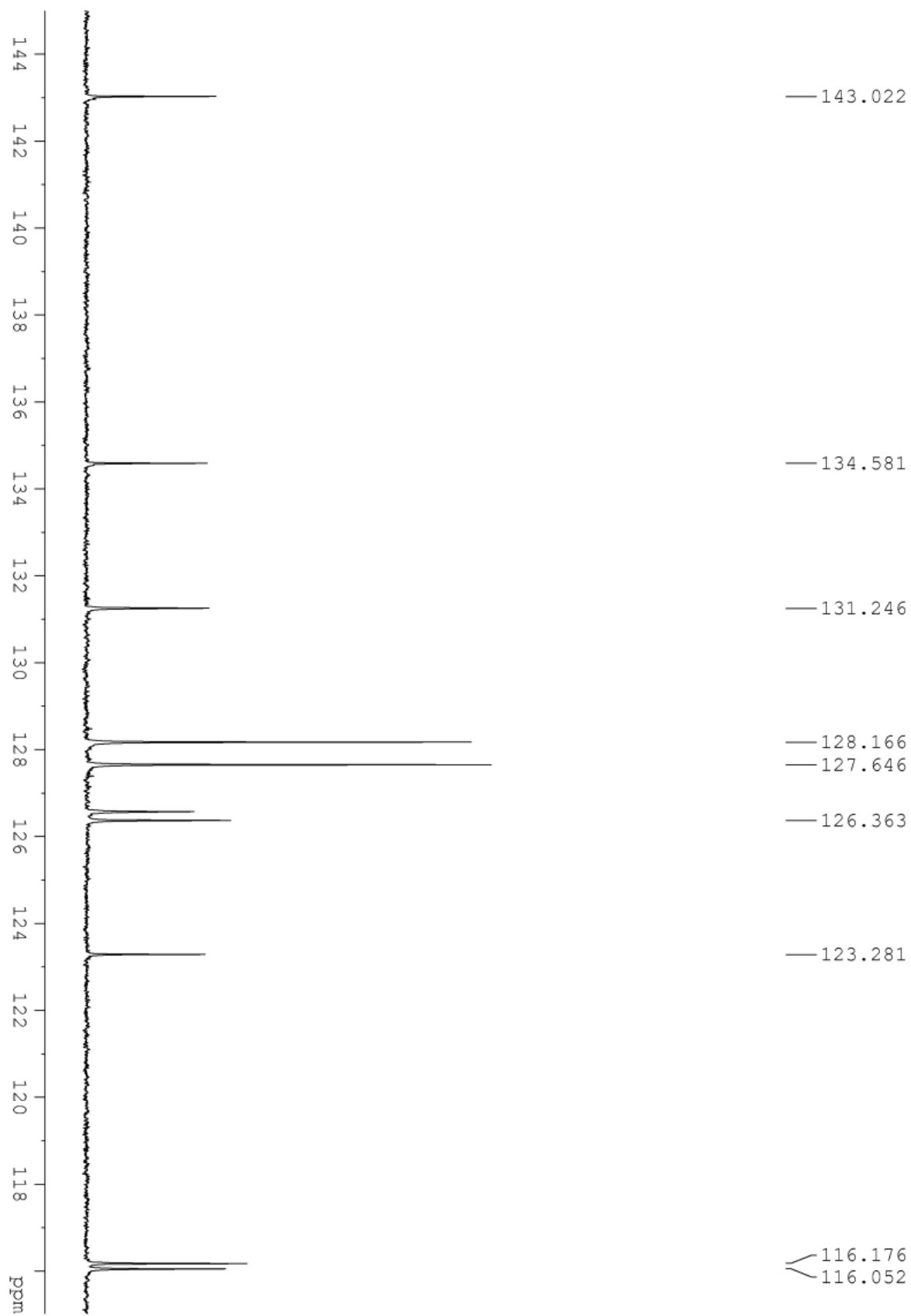
41. J.-J. Yu ja S. N. Magonov, *Application of Atomic Force Microscopy in Polymer Materials*, Agilent Technologies, Application Note, USA, 2007.
42. G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A.*, **2008**, 64, 112-122.
43. L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.*, **1999**, 32, 837-838.
44. A.L. Spek, *Acta Crystallogr. Section A*, **1990**, 46, C34.
45. C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler and J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.*, 39, 453-457, **2006**
46. Z. Otwinowski, D. Borek, W. Majewski ja W. Minor, *Acta Crystallogr. A.*, **2003**, 59, 228-234.
47. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Organic Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 2001, ss. 279-304.
48. Riia Annala, työkirja, **2010**, reaktiot OEO-002 ja OEO-011.
49. J. Ollikka, K. Salorinne, M. Nissinen, julkaisematon tulos, LIITE 9.
50. K. Salorinne, D.P. Weimann, C.A. Schalley, M. Nissinen, Resorcinarene podand with amine-functionalized side arms – synthesis, structure, and binding properties of a neutral anion receptor, *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 6151-6159.
51. S.O. Kang, D. Powell, V.W. Day and K. Bowman-James, Trapped bifluoride, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 1921-1925.
52. M.J. Hynes, Dalton Transactions, *J. Chem. Soc.*, **1993**, 311-312.

LIITE 1: N-bentsoyyli-2-aminoaniliinin 1H ja 13C NMR-spektrit

¹H NMR-spektrin levitys, 6.5–8.1 ppm, ¹³C NMR-spektri sekä ¹³C-spektri, josta levitetty alue 117–144 ppm.

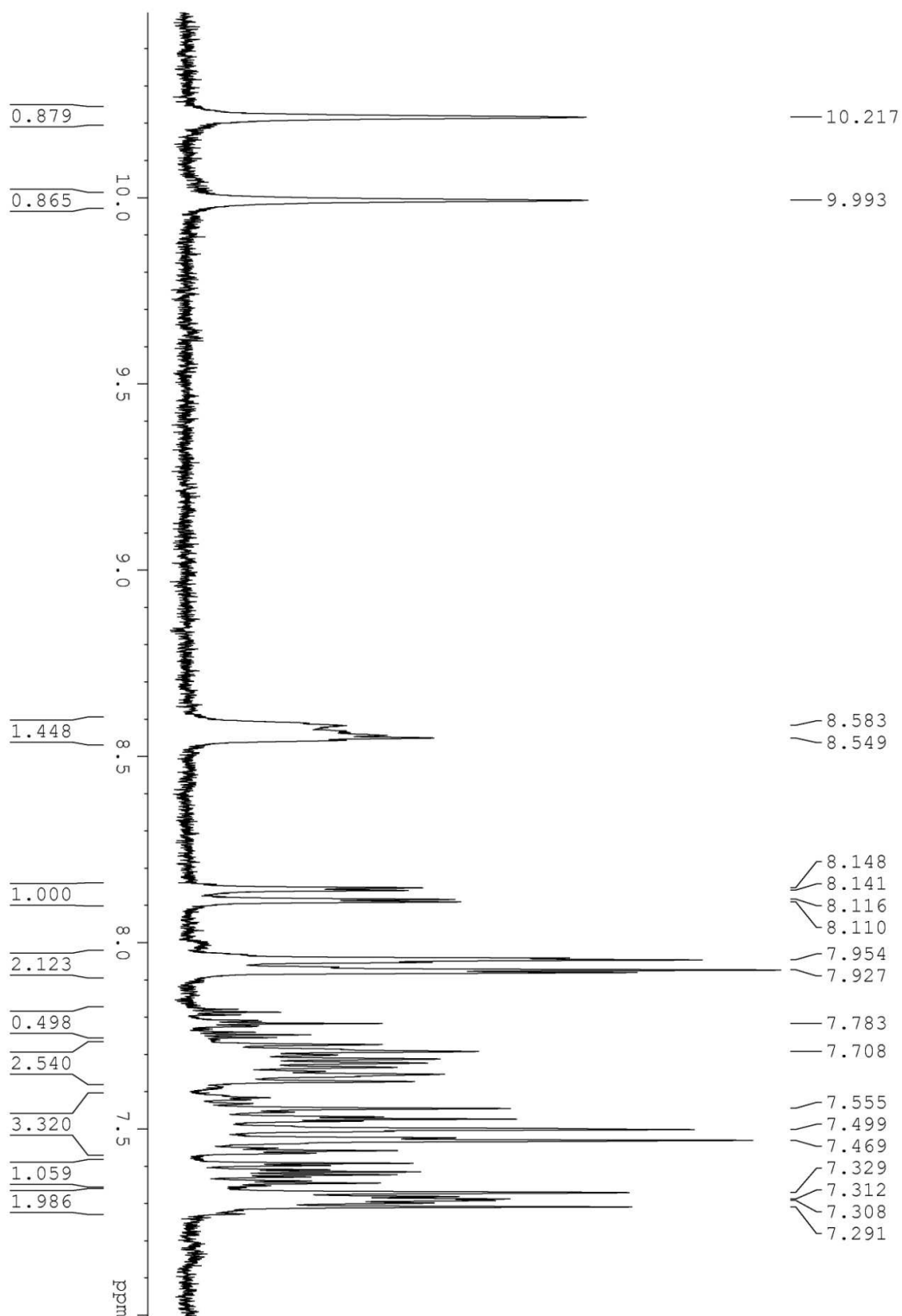






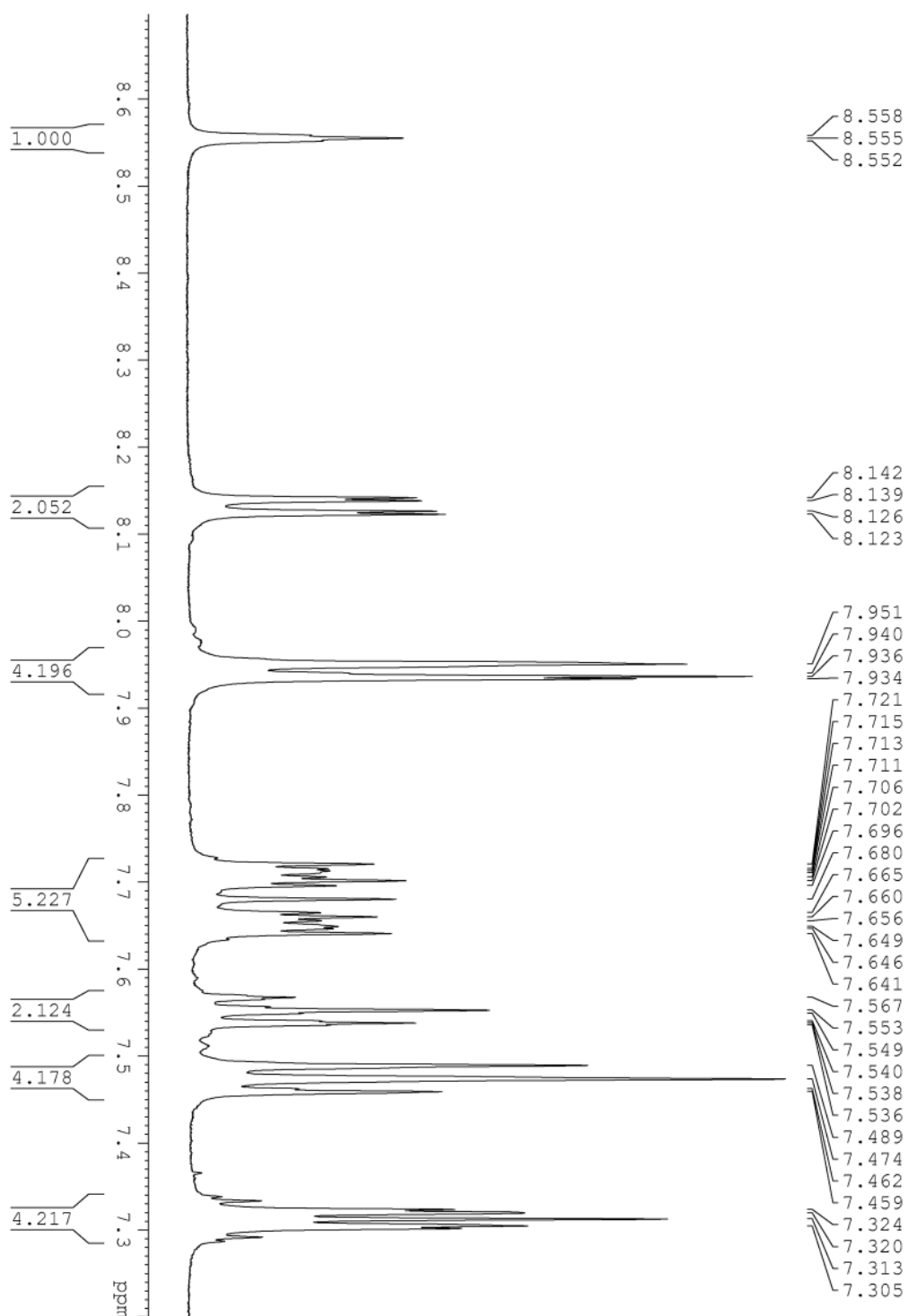
LIITE 2: Bentseenifoldameerin 2 synteesimenetelmällä 2 saadun raakatuotteen NMR-spektri

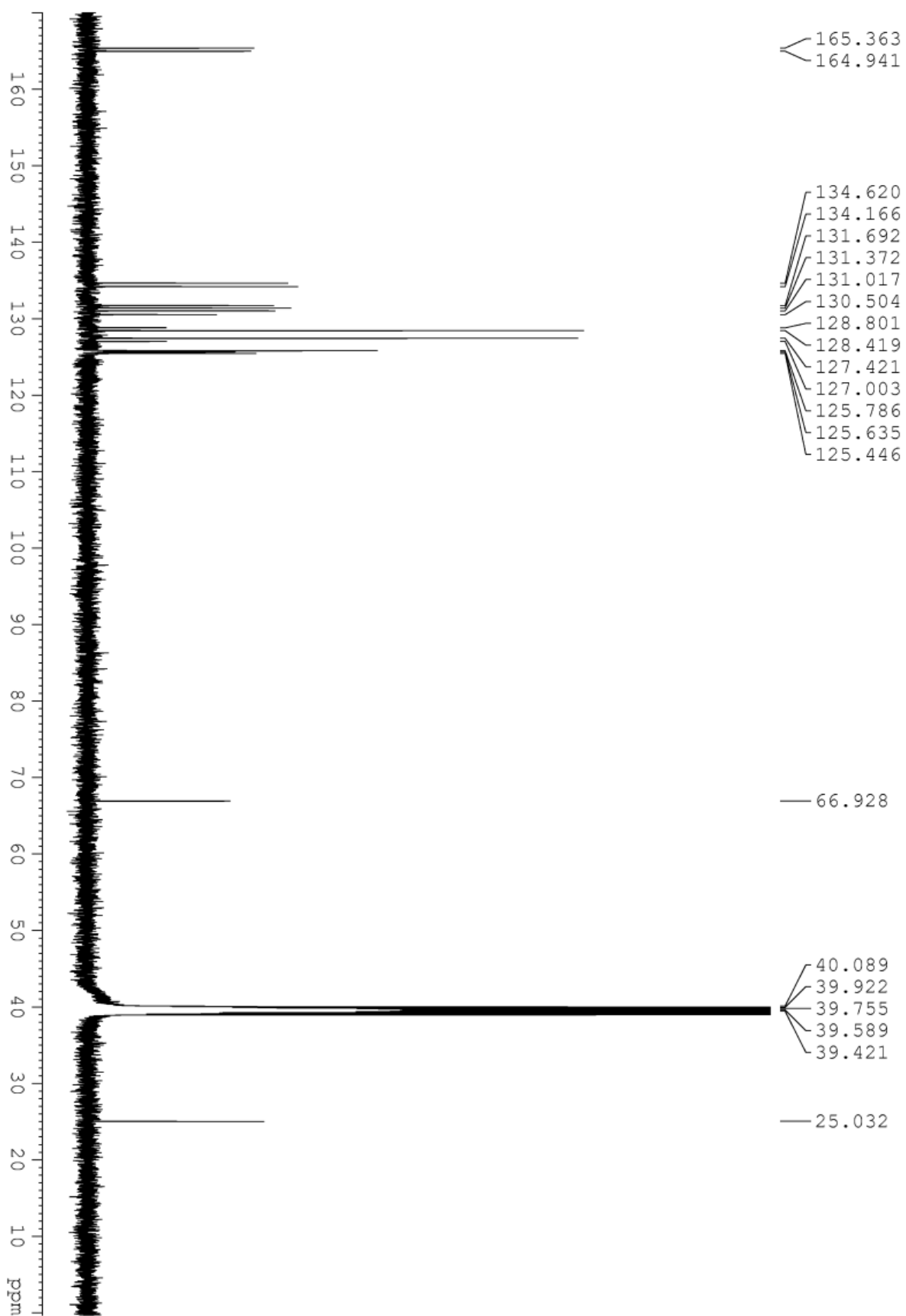
protoni NMR-spektrin aromaattinen alue (7.0-10.5 ppm).

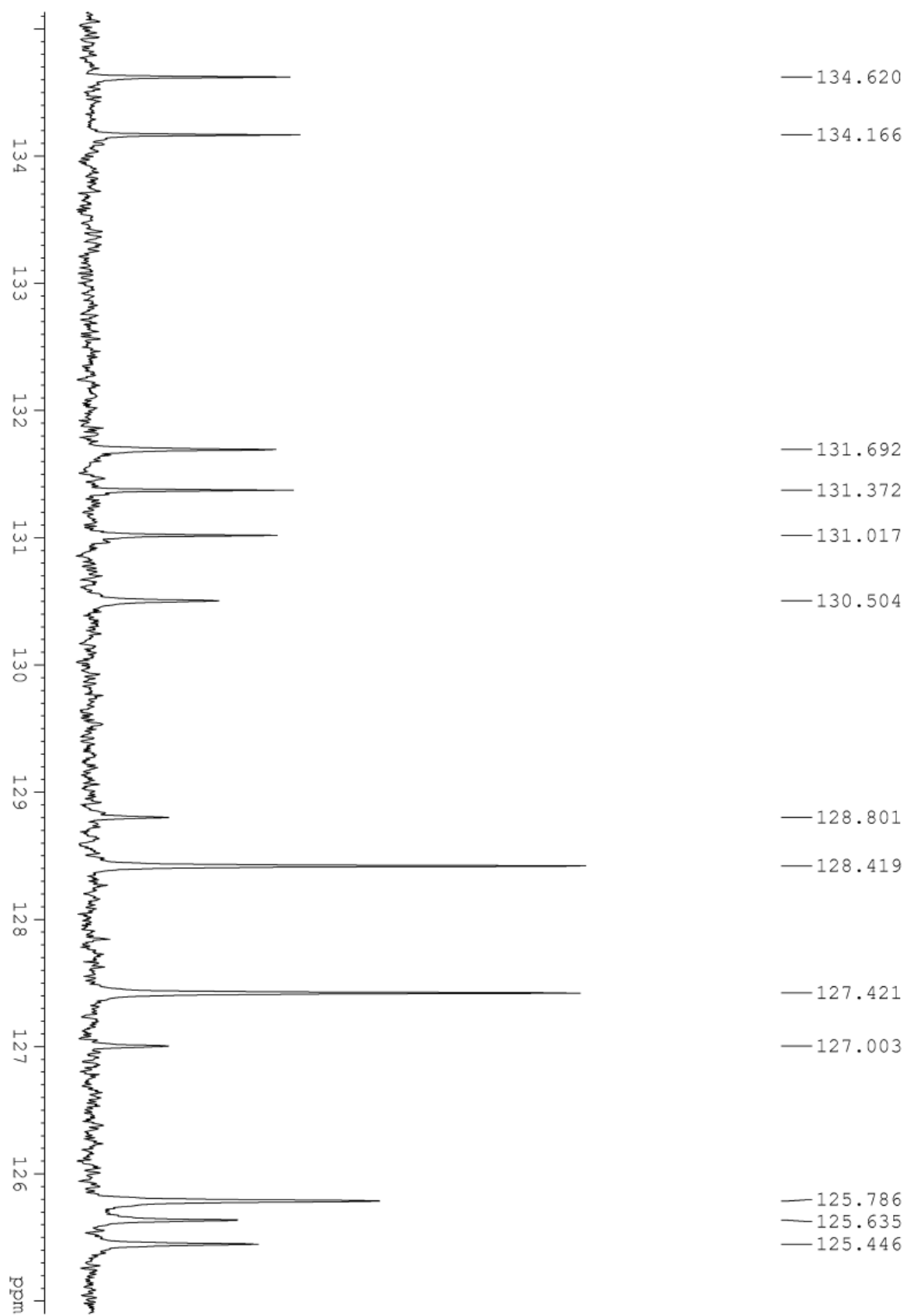


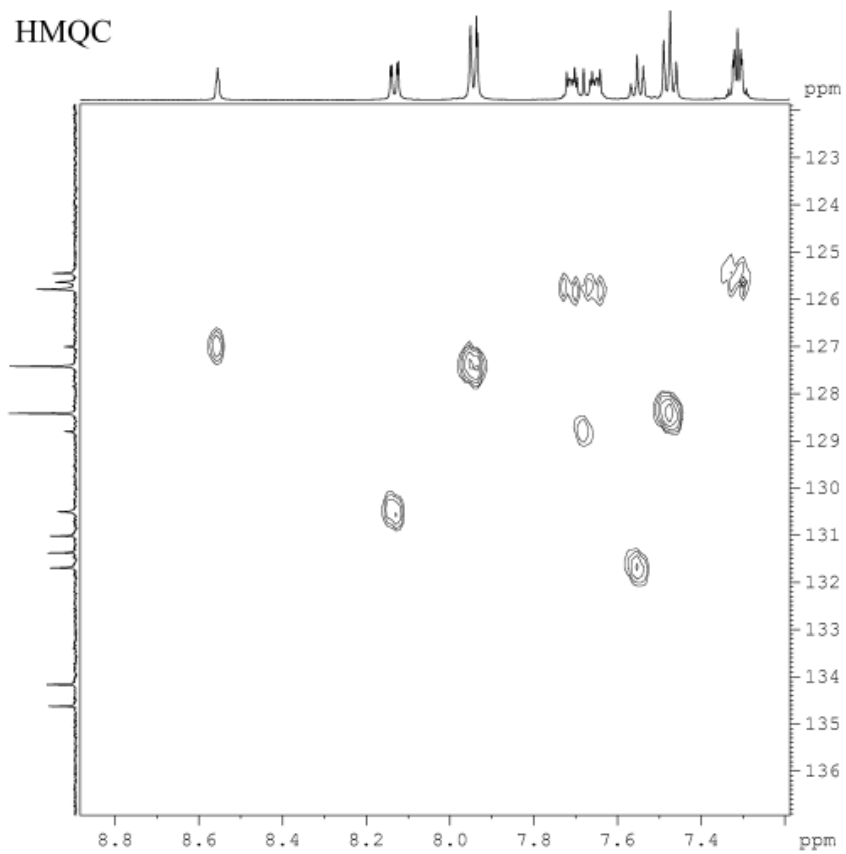
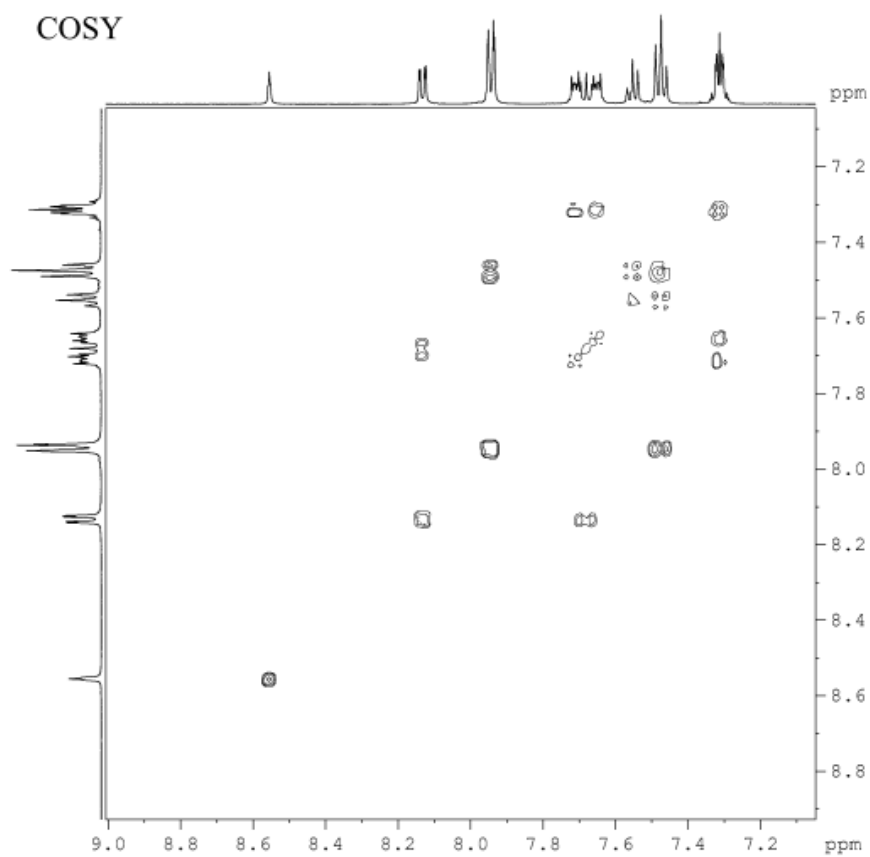
LIITE 3: Bentseenifoldameerin 2 NMR-spektrit

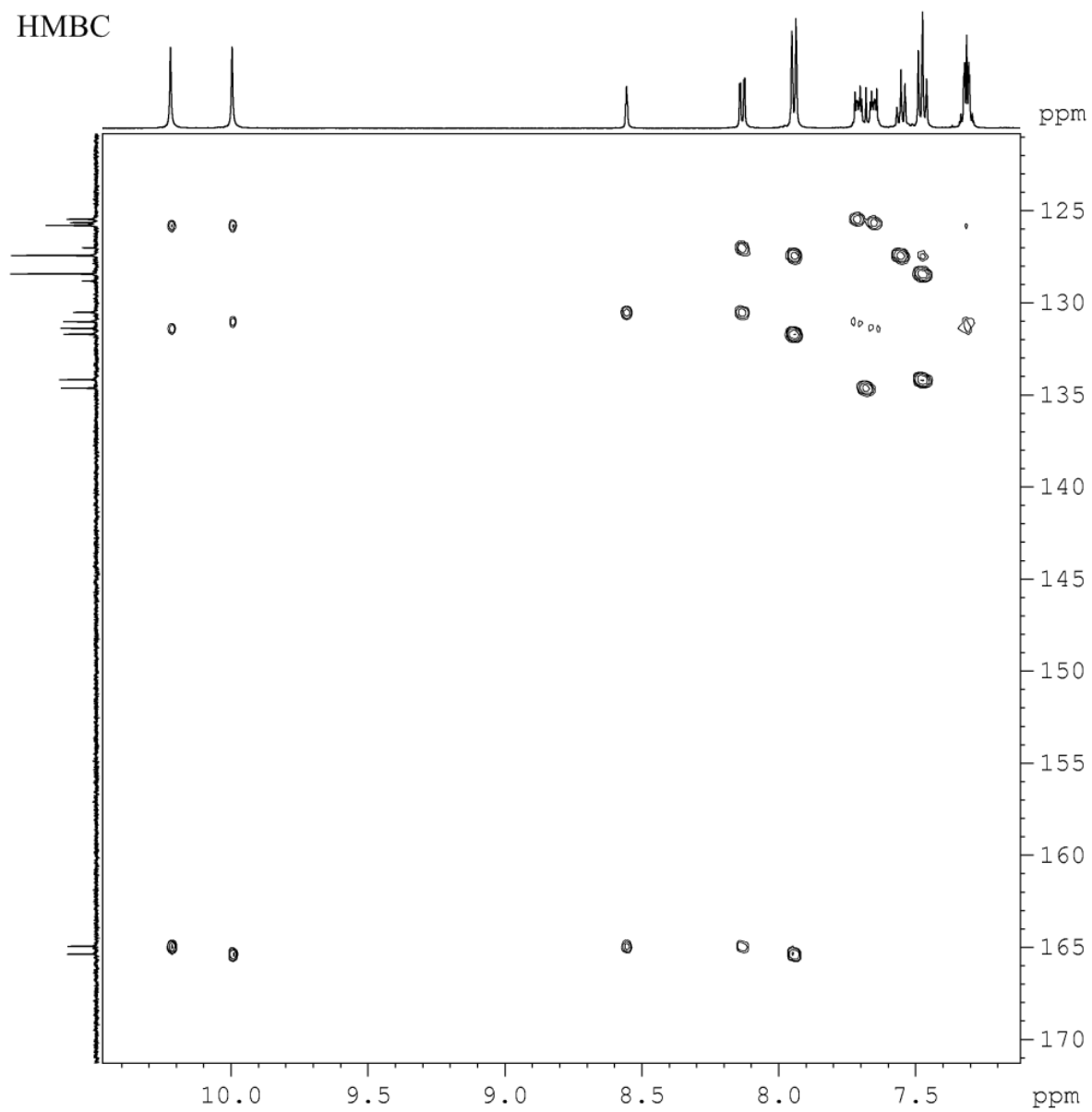
^1H NMR-spektrin levitys, 7.2–8.7 ppm, ^{13}C NMR-spektri sekä ^{13}C -spektri, josta levitetty alue 125–135 ppm. Lisäksi COSY, HMQC ja HMBC 2D-spektrit edellä mainitussa järjestyksessä levitettyinä näkyviin alueet, joissa näkyy korrelointia.





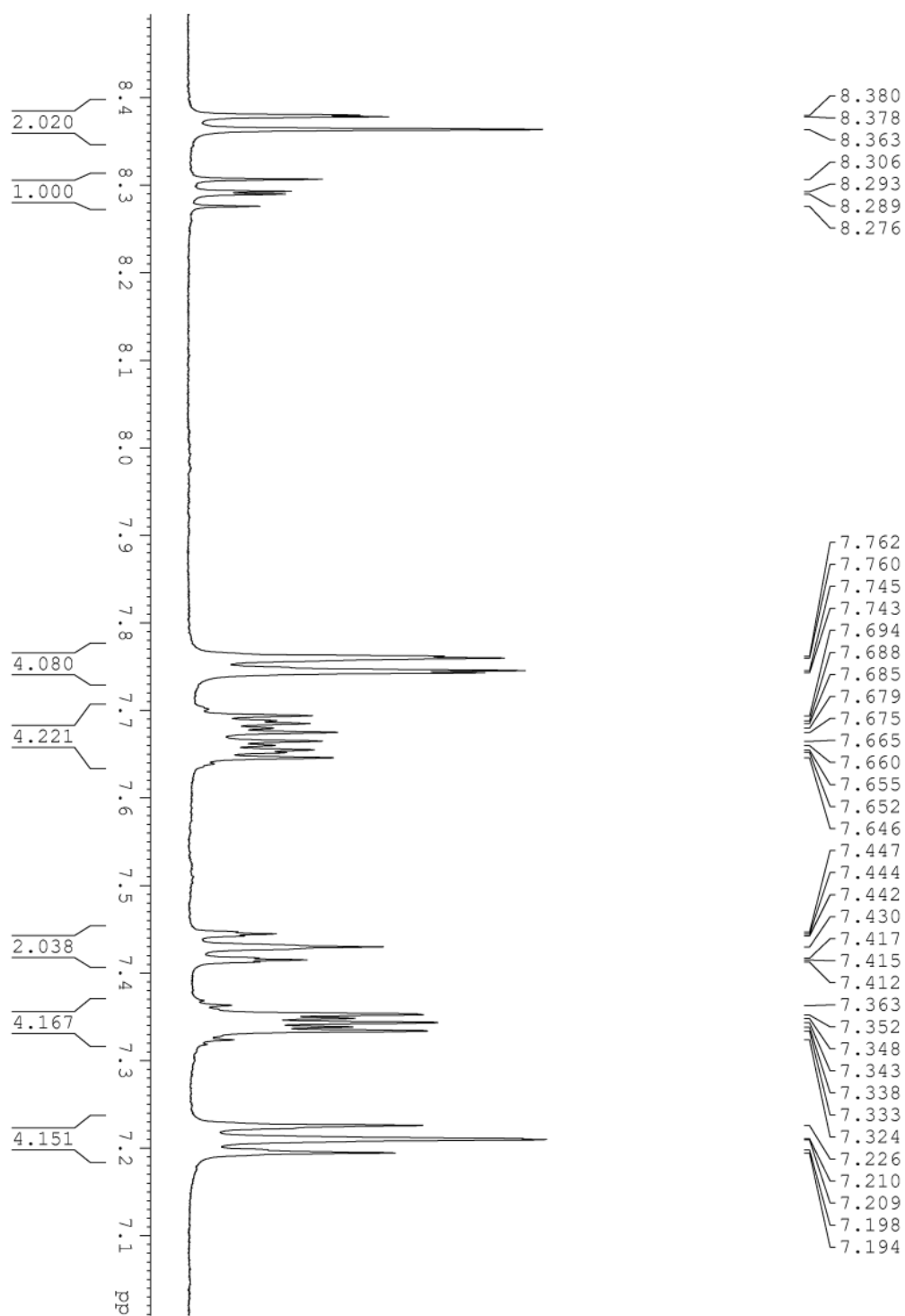


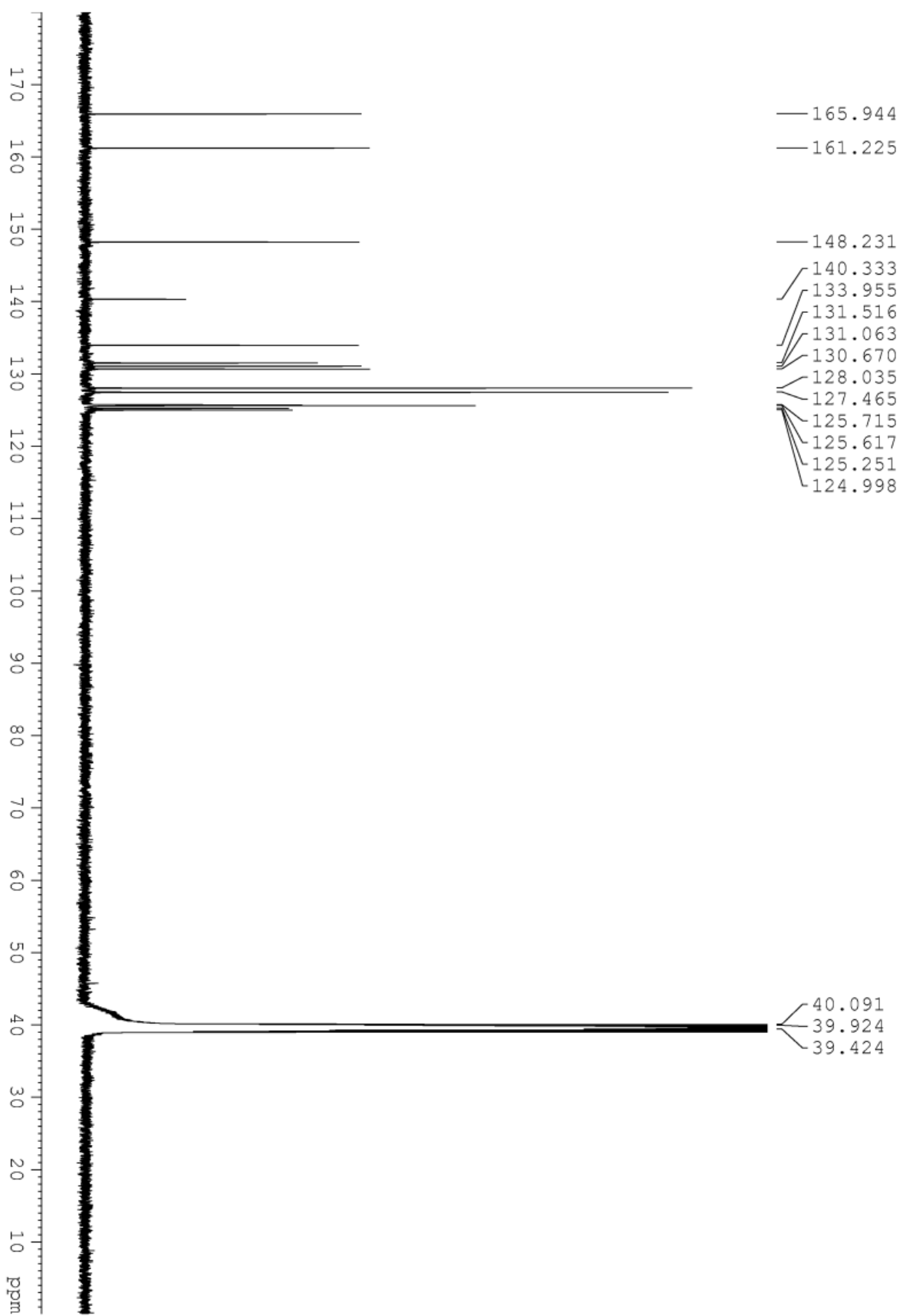


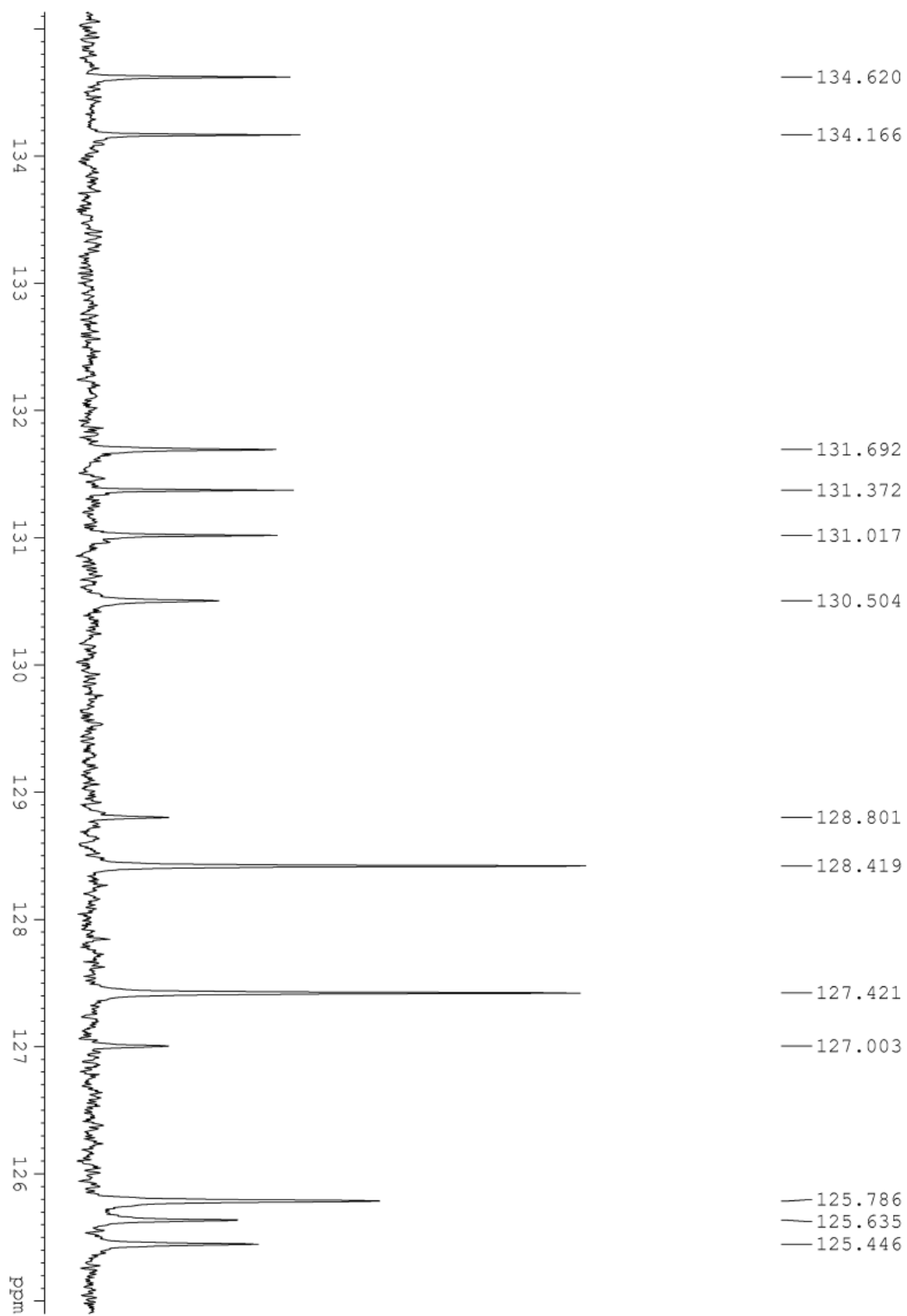


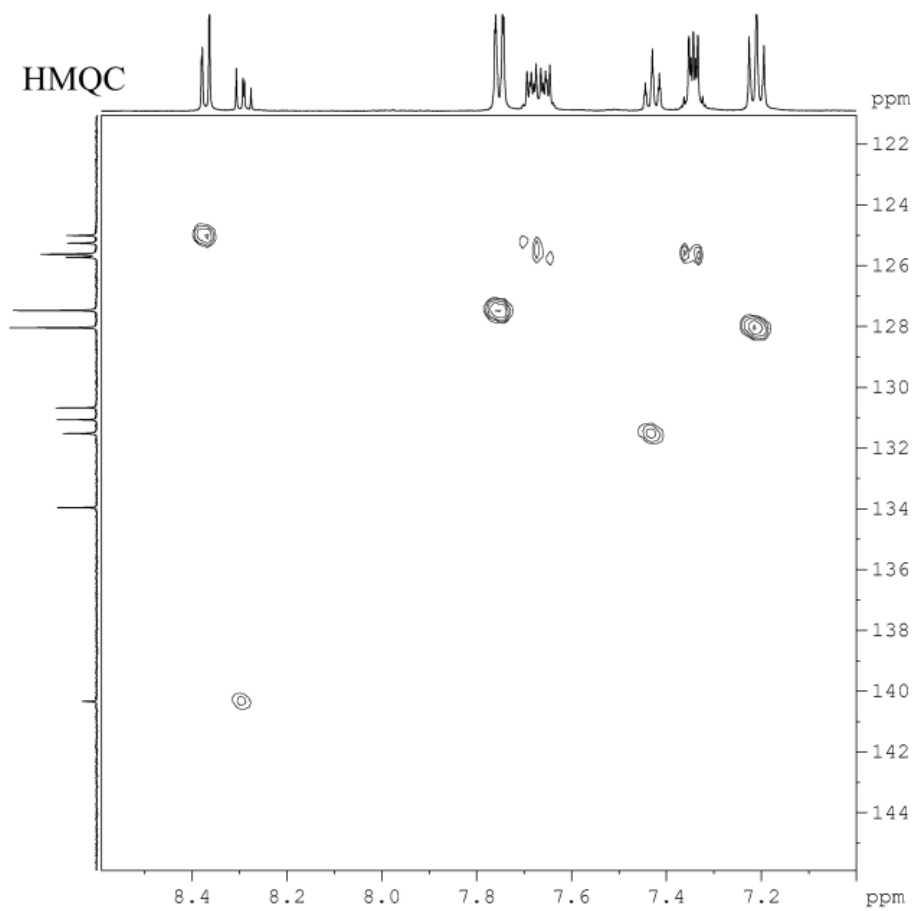
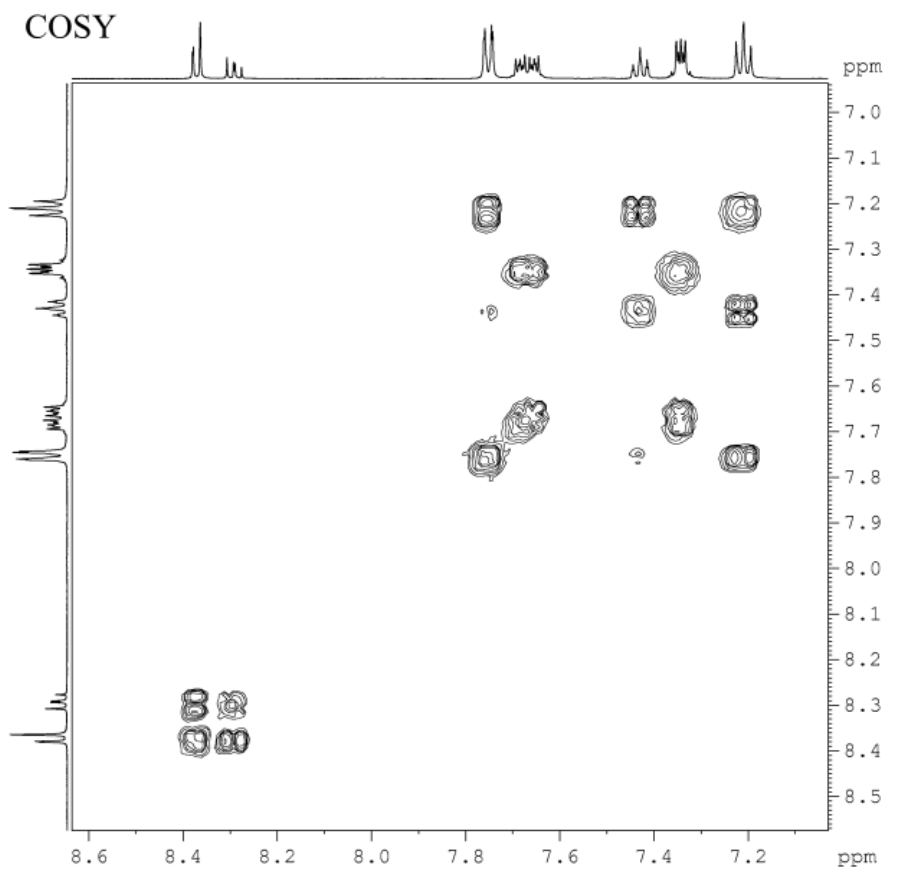
LIITE 4: Pyridiinifoldameerin 3 NMR-spektrit

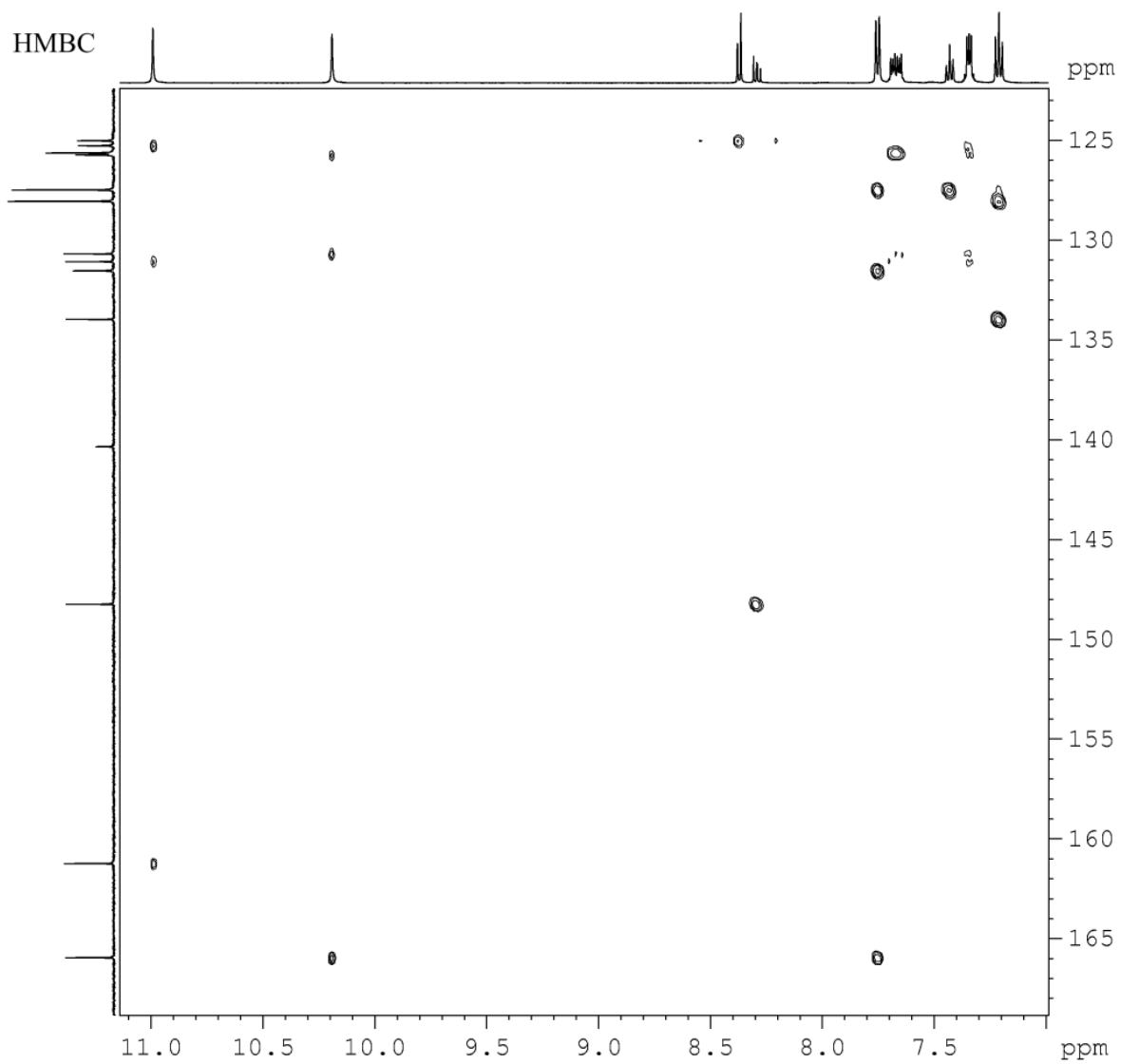
^1H NMR-spektrin levitys, 7.1–8.5 ppm, ^{13}C NMR-spektri sekä ^{13}C -spektri, josta levitetty alue 124–135 ppm. Lisäksi COSY, HMQC ja HMBC 2D-spektrit edellä mainitussa järjestyksessä levitettyinä näkyviin alueet, joissa näkyy korrelointia.





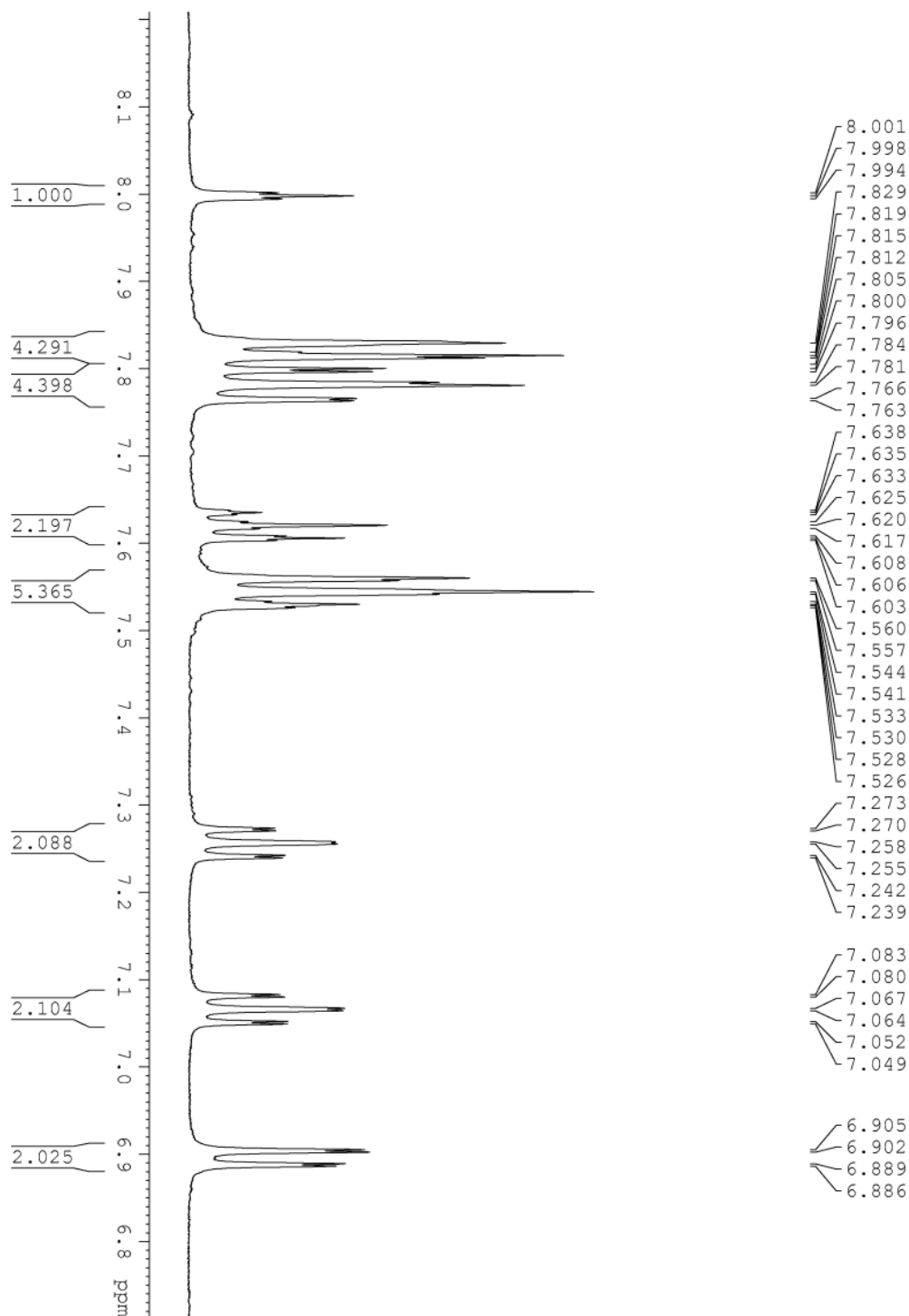


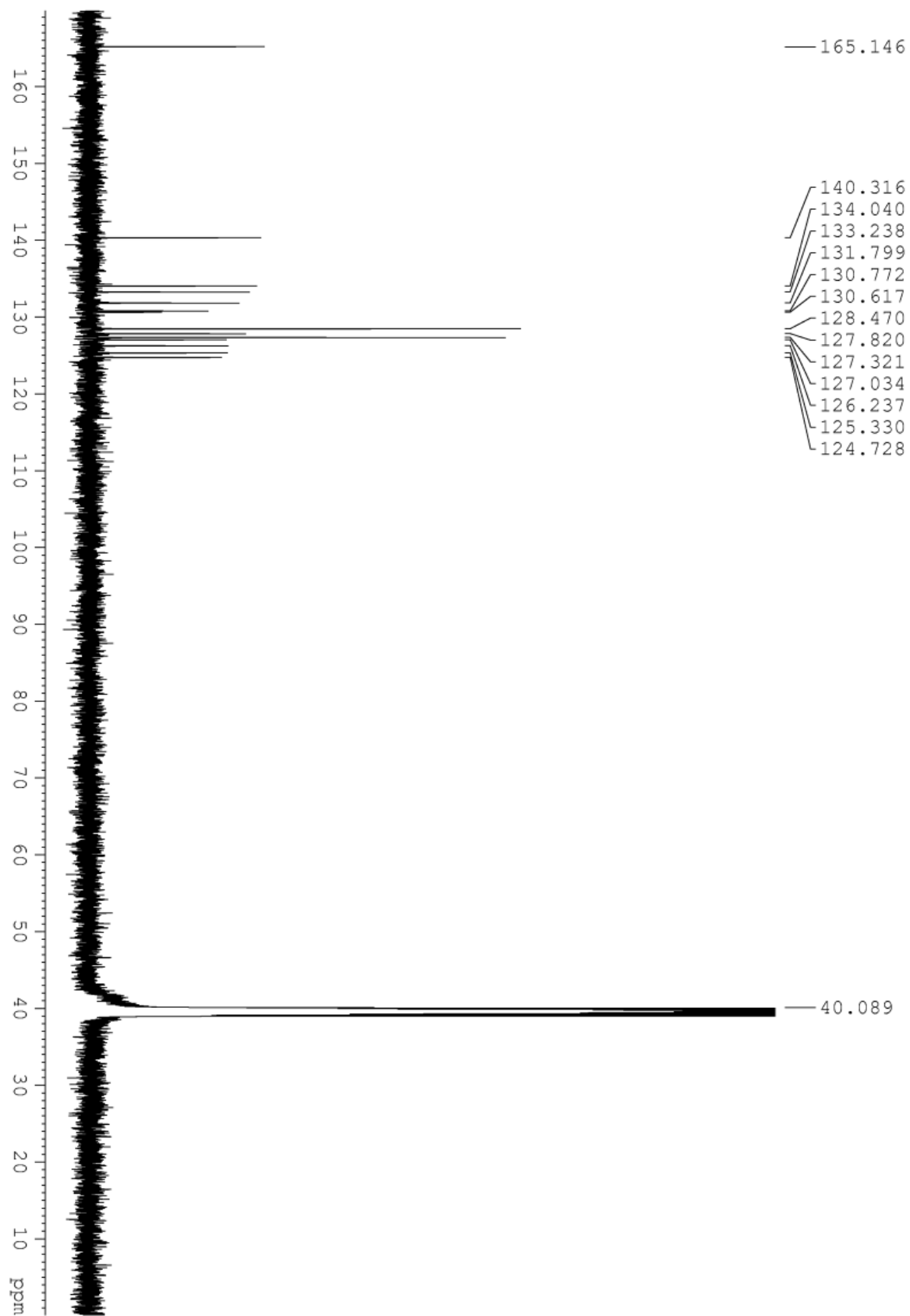


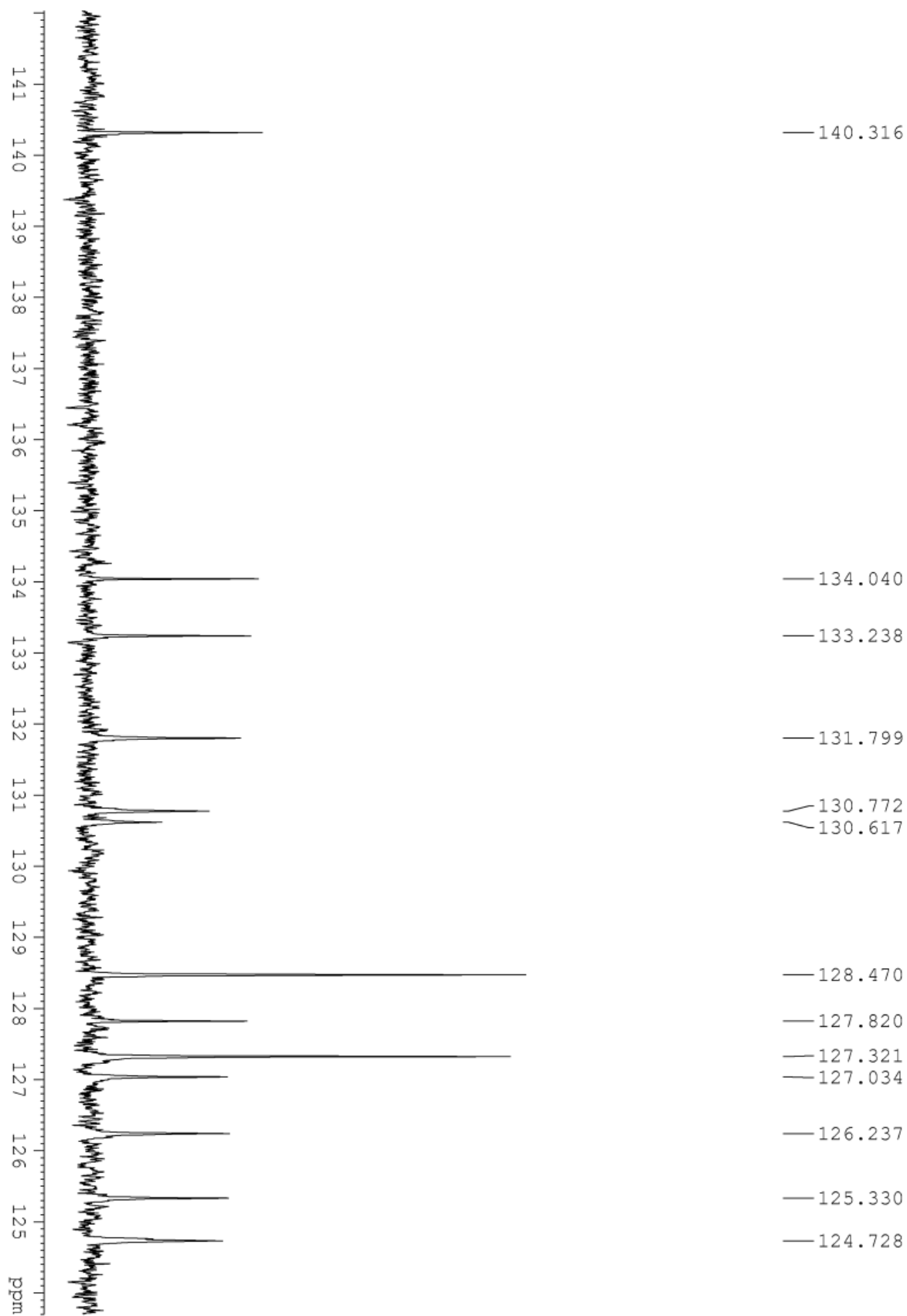


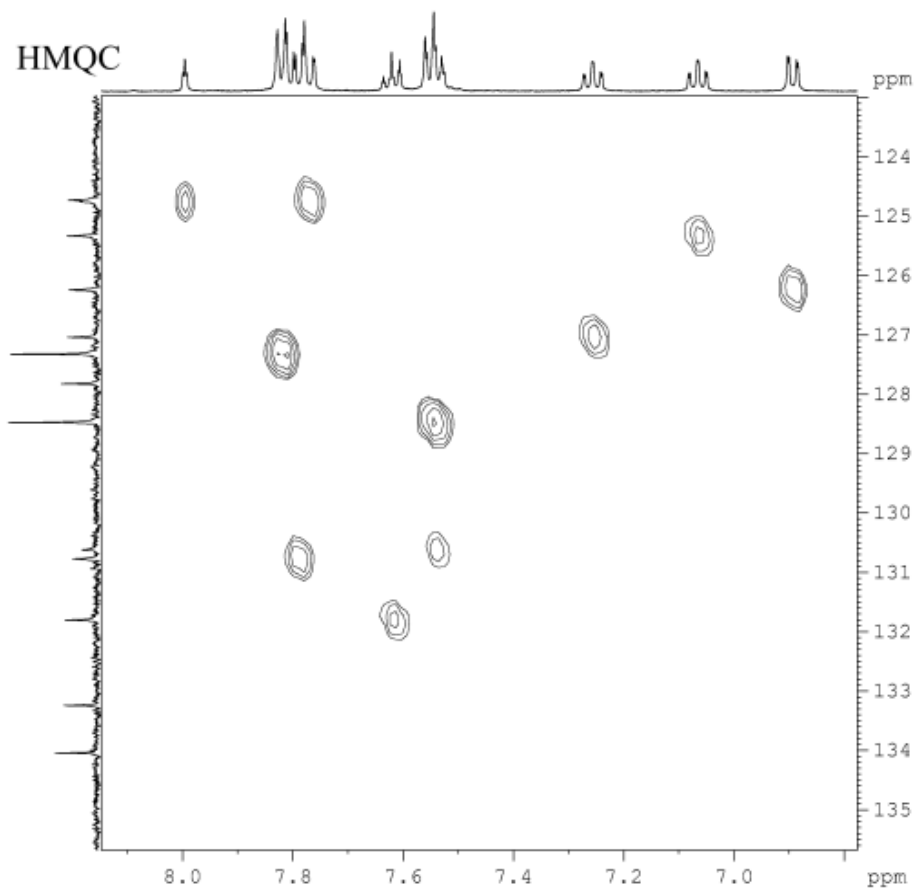
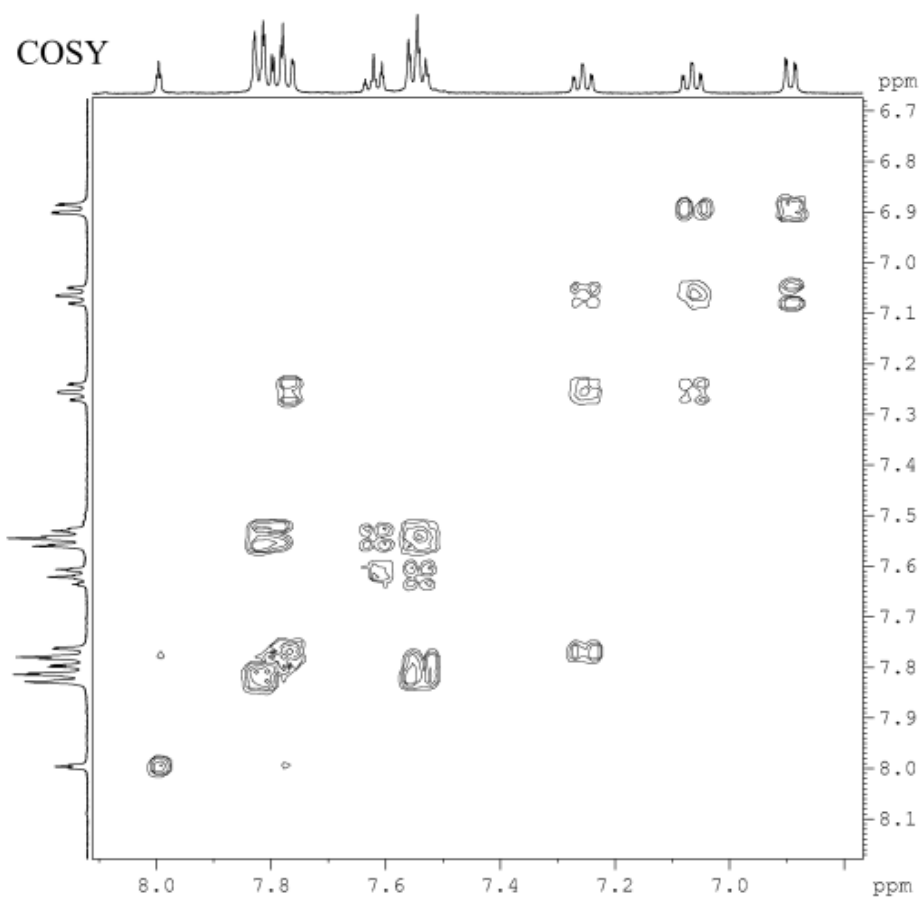
LIITE 5: Sulfonyylifoldameerin 4 NMR-spektrit

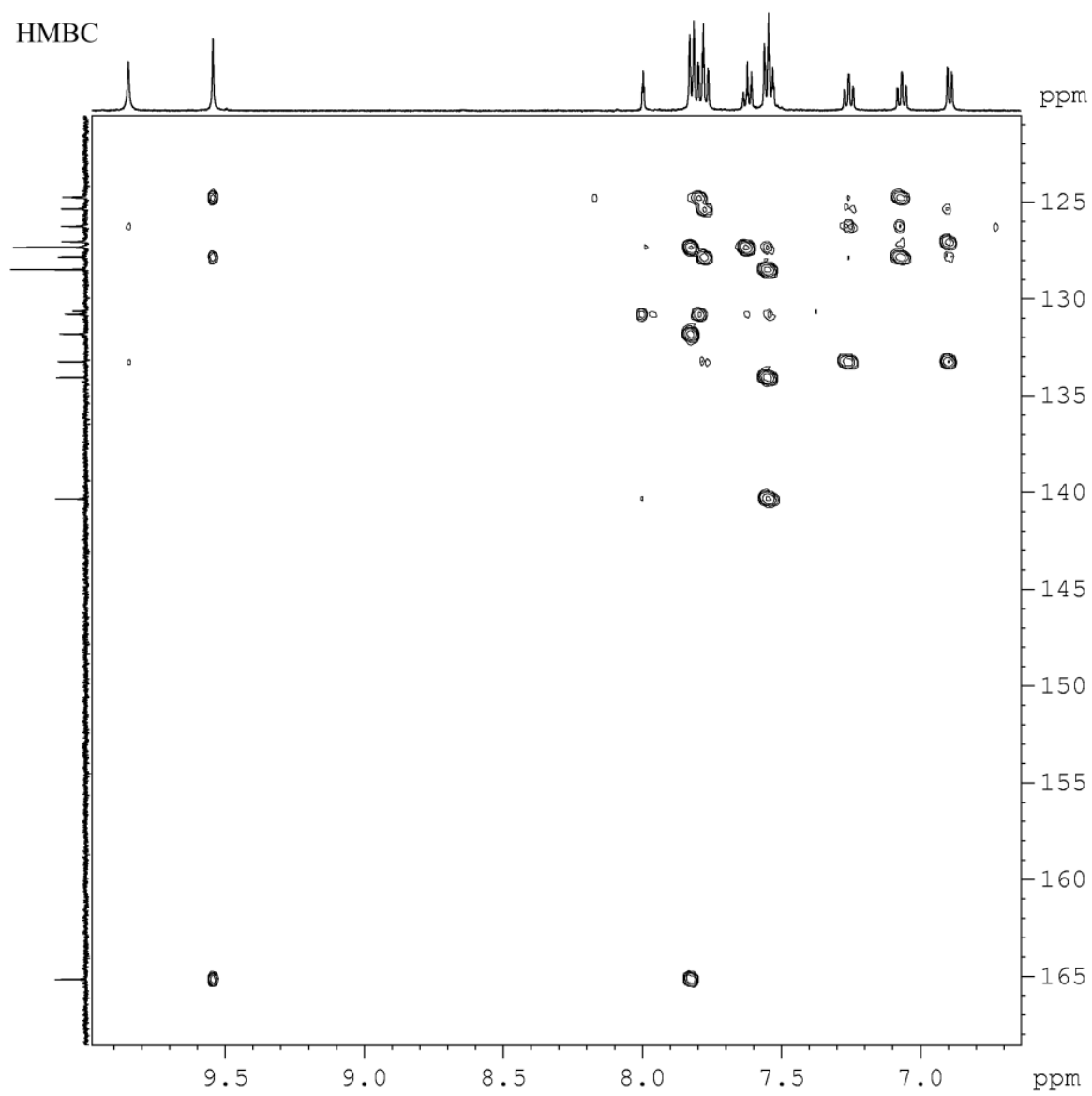
^1H NMR-spektrin levitys, 6.7–8.2 ppm, ^{13}C NMR-spektri sekä ^{13}C -spektri, josta levitetty alue 124–142 ppm. Lisäksi COSY, HMQC ja HMBC 2D-spektrit edellä mainitussa järjestyksessä levitettyinä näkyviin alueet, joissa näkyy korrelointia.

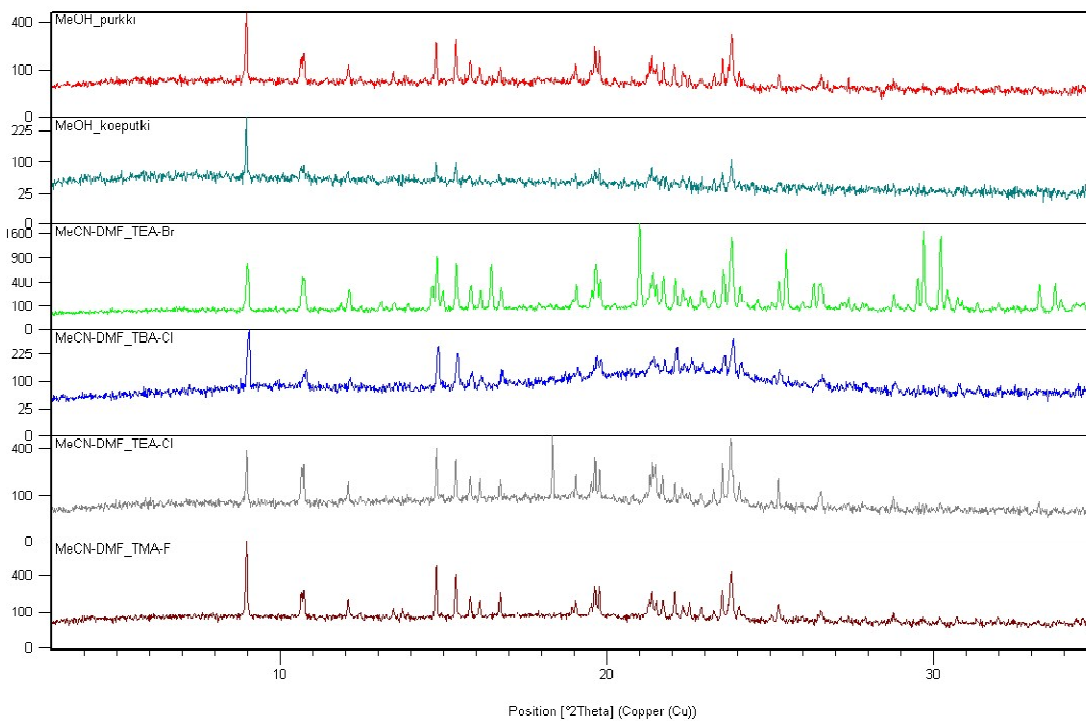
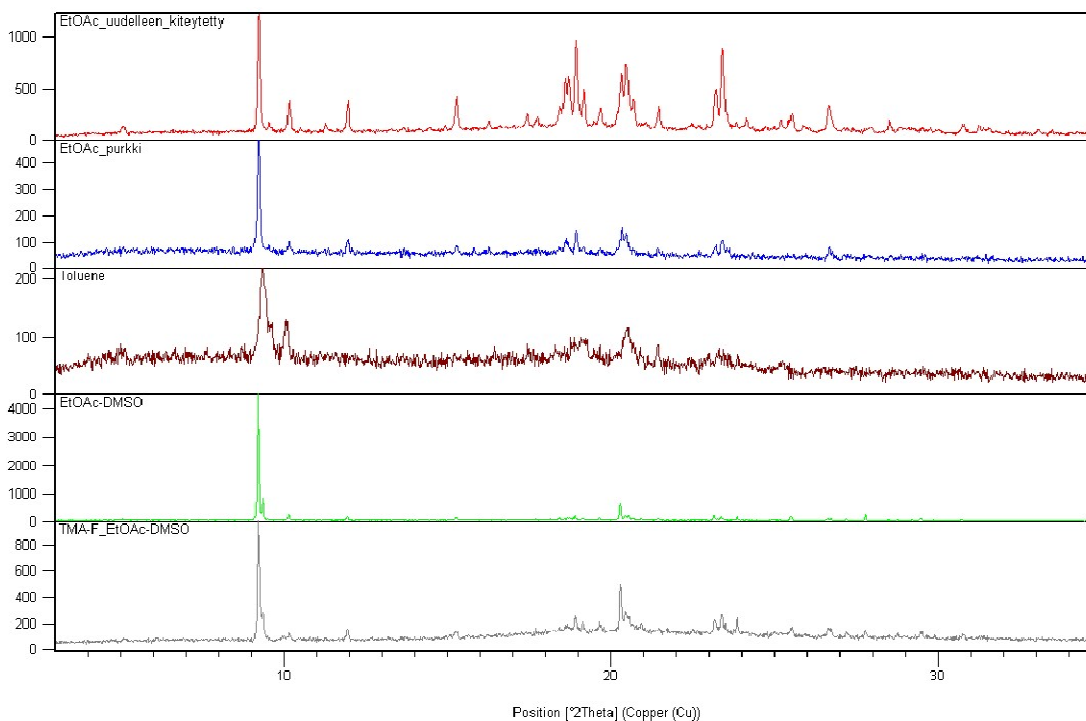




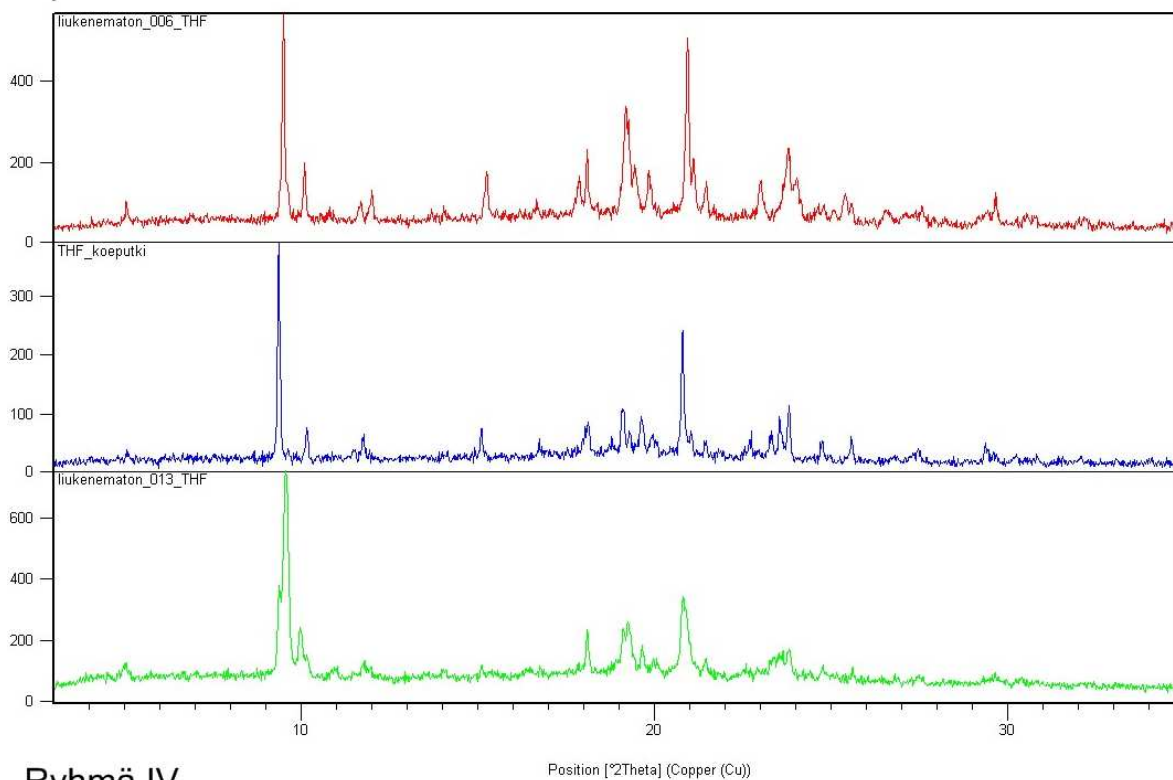




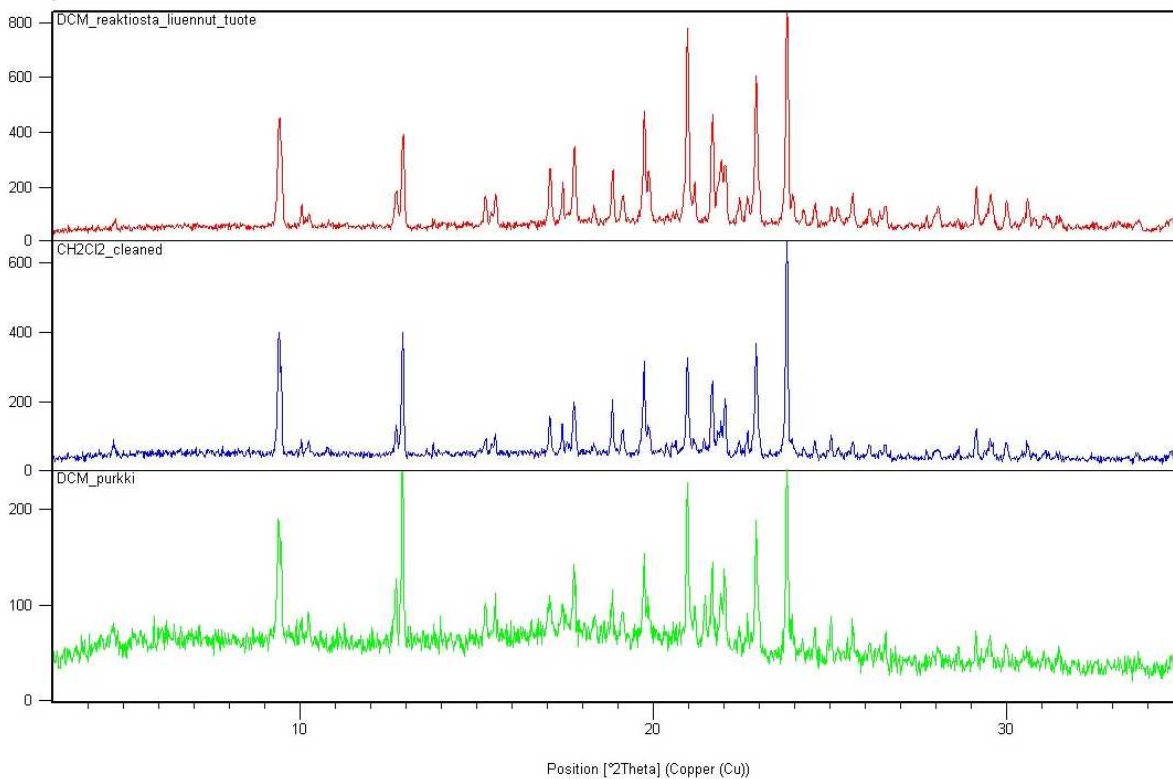


LIITE 6: Pulveridiffraktiomittaukset.Ryhmät I-V bentseenifoldameeri **2**. Muodot I ja II pyridiinifoldameeri **3**.**Ryhmä I****Ryhmä II**

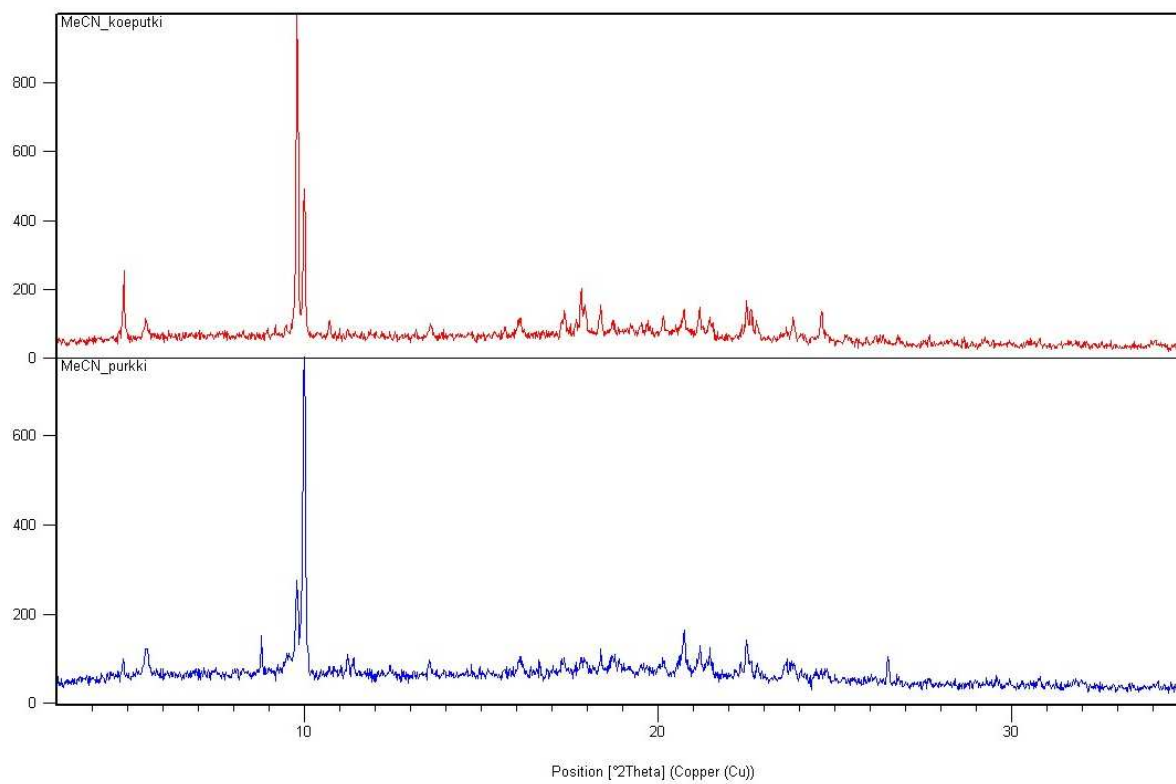
Ryhmä III



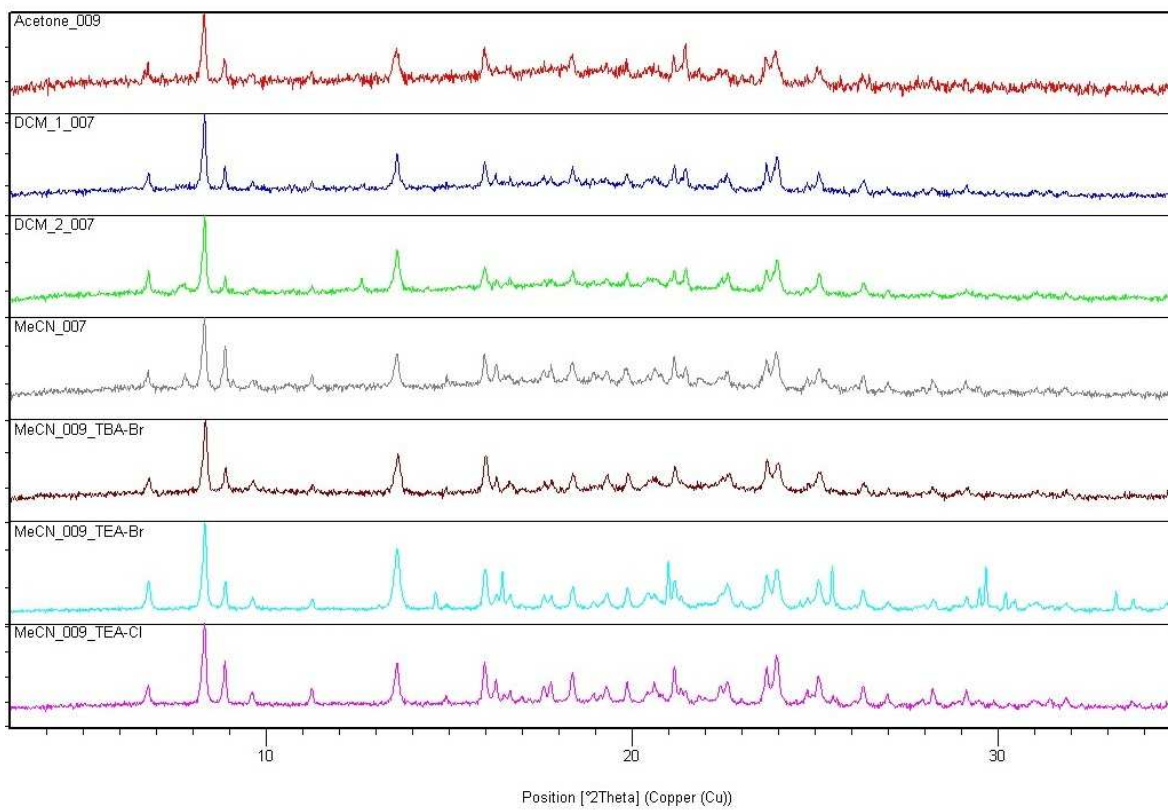
Ryhmä IV



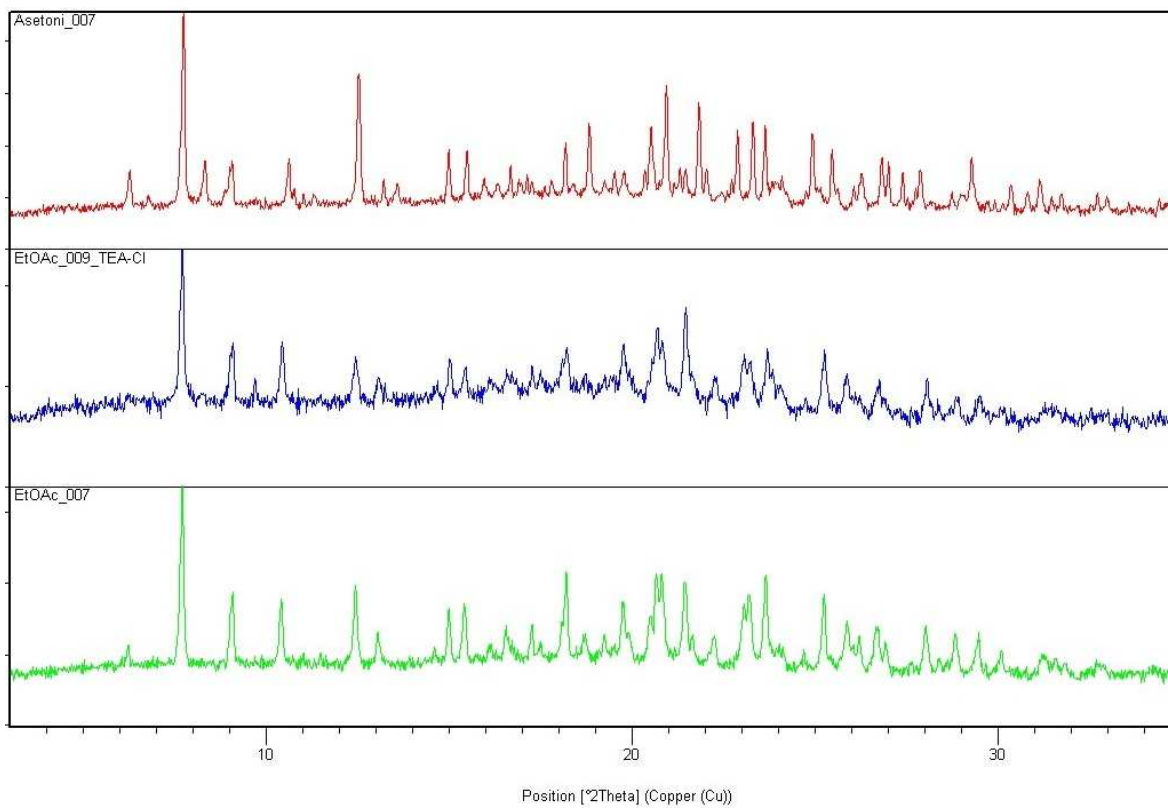
Ryhmä V



Muoto I



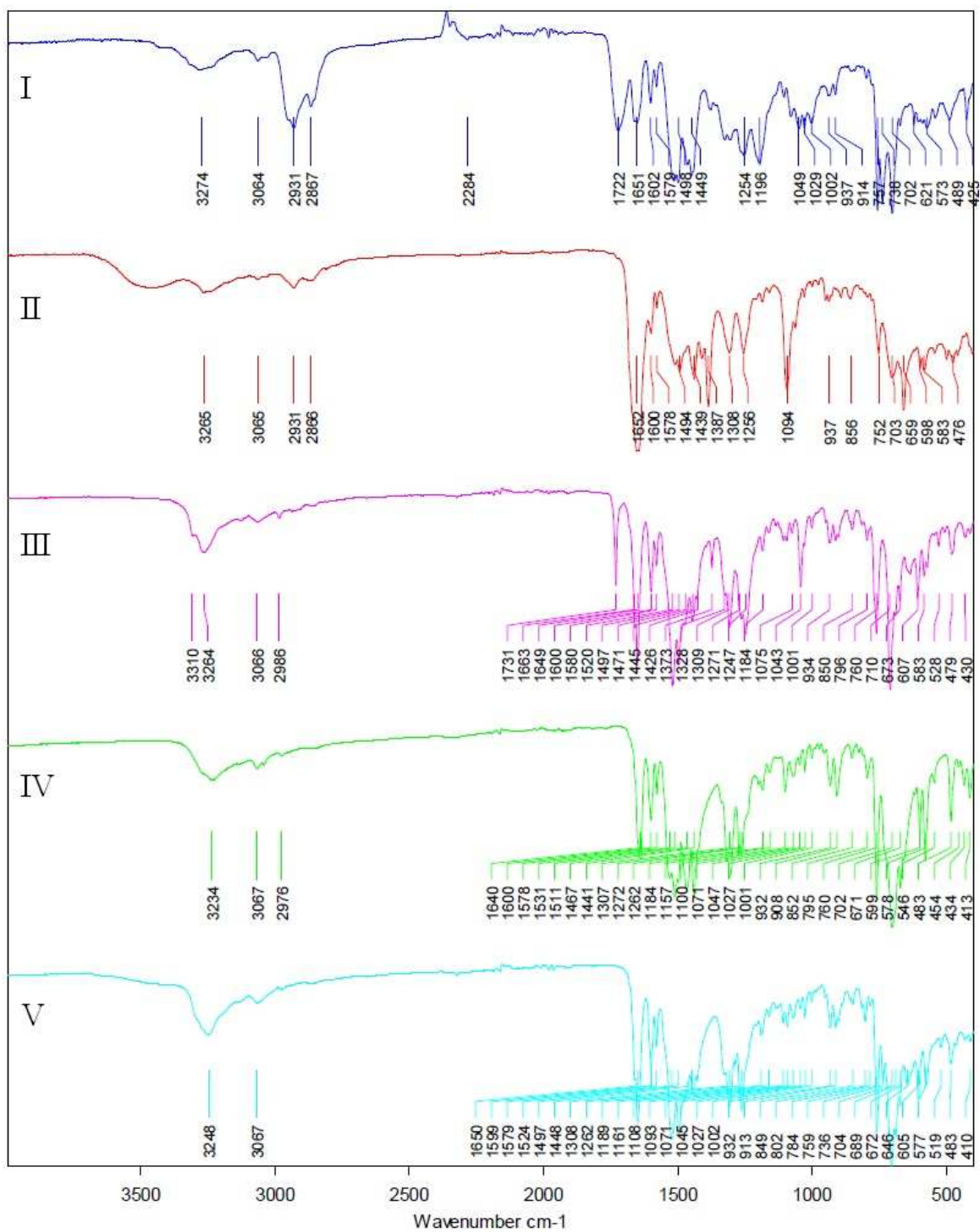
Muoto II



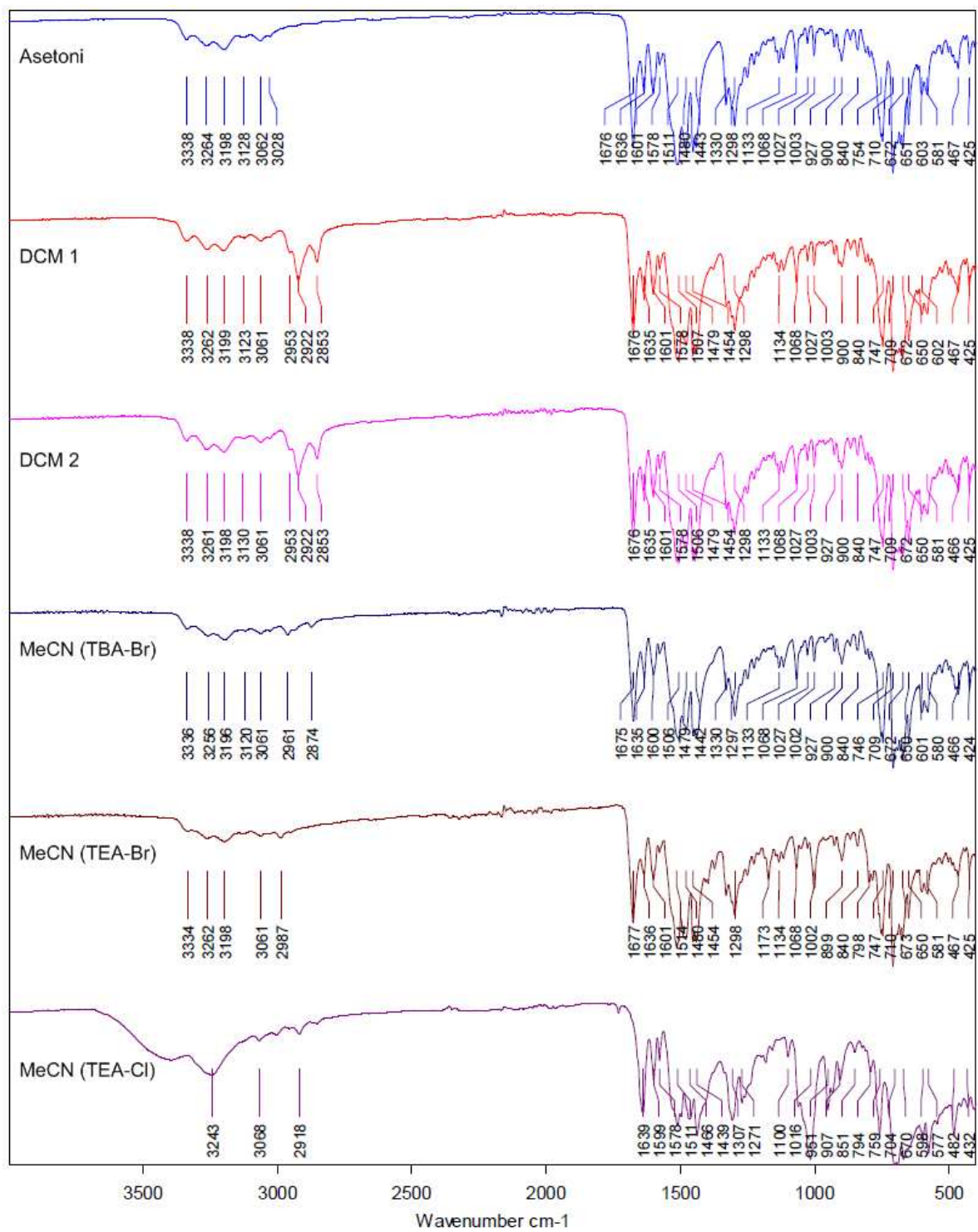
LIITE 7: ATR-IR-mittaukset

bentseenifoldameerin **2** ryhmien I-V esimerkit, pyridiinifoldameerin **3** muodot I-III ja Sulfonyylifoldameeri.

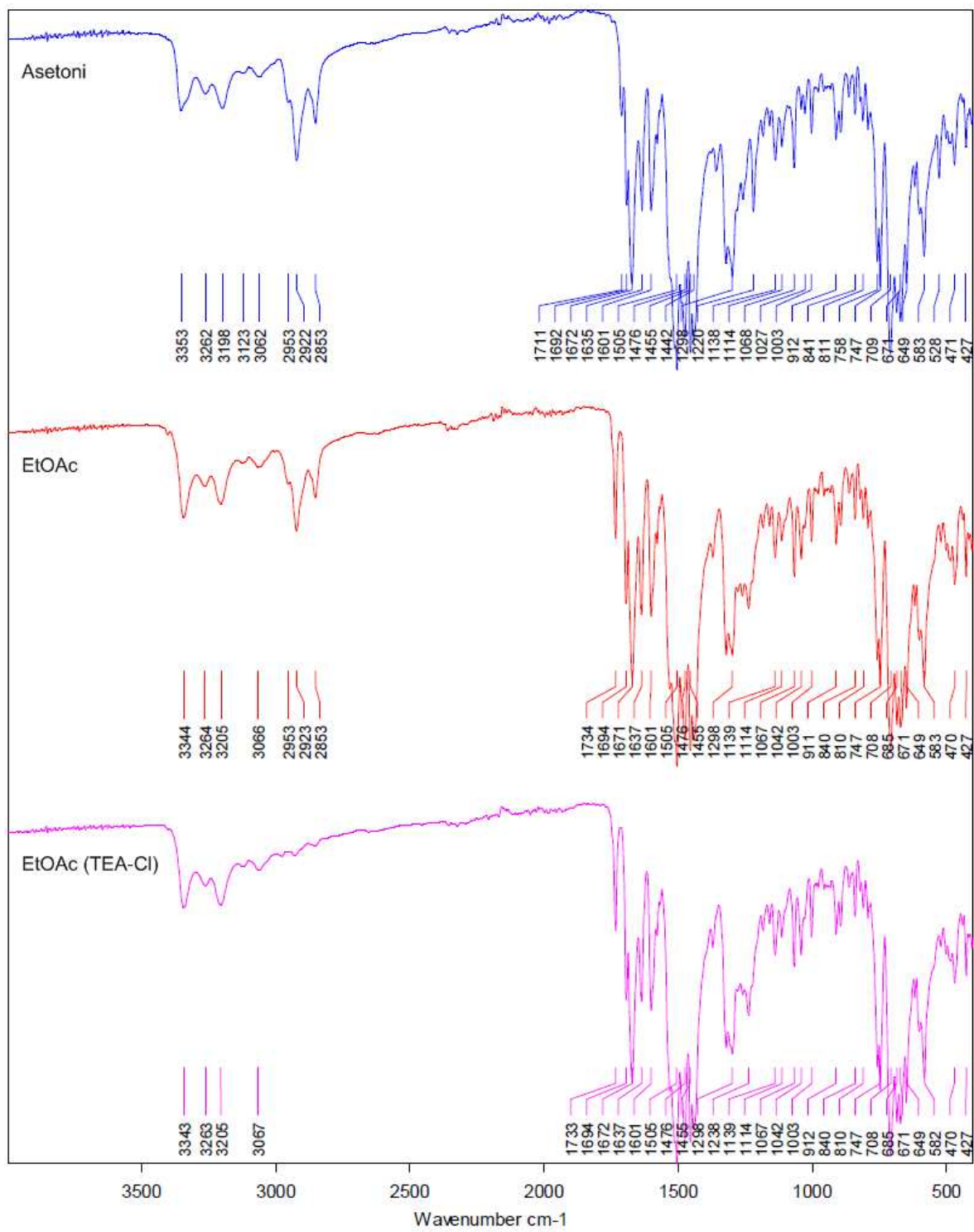
Ryhmät I-V



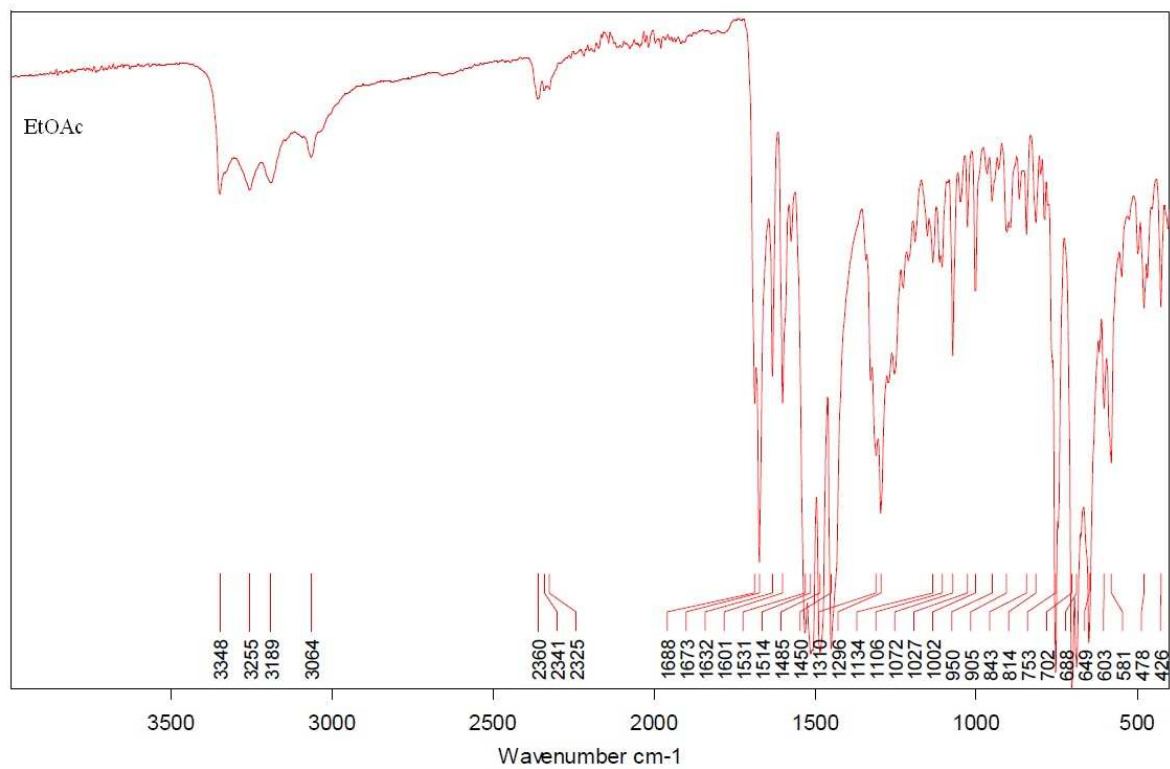
Muoto I:



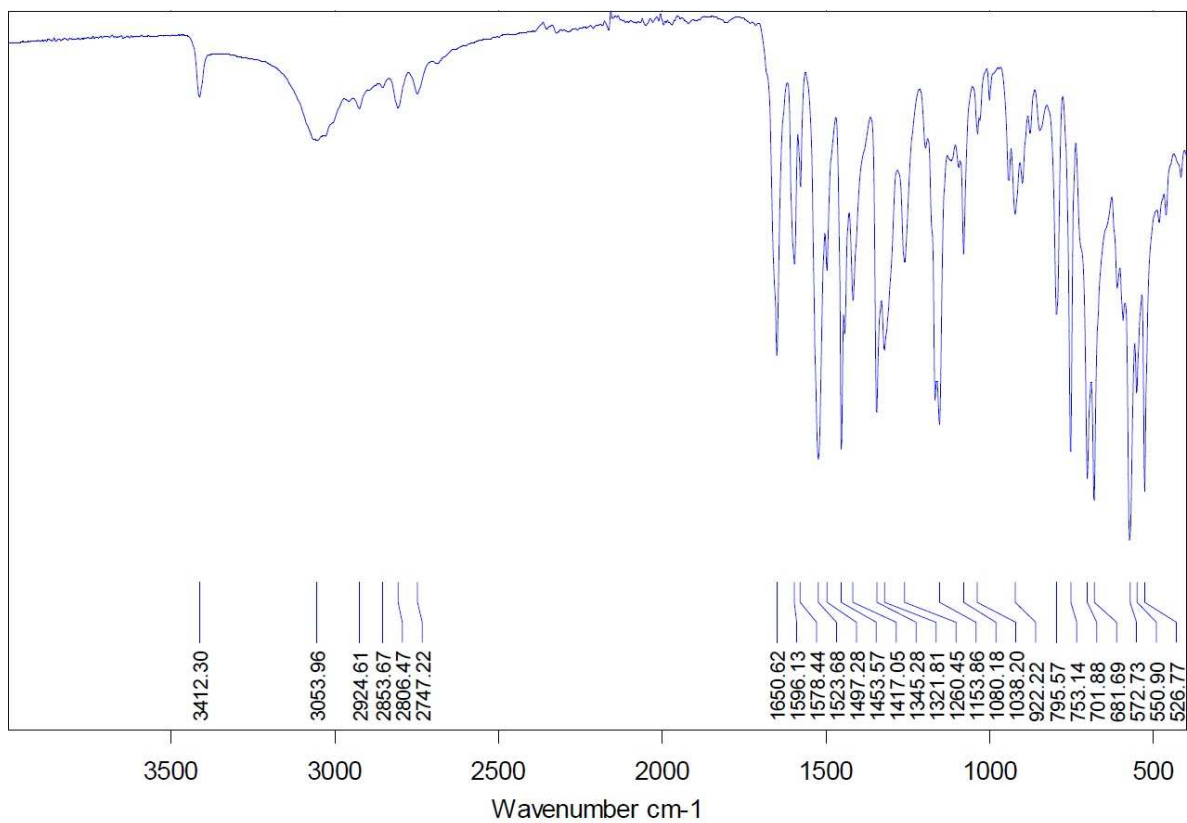
Muoto II



Muoto III



Sulfonyylifoldameeri



LIITE 8: Yksikideröntgendiffraktio mittaukset***N*¹,*N*³-bis(2-bentsamidofenyli)bentseeni-1,3-dikarboksamidi (2) DMSO:EtOAc**

Empirical formula	C ₃₆ H ₃₂ N ₄ O ₅ S	
Formula weight	632.72	
Temperature	173(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 8.8314(6) Å	α = 84.510(3)°.
	b = 9.6066(6) Å	β = 85.319(4)°.
	c = 18.712(2) Å	γ = 81.510(5)°.
Volume	1559.3(2) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	1.348 Mg/m ³	
Absorption coefficient	1.339 mm ⁻¹	
F(000)	664	
Crystal size	0.10 x 0.06 x 0.02 mm ³	
Theta range for data collection	4.67 to 65.54°.	
Index ranges	0 ≤ h ≤ 10, -10 ≤ k ≤ 10, -21 ≤ l ≤ 22	
Reflections collected	3779	
Independent reflections	3779 [R(int) = 0.0000]	
Completeness to theta = 65.54°	70.1 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9737 and 0.8777	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	3779 / 49 / 439	
Goodness-of-fit on F ²	1.078	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.1013, wR2 = 0.2139	
R indices (all data)	R1 = 0.1938, wR2 = 0.2709	
Largest diff. peak and hole	0.321 and -0.505 e.Å ⁻³	

***N*¹,*N*³-bis(2-bentsamidofenyli)bentseeni-1,3-dikarboksamidi:TBA-F DMF:MeCN**

Empirical formula	C ₅₃ H ₆₉ F N ₆ O ₅
Formula weight	889.14
Temperature	173(2) K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 ₁
Unit cell dimensions	a = 13.9902(3) Å α = 90°. b = 34.584(1) Å β = 102.757(2)°. c = 21.6729(5) Å γ = 90°.
Volume	10227.4(4) Å ³
Z	8
Density (calculated)	1.155 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.615 mm ⁻¹
F(000)	3824
Crystal size	0.20 x 0.08 x 0.06 mm ³
Theta range for data collection	2.09 to 66.80°.
Index ranges	-16 ≤ h ≤ 16, -39 ≤ k ≤ 38, -25 ≤ l ≤ 24
Reflections collected	28492
Independent reflections	15977 [R(int) = 0.1553]
Completeness to theta = 66.80°	86.4 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.9640 and 0.8868
Refinement method	Full-matrix-block least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	15977 / 1 / 2312
Goodness-of-fit on F ²	1.033
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0937, wR2 = 0.1782
R indices (all data)	R1 = 0.2223, wR2 = 0.2372
Absolute structure parameter	0.4(4)
Largest diff. peak and hole	0.507 and -0.284 e.Å ⁻³

***N*²,*N*⁶-bis(2-bentsamidofenyli)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (3) MeOH 1**

Empirical formula	C ₃₃ H ₂₅ N ₅ O ₄
Formula weight	555.58
Temperature	173(2) K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	monoclinic
Space group	P2 ₁ /c
Unit cell dimensions	a = 12.8021(5) Å α = 90°. b = 16.5582(7) Å β = 104.228(3)°. c = 14.0323(6) Å γ = 90°.
Volume	2883.3(2) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.280 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.703 mm ⁻¹
F(000)	1160
Crystal size	0.16 x 0.10 x 0.04 mm ³
Theta range for data collection	4.19 to 66.30°.
Index ranges	-14 ≤ h ≤ 14, -17 ≤ k ≤ 18, -15 ≤ l ≤ 15
Reflections collected	7199
Independent reflections	4193 [R(int) = 0.0966]
Completeness to theta = 66.30°	82.8 %
Max. and min. transmission	0.9724 and 0.8959
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	4193 / 6 / 425
Goodness-of-fit on F ²	1.063
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0727, wR2 = 0.1485
R indices (all data)	R1 = 0.1546, wR2 = 0.1874
Largest diff. peak and hole	0.262 and -0.225 e.Å ⁻³

***N*²,*N*⁶-bis(2-bentsamidofenyli)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (3) MeOH 2**

Empirical formula	C ₃₄ H ₂₉ N ₅ O ₅	
Formula weight	587.62	
Temperature	173(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P21/c	
Unit cell dimensions	a = 12.7568(5) Å	α = 90°.
	b = 16.6186(7) Å	β = 124.487(3)°.
	c = 16.5266(7) Å	γ = 90°.
Volume	2887.9(2) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.352 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.756 mm ⁻¹	
F(000)	1232	
Crystal size	0.10 x 0.10 x 0.04 mm ³	
Theta range for data collection	4.20 to 67.09°.	
Index ranges	-14 ≤ h ≤ 14, -18 ≤ k ≤ 19, -19 ≤ l ≤ 19	
Reflections collected	7582	
Independent reflections	4714 [R(int) = 0.1038]	
Completeness to theta = 67.09°	91.8 %	
Max. and min. transmission	0.9704 and 0.9282	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	4714 / 4 / 421	
Goodness-of-fit on F ²	1.068	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0732, wR2 = 0.1622	
R indices (all data)	R1 = 0.1302, wR2 = 0.1939	
Largest diff. peak and hole	0.352 and -0.257 e.Å ⁻³	

***N*²,*N*⁶-bis(2-bentsamidofenyli)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (3) EtOH**

Empirical formula	C ₃₅ H ₃₁ N ₅ O ₅	
Formula weight	601.65	
Temperature	173(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P21/c	
Unit cell dimensions	a = 13.2559(4) Å	α = 90°.
	b = 16.6185(6) Å	β = 126.354(2)°.
	c = 16.8199(6) Å	γ = 90°.
Volume	2984.1(2) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.339 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.744 mm ⁻¹	
F(000)	1264	
Crystal size	0.26 x 0.18 x 0.05 mm ³	
Theta range for data collection	4.21 to 66.88°.	
Index ranges	-15 ≤ h ≤ 15, -17 ≤ k ≤ 19, -20 ≤ l ≤ 20	
Reflections collected	8338	
Independent reflections	5123 [R(int) = 0.0533]	
Completeness to theta = 66.88°	96.5 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9637 and 0.8300	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	5123 / 0 / 422	
Goodness-of-fit on F ²	1.028	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0551, wR2 = 0.1231	
R indices (all data)	R1 = 0.0892, wR2 = 0.1432	
Largest diff. peak and hole	0.220 and -0.239 e.Å ⁻³	

***N*²,*N*⁶-bis(2-bentsamidofenyli)pyridiini-2,6-dikarboksamidi (3) EtOAc**

Empirical formula	C ₃₃ H ₂₅ N ₅ O ₄	
Formula weight	555.58	
Temperature	173(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell dimensions	a = 10.5379(7) Å	α = 78.559(3)°.
	b = 11.5380(7) Å	β = 74.708(3)°.
	c = 12.1818(7) Å	γ = 77.753(4)°.
Volume	1380.2(2) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	1.337 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.734 mm ⁻¹	
F(000)	580	
Crystal size	0.12 x 0.10 x 0.10 mm ³	
Theta range for data collection	3.81 to 67.02°.	
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 12, -13 ≤ k ≤ 13, -14 ≤ l ≤ 14	
Reflections collected	6344	
Independent reflections	4582 [R(int) = 0.0826]	
Completeness to theta = 67.02°	92.8 %	
Max. and min. transmission	0.9302 and 0.9171	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	4582 / 0 / 428	
Goodness-of-fit on F ²	1.041	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0603, wR2 = 0.1393	
R indices (all data)	R1 = 0.0982, wR2 = 0.1622	
Extinction coefficient	0.0039(5)	
Largest diff. peak and hole	0.237 and -0.237 e.Å ⁻³	

***N*¹,*N*³-bis(2-bentsamidofenyli)bentseeni-1,3-disulfonamidi (4) EtOAc:Hex**

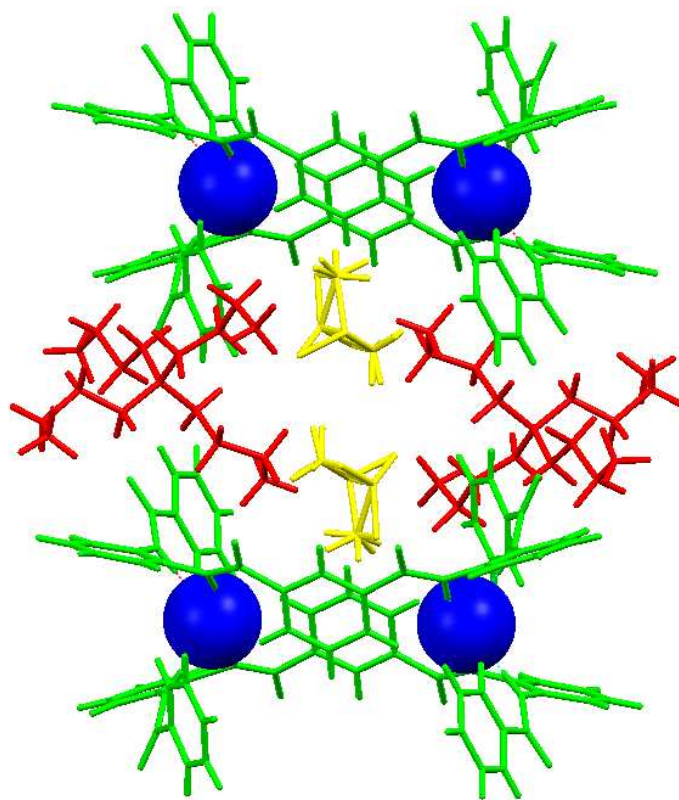
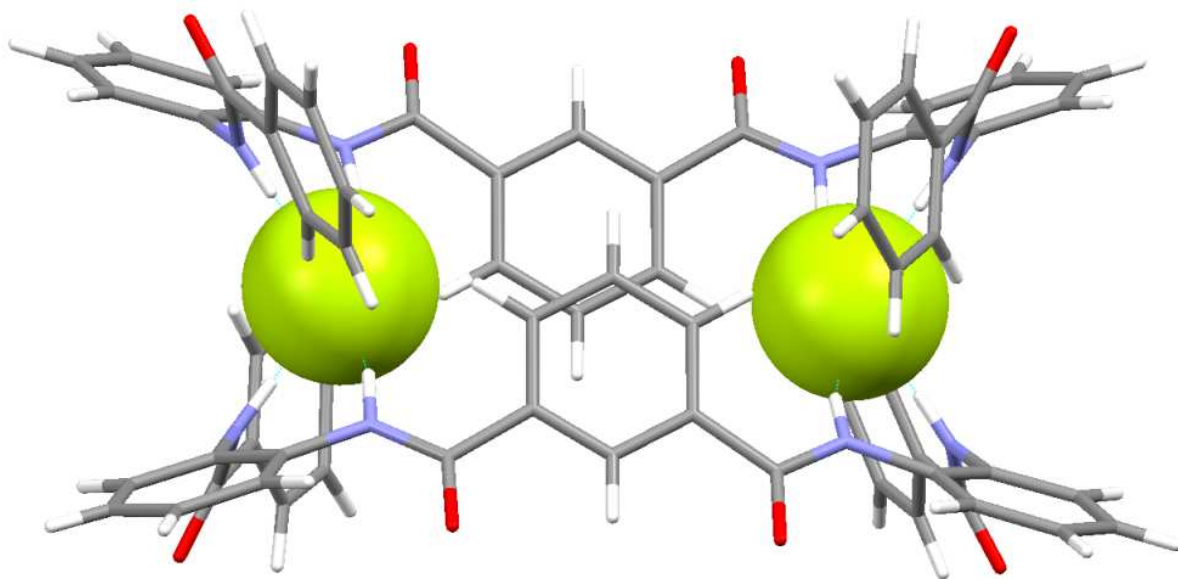
Empirical formula	C ₃₂ H ₂₆ N ₄ O ₆ S ₂
Formula weight	626.69
Temperature	173(2) K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	C2/c
Unit cell dimensions	a = 24.5672(3) Å α = 90°. b = 6.9795(2) Å β = 106.693(3)°. c = 21.0104(3) Å γ = 90°.
Volume	3450.8(2) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.206 Mg/m ³
Absorption coefficient	1.779 mm ⁻¹
F(000)	1304
Crystal size	0.16 x 0.04 x 0.04 mm ³
Theta range for data collection	3.76 to 66.73°.
Index ranges	-27 ≤ h ≤ 28, -8 ≤ k ≤ 6, -24 ≤ l ≤ 23
Reflections collected	3890
Independent reflections	2702 [R(int) = 0.0668]
Completeness to theta = 66.73°	88.0 %
Max. and min. transmission	0.9322 and 0.7639
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2702 / 0 / 200
Goodness-of-fit on F ²	1.065
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0608, wR2 = 0.1505
R indices (all data)	R1 = 0.0985, wR2 = 0.1660
Largest diff. peak and hole	0.294 and -0.266 e.Å ⁻³

LIITE 9: Bentseenifoldameerin 2 ja TBA-F:n julkaisematon rakenne

Julkaisemattoman rakenteen mittauksen ja hienonnuksen tiedot, sekä rakenteen kuva ja pakkautuminen. J. Ollikka, K. Salorinne ja M. Nissinen.

Table 1. Crystal data and structure refinement for ksa073.

Identification code	ksa073	
Empirical formula	$C_{52} H_{62} D_6 F N_5 O_5 S$	
Formula weight	900.21	
Temperature	173(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P-1 (No. 2)	
Unit cell dimensions	a = 11.067(1) Å	$\alpha = 109.268(4)^\circ$.
	b = 14.048(2) Å	$\beta = 96.507(4)^\circ$.
	c = 18.393(2) Å	$\gamma = 108.176(5)^\circ$.
Volume	2489.0(5) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	1.201 Mg/m ³	
Absorption coefficient	1.010 mm ⁻¹	
F(000)	960	
Crystal size	0.15 x 0.15 x 0.10 mm ³	
Theta range for data collection	2.62 to 66.02°.	
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 11, -15 ≤ k ≤ 14, -21 ≤ l ≤ 19	
Reflections collected	9125	
Independent reflections	6896 [R(int) = 0.0817]	
Completeness to theta = 66.02°	79.5 %	
Max. and min. transmission	0.9057 and 0.8632	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	6896 / 11 / 597	
Goodness-of-fit on F ²	1.105	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.1249, wR2 = 0.3212	
R indices (all data)	R1 = 0.1959, wR2 = 0.3669	
Largest diff. peak and hole	0.502 and -0.438 e.Å ⁻³	



LIITE 10: NMR-titrauksen tulokset

Bentseenifoldameerin 2 tutkittu siirtymä ennen TBA-F lisäystä oli 8,5504 ppm.

#	Moolisuhde (H:G):	V(3)(μ l):	V(2)(μ l):	c(H)(M):	c(G)(M):	Siirtymä
1	1:0,010417	1		0,007987	8,32E-05	8,5578
2	1:0,020833	2		0,007973	0,000166	8,56505
3	1:0,03125	3		0,00796	0,000249	8,57392
4	1:0,041667	4		0,007947	0,000331	8,58258
5	1:0,052083	5		0,007934	0,000413	8,59154
6	1:0,067708	6,5		0,007914	0,000536	8,60673
7	1:0,083333	8		0,007895	0,000658	8,6217
8	1:0,104167	10		0,007869	0,00082	8,6416
9	1:0,125	12		0,007843	0,00098	8,6622
10	1:0,145833	14		0,007818	0,00114	8,6827
11	1:0,177083	17		0,00778	0,001378	8,7124
12	1:0,208333	20		0,007742	0,001613	8,7417
13	1:0,25		1	0,007729	0,001932	8,7857
14	1:0,291667		2	0,007717	0,002251	8,8265
15	1:0,333333		3	0,007705	0,002568	8,8665
16	1:0,416667		5	0,00768	0,0032	8,944
17	1:0,5		7	0,007656	0,003828	9,0188
18	1:0,625		10	0,007619	0,004762	9,1274
19	1:0,833333		15	0,007559	0,006299	9,2769
20	1:1,041667		20	0,0075	0,007813	9,3617
21	1:1,458333		30	0,007385	0,010769	9,3462
22	1:2,083333		45	0,007218	0,015038	9,206
23	1:3,125		70	0,006957	0,021739	8,9619
24	1:4,166667		25	0,006713	0,027972	8,8957
25	1:6,25		50	0,006275	0,039216	8,90765
26	1:8,333333		50	0,00589	0,04908	8,90967
27	1:10,41667		50	0,005549	0,057803	8,91104

NMR-titrauksessa tutkitun siirtymän spektrit. Mittaus 0 liuksesta, jossa on vain bentseenifoldameeriä **2**.

