

Laskennalliset menetelmät foldameeritutkimuksessa

Pro gradu -tutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

29.2.2016

Matti Riihä

Tiivistelmä

Foldameerit ovat oligomeerejä, joilla on stabiili sekundäärirakenne eli niillä on kyky laskostua. Foldameerien syntetisointi ja karakterisointi on usein melko vaikeaa. Tästä syystä niiden rakenteen ja ominaisuuksien tutkimiseksi on kehitelty useita erilaisia laskennallisia malleja. Laskennalliset menetelmät jakautuvat kvanttimekaniikan menetelmiin ja molekyylidynamiikkaan. Molekyylidynamiikka perustuu klassiseen mekaniikkaan. Siinä yksittäisiä atomeja käsitellään palloina, joilla on muuttumaton varaus. Atomien väliset sidokset on yksinkertaistettu jousiksi, joilla on tasapainotila, joka on sama kuin kokeellinen tai laskennallinen sidospituus. Kvanttimekaniikan menetelmillä voidaan tutkia molekyylien konformaatioiden energioita, kun taas molekyylidynamiikalla pystytään mallintamaan molekyylien tai atomien käytöstä liuos- tai kiinteässä tilassa. Tässä työssä pääpaino on erityisesti molekyylidynamiikan menetelmien hyödyntämisessä foldameerien tutkimuksessa.

Esipuhe

Pro gradu -tutkielma tehtiin syksyllä 2015 Jyväskylän yliopistossa kemian laitoksella orgaanisen kemian pääaineessa. Kirjallisuusviitteet on haettu Scifinder-tietokannasta.

Kokeellinen osa suoritettiin syksyllä 2014 Jyväskylän yliopistossa kemian laitoksella orgaanisen kemian pääaineessa.

Haluan kiittää tutkielman ohjaajia professori Maija Nissistä ja akatemiatutkija Gerit Groenhoffia.

Sisältö

Tiivistelmä	i
Esipuhe	ii
Sisällysluettelo	iv
Lyhenteet ja vierasperäiset sanat	v
1 Johdanto	1
2 Laskennalliset menetelmät	2
2.1 Kvanttimekaniikan menetelmät	2
2.1.1 <i>ab initio</i> -Menetelmät	2
2.1.2 Tiheysfunktionaaliteoria	3
2.1.3 Semiempiirinen kvanttimekaniikka	4
2.2 Klassiset menetelmät	4
2.2.1 Molekyylidynamiikka	4
2.2.2 Metropolis Monte Carlo -menetelmä	7
2.2.3 Kopionvaihtomolekyylidynamiikka	8
3 Foldameerien laskennallinen tutkimus	9
3.1 Aryyliamidifoldameerit	9
3.1.1 GAFF-voimakentän parametrisointi	9
3.1.2 Aryyliamidifoldameerikapselin kompleksien MD-simulaatio . . .	12
3.1.3 Kinoliinifoldameerien konformaatiotutkimus MD- ja Monte Carlo -menetelmillä	15
3.1.4 Pyridiini-2,6-dikarboksyliamidifoldameerien konformaatiotutki- mus Monte Carlo -menetelmällä ja tiheysfunktionaaliteorialla . .	18
3.1.5 Sulfonamidifoldameerin konformaatiotutkimus tiheysfunktioaa- liteorialla	20
3.2 Aryyliamidimonomeerit	22
3.2.1 Tiofeeni- ja furaaniaryyliamidimonomeerien MD-simulaatiot . .	22

3.2.2	Difenyylitioureafoldameerien MD-simulaatiot	24
3.3	Fenyyliaesityleenifoldameerien laskennallinen tutkimus	26
3.3.1	Esteri- ja eetterifenyyliaesityleenifoldameerien mallinnus	26
3.3.2	Happo- ja esterifenyyliaesityleenifoldameerien MD-simulaatiot	28
3.3.3	Amiinisubstituoitu fenyyliaesityleenifoldameerin REMD- ja MD-simulaatiot	31
3.4	Peptoidifoldameerien REMD- ja tiheysfunktionaaliteoriamallit	34
3.5	β -peptidifoldameerien MD-simulaatiot	36
3.6	Bio-oligomeerikompleksien simulointi	39
4	Yhteenveto	43

Lyhenteet ja vierasperäiset sanat

AIMD *ab initio* -molekyylidynamiikka

DCE 1,2-dikloorietaani

DFT tiheysfunktionaaliteoria

ESP sähköstaattinen potentiaali

GAFF yleinen AMBER-voimakenttä

HF Hartree–Fock-teoria

MC Metropolis Monte Carlo -menetelmä

MD molekyylidynamiikka

MM molekyylimekaniikka

MP2 toisen asteen Møller–Plesset häiriöteoria

NDDO differentiaalisen peittymisen huomiotta jättäminen

NPT tila, jossa ainemäärä (N), paine (P) ja lämpötila (T) pysyvät vakiona

NVT tila, jossa ainemäärä (N), tilavuus (V) ja lämpötila (T) pysyvät vakiona

PBC jaksolliset reunaehdot

REMD replikanvaihtomolekyylidynamiikka

RESP hallittu sähköstaattinen potentiaali

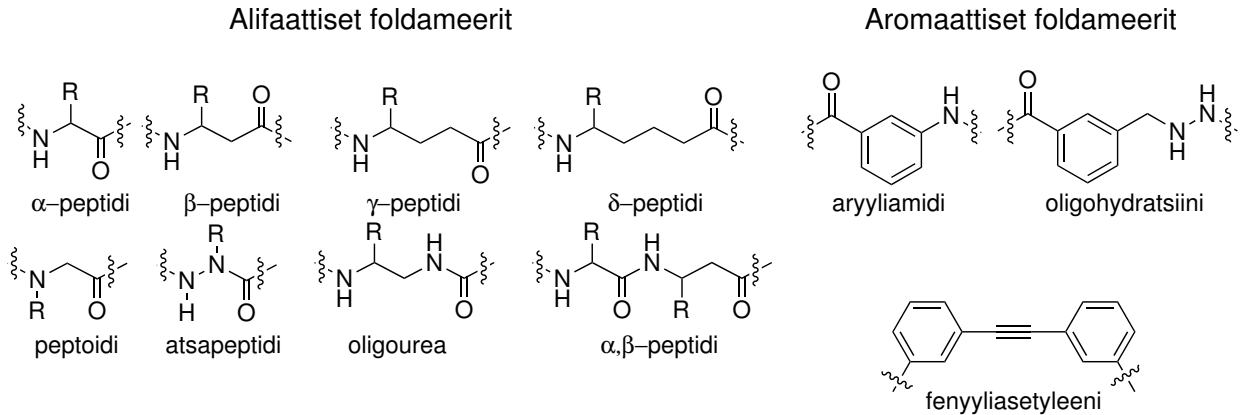
RMSD atomien sijaintien neliöllinen keskihajonta

SEQM semiempiirinen kvanttimekaniikka

1 Johdanto

Suurin osa biokemiallisista prosesseista, kuten katalyysi, elektronien siirtoreaktiot ja spesifinen sitoutuminen, ovat laskostuneiden biomolekyylien suorittamia.¹ Laskostuminen mahdollistaa biomolekyylien toiminnan ja asettaa ne termodynaamisesti ja kiineettisesti edullisimpaan konformaatioon. Laskostuminen, johon liittyvät vetysidosten muodostuminen, elektrostaattiset ja hydrofobiset vuorovaikutukset, ei rajoitu ainoastaan biomolekyyliin. Synteettiset keinotekoiset oligomeerit, jotka laskostuvat liuoksessa stabiiliin sekundäärirakenteeseen, pystyvät jäljittelemään joitakin laskostuneiden biomolekyylien toimintoja. Näitä oligomeerejä kutsutaan foldameereiksi.^{1,2} Biologinen evoluutio, suunnattomasta moninaisuudestaan huolimatta, on rakentunut proteiinien 20 aminohapon ja nukleinihappojen neljän emäksen ympärille. Foldameerejä pystytään sen sijaan rakentamaan loputtomasta määrästä eri rakennusosia ja niiden pääketjulle voidaan tehdä ääretön määrä muutoksia.

Foldameerit voidaan jakaa kahteen luokkaan esimerkiksi sen mukaan, sisältääkö niiden monomeeri aromaattista ryhmää vai ei.³ Alifaattisissa foldameereissä tyydyttyneet hiiliketjut erottavat toisistaan amidi- tai urearyhmiä. Esimerkiksi β -, γ -, δ -peptidit, oligoureat, atsapeptidit, pyrrolilonit, α -aminoksideptidit ja sokeripohjaiset peptidit kuuluvat alifaattisiin foldameereihin (Kuva 1). Aromaattisten foldameerien pääketjussa esiintyy jokin aromaattinen ryhmä. Aromaattisia foldameerejä ovat esimerkiksi aryyliamidi-, oligohydratsiini- ja vetysitoutuneet fenyleenietyleenifoldameerit. Suurin ero aromaattisilla ja alifaattisilla foldameereillä on se, että aromaattisten foldameerien π - π -vuorovaikutukset ja aromaattisten renkaiden geometria tekevät niistä rakenteeltaan jäykempiä. Aromaattisilla aryyliamidifoldameereillä on havaittu lukuisia mielenkiintoisia ominaisuuksia, kuten stabiilisuus ja laskostuneiden konformaatioiden ennustettavuus. Lisäksi ne ovat suhteellisen helppoja kiteyttää ja syntetisoida.⁴ Näistä syistä johtuen aromaattisia foldameerejä on käytetty biologisissa sovelluksissa, molekyyli tunnistuksessa (molecular recognition), katalyyttinä ja materiaalitieteissä.



Kuva 1: Esimerkkejä alifaattisten ja aromaattisten foldameerien pääketjuista.

2 Laskennalliset menetelmät

Laskennallisessa kemiassa tutkitaan molekyylien rakennetta ja toimintoja laskennallisilla malleilla ja simulaatioilla. Laskennallisella kemialla pystytään tutkimaan ominaisuuksia ja ilmiöitä, joita ei ole mahdollista tutkia kokeellisilla menetelmillä, tai ne voivat tarjota tukea ja lisätietoa kokeellisille tuloksille. Laskennalliset menetelmät jakautuvat kvanttimekaniikan menetelmiin, joihin kuuluvat *ab initio*- ja semiempiiriset menetelmät, kvanttimekaniikka ja tiheysfunktionaaliteoria, sekä klassisiin menetelmiin, joita ovat esimerkiksi molekyyliidynamiikka ja Monte Carlo -menetelmät.⁵

2.1 Kvanttimekaniikan menetelmät

2.1.1 *ab initio* -Menetelmät

Jos halutaan mallintaa molekyylien ominaisuuksia suurella tarkkuudella, käytetään *ab initio* -menetelmiä, joissa lasketaan kaikki molekyylin ominaisuudet kvanttimekaniikan ensimmäisistä periaatteista (*ab initio*) lähtien käyttämättä lainkaan kokeellisia tuloksia.⁵ Yksinkertaistettuna *ab initio* -menetelmässä ratkaistaan numeerisesti Schrödingerin yhtälöä (Kaava 1). Schrödingerin yhtälö kuvaa elektronien ja ytimien liikkeitä. Yhtälö voidaan kirjoittaa muodossa:

$$\hat{H}\psi = E\psi, \quad (1)$$

missä \hat{H} on Hamiltonin operaattori (koostuu liike- (\hat{T}) ja potentiaalienergiaoperaattorien (\hat{V}) summasta $\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}$), ψ on aaltofunktio ja E on elektronien ja ytimen muodostaman systeemin energia. E saadaan siis operoimalla sitä vastaavaa aaltofunktiota systeemin \hat{H} :lla. Aaltofunktio ψ voidaan ratkaista tarkasti ainoastaan vedylle.

Yksi yleisimmistä menetelmistä ratkaista aaltofunktio monielektronisysteemeille approksimatiivisesti on Hartree–Fock-teoria (HF).⁵ Siinä approksimoidaan n-elektronista systeemiä yhdellä Slaterin determinantilla. Slaterin determinantista voidaan variaatiomenetelmällä löytää ratkaisu aaltofunktiolle, mikä johtaa Hartree-Fock-orbitaaleihin ja systeemin energiaan.

Vuonna 1951 Rootran esitti että Hartree-Fock-orbitaalit voidaan esittää tunnetujen funktioiden kantajoukkona.⁶ Kun käytetään kantajoukkoa, aaltofunktiot ja operaattorit on mahdollista esittää matriiseina, joiden käsitteleminen on tietokoneille yksinkertaista.⁵ Tästä johtuen kantajoukoista on tullut yleisin tapa esittää kaikki orbitaalimallit tietokonelaskennassa. Samoja kantajoukkoja käytetään kaikissa kvanttimekaniikan laskennallisissa menetelmissä.

Hartree-Fock-teoria ei ota huomioon elektronikorrelaatiota, mikä voi johtaa systeemin energiaa laskettaessa suureen poikkeamaan kokeellisista tuloksista. Tästä syystä on kehitetty HF:aan perustuvia menetelmiä, joissa otetaan huomioon elektronikorrelaatio. Esimerkiksi Møller–Plesset häiriöteoriassa korrelaatio otetaan huomioon Fock-operaation perturbaationa.⁷

2.1.2 Tiheysfunktionaaliteoria

Aaltofunktion käyttö tekee *ab initio* -menetelmistä laskennallisesti raskaita, koska aaltofunktiolla on useita muuttujia ($N \cdot 3N$, jossa N on elektronien lukumäärä). Muuttujien määrää voidaan rajoittaa tiheysfunktionaaliteorialla (density functional theory, DFT), jossa perustilan energia, aaltoyhtälö ja muut molekyylin elektroniset ominaisuudet lasketaan perustilan elektronitiheydestä $\rho_0(x, y, z)$ kolmen muuttujan funktiona.⁵ Tämä elektronitiheys ρ_0 voidaan kirjoittaa perustilan elektronisen energian E_0 funktionaalina $E_0 = E_0[\rho_0]$, josta E_0 voidaan esimerkiksi ratkaista Kohn–Sham-menetelmällä.⁸ DFT on paljon käytetty menetelmä foldameerien erilaisten ominaisuuksien mallintamiseen. Funktionealeja, jotka yhdistävät *ab initio* -menetelmiä ja tiheysfunktionaaliteoriaa, kut-

sutaan hybridifunktionaaleiksi. Yksi yleisimpiä hybridifunktionaaleja on B3LYP.⁹

2.1.3 Semiempiirinen kvanttimekaniikka

Semiempiirissä menetelmissä käytetään Hamiltonin operaattoria, jota on kevennetty kokeellisiin tuloksiin perustuen. Esimerkiksi AM1¹⁰ ja PM3¹¹ ovat semiempiirisiä menetelmiä, jotka perustuvat kaksiatomisen differentiaalisen peittymisen huomiotta jättämisen (NDDO, englanniksi neglect of diatomic differential overlap) approksimaatioon.¹² Semiempiiriset menetelmät eivät usein onnistu ennustamaan oikein peptidien ja proteiinien sekundäärirakennetta, mikä rajoittaa niiden käyttöä oligomeerien ja foldameerien mallintamisessa.¹³

2.2 Klassiset menetelmät

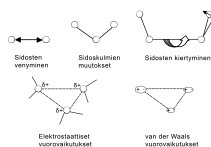
2.2.1 Molekyylidynamiikka

Kevennettynäkin kvanttimekaniikkaan perustuvat menetelmät ovat liian raskaita isojen systeemien, kuten liuostilojen, mallintamiseen. Sen sijaan käyttämällä molekyylidynamiikkaa (MD) voidaan simuloida hyvin raskaiden systeemien (yli 10000 atomia) liikkeitä ajan funktiona.^{5, 14, 15} Molekyylidynamiikka on klassinen menetelmä, jolla tarkoitetaan sitä, että sen käyttämissä fysiikassa ei käytetä kvantittumisen käsitettä. Kaikki klassiset simulaatiomenetelmät pohjautuvat matemaattisista funktioista ja parametreista koostuviin voimakenttiin, jotka kuvaavat molekyyliden sisäisiä ja ulkoisia vuorovaikutuksia. Klassisten menetelmien keveys perustuu oletukseen, että systeemin pienin osanen on atomi eivätkä elektronit ja atomien ytimet kuten kvanttimekaniikassa. Tyypillisen empiirisen voimakentän potentiaalienergia koostuu sidosenergioiden (kemiallinen sidosten venyvyys, sidoskulmien muutokset ja sidosten kiertyminen) ja ei-sitoutuvien potentiaalienergioiden (sähköstaattiset ja van der Waals -vuorovaikutukset) summasta (Kuva 2). Esimerkiksi AMBER¹⁶ ja GAFF¹⁷ (general AMBER force field, yleinen AMBER voimakenttä) voimakenttien potentiaalienergia lasketaan seuraavasti:

$$V_{tot} = \sum_{sidokset} K_r(r-r_{eq})^2 + \sum_{kulmat} K_\theta(\theta-\theta_{eq})^2 + \sum_{tor} \frac{V_n}{2}(1+\cos(n\phi-\gamma)) + \sum_{i<j} \left[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon_r R_{ij}} \right], \quad (2)$$

missä K ja V_n ovat voimavakioita, r on atomien välinen etäisyys, θ on kolmen atomin välinen kulma, eq tarkoittaa arvoa tasapainotilassa (määritetty kokeellisesti tai kvanttimekaniikan menetelmillä), n on multiplisiteetti, ϕ on torsiokulma ja γ on kokeellinen kulma-arvo, joka antaa minimienergiatorsiokulman. Viimeisellä summatermillä lasketaan sähköstaattiset ja van der Waals -vuorovaikutukset. Parametrien A ja B avulla lasketaan van der Waals - (A) ja Londonin voimista johtuva potentiaali (B) ja osittaisvarauksilla q_i ja q_j lasketaan molekyylin atomien i ja j välisen sähköstaattisesta vuorovaikutuksesta syntyvä potentiaali, missä ϵ_r on dielektrinen vakio. Termi R_{ij} on atomien i ja j välinen etäisyys.

Osittaisvaraukset q_i ja q_j ovat harvoin suoraan oikein voimakentissä. Tämä virhe johtaa vääristyneisiin sähköstaattisiin potentiaaleihin ja vaikuttaa suoraan MD-simulaation tarkkuuteen. Oikeiden varausten löytämiseksi voidaan käyttää sähköstaattista potentiaalia (ESP, englanniksi electrostatic potential)¹⁸- tai hallittua sähköstaattista potentiaalia (RESP, englanniksi restrain electrostatic potential)¹⁹-menetelmää. ESP-menetelmässä molekyylin (rakenne optimoitu ensiksi jollain *ab initio*- tai DFT-menetelmällä) yksittäisen atomin keskuksen lähelle luodaan sähköstaattinen potentiaali ja muodostuneesta dipolista lasketaan atomin varaus. ESP-menetelmän on havaittu yliarvioivan varauksia isommilla molekyyileillä. Ongelman korjaamiseksi on kehitelty RESP-menetelmä, jossa sähköstaattista potentiaalia rajoitetaan erillisillä hallintafunktioilla.



Kuva 2: Atomien väliset vuorovaikutukset joille lasketaan potentiaalienergiat voimakentissä.

Kun integroidaan numeerisesti Newtonin liikeyhtälöitä yhdistämällä niihin voimakenttien potentiaalit, saadaan mallinnettua simulaation kaikkien atomien liikkeit ajan funktiona. MD-simulaatiossa ratkaistaan Newtonin liikeyhtälöt N :llä vuorovaikutuksessa olevalle atomille:

$$m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = F_i, \quad i = 1 \dots N, \quad (3)$$

missä m_i on atomin i massa, r_i sen paikka, F_i siihen vaikuttava voima ja t on aika. Voima voidaan esittää myös voimakenttien potentiaalien avulla:

$$F_i = -\frac{\partial V(r_i)}{\partial r_i}. \quad (4)$$

Yhtälöt 4 ja 5 voidaan yhdistää jolloin saadaan:

$$m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = -\frac{\partial V(r_i)}{\partial r_i} \quad (5)$$

Yhtälöä 5 ratkaistaan numeerisesti pienissä aika-askelissa. Samalla pidetään huolta, että systeemin lämpötila ja paine pysyvät halutuissa arvoissa. Atomien koordinaatit kirjoitetaan tulosteeseen tietyin väliajoin, mistä syntyy systeemin trajektorin atomien koordinaateista ajan funktiona. Lopullinen simulaatio tapahtuu tasapainotuksen jälkeen, jolloin tapahtuu potentiaali- ja liike-energian välistä vaihtoa ja systeemin energia konvergoituu. Tasapainotrajektorin keskiarvoista saadaan tietoa simulaation molekyylien geometriasta ja energioista.¹⁵ Trajektorista voidaan tunnistaa eri konformaatioita esimerkiksi atomien sijainnin neliöllisellä keskihajonnalla (RMSD, englanniksi root-mean-square deviation of atomic positions), jolla voidaan laskea kuinka paljon simulaation eri rakenteet eroavat lähtörakenteesta tai molekyylin kokeellisesta rakenteesta.²⁰ Kahden molekyylin välinen RMSD lasketaan kaavalla:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |r_i^{konformaatio} - r_i^{lähtörakenne}|^2},$$

missä N on molekyylin pääketjun atomien määrä ja $r_i^{konformaatio} - r_i^{lähtörakenne}$ simulaatiosta löytyneen konformaation atomin i etäisyys lähtörakenne molekyylin atomiin i . RMSD:llä voidaan siis laskea kuinka paljon kahden eri molekyylin atomien koordinaatit keskimäärin eroavat toisistaan. Jos etsitään rakenteelle pelkästään minimipotentiaalienergiaa voimakentän avulla ilman aika-askelia, puhutaan molekyylimekaniikasta (MM) MD:n sijaan.

MD-simulaation onnistumisen edellytyksenä on se, että siihen käytetyn voimakentän parametrit ovat riittävän tarkkoja kuvaamaan mallinnettavaa systeemiä. Tästä syystä eri systeemeille on kehitetty omanlaisia voimakenttiä. Nykyiset voimakentät, kuten

AMBER¹⁶, CHARMM²¹, GROMOS²² ja OPLS²³, on kehitetty ennen kaikkea proteiineille ja nukleiinihapoille. Kun halutaan simuloida muita molekyyliä, esimerkiksi foldameerejä, tarvitaan yleensä voimakentän parametrien muokkausta, jotta ne soveltuisivat paremmin näille molekyylielle. Tästä syystä on kehitetty voimakenttiä, kuten UFF²⁴ ja GAFF¹⁷, jotka soveltuvat paremmin kaiken tyyppisille molekyylielle.¹⁵ Kaikki atomit (AA, englanniksi “All-atom”) voimakentät kuten esimerkiksi OPLS-AA²⁵ tarjoavat erilliset parametrit jokaiselle systeemin atomille (mukaan lukien vedyt), kun taas yhdistetyt atomit (UA, englanniksi “united-atom”) voimakentissä yhdistetään vedyt ja hiilet ja käytetään niille yhteisiä parametrejä.

MD-simulaatioissa isoja systeemejä, kuten äärettömän kokoiset liuossysteemit, approksimoidaan jaksollisilla reunaehdoilla (PBC, englanniksi periodic boundary conditions).²⁶ PBC:ssä systeemi pilkotaan alkeiskoppeihin, ja kun siinä oleva molekyyli ylittää alkeiskopin rajan, se palaa takaisin alkeiskoppiin vastakkaiselta puolelta samalla nopeudella. Erilaisille simulaatiosysteemeille käytetään hyvin erilaisia alkeiskoppeja.

2.2.2 Metropolis Monte Carlo -menetelmä

Statistiseen mekaniikkaan perustuvalla Metropolis Monte Carlo -menetelmällä (MC) voidaan simuloida sitä, mitkä rakenteet on energeettisesti mahdollisia.²⁶ Toisin kuin molekyyliidynamiikalla Metropolis Monte Carlo -menetelmällä ei voida simuloida ajasta riippuvia suureita, kuten liike-energiaa. Aluksi MC-menetelmässä määritetään lähtörakenteen (löydetty kokeellisesti tai laskennallisesti) koordinaatit. Tämän jälkeen koordinaatteja muutetaan satunnaisesti. Muutoksen todennäköisyys lasketaan Boltzmannin tekijällä:

$$\frac{p(\text{tila2})}{p(\text{tila1})} = e^{(V_1 - V_2)/kT} = e^{-\Delta V/kT}, \quad (6)$$

missä p on todennäköisyys sille, että molekyyli on kyseissä tilassa, V on tilan potentiaalienergia, k Boltzmannin vakio ja T on molekyylin lämpötila. Tämän jälkeen arvotaan satunnaisluku nollan ja yhden väliltä. Jos muutoksen todennäköisyys on pienempi kuin satunnaisluvun arvo pidetään lähtörakenteen koordinaatit ja aloitetaan prosessi uudelleen. Jos taas todennäköisyys on suurempi, aloitetaan MC-prosessi muutetuilla koordinaateilla. Metropolis-algoritmi, joka on käytetyin Monte Carlo -algoritmi, on esitetty

Kuvassa 3.²⁷

1. Määritetään lähtörakenteen koordinaatit.
2. Valitaan lähtörakenteesta jokin atomi ja muutetaan satunnaisesti sen koordinaatteja.
3. Lasketaan tästä aiheutuva potentiaalienergian muutos ΔV .
4. Jos $\Delta V < 0$ otetaan uudet koordinaatit käyttöön ja siirrytään kohtaan 2.
5. Jos $\Delta V > 0$ arvotaan satunnaisluku R väliltä $[0,1]$.
 - A. jos $e^{-\Delta V/kT} < R$ pidetään vanhat koordinaatit ja siirrytään kohtaan kaksi.
 - B. jos $e^{-\Delta V/kT} > R$ otetaan muutetut koordinaatit käyttöön ja siirrytään kohtaan kaksi.

Kuva 3: Metropolis-algoritmi.

2.2.3 Kopionvaihtomolekyylidynamiikka

Kopionvaihtomolekyylidynamiikka (REMD) yhdistää Monte Carlo -menetelmän ja molekyyldynamiikan.²⁸ REMD-simulaatioissa ajetaan useita kopioiksi kutsuttuja MD-simulaatioita eri lämpötiloissa. Valitun aika-askelen jälkeen termodynaamisesti lähellä toisiaan olevien systeemien kopioiden atomien koordinaatteja vaihdetaan, jos tämän vaihdoksen hyväksyttävyyserroin eli todennäköisyys on riittävän suuri. Hyväksyttävyyserroin lasketaan Monte Carlo -menetelmän Boltzmannin tekijän avulla (Kaava 6):

$$P_{ij} = \min(1, e^{[(1/kT_i - 1/kT_j) \cdot (V_j - V_i)]}), \quad (7)$$

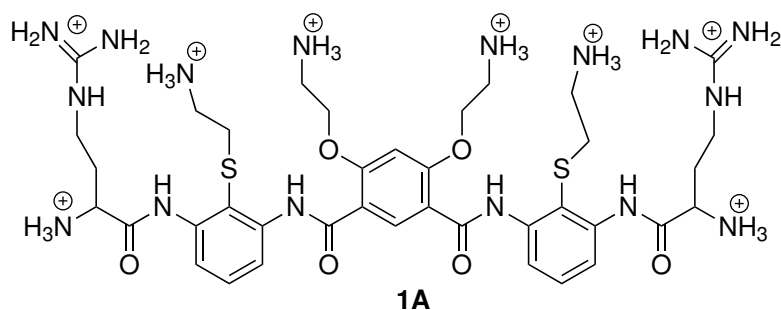
missä i ja j ovat kaksi termodynaamisesti lähellä olevaa kopiota, joiden potentiaalienergiat ovat V_i ja V_j ja lämpötilat T_i ja T_j . P_{ij} on kopion vaihdon hyväksyttävyyserroin. REMD-simulaatioissa voidaan estää energiatilaa jäämästä paikalliseen minimienergiiaan vaihtamalla matalammalla lämpötilalla oleva kopio korkean lämpötilan kopioon, jolloin energiatila nousee paikallisesta minimienergiakuopasta ja hakeutuu taas

todellista minimienergiaa kohti.

3 Foldameerien laskennallinen tutkimus

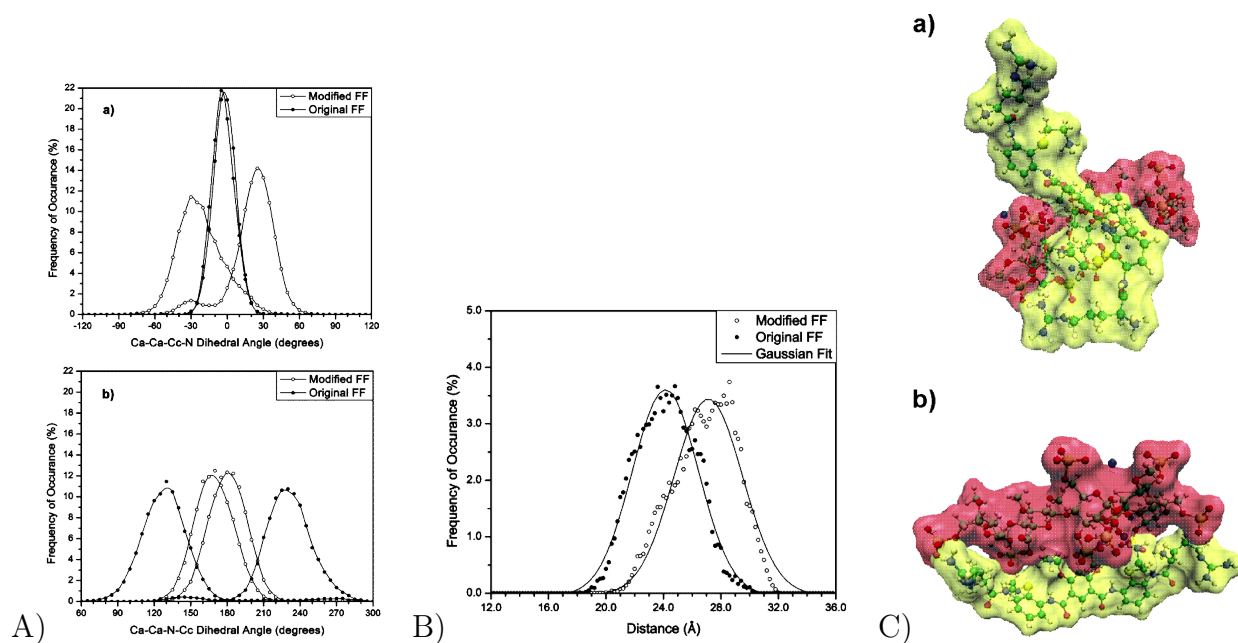
3.1 Aryyliamidifoldameerit

3.1.1 GAFF-voimakentän parametrisointi



Kuva 4: Aryyliamidifoldameeri **1A**.

Pophristic *et al*²⁹ ovat parannelleet GAFF-voimakentän parametrejä kuvaamaan paremmin aryyliamidifoldameeria **1A** (Kuva 4), joka on mahdollinen hepariinin vastaaine, vuorovaikutuksia hepariinin kanssa. GAFF-voimakentän torsionaalisia parametrejä muokattiin DFT-laskuihin perustuen ja tämän jälkeen tehtiin vertailevat MD-simulaatiot sekä muokkaamattomalla että muokatulla GAFF-voimakentällä, joissa aryyliamidifoldameeri **1A** oli hepariinin kanssa vedessä (Kuva 5C). Vertailussa havaittiin, että torsiokulmien jakaumat erosivat toisistaan merkittävästi eri voimakentillä (Kuva 5A). Aryyliamidin huomattiin olevan joustavampi käytökseltään, kun käytettiin muokattua GAFF-voimakenttää, sillä muokatulla voimakentällä C_a-C_c torsiokulman kääntymisen vaati vähemmän energiaa kuin alkuperäisellä voimakentällä. Joustavuus johtaa myös suurempaan vuorovaikutukseen hepariinin kanssa, mikä näkyy kuvassa 5C.



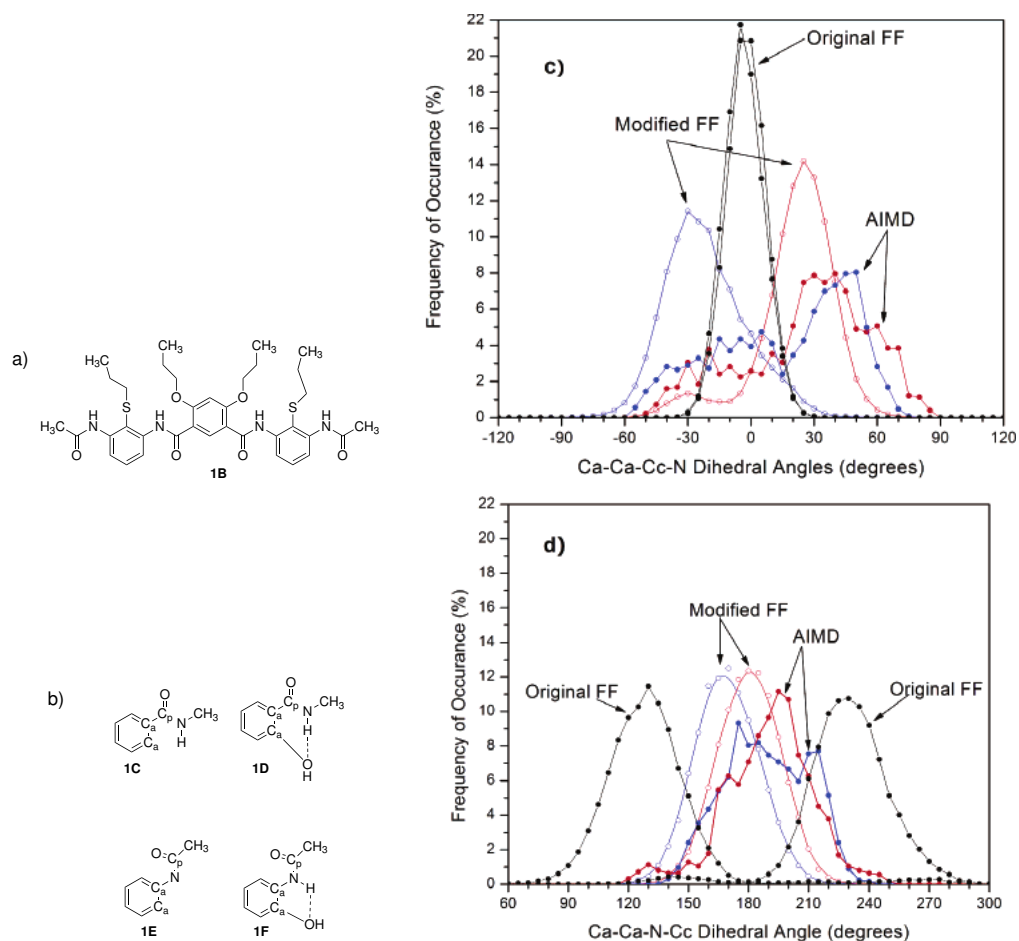
Kuva 5: A) Aryyliamidifoldameerin olennaisimmat torsiokulmien jakaumat MD-simulaatioissa vedessä käyttäen alkuperäistä GAFF-voimakenttää (Original FF) ja muokattua GAFF voimakenttää (Modified FF). B) Aryyliamidin pituuden vaihtelu vesisimulaatioissa eri voimakentillä. C) Aryyliamidin (keltainen alue) sitoutuminen hepariiniin (punainen alue). Otos simulaatioista, (a) alkuperäinen GAFF ja b) muokattu GAFF). Reprinted with permission from²⁹. Copyright (2006) American Chemical Society.

Muokatun GAFF-voimakentän parametrien paikkansapitävyyttä testattiin *ab initio* -molekyylidynamiikka (AIMD) -simulaatiolla, jossa lasketaan atomeihin vaikuttavat voimat *ab initio* -menetelmillä Newtonin mekaniikan sijaan.²⁹ Yhdisteestä **1A** tehtiin pelkistetty malli **1B** (Kuva 6a), jossa poistettiin guanidiiniosat arginiiniketjuista sekä varaukset korvaamalla NH_3^+ -ryhmät metyyliiryhmillä. Tällöin pääketjun torsiokulmia kontrolloivat C_a - C_c ja C_a -N sidokset eivätkä varauksista aiheutuvat elektrostaattiset vuorovaikutukset. Tätä mallia simuloitiin kaasufaasissa 9 ps käyttämällä HCTH-tiheysfunktionaalia.³⁰ Simulaatio osoitti, että muokatun AIMD-simulaation torsiokulmien jakaumat ovat samankaltaiset kuin muokatulla GAFF-voimakentällä saadut ja selkeästi poikkeavat alkuperäiseen GAFF-voimakenttään verrattuna (Kuva 6 b ja c).

Kun tutkittiin DFT-menetelmällä erilaisten aryliamidimonomeerien **1C-1F** C_a - C_p ja C_a -N sidosten torsiokulmia, havaittiin että substituentilla on merkittävä vaikutus aryliamidisidoksen torsiokulmiin (Kuva 6b).³¹ Yhdisteillä joilla oli orto-metoksi substituentti, C_a - C_p ja C_a -N torsiokulman kääntyminen vaati selkeästi enemmän energiaa, kuin yhdisteillä, joilla ei ollut substituenttia. Jäykkyys johtuu substituentin hapen si-

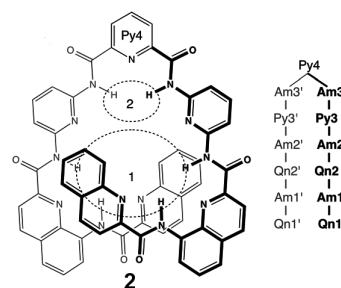
doksesta amidivedyn kanssa, mikä nostaa torsiokulman energiakynnystä. Tämä osoittaa selvästi, että voimakentän parametrisoinnissa pitää ottaa huomioon substituentin vaikutus.

Torsiokulmien lisäksi foldameerien konformaatioiden muodostumiseen vaikuttavat merkittävästi atomien osittaisvaraukset.^{32,33} Aryyliamidifoldameerien konformationaalisessa käyttäytymisessä on havaittu merkittävää eroa riippuen siitä onko varaukset löydetty ESP¹⁸- vai RESP-menetelmällä^{19,32}. Tulokset olivat yhteneväisiä kokeellisten NMR-spektrien kanssa, kun aryyliamidifoldameerin yhdelle monomeerille **1D** (Kuva 6b) tehtiin MD-simulaatio³² kolmessa liuottimessa (vesi, metanoli ja kloroformi) käyttäen RESP-menetelmällä laskettuja osittaisvarauksia. ESP-menetelmällä³³ muiden parametrien pysyessä samana osittaisvarauksista tuli liian suuria, mikä johti elektrostaattisten vuorovaikutusten yliarvioimiseen ja konformaatiojakaumaan, jossa suosittiin virheellisen paljon veden ja monomeerin välisiä vetysidoksia.



Kuva 6: Aryliamidifoldameerin **1A** pelkistetty malli **1B** AIMD-simulaatiota varten (a). Aryliamidimonomeerit **1C** ja **1E** sekä niiden orto-metoksisubstituoidut johdannaiset **1D** ja **1F** (b). Kahden torsiokulman jakaumat (c,d), jotka esiintyvät AIMD-simulaatiossa (9 ps) ja MD-simulaatiossa (4 ns). MD-simulaatiossa on käytetty muokattua GAFF-voimakenttää ja muokkaamatonta GAFF-voimakenttää. Reprinted with permission from²⁹. Copyright (2006) American Chemical Society.

3.1.2 Aryliamidifoldameerikapselin kompleksien MD-simulaatio

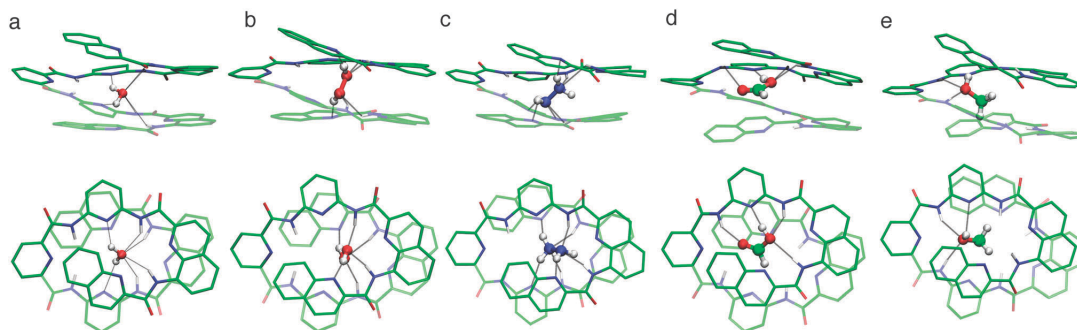


Kuva 7: Foldameerikapseli **2** ja sen sitoutumisalueet 1 ja 2. Reprinted with permission from³⁴. Copyright (2014) Royal Society of Chemistry.

Helikaalisten aryyliamidifoldameerien on havaittu sitovan erilaisia pienmolekyylejä sisään, mutta tämän prosessin tarkka mekanismi on vielä tuntematon. Tähän ongelmaan etsittiin ratkaisua molekyyliidynamiikalla. Foldameerikapselille **2** (Kuva 7) tehtiin MD-simulaatiot, joissa käytettiin aiemmin optimoitua GAFF-voimakenttää¹⁷ ja viittä eri foldameeriin sitoutuvaa substraattia (vesi, vetyperoksidi, hydratsiini, muurahais-happo ja metanoli).³⁴ Liuotinympäristön vaikutusta sitoutumiseen tutkittiin käyttämällä polaarisuudeltaan ja vetysitoutumiseltaan kolmea erilaista liuotinta (vesi, metanoli ja kloroformi). Simulaatiot tehtiin laatikoissa, joiden sivujen pituudet vaihtelivat noin 50-60 Å välillä, ja ne sisälsivät yhden kapseli-substraatti kompleksin ja noin 3500 liuotin molekyyliä. Kapseli-substraatti-kompleksi muodostettiin laittamalla substraatti tasapainotetun foldameerikapselin keskelle. Simulaatiot aloitettiin tasapainottamalla systeemit 500 ps ajolla, jossa pidettiin paine (1 atm) ja lämpötila (300 K) vakioina (NPT). Näitä seurasivat lopulliset simulaatioajot, jotka kestivät 50 ns, ja joissa lämpötila ja tilavuus pidettiin vakioina (NVT).

Simulaatiot osoittivat, että vetysidokset ovat tärkeässä roolissa substraatin sitoutumisessa kapseliin.³⁴ Foldameerin havaittiin vetysitoutumisen perusteella jakautuvan kahteen sitovaan alueeseen (Kuva 7). Alue 1 koostuu kahdesta amidivedystä (Am1(Am1') ja Am2(Am2')) ja kahdesta kinoliinitypestä (Qn1(Qn1') ja Qn2(Qn2')). Alue 2:ssa substraatti sitoutuu Am3(Am3') amidivetyyn. Sitoutumisalueiden väliin jäävät pyridiinit Py3 ja Py3', joihin myös osa ligandeista sitoutuu. Kuvassa 8 on esitetty yleisimmät substraattien sitoutumistilat.

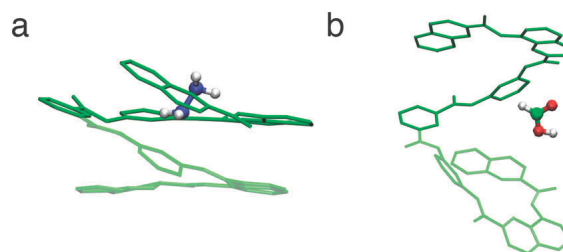
Kiderakenteessa vesi on sitoutunut alueeseen 2, kun taas simulaatioiden perusteella vesi on liuoksessa aina sitoutuneena alueeseen 1.³⁵ Kiderakenteen staattisen tilan ja dynaamisen liuostilan erolle saatiin vahvistusta simulaatiolla, jossa aloitusrakenteena käytettiin kiderakennetta. Vesi katkaisi simulaation edetessä sidoksensa alueeseen 2 ja muodosti uudet sidokset alueen 1 kanssa. Tämä osoittaa, että kiderakenteet eivät välttämättä vastaa liuostilan ominaisuuksia. Veden lisäksi pelkästään sitoutumisalueeseen 1 ovat sitoutuneena vetyperoksidi ja hydratsiini. Metanolilla ja muurahaishapolla on kaksi sitoutumistilaa, joissa ne ovat sitoutuneena kumpaankin sitoutumisalueeseen.



Kuva 8: Yleisimmät sitoutumistilat foldameeriin **2**. a) H_2O , b) H_2O_2 , c) N_2H_4 , d) HCOOH ja e) CH_3OH . Reprinted with permission from³⁴. Copyright (2014) Royal Society of Chemistry.

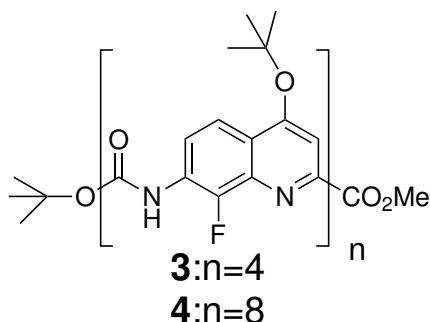
Substraattien irtoamiselle foldameerista **2** löydettiin kaksi mekanismia, ylhäältä tai sivuttain irtoaminen (Kuva 9). Ylhäältä irtoamisessa foldameerin konformaatio ei muutu, kun taas sivuttaisessa irtoamisessa konformaatio muuttuu. Substraatin irtoamismekanismi riippuu sen koosta ja mihin sitoutumisalueeseen se on sitoutunut. Pienempien substraattien, jotka ovat sitoutuneet alueeseen 1, havaittiin irtoavan ylhäältä, kun taas substraatit, joilla on sidoksia alueeseen 2, irtoavat sivuttain. Liuotin on myös tärkeässä roolissa irtoamisessa. Esimerkiksi hydratsiinin irtoamismekanismi vaihtelee kloroformissa (ylhäältä) ja metanolissa (sivuttain). Tämän havaittiin johtuvan siitä, että metanoli sitoutuu foldameerin sivusta hydratsiinin typpiin. Veden havaittiin sitoutuvan substraatteihin foldameerin yläosasta, mistä johtuen vierasmolekyylit irtoavat aina yläkautta vedessä.

Nämä kaksi mekanismia osoittavat, ettei foldameerin laskostuminen vaikuta substraatin irtoamiseen tai kiinnittymiseen. Substraatin irtoamistavasta riippumatta, foldameeri palautuu helikaaliseen rakenteeseen 100 ps jälkeen. Näiden tulosten perusteella vierasmolekyylit kiinnittyvät samalla mekanismilla kuin irtoaa ja substraatin sitoutuminen ja vapautuminen ovat matalan energiakynnyksen prosesseja.



Kuva 9: Substraatin irtoamismekanismit: oikealla ylhäältä irtoaminen ja vasemmalla sivutainen irtoaminen. Reprinted with permission from³⁴. Copyright (2014) Royal Society of Chemistry.

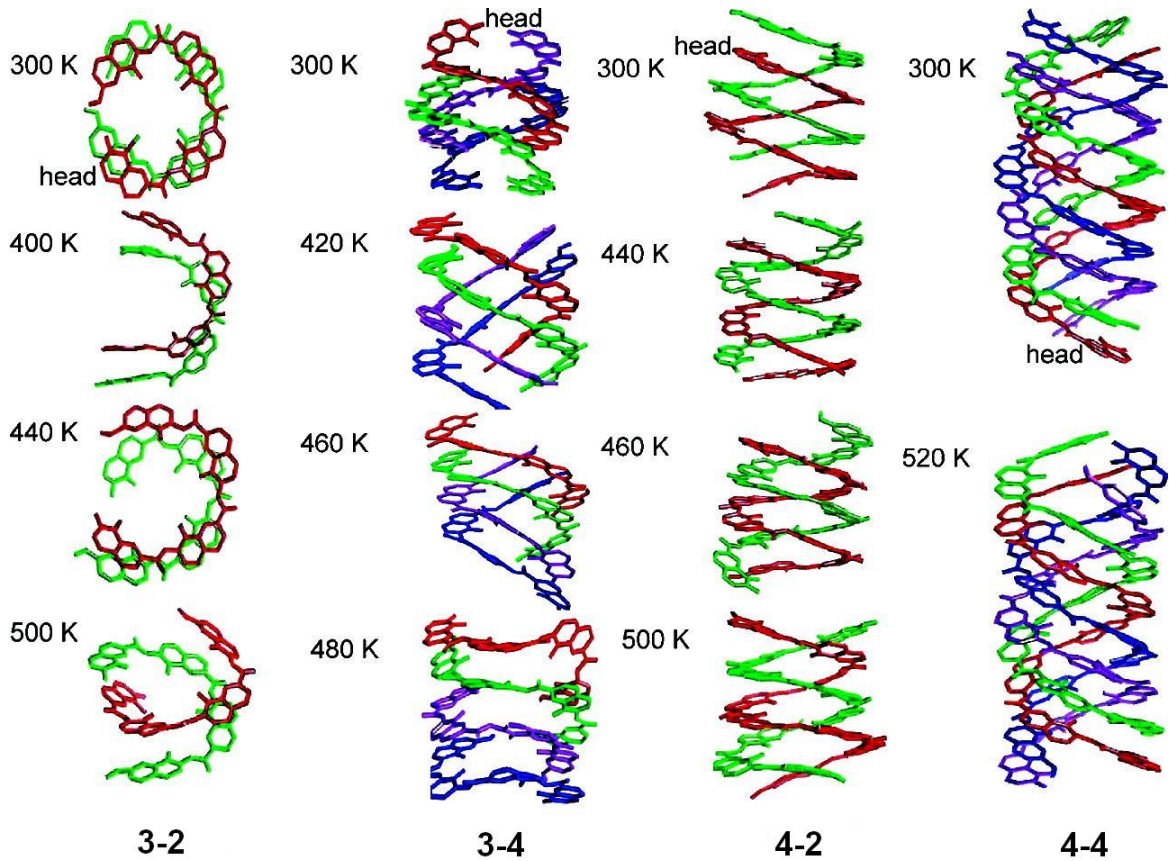
3.1.3 Kinoliinifoldameerien konformaatiotutkimus MD- ja Monte Carlo -menetelmillä



Kuva 10: Kinoliinifoldameerien **3** ja **4** monomeeri.

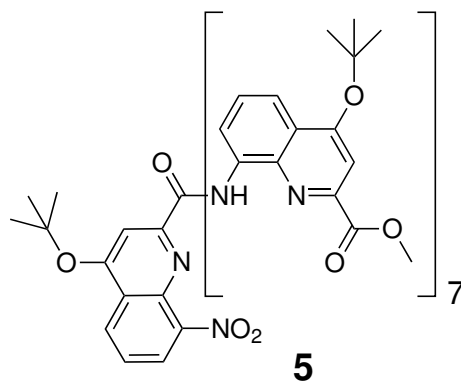
Zhang *et al.*³⁶ ovat tutkineet kahden eri kinoliinifoldameerin (Kuva 10) laskostumista MD-simulaatioilla. Foldameeri **3** koostuu neljästä 7-amiini-8-fluori-2-kinoliinikarboksyylihappomonomeeristä ja foldameeri **4** kahdeksasta (Kuva 10). Kummastakin foldameeristä tehtiin kahden ja neljän foldameerin konformaatiot (**3-2**, **3-4**, **4-2** ja **4-4**), joista **3-4** ja **4-2** mallinnettiin käyttäen lähtökohtana kiderakenteita.³⁷ Konformaatiot **3-2** ja **4-4** mallinnettiin Hyperchem-ohjelmalla.³⁸ MD-simulaatioissa käytettiin AMBER-voimakenttää¹⁶, jonka parametrit muokattiin Antechamber-ohjelmalla.³⁹ Foldameerien atomien osittaisvaraukset etsittiin RESP-menetelmällä¹⁹ HF/6-31G*⁴⁰ tason teorialla optimoiduista foldameerien rakenteista. Foldameerisysteemit luotiin ensiksi minimoimalla rakenteiden energia vakuumissa ja laittamalla ne kuutiolliseen alkeiskoppiin, jossa ovat voimassa jaksolliset reunaehdot (PBC). Alkeiskopit täytettiin TIP3P-mallin⁴¹ vesimolekyyleillä. Kaikki simulaatiot kestivät 3,6 ns ja paineena käytettiin 1 atm painetta. Foldameereille tehtiin 14 erilaista simulaatiota, joissa lämpötila vaihteli 300-520

K välillä (Kuva 11).



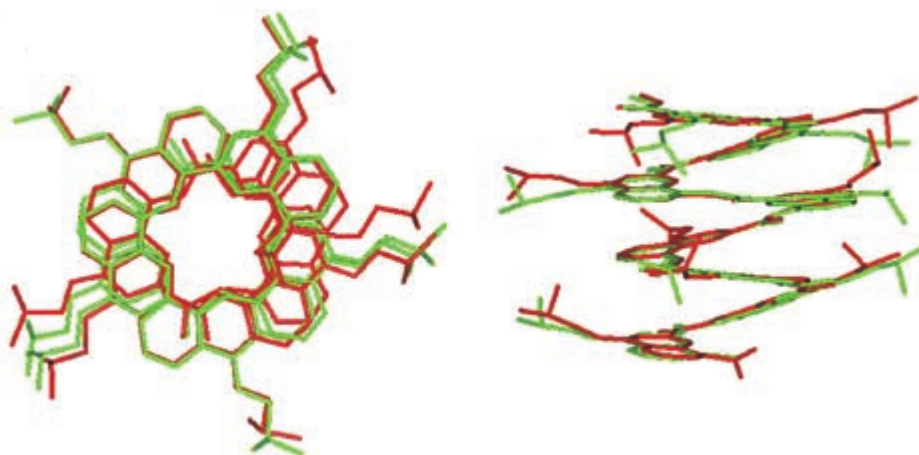
Kuva 11: Foldameerien konformaatiot eri lämpötiloissa. Reprinted with permission from³⁶. Copyright (2009) American Chemical Society.

MD-simulaatioiden perusteella konformaatiot **3-4** ja **4-2** olivat stabiileimmat, mikä on havaittu myös kokeellisesti, ja näistä MD-simulaatioiden perusteella **4-2** on stabiilimpi kuin **3-4**.³⁷ Konformaatioiden **3-2** ja **4-4** siirtymässä konformaatioihin **3-4** ja **4-2** havaittiin olevan korkea energiavalli, mikä selittää, miksei systeemejä **3-2** ja **4-4** ole havaittu kokeellisesti. Konformaatioiden helikaalisten rakenteiden stabiilisuuden havaittiin johtuvan kinoliinien välisistä π - π -vuorovaikutuksista.



Kuva 12: Kinoliinifoldameeri **5**.

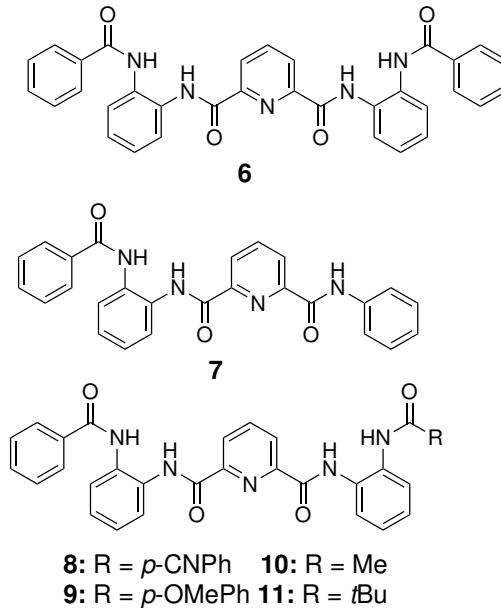
Kinoliinifoldameerille **5** (Kuva 12) etsittiin konformaatioita Monte Carlo -menetelmällä (MC).⁴² Yhdisteelle **5** käytettiin lähtörakenteena laskostumatonta konformaatiota Monte Carlo -tyylisessä konformaatiohaussa Macromodel-ohjelmalla.⁴³ MC-menetelmällä muutettiin 14 erilaisen sidoksen kordinaatteja. Rakenne hyväksyttiin, jos se oli 20 kJ/mol alemmalla energialla kuin lähtörakenne. Kunkin rakenteen energiaa yritettiin pienentää korkeintaan 1000 kertaa. MC:llä löydettiin 186 erilaista konformaatiota. Kun konformaatioiden energiat minimoitiin MM3-voimakentällä⁴⁴, erilaisten konformaatioiden määrä pieneni 54:ään. Pienienergisisimmän konformaation, RMSD erosi kiderakenteesta ainoastaan 0,377 Å. Kaikki löydetyt konformaatiot olivat laskostuneita helikaalisia konformaatioita.



Kuva 13: Yhdisteen **5** Monte Carlo -menetelmällä löydetty pienienergisisin konformaatio ja kiderakenne päällekkäin ylhäältä ja sivulta kuvattuna. Reprinted with permission from⁴². Copyright 2005 John Wiley & Sons, Ltd.

3.1.4 Pyridiini-2,6-dikarboksyylimidifoldameerien konformaatiotutkimus Monte Carlo -menetelmällä ja tiheysfunktionaaliteorialla

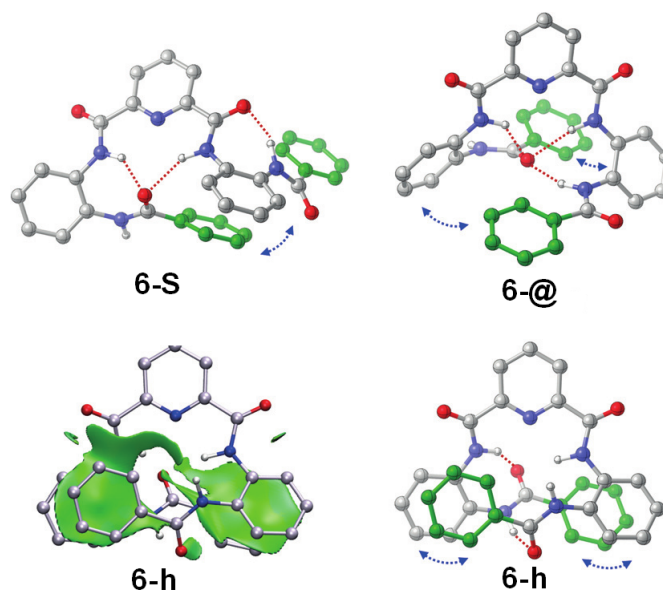
Kuuden erilaisen pyridiini-2,6-dikarboksyylimidifoldameerin (Kuva 14) konformaatioita etsittiin Monte Carlo -menetelmällä ja löydetty konformaatiot optimoitiin tiheysfunktionaaliteorialla (DFT).⁴⁵



Kuva 14: Foldameerien **6-11** rakenteet.

Monte Carlo -menetelmässä potentiaalienergiat laskettiin OPLS-voimakentällä²³. Löydetty konformaatiot optimoitiin ω B97D-X⁴⁶ DFT-funktionaalilla ja 311G(d,p)⁴⁰ kantajoukolla. Konformaatioiden stabiilisuuseroja tutkittiin laskemalla konformaatioille Gibbsin vapaaenergiat 1 atm kaasufaasissa ja 298,15 K lämpötilassa. Näissä laskuissa käytettiin 3111G(d,p)++ kantajoukkoa.

Foldameereille löydettiin kolme stabiilia konformaatiota: S, @ ja h. Foldameereilla **6** ja **8-11** S-konformaatio oli kaasufaasissa stabiilein (Kuva 15), koska sitä stabiloi kaksi karbonyylihapen ja amidivedyn välistä vetysidosta. Muut konformaatiot olivat kuitenkin energettisesti hyvin lähellä S-konformaatiota (ero 0,2-3,4 kcal/mol; Taulukko 1).

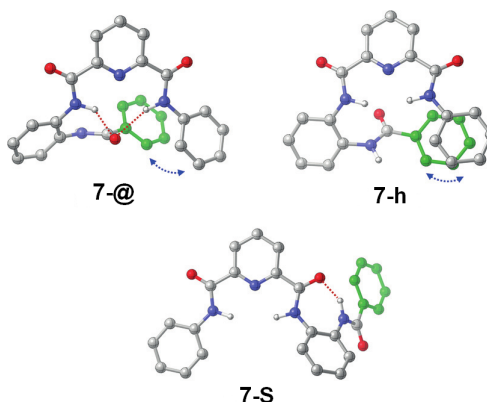


Kuva 15: Foldameerin **6** yleisimmät konformaatiot. Foldameerien **8-11** konformaatiot ovat samankaltaiset. Konformaation h π - π -vuorovaikutukset on esitetty vihreinä pintoina ja nuolilla. Reprinted with permission from⁴⁵. Copyright 2015 John Wiley & Sons, Ltd.

Taulukko 1: Foldameerien **3-8** konformaatioiden energiaerot (kcal/mol) laskettuna ω B97D-X/311G(d,p) tason teorialla

Foldameeri	S	@	h
3	0	1,3	0,4
4	5,4	0	4,2
5	0	3,4	0,2
6	0	2,5	0,9
7	0	2,1	1,3
8	0	1,1	2,3

Foldameerilla **7** @-konformaatio oli stabiilein, koska sillä oli eniten vetysidoksia (Kuva 16). Foldameerin **7** helikaalisella h-konformaatiolla ei ollut lainkaan vetysidoksia, mutta sen fenyylien π - π vuorovaikutukset tekivät siitä toiseksi stabiileimman (ero 4,2 kcal/mol). Kolmanneksi stabiilein oli S-konformaatio, jolla on ainoastaan yksi vetysidos, mikä nostaa sen energiaa @-konformaatioon nähden (ero 5,4 kcal/mol).

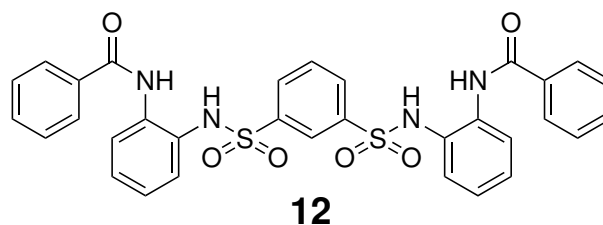


Kuva 16: Foldameerin **7** yleisimmät konformaatiot. Reprinted with permission from⁴⁵. Copyright 2015 John Wiley & Sons, Ltd.

DFT-optimoidut konformaatiot olivat hyvin lähellä kokeellisesti havaittuja kiderakenteita, mutta kiderakenteet eivät olleet yhtä laskostuneita kuin DFT-rakenteet.⁴⁵ Tämä voi johtua joko kiteen pakkautumisesta tai siitä, että DFT-menetelmä yliarvioi aryyli-aryylivuorovaikutuksia.

3.1.5 Sulfonamidifoldameerin konformaatiotutkimus tiheysfunktionaaliteorialla

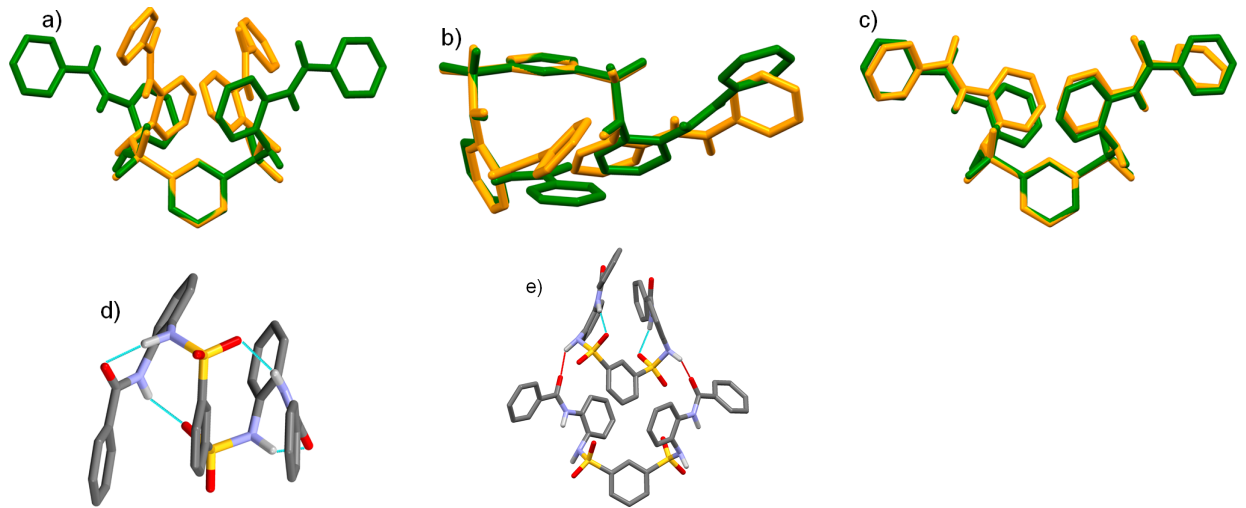
Sulfonamideja, jotka ovat tärkeä antibakteerinen lääkeaineryhmä, voidaan käyttää myös foldameerien rakenneosana.⁴⁷ Sulfonamidifoldameerin **12** (Kuva 17) konformaatioita tutkittiin tiheysfunktionaaliteorialla (DFT) osana sen kiderakennetutkimusta.⁴⁸ DFT-laskuissa käytettiin ω B97XD⁴⁶-funktionaalia ja def2-TZPV kantajoukkoa.⁴⁹ Dispersiovoimien huomioitta jättäminen, mikä on DFT-funktionaalien yleinen heikkous, on korjattu ω B97XD-funktionaalissa empiirisellä dispersioparametrillä, mikä mahdollistaa myös van der Waals-vuorovaikutusten ja vetysidoksien kuvaamisen.



Kuva 17: Sulfonamidifoldameeri **12**

Yhdisteen **12** konformaatioiden **12-I** (kiteytysliuotin EtOAc) ja **12-II** (kiteytysliuo-

tin 1,2-dikloorietaani (DCE)) koordinaatit otettiin suoraan kiderakenteista (Kuva 18).⁴⁸ Yhdisteelle **12** etsittiin minimienergiakonformaatio **12-III** muuttamalla sulfonamidin substituenttien torsiokulmia. Jokaisen muutoksen jälkeen rakenne optimoitiin DFT:lla. Etsinnässä käytettiin def2-TZPV:tä kevyempää kantajoukkoa. Kaikkien konformaatioiden rakenteet optimoitiin myös kaasufaasissa 298 K lämpötilassa ja 1 atm paineessa. Kiteytysliuottimien (EtOAc ja DCE) vaikutusta konformaatioiden energioihin tutkittiin käyttämällä polarisoitua jatkuvaa liuotinmallia (IEFPCM).⁵⁰



Kuva 18: Konformaatio **12-I** a), konformaatio **12-II** b), konformaation **12-II** kiderakenne ja monomeeri dimeerimallista c), konformaation III DFT-optimoitu rakenne ja DFT-optimoitu dimeerin rakenne e). Keltaisella on merkitty DFT-optimoitu rakenne ja vihreällä kiderakenne. Reprinted with permission from⁴⁸. Copyright (2015) American Chemical Society.

Verrattuna kiderakenteeseen konformaation **12-I** optimoitua rakennetta tiiviisti kaksi molekyylin sisäistä vahvaa S=O...H-N vetysidosta. Tämä osoitti, että konformaation **12-I** kiderakenteen muodostumiseen vaikuttivat myös molekyylin ulkopuoliset tekijät. Tätä tulosta tuki myös dimeerimalli, joka muodostettiin kahdesta **12-I** kiderakennekonformaatiosta optimoimalla rakenne DFT:lla. Toinen optimoidun dimeerin konformaatiosta oli hyvin lähellä kiderakennetta.

Konformaation **12-II** optimoitu rakenne oli hyvin lähellä sen kiderakennetta. Ainoastaan terminaalisten fenyyliiryhmien torsiokulmat poikkesivat kiderakenteesta. Näihin torsiokulmiin vaikuttaa kidehilan pakkautuminen, jota ei otettu huomioon DFT-optimoinnissa.

Kaasufaasissa ja liuoksessa konformaatiolle **12-II** saatiin 7-11 kJ/mol pienempi ener-

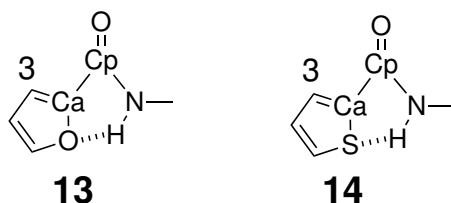
gia kuin konformaatiolle **12-I**. Konformaation **12-I** dimeerin monomeeri, joka muistutti kiderakennetta, oli 35-48 kJ/mol korkeammalla energialla kuin konformaatio **12-II**. Tämän perusteella vetysidosten määrä vähentää rakenteiden energiaa. Tuloksen vahvistaa laskostunut konformaatio **12-III**, jossa vetysidosten määrä on maksimoitu. Sen energia oli kaasufaasissa 39 kJ/mol ja liuottimessa 25 kJ/mol pienempi kuin konformaatiolla **12-II**. Konformaatiota **12-III** ei ole kuitenkaan löydetty kokeellisesti. Fenyylirenkaiden laskostuminen vaatii paljon energiaa, mikä voi estää **14-III** konformaation muodostumisen kiinteässä tilassa. Liuotinmolekyylit rikkovat helposti **12-III**:n vetysidosverkoston, mikä puolestaan saattaa estää **12-III**:n muodostumisen liuostilassa.

3.2 Aryyliamidimonomeerit

Foldameerien konformaatio-ominaisuudet ovat riippuvaisia sen monomeerien konformaatioista. Foldameerien mallintaminen voidaan aloittaa monomeerista, millä saadaan jo paljon tietoa foldameerin konformationalisesta käytöksestä.

3.2.1 Tiofeeni- ja furaaniaryyliamidimonomeerien MD-simulaatiot

Galan *et al.*⁵¹ ovat tutkineet molekyyliidynamiikalla ja NMR-kokeilla tiofeeni- ja furaaniaryyliamidimonomeerejä, joita voidaan käyttää foldameerien rakenneosana. Tiofeeniaryyliamidimonomeerin **13** ja furaaniaryyliamidimonomeerin **14** rakenteet (Kuva 19) optimoitiin B3LYP⁹ DFT-menetelmällä, jossa käytettiin 6-311G⁴⁰ kantajoukkoa. Optimoitujen rakenteiden perusteella muokattiin MD-simulaatioissa käytetyn GAFF-voimakentän¹⁷ Ca-Cp torsioparametrejä (Kuva 19), koska alkuperäisten parametrien on havaittu yliarvioivan torsioikulmien energiavallia.²⁹ Lisäksi optimoiduista rakenteista laskettiin RESP-menetelmällä¹⁹ osittaisvarausparametrit tyhjiössä.



Kuva 19: Yhdisteet **13** ja **14**. NOE-spektreistä laskettiin amidivedyn ja vedyn 3 etäisyys toisiinsa.

MD-simulaatiot suoritettiin 28x28x28 Å kokoisissa laatikoissa, joissa olivat voimassa jaksolliset reunaehdot (PBC). Liuottimena käytettiin 630 TIP3P-mallin⁴¹ vesi-, 450 metanoli- tai 250 kloroformimolekyyliä. Metanolille ja kloroformille käytettiin parm99⁵² mallia. Liuossysteemejä tasapainotettiin 500 ps 1 atm paineessa ja 300 K lämpötilassa, NPT-olosuhteiden vallitessa. Lopulliset simulaatiot suoritettiin 2 ns sykleissä, joissa ensiksi lämmitettiin systeemit 500 K lämpötilaan ja sen jälkeen jäähdytettiin 300 K:iin 0,5 ns aikana. Jäähdytyksen jälkeen simulaatioita jatkettiin vielä 1,5 ns. Syklejä suoritettiin kaikille liuossysteemeille yhteensä 17.

Taulukko 2: Konformaatioiden, joilla on molekyylin sisäinen vetysidos, prosentuaalinen määrä

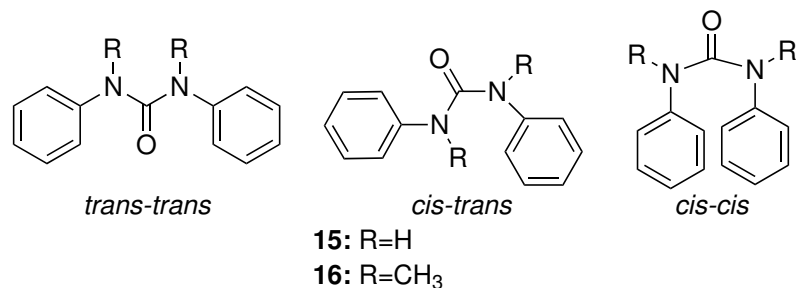
Yhdiste	Akseptori	CHCl ₃	MeOH	H ₂ O
13	S	67,2	42,0	39,5
14	O	81,8	71,7	57,5

Yhdisteellä **13** oli vähemmän molekyylin sisäisen vetysidoksen sisältäviä konformaatioita kuin yhdisteellä **14** (Taulukko 2), koska yhdisteen **13** tiofeenirikki ei ole yhtä elektronegatiivinen kuin yhdisteen **14** furaanihappi. Molemmilla yhdisteillä konformaatioiden määrät vähenivät liuottimen polaarisuuden kasvaessa. MD-simulaatioista saadut yhdisteiden keskimääräiset amidivedyn etäisyydet aromaattiseen vetyyn 3 (Kuva 19) ovat hyvin linjassa NOE-spektristä saatujen etäisyyksien kanssa (Taulukko 3) kaikissa muissa liuottimissa paitsi kloroformissa. Tämä johtuu siitä, että voimakenttä yliarvioi niiden konformaatioiden stabiilisuutta, joilla on sisäinen vetysidos, mikä johtaa näiden konformaatioiden todellista suurempaan esiintymiseen ja aromaattisen vedyn ja amidivedyn etäisyyden keskiarvon kasvuun. Yliarviointi johtuu osittaisvarausparametreistä, jotka oli laskettu yhdisteille tyhjiöissä eikä jokaiselle liuottimelle erikseen.

Taulukko 3: Amidivedyn ja aromaattisen vedyn keskimääräinen etäisyys (Å) -spektristä laskettuna (r_{NOE}) ja MD-simulaatioissa (r_{MD}).

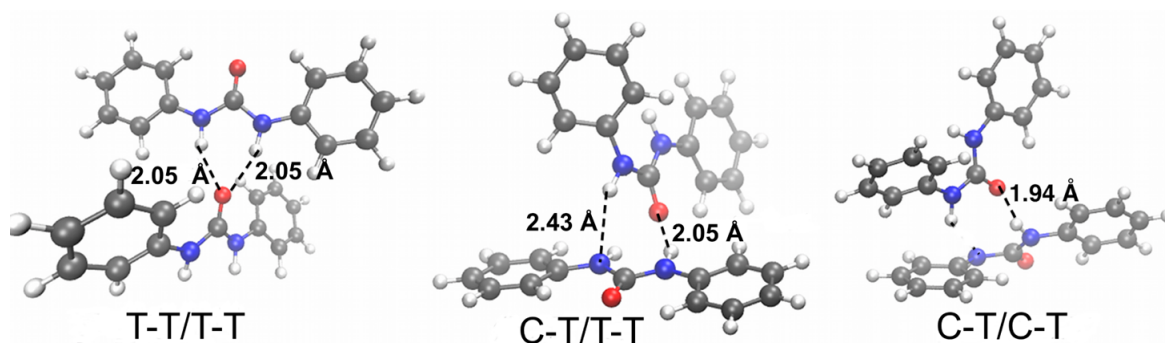
	13		14	
Liutotin	r_{NOE}	r_{MD}	r_{NOE}	r_{MD}
CHCl ₃	2,7	3,38	-	3,62
MeOH	2,6	2,6	3,2	3,18
H ₂ O	2,5	2,52	2,9	2,76

3.2.2 Difenyyliureafoldameerien MD-simulaatiot



Kuva 20: Difenyyliureamonomeerien **15** ja **16** konformaatiot.

Galan *et al.*⁵³ ovat tutkineet kahden difenyyliureamonomeerin (N,N'-difenyyliurea **15** ja N,N'-dimetyyli-N,N'-difenyyliurea **16**, Kuva 20) konformaatioita laskennallisesti ja spektroskopian menetelmillä. Kvanttimekaniikan laskuilla yhdisteille **15** ja **16** löydettiin kolme stabiilia konformaatiota, *trans-trans*, *cis-cis* ja *trans-cis* (Kuva 20). Laskuissa käytettiin DFT-menetelmän B3LYP⁹- ja B97D-funktionaaleja ja *ab initio* toisen asteen Møller–Plesset häiriöteoriaa⁵⁴ (MP2) ja Hartree-Fock-teoriaa (HF). Konformaatioiden stabiilisuutta laskettiin B3LYP- ja B97D-funktionaaleilla ja MP2-menetelmällä. Yhdisteellä **15** havaittiin pienin energia *cis-trans* konformaatiolle ja suurin *cis-cis* konformaatiolle, kun käytettiin B3LYP- ja B97D-funktionaaleja. MP2-menetelmällä suurin energia oli *trans-trans* konformaatiolla ja pienin *cis-trans* konformaatiolla. MP2-menetelmän on havaittu yliarvioivan π - π -vuorovaikutusten stabiloivaa vaikutusta,⁵⁵ minkä takia selkeästi π - π vuorovaikuttavalle *cis-cis* konformaatiolle saadaan MP2-menetelmällä todellista pienempi energia. Kun MP2-menetelmän π - π -vuorovaikutuksiin tehtiin korjaus, saatiin *cis-cis* konformaatiolle sama tulos kuin DFT-menetelmillä. Yhdisteen **16** konformaatioista kaikilla menetelmillä stabiilein oli *cis-cis* ja epästabiilein *trans-trans*.



Kuva 21: Yhdisteen **6** dimeerirakenteiden mallit ja niissä esiintyvät vetysidokset. Reprinted with permission from⁵³. Copyright (2014) American Chemical Society.

Yhdisteen **15** erilaisia dimeerejä (Kuva 21) optimoitiin B97D⁵⁶/6-311G(d,p)⁴⁰ DFT-teorian tasolla.⁵³ Stabiileimmat dimeerit olivat *cis-trans* ja *trans-trans*, mikä selittää, miksi kiinteästä tilasta ei havaittu kokeellisesti muita dimeerejä. Yhdisteiden **15** (monomeeri ja dimeeri) ja **16** IR-värähtelytaajuuudet laskettiin B3LYP/6-311G(d,p) tason teoriolla. Lasketut taajuuudet vastasivat hyvin kokeellisia tuloksia.

Monomeerien konformaatioita simuloitiin kaasufaasissa ja kloroformi- ja DMSO-liuoksissa molekyyliidynamiikan (MD) avulla. 50 ns simulaatiot suoritettiin NVT-olosuhteessa ja 300 K lämpötilassa. Voimakenttänä käytettiin GAFF-voimakenttää, jonka torsio-*kulmien* parametrejä muokattiin kvanttimekaniikan avulla. Torsio-*kulmien* parametrit, jotka vaikuttavat $C_{urea}-N_{urea}$ sidoksen torsio-*kulmaan* muokattiin DFT-menetelmällä B97D/6-311G(d,p) teorian tasolla saatujen tulosten perusteella ja $C_{aromatiinen}-N_{urea}$ sidoksen parametrit otettiin aiemmasta artikkelista.²⁹ Osittaisvaraukset laskettiin RESP-menetelmällä.¹⁹ Simulaatiossa yhdiste **15** esiintyi 90 % *cis-trans* konformaatiossa, 9,8 % *trans-trans* konformaatiossa ja 0,2 % *cis-cis* konformaatiossa. Tämä tulos on linjassa konformaatioiden laskettujen stabiilisuuksien kanssa. Yhdisteen **15** kaasufaasissa mitattu ultravioletti 2RPI-spektri⁵⁷ osoitti *cis-trans* konformaation olevan yleisempi kuin *trans-trans* konformaatio, kun taas *cis-cis* konformaatiota ei havaittu lainkaan. Nämä tulokset osoittavat, että kaasufaasissa tehty simulaatio yhdisteelle **15** on realistinen.

Kloroformissa ja DMSO:ssa yhdiste esiintyy simulaatioiden mukaan lähes pelkästään *trans-trans* konformaatiossa (98,1 % kloroformissa ja 99,7 % DMSO:ssa). Samankaltaiseen tulokseen päädyttiin myös IR- ja NMR-spektroskopiolla. Liuotin stabiloi *trans-*

trans konformaatiota, mikä selittää sen dominanssin liuottimissa.

Yhdisteen **16** metyyliiryhmät muuttavat konformationaalisen käytöksen täysin verrattuna yhdisteeseen **15**. Kaasufaasisimulaatiota dominoi *cis-cis* konformaatio 97,4 % osuudella ja *cis-trans* konformaatiota esiintyy vain 2,6 % simulaatioajasta. *Trans-trans* konformaatiota ei esiinny kaasufaasissa lainkaan. Kloroformissa tehdyssä simulaatioissa esiintyy eniten *cis-cis* konformaatiosta (74,4 %) ja jonkin verran *cis-trans* (24 %) ja *trans-trans* (1,5 %) konformaatioista. DMSO:ssa *cis-cis* konformaatio dominoi vähemmän (54,3 %) ja *cis-trans* (39,3 %) ja *trans-trans* (6,4 %) konformaatioita esiintyy suhteessa enemmän. *Cis-cis* konformaation vallitsevuus on linjassa NMR- ja IR-spektroskopian tulosten kanssa.

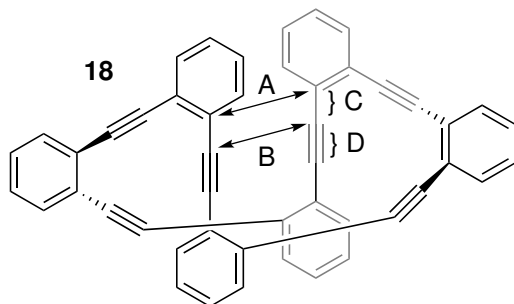
3.3 Fenyyliaesityleenifoldameerien laskennallinen tutkimus

Fenyyliaesityleenifoldameerit ovat yksi olennainen foldameeriryhmä. Ne ovat yksinkertaisia syntetisoida ja niissä voidaan käyttää useita erilaisia substituentteja. Lisäksi niiden laskostumisprosessi tunnetaan melko hyvin. Osana fenyyliaesityleenifoldameeritutkimusta niille on kehitetty useita erilaisia laskennallisia rakennemalleja.

3.3.1 Esteri- ja eetterifenyyliaesityleenifoldameerien mallinnus

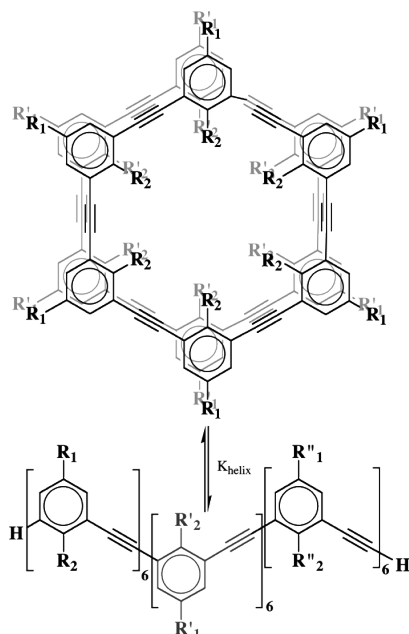
Blatchly ja Tew⁵⁸ ovat tutkineet laskostumista molekyylimekaniikalla, tiheysfunktio-naaliteorialla (DFT) ja semiempiirisellä kvanttimekaniikalla. Eri menetelmien kykyä mallintaa kiderakenteita testattiin minimoimalla rengasrakenteisen fenyyliaesityleenimakrosyklin **18** rakenne MMFF94-voimakentällä,⁵⁹ semiempiirisellä AM1-menetelmällä¹⁰ ja DFT BP⁶⁰-funktionaalilla, minkä jälkeen eri menetelmillä minimoituja rakenteita verrattiin kokeelliseen kiderakenteeseen. Lähimpänä kiderakennetta oli MMFF94-voimakentällä minimoitu rakenne (Taulukko 4).

Taulukko 4: Yhdisteen **18** eri menetelmillä minimoitujen rakenteiden hiilien välisten etäisyyksien vertailu kiderakenteeseen. Etäisyydet on esitetty Ångströmeinä



	kiderakenne	MMFF	AM1	DFT
A	3,54	3,84	4,23	4,34
B	3,36	3,84	4,28	4,28
C	1,426	1,432	1,405	1,418
D	1,201	1,201	1,200	1,225

18 fenyylirenkaasta koostuvien *m*-fenyyliasetyleenifoldameerien **19** ($R_2=R'_2=Me$) ja **20** ($R_2=R'_2=H$) (Kuva 22) helikaalisen konformaation stabiilisuudet laskettiin MMFF94-voimakentällä ja AM1-menetelmällä. MMFF94-voimakentällä minimoituna yhdisteen **19** yksittäinen metyyliiryhmä stabiloi rakennetta 0,5 kcal/mol verrattuna yhdisteeseen **20**, mikä on lähellä kokeellista arvoa 0,5 kcal/mol. AM1-menetelmällä ei saatu kokeellisten tulosten kanssa yhteneviä arvoja, koska AM1-menetelmä mallinsi väärin sisätasojen etäisyydet (8 Å oikean 4 Å sijaan).



	R_1	R'_1	R''_1	R_2	R'_2	R''_2
19	H	H	H	Me	Me	Me
20	H	H	H	H	H	H
21	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	H	H	H
22	CO ₂ CH ₃	CH ₂ OCH ₃	CO ₂ CH ₃	H	H	H
23	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H

Kuva 22: Yhdisteiden **19-23** rakennekuva ja laskostuminen. Reprinted with permission from⁵⁸. Copyright (2003) American Chemical Society.

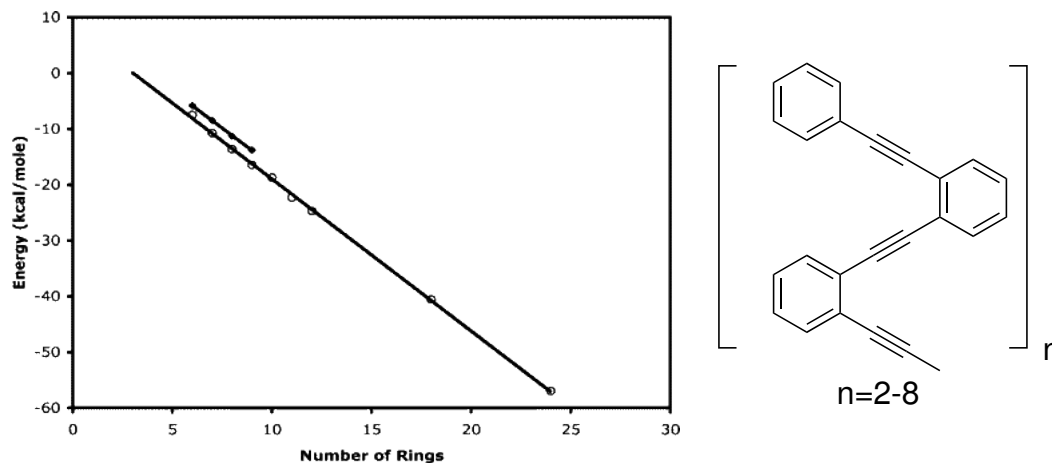
Substituenttien vaikutusta laskostumiseen tutkittiin minimoimalla foldameerien **20-23** pitkittäiset ja helikaaliset konformaatiot MMFF94-voimakentällä ja laskemalla kon-

formaatioiden eroista laskostumisen entalpiamuutos. Tuloksia verrattiin kokeellisiin Gibbsin vapaaenergian muutoksiin (Taulukko 5). Entalpiamuutokset olivat hyvin linjassa Gibbsin vapaaenergian muutoksien kanssa, vaikkakaan niitä ei voida suoraan verrata toisiinsa. Liuottimen puuttuminen laskuissa voi myös vääristää tuloksia.

Taulukko 5: Foldameerien **20-23** laskostumisen laskennalliset entalpiamuutokset (ΔH_{helix}) ja kokeelliset laskostumisen Gibbsin vapaaenergian muutokset (ΔG_{helix}).

Foldameeri	ΔG_{helix} (kcal/mol)	ΔH_{helix} (kcal/mol)
20		-47,9
21	-7,5	-89,5
22	-2,5	-84,0
23	>0	-67,6

6-24 aromaattisen renkaan substituioimattomien *o*-fenyyliasetyleenien laskostumisen entalpiat (Kuva 23) olivat yhteneväiset *ab initio* MP2-menetelmällä⁵⁴ laskettujen entalpioiden kanssa.⁶¹ Entalpiat laskivat mitä enemmän aromaattisirenkaita oli eli laskostuminen oli suotuisampaa foldameerin koon kasvaessa.

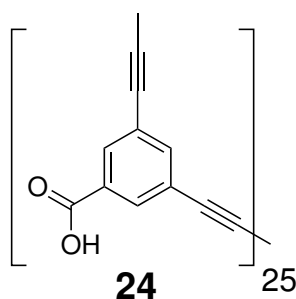


Kuva 23: Substituioimattomien *o*-fenyyliasetyleenien laskostumisen entalpiat fenyylirenkaiden määrän funktiona. Valkoisella ympyrällä on merkitty MMFF94-voimakentällä lasketut entalpiat ja mustalla MP2-menetelmällä lasketut. Reprinted with permission from⁵⁸. Copyright (2003) American Chemical Society.

3.3.2 Happo- ja esterifenyyliasetyleenifoldameerien MD-simulaatiot

Fenyyliasetyleenifoldameereille on tehty myös dynaamista tutkimusta vedessä.^{62,63} 25 fenyylirenkaasta koostuvalle *m*-fenyyliasetyleenifoldameerille **24**, jossa substituenttina

oli muurahaishappo, tehtiin MD-simulaatiot vedessä CHARMM-voimakenttää²¹ käyttäen (Kuva 24).⁶² Foldameerille mallinnettiin laskostunut ja satunnainen konformaatio ja näille tehtiin itsenäiset simulaatiot. Foldameerin osittaisvaraukset etsittiin ESP-menetelmällä¹⁸. Laskostunut konformaatio minimoitiin vakuumissa ja asetettiin 19 Å säteisen pallon keskelle, jossa oli 963 TIP3P-mallin⁴¹ vesimolekyylejä. Vesimolekyylit, jotka olivat lähempänä kuin 2,8 Å foldameerin atomeja, poistettiin. Tällöin palloon jäi 731 vesimolekyylejä, jonka jälkeen systeemi minimoitiin vielä kerran. Tämän jälkeen tehtiin varsinainen 0,75 ns kestävä MD-simulaatio.

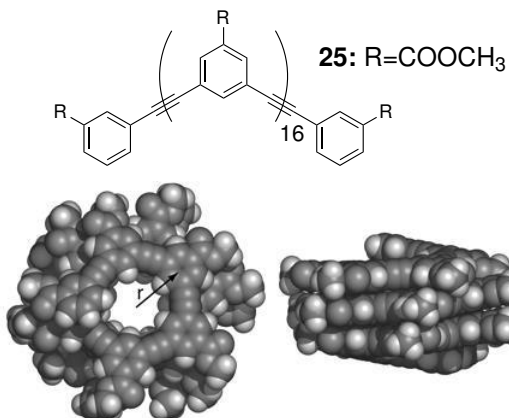


Kuva 24: *m*-fenyyliasetyleenifoldameeri **24**.

Satunnainen konformaatio luotiin simuloimalla laskostunutta konformaatiota 1000 K lämpötilassa vakuumissa 100 ps ajan ja etsimällä simulaatiosta satunnainen konformaatio. Rakenne minimoitiin vakuumissa ja liuotettiin veteen. Tätä systeemiä simuloitiin 100 ps ajan.

Laskostuneen ja satunnaisen konformaation simulaatiot osoittivat, että laskostunut konformaatio on stabiilimpi vedessä. Tämä tulos on linjassa kokeellisten tulosten kanssa.⁶⁴ Laskoksen sisälle sitoutuneet vesimolekyylit pysyivät sitoutuneena 10-100 ps ajan. 0,75 ns aikana vesimolekyylien ei havaittu läpäisevän foldameerin pintaa.

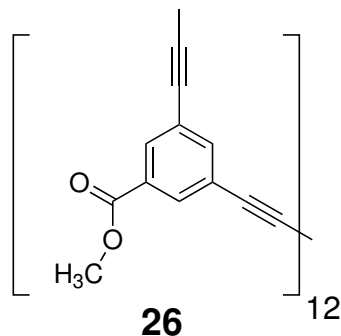
Lee ja Saven⁶³ tekivät metyyliesterisubstituoidulle fenyyliasetyleenifoldameerille **25** pidemmät 30 ns MD-simulaation vedessä. Simulaatiossa käytettiin CHARMM-voimakenttää, joka parametrisoitiin perustuen HF/6-311G** tason teorialla optimoidun foldameerin rakenteeseen. Samaisesta optimoidusta rakenteesta saatiin RESP-menetelmällä¹⁹ myös foldameerin osittaisvaraukset, joita käytettiin MD-simulaatiossa. Foldameerin laskostunut rakenne luotiin Macromodel-ohjelmalla (Kuva 25).⁴³



Kuva 25: Fenyyliasetyleenifoldameerin **25** rakennekuva ja laskostunut konformaatio. Reprinted with permission from⁶³. Copyright (2004) American Chemical Society.

Minimoitu rakenne liuotettiin 6633 TIP3P-mallin⁴¹ vesimolekyylin kanssa. Yksi vesimolekyyli asetettiin laskoksen sisälle. Liuossysteemi minimoitiin, jonka jälkeen suoritettiin simulaatio, jossa 400 K lämpötilaa laskettiin 25 K 100 ps välein kunnes saavutettiin 300 K lämpötila. Tämän jälkeen simulaatiota jatkettiin vielä 100 ps. Simulaation loppurakennetta käytettiin lähtörakenteena lopullisessa 30 ns simulaatiossa. Lopullinen simulaatio suoritettiin NPT-olosuhteessa ja 300 K lämpötilassa. Simulaatio osoitti, että laskostunut konformaatio on stabiili vedessä, aivan kuten Sen⁶² tutkimuksessa. Laskoksen koko vaihtelee 12-14,4 Å, mikä selittää kokeellisen havainnon laskoksen sisälle kiinnittyneistä eri kokoisista substraateista.

Pande *et al.*⁶⁵⁻⁶⁷ ovat tutkineet 12 renkaisen esterisubstituoidun *m*-fenyyliasetyleenifoldameerin **26** (Kuva 26) laskostumista useissa eri liuottimissa (vesi, asetonitrili, kloroformi, metanoli) molekyyliidynamiikalla. Vedelle käytettiin yksinkertaista mallia, jossa huomioitiin vain hydrofobiset vuorovaikutukset veden ja fenyylirenkaiden välillä.^{65,66} Foldameerin **26** laskostumisaikaa vedessä simuloitiin MD-simulaatiolla käyttäen CHARMM-voimakenttää ja 300 K lämpötilaa. Voimakentässä käytettiin aiemman artikkelin torsiokulmaparametrejä.⁶⁸ Laskostumisajaksi saatiin 7 ns. Kokeelliseksi laskostumisajaksi mitattiin THF/metanoli liuoksessa 160 ns.⁶⁹ Kun huomioitiin veden ja THF/metanoli-liuoksen viskositeettierot laskennalliseksi laskostumisajaksi saatiin 70-360 ns, mikä on melko hyvin linjassa kokeellisen arvon kanssa.



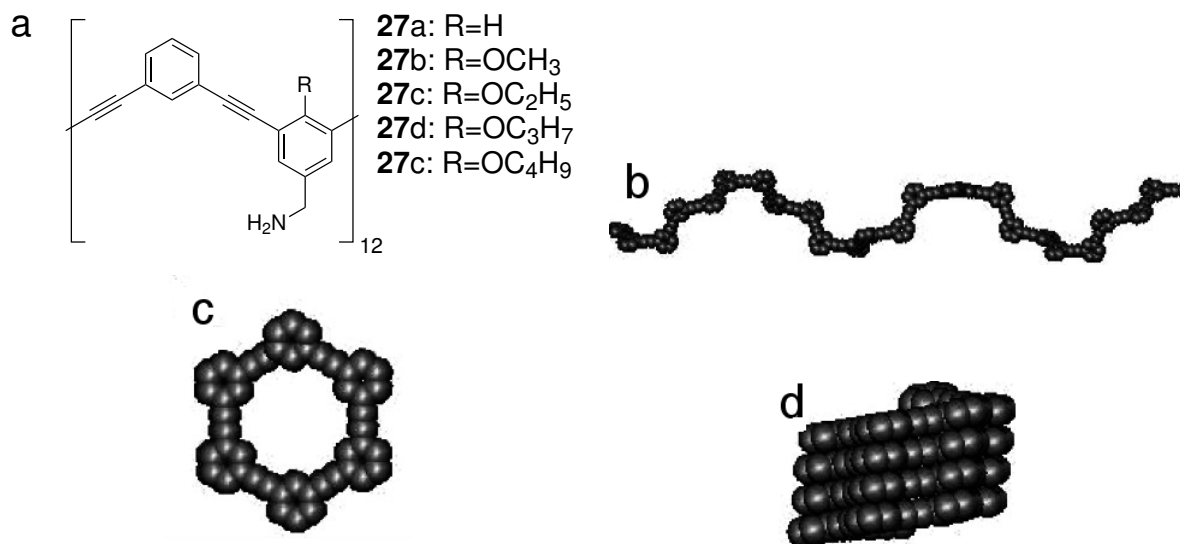
Kuva 26: *m*-fenyyliaesityleenifoldameeri **26**.

Simulaatioissa asetonitriilissä, kloroformissa, metanolissa ja vedessä käytettiin GAFF-voimakenttää, johon lisättiin kokeellisten tulosten perusteella isomerisaatioenergiaväliksi 0,6 kcal/mol. Osittaisvaraukset laskettiin Antechamber-ohjelmalla³⁹, joka käyttää semiempiiristä AM1-teoriaa¹⁰. Vedellä käytettiin TIP3P-mallia⁴¹ ja muille liuottimille otettiin parametrit AMBER-voimakentästä¹⁶. Jokaiselle liuottimelle suoritettiin kaksi simulaatiota, joissa käytettiin 300 K ja 330 K lämpötiloja ja lähtörakenteena laskostumatonta konformaatiota. Asetonitriilille käytettiin PBC-laatikkoa, jonka sivun pituus oli 7 nm. Kloroformille sivun pituus oli 6 nm ja vedellä ja metanolilla 5 nm.

Simulaatioiden perusteella laskostumiseen vaikuttaa merkittävästi liuotinympäristö.⁶⁷ Kloroformilla on denaturoiva vaikutus foldameeriin, mikä aiheutti pitkän laskostumisajan (~1500 ns). Vesi muodostaa voimakkaan vetysidosverkoston foldameeriin, mikä aiheutti pitkät 650 ns (330 K) ja 900 ns (300 K) laskostumisajat. Asetonitriilissä laskostuminen tapahtui 100 ns:ssa (330 K) ja 200 ns:ssa (300 K). Metanolissa laskostumisaika oli 100 ns (330 K) ja 400 ns (300 K). 300 K laskostumisaika metanolissa on hyvin linjassa kokeellisen THF/metanoliliuoksessa mitatun 160 ns ajan kanssa, jos otetaan huomioon THF:n laskostumista nopeuttava vaikutus.

3.3.3 Amiinisubstituoitu fenyyliaesityleenifoldameerin REMD- ja MD-simulaatiot

Viiden erilaisen 24 renkaisen amiinisubstituoitujen fenyyliaesityleenifoldameerin **27a-e** (12 monomeeriä joissa kaikissa 2 fenyylia; Kuva 27) laskostumista vedessä tutkittiin replikanvaihtomolekyylidynamiikalla (REMD) ja molekyylidynamiikalla (MD).⁷⁰ Foldameerit erosivat toisistaan ainoastaan eetterisivuketjun pituuden suhteen.



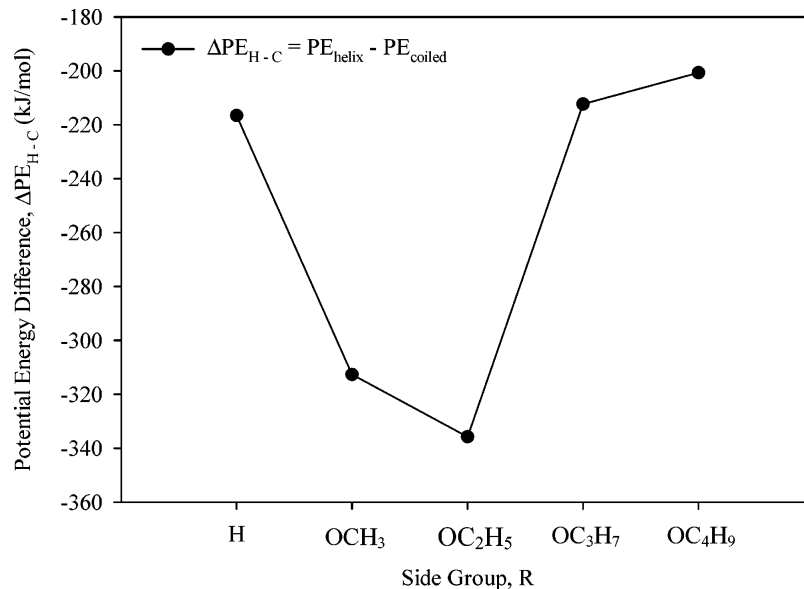
Kuva 27: a) Fenyyliaasetyleenifoldameerien rakenne, b) foldameerin pitkittäinen konformaatio, c) foldameerin laskostunut konformaatio ylhäältä ja d) sivulta kuvattuna. Reprinted with permission from⁷⁰. Copyright (2005) American Chemical Society.

REMD- ja MD-simulaatioissa käytettiin OPLS-AA²⁵-voimakenttää, jonka fenyylien välisiä torsioenergioiden parametrejä pienennettiin kokeellisiin tuloksiin pohjautuen.⁶⁸ Foldameereille etsittiin minimienergiarakenne tiheysfunktionaaliteorian B3LYP-funktiolla⁹ ja 6-31G** kantajoukolla.⁴⁰ Joitakin voimakentän atomivarauksia muokattiin RESP-menetelmällä¹⁹ laskettujen minimienergiarakenteiden varauksien perusteella. REMD-simulaatioissa käytettiin 44 systeemin kopiota, joiden lämpötila vaihteli 300-577 K. Kopioiden lämpötilat valittiin sen perusteella, että termodynaamisesti lähellä olevien kopioiden lämpötilojen vaihdoksien hyväksyttävyyuskertoimeksi saatiin 10-30 %. Vaihdoksia yritettiin 0,2 ps välein ja simulaatio kesti 2 ns. MD-simulaatiot suoritettiin 300 K lämpötilassa ja lähtörakenteena käytettiin molemmilla simulaatiotekniikoilla pitkittäistä konformaatiota. Simulaatiot suoritettiin vedessä, jolle käytettiin SPC-mallia⁷¹ ja simulaatiosysteemien energia minimoitiin L-BFGS-algoritmillä.⁷² Tällä vältettiin vesimolekyylien liian läheiset kontaktit toisiinsa ja foldameeriin. Sivuketjujen pituuden ja hydrofobisuuden vaikutusta laskostumiseen tutkittiin MD-simulaatioilla, joissa oli lähtörakenteena REMD-simulaatiolla saatu L-BFGS-algoritmillä minimoitu laskostunut konformaatio. Kaikki MD-simulaatiot kestivät 5 ns.

REMD-simulaatioilla foldameerit laskostuivat matalaenergisempiin konformaatioihin kuin MD-simulaatioissa, mikä tekee ainakin näiden foldameerien tapauksessa REMD-

menetelmästä tehokkaamman tavan löytää mahdollisimman pienienerginen konformaatio. MD-simulaatioissa konformaatiot jäivät paikalliseen energiainimiin, mikä on yleinen ongelma isojen molekyylien MD-simulaatioissa.²⁸ Laskostuneessa konformaatioissa hydrofobiset ryhmät olivat laskoksen sisällä ja ulkopuolella hydrofiiliset amiinit (Kuva 27).

MD-simulaatioissa, joissa oli lähtörakenteena laskostunut konformaatio, ei havaittu laskostumisen muutoksia, mikä osoittaa foldameerien suosivan vedessä laskostuneita muotoja. Etoksisubstituoidulla yhdisteellä **27c** laskostunut rakenne oli tiivein ja stabiilein. Konformaatioiden potentiaalienergioiden eron perusteella (Kuva 28) etoksia suuremmilla substituenteilla rakenteen laskos alkoi avautua ja energiaero pitkittäiseen konformaatioon pieneni. Etoksiryhmä maksimoi sivuketjun ja veden väliset repulsiivoimat, kun taas etoksia suuremmilla ryhmillä sivuketjujen väliset repulsiiviset steriset vuorovaikutukset kasvattavat laskoksen energiaa merkittävästi.



Kuva 28: Pitkittäisen ja laskostuneen konformaation potentiaalienergioiden ero sivuketjun pituuden funktiona. Reprinted with permission from⁷⁰. Copyright (2005) American Chemical Society.

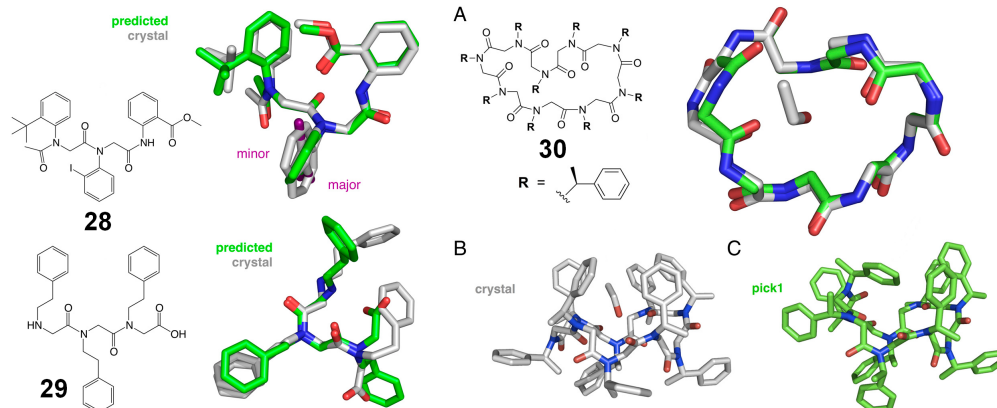
Foldameerille, jossa sivuketjuna on *n*-butoksi, tehtiin lisäksi MD-simulaatiot, joissa käytettiin 348, 373, 423, 473, ja 523 K lämpötiloja.⁷³ Nämä simulaatiot osoittivat, että laskostumisen päätekijänä ovat van der Waals-vuorovaikutukset ja ne pystyvät pitämään konformaation laskostuneena myös 523 K lämpötilassa. Näiden simulaatioiden rakenteet ovat hyvin lähellä kiderakenteita.

3.4 Peptoidifoldameerien REMD- ja tiheysfunktionaaliteoria- mallit

Butterfoss *et al.*⁷⁴ ovat kehittäneet tietokonemallia, jolla voidaan ennustaa erilaisten peptoidifoldameerien (Kuva 29) kiderakennetta. Peptoidit ovat peptidien kaltaisia foldameereja, joissa sivuketjut ovat kiinnittyneet tyypen eikä α -hiileen kuten peptideissä. Erilaisia konformaatioita etsittiin replikanvaihtomolekyyliidynamiikalla (REMD), jossa käytettiin GAFF-voimakenttää¹⁷ ja 300-800 K lämpötilaa. Peptoideilla esiintyy amidin korkeaenerginen *cis-trans* isomerisaatiovalli, mikä johtaa helposti siihen, että konformaatio jää paikalliseen energiaminimiin. Tämä estettiin käyttämällä korkeaa 800 K lämpötilaa.

Yhdisteen **28** kiderakenne koostuu merkittävästä (98 %) ja vähäisestä (2 %) konformaatiosta. Paras REMD-simulaatioilla saadun konformaation pääketjun atomien sijainnin neliöllinen keskihajonta (RMSD) erosi noin 0,6 Å kiderakenteesta. Kun kiderakennetta lähimpänä ollutta rakennetta optimoitiin Hartree-Fock/3-21G*⁴⁰ (HF) tason teoriolla, RMSD erosi enää 0,2 Å kiderakenteesta. M052X-menetelmällä⁷⁵ (kantajoukkona 3-21G*) saatiin kiderakenteen merkittävän ja vähäisen konformaation energiaeroksi 0,9 kcal/mol.

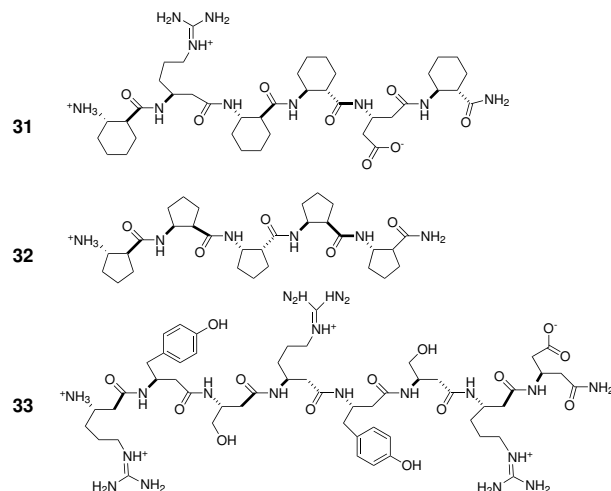
Yhdisteelle **29** saatiin REMD-simulaatioilla konformaatio, jonka RMSD erosi 0,8 Å kiderakenteesta, kun sitä optimoitiin HF/3-21G*-tason teoriolla. Ero voidaan selittää sillä, että kiderakenteen konformaatioiden muodostumiseen vaikuttavat suuresti kidehilan vuorovaikutukset, joita on vaikea ennustaa tarkasti liuostilan simulaatioilla. Kiderakenne koostui kahdesta konformaatiosta 69 % ja 31 % suhteessa. Tähän päädyttiin myös DFT-laskuilla, joiden mukaan kaksi rakennetta ovat energieettisesti hyvin lähellä toisiaan. B3LYP-menetelmällä⁹ kahden rakenteen energiaero oli 0,65 kcal/mol ja M052X-menetelmällä 2,35 kcal/mol. Näissä laskuissa kantajoukkona käytettiin 3-21G*:a.



Kuva 29: Foldameerit **28-30**. Vihreällä laskennalliset rakenteet ja harmaalla kiderakenteet. Reprinted with permission from⁷⁴. Copyright (2012) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

Ennustetun rakenteen RMSD yhdisteelle **30** poikkesi kiderakenteesta 1 Å ja 0,47 Å, jos ei oteta huomioon pääketjun taipuneita atomeja (Kuva 29). Kiderakenteen amidien *cis-trans* muoto onnistuttiin ennustamaan täsmälleen oikein ja ainoastaan kahden amidin sidoskulma ennustettiin väärin. M052X-menetelmällä (kantajoukkona 3-21G**) laskettiin ennustetun rakenteen olevan 2,09 kcal/mol alemmalla energiatilalla kuin kiderakenne. Tätä energiaeroa kokeiltiin pienentää ottamalla laskuissa huomioon kiteytysliuotin etanoli, jolloin energiaero pieneni 1,14 kcal/mol HF/3-21G*-optimoinnissa. Tämä osoittaa, että mikäli halutaan ennustaa kiderakenteita tarkasti, täytyy ottaa huomioon liuottimen ja kidehilan vuorovaikutukset, etenkin pienten foldameerien tapauksessa, joissa molekyylien välisillä vuorovaikutuksilla on enemmän vaikutusta kuin molekyylin sisäisillä.

3.5 β -peptidifoldameerien MD-simulaatiot



Kuva 30: β -peptidifoldameerit **31**, **32** ja **33**.

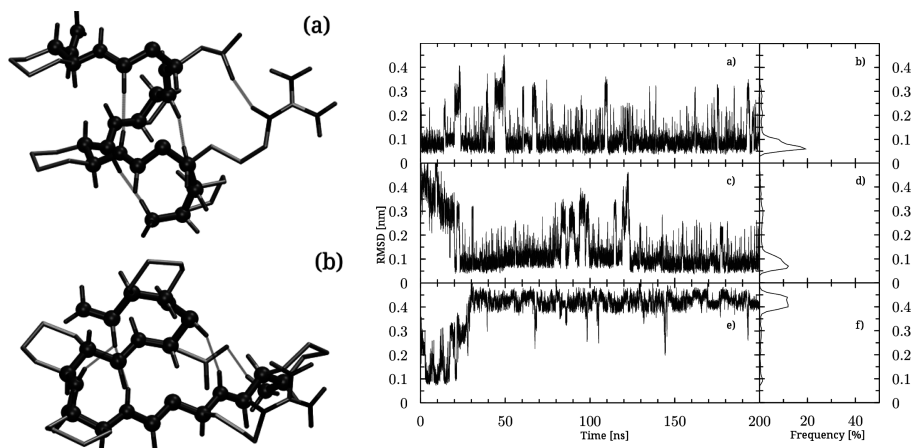
Nemeth *et al.*⁷⁶ tutkivat molekyyliydynamiikalla kolmen eri β -peptidifoldameerin **31-33** (Kuva 30) laskostumista vedessä. MD-simulaatiot suoritettiin käyttämällä AMBER-03⁷⁷- ja GAFF-voimakenttiä.¹⁷ Aluksi foldameerit optimoitiin *ab initio* Hartree-Fock-teoriolla (HF) ja 6-31G* kantajoukolla.⁴⁰ Optimoidusta rakenteesta laskettiin atomeille varaukset RESP-menetelmällä.¹⁹ Tätä laskettua varausjakaumaa käytettiin molemmilla voimakentillä.

Varsinaiset MD-simulaatiot (Taulukko 6) suoritettiin vedessä ja lisäksi foldameerille **32** suoritettiin simulaatiot DMSO:ssa. Vedelle käytettiin kaikissa simulaatioissa TIP3P-mallia. Simulaatiot kestivät 200 ns ja ne suoritettiin 1 fs askelilla 340 K lämpötilassa. Simulaatioiden konformaatiot tunnistettiin klusterianalyysillä, joka suoritettiin atomien sijaintien neliöllisen keskihajonnan (RMSD) avulla. AMBER-03-voimakenttää käytettäessä (simulaatio 31-1) Foldameeri **31** jakautui kahteen konformaationaaliseen klusteriin, joista suosituin (75 % simulaatioajasta) oli klusteri, jossa foldameeri oli laskostuneessa tilassa muistuttaen helikaalista kokeellisesti havaittua konformaatiota (Kuva 31). Simulaatiossa havaittiin vain satunnaisesti laskostumatonta klusteria. Kun lähtörakenteena käytettiin laskostumatonta konformaatiota (simulaatio 31-2), konformaatio laskostui 20 ns jälkeen (Kuva 31). GAFF-voimakentällä (simulaatio 31-3) foldameerin **31** konformaatio vaihtui pois helikaalisesta lähtörakenteesta 30 ns jälkeen ja pysyi laskostumattomana koko loppusimulaation. Simulaatioista 31-1 ja 31-3 laskettiin

NOE-etäisyydet ja verrattiin näitä kokeellisiin tuloksiin. AMBER-voimakentällä (31-1) simulaation tulokset oli yhteneväiset kokeellisten NOE-etäisyyksien kanssa, kun taas GAFF:lla (31-3) nämä erosivat.

Taulukko 6: Simulaatioiden asetukset.

Foldameeri (Atom. lkm.)	Liutinmalli	Vesimolekyylejä	Lähtörakenne	Voimakenttä	Sim. nimi
31 (127)	TIP3P	3137	Helikaalinen	AMBER	31-1
	TIP3P	3254	Laskostumaton	AMBER	31-2
	TIP3P	3137	Helikaalinen	GAFF	31-3
32 (90)	TIP3P	2254	Laskostumaton	AMBER	32-1
	TIP3P	2254	Laskostumaton	GAFF	32-2
	DMSO	985	Laskostumaton	AMBER	32-3
	DMSO	985	Laskostumaton	GAFF	32-4
33 (182)	TIP3P	3800	Helikaalinen	AMBER	33-1
	TIP3P	3800	Helikaalinen	GAFF	33-2



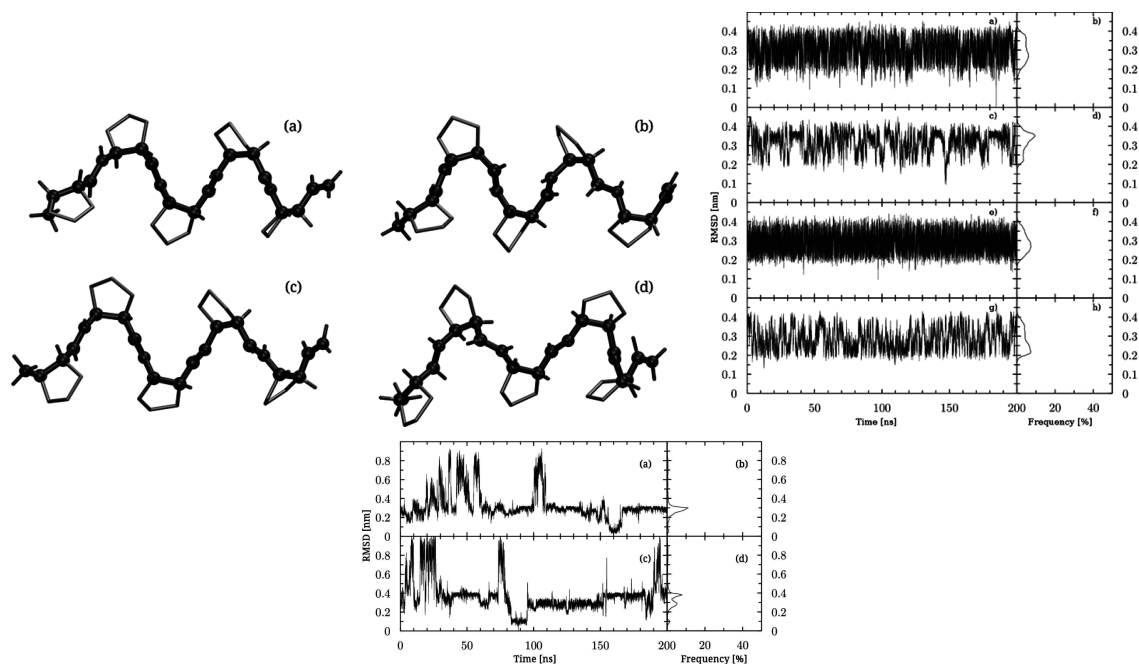
Kuva 31: Simulaatioiden 31-1 a) ja 31-3 b) suosituimmat konformaatiot ja simulaatioiden 31-1, 31-2 ja 31-3 RMSD ajan funktiona. Reprinted with permission from⁷⁶. Copyright (2014) American Chemical Society.

Peptidi **32**:n simulaatioissa käytettiin aloitusrakenteena nauhamaista rakennetta ja liuottimena vettä ja DMSO:ta.⁷⁶ Simulaatioissa käytettiin GAFF-voimakentän parametrejä, jonka varaukset oli laskettu RESP-menetelmällä. Kaikissa simulaatioissa havaittiin vain yksi klusteri, jonka konformaatio vaihteli erilaisten nauhamaisten rakenteiden välillä (Kuva 32). Konformationaalista vaihtelua havaittiin enemmän kuin foldameerin **31** tapauksessa. Kokeelliset NOE-etäisyydet olivat linjassa kaikkien tehtyjen simulaatioiden kanssa, kun taas simulaatioista lasketut kytkeväköt vastasivat kokeellisia vain

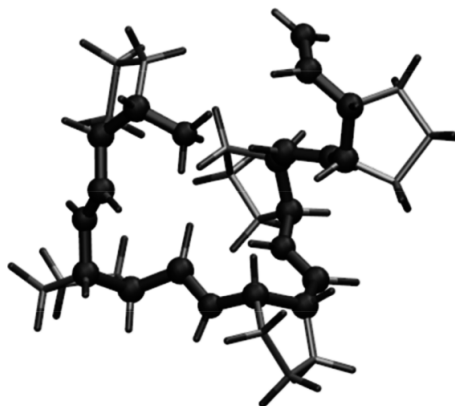
AMBER-03-voimakentällä tehdyissä simulaatioissa. GAFF-voimakentällä kytkentävakiot jäivät pienemmäksi kuin mitä ne todellisuudessa ovat. Tämän selitettiin johtuvan HN-H α torsiokulmien jakaumien eroista eri voimakentillä. GAFF-voimakentällä HN-H α torsiokulma vaihtelee 180 asteen molemmin puolin, mikä alentaa kytkentävakiota todellista tasoa alemmaksi. AMBER-03-voimakenttä taas tuottaa torsiokulman, joka suosii 180 asteen kulmaa, mikä nostaa kytkentävakiot kokeellisten arvojen tasolle. Potentiaalienergiapintojen skannaus, joka tehtiin HN-H α torsiokulmalle *ab initio* toisen asteen Møller-Plesset häiriöteorialla (MP2) ja cc-PVTZ kantajoukolla, tuki myös AMBER-03-voimakentällä saatua torsiokulmien jakaumaa. GAFF-voimakentän torsiokulmat perustuvat Ryckaert-Bellemanin potentiaaleihin,¹⁷ kun taas AMBER-03-voimakentässä ne perustuvat jaksollisten funktioiden ja Lennard-Jones potentiaalien kombinaatioon.⁷⁷ Tämä kombinaatio näyttäisi kuvaavan realistisemmin foldameerien torsiokulmia kuin GAFF-voimakentän parametrit.

Foldameeri **33** simulaatioissa ei havaittu selkeästi dominoivaa konformaatiota kummallakaan voimakentällä (Kuva 32), minkä myös kokeelliset tulokset vahvistavat. Klusterianalyysi osoitti, etteivät foldameerin **33** argiinitähteet sitoutuneet muiden tähteiden kanssa, mistä johtuen foldameeri **33** ei laskostu.

Liuottimen vaikutusta foldameerien laskostumiseen testattiin tekemällä 31-1-, 31-2- ja 32-1-simulaatiot tyhjiössä. Simulaatioissa 31-1 ja 31-2 konformaatio pysyi aloituskonformaatiossa. 32-1-simulaatiossa varautunut N-pääte sitoutui pääketjun amidihapteen tuottaen taipuneita konformaatioita nauhamaisten konformaatioiden sijaan (Kuva 33). Nämä tulokset osoittavat, että liuottimella on suuri rooli β -peptidifoldameerien laskostumisessa.



Kuva 32: Foldameerille **32** tehtyjen simulaatioiden suosituimmat konformaatiot, a-d ja foldameeri 33-1 ja 33-2 simulaatioiden RMSD:t ajan funktiona (oik. 33-1 ja alla 33-2). Reprinted with permission from⁷⁶. Copyright (2014) American Chemical Society.



Kuva 33: Tyhjiössä tehdyn simulaation 32-1 suosituin konformaatio. Reprinted with permission from⁷⁶. Copyright (2014) American Chemical Society.

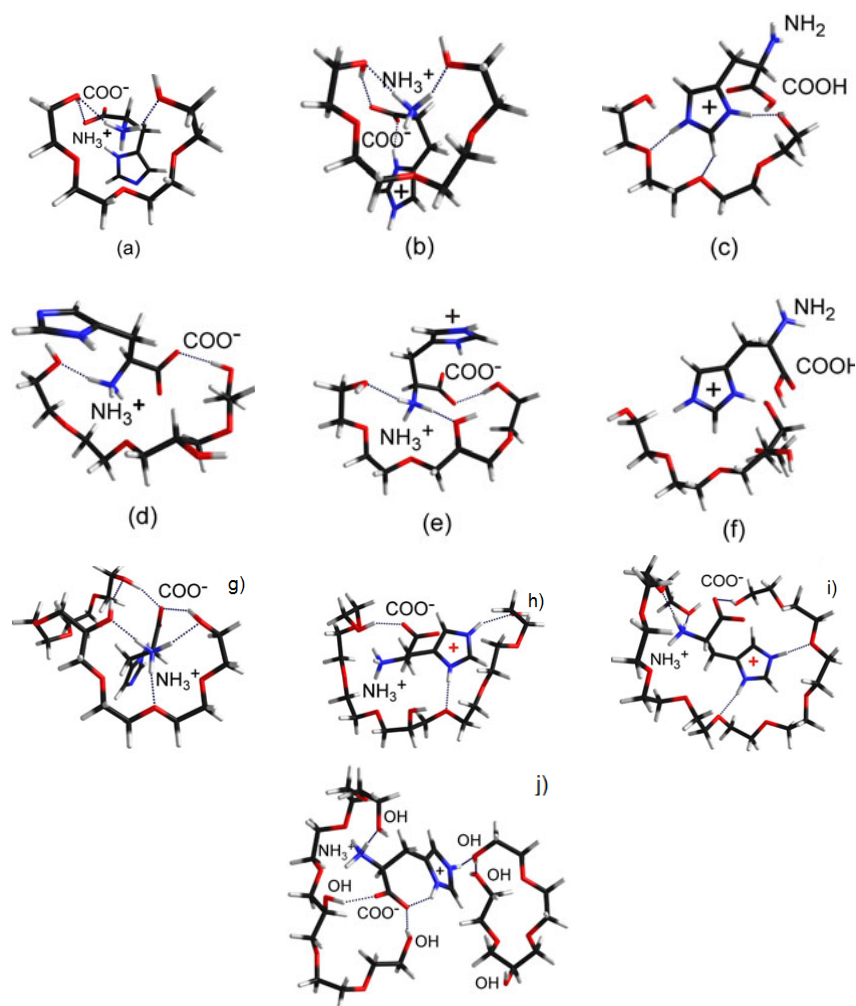
3.6 Bio-oligomeerikompleksien simulointi

Orgaanisia nanopartikkeleita, jotka koostuvat biomolekyylin ympärille kiertyneistä polymeereistä, voidaan tulevaisuudessa käyttää esimerkiksi lääkeaineiden kuljetukseen ja kudosten kylmäsuojauksessa.⁷⁸ Biomolekyylin ja polymeerin välisten vuorovaikutusten tunteminen on olennaista orgaanisten nanopartikkelien suunnittelussa⁷⁸ ja molekyyli-

dynamiikka on edullinen ja yksinkertainen työkalu molekyylien välisten vuorovaikutusten tutkimiseksi. Zobnina *et al.*^{78,79} ovat tutkineet molekyyldynamiikalla komplekseja, joissa on erilaisia oligomeerejä koordinoituneena nukleiinihapon sytosiiniemäkseen tai histidiiniaminohappoon.

Sytosiinikompleksissa käytettiin polymeerinä polyetyleeniglykolia PEG-400 ja histidiinissä PEG-400:a ja oksietyylylglyserolia OEG-5. Sytosiini oli protonoituneena, koska neutraalina kompleksia ei saatu muodostumaan. Histidiiniä simuloitiin protonoituneena (varaus delokalisoitunut imidatsoliin) tai neutraalina ja emäs-happoryhmä oli joko neutraalissa muodossa tai kahtaisionina. Kaikissa simulaatioissa käytettiin CHARMM-voimakenttää.²¹

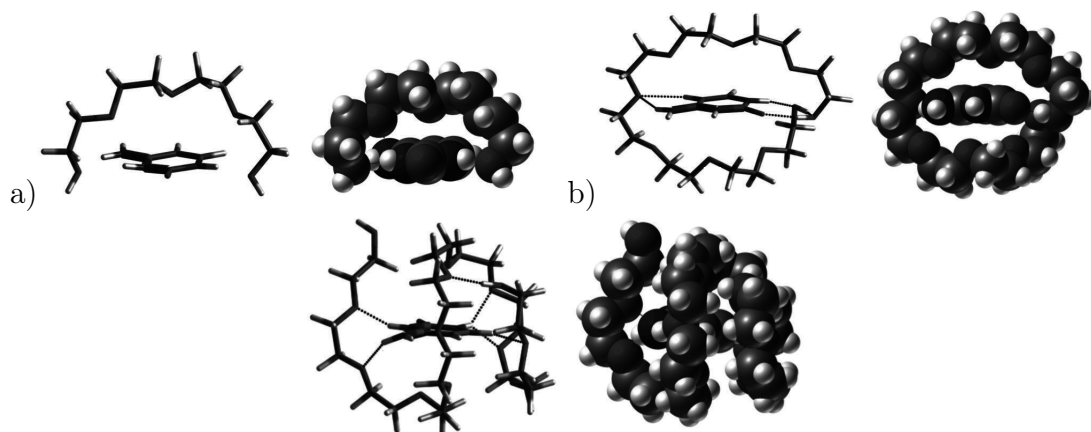
Histidiinikomplekseja simuloitiin vakuuissa 0,2 ns 300 K lämpötilassa, jota edelsi 1 ps potentiaalienergian minimointivaihe.⁷⁸ Simulaatiot alkoivat tilanteesta, jossa oligomeeri oli pisimmässä muodossaan histidiinin lähellä. Tämä johti nopeasti kompleksin muodostumiseen, kun oligomeerin esterihapet koordinoituivat histidiinin varautuneiden osien ympärille (Kuva 34). Ainoastaan, kun histidiini oli täysin neutraalissa muodossa, kompleksia ei muodostunut, koska tämä oli energieettisesti epäsuotuisaa. Kun oligomeerien kokona käytettiin 3-4 monomeeriä, nämä koordinoituivat ensisijaisesti kahtaisionin ympärille. Emäs-happoryhmä oli neutraali ja koordinoituminen tapahtui varautuneeseen imidatsoliin. Kun oligomeerin koko kasvoi 6-10 monomeeriin, koordinoituminen tapahtui kaikkiin varautuneisiin osiin. Komplekseja, joissa oli protonoitunut histidiini, tutkittiin myös elektronisuihkumassaspektrometrialla ja päädyttiin samanlaisiin rakenteisiin kuin simulaatioissa. Simulaatiot osoittivat, että käytetyt oligomeerit pystyvät sitomaan pieniä proteiineja ja estävät näin faasimuutoksen jäätymisen aikana, joten näistä voisi olla hyötyä kylmäsuojauksessa.



Kuva 34: Simulaatioista saadut rakenteet PEG-400 komplekseille (a-c ja i) ja OEG-5 komplekseille (d-h ja j). Rakenteissa a,d ja g imidatsoli on neutraali ja rakenteissa c ja f kahtaisioni. Reprinted with permission from⁷⁸. Copyright 2012 John Wiley & Sons, Ltd.

Sytosiinikomplekseja simuloitiin vakuumissa, metanolissa ja tilanteessa, jossa metanolitippa haihtuu kompleksin ympäriltä pois.⁷⁹ Komplekseissa oli sytosiinin ympärille koordinoituneena 4, 8 tai 12 monomeerin pituinen PEG-400 oligomeeri (Kuva 35). Simulaatioissa minimoitiin ensin rakenteiden potentiaalienergioita 1 ps ajan ja varsinaiset simulaatiot kestivät 1 ns ja suoritettiin NPT-olosuhteissa.

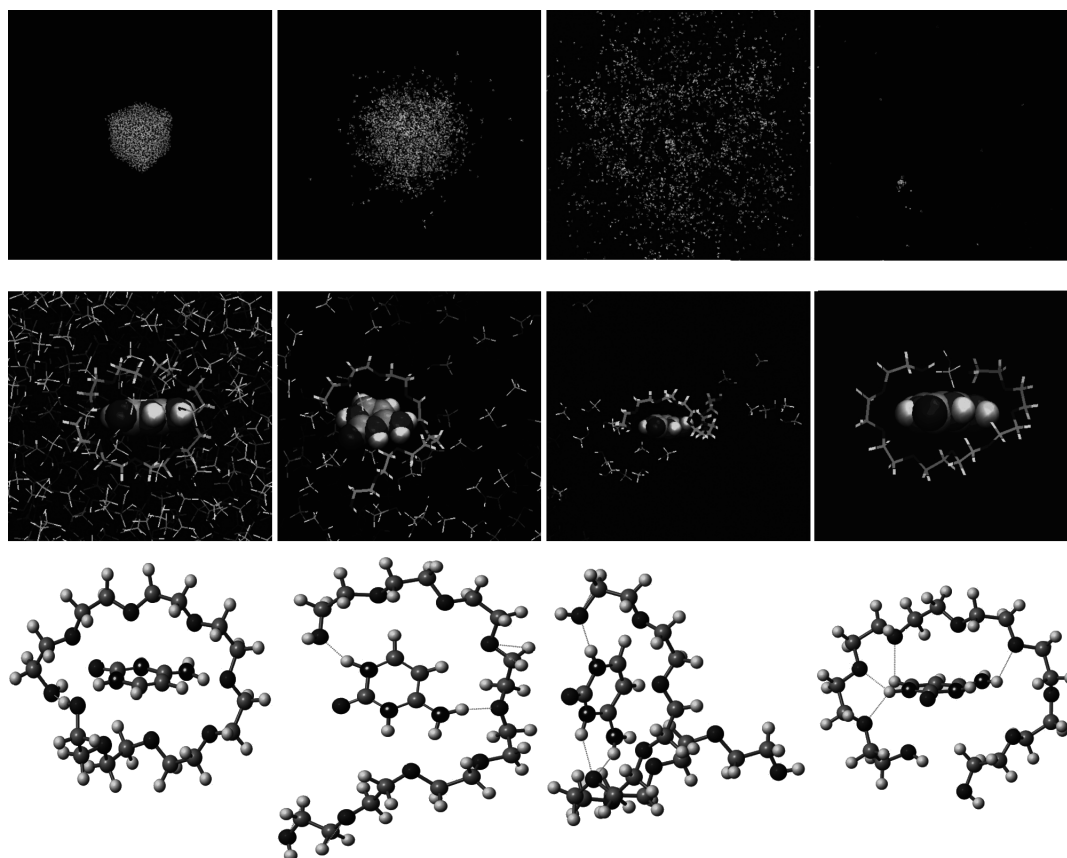
Vakuumisimulaatio (lämpötila 300 K) tehtiin kaikille kolmelle sytosiinikompleksille. Kaikissa komplekseissa PEG-400:a eetterihapet koordinoituivat sytosiinin delokalisoituneen protonin ympärille. Pisin oligomeeri koordinoitui sytosiinin ympärille helikaalisesti ja pienemmät rengasrakenteisesti.



Kuva 35: Protonoituneen sytosiinin ympärillä on PEG-400 oligomeeri, joka koostuu neljästä (a), 8 (b) ja 12 (c) monomeeristä. Reprinted with permission from⁷⁹. Copyright 2015 John Wiley & Sons, Ltd.

8 monomeeriyksikön pituista PEG-400 oligomeerin kompleksia simuloitiin metanolitipassa, joka koostui 3000 metanolimolekyylistä ja keskellä sijaitsevasta kompleksista. Systeemiä pidettiin 1 baarin paineessa ja 300 K lämpötilassa. Kompleksi pysyi koossa koko 1 ns simulaatioajan, mutta koska simulaatioaika on lyhyt kompleksin todellisesta kestävydestä metanolissa ei voida tehdä johtopäätöksiä.

Kompleksille tehtiin vielä simulaatio, jossa metanolitipan annettiin haihtua 500 K lämpötilassa ja 10^{-2} Pa alipaineessa (Kuva 36). Tämän simulaation tarkoituksena oli ennustaa, kestääkö kompleksi elektronisuihkuionisaation (ESI) olosuhteet hajoamatta. Metanolin haihtuessa oligomeeriketjun rengasrakenne rikkoutui tilapäisesti. Metanoli haihtui täydellisesti 0,14 ns jälkeen, mutta vielä 0,022 ns kohdalla kompleksiin oli sitoutuneena metanolimolekyylejä. Haihtumisen jälkeen oligomeerin rengasrakenne palautui ja kompleksi käyttäytyi lopun simulaatioajan samalla tavalla kuin vakuuimissa. Simuloitu prosessi vastaa ionien muodostumista ESI:ssä, jossa myös käytettiin metanolia. Kun lämpötilaa laskettiin 400 K:iin haihtumisprosessi kesti noin kaksi kertaa kauemmin. 300 K lämpötilassa haihtumista ei tapahtunut 1 ns aikana juuri lainkaan, mikä pystyttiin myös vahvistamaan kokeellisesti ESI:llä. Nyt käytetyllä simulaatiomallilla voidaan ennustaa jatkossa samankaltaisten biokompleksien kestävyttä ESI:ssä.



Kuva 36: Metanolitipan haihtumisen eri vaiheet: Vasemmalla alkutilanne, jonka jälkeen tilanne 1,5 ps, 22 ps ja 0,14 ns jälkeen. Ylimmät kuvat koko metanolitipasta, keskimmäisellä rivillä kuvissa on kompleksi suurennettuna ja alimmassa rivissä kuvissa pelkän kompleksin rakenne eri tilanteissa. Lämpötila 500 K. Reprinted with permission from⁷⁹. Copyright 2015 John Wiley & Sons, Ltd.

4 Yhteenveto

Laskennallisista menetelmistä on tullut olennainen osa foldameerien kehitystyötä. Foldameerien olennaisin ominaisuus on niiden kyky laskostua liuostilassa. Tämän tutkimiseen tehokkain menetelmä ovat molekyyliidynamiikka (MD) ja replikanvaihtomolekyyliidynamiikka (REMD), joilla pystytään ennustamaan liuostilan konformaatioita melko luotettavasti. Ennen varsinaisia MD- tai REMD-simulaatiota rakenteet optimoidaan hyvin usein jollakin kvanttimekaniikan menetelmällä. Optimoitujen rakenteiden perusteella muokataan voimakentän parametrit. Tärkeimpiä parametrejä ovat varausparametrit, jotka yleensä lasketaan optimoiduista rakenteista RESP-menetelmällä. Varsinaisten simulaatioiden jälkeen löydetty rakenteet optimoidaan kvanttimekaniikan me-

netelmillä, jolloin löydetään luotettavasti stabiilein konformaatio ja saadaan tietoa, miten liuotin vaikuttaa konformaatioiden stabiilisuuteen. Jos tarvitaan ainoastaan tietoa mitattujen rakenteiden energioista (esimerkiksi kiderakenteet), käytetäänkin pelkkää tiheysfunktionaaliteoria, millä voidaan luotettavasti etsiä rakenteelle energiaminimi erilaisissa tilanteissa, kuten kaasufaasissa tai liuoksessa.

Proteiinien konformaatioiden tutkimisessa on usein ongelmana niiden jääminen pysyvästi paikalliseen energiaminimiin, mistä johtuen MD:llä ei välttämättä löydetä kaikkia mahdollisia konformaatioita. Tämä ongelma koskee myös proteiinejä läheisesti muistuttavia foldameerejä. Tähän on ratkaisuna REMD-menetelmä, jossa käytetään useita eri lämpötiloja, mikä estää konformaatioiden jäämisen paikalliseen energia minimiin.

Foldameerien laskennallisten menetelmien tulevista mahdollisuuksista antavat viitteitä tutkimukset, joissa molekyylidynamiikalla on mallinnettu systeemejä, joissa foldameereihin on kiinnittynyt jokin substraatti. Jo hyvin yksinkertaisella simulaatiolla saatiin tietoa siitä, että foldameerejä voidaan mahdollisesti käyttää kylmäsuojauksessa. Jos laskentateho kasvaa vielä merkittävästi, esimerkiksi kvanttietokoneiden avulla,⁸⁰ molekyylidynamiikka voidaan korvata kokonaan *ab initio* -molekyylidynamiikalla (AIMD),²⁹ jolloin voidaan simuloida erittäin tarkasti erilaisia systeemejä kvanttimekaniikalla. Laskentatehon kasvaessa voidaan simuloida erittäin suuria systeemejä (esimerkiksi lääkeaineen vaikutusta verenkierrössä) pitkällä aikavälillä tarkasti. Tämä tulee vähentämään merkittävästi kalliin kokeellisen kemian tarvetta.

Viitteet

- [1] Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173–180.
- [2] Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893–4012.
- [3] Goodman, C. M.; Choi, S.; Shandler, S.; Degrado, W. F. *Nat. Chem. Biol* **2007**, *3*, 252–262.
- [4] Guichard, G.; Huc, I. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 5933–5941.
- [5] Levine, I. In *Quantum Chemistry*; Cliffs, E., Ed.; Prentice Hall, 1991.

- [6] Roothaan, C. C. J. *Rev. Mod. Phys.* **1951**, *23*, 69–89.
- [7] Möller, C.; Plesset, M. S. *Phys. Rev.* **1934**, *46*, 618–622.
- [8] Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev.* **1965**, *140*, A1133–A1138.
- [9] Kim, K.; Jordan, K. D. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 10089–10094.
- [10] Dewar, M. J. S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902–3909.
- [11] Stewart, J. J. P. *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 209–220.
- [12] Pople, J. A.; Beveridge, D. L. *Approximate molecular orbital theory*; McGraw-Hill New York, 1970; Vol. 30.
- [13] Möhle, K.; Hofmann, H.-J.; Thiel, W. *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 509–520.
- [14] Karplus, M.; McCammon, J. A. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2002**, *9*, 646–652.
- [15] Schlick, T. *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide*; Springer, 2010.
- [16] Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5179–5197.
- [17] Wang, J.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157–1174.
- [18] Momany, F. A. *J. Phys. Chem.* **1978**, *82*, 592–601.
- [19] Bayly, C. I.; Cieplak, P.; Cornell, W.; Kollman, P. A. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 10269–10280.
- [20] Coutsiias, E. A.; Seok, C.; Dill, K. A. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1849–1857.
- [21] Brooks, B. R. et al. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 1545–1614.
- [22] Reif, M. M.; Hünenberger, P. H.; Oostenbrink, C. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 3705–3723.

- [23] Jorgensen, W. L.; Tirado-Rives, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1657–1666.
- [24] Rappe, A. K.; Casewit, C. J.; Colwell, K. S.; III, W. A. G.; Skiff, W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10024–10035.
- [25] Jorgensen, W. L.; Maxwell, D. S.; Tirado-Rives, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11225–11236.
- [26] Frenkel, D.; Smit, B. *Understanding Molecular Simulation*, 2nd ed.; Academic Press, Inc.: Orlando, FL, USA, 2001.
- [27] Metropolis, N.; Rosenbluth, A. W.; Rosenbluth, M. N.; Teller, A. H.; Teller, E. *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 1087–1092.
- [28] Sugita, Y.; Okamoto, Y. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *314*, 141–151.
- [29] Pophristic, V.; Vemparala, S.; Ivanov, I.; Liu, Z.; Klein, M. L.; ; DeGrado, W. F. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3517–3526.
- [30] Hamprecht, F. A.; Cohen, A. J.; Tozer, D. J.; Handy, N. C. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 6264–6271.
- [31] Liu, Z.; Teslja, A.; Pophristic, V. *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 1846–1858.
- [32] Liu, Z.; Remsing, R. C.; Liu, D.; Moyna, G.; Pophristic, V. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 7041–7044.
- [33] Liu, Z.; Remising, R.; Moyna, G.; Pophristic, V. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **2008**, *236*, COMP– 001.
- [34] Abramyan, A. M.; Liu, Z.; Pophristic, V. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 20406–20410.
- [35] Garric, J.; Leger, J.-M.; Huc, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1954–1958.
- [36] Zhang, B.; Yuan, T.; Jiang, H.; Lei, M. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 10934–10941.
- [37] Jiang, H.; Leger, J.-M.; Dolain, C.; Guionneau, P.; Huc, I. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8365–8374.

- [38] Froimowitz, M. *BioTechniques* **1993**, *14*, 1010–1013.
- [39] Wang, J.; Wang, W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Mol. Graph.* **2006**, *25*, 247 – 260.
- [40] Ditchfield, R.; Hehre, W. J.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys* **1971**, *54*, 724–728.
- [41] Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. *J. Chem. Phys* **1983**, *79*, 926–935.
- [42] Dolain, C.; Grelard, A.; Laguerre, M.; Jiang, H.; Maurizot, V.; Huc, I. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6135–6144.
- [43] Mohamadi, F.; Richards, N. G. J.; Guida, W. C.; Liskamp, R.; Lipton, M.; Caulfield, C.; Chang, G.; Hendrickson, T.; Still, W. C. *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 440–467.
- [44] Allinger, N. L.; Yuh, Y. H.; Lii, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8551–8566.
- [45] Kortelainen, M.; Suhonen, A.; Hamza, A.; Pápai, I.; Nauha, E.; Yliniemelä-Sipari, S.; Nissinen, M.; Pihko, P. M. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 9493–9504.
- [46] Chai, J.-D.; Head-Gordon, M. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 6615–6620.
- [47] Monnee, M. C.; Marijne, M. F.; Brouwer, A. J.; Liskamp, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7991 – 7995.
- [48] Suhonen, A.; Morgan, I. S.; Nauha, E.; Helttunen, K.; Tuononen, H. M.; Nissinen, M. *Cryst. Growth Des.* **2015**, *15*, 2602–2608.
- [49] Weigend, F.; Ahlrichs, R. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3297–3305.
- [50] Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2999–3094.
- [51] Galan, J. F.; Tang, C. N.; Chakrabarty, S.; Liu, Z.; Moyna, G.; Pophristic, V. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 11883–11892.
- [52] Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5179–5197.

- [53] Galan, J. F.; Germany, E.; Pawlowski, A.; Strickland, L.; Galinato, M. G. I. *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 5304–5315.
- [54] Head-Gordon, M.; Pople, J. A.; Frisch, M. J. *Chem. Phys. Lett.* **1988**, *153*, 503 – 506.
- [55] Hobza, P.; Sponer, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11802–11808.
- [56] Grimme, S. *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1787–1799.
- [57] Emery, R.; Macleod, N. A.; Snoek, L. C.; Simons, J. P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2816–2820.
- [58] Blatchly, R. A.; Tew, G. N. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8780–8785.
- [59] Halgren, T. A. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 490–519.
- [60] Becke, A. D. *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098–3100.
- [61] Pickholz, M.; Stafström, S. *Chemical Physics* **2001**, *270*, 245 – 251.
- [62] Sen, S. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 11343–11350.
- [63] Lee, O.-S.; Saven*, J. G. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 11988–11994.
- [64] Nelson, J. C.; Saven, J. G.; Moore, J. S.; Wolynes, P. G. *Science* **1997**, *277*, 1793–1796.
- [65] Sidney, E.; Pande, V. S. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 482–485.
- [66] Sidney, E.; Pande, V. S. *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 12760–12771.
- [67] Sidney, E.; Sanghyun, P.; Pande, V. S. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*.
- [68] Okuyama, K.; Hasegawa, T.; Ito, M.; Mikami, N. *J. Phys. Chem. A* **1984**, *88*, 1711–1716.
- [69] Yang, W. Y.; Prince, R. B.; Sabelko, J.; Moore, J. S.; ; Gruebele*, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3248–3249.
- [70] Adisa, B.; Bruce, D. A. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 19952–19959.

- [71] Toukan, K.; Rahman, A. *Phys. Rev. B* **1985**, *31*, 2643–2648.
- [72] Nocedal, J. *Math. Comput.* **1980**, *35*, 785–789.
- [73] Adisa, B.; Bruce, D. A. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 7548–7556.
- [74] Butterfoss, G. L.; Yoo, B.; Jaworski, J. N.; Chorny, I.; Dill, K. A.; Zuckermann, R. N.; Bonneau, R.; Kirshenbaum, K.; Voelz, V. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 14320–14325.
- [75] Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G. *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 364–382, PMID: 26626525.
- [76] Nemeth, L. J.; Hegedüs, Z.; Martinek, T. A. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54*, 2776–2783.
- [77] Duan, Y.; Wu, C.; Chowdhury, S.; Lee, M. C.; Xiong, G.; Zhang, W.; Yang, R.; Cieplak, P.; Luo, R.; Lee, T.; Caldwell, J.; Wang, J.; Kollman, P. *J. Comput. Chem.* **2003**, *24*, 1999–2012.
- [78] Zobnina, V. G.; Kosevich, M. V.; Chagovets, V. V.; Boryak, O. A.; Vekey, K., S.key; Gomory, A.; Kulyk, A. N. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2012**, *26*, 532–540.
- [79] Zobnina, V. G.; Chagovets, V. V.; Boryak, O. A.; Kosevich, M. V. *J. Anal. Chem.* **2015**, *70*, 1533–1541.
- [80] Cai, J.; Cohen, I.; Retzker, A.; Plenio, M. B. *Phys. Rev. Lett.* **2015**, *115*, 160504.

Prologue

This study was part of the master's thesis of Matti Riih  and Jesse Hakkarainen. Molecular dynamics simulation and the interpretation of the results for acetylfoldamer **1** were done in co-operation. Simulations regarding foldamer **2a** were run by Matti and simulations of foldamer **3a** were run by Jesse. Both foldamers, **2a** and **3a**, and obtained results were included in the acetylfoldamer **1** work to summarize the foldamer group into one study. This report was written in a form of an article manuscript.

Conformational analysis of oligoamide foldamers with molecular dynamics

Abstract

Molecular dynamics simulations were performed by GROMACS software to study the conformational behaviour of three foldamers (acetylfoldamer **1**, foldamer **2a** and foldamer **3a**) in various solutions. Four different conformations were found in chloroform and eight different conformations in methanol for acetylfoldamer **1**. Foldamer **2a** was solvated in DMSO resulting in three different conformations. In foldamer **3a**, three conformations were found in chloroform and three in DMSO of which one conformation was found in both solvents. Conformations of all the three foldamers were separated by cluster analysis and DFT energies were calculated for all the conformations. The minimum energies of the conformations found from acetylfoldamer **1** simulations were also compared to those of the previous article. The results show that the solvent effects have a great impact on the conformational behaviour of the foldamers, and the popularity of certain conformations is not completely determined by the minimum energies of the conformations.

Introduction

Proteins possess remarkable range of chemical properties and they are thus an interesting subject for research in many fields of science. Folding of artificial polymers in compact and specific conformations makes them artificial mimics of the functional properties of proteins. The term "foldamer" is used to describe polymers with a strong tendency to adopt a specific compact conformation.¹ Peptidomimetic foldamers have

been developed for the purpose of replacing peptide substrates of enzymes or peptide ligands of protein receptors.²

Recently oligoamide foldamers have been observed to form certain conformations that resemble an oxyanion hole,^{3,4} which is a structural motif of enzymes. An oxyanion hole is formed by a net of a negatively charged oxygen and three amide hydrogens.

To efficiently mimic an enzyme the size of the foldamer should be large enough. Large foldamers, however, are harder to synthesize and characterize completely. Because of this, an accurate computational model for these foldamers is important. Quantum mechanical computational methods are accurate but rather expensive, and therefore unpractical to simulate larger systems. Additionally, QM-methods are not able to model systems in solution. Instead, molecular dynamics (MD) is a method to efficiently simulate large systems in solution with a long time scale. There are many examples where MD is used to simulate solution systems.⁵⁻⁸

The main focus of this study was to create a validated MD model for the foldamers, which can be used for designing of the foldamers in the future. This was done by choosing an experimentally characterized system, acetylfoldamer **1**, for the MD simulation (Figure 1). The knowledge obtained with acetylfoldamer **1** was then applied to the simulations of larger foldamers **2a** and **3a**.

Methods

Acetylfoldamer **1**

Molecular dynamics (MD) simulations were performed with GROMACS version 5.0.4 software.⁹ Interactions of acetylfoldamer **1** were modeled with OPLS-AA force field.¹⁰ The topology files for GROMACS are available as supporting information (Appendix 1). Two groups of simulations were carried out. The first was a simulation of the acetylfoldamer crystal structure, which was performed to test the validity of the OPLS-AA force field parameters, as an experimental reference structure is available.⁴ The crystal structure was made from 27 acetylfoldamer unit cells. This system was first energy minimized using the steepest descent for 500 steps and then simulated for 100 ns in vacuum with the temperature maintained at 173,15 K using the v-rescale thermostat.¹¹

In the second group of simulations a single foldamer in the crystal structure confor-

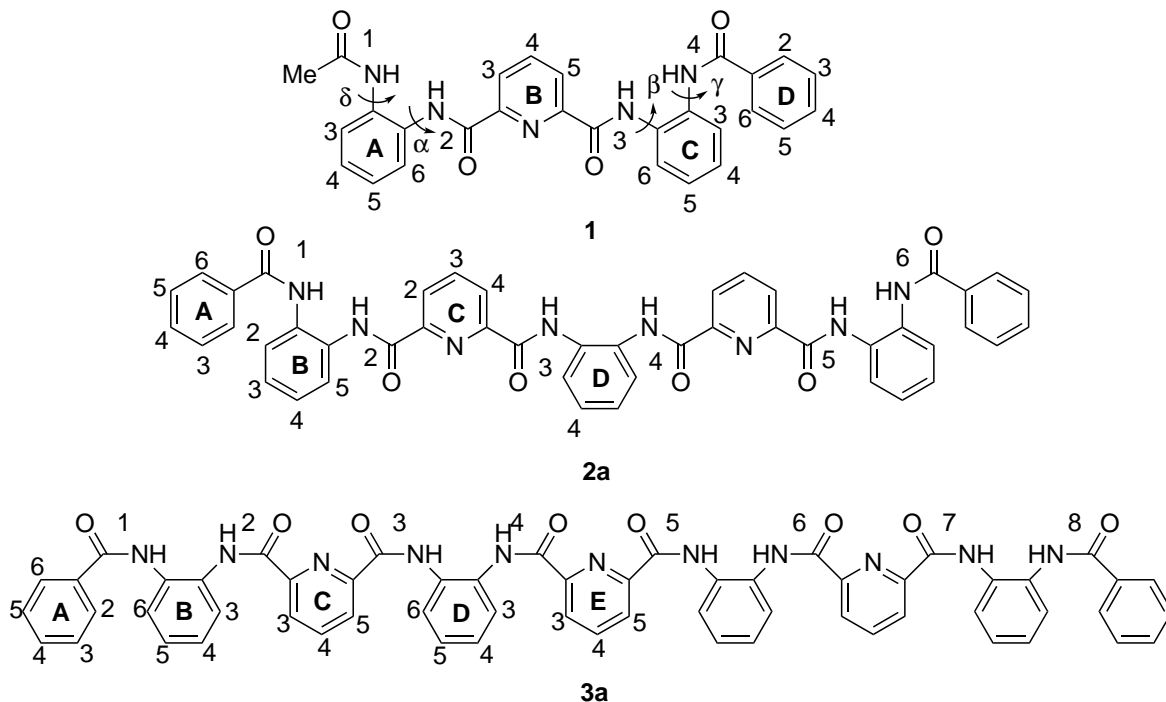


Figure 1: Numbering of atoms in the foldamer **1**, **2a** and **3a** and dihedral angles in foldamer **1**.

mation (S_1) was placed in 46.1 nm^3 (diameter = 1.63 nm) dodecahedron periodic box and the system maximum force was minimized below $500.0 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ with the steepest descent method. Minimized acetylfoldamer **1** in 46.1 nm^3 dodecahedron box was solvated by 462 chloroform molecules.^{12,13} The total mass of the solvated system is 55646.158 Da. Maximum force of the solvated system was minimized below $250.0 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ with the steepest descent of 5000 steps. The system was equilibrated first with 100 ps NVT ensemble and later with NPT ensemble in 2 fs steps. Finally 1 μs production MD simulation was done in 1 fs steps. The pressure was maintained at 1 atm with Parrinello-Rahman barostat^{14,15} and the system compressibility was set the same as chloroform (2.16 GPa^{-1}).^{12,13} Temperature was coupled to 300 K with a v-rescale thermostat. For short-range non-bonded interactions a verlet cutoff-scheme was used with $0.005 \text{ kJ mol ps}^{-1}$ buffer. For long-range electrostatic interactions the particle mesh Ewald (PME) method was applied with grid spacing of 0.16 nm and fourth-order interpolation¹⁶. Snapshots of simulations were taken every 0.5 ps for analysis. A simulation of 1 μs was done in methanol^{12,13} with the same parameters as in chloroform simulation. Different conformations in both solvents were identified with a cluster anal-

ysis, which was performed with GROMACS gmxc cluster program. The structures were added to the same cluster if their root-mean-square deviation (RMSD) was less than 0.08 nm. Dihedral angles of the conformations were calculated with GROMACS gmxc angle program. Conformations obtained from the cluster analysis were first minimized with Low-memory Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno quasi-Newtonian minimizer (L-BFGS) algorithm in OPLS-AA force field, and later DFT optimized using Gaussian 09 program¹⁷ at ω B97D-X/6-311G(d,p) level of theory. In the second set of optimizations, the conformations were first minimized (converge 10^{-5} kJmol⁻¹) in GAFF¹⁸ force field with AVOGADRO program¹⁹ and later in same level of theory as earlier. The number of hydrogen bonds was studied with gmxc hbond implemented in GROMACS. The hydrogen bond distances were calculated with GROMACS gmxc distance program for the NOE active atoms pairs as identified by Kortelainen et al⁴. Notation of the conformations was taken from the previous article.⁴ Letter m in all conformations means mirror form of the conformation.

Foldamer 2a

Molecular dynamics (MD) simulations were made with GROMACS version 5.0.4 software.⁹ Interactions of **2a** were modeled with OPLS-AA force field.¹⁰ A single foldamer in the crystal structure conformation, which is measured X-ray structure from DCM, was placed in a 44.3 nm³ (diameter = 5.402 nm) dodecahedron periodic box and the system maximum force was minimized below 500.0 kJ mol⁻¹ nm⁻¹ with the steepest descent method. Minimized foldamer **2a** in 44.3 nm³ dodecahedron box was solvated by 339 DMSO molecules.^{12,13} The total mass of the solvated system is 27436.954 Da. The maximum force of the solvated system was minimized below 250.0 kJ mol⁻¹ nm⁻¹ with the steepest descent of 5000 steps. The system was equilibrated first with 100 ps NVT ensemble and then with NPT ensemble in 2 fs steps. Finally 1 μ s production MD simulation was done in 2 fs steps. Pressure was maintained at 1 atm with Parrinello-Rahman barostat^{14,15} and system compressibility was set same as DMSO (0.41 GPa⁻¹).^{12,13} Temperature was coupled to 300 K with a v-rescale thermostat. For short-range non-bonded interactions a verlet cutoff-scheme was used with 0.005 kJ mol ps⁻¹ buffer. For long-range electrostatic interactions the particle mesh Ewald (PME) method was

applied with grid spacing of 0.16 nm and fourth-order interpolation¹⁶. Snapshots of simulation were taken every 5 ps for analysis. Different conformations were identified with the cluster analysis, which was performed with gmx cluster program. The structures were added to the same cluster if their root-mean-square deviation (RMSD) was less than 0.8 nm. Obtained conformations were DFT optimized using Gaussian 09 program at B3LYP/3-21G level of theory.¹⁷ The number of hydrogen bonds was studied with gmx hbond implemented in GROMACS.

Foldamer **3a**

Molecular dynamics (MD) simulations were made with GROMACS version 5.0.4 software⁹. Interactions of foldamer **3a** were modeled with OPLS-AA forcefield.¹⁰ Single foldamer in crystal structure conformation (S) was first placed in 62.2 nm³ (diameter = 2.06 nm) dodecahedron periodic box and system maximum force was minimized below 500.0 kJ mol⁻¹ nm⁻¹ with the steepest descent method. Minimized foldamer **3a** in 62.2 nm³ dodecahedron box was solvated by 591 CHCl₃^{12,13} molecules. Total mass of the solvated system is 71586.458 Da. Maximum force of the solvated system was minimized below 250.0 kJ mol⁻¹ nm⁻¹ with the steepest descent of 5000 steps. System was equilibrated first with 100 ps NVT ensemble and then with NPT ensemble in 2 fs steps and finally 1 μ s production MD simulation was done in 1 fs steps. Pressure was maintained at 1 atm with Parrinello-Rahman^{14,15} barostat and system compressibility was set same as CHCl₃^{12,13} (2.16 GPa⁻¹). Temperature was coupled to 300 K with v-rescale thermostat. For short-range nonbonded interactions verlet cutoff-scheme was used with 0.005 kJ mol ps⁻¹ buffer. For long-range electrostatic interactions was applied the particle mesh Ewald (PME) method with grid spacing of 0.12 nm and fourth-order interpolation¹⁶. Snapshots were taken from simulations every 0.5 ps for analysis. Foldamer **3a** was also soluted in DMSO by placing a single foldamer (helix) in 46.8 nm³ (diameter 1.6 nm) dodecahedron periodic box. Minimized foldamer in the 46.8 nm³ periodic box was then solvated by 346 DMSO molecules.^{12,13} Total mass of this solvated system was 28066.835 Da. The parameters for this simulation were kept the same, except for compressibility, which was set to 0.41 GPa⁻¹ and snapshots were taken every 5 ps for the analysis. Different conformations were identified with cluster analysis, which was

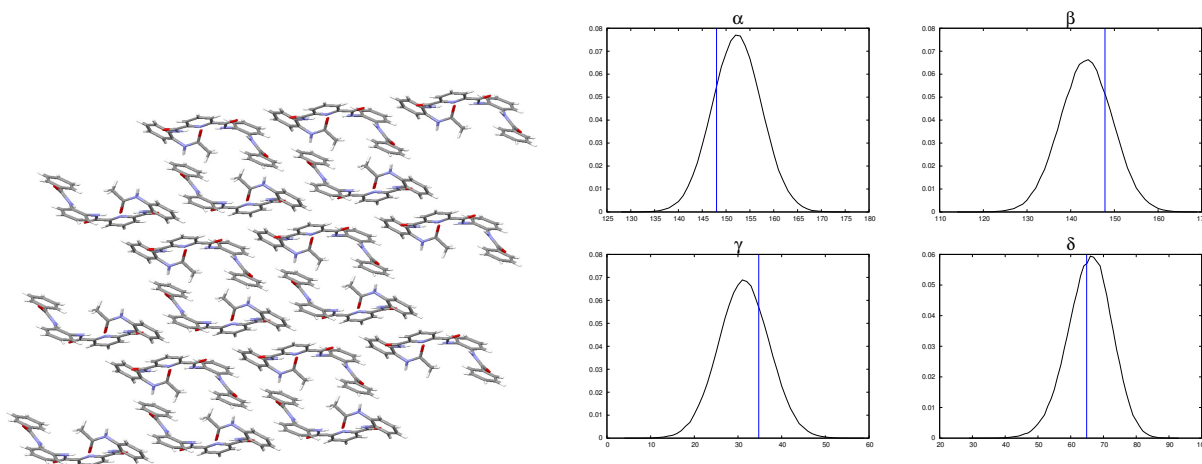


Figure 2: On the left: a picture of simulated crystal structure. On the right: dihedral angle distributions (α , β , γ , δ) of the crystal structure simulation. The vertical blue line represents the dihedral angle value from experimental X-ray structure.

performed with gmX cluster program. Structures were added to the same cluster if their root-mean-square deviation (RMSD) was less than 0.09 nm. Obtained conformations were DFT optimized using Gaussian 09 program¹⁷ at B3LYP/3-21G level of theory. The number of hydrogen bonds per timeframe was studied with gmX hbond implemented in GROMACS.

Results and discussion

Acetylfoldamer 1

The dihedral angle distributions of the crystal structure simulation (Figure 2) indicate that the structure stays intact through the 100 ns simulation. Therefore OPLS-AA force field seems to be suitable for the conformational analysis of the acetylfoldamer **1**.

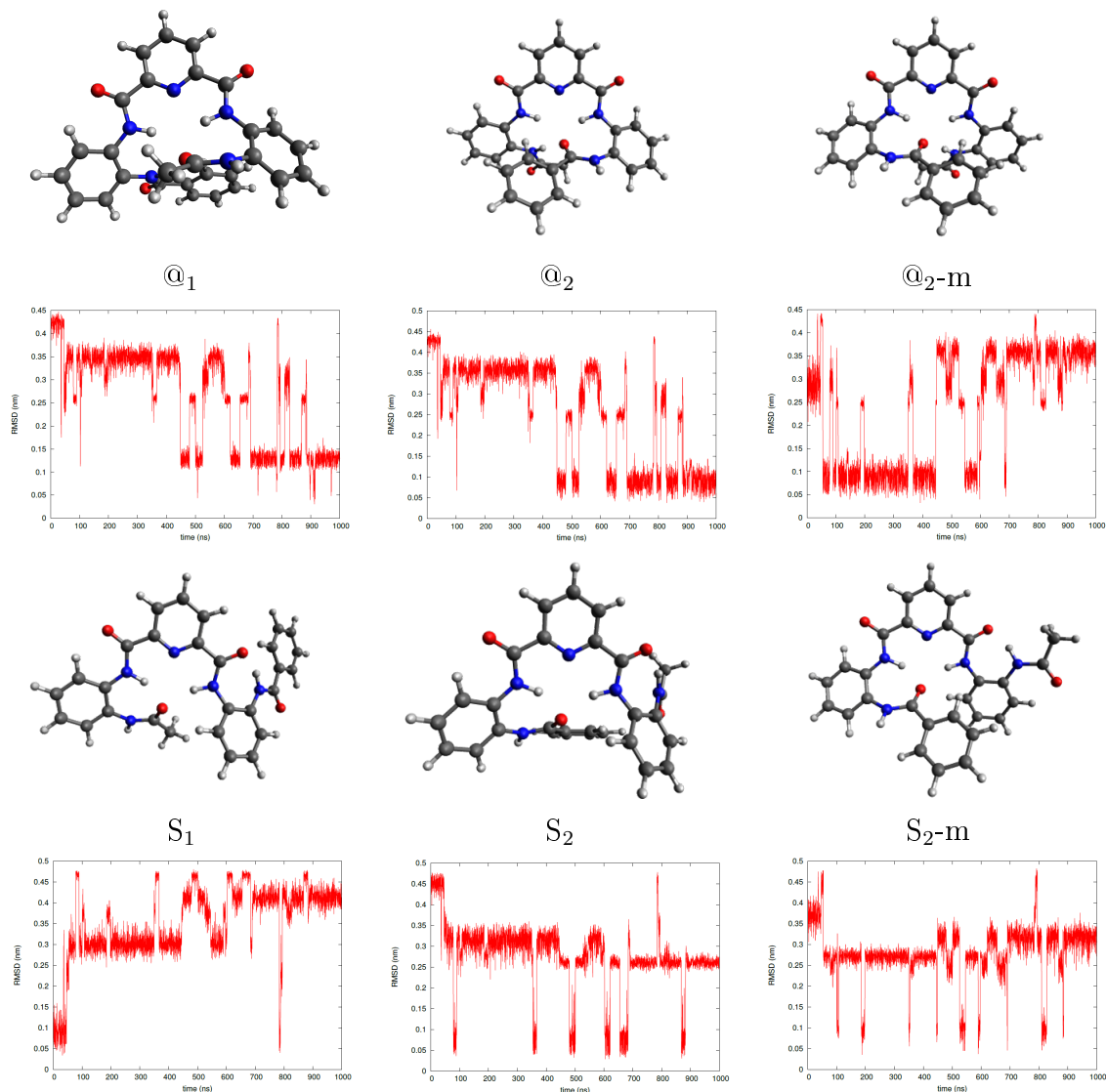


Figure 3: Structures DFT optimized at ω B97D-X/6-311G(d,p) level of theory and RMSD of the conformers @₁, @₂, @₂-m, S₁, S₂ and S₂-m extracted from the chloroform simulation. The given structure appears in the trajectory when RMSD is ~ 0.05 nm.

Previously, eight different conformations were found for acetylfoldamer **1** (S₁, S₂, @₁, @₂, @₁', @₂', helix and helix-2) using Monte Carlo (MC) conformational analysis with OPLS-2005 force field. The structures of the conformations are presented in Figures 3-6.⁴ These structures were DFT optimized with the ω B97X-D/6-311++G(3df,3pd) level of theory. All the conformations found with this method were also found with MD simulations (S₁, S₂, @₁ and @₂ in chloroform, and S₁, S₂, @₁', @₂' helix, helix₂, @₂ and @₁ in methanol). In the S conformations, the acceptor oxygen O1 (S₁) or O4 (S₂ and S₁-m) is only bonded with hydrogens HN2 and HN4, while in the @ conformations

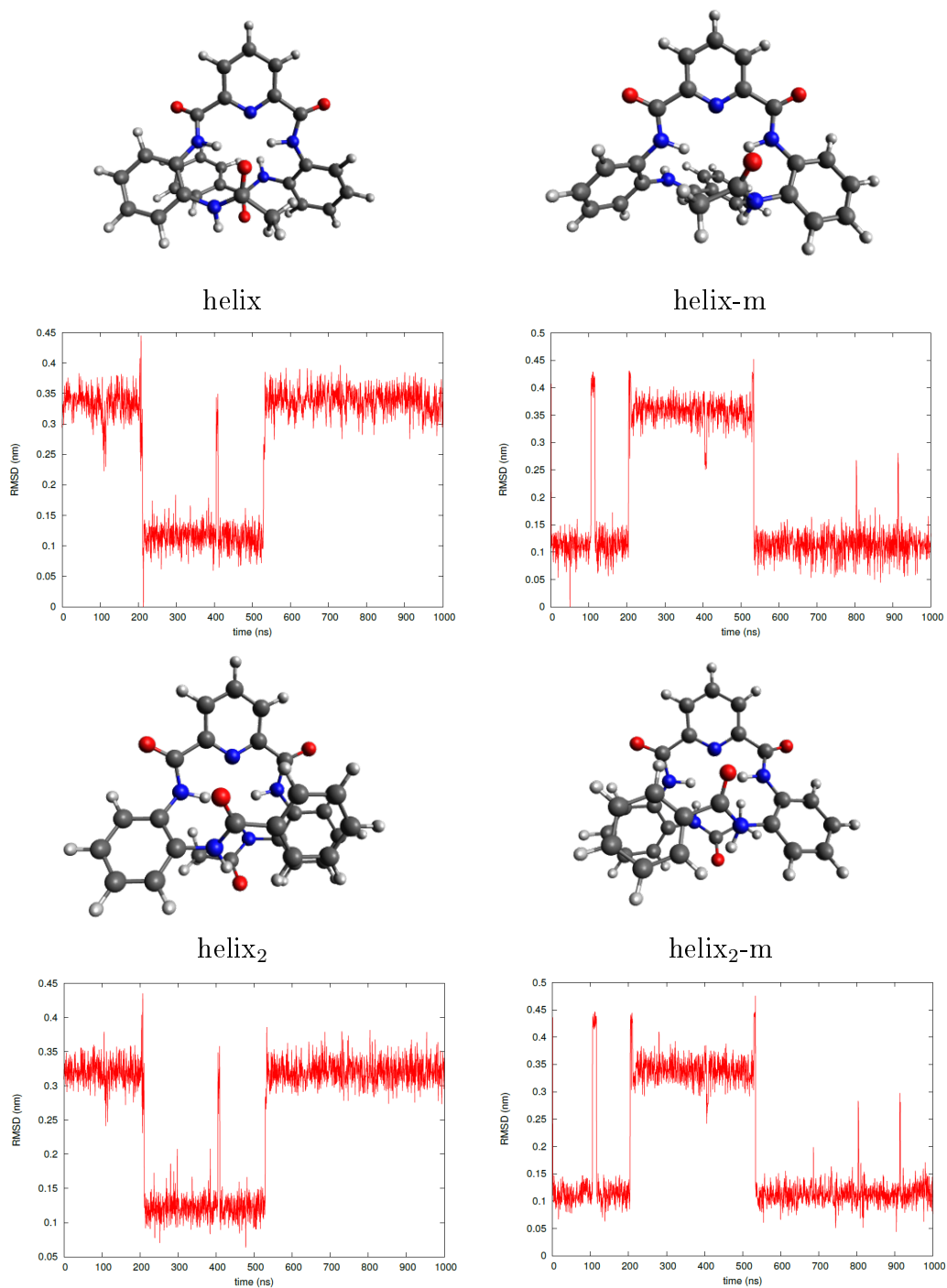


Figure 4: Structures DFT optimized at ω B97D-X/6-311G(d,p) level of theory and RMSD of the conformers helix, helix-m, helix₂ and helix₂-m extracted from the methanol simulation. The given structure appears in the trajectory when RMSD is ~ 0.05 nm.

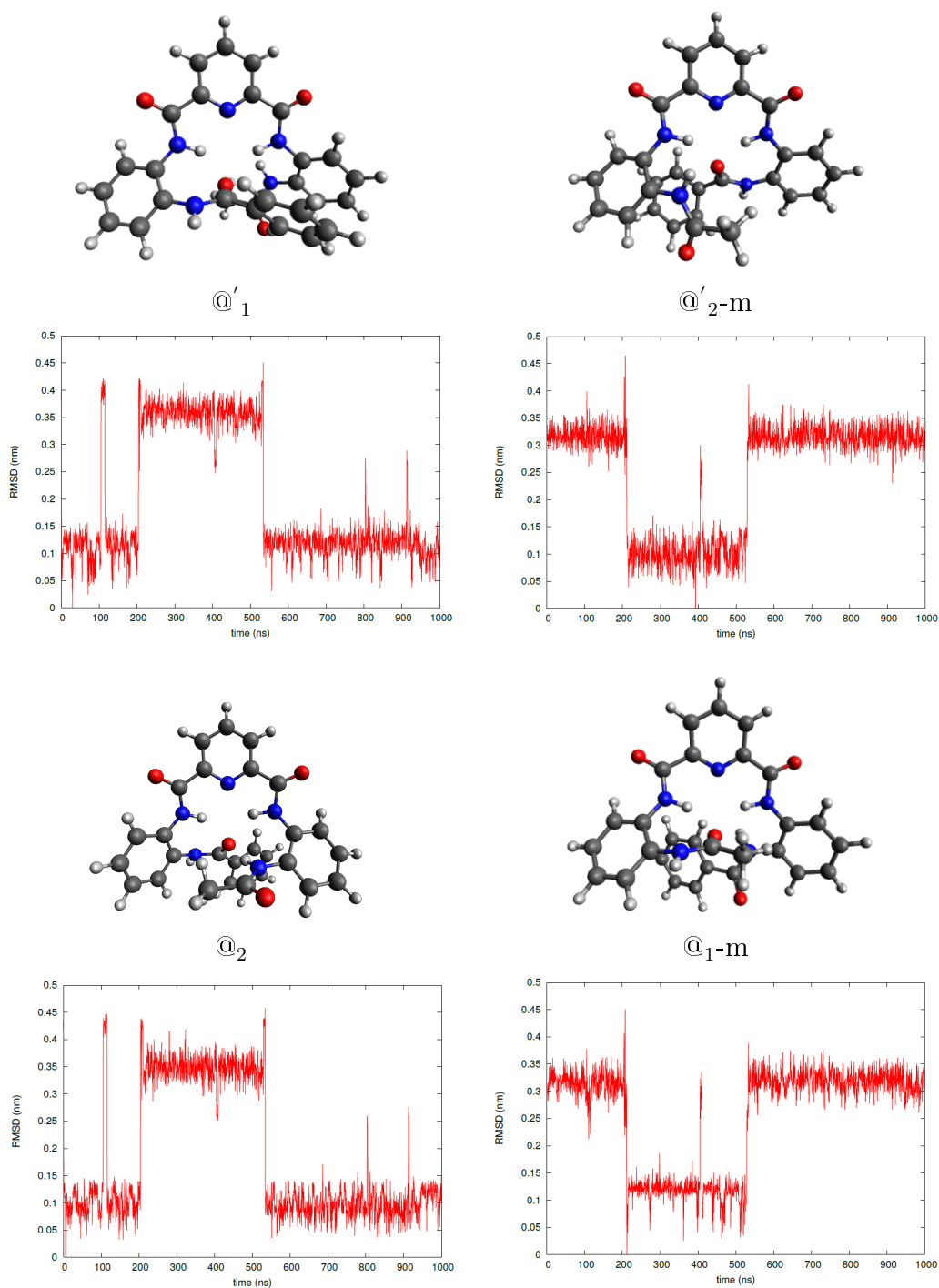


Figure 5: Structures DFT optimized at $\omega\text{B97D-X/6-311G(d,p)}$ level of theory and RMSD of the conformers $@'_1$, $@'_2\text{-m}$, $@_2$ and $@_1\text{-m}$ extracted from the methanol simulation. The given structure appears in the trajectory when RMSD is ~ 0.05 nm.

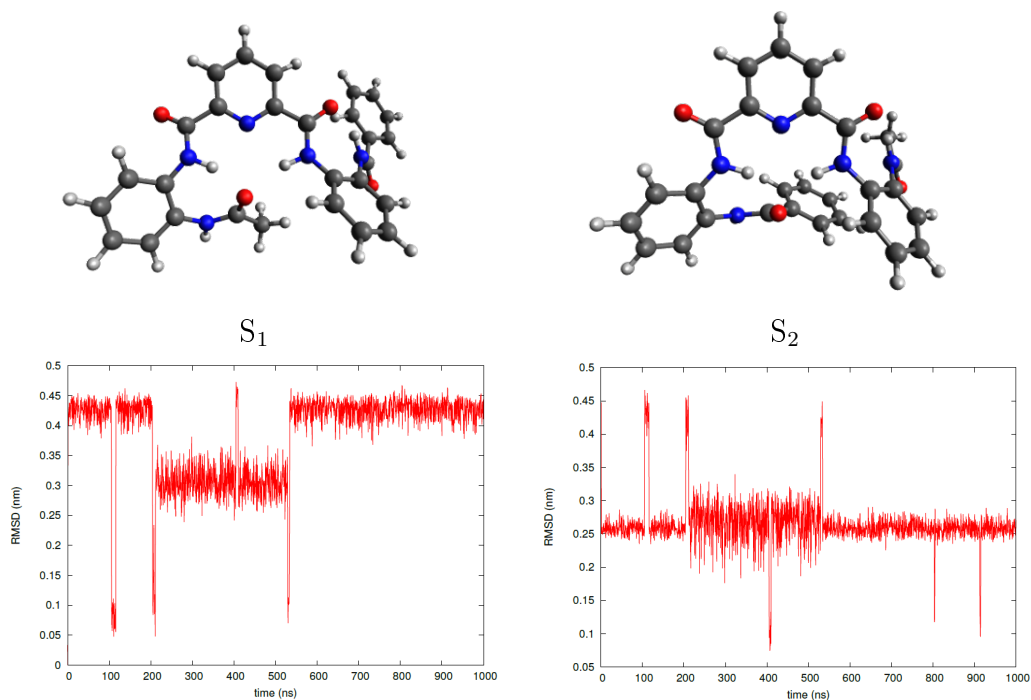


Figure 6: Structures DFT optimized at ω B97D-X/6-311G(d,p) level of theory and RMSD of the conformers S₁ and S₂, extracted from the methanol simulation. The given structure appears in the trajectory when RMSD is ~ 0.05 nm.

the oxygens O1 or O4 are also bonded with either hydrogen HN1 or HN5. In @₁' conformation O1 is bonded with a strong hydrogen bond to hydrogens HN2 and HN4 (distance below 2 Å), and oxygen O4 to H2D and methyl group (distance below 2.5 Å). In @₂' conformation O4 is bonded with a hydrogen bond to methyl group (distance 2.5 Å) and to hydrogens HN2 and HN4 (distance below 2 Å), and O1 is bonded to hydrogen H3A (distance 2.4 Å). In helix conformer oxygen O1 is only bonded to HN2 (distance 1.7 Å) and O4 to HN1 (distance 2.2 Å), while in helix₂ conformer O4 is bonded to HN4 (distance 1.7 Å) and O1 to HN5 (distance 2.3 Å). Moreover in helix conformations A-ring and D-ring have parallel displaced π -stacking interaction.

Four of these conformations (S₁, S₂, @₁ and @₂) were found with a cluster analysis from the chloroform simulation, which clearly favors @₂ conformation. The conformers @₂ and S₂ also appear as mirror forms (@₂-m and S₂-m). Their intramolecular forces are identical and therefore their total electronic energies and dipole moments are also the same (Table 1). The @₂ conformation folds into its mirror conformation through the S₂ and S₂-m conformations with also a very short appearance of @₁ conformer. The reason why @₂ conformation is much more populated than @₁ can be explained by

energetics. It seems that in the case where the conformations are structurally similar the simulation prefers conformer which has lower energy under the OPLS-AA force field (Table 1).

In methanol simulation a total of eight different conformations (S_1 , S_2 , $@'_1$, $@'_2$, helix, helix₂, $@_1$ and $@_2$) were found. The simulation consists of two major clusters. In the more populated cluster the conformation changes rapidly between $@'_1$ and $@_2$ conformers. There are also very short shifts to mirror forms of helix and helix₂ conformers, which both seem to be intermediates⁴ between $@'_1$ and $@_2$ conformers. The other cluster consist of $@'_2$ and $@_1$ conformers which are both only present in mirror forms. Also in this case there are helix intermediates (helix and helix₂) between the two main conformations. The conformation also folds back to starting S_1 conformer a few times.

Acetylfoldamer **1** favors completely different conformers in methanol and chloroform. As can be seen from Table 2, methanol can form hydrogen bonds with amide oxygens and hydrogens of acetylfoldamer **1**. This makes it possible for methanol to break hydrogen bond network of the oxygen and three amide hydrogens in $@$ conformers, which then leads to formation of $@'$ conformers. In the case of chloroform solution, only intramolecular hydrogen bonds of acetylfoldamer **1** are possible (Table 2) and thus, the hydrogen bond network remains intact and $@'$ conformations are not formed. The relative minimum energies do not explain why certain conformations are favoured (Table 3). However, they show that the most favorable conformers have the lowest free energy differences, so the reason is really based on the solvation effect.

The energies of the conformers from the MD simulation differ only slightly with the respective conformers obtained by Monte Carlo methods except for $@_1$ and helix₂ conformers, where the energy differences are more significant. The minimum energies of $@_1$ and helix₂ conformers are lower in MD simulation than the minimum energies obtained from the Monte Carlo analysis. It seems that more lower energy conformations can be found with MD simulations in OPLS-AA force field than with the Monte Carlo conformational search. Interestingly, the optimized minimum energies of the conformations $@_1$, $@'_1$, $@'_2$ -m and helix₂ are different depending on the minimization method (OPLS-AA or GAFF force field).

Table 1: Relative energies in $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ and dihedral angles of all conformations found in MD simulations.

Conf.	$E_{\text{tot}}^a)$	$E_{\text{gaff}}^b)$	$E_{\text{mc}}^c)$	$E_{\text{gr}}^d)$	α	β	γ	δ
S ₁	12.2	12.2	12.1	18.8	156.1	-51.4	81.4	54.3
@ ₁	13.1	20.7	20.5	16.1	147.3	126.3	113.9	59.9
@ ₂	17.2	17.2	17.3	2.3	167.7	144.6	-126.5	-132.5
@ ₂ -m	17.2	17.2		2.3	-167.6	-144.6	126.5	132.6
S ₂	2.6	2.6	2.8	0	-52.1	141.4	-131.1	-145.0
S ₂ -m	2.6	2.6		0	52.1	-141.4	131.1	145.0
@ ₁ '	6.6	20.7	6.6	10.5	166.2	149.6	-54.4	-139.9
@ ₂ '-m	20.8	10.0	10.0	9.0	-138.7	-148.0	128.5	45.9
helix ₂	13.0	8.1	13.0	4.2	176.4	136.9	119.6	130.4
helix	0	0	0	5.6	155.1	-154.7	52.3	50.1

a) E_{tot} : total relative electronic energies of the found conformations first minimized by OPLS-AA, and later computed at $\omega\text{B97X-D}/6\text{-311++G}(3\text{df},3\text{pd})$ level of theory, b) E_{gaff} : total relative electronic energies of the found conformations first minimized by GAFF, and later computed at $\omega\text{B97X-D}/6\text{-311++G}(3\text{df},3\text{pd})$ level of theory, c) E_{mc} : total electronic energies of the conformations found with Monte Carlo analysis computed at $\omega\text{B97X-D}/6\text{-311++G}(3\text{df},3\text{pd})$ level of theory, d) E_{gr} : energies obtained with (L-BFGS) algorithm in GROMACS.

Table 2: The average number of intra- and intermolecular hydrogen bonds per picosecond in methanol and chloroform.

Acceptor	Donor	Intramol. (MeOH)	Intramol. (CHCl_3)	Intermol. (MeOH)
O1		0.452	0.176	0.362
O2		0.007	0.177	0.356
O3		0.019	0.062	0.331
O4		1.386	1.937	0.166
	HN1	0.198	0.881	0.390
	HN2	0.715	0.471	0.011
	HN4	0.866	0.916	0.002
	HN5	0.086	0.085	0.432

Table 3: Free energy differences between conformations in chloroform and methanol.

Conformation	$\Delta G_{\text{CHCl}_3}(\text{kJ/mol})$	$\Delta G_{\text{MeOH}}(\text{kJ/mol})$
S ₁	6.1	8.0
S ₂	3.5	10.7
@ ₂	0	5.6
@ ₁	8.2	2.7
@ ₁ '	-	0
@ ₂ '-m	-	1.6

The hydrogens which are coupled to HN1 in the experimental 1D NOE spectrum in CDCl₃ (NOE spectrums are available as supporting information from reference⁴) are listed in Table 4. If distance between hydrogens is less than 5 Å the correlation can be seen in the NOE spectrum. During the simulation the distances from HN1 to hydrogens H4C, H5C, H4B and H5B are always more than 5 Å (appendix 2). However the peaks of all these hydrogens (H5A, H4C and H5C are overlapped) are seen in the NOE-spectra. The experimentally observed correlation to H4C, H5C, H4B and H5B is hard to rationalize, since the distance to HN1 is more than 6.0 Å during the whole simulation and a possible conformation with the HN1 coupling to H4C, H5C, H4B and H5B hydrogens seems unlikely and the structure with coupling distorted. Therefore, these peaks in NOE-spectra are most likely just artefacts. The rest of the peaks in NOE-spectra can be explained by the conformations of the simulation. None of the conformations alone equates to the experimental NOE-spectra, which inevitably indicates that there is an ensemble of conformers giving rise to the observed NOE peaks. The coupling to HN5 is a proof that at least somewhat @-like conformer is present in the solution because only in simulated @₂ and @₁ conformations the distance between HN1-HN5 is short enough to be seen in NOE-spectra. The same applies to the H3B and H4D couplings that are only possibly if S₂ conformation is present. Only in the S₁ conformation the distance between HN1-HN5 is short enough to appear in the spectra. This particular peak is moderately weak in experimental spectra which indicates that the acetylfoldamer **1** adopts the S₁ conformation rarely in chloroform, just like in the simulation.

All the peaks in the HN5 and Me NOE-spectra can be explained by the conformations that are found in the simulation (appendix 3-4) (Table 5).

Foldamer **2a**

Three different conformations were identified from the simulation trajectory with cluster analysis (Figure 7). The simulation starts from the crystal structure of **2a-A**. Conformation **2a-A** has three intramolecular and four intermolecular hydrogen bonds (Table 6). Intramolecular hydrogen bonds HN2-O4 and HN3-O4 are broken by DMSO, leading to the formation of conformer **2a-B** at 40 ns. At 240 ns the conformation changes

Table 4: Conformations from the chloroform simulation which would give peaks in HN1 NOE-spectrum (marked with x).

HN1-	S ₁	S ₂	@ ₂	@ ₁
HN2	x	x	x	x
HN4	x		x	x
HN5			x	x
H3A,H3D,H5D	x	x	x	x
H4A	x			x
(H5A)*,H4C,H5C				
H6A		x	x	
H3B		x		
H3C,H6C	x		x	
H2D, H6D		x	x	x
H4D		x		
Me	x	x	x	x

* Overlapped signal. The para-position of H5A to HN1 automatically excludes the possibility of NOE correlation. In simulation the H5A-HN1 distance varies from 5.5 to 6.0 Å. The experimental peak is likely an artefact.

Table 5: Conformations from chloroform simulation which gives peak in HN5 and Me NOE-spectra (marked with x).

HN5-	S ₁	S ₂	@ ₂	@ ₁	Me-	S ₁	S ₂	@ ₂	@ ₁
HN2		x	x	x	HN2	x	x	x	x
HN4	x		x	x	HN4	x		x	x
H3A,H3D,H5D	x	x	x	x	H3A,H3D,H5D	x	x	x	x
H5A,H4C,H5C		x	x		H5A,H4C,H5C	x		x	x
H3B					H3B		x		
H5B	x				H5B				
H3C,H6C	x	x	x	x	H3C,H6C	x		x	x
H2D, H6D	x	x	x	x	H2D, H6D	x	x	x	x
H4D					H4D		x		
Me	x		x	x	Me				

Table 6: The average number of intra- and intermolecular hydrogen bonds per picosecond in conformers **2a-A**, **2a-B** and C.

2a-A intramol.		2a-B intramol.		2a-C intramol.	
Bond	Avg. num.	Bond	Avg. num.	Bond	Avg. num.
O2-HN2	0.733	O2-HN1	0.623	HN2-O1-HN3	1.811
HN2-O4-HN3	1.39	O5-HN6	0.632	HN4-O6-HN5	1.794
HN4-O6-HN5	1.455				

2a-A intermol.		2a-B intermol.		2a-C intermol.	
DMSO-	Avg. num.	DMSO-	Avg. num.	DMSO-	Avg. num.
HN1	0.971	HN1	0.211	HN1	0.957
HN4	0.812	HN2	0.967	HN6	0.950
HN5	0.117	HN3	0.714		
HN6	0.221	HN4	0.701		
		HN5	0.969		
		HN6	0.186		

back to **2a-A**, by breaking of two **2a**-DMSO hydrogen bonds. After 30 ns **2a** folds to conformation **2a-C**, which has the same minimum energy and dipole moment as the experimental X-ray structure obtained from DMSO (Table 7). The conformation stays at conformer **2a-C** for the rest of the simulation. In conformation **2a-C** only outermost amide hydrogens are bonded to DMSO. This conformer has two oxyanion hole motifs, which implies that the foldamer **2a** can form oxyanion holes in polar aprotic solvent. Conformation **2a-C** has also the lowest dipole moment, but not the lowest minimum energy. This indicates that conformational behaviour can not be explained with energetics, but with solution effects.

Because the simulation stays at the conformation **2a-C** almost the whole simulation time (730 ns) and does not fold back to other conformations, it seems that in DMSO solution conformer **2a-C** is prevalent. The couplings, which should be seen in NOE-spectrum are presented in Table 8. During the simulation the distances from HN1 to H2A, H3A, H5B, H6B, HN2 and HN3 in conformation **2a-C** are below 5 Å (appendix 5). This means that if the conformer **2a-C** is the only conformation in DMSO, only these hydrogens should be seen as peaks in HN1 NOE-spectrum. In this case, there should be couplings only to H2A, H3B, H6B and HN3 hydrogens in the HN2 NOE-spectrum (appendix 6) and in the HN3 NOE-spectrum (appendix 7) there should be couplings only to H2A, H3A, H5C, H3D and HN2 hydrogens.

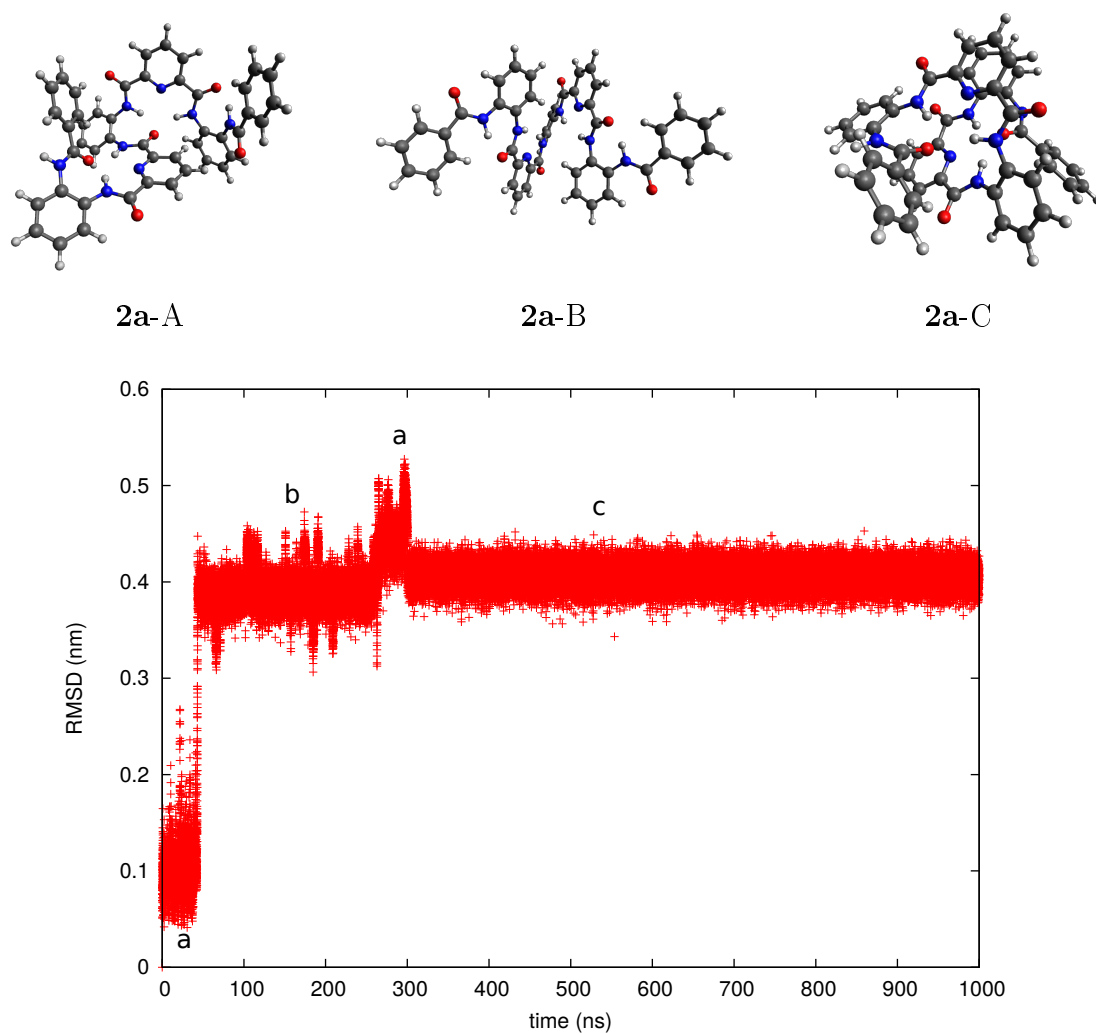


Figure 7: DFT optimized structures and RMSD of the conformers **2a-A**, **2a-B** and **2a-C**

Table 7: Total relative electronic energy of the found conformations and experimental X-ray structures computed at B3LYP/3-21G level of theory.

Conformation	E_{tot} (kJ·mol ⁻¹)	dipole moment
2a-A	0	6.5
2a-B	91.5	3.0
2a-C	54.2	1.3
crystal structure in DCM	0	6.5
crystal structure in DMSO	54.2	1.3

Table 8: Conformations A, B and C from foldamer **2a** simulation and their expected peaks in HN1, HN2 and HN3 NOE-spectrum (marked with x).

HN1-	A	B	C	HN2-	A	B	C	HN3-	A	B	C
H2A, H6A	x	x	x	H2A, H6A	x	x	x	H2A, H6A			x
H3A, H5A	x	x	x	H3A, H5A				H3A, H5A			x
H4A				H4A				H4A			
H3B	x	x		H3B	x	x	x	H3B	x	x	
H4B				H4B				H4B			
H5B			x	H5B				H5B			
H6B	x	x	x	H6B			x	H6B			
H3C	x	x		H3C				H3C			
H4C				H4C				H4C			
H5C				H5C				H5C	x	x	x
H3D				H3D				H3D	x	x	x
H4D				H4D				H4D			
HN2	x	x	x	HN2				HN2	x	x	x
HN3			x	HN3	x	x	x	HN3			

Foldamer **3a**

Five different conformations were identified from the simulation trajectories with cluster analysis (Figures 8 and 9). Three conformations were found in chloroform simulation (**3a-A**, **3a-B** and **3a-C**) and three in DMSO simulation (**3a-C**, **3a-D** and **3a-E**). The starting conformation in CHCl_3 (**3a-A**) was sustained until 1200 ns, after which the conformation changed to **3a-B**. After 1400 ns the conformation settled to **3a-C** conformation for the rest of the simulation time. The structural difference between the conformations **3a-A** and **3a-B** is that in the **3a-A** the amide hydrogen HN1 is bonded to the oxygen O2 and only hydrogens HN2 and HN4 form bonds with oxygen O4, whereas in the **3a-B** conformation, all three hydrogens HN1, HN2 and HN4 bond with oxygen O4 (Table 9). Thus, **3a-B** seems to be an intermediate form between the conformations **3a-A** and **3a-C**, with only the other end of the foldamer folded. As can be seen from Table 10, conformation **3a-A** has the lowest energy, but also the lowest dipole moment according to DFT calculations. The last conformation, **3a-C**, has lower dipole moment (Table 10) than **3a-A**, which may explain the popularity of the conformation. Still, the rather long duration (1200 ns) of the conformation **3a-A** at the beginning of the simulation shows that it is hard to say which of the two conformations, **3a-A** or **3a-C**, is the more favourable in chloroform. The minimum energy supports the **3a-A**,

but on the other hand, the conformation never returns back to **3a-A** from **3a-C**, which also is an interesting phenomenon. This clearly indicates that the solution effects have a huge impact on the conformational behaviour on foldamers.

The DMSO simulation starts with the **3a-C** conformation, which is also the dominant conformation during the simulation. The conformation changes occasionally to conformation **3a-D** the longest shift being when the simulation time reaches 600 ns, and lasting approximately 200 ns. At the end of the simulation, the conformation changes to **3a-E** for a short period of time. As can be seen from Table 9, during the conformational change from **3a-C** to **3a-D**, the hydrogen bonds between oxygen O1 and two peptide hydrogens (HN2 and HN4) are broken resulting in intermolecular bonds between amide hydrogens and DMSO. The reverse formation and breakage of hydrogen bonds occur when the conformation is changed back to **3a-C**. In **3a-E** conformation, the oxygen O2 is bonded only to hydrogen HN1. Three oxyanion hole motifs are present in **3a-C** conformation, while in **3a-D** and **3a-E** conformations the number of oxyanion hole motifs is two.

According to the variation of the distances of hydrogens HN1, HN2, HN3 and HN4 to other hydrogens of foldamer **3a** in the DMSO simulation (appendix 8-11), the couplings that should be seen in experimental NOE-spectrum are listed in Table 11. The coupling to hydrogen H3C in HN1 NOE-spectrum should be seen as a peak if the conformation **3a-E** is present in DMSO and the coupling to hydrogen H6D in the same spectrum could verify the existence of conformation **3a-D**.

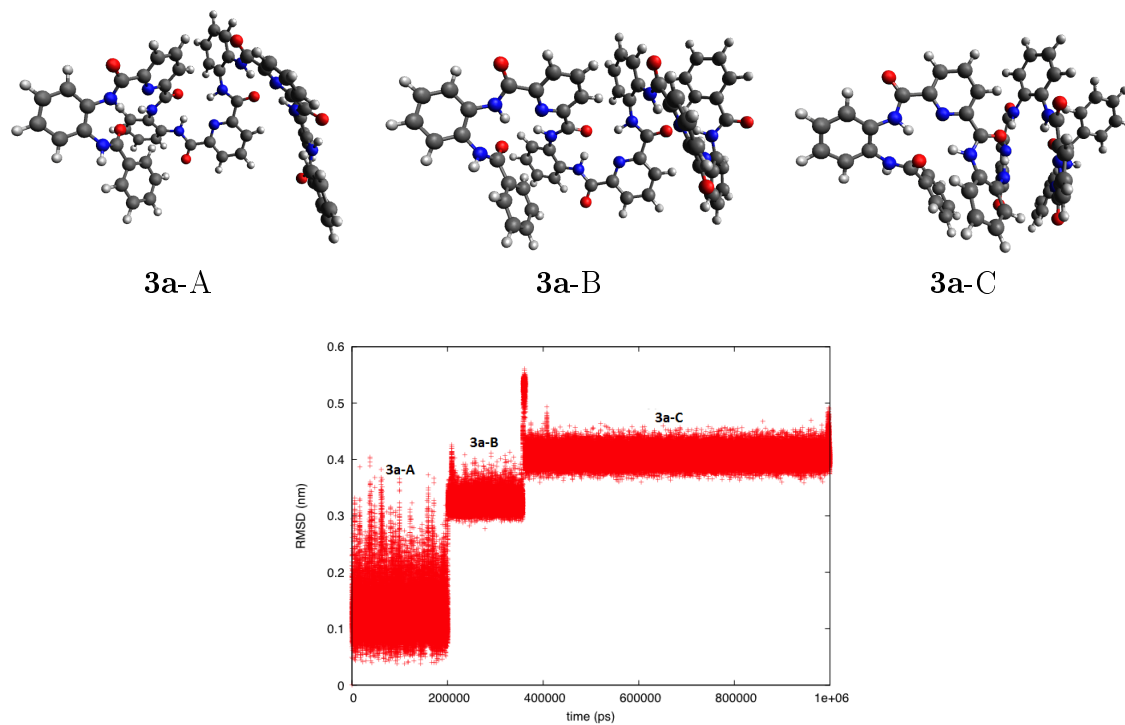


Figure 8: DFT optimized structures of the conformers **3a-A**, **3a-B** and **3a-C** and RMSD, extracted from the chloroform simulation.

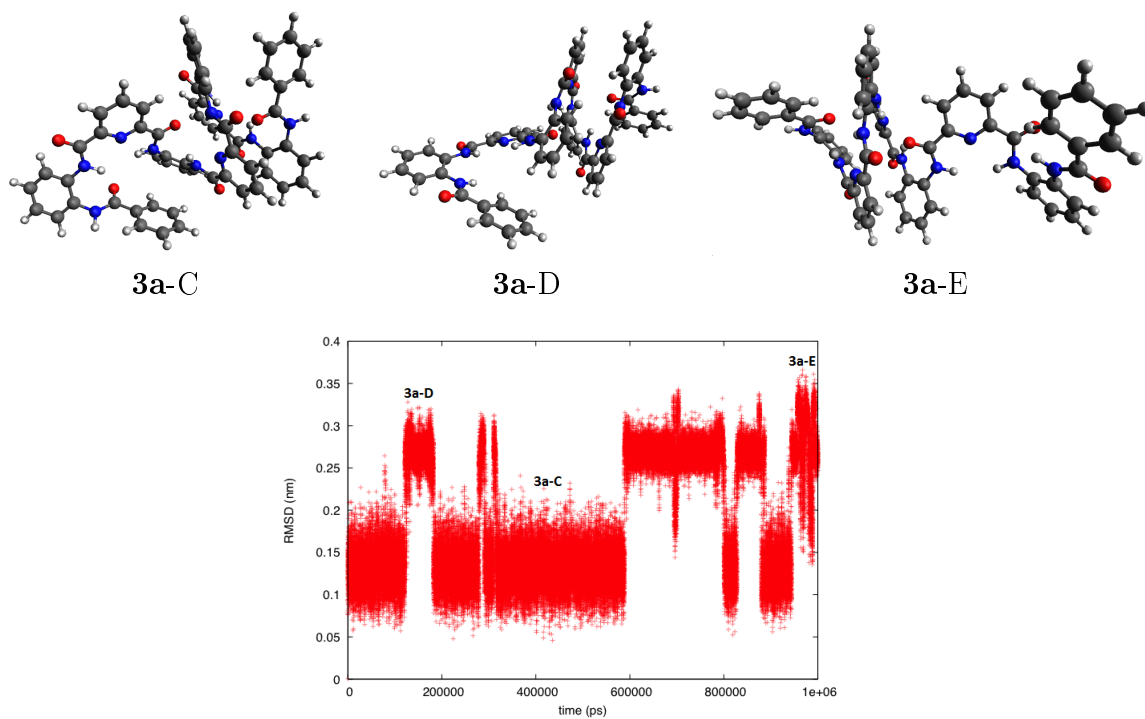


Figure 9: DFT optimized structures of the conformers **3a-C** and **3a-D** and **3a-E**, extracted from the DMSO simulation.

Table 9: The average number of intra- and intermolecular H-bonds per picosecond in conformers A-E of foldamer **3a**

A intramol.		B intramol.		C (CHCl₃) intramol.	
Bond	Avg.	Bond	Avg.	Bond	Avg.
O2-HN1	0.973	HN1-HN2-O4-HN3	1.939	HN2-O1-HN3	1.862
HN2-O4-HN3	1.622	HN4-O6-HN5	1.651	HN4-O6-HN5	1.726
HN4-O6-HN5	1.556	HN6-O8-HN7	1.727	HN6-O8-HN7	1.666
HN6-O8-HN7	1.747				

C (DMSO) intramol.		D intramol.		E intramol.	
Bond	Avg.	Bond	Avg.	Bond	Avg.
HN2-O1-HN3	1.875	HN4-O3-HN5	1.553	O2-HN1	0.585
HN4-O6-HN5	1.616	HN6-O8-HN7	1.892	HN4-O3-HN5	1.707
HN6-O8-HN7	1.662			HN6-O8-HN7	1.854

C (DMSO) intermol.		D intermol.		E intermol.	
Bond	Avg.	Bond	Avg.	Bond	Avg.
HN1	0.953	HN4	0.927	HN1	0.171
HN8	0.954	HN5	0.626	HN2	0.805
		HN6	0.902	HN3	0.585
		HN7	0.990	HN8	1.000

Table 10: Total relative electronic energies of the found conformations in both solutions (CHCl₃ and DMSO) computed at B3LYP/3-21G level of theory and dipole moments.

Conformation	E_{tot} (kJ·mol ⁻¹)	dipole moment
CHCl ₃		
3a-A	0	-1.0
3a-B	95.7	-1.7
3a-C	51.0	-1.7
DMSO		
3a-C	51.0	1.0
3a-D	99.0	0.4
3a-E	85.0	0.9

Table 11: Conformations of foldamer **3a** found in DMSO simulation and their expected peaks in HN1, HN2, HN3 and HN4 NOE-spectra (marked with x).

HN1-	C	D	E	HN2-	C	D	E	HN3-	C	D	E	HN4-	C	D	E
H2A*	x	x	x	H2A	x	x	x	H2A	x	x		H2A	x		
H3A*	x	x	x	H3A		x		H3A		x		H3A	x	x	
H4A				H4A				H4A				H4A			
H3B		x	x	H3B	x	x	x	H3B			x	H3B			
H4B				H4B			x	H4B				H4B			
H5B	x			H5B				H5B				H5B			
H6B	x			H6B	x	x		H6B				H6B			
H3C			x	H3C	x	x	x	H3C				H3C			
H4C				H4C				H4C				H4C			
H5C				H5C				H5C	x	x	x	H5C	x	x	x
H3D				H3D				H3D				H3D	x	x	x
H4D				H4D				H4D				H4D			
H5D				H5D				H5D	x	x	x	H5D			
H6D		x		H6D	x	x	x	H6D	x	x	x	H6D	x	x	x
H3E	x			H3E				H3E				H3E	x	x	x
H4E				H4E				H4E				H4E			
H5E				H5E				H5E				H5E			
HN2	x	x	x	HN1	x	x	x	HN1	x	x		HN1			
HN3	x	x		HN3	x	x	x	HN2	x	x	x	HN2	x	x	x
HN4				HN4				HN4	x	x	x	HN3	x	x	x

* The NOE peak of hydrogen H2A will include H6A and H3A will include H5A due to overlapping (Figure 1).

Conclusions

In MD simulations total of four different conformations of acetylfoldamer **1** were found in chloroform solution and seven in methanol solution. One of the conformations in chloroform and one in methanol solution have lower DFT energies than the corresponding energies found with Monte Carlo analysis in the previous article.⁴ The reason for the different conformational behaviour of acetylfoldamer **1** in chloroform and in methanol is based on the different hydrogen bonding capacity of the solvent. The simulation in chloroform matches well with the experimental CDCl₃ 1D NOE-spectra.

Oxyanion holes observed experimentally were also found in simulated @ conformations. These conformations are present in both solvents (methanol and chloroform). In conclusion, we have found an efficient way to simulate acetylfoldamer **1** in two solution states (chloroform and methanol). We suggest that this MD model is also suitable for

the simulation of larger foldamers, which were also preliminary tested.

In MD simulation of foldamer **2a** three different conformations were found in DMSO solution. The simulation clearly favors conformation **2a-C**, which have least of the intermolecular hydrogen bonds with DMSO and the lowest dipole moment, but not the lowest minimum energy. Thus, conformational behaviour relates to the solution effect. It seems that in the solution state of the DMSO is only presented conformer **2a-C**, which can be proven in the future with good quality NOE-spectrum. This simulation also predicts that foldamer **2a** can form oxyanion holes in DMSO.

In MD simulation of foldamer **3a** five different conformations were found in CHCl₃ and DMSO solutions. In chloroform solution it is hard to identify which of the conformations, **3a-A** or **3a-C**, is the more dominant one. While the conformation **3a-A** has the lowest energy in chloroform according to DFT calculations and the foldamer **3a** stays in that conformation for as long as the first 1200 ns, the conformation does not return back to the starting structure during the rest of the simulation. After 1200 ns, the conformation **3a-A** changes permanently to **3a-C** after a short visit at **3a-B** conformation. DMSO simulation clearly favors the conformation **3a-C** over the other two obtained conformations **3a-D** and **3a-E**. In conclusion, not only the minimum energies, but also the solution effects seem to have tremendous impact on the conformational behaviour of foldamer **3a**. The simulations also predict that foldamer **3a** can form oxyanion hole motifs in both chloroform and DMSO.

References

- [1] Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173–180.
- [2] Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; ; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893–4012, PMID: 11740924.
- [3] Pihko, P.; Rapakko, S.; Wierenga, R. K. *Hydrogen Bonding in Organic Synthesis*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009; pp 43–71.
- [4] Kortelainen, M.; Suhonen, A.; Hamza, A.; Pápai, I.; Nauha, E.; Yliniemelä-Sipari, S.; Nissinen, M.; Pihko, P. M. *Chem. A European J.* **2015**, 1–13.
- [5] Autieri, E.; Chiessi, E.; Lonardi, A.; Paradossi, G.; Segal, M. *Journ. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 5827–5839, PMID: 21517084.
- [6] Ha, S. N.; Madsen, L. J.; Brady, J. W. *Biopolymers* **1988**, *27*, 1927–1952.
- [7] Jain, V.; Maingi, V.; Maiti, P. K.; Bharatam, P. V. *Soft Matter* **2013**, *9*, 6482–6496.
- [8] Dracinsky, M.; Möller, H. M.; Exner, T. E. *J. Chem. Theory Comput.* **2013**, *9*, 3806–3815.
- [9] Páll, S.; Abraham, M.; Kutzner, C.; Hess, B.; Lindahl, E. In *Solving Software Challenges for Exascale*; Markidis, S., Laure, E., Eds.; Lecture Notes in Computer Science; Springer International Publishing, 2015; Vol. 8759; pp 3–27.
- [10] Jorgensen, W. L.; Maxwell, D. S.; Tirado-Rives, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11225–11236.
- [11] Bussi, G.; Donadio, D.; Parrinello, M. *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, –.
- [12] van der Spoel, D.; van Maaren, P. J.; Caleman, C. *Bioinformatics* **2012**, *28*, 752–753.
- [13] Caleman, C.; van Maaren, P. J.; Hong, M.; Hub, J. S.; Costa, L. T.; van der Spoel, D. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 61–74, PMID: 22241968.

- [14] Parrinello, M.; Rahman, A. *J. Appl. Phys.* **1981**, *52*, 7182–7190.
- [15] Nosé, S.; Klein, M. *Mol. Phys.* **1983**, *50*, 1055–1076.
- [16] Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M. L.; Darden, T.; Lee, H.; Pedersen, L. G. *J. Chem. Phys.* **1995**, *103*, 8577–8593.
- [17] Frisch, M. J. et al. Gaussian 09, Revision D.01. Gaussian Inc. Wallingford CT 2009.
- [18] Wang, J.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157–1174.
- [19] Hanwell, M.; Curtis, D.; Lonie, D.; Vandermeersch, T.; Zurek, E.; Hutchison, G. *J. Cheminform.* **2012**, *4*, 17.

Appendix 1: Topology files

Following topologies are stored in electronic form:

acetylfoldamer-vacuum.top

acetylfoldamer-crystal-unitcell.top

acetylfoldamer-crystal.top

acetylfoldamer-CHCl₃.top

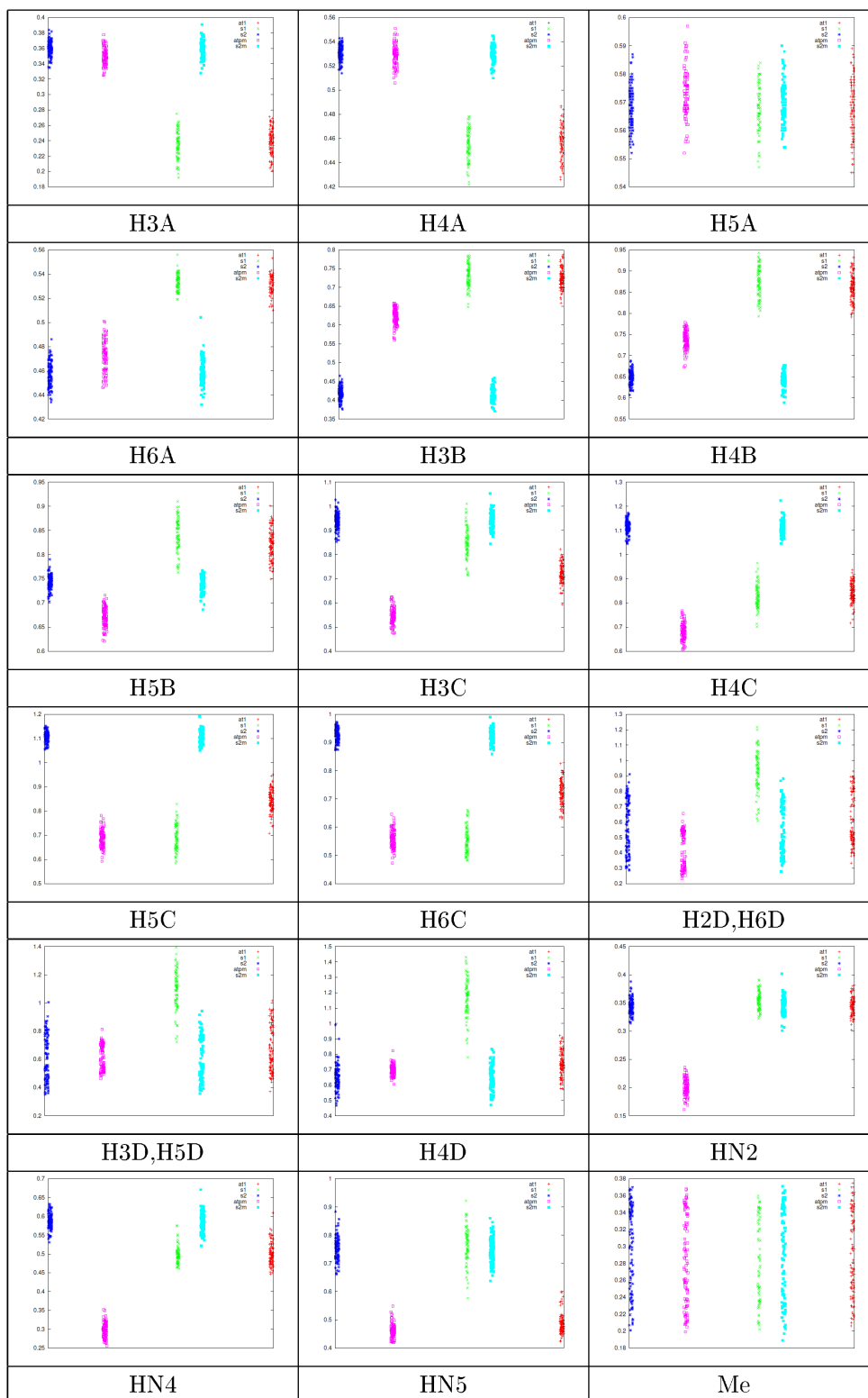
acetylfoldamer-MeOH.top

2a-DMSO.top

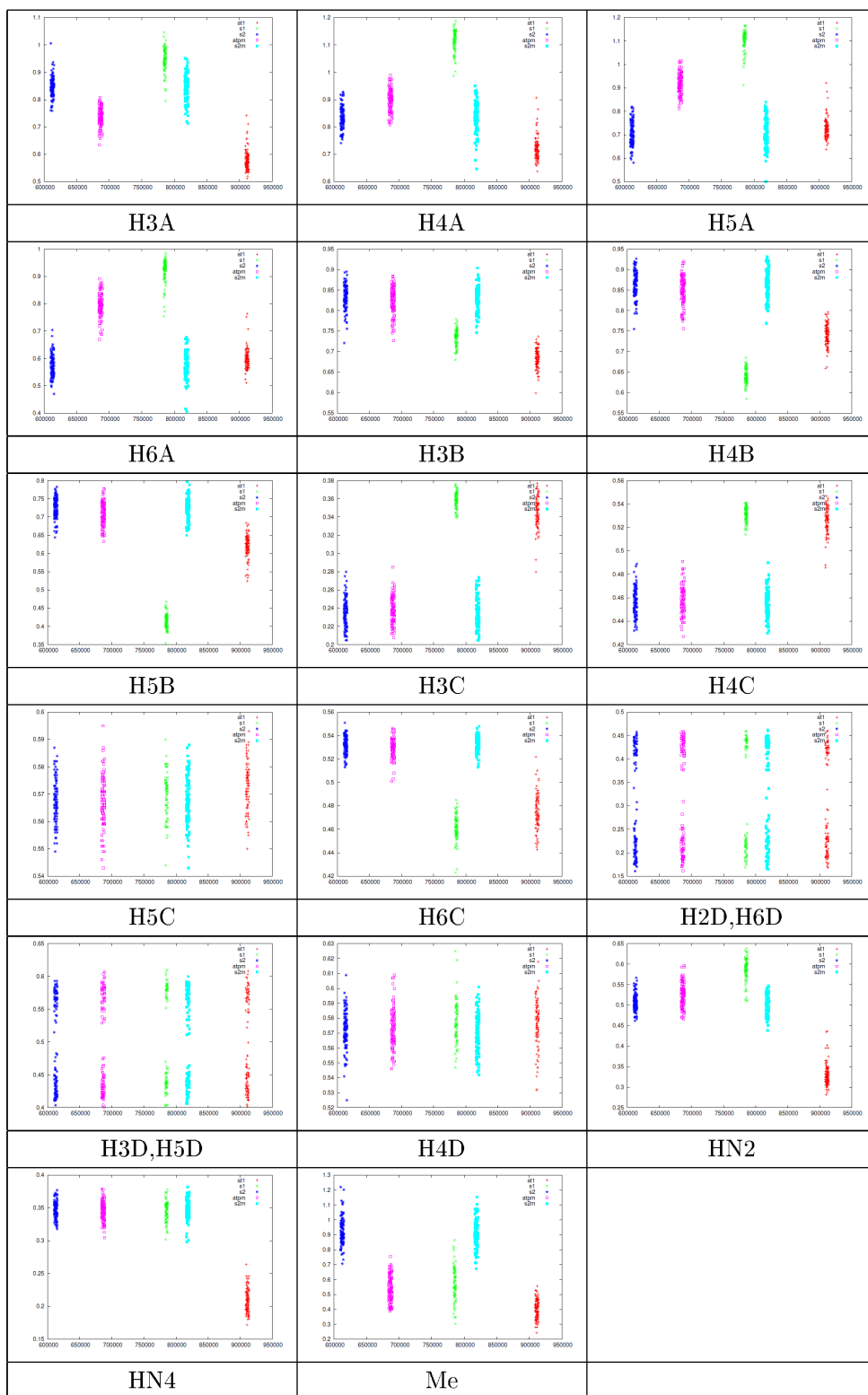
3a-CHCl₃.top

3a-DMSO.top

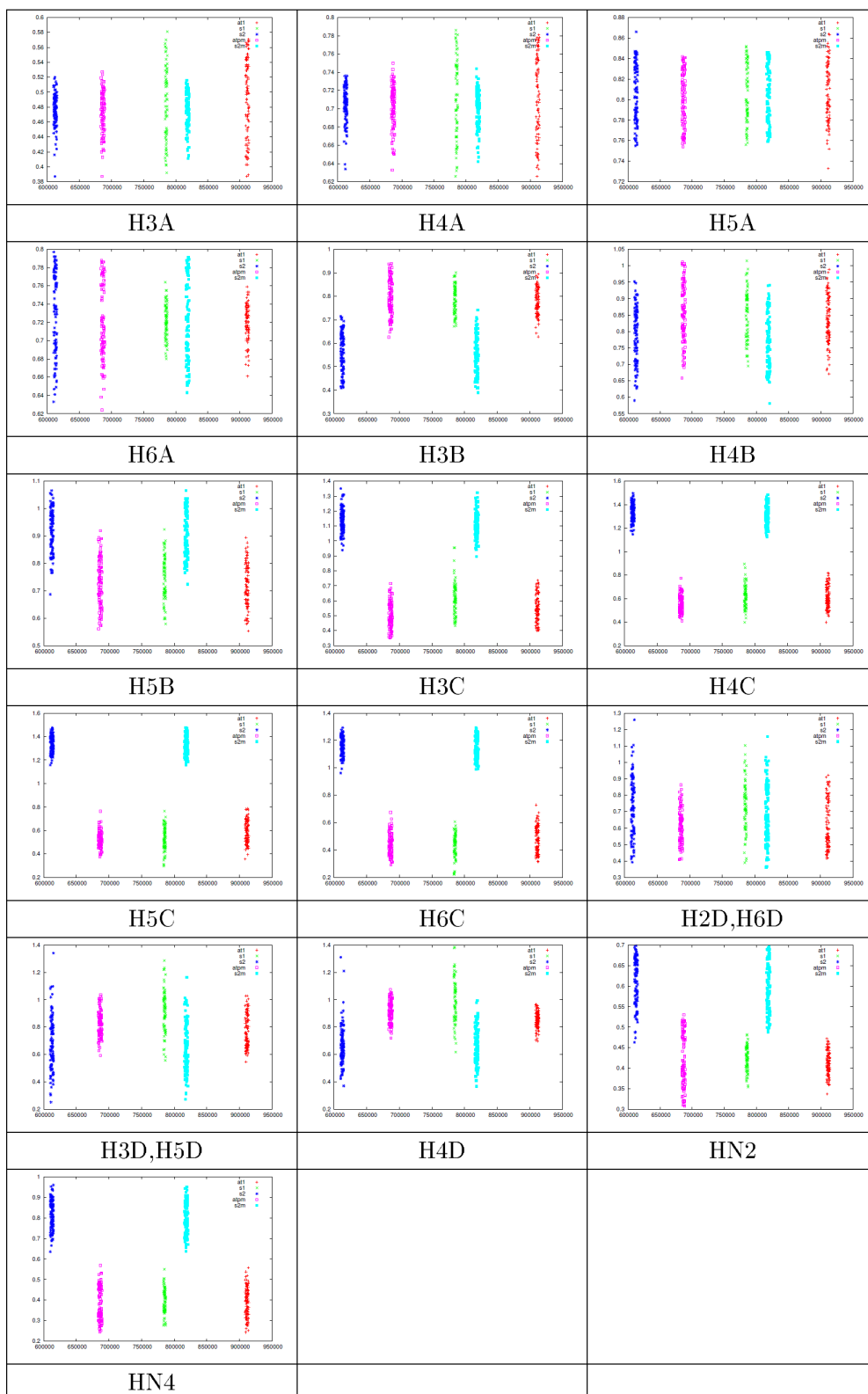
Appendix 2: Variation of distances (nm) on found conformations between hydrogen HN1 and hydrogens of acetylfoldamer 1 during the CHCl₃ simulation.



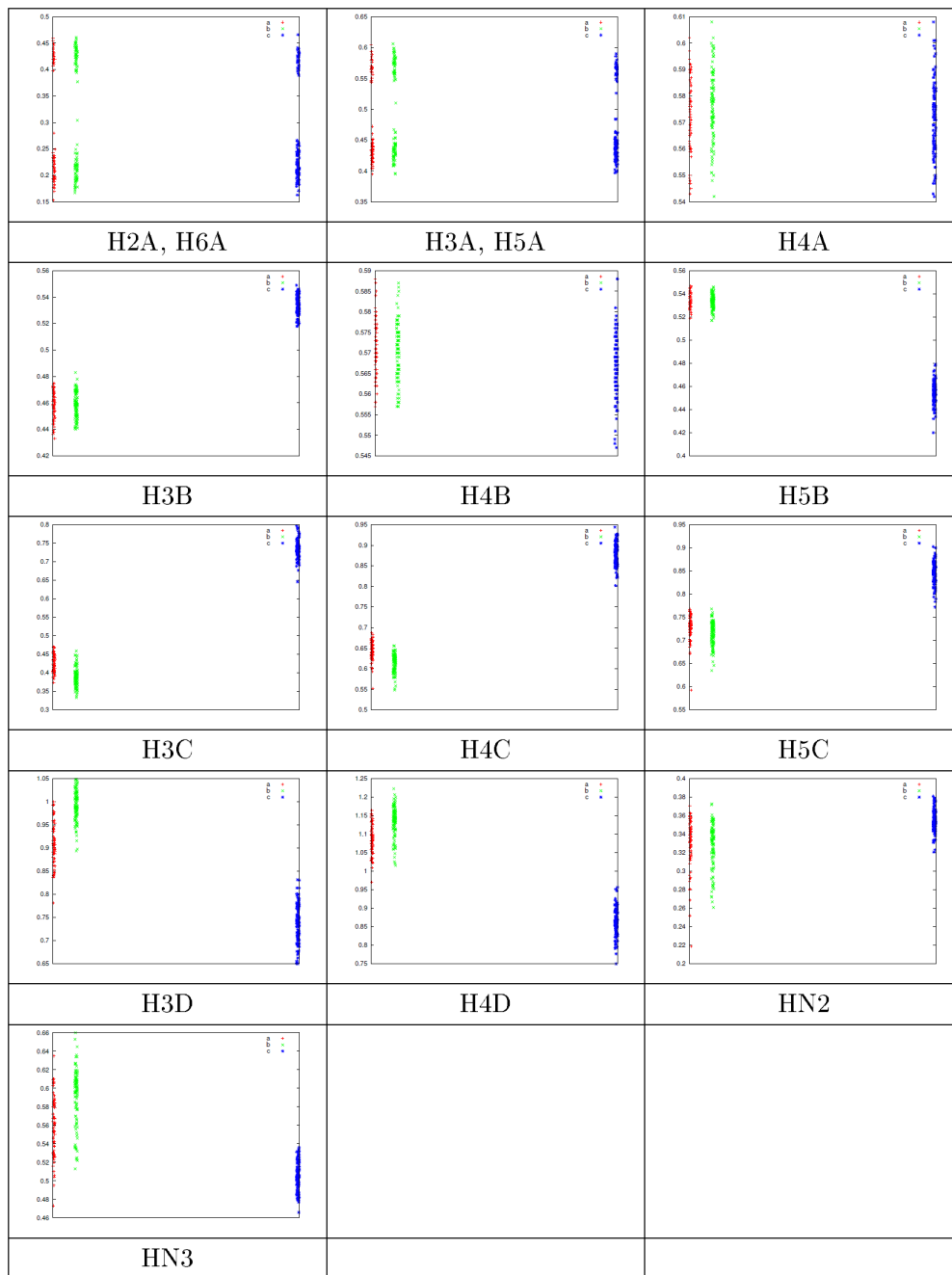
Appendix 3: Variation of distances (nm) on found conformations between hydrogen HN5 and hydrogens of acetylfoldamer 1 during the CHCl₃ simulation.



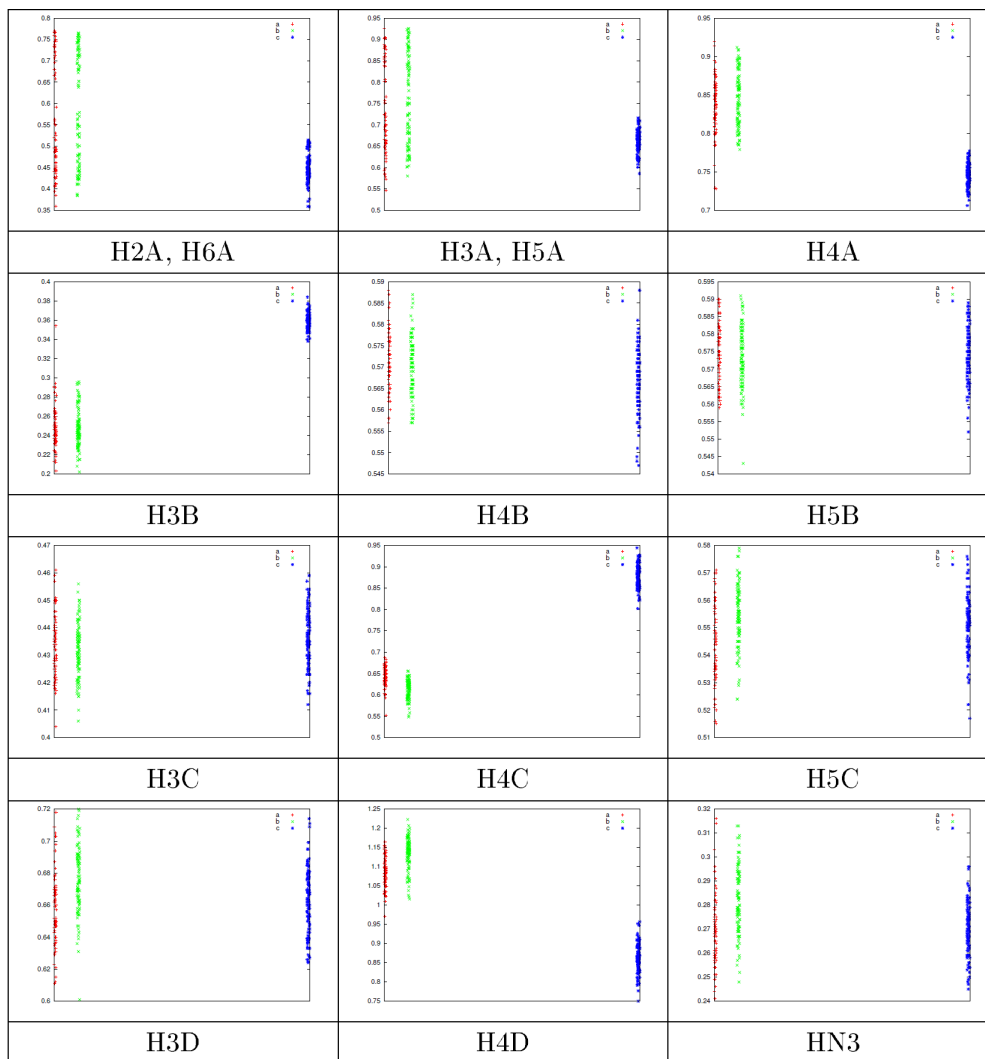
Appendix 4: Variation of distances (nm) on found conformations between hydrogens of methyl group and hydrogens of acetyl-foldamer 1 during the CHCl₃ simulation.



Appendix 5: Variation of distances (nm) on found conformations between hydrogen HN1 and hydrogens of foldamer 2a during the DMSO simulation.



Appendix 6: Variation of distances (nm) on found conformations between hydrogen HN2 and hydrogens of foldamer 2a during the DMSO simulation.



Appendix 7: Variation of distances (nm) on found conformations between hydrogen HN3 and hydrogens of foldamer 2a during the DMSO simulation.

