

Aromaattiset amidifoldameerit

Pro gradu -tutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

29.3.2015

Heikki Laakkonen

Tiivistelmä

Pro gradu -tutkielman kirjallinen osa keskittyy aromaattisiin, amidisidoksellisiin foldameereihin ja erityisesti amidi-, imidi- ja hydratsidifoldameereihin. Synteisien ja menetelmien sijaan osuudessa on paneuduttu foldameerien laskostumiseen vaikuttaviin tekijöihin, kuten vetysidoksiin, kiraaliseen induktioon ja kompleksoitumiseen. Tämän lisäksi myös foldameerien solubiologista vuorovaikutusta on tuotu esiin.

Kokeellinen osa keskittyy kahden aromaattisen amidifoldameerin synteeseihin ja niistä saatujen tuotteiden kiteyttämisiin ja kiderakenteisiin. Foldameerit laskostuivat testatuissa, polaarisisissa liuottimissa ja muodostivat sekä intramolekulaarisia että intermolekulaarisia vetysidoksia. Liuottimen kyky vetysitoutua foldameerin kanssa vaikutti havaittavasti laskostumiseen.

Esipuhe

Pro gradu -tutkielman kokeellinen osuus tehtiin Jyväskylän yliopiston Nanotiedekeskuksessa lokakuun 2013 ja huhtikuun 2014 välillä ja raportoitiin kesäkuussa 2014. Kirjallisen osuuden työstäminen aloitettiin elokuussa 2014 kokoamalla ja tutustumalla foldameerejä käsitteleviin artikkeleihin. Varsinainen kirjoitusvaihe tapahtui syyskuun 2014 ja maaliskuun 2015 välillä. Kirjallinen osuus tehtiin L^AT_EX-tekstinladontajärjestelmää opetellen ja käyttäen, ja myös kokeellinen osuus käännettiin jälkikäteen L^AT_EXille, minkä vuoksi tutkielman ulkoasu eroaa jonkin verran ”totutusta” Word-pohjaisesta.

Kokeellinen osuus pohjautui yliopistossa aikaisemmin tehtyihin foldameerejä käsitteleviin tutkimuksiin. Tämän lisäksi reaktio-olosuhteita etsittiin SciFinder- ja Reaxys-tietokantojen sekä myös Googlen avulla. Kirjallisessa osuudessa käytetty ja käsitelty materiaali haettiin etupäässä SciFinderin avulla käyttäen hakusanana yksinkertaisesti sanaa *foldamers*, jota tarpeen tullen täydennettiin tarkentavilla sanoilla kuten *amide* ja *aromatic*. Googlen avulla haettiin tiedossa olevia, artikkeleissa listattuja julkaisuja. Materiaalia käytiin läpi systemaattisesti artikkeli kerrallaan, mikä sitten täydensi aiemmin läpikäytyjä artikkeleita.

Kokeellisen osuuden ohjaajana toimi tohtorikoulutettava Aku Suhonen ja kirjallisen osuuden ohjaajana professori Maija Nissinen. He ansaitsevat suurimmat kiitokset kaikesta ajasta, avusta ja neuvoista, jotka he ovat antaneet sekä kokeellisen että kirjallisen osuuden aikana. Heidän lisäksi kiitän muita professori Maija Nissisen tutkimusryhmän jäseniä, joiden parissa kokeellista osuutta edistettiin. Lisäksi haluan kiittää kemian laitoksen foldameerien mittauksia suorittanutta henkilökuntaa. Lopuksi kiitän myös kesän 2014 L^AT_EX-

kurssin järjestäjiä johdatuksesta L^AT_EXin käyttöön.

Jyväskylässä 6.3.2015

Heikki Laakkonen

| | |
|-------------------------|----|
| <i>SISÄLLYSLUETTELO</i> | iv |
|-------------------------|----|

Sisällysluettelo

| | |
|-------------|---|
| Tiivistelmä | i |
|-------------|---|

| | |
|---------|----|
| Esipuhe | ii |
|---------|----|

| | |
|------------------|----|
| Sisällysluettelo | iv |
|------------------|----|

| | |
|--------------------|----|
| Käytetyt lyhenteet | ix |
|--------------------|----|

| | |
|-------------------------------|----------|
| <u>KIRJALLINEN OSA</u> | 1 |
|-------------------------------|----------|

| | |
|-------------------|----------|
| 1 Johdanto | 1 |
|-------------------|----------|

| | |
|--------------------------------------|----------|
| 2 Amidifoldameerien valmistus | 4 |
|--------------------------------------|----------|

| | |
|--------------------------------------|---|
| 2.1 Käytettyjä monomeerejä | 4 |
|--------------------------------------|---|

| | |
|--|---|
| 2.2 Yleisimpiä synteessimenetelmiä | 5 |
|--|---|

| | |
|--------------------------------------|---|
| 2.3 NMR-spektrien tulkinta | 9 |
|--------------------------------------|---|

| | |
|--|-----------|
| 3 Aromaattiset amidifoldameerit | 12 |
|--|-----------|

| | |
|--------------------------------|----|
| 3.1 Amidifoldameerit | 12 |
|--------------------------------|----|

| | |
|--------------------------------|----|
| 3.2 Imidifoldameerit | 15 |
|--------------------------------|----|

| | |
|-------------------------------------|----|
| 3.3 Hydratsidifoldameerit | 18 |
|-------------------------------------|----|

| | |
|--|-----------|
| 4 Amidifoldameerien laskostuminen | 22 |
|--|-----------|

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.1 | Vetysidokset | 23 |
| 4.2 | Muut heikot vuorovaikutukset | 27 |
| 4.3 | Sivuketjut | 28 |
| 4.4 | Foldameerin kiertyminen | 29 |
| 4.5 | Foldameerikaksoiskierteet | 31 |
| 5 | Kiraalinen induktio | 35 |
| 5.1 | Foldameerikierteen kätisyys | 35 |
| 5.2 | Kiraalisen induktion aiheuttajat ja ilmeneminen | 36 |
| 5.3 | Kätisyyden muuttuminen | 38 |
| 5.4 | Vieraalla aiheutettu kiraalinen induktio | 39 |
| 5.5 | Kiinteä tila ja kiteytyminen | 40 |
| 5.6 | Kätisyyden määrityksen menetelmät | 41 |
| 6 | Isäntä–vieras-kemia ja kompleksoituminen | 44 |
| 6.1 | Kationivieraat | 44 |
| 6.2 | Neutraalit ja biologiset vieraat | 45 |
| 6.3 | DNA-vuorovaikutus | 47 |
| 6.4 | Kapselit | 49 |
| 7 | Valokemialliset reaktiot | 53 |

| | |
|--|-----------|
| <i>SISÄLLYSLUETTELO</i> | vi |
| 7.1 Turn-on ja turn-off -foldameerit | 54 |
| 7.2 Itsejärjestäytyvät ja varausta siirtävät foldameerit | 55 |
| 7.3 Fotoisomeroituvat ja -dimerisoituvat foldameerit | 56 |
| 7.4 Valokemiallisten reaktioiden tutkiminen | 59 |
| 8 Amidifoldameerien toksisuus ja vuorovaikutus solujen kanssa | 60 |
| 8.1 Vuorovaikutus solukalvon kanssa | 61 |
| 8.2 Toksisuuden määrittäminen ja kontrollointi | 63 |
| 8.3 Kalvojen läpäisykyvyn tutkimusmenetelmät | 65 |
| 8.4 <i>In vivo</i> , <i>in vitro</i> ja resistenssikokeet | 66 |
| 9 Yhteenveto | 68 |
| <u>KOKEELLINEN OSA</u> | 70 |
| 10 Työn tarkoitus | 70 |
| 11 Työssä käytetyt synteesimenetelmät ja reaktiomekanismi | 72 |
| 11.1 Käytetyt synteesimenetelmät | 72 |
| 11.2 Reaktiomekanismi | 73 |
| 12 Työssä käytetyt reagenssit, liuottimet ja laitteet | 75 |
| 12.1 Käytetyt reagenssit ja liuottimet | 75 |

| | |
|---|-----------|
| 12.2 Käytetyt laitteet | 76 |
| 13 Synteesiohjeet | 78 |
| 13.1 $N^2, N^{2'}$ -(1,2-fenyleeni)bis(N^6 -(2-bentsamidofenylyl)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42) | 78 |
| 13.2 2-amino- N -(2-aminofenylyl)bentsamidi (48) | 80 |
| 13.2.1 Menetelmä A | 81 |
| 13.2.2 Menetelmä B | 84 |
| 13.3 2-aminobentsoyylikloridi (51) | 85 |
| 13.4 N^2 -(2-bentsamidofenylyl)- N^6 -(2-(2-(6-((2-bentsamidofenylyl)-karbamoyyli)pikolinamido)bentsamido)fenylyl)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi (43) | 87 |
| 14 Kiteytykset ja kompleksoinnit | 90 |
| 14.1 $N^2, N^{2'}$ -(1,2-fenyleeni)bis(N^6 -(2-bentsamidofenylyl)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42) | 90 |
| 14.1.1 Kiteytykset | 90 |
| 14.1.2 Kiderakenteet | 91 |
| 14.2 N^2 -(2-bentsamidofenylyl)- N^6 -(2-(2-(6-((2-bentsamidofenylyl)-karbamoyyli)pikolinamido)bentsamido)fenylyl)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi (43) | 93 |
| 14.2.1 Kiteytykset | 93 |
| 14.2.2 Kiderakenteet | 94 |

| | |
|--|------------|
| <i>SISÄLLYSLUETTELO</i> | viii |
| 14.3 N^2 -(2-aminofenyyli)- N^6 -(2-bentsamidofenyyli)pyridiini-2,6-di- karboksiamidi (45) | 95 |
| 14.3.1 Kompleksointikiteytykset | 95 |
| 14.3.2 Foldameerin 45 ja TBA-F:n liuostilan kompleksointi | 97 |
| 15 Valmistetut yhdisteet | 100 |
| 16 Lähteet | 101 |
| Liitteet | 110 |

Käytetyt lyhenteet

| | |
|---------------|--|
| ACN | asetonitrili |
| AMP | antimikrobinen peptidi |
| Boc | <i>tert</i> -butoksikarbonyyli |
| CD | sirkulaaridikroismi |
| COSY | korrelaatiopektroskopia |
| DCC | <i>N,N'</i> -disykloheksyylikarbodi-imiini |
| DCM | dikloorimetaani |
| de | diastereomeerinen ylimäärä |
| DEAD | dietyyliatsodikarboksylaatti |
| DMA | <i>N,N'</i> -dimetyyliasetamidi |
| DMAP | 4-dimetyyliaminopyridiini |
| DMA | <i>N,N'</i> -dimetyyliformamidi |
| DMSO | dimetyylisulfoksidi |
| DNA | deoksiribonukleinihappo |
| DQF | kaksoiskvanttisuodatettu (double quantum filtered) |
| EDC | 1-etyyli-3,3'-(dimetyyliaminopropyli)karbodi-imidi |
| ESI-MS | sähkösumutusionisaatiomassaspektrometria |
| EtOAc | etyyliasetatti |

| | |
|---------------|--|
| G-4DNA | guaniinirikas nelijuosteinen DNA |
| hex | heksaani |
| hfc | tris[3-(heptafluoripropylihydroksimetyleeni)-(+) -kamforaatti] |
| HMBC | eriytimien monisidoskoherenssi [-spektroskopia] (heteronuclear multiple bond coherence) |
| HOBt | 1-hydroksibentsotriatsolihydraatti |
| HSQC | eriytimien yksöiskvanttikohereenssi [-spektroskopia] (heteronuclear single quantum coherence) |
| IR | infrapuna |
| MIC | inhiboiva minimikonsentraatio |
| MTS | kolorimetrinen menetelmä elävien solujen arvioinnissa |
| MS | massaspektrometria |
| NMR | ydinmagneettinen resonanssi |
| NOE | ytimien Overhauser-ilmiö |
| NOESY | ytimien Overhauser-ilmiön spektroskopia (nuclear Overhauser effect spectroscopy) |
| ppm | miljoonasosa |
| redox | hapetus-pelkistys |
| RNA | ribonukleiinihappo |

- ROESY** pyörivän koordinaatiston ytimen Overhauser-spektroskopia
(rotating frame nuclear Overhauser effect spectroscopy)
- RT** huoneenlämpö
- SELEX** ligandien systemaattinen kehittäminen eksponentiaalisella rikastamisella
(systematic evolution of ligands by exponential enrichment)
- SPR** pintaplasmoniresonanssi
- TBA-** tetrabutyyliammonium-
- TEM** transmissioelektronimikroskopia
- THF** tetrahydrofuraani
- TLC** ohutkerroskromatografia
- TOCSY** kokonaiskorrelaatio-spektroskopia
- UV/Vis** ultravioletti/näkyvä valo

KIRJALLINEN OSA

1 Johdanto

Foldameerit ovat synteettisiä oligomeerejä, joille on ominaista laskostuminen biologisten makromolekyylien tapaan. Laskostuminen perustuu heikkoihin kemiallisiin vuorovaikutuksiin, joita ovat muun muassa vetysidokset, elektrostaattiset vuorovaikutukset ja hydrofobinen efekti.¹ Foldameerien tapauksessa nämä ei-kovalenttiset vuorovaikutukset ovat usein intramolekulaarisia.²

Foldameereistä on raportoitu 1990-luvun puolivälistä lähtien. Alifaattisiin aminohappoihin perustuvien peptidijäljitelmiä pioneerejä ovat Gellman ja Seebach ja ensimmäiset esimerkit aryylimidifoldameereistä raportoi Hamilton *et al.* 1996.³⁻⁶ Merkittäviin foldameeritutkimuksen nimiin lukeutuu myös Huc *et al.*

Laskostuminen on biomolekyylien toiminnalle olennaista ja esimerkiksi edellytys entsyymien kyvyllä katalysoida eri reaktioita.⁷ Foldameerien avulla yritetäänkin ymmärtää ja jäljitellä biologisia järjestelmiä, kuten peptidien ja proteiinien rakenteen ja ominaisuuksien välistä yhteyttä.³ Peptidomimeettisellä alalla foldameerit ovat merkittävä yhdisteryhmä ja askel kohti täysin synteettisiä proteiinianalogeja.⁸ Parhaiten foldameerit ovat rakenteeltaan vastanneet biologisia sekundäärisiä rakenteita, itsenäisiä (isolated) helikaalisia tai lineaarisia juosteita.⁹ α -kierteiden lisäksi foldameereillä voidaan jäljitellä myös β -levyjä ja -käännöksiä.⁸ Laskostuneiden ja suorien peptidijäljittelijöiden lisäksi on olemassa myös siksak-tyypin oligomeerejä, joissa oligomeerin funktionaaliset ryhmät ovat samalla puolella molekyyliä.³ Funktionaalisten ryhmien jakautuneella esiintymisellä on etunsa, esimerkiksi amidiryhmiä

toispuoleisesti sisältävät siksak-oligomeerit voivat muodostaa stabiileita kaksoisrakenteita (duplex).

Luonnon molekyylit koostuvat usein α -aminohapoista, joiden muodostamaa rakennetta on usein jäljitelty alifaattisilla β -, γ - ja δ -aminohappoketjuilla ja -peptidihomologeilla.^{3,8} Aromaattisista oligomeereistä oligoamideilla on läheisin analogia peptidien kanssa. Toinen vaihtoehto α -aminohappojäljittelyyn onkin aryyliamidien käyttö. Aryyliryhmät lisäävät molekyylin jäykkyyttä ja stabiilisuutta vetysidosten lisäksi aromaattisten vuorovaikutusten avulla ja tarjoavat monenlaisia mahdollisuuksia foldameerin rakenteelle. Amfiifilisia aryyliiryhmiä sisältävillä lineaarisilla oligomeereillä on jäljitelty peptidipohjaisten α -kierteiden pintaa osittain, koska kattavan peptidianalogian saavuttaminen ei onnistu.¹⁰ Tässä suhteessa aryyliamidioligomeerit eivät siis ole yhtä hyviä kuin alifaattiset aminohappoketjut, mutta rajoitteesta huolimatta esimerkiksi proteiinipintaa on onnistuttu jäljittelemään pyridiiniin pohjautuvilla foldameereillä. Helikaalisten aromaattisten amidioligomeerien etuna on, ettei sivuketjujen koostumus vaikuta kierteen rakenteeseen tai stabiilisuuteen samalla tavoin kuin peptideissä.¹⁰ Vaikka aromaattiset oligomeerit ovat kasvavan mielenkiinnon kohteena, ovat α -peptidijäljittelijöistä tutkituimmat silti toistaiseksi olleet alifaattisia.⁸

Foldameerit voivat muistuttaa muitakin molekyyliä kuin biologisia. Esimerkiksi kompleksoidessaan alkalimetallikationeja foldameerit muistuttavat sferandeja ja kruunueettereitä.⁷ Foldameerejä on myös käytetty metallo syklofaanien ja makrosyklien synteeseissä, jolloin on hyödynnetty suorien ja siksak-pääketjujen helppoa funktionalisointia.³ Makrosyklien tapauksessa bismakrosykliä on saatu aikaan jopa monomakrosykliä paremmalla saannolla.

Oligomeeritutkimukselle on usein oleellista stabiilien helikaalisten konformaatioiden aikaansaaminen, jotta laskostuneiden biopolymeerien rakennetta voidaan jäljitellä.¹⁰ Yhtenä tutkimuksen rajoitteena on ollut foldameerien koko, jota rajoittaa muun muassa pitkien peptidiketjujen synteesien työläisyys.⁹ Suurimmat foldameerit ovat molekyylipainoltaan yli 8 kDa, mikä kooltaan ja rakenteelliselta monimuotoisuudeltaan vastaa kohtalaisen kokoista tertiäärirakenteista proteiinia. Suurimpien foldameerien synteeseissä on sovellettu dendrimeerien ja muiden haaroittuneiden rakenteiden tapaan divergenttiä tai konvergenttiä lähestymistapaa, ja suurimmat foldameerit ovat koostuneetkin kahdesta helikaaliosasta.

Foldameereille on löydetty monia sovelluskohteita, muun muassa kemiallisessa biologiassa ja lääkeainesuunnittelussa.³ Biokemian puolella foldameerejä voidaan käyttää jäljittelemään esimerkiksi proteiinien rakennetta ja toimintaa, mikä onnistuu myös varsinaisen proteiinin luonnollisesta ympäristöstä poikkeavissa olosuhteissa.⁹ Foldameeripohjaisilla entsyymijäljittelijöillä on mahdollista edistää molekyylien välisiä nukleofilisiä reaktioita.⁷ Entsyymijäljittelyssä pyritään muodostamaan entsyymien laskostumisen seurauksena syntyvä onkalo, joka rajoittaa reaktion komponentit pieneen tilaan ja toistensa läheisyyteen ja aiheuttaa katalyyttisen vaikutuksen. Alifaattisten α -amino happojäljittelijöiden sovelluskohteina on mainittu antibiootit, proteiini-proteiini-vuorovaikutusten estäminen ja geeninsiirtomenetelmät (gene delivery systems).^{8,10} Myös useilla laskostuneilla β -peptideillä on todettu olevan antibakteerisia ja antimikrobisia ominaisuuksia.⁷

2 Amidifoldameerien valmistus

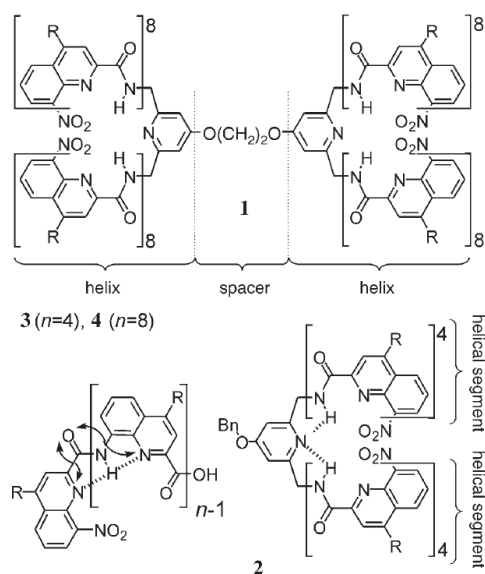
Amidifoldameerien synteesissä olennaiset amidisidokset voidaan tehdä perät-
täisillä amidikytkennöillä.³ Amidien lisäksi muita foldameereissä käytettyjä
typellisiä sidosryhmiä ovat olleet *N*-okso-amidit, sulfonamidit, imidit, sulfok-
simiinit, ureat ja hydratsidit.⁸ Foldameerin rungon aromaattisilla ryhmillä
vaikutetaan rakenteen lineaarisuuteen tai taipumiseen, kierteen halkaisijaan
ja sivuketjujen suuntautuneisuuteen.¹¹

Suurimmat amidifoldameerit ovat olleet aromaattisia, joiden rakenne on
koostunut kahdesta etyleeniglykolisillan kautta toisiinsa keskeltä liityneestä
kierteestä (kuva 1).⁹ Pienemmissä esimerkeissä kaksiosaisia kierteitä on yh-
distänyt pyridiinirengas. Suuremman molekyylipainon foldameerejä voidaan
valmistaa myös polymeerikemian menetelmin.¹² Polymeerisynteesillä on val-
mistettu jopa 2–4 kDa:n foldameerejä. Suuremmasta molekyylipainosta on
hyötyä materiaalisovelluksissa.

2.1 Käytettyjä monomeerejä

Aryyliamidifoldameerejä valmistetaan monomeereistä, jotka jakautuvat kah-
teen pääluokkaan.³ Ensimmäiseen luokkaan lukeutuvat aryyliaminohapot,
jotka muistuttavat luonnossa esiintyviä α -aminohappoja. Toinen luokka on
yhdistelmä dihapvoja ja -amiineja, joiden avulla on mahdollista valmistaa
symmetrisiä oligomeerejä.

Tavallisia aromaattisten amidifoldameerien rakennuspalikoita ovat olleet py-
ridiinit ja pyridiniumit, kinoliinit, antraniilihapot, pyridiinioksidit, alkoksi-
bentseenit, pyratsiinit ja fluoribentseenit.¹¹ Laajempaa aromaattista pintaa



KUVA 1 Kaksikierteinen 8 kDa:n foldameeri **1** ja 2 kDa:n foldameeri **2**.⁹

haettaessa on käytetty kinoliinien ohella esimerkiksi antraseenijohdannaisia.

Urea johdannaisia on käytetty vetysidosperusteisessa itsejärjestäytymisessä ja hydratsidiyksiköitä keinotekoisien β -levyjen synteesissä.³ Sekä urea- että hydratsidiperustaisia amidianalogeja voidaan käyttää sekä symmetristen ja asymmetristen rakenteiden valmistuksessa. Hydratsidilla on saatu aikaan erittäin jäykkiä ja tasomaisia kiinteän tilan rakenteita.

2.2 Yleisimpiä synteesimenetelmiä

Tavanomainen tapa syntetisoida amideja on happokloridin ja amiinin välinen reaktio ja nukleofiilinen substituutio, mitä on saatettu auttaa katalyytillä, kuten DMAP:lla.² Hydratsideja on vastaavasti syntetisoitu happokloridista ja hydratsiinista vähintään kohtuullisilla saannoilla (> 70 %). Synteesiolosuhteet eivät ole olleet täysin ongelmattomia, sillä ne ovat sisältäneet

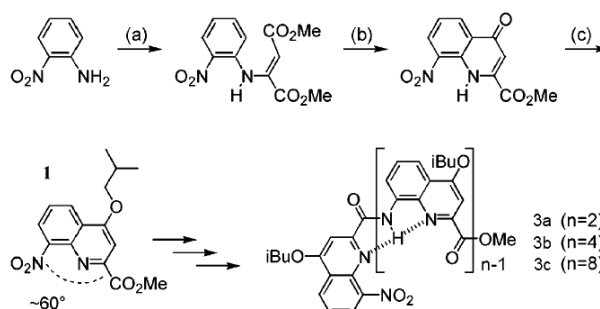
karsinogeenistä bentseeniä. Vaihtoehtona happokloridille on ollut karboksyylihapojen ja jonkin kytkentäreagenssin käyttö. EDC on usein käytetty kytkentäreagenssi sekä amidi- että hydratsidisidosten synteesissä, mutta myös DCC:tä on käytetty.

Happoklorideja voidaan valmistaa karboksyylihapoista, joita taas saadaan estereistä saippuoinnin avulla, mitä on hyödynnetty myös foldameerisynteesissä.¹¹ Happokloridien valmistuksessa käytetään usein tionyylikloridia (SOCl₂). Happoklorideja on valmistettu myös miedommissa reaktioolosuhteissa käyttäen 1-kloori-*N,N*,2-trimetyylipropenyliamiinia.¹⁰ Miedompien olosuhteiden etuna on synteesin toimivuus myös monien tavallisimpien α -aminohapposivuketjujen suojaryhmien, kuten *tert*-butoksykarbonyyliin (Boc), kanssa. Tämän myötä 1-kloori-*N,N*,2-trimetyylipropenyliamiinilla on saavutettu edistystä vesiliukoisten amidifoldameerien synteesissä, jotka ovat vielä melko tuntemattomia.

Kinoliinejä on valmistettu kolmessa vaiheessa 2-nitroaniliinista ja dimetyyliasetyleenidikarboksylaatista (kuva 2).^{8,13} Ensimmäisen vaiheen tuotteena on enamiini, jonka kaksoissidoksen konformaatio on *trans*.⁸ Toisessa vaiheessa enamiinista tehdään kinolinoli termisesti (refluksointi Ph₂O:ssa) tai fosforihapon avulla.^{8,14} Kinoliini tehdään kinolinonista Mitsunobu-reaktiolla, jolla myös muodostetaan sivuketju, alkyyl-aryyli-eetteri, *para*-asemaan kinoliinin tyyppiin nähden ilman *N*-alkylaatiota.^{8,13}

Mitsunobu-olosuhteita käyttäen on tehty myös foldameerien diatsa-antraseenirunkoja.¹⁵ Reaktioon vaadittava lähtöaine on tehty 2,6-diaminotolueenista ja dimetyyliasetyleenidikarboksylaatista.¹⁵

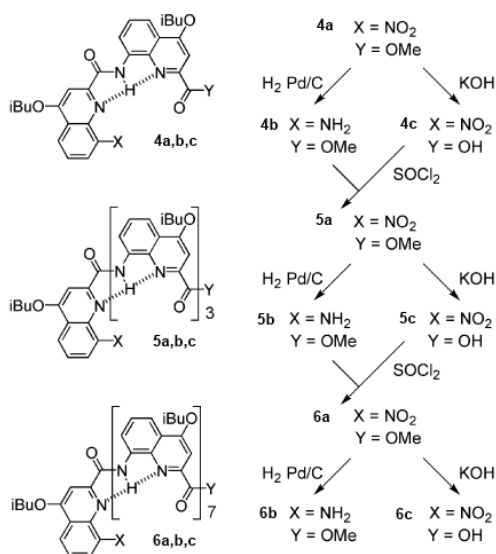
Homo-oligopeptideitä on syntetisoitu kiinteässä tilassa, mutta myös työvaiheita säästävää vaihtoehtoinen, molekyylin koon kaksinkertaistava menetelmä



KUVA 2 Kinoliinifoldameerien synteesi: (a) Dimetyyliasetyleenidikarboksy-laatti, MeOH, RT; (b) difenyylietteri, refluksointi; (c) isobutanoli, DEAD, PPh₃, THF, RT.¹³

tunnetaan (segment doubling strategy).¹³ Menetelmä hyödyntää selektiivisiä suojausryhmien poistoja ja happokloridikytkentöjä, ja sitä on käytetty oligomeerien konvergentissä valmistuksessa. Vähempien välivaiheiden myötä etuina ovat lisäksi kustannustehokkaampi synteesi sekä parempi skaalattavuus. Menetelmää on sovellettu kinoliinifoldameerisynteessissä, jolloin nitro- ja esteriryhmät sisältävästä kinoliinimonomeeristä on ensin valmistettu hydrauksen ja saippuoinnin avulla amino-esteri- ja nitro-happomuodot. Näistä kinoliinijohdannaisista saadaan SOCl₂-aktivoinnin avulla nitro-esteri-dimeeri, ja toistuvien hydrausten, saippuointien ja SOCl₂-aktivoointien avulla dimeereistä on edetty tetra-, heksa- ja oktameereihin (kuva 3).⁸ Molekyylin pidentyessä hydrauksen ja saippuoinnin vaatima reaktioaika tai -lämpötila kasvaa, mikä lienee seurausta molekyylin laskostumisesta ja laskostumisen reaktiivisuutta vähentävästä vaikutuksesta. Myös synteessin ainemäärien kasvattaminen parantaa ja kompensoi pienentyvää saantoa, joka esimerkiksi oktameeri-oktameeri-kytkennässä on jäänyt alle 10 %:iin.

Edellä mainitun konvergentin synteessimenetelmän ohella pitkiä juosteita voidaan tehdä käyttäen kytkentäreaktioita ja iteratiivista lähestymistapaa.⁸



KUVA 3 Kinoliinioligoamidien synteesejä.⁸

Kytkentäreaktiot onnistuvat, kun toinen reagenssi on laskostunut ja toinen on lyhyt ja steerisesti estymätön. Esimerkiksi kinoliininen dekameerifoldameeri **7** (kuva 2, $n = 10$) on tehty amino-oktameeristä ja happoklorididimeeristä, ja dekameeristä voitaisiin jatkaa edelleen dodekameeriin. Iteratiivinen prosessi onkin sopiva erilaisten monomeerien tai muunkaltaisten rakenneyksiköiden liittämässä sarjaan, kuten esimerkiksi juuri kiinteän faasin peptidisynteesissä.

Polymeerisiä aromaattisia polyamideja on valmistettu polykondensaatioreaktiolla *m*-aminobentsoehapon johdannaisista.¹² Polykondensaatioreaktioissa on käytetty kondensoijana (condensing agent) trifenyylifosfaattia ja aktivaattorina pyridiiniä. Liukoisuutta on parannettu LiCl:lla, joka estää intermolekulaaristen vetysidosten muodostumista ja syklisoitumista polymerisaation aikana. Bentsoehappoa ja aniliinia on käytetty molekyylipainon hallinnassa. Metoksiryhmän sisältävien 2-aminobentsoehappojohdannaisten polymerisaation aikana on havaittu metoksiryhmien demetylaatiota, joka voi olla

ei-toivottua, mutta se voi toisaalta ehkäistä polymerisaation aikaista sykliisaatiota. Lisäksi fenoksidisen polymeerimuodon voi odottaa muodostavan heurekaalisen rakenteen. Takaisinmetylointia on tehty Me_2SO_4 :lla, joka metyloi paitsi fenoksiyhmät myös polymeerin päässä olevat karboksyylihapporyhmät ja aniliinityypet. Polymeerien konformaatioita, ja foldameerien puhtautta, on määritetty geelinläpäisykromatografialla.^{12,16}

2.3 NMR-spektrien tulkinta

Peptidomimeettisten ketjurakenteiden, kuten alifaattisten β -, γ - ja δ -peptidien NMR-spektrien tulkinta voidaan tehdä α -peptideille suunniteltujen NMR-protokollien pohjalta.¹⁷ Erityisesti NOESY:n korrelaatiot ja skalaarikytkenät viereisten amidi- ja alifaattisten protonien välillä mahdollistavat monomeerijärjestyksen ja ^1H NMR -spektrien assignoinnin. Samaytimiseen (homonukleaariseen) skalaarikorrelaatioon perustuvan assignoinnin raja tulee vastaan useita tetrasubstituoituja α -hiiliä sisältävissä peptideissä. Tällöin oligomeerin vaiheittainen monomeerinen assignointi voidaan suorittaa HMBC-mittausten avulla $\text{NH}_i \rightarrow \text{CO}_i \rightarrow \text{NH}_{i+1}$ -vuorovaikutusten pohjalta.

α -peptidien liuostilan rakenteita varten kehitelty ja alifaattisille β - ja γ -peptideille käytetyt NMR-protokollat eivät ole kuitenkaan suoraan sovellettavissa aromaattisille oligomeereille.¹⁷ Aromaattiset ryhmät ja niiden toisiinsa peittävät signaalit tekevät ^1H NMR -spektrien tulkinnasta vaikeaa, esimerkiksi signaalien päällekkäisyys ja juosteen C_2 -symmetria voivat hankaloittaa NOE-korrelaatioiden tunnistamista. Oligomeerin symmetrisyys vähentää kuitenkin signaalien ja signaalien päällekkäisyyksien määrää, joten symmetristen foldameerien ^1H NMR -spektrit ovat merkittävästi asymmetrisiä yksinkertaisempia.³ Symmetrian voi silti odottaa aiheuttavan signaalien degene-

roitumista ja epäselvyyttä kahdelle samanlaiselle ryhmälle kuuluvista signaaleista, mikä voi silti olla parempi vaihtoehto kuin signaalien päällekkäisyydestä syntyvät tulkintavaikeudet.¹⁷ Aromaattisen foldameerin aromaattisen sekvenssin päättelyminen ei onnistu pelkkien protonikorrelaatioiden avulla.

Foldameerioligomeereillä korrelaatioita voi ilmetä tähteiden i ja $i+1$ sekä $i+2$ välillä, jotka voidaan tunnistaa ja assignoida 2D HMBC ja HSQC sekä 1D ^{13}C -mittausten avulla.¹⁷ Täysimääräinen assignointi mahdollistaa muiden NMR-mittausten tekemisen, esimerkiksi foldameerin sisäisten dynaamisten ilmiöiden tutkimisen. Foldameerien liuostilan rakenteita onkin edelleen määritetty NOESY:llä ja ROESY:llä. NOESY:n hyödyllisyyttä voi vähentää NOE-korrelaation signaalien erottumattomuus muista korrelaatioista, kuten TOCSY:stä, tai taustasta. Vähäinen NOE-korrelaatioiden määrä voi haitata myös esimerkiksi molekyylihallinnuksen tekemistä. Myös DQF-COSY-mittaukset mahdollistavat oligomeerin eri monomeeritähteiden osittaisen ja toisinaan kattavankin identifioinnin.

Vetysitoutuneiden amidiprotonien varjostumattomuus (signaalit 11–12 ppm) ja aromaattisten ja esteristen protonien varjostuneisuus verrattuna lyhyempiin oligomeereihin ovat epäsuoria todisteita helikaalisesta konformaatiosta.¹⁷ Esimerkiksi kinoliini- ja pyridiinioligomeereillä metyyliesterin signaali voi erota jopa yhdellä ppm:llä verrattuna monomeereihin (3.03 ppm ja 3.34 ppm vs 4.10 ppm). Kinoliinisen amidioligomeerin sisältämän esterisen metyyliiryhmän signaalin muuttui 4.23 ppm:stä 2.99 ppm:ään dimeeristä **3a** oktameeriin **3c** (kuva 2, s. 7) siirryttäessä.¹³ Samalla kinoliinin pyridiinirenkään ainoan aromaattisen protonin resonanssi siirtyi 7.6–8.0 ppm alueelta 6.1–7.0 ppm alueelle.

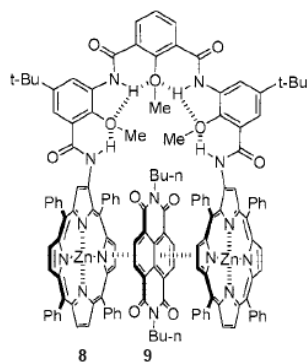
NMR-liuottimista CDCl_3 on mainittu hyväksi liuottimeksi, koska foldamee-

rinäytteen signaalit levittyvät spektrissä laajalle alueelle sitä käytettäessä.¹⁷ CDCl_3 :n ongelmana kuitenkin on aromaattiselle alueelle jäävä jäännöspiikki. DMSO-d_6 onkin tässä suhteessa hyvä vaihtoehto, ja toisinaan liuottimen vaihto CDCl_3 :sta DMSO-d_6 :een on parantanut monia aromaattisia ryhmiä sisältävän foldameerin spektrin resoluutiota.² DMSO-d_6 liuottaa kattavasti sekä poolisia että poolittomia yhdisteitä, mutta foldameerien liukenemattomuus ei siitä huolimatta ole tavatonta.

3 Aromaattiset amidifoldameerit

3.1 Amidifoldameerit

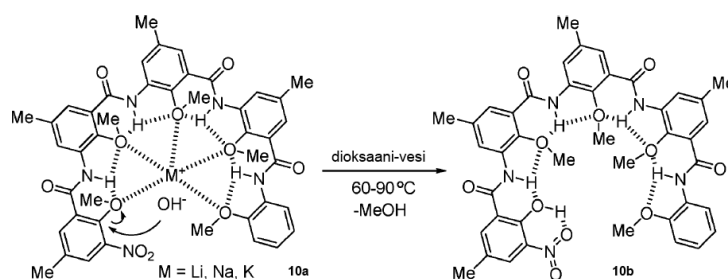
Aromaattisten amidioligomeerien rakenteet ovat aromaattisten vuorovaikutusten ansiosta stabiilimpia kuin alifaattisten amidien ja aromaattisia oligomeerejä on toisinaan sisällytetty alifaattisten ketjujen osaksi.^{1,8} Useimmat julkaistut aryyliamidiperustaiset sekundääriset rakenteet ovat konformaatioltaan laskostuneita, sirppimäisiä (crescent) tai helikaalisia.³ Aromaattisten amidifoldameerien laskostumisen ennustettavuus perustuu perättäisten yksiköiden välisiin stabiloiviin vuorovaikutuksiin eli aromaattisten vuorovaikutusten lisäksi amidiryhmien mahdollistamiin vetysidoksiin.⁸ Aromaattisten amidifoldameerien tarjoamaa jäykkyyttä on hyödynnetty muun muassa molekyyli-pinseteissä (kuva 4).³



KUVA 4 Sinkkiporfyriinipohjainen aromaattinen amidifoldameeri **8** molekyyli-pinsettinä.³

Aromaattisia oligoamideja on tutkittu orgaanisissa liuottimissa, jotka yleensä ovat olleet kloorattuja tai aromaattisia.¹⁸ Oligoamidikierteet voivat kestää myös vesipitoista ympäristöä ja tautomeeriseen tasapainoon vaikuttavia tekijöitä. Aromaattisilla amideilla kuten yleensä aromaattisilla oligomeereil-

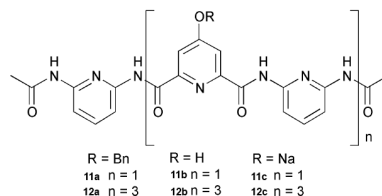
lä on suuri vastustuskyky hydrolysoitumista kohtaan.⁸ Alkalimetallikationeiden kompleksointi kuitenkin edesauttaa vastaavien alkalimetallihydroksien hydrolyysireaktiota eli foldameerin anisoliryhmien emäshydrolyysiä. Hydrolyysin tapahtumisen edellytys on nitroryhmän olemassaolo. Esteriryhmä tai vastaava happoryhmä ei omaa riittävän suurta kykyä vetää elektroniheyttä puoleensa, jotta hydrolysoitumisen tapahtuisi. Hydrolysoituminen nopeutuu foldameerin koon kasvaessa, myös korkeahko lämpötila ja polaarinen ympäristö auttavat (kuva 5).⁷



KUVA 5 Aromaattisen amidifoldameerin nitro-substituoidun anisoliryhmän hydrolyysi.⁷

Pyridiinit ovat pienikokoisia aromaattisia foldameeriyksiköitä: pyridiinioli-goamidien pituus (toistuvaa) yksikköä kohden jää noin puoleen kinoliinipohjaisista oligoamideista (13 Å vs 6,8 Å).¹³ Pyridiinipohjaiset oligoamidit voivat muodostaa kaksoiskierteitä ja aggregaatteja, joita esimerkiksi kinoliinijohdannaiset eivät välttämättä muodosta. Aggregoitumisen mahdollisuudesta huolimatta kiteytyksiä on kuitenkin onnistuneesti tehty muun muassa nitrobenseeni–heptaani- ja DMSO–EtOH-seoksissa.¹⁸ Vesiliukoisia pyridiinifoldameereista on saatu aromaattisten renkaiden lukumäärästä riippumatta, kun foldameerin fenoliryhmät on muutettu natriumfenolaateiksi (kuva 6). Myös lyhyillä bentsyylioksi-, hydroksi- ja hydroksylaattiosilla varustettujen oligopyridiinidikarboksiamidien on todettu muodostavan hyvin stabiileja, int-

ramolekulaaristen vetysidosten tukemia yksöiskierteitä jopa vedessä.



KUVA 6 Esimerkkejä pyridiinifoldameereistä, joista **12c** on vesiliukoinen.¹⁸

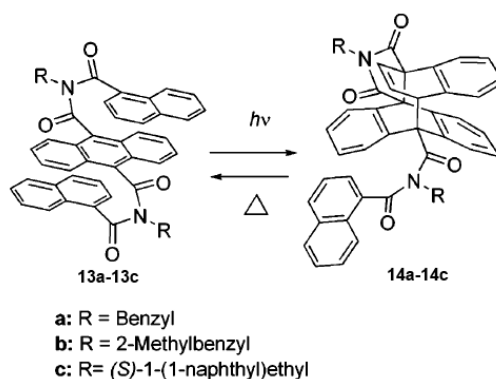
Vettä kestävät pyridiinifoldameerit eroavat monin tavoin α - ja β -peptidikier-teistä.¹⁸ Molekyylin kattava π -orbitaalien konjugaatio rajoittaa konformatio-naalista vapautta ja tarjoaa suotuisan kontaktin aromaattisten renkaiden ja amidisidosten välille. Foldameerikierteen vetysidokset ovat liuottimen vaiku-tukselta suojassa kierteen sisällä, mutta kohtisuorassa kierteen suuntaiseen akseliin nähden. Foldameerikierre voi hengittää (breath) ja pidentyä jousen tavoin ilman, että vetysidosverkosto muuttuu suuresti. Lyhyet foldameerit voivat laskostua vedessä α - ja β -peptidejä helpommin, sillä α - ja β -peptidien laskostuminen vaatii sivuketjujen välisiä kovalenttisia tai ei-kovalenttisia sta-biloivia vuorovaikutuksia tai tarkkaa aminohappokoostumuksen tasapainoa. Helpommasta laskostumisesta on etua esimerkiksi tertiääristen rakenteiden suunnittelussa.

Kinoliinit ja diatsa-antraseenit ovat pyridiiniä isompia aromaattisia yksiköi-tä, joita on käytetty foldameerien rakenteessa.¹⁵ Kinoliinipohjaisia foldamee-rejä on käytetty DNA:n ja foldameerisekvenssien välisten vuorovaikutusten tutkimuksissa huolimatta siitä, etteivät ne vastaa juurikaan biologisia ra-kenteita, mikä on tuottanut omat haasteensa kinoliinipohjaisten proteiini- ja nukleinihappoligandien suunnitteluun.¹⁹ Tähän mennessä on silti todet-tu lyhyiden tri- tai tetrameeristen, positiivisesti varautuneiden kinoliinis-ten oligoamidien voivan sitoutua guaniinirikkaan nelijuosteisen DNA:n (G-

quadruplex DNA, G-4DNA) kanssa. Kinoliinien ohella myös diatsa-antraseenejä on käytetty isompina aromaattisina yksiköinä foldameerin rakenteessa.

3.2 Imidifoldameerit

Aromaattisten imidien avulla voidaan muodostaa konformationaalisesti stabiileja, koveria rakenteita.¹ Imidifoldameereissa aromaattisia kokonaisuuksia yhdistävät iminodikarbonyyliryhmät. Aromaattisina yksiköinä on käytetty antraseenia ja naftaleenia, joita on ollut foldameerissa kaksi tai kolme ryhmää. Koveran konformaation lisäksi imidifoldameerit ovat laskostuneet S-muotoon (kuva 7). S-muodon foldameerien konformaatio voi edelleen olla symmetrinen siksak tai asymmetrinen helikaalinen. Suuren kiraalisen apuryhmän liittäminen imidityypeen voi muuttaa S-muodon foldameerien laskostumista. Substituentin koko vaikuttaa paitsi stabiilisuuteen myös foldameerin aromaattisten ja fotokromisten ryhmien suuntautumiseen kiinteässä tilassa.



KUVA 7 S-muodon imidifoldameerejä ja niiden sykloadditio/reversioreaktiot¹

Aromaattisten imidien stabiilisuus on hyödyllinen ominaisuus kiraalisten fo-

tokromisten järjestelmien valmistuksessa ja niiden nanoteknologian sovelluskohteena onkin nähty optinen tietojen käsittely ja tallennus.¹ Optinen tietojen käsittely on yleensä perustunut kahtaisstabiileihin molekyylijärjestelmiin, joihin lukeutuu esimerkiksi steerisesti ylitäysien (overcrowded) alkeiden *cis-trans*-fotoisomeria. Myös redox-järjestelmiä on käytetty.

Imidifoldameerit ovat osoittaneet T-tyypin fotokromismia eli reversiibeliala prosessia, jossa kemiallisen reaktion aiheuttaa toiseen suuntaan valo ja toiseen suuntaan lämpö. Atropisomeereihin (atropisomers) verrattuina molekulaariseen kiraalisuuteen perustuvien imidien optista aktiivisuutta on vaikea säilyttää ilman rasemisaatiota johtuen imidien liuostilassa joustavista yksöisidoksista.¹ Kiraalisuuden säilyminen on kuitenkin mahdollista ei-kovalenttisten vuorovaikutusten kuten vetysidosten avulla. Tutkittujen imidifoldameerien tapauksessa merkittäviä tekijöitä ovat elektrostaattinen repulsio karboonyliryhmien välillä, π - π -vuorovaikutukset sekä suurien imidisubstituenttien luomat steeriset esteet.

Imidifoldameerien helikaalisuutta ja kiraalisuutta on tutkittu CD-spektroskopian avulla. Imidifoldameerien CD-spektreistä voidaan havaita Cotton-efektiä, joka liittyy epätavallisiin optisen kiertymisen ja sirkulaaridikromismin muutoksiin säteilyn aallonpituuden lähestyessä absorptiovyöhykettä (absorption band). Liuostilan helikaalinen laskostumisen säilyminen voidaan osoittaa puolittamalla kide, liuottamalla toinen puoli ja vertaamalla kiinteän tilan ja liuostilan CD-spektrejä sekä Cotton-efektin samankaltaisuutta toisiinsa. Yhtenevät CD-spektrikuviot ovat tulkittavissa samaksi helikaalisuudeksi, mitä on hyödynnetty myös imidifoldameerien tapauksessa.

Aromaattisten imidifoldameerien on havaittu muodostavan kiraalisia kiteitä vaikka niiltä on puuttunut asymmetrinen hiili.¹ Foldameerien helikaalinen

rakenne ja kiraalisuus on säilynyt myös liuostilassa. Koverien foldameerien tapauksessa molekyylin on tällöin täytynyt sisältää vähintään kolme aromaattista ryhmää. Siksak-tyypin tapauksessa taas antraseenikokonaisuuksien synnyttämät helikaaliset kiraalisuudet ovat kumonneet toisensa. Kaiken kaikkiaan CD-signaaleja on havaittu useammin kiinteässä tilassa kuin liuostilassa. Liuoksessa suurikokoisen imidin substituentin ja steerisen esteen puute mahdollistaa kuitenkin konformaation liikkuvuuden ja siten välittömän rasemisaation tai epimerisaation.

Koverien imidifoldameerien liuostilan helikaalinen konformaatio on melko stabiili, mutta huoneenlämmössä CD-signaalit vähenevät ajan myötä.¹ Tetrahydronaftyli-substituoitujen imidi-yhdisteiden puoliintumisaika on alle 8 minuuttia $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa. Suurempi *N*-substituentti, kuten (*S*)-1-(1-naftyyli)-etyyli, tekee foldameeristä stabiilin useaksi viikoksi, mikä todistaa tyypin substituentin vaikuttavan helikaalisen konformaation stabiilisuuteen. CD-signaalien katoamisille voidaan esittää kaksi syytä: laskostuneen konformaation säilyttävä rasemisaatio tai yksittäisten kovalenttisten sidosten pyörähtäminen ja siitä johtuvat konformaation muutokset. Syy voidaan selvittää NMR:n ja foldameeriliuosten lämmittämisen aiheuttamien spektripoikkeamien avulla. Imidifoldameerien tapauksessa syy on rasemisaatiossa.

Sekä koverat että S-muodon imidifoldameerit ovat olleet fotokromaattisia ja pystyneet [4 + 4]-sykloadditioon ja sen sykloreversioon (kuva 7).¹ Kiraalisuuden kontrollointi retrosykloreversion jälkeen on kuitenkin vaikeaa, mikä rajoittaa aromaattisen [4 + 4]-sykloaddition käyttämistä kiraalisissa fotokromisissa järjestelmissä. Molekyyllisen kiraalisuuden ylläpitäminen on mahdollista, jos sykloreversion regeneroivien aromaattisten kokonaisuuksien geometrinen suhde (geometrical relation) säilyy kierteisyyden ohella. [4+4]-sykload-

ditiopäätuotteen ohella valokäsittelyn jälkeen voidaan löytää diastereomeeristä sykloadditiosivutuotetta ja retrosyklereversion palauttamaa lähtöainetta. Palautuminen on seurausta lämpötilan aiheuttamasta tuotteen epästabiilisuudesta eikä esimerkiksi valokemiallisesta reaktiosta. Esimerkiksi elohopealampun säteily muuttaa välittömästi imidifoldameeriliuoksen (**13a–13c**) keltaisesta värittömäksi, mikä on seurausta limittyvän p-järjestelmän tuhoutumisesta samalla kun indusoitu sirkulaaridikroismi häviää. Väri palautuu vähitellen liuoksen seisoessa huoneenlämmössä, mutta puoliintumisaika vaihtelee noin tunnista 30 tuntiin.

Imidifoldameerin imidin substituentti ja sen koko vaikuttaa sykloadditiotuotteen stabiilisuuteen ja reaktiotuotteiden tasapainoon.¹ Imidifoldameerien aromaattisen ryhmät ovat intramolekulaarisen [4 + 4]-fotosykloaddition kannalta steerisesti suotuisissa asemissa lähellä toisiaan: antraseenin ja naftaleenien väliset kulmat ovat alle 45° ja hiiliatomien etäisyydet ovat 2,9–4,6 Å. Lähekkäisyyden myötä osa naftaleenin protoneista varjostuu antraseenin vaikutuksesta, mikä NMR-spektrissä näkyy useiden protonien siirtymisenä yläkenttää kohti. Yhden naftoyyli-kokonaisuuden puuttuminen voi tehdä S-muodon foldameerien sykloadditiotuotteista stabiileja huoneenlämmössä, jolloin myös [4 + 4]-retrosyklereadditio vaatii korkeampaa lämpötilaa. Foldameerin sykloreversio aiheutuu siten todennäköisesti sykloaddition synnyttämästä steerisestä paineesta naftoyyli-ryhmää kohtaan, ja reversion myötä tämä steerinen energia pääsee vapautumaan.

3.3 Hydratsidifoldameerit

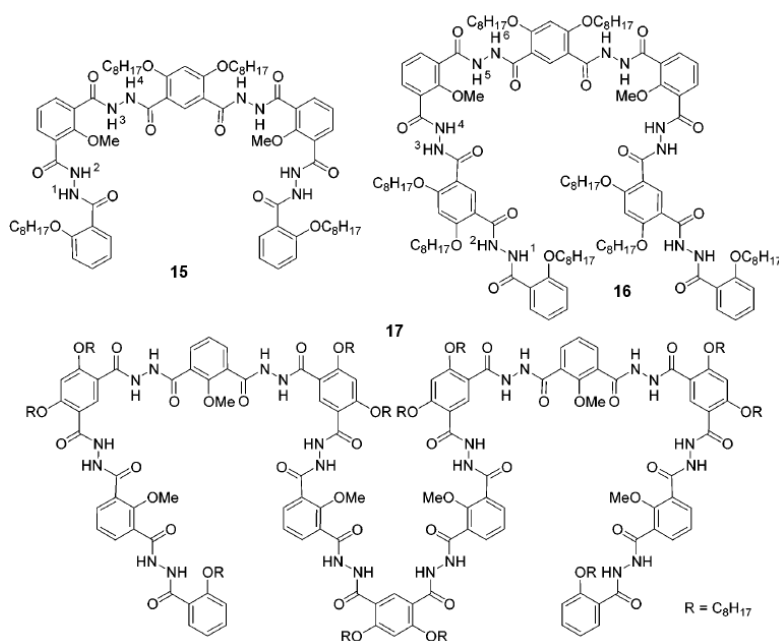
Hydratsidifoldameereilla saavutetaan yli kymmenen rakenneyksikön pituisia ja ne pohjautuvat esimerkiksi 1,2-dibentsoyylhydratsiiniin.² Hydratsi-

difoldameerejä stabiloivat intramolekulaariset vetysidokset amiiniprotonien ja viereisten karbonyyli- sekä metoksihappien välillä.²⁰ Hydratsidifoldameerien hydratsidirungot muodostavat jäykkiä ja tasomaisia konformaatioita, ja hydratsidioligomeerin pituudesta riippuen foldameerit ovat sirppimäisiä tai helikaalisia. Lyhyempien oligomeerien tasomaisuutta tukevat kolmikeskiset (three centered) vetysidokset.

Dibentsoyylhydratsidifoldameerien amidiyksiköt suuntautuvat *trans*-muotoon, mistä johtuen puolet karbonyyliryhmistä suuntautuu kohti kierteen keskustaa, mikä auttaa vetysitoutumiseen pystyvien vieraiden kompleksoitumista.² Hydratsidioligomeerien keskelle muodostuvien onkaloiden halkaisija on noin 11 Å. Oligomeereistä (kuva 8) pentameerilla on suurin halkaisija, mutta pentameeri **15** ei muodosta kokonaista kierrosta toisin kuin kaksi monomeeriä pidempi heptameeri **16**. Tridekameeri **17** puolestaan laskostuu kolmeen kerrokseen.

Hydratsidifoldameereillä on havaittu heikkoa intermolekulaarista aromaattista pinoutumista suurissa konsentraatioissa.² Tämä on todettu NMR-spektroskopiolla laimentamisen aiheuttamasta hienoisesta NH- ja aromaattisten protonien siirtymisestä kohti alakenttää CDCl₃:ssa, kun yleensä intermolekulaarisesti vetysitoutuneet NH-signaalit siirtyvät laimentamisen ja heikentyvien vetysidosten myötä kohti yläkenttää. Intramolekulaaristen vetysidosten sitoutumisvoimakkuudessa ei NOE:n perusteella ole isoja eroja. Tärkeitä NOE-kytkentöjä havaitaan amidi- ja läheisiin heteroatomeihin sitoutuneiden metyyli- ja metyleeniryhmien protonien välillä.

Sakkaridit ja disakkaridit sitoutuvat 1,2-dibentsoyylhydratsiinioligomeerien kanssa 1:1 stoikiometrialla, mikä havaitaan CD-spektreissä Cotton-efektin perusteella.^{2,20} Merkittävin kompleksoitumista ajava voima ovat intermole-



KUVA 8 Hydratsidipentameeri **15** (vasemmalla), hydratsidiheptameeri **16** (oikealla) ja hydratisiditridekameeri **17**.²

kulaariset vetysidokset. Polaarisen liuottimen, kuten metanolin, lisäys voi-
kin vähentää ja kadottaa CD-spektrin intensiteetin, mikä aiheutuu liuotti-
men intramolekulaarista vetysitoutumista häiritsevistä vaikutuksesta. Sak-
karidit eivät sitoutuneet lyhyiden oligomeerien kanssa ja pidempien kanssa
ne sitoutuivat 1:1 stoikiometrialla, mikä rajaa oligomeerin pinnalla tapah-
tuvan sitoutumisen pois. Erittymisen suuri affiniteetti havaittiin suurimman
hydratsidifoldameerin, tridekameerin **17**, ja β -maltoosin välillä CDCl_3 :ssa
($K_{\text{assoc}} \approx 7 \times 10^6$), mikä mitattiin fluoresenssititrauksen avulla.

Hydratsidifoldameerejä on käytetty myös isäntä–vieras-vuorovaikutukseen
perustuvissa organogeeleissä.²⁰ Foldameerin päissä on tällöin erikokoisia
areeniryhmiä fenyylistä pyreeniin, ja foldameerit gelatoivat vaihtelevan po-
laarisuusasteen omaavia orgaanisia liuottimia. Gelatoiduttuaan helikaaliset

rakenteet pinoutuivat "head-to-head"-mallilla ja muodostivat pylväsmäisiä aggregaatteja. Glukoosin lisääminen paransi vähemmän polaaristen liuotimien gelatoitumista. Glukoosi itsessään on gelatoimaton yhdiste, mutta se edistää foldameerien pinoutumista. Tolueenissa yksi ekvivalentti glukosia vähensi foldameerin minimigelaatiokonsentraation 2,60 %:sta 0,30 %:iin. Kahden komponentin gelatoituminen tapahtui kaksivaiheisella mekanismilla, jossa hidasta nukleoitumisvaihetta seuraa nopeampi kasvuvaihe.^{20,21}

4 Amidifoldameerien laskostuminen

Foldameerien laskostuneet rakenteet ovat suhteellisen hyvin ennustettavissa ja muokattavissa.¹¹ Ennustettavuus on usein seurausta foldameerin perättäisten rakenneyksiköiden välisistä intramolekulaarisista vuorovaikutuksista, kuten vetysidoksista, joiden avulla lyhyempien juosteiden konformaatioita voidaan ekstrapoloida pidemmiksi.¹³ Laskostumista on ennustettu esimerkiksi energiaminimoinnilla käyttämällä MM3-voimakenttää ja MacroModel-molekyylimallinnusohjelmaa.⁸ Ennusteiden laatua on voitu arvioida vertaamalla kiderakenteeseen ja jo ilman puuttumista ohjelman parametreihin on voitu päästä 5 %:n virheisiin.

Laskostuneista rakenteista on luotu vieraita sitovia kapseleita, joka muodostuu kaviteetin eli onkalon sisälleen jättävästä kiertyneestä ja laskostuneesta foldameerikuoresta.²² Kierteinen rakenne saattaa kuitenkin myös muodostua vierasmolekyylin sitomisen seurauksena. Moore *et al.*²³ havaitsivat tutkimuksessaan foldameerin pääketjun pituuden vaikuttavan onkalon syvyyteen, mutta sen leveyden säätäminen oli hankalampaa. Aromaattisten amidien kohdalla foldameerikierteen laajemman halkaisijan on todettu vähentävän kierteen nousukulmaa (tilt angle) ja aryylimidisidosten diedri-kulmia. Etenkin kaksoiskierrehybridien muodostumisen entalpian kannalta pienemmät diedri-kulmat ovat suotuisia mahdollistaen kierteiden suuremman jousenkaltaisen venymisen hybridisaation aikana.

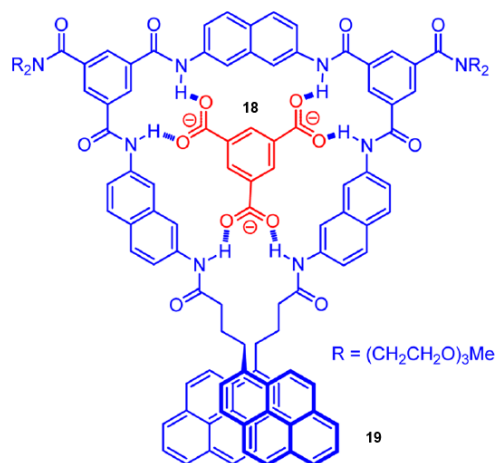
Konformaation laatua voidaan ennakoida kiteytymisen perusteella.⁹ Helppo kiteytyminen viittaa hyvin määriteltävään, yksikäsitteiseen kolmiulotteiseen konformaatioon. Vertailukohtana voidaan mainita dendrimeerit, joista vain pienimmät kiteytyvät.

Laskorakenteiden ja isäntä-vieras-vuorovaikutusten määrittämiseen soveltuvat monet erilaiset menetelmät kuten ^1H NMR, UV/Vis-, fluoresenssi- ja CD-spektroskopia sekä röntgendiffraktio.³ Rakenteiden määrittämisessä röntgendiffraktio on ensisijainen vaihtoehto, mutta se ei onnistu ilman kiteitä. Lähtökohdan foldameerien liuostilarakenteen määrittämiselle loi Moore *et al.*¹⁷ oligomeerin spin-leimojen (spin label) ja elektronispinresonanssispektroskopian avulla. Uusien liuostilarakenteiden yksiselitteinen tulkitseminen voi olla haastavaa ja vaatii useiden menetelmien hyödyntämistä. NMR-spektrin osittaisenkin assignoinnin perusteella mahdollisesti onnistuva NOE-korrelaatioiden tunnistaminen voi antaa viitteitä laskostumisesta.¹⁷ CD-spektroskopia on tehokas väline akiraalisen ja kiraalisen molekyylin välisen vuorovaikutuksen ilmaisemisessa ja kiraalisia ryhmiä sisältävillä oligomeereillä sirkulaaridikroismi voi antaa lisää viitteitä laskostumisesta.^{2,17} Epäsuoria todisteita laskostumisesta on saatu UV/Vis-absorptiospektrien ja fluoresenssispektrien voimakkaista muutoksista, mm. oligofenyylitynyleenien tapauksessa.¹⁷ Kaiken kaikkiaan atsa-aromaattisten oligoamidien liuostilan rakenteet ovat vastanneet hyvin pitkälle kiinteän tilan rakenteita.

4.1 Vetysidokset

Vetysidoksia muodostavilla ryhmillä on suuri vaikutus aromaattisten amidifoldameerien konformaatioon.¹¹ Konformaatioon vaikuttavat konjugaatio, intramolekulaariset vetysidokset (CO- ja NH-kokonaisuudet) ja elektrostaattiset vuorovaikutukset, kun vetysidoksia muodostavat ryhmät sijoittuvat aromaattiseen renkaaseen ja amidiryhmän viereen. Intramolekulaariset vetysidokset voivat säilyttää foldameerin konformaation huolimatta ympäristön polaarisuudesta ja lämpötilasta ($> 70\text{ }^\circ\text{C}$).⁷ Intramolekulaaristen vetysidos-

ten puuttuessa aromaattiset amidifoldameerit eivät ole laskostuneet samalla tavoin tiiviiseen konformaatioon ja muodostuneet rakenteet ovat voineet olla vesikkelimäisiä.^{20,24} Komplementaarisen, intramolekulaarisiin vetysidoksiin pystyvän vieraan myötä foldameerien kyky laskostua palautuu (kuva 9).



KUVA 9 Komplementaarinen, intermolekulaarisiin vetysidoksiin pystyvä vieras **18** voi auttaa intramolekulaarisiin vetysidoksiin pystymättömän foldameerin **19** laskostumista.²⁰

Foldameerien amidiprotonilla on taipumusta sijoittua kohti foldameerikierteen keskusta. Näin on todettu esimerkiksi kinoliinifoldameereillä, joiden amidiprotonit muodostavat kaksi vetysidosta viereisten kinoliinityppien kanssa ja samalla estävät liuotinmolekyylin päätymistä kierteen keskelle.⁸

NMR-spektroskopian avulla voidaan tutkia vetysitoutumista. Vetysitoutuneet amidiprotonit menettävät varjostustaan ja resonoivat 10–12.5 ppm alueella.¹³ Oligomeerin pituuden kasvaessa laskostumisen myötä lähentyvät aromaattiset renkaat lisäävät aromaattisten, amidi- ja esteriprotonien varjostumista. Pyridiini- ja kinoliinifoldameerien varjostuneimpia protoneita ovat olleet keskimmäisten lisäksi myös reunimmaisat.¹⁷ Reunaprotonien kemialliset

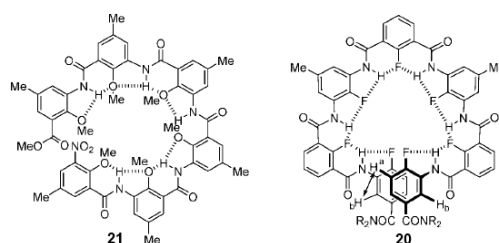
siirtymät voivat johtua suuremmasta konformationalisesta liikkuvuudesta, joka vähentää intramolekulaaristen vetysidosten aiheuttamaa varjostumattomuutta.

Intramolekulaarisia vetysidoksia ja foldameerin kiertymistä on edesautettu esimerkiksi 3-aminobentsoehapon oligomeerijohdannaisilla 2-aseman metoksi-ryhmällä.¹² Fenolisilla oligomeereillä kuusikulmion muodostavat intramolekulaariset $O-H\cdots O=C$ -vetysidokset suosivat laajentuneita konformaatioita, sillä ne ovat stabiilimpia kuin vastaavasti kuusikulmion muodostavat intramolekulaariset $O=C-N-H\cdots O-H$ -vetysidokset.²⁰ Amiinien läsnäolo taivuttaa polyamideja kierteisemmiksi syntyvien fenoksidien muodostamien kolmi-keskisten vetysidosten seurauksena.^{20,25}

8-amino-2-kinoliinikarboksyylihappoon pohjautuvat oligoamidit muodostavat erityisen stabiileja helikaalisia konformaatioita niin proottisissa kuin aproottisissa liuottimissa ($CDCl_3$, DMSO, MeOH, H_2O).⁹ Myös kinoliiniin perustuva oktameeri **3c** (s. 7, kuva 2) muodostaa erittäin stabiileja, kiraalisia konformaatioita, sillä 1H NMR:lla tarkasteltuna edes 120 °C:n lämpötila ja DMSO- d_6 eivät sulauttaneet $Eu(hfc)_3$:n (kiraalinen vaihdantareagenssi, chiral shift reagent) aikaansaamia signaaleja toisiinsa.¹³ Vetysidoksiin pohjautuvaa rakennetta voidaan hyödyntää esimerkiksi molekyyli-pinsettien suunnittelussa, jolloin tarvittavaa jäykkää rakennetta ei tarvitse tehdä kovalenttisillä sidoksilla.²⁶

Vetysidokset ovat tavallisesti vedyn ja typen tai hapen välisiä, mutta myös fluoria on käytetty vetysidoksen vastaanottajana foldameerin laskostumisen seurauksena syntyvän onkalon koon säätämiseen.³ Esimerkiksi kruunueetterin kaltaisessa 3-amino-2-metoksibentsoehappoyksiköihin perustuvassa foldameerissä **20** (kuva 10) vetysidoksia vastaanottavien ryhmien vaihto metoksi-

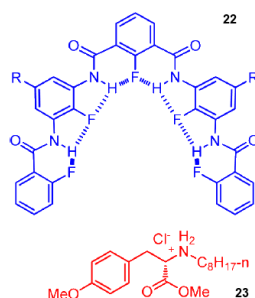
ryhmästä fluoriin tuotti isomman onkalon, mitä tosin selittää myös metyyliryhmien puuttuminen. Fluoriatomien osin muodostama kehä oli pienempi kuin metoksihappien eli vastakkaiset fluoriatomit olivat lähempänä toisiaan kuin metoksihapet. Fluorin ja amiiniprotonien muodostamilla vetysidoksilla on myös kompleksoitu kiraalista metoksibentseenijohdannaista (kuva 11).²⁰ Fullereenien kanssa F...HN -vetysitoutuneet foldameerit puolestaan voivat pinoutua ja muodostaa edelleen yhdessä nanorakenteita.



KUVA 10 Vasemmalla metoksiiryhmiä sisältävä heksameeri **21**, oikealla fluoria sisältävä heptameeri **20**.³

Intramolekulaaristen vetysidosten muodostumista polaarissa ympäristössä on tutkittu esimerkiksi vaihtamalla NMR-liuotin polaarisemmaksi esimerkiksi CDCl_3 :sta DMSO-d_6 :n ja asetonin- d_6 :n 4:1 seokseen.⁷ Amidiprotonien tapauksessa signaalien vähäinen siirtyminen (<0.3 ppm) alakenttää kohti osoittaa amidiprotonien vähäisempää osallistumista molekyylien välisiin vetysidoksiin ja siten amidiprotonit muodostavat intramolekulaarisia vetysidoksia myös polaarissa ympäristössä.⁷ Intramolekulaariin vetysidoksiin kykenemättömillä amideilla muutos voi hyvin olla yli 2 ppm.²⁷

IR-spektroskopian avulla voidaan saada lisävahvistusta intramolekulaaristen vetysidosten olemassaololle.² Tavallisesti intramolekulaarisesti vetysitoutuneiden N–H -ryhmien venymä havaitaan <3365 cm^{-1} alueella, kun vapaan N–H -venymän alue on $3400\text{--}3500$ cm^{-1} .^{2, 28, 29}

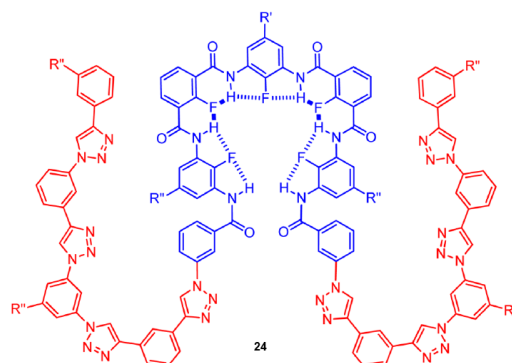


KUVA 11 Fluorin muodostamia vetysidoksia amidifoldameerissä **22**. Fluorin kanssa muodostuvat molekyylien väliset vetysidokset myös kompleksoivat kiraalista vierasta **23**.²⁰

4.2 Muut heikot vuorovaikutukset

Vetysidosten ohella kattava molekyylin sisäinen aromaattinen peitto on tärkeä tekijä kierteen stabiloijana, vaikka vetysidokset ovat kuitenkin laskostumista määrittävä tekijä.⁸ Laskostunut aromaattinen amidisekvenssi voi aiheuttaa intramolekulaarisen pinoutumisen avulla yhden tai kahden sekvenssiin kiinnitetyn triatsolioligomeerin laskostumisen.²⁰ Laskostumisen laatu riippuu ympäristöstä ja vähemmän polaarisisissa liuottimissa laskostuminen stabiileiksi kierteiksi on mahdollista. Pidemmällä amidisekvenssillä on parempi kyky aiheuttaa laskostumista suuremman pinta-alan ansiosta. Tätä on kutsuttu liuotinherkäksi intramolekulaariseksi isäntä–vieras-järjestelmäksi, jossa amidiosa toimii isäntänä ja triatsoliosa vieraana (kuva 12).

Kinoliinifoldameerien perusteella intramolekulaarinen aromaattinen pinoutuminen on optimaalista vetysidosten määrittämässä sijainnissa eikä pinoutuminen pysty kilpailemaan vetysidosten kanssa siten, että foldameerin kierteisyys muuttuisi optimaaliseksi pinoutumisen kannalta.⁸ Aromaattinen pinoutuminen voidaan näin ollen jättää vähemmälle huomiolle tai jopa huomiotta



KUVA 12 Esimerkki intramolekulaarisen pinoutumisen avulla laskostuvasta foldameeristä.²⁰

rakenteiden suunnittelussa. UV/Vis-spektroskopiassa intramolekulaarinen π -pinoutuminen voi näkyä punasiirtymänä ja absorptioon vähentymisenä (bathochromic and hypochromic effects) oligomeerin pituuden kasvaessa.

4.3 Sivuketjut

α -peptidien ja niiden β - ja γ -homologioiden tapaan aromaattisten amidifoldameerien ominaisuudet ja käyttäytyminen riippuvat suuresti sivuketjuista.¹¹ Peptidisten sivuketjujen on tarkoitus poiketa kierteestä sekä tuoda foldameerille lisää ulottuvuutta ja muiden molekyylien tunnistettavaa pintaa.¹³ Samalla sivuketju vaikuttaa kierteen fyysisiin ominaisuuksiin, kuten liukoisuuteen ja amfiifilisuuteen.

Poolittomilla alkyyliketjuilla parannetaan liukoisuutta klooratuissa ja aromaattisissa liuottimissa, esimerkiksi *n*-oktyyliryhmällä on parannettu pidempien oligomeerien liukoisuutta kloroformissa ja dikloorimetaanissa.^{2,17} Kationisten sivuketjujen on havaittu auttavan DNA:n siirtymisessä soluun ja ylipäätään edesauttavan solukalvon läpi tapahtuvaa kulkeutumista.¹⁰ Kinolii-

nifoldameerien kohdalla kationisten sivuketjujen vaikutus on kuitenkin jäänyt vaatimattomaksi, mikä saattaa olla ratkaistavissa useampien sivuketjujen käytöllä. Ammonium-sivuketjujen avulla on lisäksi parannettu esimerkiksi vesiliukoisuutta. Myös polyetyleenioksiditähteillä on haettu parempaa vesiliukoisuutta. 2-(2-metoksietoksi)etoksi-sivuketjut ovat auttaneet laskostumista polaarisisä liuottimessa, kuten asetonissa, solvofobisen vuorovaikutuksen avulla.³⁰ Lyhyiden bentsyylioksi-, hydroksi- ja hydroksylaattiosan sisältävien oligopyridiinidikarboksiamidien on todettu tekevän hyvin vahvoja, intramolekulaaristen vetysidosten tukemia yksöiskierteitä jopa vedessä.¹⁸

Foldameerirungon lisäksi myös sivuketjuja on funktionalisoitu. Esimerkiksi happiatomin kautta foldameerirunkoon liittyviä bentsyylisivuketjuja on muutettu suhteellisen happamiksi hydroksiryhmiksi ($pK_a \sim 6$) Pd/C-hydrauksella ja NaHCO_3 :lla on tehty vastaavat natriumsuolat.¹⁸ Sivuketjut eivät välttämättä hankaloita foldameerien NMR-spektrien tulkintaa. Kinoliinifoldameerien tapauksessa isobutyylisivuketjujen kemialliset siirtymät ovat olleet suhteellisen riippumattomia oligomeerin pituudesta.⁸

4.4 Foldameerin kiertyminen

Sekundääristen aromaattisten amidifoldameerien konformaatiot ovat pitkälti ennustettavissa ja muokattavissa.¹⁰ Aromaattiset amidifoldameerit suosivat tasomaista konformaatiota, joka ketjun pidentyessä muuttuu kierteiseksi.¹¹ Helikaalisten aromaattisten oligoamidifoldameerien nousu kierrosta kohden (pitch) vastaa tyypillisesti yhden aromaattisen renkaan paksuutta eli noin 3,4 Å:a.⁸ Aromaattisten amidifoldameerien kierteisyyteen (curvature) vaikuttaa amidiryhmien suhteellinen orientaatio aryyliiryhmiin nähden, aromaattisten renkaiden lukumäärä ja intramolekulaaristen vetysidosten muo-

dostamien renkaiden viisi- tai kuusikulmioisuus. Peptideihin verrattuna sekundääriset aromaattiset amidioligomeerit, esimerkiksi 8-amino-2-kinoliini-karboksylihappoon perustuvat, ovat odotetusti muodostaneet laajempia ja nousukulmaltaan pienempiä kierteitä, jotka ovat samalla olleet myös paljon peptidejä stabiilimpia.

Foldameerikierteet eivät ole täysin symmetrisiä, mikä voidaan todeta esimerkiksi kinoliinifoldameereissä kinoliiniryhmien suhteellisten sijaintien eroissa ylä- ja alapuolisiin aromaattisiin renkaisiin.⁸ Pidempien ja lyhyempien foldameerien laskostuminen voi silti olla hyvin samanlaista, kuten on havaittu kinoliinioligomeereillä: dimeerin rakenne vastaa hyvin oktameerin päätydimeerin rakennetta, mikä viittaa kierteisyyden olevan seurausta vetysidoksista. Isompien aromaattisten ryhmien lisääntyvien π - π -vuorovaikutusten myötä edellytykset kaksoiskiirteen muodostumiselle paranevat, jolloin yksittäisen foldameerin kierteisyys vähenee puhelinjohdon tavoin ”oikenemisen” seurauksena.¹¹ Esimerkiksi foldameerin keskiosan pyridiiniryhmän korvaaminen 1,8-diatsa-antraseenillä lisää kahden foldameerioligomeerin muodostaman kaksoiskiirteen muodostumisen mahdollisuutta vähintään viiden kertaluvun verran.

Aromaattisen renkaan *meta*-orientaation ja substituenttien välisten 120° :n kulmien perusteella foldameerin pitäisi saavuttaa täysi kierros kuudella samanlaisella yksiköllä.¹³ Intramolekulaariset vetysidokset kuitenkin vaikuttavat juosteiden taipumiseen, ja kierrokseen vaadittavien yksiköiden määrä vaihtelee 4,5:stä 8:aan.^{8,13} Kierteen sisäkehällä vetysidokset ”tiivistävät” foldameerijuostetta ja vähentävät yksiköiden määrän kierroksessa noin 4,5:een. Näin on ollut esimerkiksi pyridiinifoldameereillä, joilla kierros on muodostunut juuri 4,5 yksiköllä kierteen halkaisijan ollessa $3,5 \text{ \AA}$.¹⁸ Ulkokehällä taipu-

minen on vähäisempää ja kierros täyttyy kahdeksalla yksiköllä. Edellä mainittu kaltaisella päättelyllä 60° :n kulma substituenttien välillä, eli tavallisesti *orto*-orientaatio, toteuttaisi kierroksen kolmella yksiköllä. Vertailun vuoksi alifaattiset α -, β - ja γ -peptidit käyttävät kierrokseen kahdesta neljään yksikköä.

60° :n orientaatioon liittyen on esimerkiksi valmistettu kinoliinipohjainen oktameerifoldameeri **3c**, joka hyödynsi ja loi sisäkehän vetysidoksia monomeerin endosyklisen kinoliinityypen avulla.^{8,13} Tavoitteena oli luoda kierre, joissa kierros täyttyisi kolmella yksiköllä. Ulkokehän vetysidoksilla kierros olisi vaatinut molekyylihallinnuksen perusteella 3,5 yksikköä. Foldameerissä 15 atomia muodostivat penta-atsa-15-kruunu-5-makrosykliä muistuttavan kierroksen ja kinoliiniyksiköissä kierros muodostui noin 2,5 yksiköstä, mikä on suurimpia havaittuja aromaattisten oligoamidien kierteisyyksiä.

4.5 Foldameerikaksoiskierteet

Havainnot kaksoiskierteistä (duplex) ovat olleet useammin seurausta onnekaista sattumista kuin suunnitelmallisuudesta.¹⁵ Kaksoiskierrehybridisaation aikana yksittäisen kierteen pituus jopa kaksinkertaistuu ($3,5 \rightarrow 7 \text{ \AA}$). Hybridisaatiomallinnuksen perusteella hybridisaatio etenee vaiheittaisesti ja juosteet kiertyvät pyörremäisesti toistensa ympärille samalla kun intramolekulaariset π - π -vuorovaikutukset korvautuvat intermolekulaarisilla. Kaksoiskierrehybridisoitumisen jousenkaltaista venymistä välittää ja rajoittaa aryylimididosten vääntymisen. Toisin kuin rakenteeltaan jäykempien supramolekyyliarakenteiden, kuten itsejärjestäytyvien kapselien tapauksessa, kaksoiskierteiden rakenne ja stabiilisuus perustuu monomeerien luomaan geometriaan sekvenssissä. Esimerkiksi riboosin korvaaminen toisilla sokereilla vaikut-

taa suuresti nukleinihappoanalogikaksoiskierteiden kierteen nousukulmaan, emäspariutumisen tyyppiin ja stabiilisuuteen.

Foldameerikaksoiskierteen käyttäytymistä ei voida aina yksikäsitteisesti päätellä rakennemääritysmenetelmien perusteella.¹⁵ Kaksoiskierteisyys monitkaistaa NMR-spektriä, ja kiderakennemääritys yhdessä yhdisteen NMR-käyttäytymisen kanssa voivat antaa useamman kuin yhden vaihtoehdon.¹⁷ Jos esimerkiksi kiderakenteessa havaitaan kaksoiskierre, mutta konsentraation muutos ei vaikuta NMR-spektriin, yhdiste voi liuoksessa esiintyä kaksoiskierteenä tai vaihtoehtoisesti alhaisen dimerisoitumisvakion omaavana yksöiskierteenä, joka kuitenkin kiteytyy kaksoisrakenteena. Rakennetta voidaan tutkia lähemmin massaspektrometrian (ESI-MS) ja tarkemman ¹H NMR:n avulla, sillä lyhyellä yksöiskierteellä ei näy NMR-spektrissä foldameerin keskiosan aromaattista pinoutumista. Kaksoisrakenteessa protonit voivat olla lähempänä toisiaan kuin yksöisrakenteessa ja tätä voidaan tutkia esimerkiksi NMR-aktiivisten ytimien etäisyyksiin keskittyvällä kaksiulotteisella ROESY:llä. Kaksoisrakenteen muodostumista voidaan tutkia myös lisäämällä NMR-näytteeseen yksi ekvivalentti läheistä analogia, jolloin voi ilmetä kolme signaalia: yksi molemmille homoduplekseille ja kaksinkertainen signaali heterodupleksille.

Aromaattisten karboksiamidioligomeerien kaksoiskierrehybridisaatio on ollut erityisen herkkä rakenteen muutoksille.¹⁵ Kaksoiskierteiden syntetisointiin on käytetty bentseeniä isompia aromaattisia ryhmiä.¹¹ Kaksoisrakenteita ovat muodostaneet pyridiineistä ja *N*-hapettuneista pyridiineistä sekä 1,8-diatsaantraseenistä koostuvat oligomeerit. Pyridiinirakenteiset oligomeerit hybridisoituvat kaksoiskierteiksi niin tehokkaasti, ettei monomeeristä muotoa ole havaittavissa pienissä, alle millimolaarisissa pitoisuuksissa hybridisoitumista

edistävissä liuottimissa (CDCl_3 , tolueni- d_8) huoneenlämmössä. Foldameerikonsentraation pienentäminen vähentää silti kaksoiskierrehybridisaatiota.¹⁷ Pyridiinisten oligomeerien kaksoiskierrehybridisaatiota vähentää myös huomattavasti pyridiinin käyttö liuottimena. Näiden lisäksi hybridisaatiota vähentää oligomeerin pidentyminen. Metanolissa dimerisoitumisvakio on ollut yli 10^7 mol/l.

Pyridiini- ja 1,8-diatsa-antraseenifoldameerien välillä aromaattisten pintojen kokoero on vain 25 %, mistä voidaan päätellä, ettei aromaattinen pinoutuminen vastaa kokonaan kymmenkertaisesta erosta entalpian muutoksessa.¹⁵ Tärkeämpi tekijä on juosteen nousukulma, joka jää pienemmäksi laajemmalla kierteen halkaisijalla, ja näin ollen kierteen laajempi halkaisija vähentää kaksoiskierrteen muodostumisen entalpista hintaa. Van't Hoff -kuvaajien (yhtälö 1) ja sen pienten ΔS -arvojen perusteella kaksoiskierrehybridisaatio on entalpista alkuperää.

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}, \quad (1)$$

missä K on tasapainovakio, ΔH entalpian muutos, R kaasuvakio, T lämpötila ja ΔS entropian muutos.

Yksittäisten juosteiden ollessa hyvin järjestäytyneitä kaksoiskierrehybridisaatio aiheuttaa vain pieniä muutoksia vapausasteessa, jolloin entropian muutos jää vähäiseksi. Positiivinen entropian muutos voi olla myös seurausta vesimolekyylien vapautumisesta kierteestä, jos kaksi yksöiskierrettä sitoo vesimolekyyliä enemmän kuin yksi kaksoiskierre. Tähän liittyen tunnetaankin tapauksia, joissa veden lisäys on häirinnyt kaksoiskierrteen muodostumista.

π -pinoutumisen katoaminen vaikuttaa kaksoiskiirteen jousenkaltaisiin ominaisuuksiin. Tämä voidaan osoittaa Hooken lain (yhtälö 2) perusteella, jota ei voida enää tarkasti seurata tarkasti määritellyn jousivakion k puuttuessa.

$$k = G \frac{d^4}{8nD^3}, \quad (2)$$

missä G on materiaalin murtumiskerroin (shear modulus), n kierrosten lukumäärä, D jousen halkaisija ja d jousimateriaalin paksuus.

5 Kiraalinen induktio

5.1 Foldameerikierteen kätisyys

Foldameerikierre voi kiertyä kahdella tavalla, oikeakätisesti (P) tai vasenkätisesti (M). Foldameerin sisältäessä kaksi kierrettä foldameerin kierteisyys voi olla myös *meso*-muotoa (P–M-yhdiste).⁹ Molekyylikierteen kätisyyden määrittäminen ei aina ole suoraviivaista, mikä todettiin jo Paulingin ehdottamien peptidisten α -kierteiden yhteydessä 1951.³¹ D- ja L-aminohappojen tapauksessa oli selvää, etteivät samankätiset kierteen olisi yhtä stabiileja johon sivuketjujen eriävistä suuntautuneisuudesta. Pauling tulkitse oikein D-aminohappojen olevan stabiilimpia vasenkätisessä kierteesä, mutta sekä kierteen kätisyys että aminohappojen konfiguraatio perustuivat mielivaltaisiin valintoihin.^{31,32} Kätisyyteen liittyvät väittelyt ratkesivat myoglobiinin kiderakenteen määrittämiseen 1961.^{31,33} Jo tätä ennen oli kuitenkin tehty kierteen oikea assignointi tunnettujen absoluuttisten konfiguraatioiden avulla, mikä oli mahdollista Bijvoetin selvitettyä säteiden tavanomaisesta poikkeavan sironnan röntgendiffraktiossa. Esimerkiksi DNA:n tavallisimman muodon B-DNA:n kätisyyden oikea assignointi tehtiin 1953 β -D-deoksiribofuranoosin absoluuttiseen konfiguraatioon perustuen ja se sisältyi implisiittisesti Crickin ja Watsonin julkaisuun Rosalind Franklinin määrittämästä DNA:n rakenteesta.^{31,34}

Aromaattiset vuorovaikutukset ovat merkittävä tekijä aromaattisten foldameerien laskostumisessa. Molekyyli- ja ionien päässä aromaattiset vuorovaikutukset eivät kuitenkaan välttämättä riitä sijoittamaan reunimmaista aromaattista rengasta toisten jatkoksi aromaattisesti pinoutuen vaan steriset tekijät voivat olla voimakkaammin konformaatioon vaikuttava tekijä.³¹ Ki-

raalisen induktion kannalta tällä on merkitystä, kun foldameerillä on kiraalinen hiili lähellä päätyä. Tällöin asymmetrisen keskuksen orientoitumisen myötä keskuksen pienin substituenttiryhmä osoittaa kohti kierteen keskusta, toiseksi suurin on kierteen suuntainen ja suurin osoittaa pois päin kierteestä. Steerisyyden vaikutus päätyryhmän sijoittumisessa voidaan rationalisoida kun perinteisen R/S -nimeämisen sijaan määritellään ja käytetään R^S/S^S -nimeämistapaa, jossa Cahn-Ingold-Prelog -sääntöjen^{35,36} sijaan kiraliakeskuksen substituentit luokitellaan koon ja steerisyyden perusteella (kierre > naftyyli > fenyyli > bentsyyli > esteri > metyyli > vety). Tällä poikkeavalla nimeämistavalla tarkasteltuna R^S -kiralia edistää vasenkätisiä kierteitä ja S^S -kiralia oikeakätisiä, mikä ilmenee, vaikka substituenttien kokoero olisi pieni. Tämä ei aina ole yhtenevää perinteisen R/S -nimeämisen kanssa. Esimerkiksi kiraalisen ryhmän sisältävien kinoliinista johdettujen foldameerien raseemisten kiteiden tapauksessa S -asymmetriset keskukset liittyivät aina oikeakätiseen kierteisyyteen ja R -asymmetriset keskukset vasenkätisyyteen.

5.2 Kiraalisen induktion aiheuttajat ja ilmeneminen

Kiraliakeskukset foldameerin rungossa voivat ohjata molekyylin kiertymistä eli aiheuttaa kiraalisen induktion.⁹ Polymeerien yhteydessä toistuvat kiraaliset yksiköt muodostavat kiraalisia kierteitä, mutta kiraalisia kierteitä on saatu aikaan myös kiraalisten reagenssien avulla.²⁰ Foldameerien tapauksessa ohjaavaa vaikutusta on erityisesti havaittu kiraalisilla päätyryhmillä kuten proliinilla.^{20,37} Kiraalisia ryhmiä ei siten tarvitse olla paljoa verrattuna akiraalisiin ryhmiin, jotta tämä myös ”Sergeants-and-Soldiers”-periaatteena tunnettu ilmiö tapahtuisi.³⁸ Polymeeritutkimuksiin perustuvan enemmistösäännön (Majority Rule) mukaan kiraaliseen induktioon riittää pieni enem-

mistö toista kiraalisuutta. Kiraalisten ryhmien lisäksi myös viereinen kierre voi vaikuttaa toisen kierteisyyteen, mutta se on kuitenkin harvinaista. Luontaista vaikutusta voidaan tutkia kaksikierteisillä foldameereillä, joilta puuttuu kiraliakeskus, joka muuten suosisi toista kahdesta homokiraalisesta vaihtoehdosta (P-P/M-M).^{9,31}

Yksiselitteisesti määritettyjen kätisyyksien perusteella on yleisesti havaittu molekyylikierteiden esiintyvän pääsääntöisesti yhtenä diastereomeerinä, esimerkiksi L-aminohappojen α -kierteiden vasen- ja oikeakätiset muodot ovat periaatteessa tasapainossa, mutta vasenkätistä muotoa ei käytännöllisesti katsoen havaita.³¹ Sama pätee myös biomolekyyleihin: kiraalisia tähteitä sisältävät peptidinukleiinihappokaksoiskiarteet esiintyvät ensisijaisesti yhdessä diastereomeerisessä muodossa. Jos kiraalisesta induktiosta ei seuraa 100 %:n diastereomeeristä ylimäärää, vallitsee liuostilassa foldameerin kahden diastereomeerin R -P ja R -M välillä tasapaino. Raseemisen yhdisteen tapauksessa tasapaino vallitsee itsenäisesti kahden diastereomeeriparin välillä, R -P:n ja R -M:n sekä S -P:n ja S -M:n.

8-amino-2-kinoliinikarboksyylihappoon pohjautuvien oligoamidien on todettu muodostavan ekvimolaarisia seoksia enantiomeerisistä tai diastereomeerisistä oikea- ja vasenkätisistä kierteistä, jotka muuntuvat toisikseen.¹⁰ Oligoamidien diastereomeerisyys on seurausta sivuketjujen kiraalisuudesta, joka ei kuitenkaan kiraliakeskuksen etäisyydestä johtuen suosi kumpaakaan kätisyyttä toisin kuin peptidien tapauksessa. Molempien kätisyyksien ilmeminen ja toisikseen muuttuminen on havaittu myös heikon kiraalisen induktion ($d_e < 85\%$) tuottavilla kiraalisen päätyryhmän sisältävillä kinoliinijohdannaisfoldameereillä. Päätyryhmää lukuunottamatta identtisten foldameerien kesken voimakkaimman kiraalisen induktion tuotti R -(+)-1-(1-

naftyyli)etyyliamino-ryhmä (de 83 %), mutta naftyylirenkään korvaaminen fenyylirenkaalla ei juuri muuttanut induktion voimakkuutta.³¹ Heikoimman kiraalisen induktion tuotti L-fenyylialaniinimetyyliesteri-ryhmä (de \approx 10 %). Fenyyliglysiiniamidi- ja fenyyliglysiinimetyyliesteriryhmien kiraalinen induktio oli yhtä suurta (de 33 %) ja lähes identtisten NMR-spektrien perusteella ryhmät vuorovaikuttavat samalla tavoin viereisten kinoliinirenkaiden kanssa oikea- tai vasenkätisessä kiertessä. Raseemisella tuotteella mitattuna todettiin, ettei ympäristön polaarisuudella (DMSO-d₆ vs tolueni-d₈) ollut vaikutusta kierteen stabiilisuuteen tai kiraaliseen induktioon ja diastereomeeriseen ylimäärään.

5.3 Kätisyyden muuttuminen

Oligomeerin pituudella ja vetysidoksilla on vaikutusta kätisyyden vaihtumisen kinetiikkaan. Kinoliinifoldameereilla on havaittu heksa- ja oktameerikierteiden vaihtavan kätisyyttään huomattavasti hitaammin verrattuna tetrameeriin.⁸ Edes 120 °C:n lämpötila ja DMSO-d₆ eivät nimittäin sulauta tai levennä metyleeniryhmien NMR-signaaleita yhteen, vaikka DMSO:n pitäisi kilpailla intramolekulaaristen vetysidosten kanssa ja siten epävakauttaa kierkeitä jonkin verran. Yli kaksi kierrosta sisältävän kierteen invertoituminen on hankalampaa kuin lyhyemmän vaatien yhden sijaan kahden (tai useamman) vetysidoksen hajoamisen π - π -vuorovaikutusten ohella. Aromaattisen amidin koostuessa fenyyliryhmistä pyridiinien sijaan kätisyyden muutosnopeus on suurempi, koska pyridiinin ja amidin väliset vetysidokset puuttuvat.⁹

Myös liuotin vaikuttaa foldameerin kätisyyteen ja kätisyyden muuttumiseen. Aromaattisissa liuottimissa (bentseeni, tolueni) suurimman, 8 kDa:n kaksikierteisen foldameerin **1** tasapaino on ollut 70 %:sti raseemisen seoksen puo-

lolla verrattuna kloroformin 7 %:iin.⁹ Liuotinta muuttamalla kierteisyyden muuttumista voi seurata NMR:n avulla, mutta muutosnopeudessa on kuitenkin selkeitä eroja eri liuottimissa. Kaksiosaisen foldameerihelikaalin tapauksessa yksinkertaisissa aromaattisissa liuottimissa vallitseva raseeminen seos muuttuu kloroformissa *meso*-muodoksi 10 tunnissa (ominaisaika muutokselle eksponentiaalisen hajoamiskäyrän perusteella), mutta toiseen suuntaan muuntuminen kestää huoneenlämmössä vain 3,5 tuntia.

5.4 Vieraalla aiheutettu kiraalinen induktio

Foldameerin vuorovaikuttaessa vierasmolekyylin kanssa myös vieraan kiraalisuus voi vaikuttaa foldameerin kierteisyyteen.²² Esimerkiksi Moore *et al.*³⁹ ovat havainneet oligomeeristen *m*-etynylibentseenifoldameerien tapauksessa yksittäisten, foldameerin sisäisten kiraalisten vieraiden saavan aikaan yksikärtisiä kierteitä.²⁰ Kiraaliset vieraat ovat myös indusoineet lineaarisia hydratsidifoldameerejä kierteiksi. Aromaattisia polyamideja on indusoitu kierteiksi kiraalisten 1-fenylylietyyliamiinin sekä 2-fenylylipropaanihapon ja happoemäs-perusteisen kompleksoitumisen avulla.¹² Kiraalinen vieras voi indusoida akiraalisen kapseli-isännän kiraaliseksi sekä liuoksessa että kiinteässä tilassa.^{20,40}

Jos vierasmolekyylillä ei vaikuta foldameerin kierteisyyteen foldameerit muodostavat raseemisen P/M-seoksen. Kaksiosaisen helikaalin tapauksessa raseeminen seos on muotoa P-P/M-M.⁹ Myös NMR:n avulla voidaan selvittää kaksiosaisen helikaalin kierteisyyden muutos raseemisen seoksen ja *meso*-yhdisteen välillä. *Meso*-yhdiste muuntuu osa kerrallaan, mikä tapahtuu NMR:n aikaskaalalla hitaasti, jolloin yhden signaalisetin sijaan muodostuu kaksi.

Kiraalisten ryhmien ja vieraiden avulla voidaan myös muodostaa diastereomeerisiä komplekseja enantiomeerien kanssa ja siten erottaa enantiomeerejä toisistaan. Näin on tehty esimerkiksi kiraalisen proliinin sisältävällä hydratsidifoldameerillä, joka kompleksoi α -L-glukoosia ja α -D-glukoosia noin 150-kertaisella erolla.³

5.5 Kiinteä tila ja kiteytyminen

Liuostilan kiraalisen induktion vaikutus saattaa kumoutua kiinteässä tilassa, jos kaksi diastereomeeristä kierrettä kiteytyvät yhdessä huolimatta toisen diastereomeerin vallitsevuudesta liuoksessa.³¹ Liuostilassa esiintyvän diastereomeerisen ylimäärän katoaminen kiinteässä tilassa edellyttää, että kiteen kasvu on hitaampaa kuin kätisyyden muuttuminen. Kiteytymisen nopeuttaminen on usein johtanut saostumiseen. Raseemisia kiteitä onkin ollut helpompi saada aikaan kuin homokiraalisia. Raseemisten kiteiden aikaansaaminen on hyödyllistä silloin kun homokiraalista kiteytymistä ei tapahdu, kuten usein kierteisten β -peptidien tapauksessa. Peptidirasemaattien taipumusta kiteytyä on aiemmin hyödynnetty peptidikytkentäreaktioiden raseemisuusasteen määrittämisessä esimerkiksi Youngin⁴¹ tai Andersonin⁴² menetelmin.

Diastereomeerien yhteiskiteet ovat harvinaisia ja vielä harvemmin niitä on havaittu kiraalisen induktion yhteydessä.³¹ Vastaavaa ilmiötä on havaittu isotaktisen poly-*S*-4-metyyli-1-hekseenin tapauksessa, jonka kiteissä on yhtä paljon molempia muotoja, mutta joista liuostila suosii toista.^{31,43} Muiden enantiomeeristen seosten tapaan enantiomeeriset kierteet ovat taipuvaisia kiteytymään rasemaatteina konglomeraattien muodostumisen sijaan. Suuntausta jatkaa asymmetrisen keskuksen omaamattomien helikaalisten aromaattisten oligoamidien P- ja M-konformaatioiden kiteytyminen sentrosym-

metrisin avaruusryhmin. Diastereomeeriset kierteet voivat käyttäytyä enantiomeeristen tapaan ja olla täten pseudo-enantiomeerejä. Pseudoraseemisten kiteiden muodostumisessa helikaalisella kiraalisuudella vaikuttaa olevan enemmän painoarvoa kuin stereogeenisellä keskuksella.

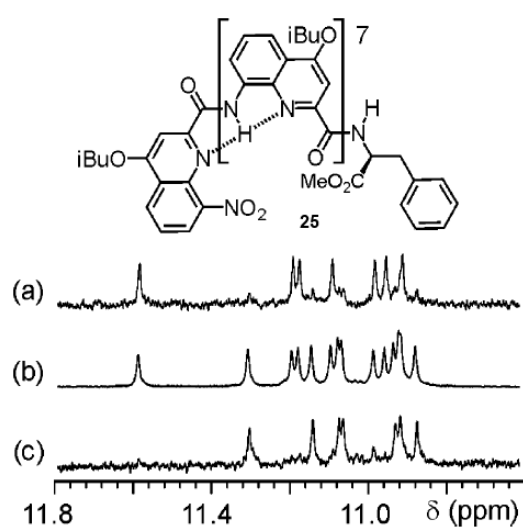
5.6 Kätisyyden määrittämisen menetelmät

Nykyään röntgenkristallografiaa käytetään laajalti kierteiden kätisyyden määrittämisessä.³¹ Menetelmässä tarvittavia sopivia kiteitä ei kuitenkaan aina saada kiteytettyä. Tällöin NMR voi tarjota vaihtoehdon liuostilan kiertisyyden määrittämiseksi, esimerkiksi taipuisien β -peptidien tapauksessa. NMR-spektrien tulkinta ei ole aina onnistunut *m*-fenyleenietynyleenioligomeerien, polyisosyanaattien, alifaattisten ja aromaattisten polyisosyaniidien, polysilyleenien ja polyasetyleenien tapauksessa. NMR:n jälkeen CD-spektroskopia ja molekyylimekaniikan laskut ja -mallinnukset ovat seuraavat vaihtoehdot, mutta nämä eivät useinkaan tuota yksiselitteisiä ratkaisuja. Absorptio- ja CD-spektrien eksitonimallinnusanalyysien pohjalta on silti määritetty esimerkiksi *N*-alkyloitujen poly-*p*-bentsamidien kierteiden suuntautumista.

Kätisyyden määrittämisen lisäksi kiraaliseen induktioon liittyy myös kätisyyden muuttumisen sekä enantiomerian ja diasteromerian selvittäminen. CD-spektroskopia on erinomainen menetelmä seuraamaan kätisyyden vaihtumista.²² Kätisyyksien yhtäaikainen esiintyminen ja toisikseen muuttuminen ei välttämättä estä foldameerin kätisyyden yksiselitteistä määrittämistä.³¹ Enantiomerian selvittäminen onnistuu NMR:n ja kiraalisen vaihdantareagenssin, $\text{Eu}(\text{hfc})_3$:n avulla.¹³ Reagenssin lisäyksen jälkeinen aromaattisten, amidi- ja esteriprotonien signaalien jakautuminen viittaa enantiomee-

riseen seokseen. Jakautuminen yhtä intensiivisiin osiin viittaa edelleen siihen, etteivät stereoselektiiviset vuorovaikutukset luo liuokseen enantiomeeristä ylimäärää.⁸ Diastereomeerien toisikseen muuttuminen on hidasta NMR-aikaskaalalla, minkä seurauksena molempien diastereomeerien signaalit ovat havaittavissa. *R/S*-raseemisen seoksen NMR-spektri on kuitenkin identtinen *R*- ja *S*-enantiomeerin spektrin kanssa. NMR:n ja kierteyden muuttumisen avulla voidaan erottaa kaksiosaisen helikaalin raseemisen seos ja *meso*-yhdiste toisistaan.⁹ *Meso*-yhdiste nimittäin muuttuu osa kerrallaan, jolloin NMR-spektriin muodostuu kaksi signaalista yhteen sijaan.

Liuostilan hallitsevan ja väistyvän diastereomeerin kätisyyden selvittäminen voi onnistua mittaamalla vastaliuotettujen kiteiden NMR-spektri.³¹ Aluksi signaalin tuottaa *S-P*- ja *R-M*-kierteiden raseeminen seos, joka vastaa kiteen koostumusta, eikä toinen seospari ole havaittavissa. Lämpötilan nosto paljastaa vallitsevan diastereomeerin, ja lämpötilan laskulla voidaan varmentaa, ettei tasapainotilan muutos ole seurausta lämpötilan muutoksesta. Ajan myötä myös toisen diastereomeeriparin signaalit ilmaantuvat. Jos kierteen kätisyyden muuttumisen puoliintumisaika on tarpeeksi pitkä, diastereomeerien kromatografinen erottaminen on mahdollista, jolloin puhtaiden diastereomeerien NMR- (kuva 13) ja CD-spektrit voidaan mitata ennen kuin tasapainotila muodostuu uudelleen.



KUVA 13 Kinoliinifoldameerin **25** diastereomeerien seitsemän intramolekulaarisesti vetysitoutuneen amidiprotonin ¹H NMR -spektrit CDCl₃:ssa. a) P-diastereomeeri, b) tasapainotila ja c) M-diastereomeeri.³¹ Copyright 2005 American Chemical Society

6 Isäntä–vieras-kemia ja kompleksoituminen

Isäntä–vieras-kemia perustuu kahden tai useamman molekyylin tai ionin väliin selektiiviseen, ei-kovalenttiseen sitoutumiseen.²⁰ Pedersenin ensihavainnosta⁴⁴ lähtien sferandien ja sferandijohdannaisten on todettu olevan tehokkaita kompleksoimaan alkalimetalli-ioneita.⁷ Isäntä–vieras-kemiaa on foldameereillä pääasiassa tutkittu aromaattisilla amidi- ja hydratsidioligomeereillä. Foldameerienkin tapauksessa isäntien konformaationaalinen esijärjestäytyminen esimerkiksi intramolekulaaristen vetysidosten avulla edistää molekyylien välisiä vuorovaikutuksia. Foldameereillä on mahdollista muodostaa sferandeja muistuttavia rakenteita, joilla on kompleksoitu sekä orgaanisia että epäorgaanisia kationeja.⁷ Foldameerit voivat tunnistaa erilaisten kationien lisäksi myös neutraaleja ja biologisia vieraita. Vieraita on kompleksoitu foldameerikapselien avulla ja molekyylien tunnistamiseen on käytetty intramolekulaaristen vetysidosten avulla ennaltajärjestäytyneitä molekyyli-pinsettejä.

6.1 Kationivieraat

Foldameerien ja alkalimetallikationien välistä kompleksoitumista on tutkittu foldameerien anisoli johdannaisten hydrolyysiin pohjautuen.⁷ Useat foldameerit ovat sitoneet alkalimetallikationeja ja siten edistäneet alkalihydroksidin aikaansaamaa hydrolyysiä.³ Pidempien foldameerien nopeampi hydrolysoituminen viittaa oleelliseen metoksiyhmän ja alkalimetallikationin väliseen kompleksoitumiseen. Rungon pidentyminen lisää kuitenkin steeristä efektiä, mikä yhdistettynä vastaavan alkalihalidin lisäykseen hidastaa hydrolyysiä merkittävästi. Alkalihydroksideistä (LiOH, KOH ja NaOH) LiOH oli nopein hydrolysoimaan foldameerejä, mistä voidaan päätellä Li-kationin kompleksoi-

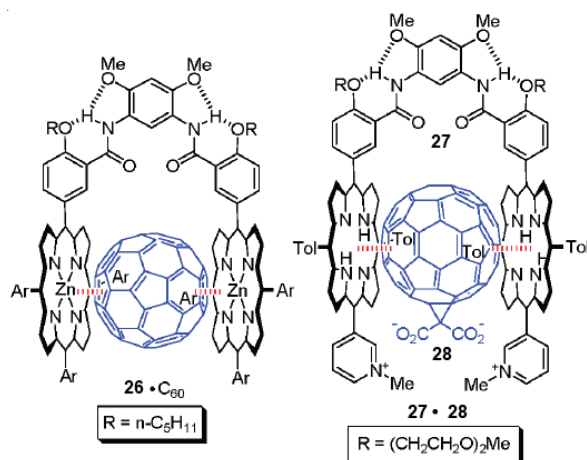
tuvan parhaiten kyseisen foldameerin kanssa. Orgaanisista kationeista foldameereillä on kompleksoitu alifaattisia ammoniumkationeja kloroformissa.^{7,45}

6.2 Neutraalit ja biologiset vieraat

Tiettyjen lineaaristen ja antibioottisten α -kierteitä jäljitelleiden oligomeerien on todettu tunnistavan luonnollista hepariinipolymeeriä.¹¹ Joillakin helikaalisilla oligomeereillä on havaittu merkittävä affiniteetti guaniinirikasta nelijuosteista DNA:ta kohtaan. Helikaaliset oligomeerit voivat lisäksi toimia molekyylireseptorina ja tunnistaa fullereeneja ja fullereenijohdannaisia sekä sokereita ja pieniä polaarisia molekyyliä. Sakkaridejä on puolestaan kompleksoitu hydratsidifoldameereillä.³ Myös hydrofobisia molekyyliä on ollut tunnistettavien yhdisteiden joukossa, muun muassa Mooren tutkima oligo-*m*-fenyleenietynyleeni-foldameeri kompleksoi komplementaaraisia kiraalisia monoterpeenivieraita hydrofobisilla vuorovaikutuksilla.^{3,22,39}

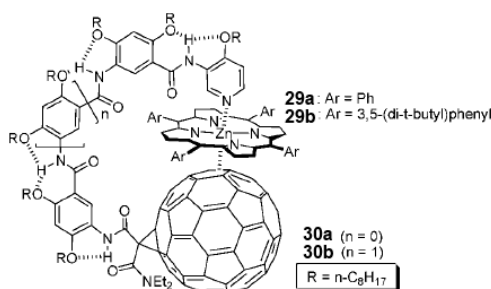
Fullereenejä on kompleksoitu tehokkaasti molekyyli-pinseteillä, joiden kompleksoimiskyky pohjautuu sinkkiporfyriiniyksiköihin (kuva 14).²⁶ Soveltuva pinsetin etäisyys C_{60} - ja C_{70} -fullereenien sitomiseen on 1,2 nm.³ Fullereenejä kompleksoineiden foldameeripinsettien on havaittu myös voivan gelatoida hiilivetyjä, kuten *n*-dekaania, *n*-heksaania, sykloheksaania ja dekaliinia.^{20,46}

Molekyyli-pinsettien toiminta perustuu sinkkiporfyriinin ja pyridiinin typhen väliseen koordinoitumiseen sekä C_{60} :n kanssa tapahtuvaan pinoutumiseen π - π -vuorovaikutuksilla.³ Sinkkiporfyriiniyksikköjen Zn(II) on viisikoordinoitunut, mikä tarkoittaa sinkin pystyvän esteettömässä tapauksessa koordinoitumaan porfyriinin lisäksi toiseenkin ligandiin.²⁶ Molekyyli-pinsetit ovat usein symmetrisiä, mutta myös epäsymmetrisiä pinsettejä tunnetaan. Tällöin fulle-

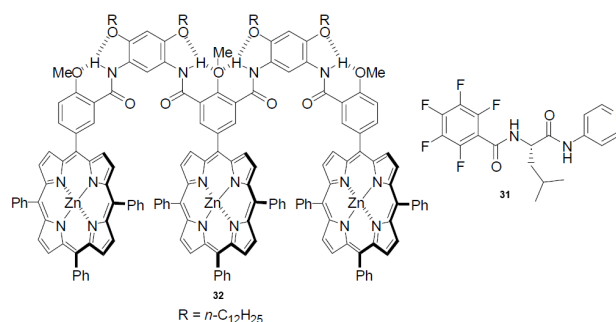


KUVA 14 Sinkkiporfyriniiryhmiin perustuvia molekyyli-pinsettejä fullereeneille.³

reeni on ollut osa foldameeripinsettiä ja sitoutuva yhdiste on sinkkiporfyrini (kuva 15). Sinkkiporfyrinifoldameereillä on kompleksoitu myös pentafluorifenyyli-ryhmän sisältävää pyridiinijohdannaista, jolloin paras kompleksoituminen tapahtui, kun yhtä pyridiinijohdannaista ympäröi kaksi porfyriini-ryhmää (kuva 16).²⁶ Foldameerien sisältäessä kaksi tai kolme porfyriini-ryhmää kompleksoituminen tapahtui 1:1 tai 1:2 suhteessa, mutta lisäligandin kompleksoituminen oli silti mahdollista.²⁶



KUVA 15 Epäsymmetrinen molekyyli-pinsetti.³



KUVA 16 Pentafluorifenyyliyhjän sisältävää pyridiinijohdannaista **31** kompleksoiva kolmen porfyriiniryhmän molekyyliipinsettifoldameeri **32**.²⁶

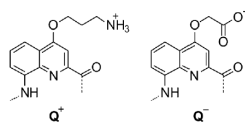
6.3 DNA-vuorovaikutus

Proteiini- ja nukleiinihappopintojen selektiivisen tunnistamisen kannalta foldameereillä on useita lupaavia ominaisuuksia: stabiili rakenne, proteiinisivuketjujen liittämismahdollisuus, sopiva koko (0,5–5 kDa), hyvä proteiinihajottajien kestävyys ja hyvä solukalvon läpäisykyky.^{19,47–49} Tiettyyn proteiiniin tai nukleiinihappoon sitoutuvan foldameerin suunnittelu ja valmistaminen on iso kuitenkin haaste.¹⁹ Onnistuneita tuloksia on saatu rakenteeltaan proteiineja tai nukleiinihappoketjuja muistuttavilla foldameereillä, jotka ovat muodostaneet haluttuja sekundäärisiä rakenteita. Näihin on lukeutunut esimerkiksi α -kierrejärjittelijöitä, nukleiinihappoanalogeja sekä DNA-ligandeja. Kombinatorista lähestymistapaa ja järjestelmällistä seulontaa, jolloin rakenteen sijaan on keskitytty oligomeerin monomeereihin ja sekvensseihin, on onnistuneesti käytetty muutamien biologisten inhibiittorien valmistamisessa.

Klassinen tapa tutkia DNA:n ja pidempien foldameerisekvenssien vuorovaikutuksia on systemaattinen foldameerin muokkaus ja sitoutumiskokeiden tekeminen pienellä määrällä DNA-jaksoja.¹⁹ Vaihtoehtoinen tapa on käyttää

suurta määrää DNA-sekvenssejä ja samaa foldameeriä ja hakea parasta vastetta. Käyttökelpoinen menetelmä suuren DNA-sekvenssimäärän läpikäymisessä ja karsinnassa on SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment), joka soveltuu laajalle joukolle kohdemolekyylejä. Biotiini-funktionalisoidut (biotini = H- tai B₇-vitamiini, koentsyymi R) kinoliini-pohjaiset oktameerit ovat muodostaneet yhden kohdemolekyyliparin, joille on haettu DNA-aptameeriä (oligonukleiinihappo tai peptidi, joka sitoutuu tiettyyn kohdemolekyyliin).

Tutkimuksissa on osoitettu monikänteisten (multiturn) (Q⁺)_n oligomeerien (kuva 17) ja G-4DNA:n välinen erityinen vuorovaikutus, joka voidaan tehdä diastereoselektiiviseksi yksikäntisillä oligomeerikierteillä.¹⁹ Samalla on tunnistettu ensimmäinen esimerkki DNA- vs RNA-selektiivisestä G-4DNA:n synteettisestä ligandista. Foldameeri sitoutui selektiivisesti vain yhteen G-4DNA sekvenssiin.



KUVA 17 DNA-aptameerin kinoliinitähteet.¹⁹

DNA:n sitoutumista foldameeriin seurattiin pintaplasmoniresonanssin (SPR) avulla.¹⁹ 30 nukleiinihapon muodostamista, kirjastoiduista (SELEX) DNA-sekvensseistä valittiin SPR:n perusteella parhaimmat vaihtoehdot jatkotutkimuksiin. Näiden huomattiin sisältävän runsaasti tymiiniä, keskiverrosta guaniinia ja sytosiiniä ja vain vähän adeniinia (T: 40,1 %; G: 27,9 %; C: 22,8 % ja A: 9,2 %). Neljäs vaihtoehdoista sisälsi vähintään neljä GG tai GGG jaksoa, joista voi muodostua G-4DNA-rakenne. Pelkkä DNA:n guaniinipitoisuus ei kuitenkaan tee foldameerin sitoutumisesta selektiivistä, sillä sitou-

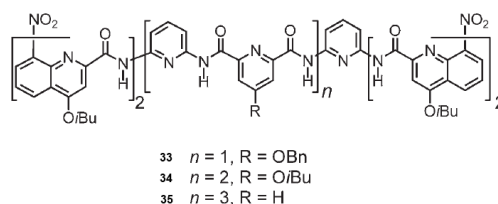
tuminen voi olla seurausta elektrostaattisesta vuorovaikutuksesta negatiivisesti varautuneen DNA:n ja positiivisesti varautuneen foldameerin välillä. Sitoutumisen laatua voidaan tutkia muuttamalla olosuhteita eli esimerkiksi lisäämällä kationin pitoisuutta. Suurempi kationipitoisuus (K^+ : 140 mM \rightarrow 1 M) vähentää ei-selektiivistä sitoutumista ja guaniiniköyhempiä sekvenssejä. DNA-sekvenssin guaniinipitoisuutta muokkaamalla sitoutuminen muuttui: neljä GGG-jaksoa sisältävän DNA:n havaittiin olevan ainoa aptameeri, joka sitoutui selektiivisesti $(Q^+)_4(Q^-)_4$ -foldameerin kanssa. Nukleinihapon laadulla on myös merkitystä. Vertailukohtana toimineen $3 \times GGG + GG$ DNA-aptameerin RNA-vastineella affiniteetti $(Q^+)_8$ -foldameeriin väheni selvästi.

Monien yhdisteiden on havaittu tunnistavan selektiivisesti G-4DNA:ta, mutta ei kaksi- tai kolmijuosteista DNA:ta.^{19,50} Tutkimuksissa osoitettiin myös, että kolmikierroksinen $(Q^+)_8$ -foldameeri tunnisti diastereoselektiivisesti neljä GG-jaksoa sisältävä aptameerin, kun L-kiralian DNA sitoutui ainoastaan M-kätisen foldameerin kanssa. Vaikka havainnon perusteella voisi odottaa aptameerin edistävän jompaa kumpaa akiraalisen foldameerin kätisyyttä, näin ei kuitenkaan tapahtunut johtuen erittäin suuresta kineettisestä vallista P- ja M-kierteiden välillä käytetyissä olosuhteissa.

6.4 Kapselit

Kapseleita ja kapseloitumista voidaan hyödyntää muun muassa molekyylien tunnistamisessa ja katalyysisovelluksissa.²² Oligoamidit voivat laskostua kapselimaiseksi kokonaisuuksiksi, joissa foldameerin keskelle jää kokonaan ympäristöstä eristetty tila erotuksena päistään avoimille onkaloille. Nämä suljetut onkalot ovat suurimmillaan olleet jopa 3 nm. Kapselien aikaansaamiseksi on

monia menetelmiä, mutta helikaalisten oligomeerien tapauksessa ideana on tehdä kierteen keskiosasta leveä ja sulkea päät. Kapselin päätyjen sulkeminen voidaan toteuttaa suurikokoisilla foldameerin päätyryhmillä ja kapselin leveyttä säätää foldameerikierteen halkaisijan avulla. Aromaattisten oligoamidikierteiden halkaisija on säädeltävissä monomeerikoon ja aromaattisen renkaan substituenttien suuntautumisen avulla. Kapselirakenteita on tehty ainakin 3, 5 ja 7 pyridiinirengasta sisältävistä foldameereistä (**33**, **34**, **35**), joissa pyridiinit olivat osana vetysitoutuvia 2,6-pyridiidikarboksiamidiyksiköitä (kuva 18). Foldameerin pituuden kasvaessa kierteen sisäinen onkalo odotetusti suureni ja muuttui pallomaisesta sylinterimäiseksi.



KUVA 18 Kapseloivien 3, 5, ja 7 pyridiinirengasta sisältävien foldameerien **33**, **34**, **35** rakennekaavat.²²

Toistaiseksi vieraiden sitoutuminen ja poistuminen kapselista on ollut liian nopeaa, jotta foldameerikapseleiden kontrolloitu käyttö olisi mahdollista.²² Suurilla, sterisen esteen tuottavilla päätyryhmillä, kuten kinoliineilla, liikkettä voidaan hidastaa. Kontrolloitua vieraiden sitoutumista ja vapautumista voitane edesauttaa myös foldameerin pituutta ja siten onkalokokoa kasvattamalla. Foldameerin ja sitoutumistilan kasvaessa on entropiasyistä oletettavaa, että myös suurikokoisempien vierasmolekyylien sitoutuminen on mahdollista sen sijaan, että onkaloon sitoutuisi useampi pienempi molekyyli yhtäaikaaisesti. Suurempikokoisten vierasmolekyylien vapautuminen onkalosta on hitaampaa kuin pienien liuotinmolekyylien, mikä auttaa vieraiden kont-

rolloinnissa. Myös vieraan tyypillä on todennäköisesti väliä, sillä esimerkiksi fosfaatti- ja sulfaattianionit vuorovaikuttavat voimakkaammin elektrostaattisesti kuin orgaaniset molekyylit.

Kapselimaisten oligoamidien tiedetään kompleksoineen sisälleen pieniä polaarisia molekyylejä.²² Vieraan sitoutuminen voi tapahtua ilman, että foldameerikierteen rakenne muuttuu tai siten, että foldameerikierre muuttaa väliaikaisesti muotoaan. Atsa-romaattisiin amidioligomeereihin perustuvilla kapselleilla vesi on ensisijainen vieras. Veden ensisijaisuus todistettiin havaitsemalla veden kapseloituminen, vaikka liuottimena käytettiin jotain muuta. Veden lisäksi tutkittuja ja kapseloituja liuotinmolekyylejä ovat olleet metanoli, hydratsiini, vetyperoksidi ja metaanihappo.

Oligoamidifoldameerien vieraiden sitoutumisen edellytyksenä oli helikaalisen rakenteen väliaikainen konformaation muutos. Sitoutumista kuitenkin rajoitti onkalon tilavuus. Esimerkiksi viiden pyridiinirenkaan foldameeri **34** sisälsi kaksi vetysitoutuvaa 2,6-pyridiinidikarboksiamidiyksikköä, joiden kanssa vesimolekyyli saattoi sitoutua, mutta tilaa oli vain yhdelle vesimolekyylille. Veden sitoutuminen oli näin ollen degeneroitunutta eli foldameerin vesimolekyyli saattoi olla sitoutuneena kumpaan tahansa 2,6-pyridiinidikarboksiamidiyksikköön. Vieraiden degeneroitunut sitoutuminen voi aiheuttaa kiderakenteeseen epäjärjestyttä, mutta tätä ei kuitenkaan tapahtunut veden tapauksessa. Isoimmassa seitsemän pyridiinin foldameerissä yksiköitä oli kolme, mutta tilaa vain kahdelle vesimolekyylille. Missään vaiheessa ei havaittu tilannetta, jossa 0, 1 ja 2 vesimolekyyleä sitoneita foldameerikapselita esiintyisi samaan aikaan. Isoin foldameeri (**35**) oli tutkituista ainoa, joka pystyi kompleksoimaan jokaista muuta tutkittua liuotinmolekyyleä, tosin myös keskimäinen (**34**) pystyi sitomaan vetyperoksidia. Toisin kuin vedestä metano-

lista seurasi jonkin verran epäjärjestäytymistä kiteessä. Metanolin ja metaanihapon tapauksessa tarvittiin ylimäärä liuotinta, jotta pystyttiin havaitsemaan myös muuta kuin hydratoitunutta foldameeriä. Mielenkiintoista isompien 5 ja 7 pyridiinin foldameerikapselien tapauksessa oli, ettei vetyperoksidi *N*-hapettanut keskisiä 2,6-diaminopyridiiniyksiköitä, jotka foldameerirungon päässä ja vahvemman hapettimen (*m*-klooriperbentsoehappo) avustamana hapettuisivat selektiivisesti ja helposti.

Sekä foldameerikapselin suuria konformaation muutoksia että tyhjän tilan täyttöastetta voidaan seurata NMR-spektroskopian avulla, mitä voidaan hyödyntää sensoreita suunniteltaessa.²² Vieraiden liike on silti NMR:n aikaskaalalla nopeaa, alle 100 ms. Täyttöasteen muutoksen seuraamiseen soveltuu esimerkiksi vetysitoutuvan amidin resonanssi, joka siirtyy alakentälle päin, kun foldameeri sitoo vesimolekyylin tai vieraiden määrä kasvaa. Yhden ja kahden vesimolekyylin sitoutuessa veden resonanssissa havaitaan selvä ero 4.50 ppm:stä 5.26 ppm:ään.

2,6-dipyridiini-karboksimidifoldameerien tapauksessa pienten molekyylien sitoutuminen todistettiin vieraan kapseloinniksi pelkän inklusion sijaan niin ikään NMR:n avulla.²² Vetysidosten takia foldameerin onkalon alueen protonit resonoivat eri lailla tyhjässä ja täydessä kapselissa. Foldameerikapselit eivät ole olleet täydellisesti eristäviä ja vieraiden on mahdollista siirtyä sisään ja ulos kapselista. Liike kuitenkin hidastuu matalissa lämpötiloissa, jolloin on mahdollista havaita eri signaalit tyhjälle ja täydelle kapselille. NMR:llä havaittu suurin siirtymä tyhjälle ja täydelle kapselille oli pienimmälle foldameerille (**33**) 0.7 ppm ja keskikokoiselle (**34**) 1.6 ppm. Isompien kapselien kinetiikka veden vapauttamisessa ja sitomisessa on hitaampi, mikä on ymmärrettävää pidempien ja stabiilimpien kierteiden perusteella.

7 Valokemialliset reaktiot

Foldameerit soveltuvat erinomaisesti responsiivisten materiaalien suunnitteluun dynaamisesta luonteestaan johtuen.⁵¹ Tavallisesti konformaation muutos vaatii jonkinlaisen muutoksen ympäristössä, kuten lämpötilassa, pH:ssa tai liuottimessa, mistä voi myös seurata ei-toivottavaa sivutuotteiden muodostumista. Valo on tässä suhteessa erinomainen viritin, jonka ajoitusta ja kohdistusta sekä sille altistumista voidaan tarkasti kontrolloida. Fotokromisten molekyylien avulla materiaali- ja molekulaariset ominaisuudet, kuten lineaaristen peptidien kiertymisen tasapainotila, ovat säädeltävissä. Valofysiikaalisia ominaisuuksia on myös muutettu vetysidosten määrää varioimalla.⁵² Ideaalitapauksessa fotokromisessa järjestelmässä on kaksi itsenäistä tilaa, joiden toisikseen muuntumisesta seuraa suuria muutoksia molekyylin geometriassa.¹⁶ Tämän lisäksi järjestelmän tulisi kestää toistuvia reaktioita ja valo-reaktion olla seurattavissa spektroskooppisin menetelmin.

Valoon reagoiva foldameeri valmistetaan sijoittamalla fotoisomeroituva ydin osaksi foldameerijuostetta.⁵¹ Foldameerin isomeroituminen tapahtuu valon vaikutuksesta nopeasti, kun taas palautuminen alkuperäiseen tilaan niin ikään valokemiallisen tai termisen isomeroitumisen myötä tapahtuu hitaasti. Fotokromiset foldameerit ovat koostuneet jopa 20 aromaattisesta renkaasta, mutta foldameerin pituuden ei ole havaittu vaikuttavan palautumisen nopeuteen toisin kuin liuottimen.¹⁶

Valoon reagoivien foldameerien runkoina on käytetty muun muassa amfifilistä oligo-*meta*-fenyleenietynyleenia, joka muodostaa polaarisisä liuoksissa helikaalisia rakenteita aromaattisten ryhmien solvofobisuuden toimiessa ajavana voimana.^{16,51} Kinoliinijohdannaisfoldameereillä on säädely varauksen

siirtymistä kromoforien välillä.⁵² Aryyliamidifoldameerien vetysidoksilla on kontrolloitu kromoforien suuntautumista sekä energian ja elektronin siirtymistä.

Fotokromisia ryhmiä sisältävien foldameerien kontrolloituihin konformaationmuutoksiin ja laskostumiseen on käytetty kahta lähestymistapaa: sivuketjulähtöistä ja liikkumavaralähtöistä (tether).¹⁶ Sivuketjuperustaisessa lähestymistavassa fotokromiset yksiköt, kuten spiropyraanit ja atsobentseenit, ovat polypeptidirungon, kuten poly-L-glutamiinihapon, sivuketjuina. Esimerkiksi poly-L-lysiiniin liitetyt atsobentseeni-kromoforit ovat fotoisomerisaation seurauksena muuntuneet rakenteeltaan β -levystä α -kierteeksi. Myös polyisosyanaatteja käytetty yhdessä atsobentseenien kanssa. Liikkumavara-perustaisessa lähestymistavassa fotokromiset yksiköt yhdistävät kahta eri peptidirunkoa, kuten atsobentseeni kysteiinisegmenttejä. Segmenttien pituudella on vaikutusta foldameerin konformaatioon: neljän kysteiiniryhmän ero (i ja $i + 4$) segmenttien pituuksissa saa kromoforin *cis*-muodon suosimaan helikaalista rakennetta, kun taas 11 kysteiiniryhmän erolla (i ja $i + 11$) *cis*-muoto destabiloi helikaalista kierrettä.

7.1 Turn-on ja turn-off -foldameerit

Fotokromiset foldameerit voivat olla joko päälle- (turn-on) tai poiskytkettäviä (turn-off).¹⁶ Päällekytkettävä foldameeri on lähtötilanteessa laskostumaton ja laskostuu fotoisomerisaation seurauksena. Vastaavasti poiskytkettävän foldameerin laskostuneisuus katoaa fotoisomerisaation myötä. Isomeroitumisen seurauksena foldameeri saa tai siltä katoavat edellytykset muodostaa stabiili kierteinen konformaatio esimerkiksi kromoforiin liittyneiden juosteiden lyhydestä johtuen.⁵¹ Aromaattisen fotokromaattisen yksikön substi-

tuenttien orientaatiovaatimukset riippuvat foldameerin kytkemisen luonteesta. Poiskytkettävässä tapauksessa yksikön tulisi olla *meta*-substituoitu, joka sallii molekyylin kiertymisen ja kierroksen muodostumisen kuudella toistuvalla yksiköllä. Päällekytkettävien foldameerien tapauksessa on kokeiltu *para*-substituoituja yksiköitä, mutta valoaltistus ei ole tuottanut eroja fluoresenssispektreihin, mikä viittaa vähäisiin konformaatiomuutoksiin. Turn-on-foldameerien valmistaminen on näin ollen ollut hankalampaa kuin turn-off-foldameerien.

7.2 Itsejärjestäytyvät ja varausta siirtävät foldameerit

Valoon reagoivien foldameerien joukossa on myös itsejärjestäytyviä ja intermolekulaarisesti varauksia siirtäviä foldameerejä.⁵³ Peryleeni-3,4-dikarboksiamidista, melamiinijohdannaisesta (elektroniluovuttaja) ja niitä yhdistävästä bifenyylistä koostuvat monomeerit muodostavat itsejärjestäytyviä foldameerejä, jotka sisältävät jopa kolme heksameeristä rengasta ja kierrettä. Itsejärjestäytyminen on todistettu poolittomassa metyylysykloheksaanissa ja noin 10^{-4} M konsentraatiossa. Polaarisisessä tetrahydrofuraanissa foldameerissä tapahtuu varauksen siirtyminen, mitä ei havaita monomeerissä johtuen mm. etäisyydestä elektronin luovuttajan ja vastaanottajan välillä.

Valon avulla voidaan vaikuttaa myös foldameerien kompleksointikykyyn esimerkiksi anioneja kohtaan.³⁰ Anionien sitoutumivahvuuden kontrollointi valolla ei kuitenkaan ole kovin yleistä. Aryylitriatsoliryhmä on todettu toimivaksi vetysidosluovuttajaksi, joka sitoo anioneja. Aryylitriatsoliryhmiä sisältäviä reseptoreja on käytetty niin foldameereissä kuin makrosykleissä. Triatsoliryhmiä on syntetisoitu ”klik-kemian” menetelmillä atsidi- ja etynyyliryhmien välisellä kytkentäreaktiolla. Triatsoliryhmän suuri affiniteetti ja se-

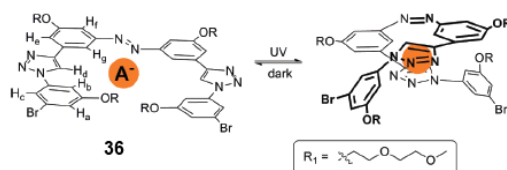
lektiivisyys anioneja, erityisesti halideja, kohtaan perustuu aryyliatriatsoliviisirenkaan ennaltajärjestäytymiseen. Samalla reseptorin ja anionin välinen komplementaarisuus on oleellista selektiivisyydelle.

7.3 Fotoisomeroituvat ja -dimerisoituvat foldameerit

Atsobentseeni on usein käytetty kromofori, jonka ominaisuuksiin lukeutuu selkeä ja reversiibeli *trans* → *cis* fotoisomeroituminen UV-valon vaikutuksesta.^{16,30} ¹H NMR -spektrissä tästä seuraa useiden protonien siirtyminen yläkentälle päin. Fotoisomeroitumisesta seuraa merkittäviä rakenteellisia muutoksia ja atsobentseenin tasomainen ja levittänyt *trans*-muoto muuttuu taipuneempaan ja tiivimpään *cis*-muotoon.

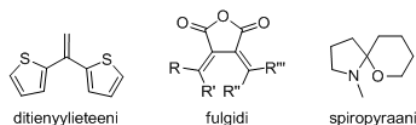
Atsobentseenin ja fenyyl-1,2,3-triatsolin sisältävä foldameeri **36** sitoo anioneja ja on valoon reagoiva ja palautuva sekä anionien läsnä- että poissaollessa (kuva 19).³⁰ Foldameerin isomeerillä on oleellinen merkitys sitoutumisen vahvuudelle, mutta anionien sitoutuminen on kuitenkin tapahtunut aina 1:1-stoikiometrialla. *Trans*-isomeeri satoi anioneja järjestyksessä $\text{Cl}^- < \text{HSO}_4^- < \text{Br}^- < \text{I}^- \approx \text{NO}_3^-$. *Cis*-isomeerin onkalo on pienempi kuin *trans*-muodon, mistä seuraa herkkyuden kasvu anionin koon pienentyessä. Valoisomerisaation seurauksena suurimmat erot sitoutumisessa ilmenevät pallomaisilla halideilla (3–4-kertainen), kohtalaiset kolmiomaisella nitraatilla (yli 2-kertainen) ja pienimmät tetraedrisellä vetysulfaatilla (alle 2-kertainen).

Atsobentseeniä pienempiä geometrian muutoksia tuottavia fotokromeja ovat ditiennylieteenit, fulgidit ja spiropyraanit (kuva 20).¹⁶ Kromoforeihin voi liittyä myös varausseparaatiota ja varauksen siirtoa sekä radikaalisen ioniparin muodostumista.⁵² Tällaisia kromoforipareja, dyadeja, ovat oligo-*p*-



KUVA 19 Anioneja sitova foldameeri **36**.³⁰ Copyright 2010 American Chemical Society.

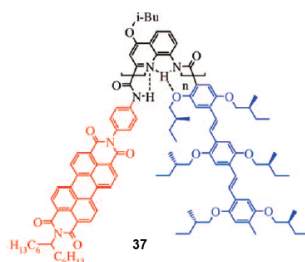
fenyleenivinyleen- ja peryleenibisimidi-kromoforit (kuva 21) sekä porfyriini ja fullereeni- C_{60} .^{52,54} Ainakin porfyriinin ja fullereeni- C_{60} :n tapauksessa kromoforien on todettu olevan korvattavissa toisilla elektronin luovuttajilla ja vastaanottajilla. Kahden kromoforin dyadien lisäksi varausseparaation elinaikaa mahdollisesti lisäävät kolmen kromoforin triadit ovat mahdollinen vaihtoehto uusien valoon reagoivien molekyylien ja materiaalien luomisessa.



KUVA 20 Ditiennylieteeni sekä esimerkki fulgidista ja spiropyraanista.

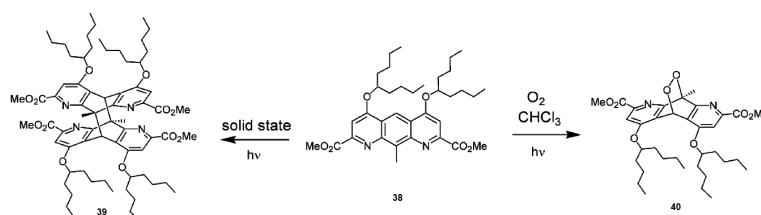
Valokemiallisiin reaktioihin lukeutuu fotoisomeroitumisen ohella muitakin ilmiöitä kuten fotodimerisoituminen. Antraseenin näkyvän valon aiheuttama fotodimerisaatio on eräs vanhimmista valokemiallisista reaktioista.¹¹ Antraseenin fotodimerisaatio on [4+4] sykloadditio, joka palautuu takaisin monomeereiksi lämmön tai UV-valon vaikutuksesta (<300 nm). Fotodimerisaation seurauksena muodostuvassa konformaatiossa monomeerit ovat liittyneet joko samansuuntaisesti (head-to-head, HH) tai vastakkaissuuntaisesti (head-to-tail, HT).

Foldameerien kohdalla fotodimerisoitumista onkin tutkittu 1,8-diatsa-antraseenijohdannaisilla, joiden dimerisoituminen muistuttaa antraseenin dimeri-



KUVA 21 Oligo-*p*-fenyleenivinyleeni- ja peryleenibisimidiosat sisältävä foldameeri **37**.⁵⁴

soitumista.¹¹ Foldameerit ovat olleet sekä sykliisiä että helikaalisia.¹¹ Antraseenijohdannaisfoldameerien fotodimerisoituminen on mahdollista myös liuoksessa, mutta hapellisissa olosuhteissa päätuote voi fotodimeerin sijaan olla foto-oksidi (kuva 22). Kiinteässä tilassa tapahtuvaan dimerisoitumiseen hapella ei ole vaikutusta. Sivuketjuiltaan eroavat (metyyli, isobutyryyli, 5-nonyyli) 1,8-diatsa-antraseenijohdannaiset ovat kiteytyneet kaikki HT-konformaatioon. π - π -vuorovaikutusten myötä foldameerimolekyylit pinoutuvat pylväsmäisesti. Valon avulla antraseeniryhmiä sisältäviä helikaalisia foldameerejä on mahdollista muuttaa kovalenttisesti heliseenin kaltaisiksi molekyyleiksi.



KUVA 22 1,8-diatsa-antraseenijohdannaismonomeerin **38** fotodimerisoituminen ja fotohapettuminen.¹¹ Copyright 2007 American Chemical Society.

7.4 Valokemiallisten reaktioiden tutkiminen

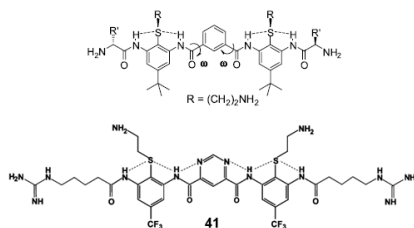
UV/Vis-absorptiospektroskopia on soveltuva tutkimusmenetelmä valokemiallisten ja -fysikaalisten reaktioiden seuraamiseen. Esimerkiksi fotoisome-roitumisen myötä absorptio vähenee 380 nm alueella (π - π^*) ja lisääntyy 290 nm alueella (runkoalue), ja molaarisen absorptiokertoimen pienenemi-nen ilmaisee valon aikaansaamaa elektronin siirtymistä kromoforien välil-lä.^{16,52} Selektiivisen virittämisen mahdollistamiseksi molekyylin absorptio-ominaisuuksia voi kuitenkin joutua muokkaamaan, esimerkiksi kromoforin oikeanlaisilla substituenteilla, kuten elektronitiheyttä luovuttavilla metoksi-ryhmillä, jotka saavat aikaan punasiirtymää. Substituentit voivat kuitenkin vaikuttaa merkittävästi molekyylin elektronisiin ominaisuuksiin (elektronics) ja seurauksena heikentää π - π -vuorovaikutusta ja siten laskostumista. Kiraali-sen substituentin liittämistä voi puolestaan olla etua konformationaalisten muutosten seuraamisessa CD-spektroskopian avulla.^{16,51}

8 Amidifoldameerien toksisuus ja vuorovaikutus solujen kanssa

Vastustuskykyisten bakteerikantojen esiintyminen on lisännyt mielenkiintoa antimikrobisia peptidejä (AMP) kohtaan ja nostanut niiden merkitystä lääketieteessä.^{55,56} Antimikrobisia peptidejä esiintyy useissa eukaryoottisissa lajeissa, kasveista nisäkkäisiin, ja ne koostuvat tavallisesti 20–50 aminohappotähteestä.⁵⁵ Peptideille on usein ominaista amfifilisuus, yleensä positiivisesti varautunut pinta parantaa vuorovaikutusta negatiivisesti varautuneen bakteerisolukalvon kanssa ja hydrofobinen osa auttaa sijoittumisessa solukalvoon.⁵⁶ Antimikrobiset peptidit eroavat entsyymaattisiin kohteisiin vaikuttavista antibiooteista toimimalla kohdesolujensa pinnalla muodostaen solukalvoon aukkoja ja häiriten sen eheyttä, mikä tekee bakteerien resistenssin muodostumisesta vaikeampaa.⁵⁷ Antimikrobisten peptidien hyödyntämistä on vaikeuttanut niiden koko (yleensä 2–5 kDa), stabiilisuus, jakautuminen kudoksessa ja toksisuus.^{55,58}

Antimikrobisia peptidejä on jäljitelty pienillä, alle 1000 Da:n aryylimidifoldameereillä, joiden vetysidokset ovat paitsi jäykistäneet molekyyli-runkoa myös lisänneet antimikrobista aktiivisuutta *Escherichia coli* (Gram-negatiivinen) ja erityisesti *Staphylococcus aureus* (Gram-positiivinen) -bakteereja kohtaan.⁵⁵ Antimikrobisia foldameerejä on valmistettu aryylimidi-, fenyleenietyleni-, polynorborneeni- ja polymetakrylaattirungoista, joista aryylimidit ovat tutkituimpia.⁵⁸ Oligoaryylimidien amfifilisestä sekundäärirakenteesta ja pienestä koosta on etua kudokseen levittymisessä ja valmistuskustannusten vähentämisessä.⁵⁷ Antimikrobiset aryylimidit ovat usein muodostuneet kolmesta amidisidoksin toisiinsa liittyneestä aromaattisesta ren-

kaasta (kuva 23). Aminohapot voivat olla hyvä vaihtoehto laajentamaan foldameerien rakennetta; aminoryhmät tuovat uusia positiivisesti varautuneita keskuksia ja erilaisilla sivuketjuilla rakenteeseen luodaan monipuolisuutta. Tioetteriryhmät mahdollistavat emäksisten ryhmien liittämisen, ja lisäksi rikkiatomit toimivat intramolekulaaristen vetysidosten vastaanottajina sekä sivuketjuista että amideista ja stabiloivat tällä tavoin molekyyliä.^{55,57,58} Oligoaryyliamidien ohella muita antimikrobisten peptidien amfifilisen luonteen jäljittelijöitä ovat esimerkiksi β -aminohappokierteet ja antimikrobiset polymeerit.⁵⁶



KUVA 23 Geneerisen antimikrobisen aryliamidifoldameerin sekä erään tutkitun 1063 Da:n AMP-foldameerin **41** rakentekaavat.^{55,58}

8.1 Vuorovaikutus solukalvon kanssa

Positiivisesti varautuneiden antimikrobisten peptidien ja negatiivisesti varautuneiden bakteeristen fosfolipidisolukalvojen välinen elektrostaattinen vuorovaikutus on lähtökohta peptidien kyvyllä läpäistä solukalvo hydrofobisen vuorovaikutuksen avulla.⁵⁵ Sopivan varauksen ja hydrofobisten tähteiden tyypin ja jakauman omaavat antimikrobiset peptidit voivat tappaa bakteerisoluja hyvin selektiivisesti isäntäsoluihin verrattuna ilman aggregoitumista, mikä johtuu eroista bakteerien ja eukaryoottisten solukalvojen välillä.^{10,55} Liian polaarilla peptideillä ei ole affiniteettiä bakteerien solukalvoja kohtaan ja

liian hydrofobiset peptidit eivät tee eroa bakteri- ja eukaryoottisolujen välillä.

Bakteerisissa solukalvoissa negatiivisesti varautuneiden fosfolipidien (esimerkiksi fosfatidyylylglycerolit ja fosfatidyylietanoliamiinit) osuus on noin 30 % ja suurempi kuin eukaryoottisissa solukalvoissa.^{55,57} Lisäksi fosfolipidit ovat jakautuneet eri tavoin, bakteerisoluissa solun ulkokalvolle ja eukaryoottisoluisissa sisäpinnalle.⁵⁶ Eukaryoottisolut koostuvat pääsääntöisesti kahtaisionisista fosfolipideistä kuten sfingolipideistä ja kolesterolista, kahtaisionista fosfatidyylikoliinia esiintyy kummankin tyyppisissä solukalvoissa.^{55,57}

Aryyliamidien on havaittu ensisijaisesti sitoutuvan solukalvon lipopolysakkaridikokonaisuuksiin.⁵⁶ Molekyylimallinnuksen perusteella aryyliamidien tasapainotilan konformaatio hydratoituneessa lipidikaksoiskerrossa sijoittuu kerrosten väliin ja symmetria-akseli osoittaa kohti lipidikalvon pintaa. Aryyliamidit sijoittuvat ”veitsen” tavoin lipidien pääryhmien alle, vesi-membraanirajapinnalle, ja ”terän” pyöräyttäminen vahingoittaa lipidikalvoa, mikä vahingoittuminen ei kuitenkaan ole pysyvää.⁵⁸ Lipidien päät toimivat kuitenkin molekulaarisina elektrometreinä kalvon pintavarauksille ja häiriintyvät positiivisten varausten lisäksi solukalvolla.

Molekyylimallinnuksen ohella antimikrobisten foldameerien sijoittumista ja suuntautumista sekä dynamiikkaa on tutkittu myös kiinteän tilan ¹⁹F ja ³¹P NMR -spektroskopian avulla.⁵⁸ ³¹P NMR on herkkä antimikrobisten molekyylien aiheuttaman solukalvon epäjärjestäytymisen ja morfologian ilmaisimena. ¹⁹F NMR on hyvin herkkä, tausta vapaa (background-free) indikaattori kalvoaktiivisille molekyyliä ja sitä on käytetty oligomeeristen solukalvopeptidien ja -proteiinien suuntautumisen ja kvaternäärisen rakenteen määrittämisessä. ¹⁹F NMR soveltuu aryyliamidifoldameerin suuntautumisen ja sijoittu-

misen määrittämiseen solukalvossa, mikä perustuu foldameerien sisältämien trifluorimetyyliryhmien kemiallisesti ekvivalenttien ^{19}F -spinien erottamiseen dipolaaristen kytkentöjen avulla.

8.2 Toksisuuden määrittäminen ja kontrollointi

Antimikrobinen aktiivisuus voidaan määrittää inhiboivan minimikonsentraation avulla (minimal inhibitory concentration, MIC), joka riittää estämään bakteerien kasvun.⁵⁵ Toksisuutta voidaan toisaalta mitata myös IC_{50} -arvon perusteella (half maximal inhibitory concentration; pitoisuus, jossa puolet reaktioista estyy).¹⁰ Tällöin voidaan käyttää esimerkiksi HeLa-soluja (vanhin ja käytetyin solulinja) sekä kolorimetriaa ja MTS-analyysiä. Useasti mainittujen 8-amino-2-kinoliinikarboksylihappojohdannaisiin lukeutuvien oligoamidien toksisuus (100–500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) on esimerkiksi ollut samaa luokkaa muiden polykationeiden kuten polylysiinien, polyetyleni-imiinien, kitosamiinien ja polyamidoamiinidendrimeerien kanssa. Yhdisteiden toksisuutta ihmisoluihin vastaan on arvioitu myös niiden hemolyyttisen aktiivisuuden perusteella.⁵⁷ Hemolyyttisen aktiivisuuden tunnuslukuna käytetään esimerkiksi HC_{50} -arvoa (konsentraatio, jossa 50 % punasoluista hajoaa).⁵⁵ Tunnuslukujen tarkkuuksissa on eronsa, MIC-arvot ovat toistettavissa kahden numeron tarkkuudella (factor of 2), kun taas HC_{50} -arvoissa voi olla 10–20 %:n virhe riippuen solujen alkuperästä. Molekyylien hydrofobisuutta määritetään usein *n*-oktanoliväli- ja vesijakautumiskertoimen avulla, jota on käytetty kvantitatiivisten rakenne–aktiivisuus-suhteiden tutkimuksissa monien liuenneiden aineiden tapauksessa korreloimaan ja ennustamaan niiden ominaisuuksia, kuten toksisuutta.⁵⁷ Selektiivisyyden ($\text{HC}_{50}/\text{MIC}$) esittäminen hydrofobisuuden, $\log K_{\text{OW}}$, funktiona voi soveltua nopeaksi menetelmäksi yhdisteiden tur-

vallisuuden arviointiin.

Foldameerin jäykistämisen on todettu lisäävän sekä affiniteettiä että selektiivisyyttä eli lisäävän antimikrobista aktiivisuutta ja vähentävän hemolyyttistä potentiaalia.⁵⁵ Hemolyyttisen toksisuuden on todettu kasvavan peptidin sivuketjujen hydrofobisuuden funktiona, ja vähäisempää toksisuutta on haettu esimerkiksi polyetylenioksiditähteillä.^{10,57} Positiivisten varausten lukumäärän kasvattaminen voi lisätä toksisuutta, jota toisaalta saattaa vähentää hydrofobisen rungon tarjoama suoja.¹⁰ Foldameerien toksisuus eukaryoottisoluja kohtaan lienee seurausta antimikrobisen aktiivisuuden vaatimuksista paljon poikkeavista konformaatioista, joita vähemmän jäykät foldameerit pystyvät helpommin ja useammin muodostamaan.

Funktionaalisia ryhmiä, kuten aniliinin aminoryhmää, muokkaamalla voidaan vaikuttaa foldameerien toksisuuteen. Aminoryhmät ovat heikosti emäkisiä ja eivätkä välttämättä varaudu neutraalissa pH:ssa, minkä takia näitä ryhmiä on muutettu guanidiineiksi, erityisesti kun ryhmät sijaitsevat foldameerin päässä.⁵⁵ Ei-terminaalisten alkyyliaminoryhmien vaihto guanidiineihin voi vaikuttaa selektiivisyyteen positiivisesti tai negatiivisesti riippuen bakteerista. Terminaalisten amiinien muuntaminen guanidiiniksi sen sijaan lisää mikrobista aktiivisuutta ja selektiivisyyttä sekä *E. colia* että *S. aureusta* kohtaan. Guanidiinisubstituutio tuottaa poikkeavia tuloksia selektiivisyydessä, jos keskimäinen aromaattinen rengas on substituoitu 5- asemasta 4- ja 6- asemien sijaan. Foldameerin keskimäisen aromaattisen renkaan 5- tai 4- ja 6- asemiin sijoittuneiden positiivisesti varautuneiden aminoetoksiryhmien on todettu vähentävän toksisuutta punasoluja kohtaan. Sivuketjujen varaus (2-aminoalkyyliryhmä → metoksiryhmä) ja hydrofobisuutta vähentämällä (*tert*-butyyli → trifluorimetyyli) on saatu aikaan foldameerejä, jotka ovat

erittäin aktiivisia bakteereja vastaan, mutta osoittavat vain vähäistä toksisuutta nisäkkäiden soluja kohtaan (selektiivisyys 250–20000).

8.3 Kalvojen läpäisykyvyn tutkimusmenetelmät

Kalvojen läpäisykykyä tutkitaan kolorimetristen entsyymisubstraattien differentiaalisella bakteerikalvon läpikulkeutumisella ja entsyymien substraattien hydrolysoitumisella kalvoa häiritsevien yhdisteiden läsnä- ja poissaollessa.⁵⁶ Ulkokalvoa on tutkittu β -laktamaasin aktiivisuuden ja nitrosefiini-substraatin avulla ja sisäkalvoa β -galaktosidaasin avulla. Aryyliamidien aiheuttama ero esimerkiksi nitrosefiinin hydrolysoitumiseen voi olla 30-kertainen. Luonnossa esiintyviä kalvoja vain karkeasti vastaavien vesikkelien ja niihin perustuvien tutkimusten myötä on kuitenkin todettu, etteivät aryyliamidit läpäise kalvorakennetta yhtä hyvin kuin luonnossa esiintyvät antimikrobiset peptidit. Ainakin *E. coli*n tapauksessa solun ulkokalvon läpäisevyys on suurempi kuin sisäkalvon, esimerkiksi nitrosefiini läpäisee ulkokalvon selvästi ennen MIC-pitoisuutta, mikä riittää häiritsemään solukalvoa. MIC-pitoisuudessa aryyliamidin aiheuttama solukalvon läpäisevyys voi olla 90 % 300 sekunnissa.⁵⁷ Solun sisäkalvon läpäiseminen on sen sijaan vaikeampaa ja voi vaatia lähes kymmenkertaista MIC-pitoisuutta (50 $\mu\text{g/ml}$). Sisäkalvon häiriöstä seuraa pienempien ionien lisääntynyt läpäisy, mikä hävittää kalvon välisen sähkökemiallisen gradientin ja vaikuttaa aryyliamidien tappavuuteen.

Vaiikkeivat MIC-arvot ole absoluuttisen tarkkoja ja toistettavia, voidaan solukalvojen depolarisoitumista silti tarkastella kvalitatiivisesti.⁵⁵ Pienimmän MIC-arvon aryyliamidit ovat depolarisoineet parhaiten *S. aureus* -bakteerin solukalvoja, ja tuhonneet tällä tavoin soluja.^{55,57} Ilmiötä on tutkittu väriaineita sisältävien vesikkelien avulla ja soluun päätyvän väriaineen fluoresens-

sin intensiteettiin perustuen. Solukalvon depolarisoituminen vaatii huomattavasti suurempia pitoisuuksia kuin MIC-pitoisuudet, mitä voidaan toisaalta selittää eroavilla mittausolosuhteilla.⁵⁵ Osittainkin solukalvon depolarisoituminen riittää kuitenkin aiheuttamaan solukuoleman. Tappava AMP-pitoisuus riippuu solupitoisuudesta: suurempi määrä soluja vaatii suuremman AMP-konsentraation tuhoutuakseen. Suurissa pitoisuuksissa depolarisoituminen itsessään aiheuttaa solukuoleman, kun taas pienemmillä pitoisuuksilla toiset, hitaammat mekanismit korostuvat.^{55,56} Esimerkiksi solukalvossa saattaa tapahtua proteolyyttistä hajoamista aryyliamidien aiheuttamien väärinlaskostumisten ja -sijoittumisten seurauksena.

8.4 *In vivo, in vitro* ja resistenssikokeet

Antimikrobisten peptidien *in vivo* -tutkimuksia on tehty istuttamalla neutropenisen (veren häiriötila) hiiren reiteen bakteereita ja tämän jälkeen annostelemalla kohtaan tutkittavaa yhdistettä.⁵⁵ *In vivo* -aktiivisuutta esiintyi jo huomattavasti ennen annosmaksimin saavuttamista. Aktiivisuus saattaa parantua annostusväliä pidentämälläkin, mutta syytä tähän ei tiedetä. Parhaimmillaan foldameerin ehkäisevä vaikutus on ollut samassa suuruusluokassa kuin vancomysin-antibiootilla. *In vitro* -kokeissa molekyylien liikkuvuus ei ole yhtä merkityksellistä kuin *in vivo* -kokeissa, joissa vain jäykkärakenteiset foldameerit ovat osoittaneet riittävää antimikrobista aktiivisuutta.

Resistenssikokeita on tehty *S. aureus* -bakteerilla.⁵⁵ Ei-tappavissa olosuhteissa MIC ei muuttunut oleellisesti 16 vuorokaudessa, kun taas kahdella positiivisella kontrollikokeella muutos on havaittavissa kuuden vuorokauden jälkeen. Tämä osoittaa, ettei bakteerin ole erityisen helppoa muodostaa resistenssia aryyliamidia vastaan. Aryyliamidifoldameerejä on tähän mennessä

kokeiltu akuuttien bakteeri-ihoinfektioiden hoidossa ja niihin perustuvat lääkeaineet ovat siten saavuttaneet pienessä potilasryhmässä tehtävän lääketutkimuksen toisen vaiheen.⁵⁶

9 Yhteenveto

Foldameerit ovat synteettisiä, biomolekyylien tavoin laskostuvia yhdisteitä. Laskostuminen perustuu heikkoihin, intramolekulaarisiin vuorovaikutuksiin, joista laskostumisen kannalta oleellimmat ovat vetysidokset ja π - π -vuorovaikutukset. Foldameerien avulla yritetään ymmärtää ja jäljitellä biologisia järjestelmiä, esimerkiksi peptidejä ja proteiinipintaa. Foldameerit voivat muistuttaa myös sferandien ja kruunueetterien kaltaisia ei-biologisia molekyyliä. Biologisten ja lääketieteellisten sovellusten lisäksi foldameerien sovelluskohteeksi on esitetty esimerkiksi optista tietojenkäsittelyä. Kemian alan sovelluksia ovat esimerkiksi katalyytit ja sensorit.

Foldameerien molekyylipaino on tavallisesti alle 1000 Da. Suurempien foldameerien haasteena on niiden syntetisointi. Foldameerien rakennuspalikoina käytetään esimerkiksi pyridiiniä, antraniilihappoa ja kinoliinia ja niiden johdannaisia. Amidisidokset valmistetaan erilaisilla kytkentäreaktioilla. Muita funktionaalisia ja rakenneyksiköitä yhdistäviä ryhmiä ovat esimerkiksi imidit ja hydratsidit. Lineaaristen synteisien ohella myös konvergenttejä ja divergenttejä menetelmiä on käytetty. Valokemiallisten reaktioiden avulla foldameerejä on isomeroitu ja dimerisoitu.

Foldameerin konformaatio riippuu muun muassa foldameerin pituudesta. Rakenteet voivat olla laskostuneita, sirppimäisiä tai helikaalisia. Myös kaksoiskierrerakenteita voi muodostua. Aromaattiset foldameerit suosivat tasomais- ta konformaatiota, mutta foldameerin pidentyessä konformaatio muuttuu kierteiseksi. Kierteisyys on pitkälti seurausta aromaattisen renkaan substituenttien suhteellisesta orientaatiosta toisiinsa nähden. Sivuketjujen avulla vaikutetaan foldameerien fysikaalisiin ominaisuuksiin, kuten liukoisuuteen.

Foldameerien konformaatio on ennustettavissa vetysidoksiin ja aromaattisiin vuorovaikutuksiin perustuen ja ekstrapoloitavissa toistuvien yksiköiden ja vuorovaikutusten pohjalta. Vetysidokset ovat tärkein laskostumista ohjaava tekijä ja ainakin tietyissä tilanteissa aromaattisen pinoutumisen on ainoastaan todettu olevan optimaalista vetysidosten määrittämässä sijainnissa. Foldameerien suunnittelussa aromaattiset vuorovaikutukset voidaan näin ollen jättää vähemmälle huomiolle.

Foldameerikierteillä esiintyy kiraalista induktiota, joka voi aiheutua kiraliakeskuksista foldameerin rungossa tai kiraalisista vieraista. Erityisesti kiraliakeskuksilla on merkitystä rungon päässä, jolloin steeriset tekijät kilpailevat aromaattisten vuorovaikutusten kanssa konformaation muodostumisessa. Foldameerikierteet voivat esiintyä sekä vasen- että oikeakätisinä versioina, jotka periaatteessa ovat tasapainossa keskenään, mutta usein toista diastereomeeristä muotoa ei havaita.

Foldameereillä on kompleksoitu neutraaleita ja varautuneita orgaanisia, epäorgaanisia sekä biologisia vieraita. Foldameeripinsettien avulla on kompleksoitu fullereenijohdannaisia ja kapselirakenteiden avulla pieniä polaarisia liuotinmolekyylejä.

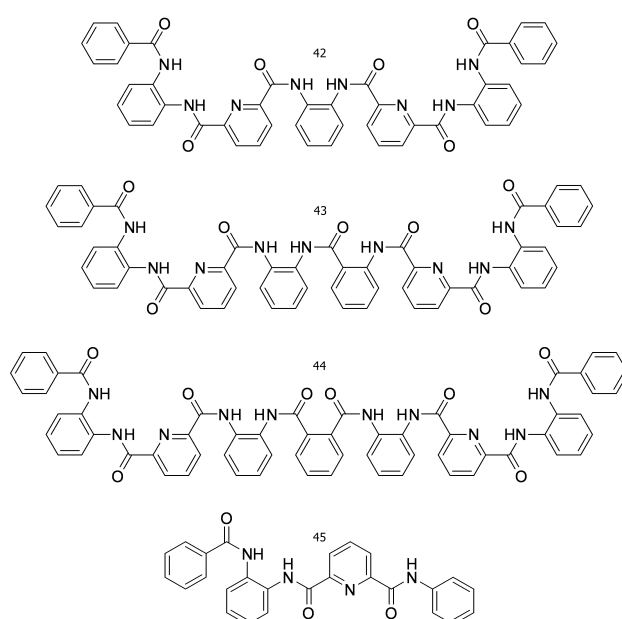
Foldameereillä on jäljitely antimikrobisia peptidejä. Selektiivisyys bakteeri- ja eukaryoottisolujen ja -solukalvojen välillä perustuu foldameerien sopivaan varautuneiden ja hydrofobisten tähteiden väliseen suhteeseen.

NMR-spektroskopia on tärkeä menetelmä foldameeritutkimuksessa, ja sen avulla voidaan seurata esimerkiksi vetysitoutumista. Röntgendiffraktion avulla saadaan selville absoluuttiset kiderakenteet, joita voidaan ennustaa molekyylihallinnusten avulla. CD-spektroskopian avulla havaitaan yhdisteiden kiraalisuus ja UV/Vis-spektroskopia soveltuu valoreaktioiden seuraamiseen.

KOKEELLINEN OSA

10 Työn tarkoitus

Työn tarkoituksena oli valmistaa kolme eripituista amidifoldameeriä, **42**, **43** ja **44**, (kuva 24) ja tutkia niiden kiteytymistä ja kiderakenteiden eroja. Tämän lisäksi tutkittiin foldameerien kompleksoitumista TBA-X-yhdisteiden (X = F, Cl, Br) kanssa. Kompleksoitumista tutkittiin myös FM Minna Kortelaisen aiemmin syntetisoimalla lyhyellä neljän aromaattisen renkaan foldameerillä **45**.⁵⁹ Kiteytyksiin ja kompleksointikokeisiin liittyivät oleellisesti myös liukoisuuskokeet. Foldameereistä ehdittiin tehdä erikoistyön puitteissa seitsemän ja kahdeksan aromaattisen renkaan yhdisteet (foldameerit **42** ja **43**). Foldameerisynteeseissä avuksi olivat FM Minna Kortelaisen ja työnohjaajana toimineen tohtorikoulutettava Aku Suhosen aiemmat työt,^{59,60} joiden pohjalta synteeseissä käytettiin EDC/HOBt-kytkentää amidisidoksen muodostamisessa. Aiemmin syntetisoidut lähtöaineet myös helpottivat ja yksinkertaistivat foldameerien valmistusta. Foldameerit nimettiin systemaattisesti ChemBioDraw Ultra 12.0 -ohjelman avulla.

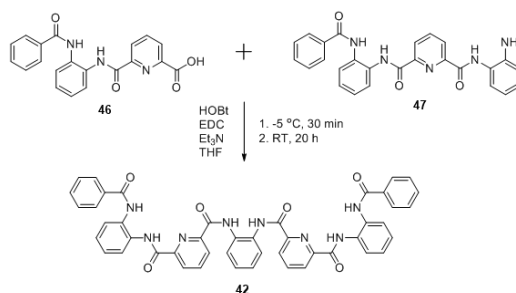


KUVA 24 Erikoistyon aikana syntetisoidut foldameerit **42** ja **43** sekä aiemmin syntetisoidut foldameerit **44** ja **45**.

11 Työssä käytetyt synteesisimenetelmät ja reaktiomekanismi

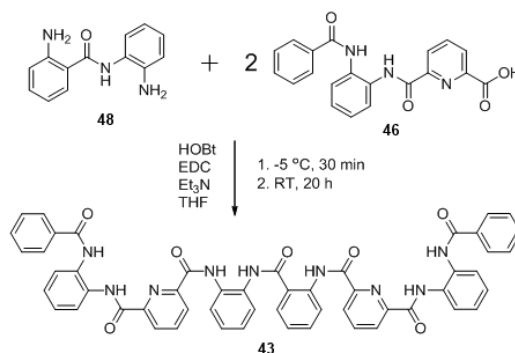
11.1 Käytetyt synteesisimenetelmät

Foldameeri **42** valmistettiin kahdesta osasta, karboksyylihaposta **46** ja amiinista **47**, jotka liitettiin toisiinsa EDC/HOBt-kytkennän avulla (kuva 25). Molemmat lähtöaineet olivat aiemmin syntetisoituja⁵⁹ (ks. s. 77) ja niitä käytettiin sellaisenaan.



KUVA 25 Foldameerin **42** valmistus.

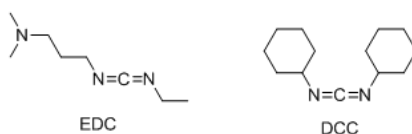
Asymmetrinen foldameeri **43** valmistettiin kolmesta osasta, kahdesta ekvivalentista karboksyylihappoa **46** ja yhdestä kaksi amiiniryhmää sisältävästä amidihdisteestä **48** (kuva 26). Foldameerin keskiosan amidisidos tekee kokonaisuudesta asymmetrisen, kun amidisidoksen molemmille puolille EDC/HOBt-kytkennän avulla kovalenttisesti sitoutuvat molekyyllitännäiset ovat identtiset (kuva 26). Symmetriset karboksyylihappo-osat oli syntetisoitu aiemmin⁵⁹ (ks. s. 77). Asymmetrinen keskus syntetisoitiin 2-aminobentsoehaposta **49** ja 1,2-diaminobentseenistä **50** niin ikään EDC/HOBt-kytkennän avulla.



KUVA 26 Foldameerin **43** valmistus.

11.2 Reaktiomekanismi

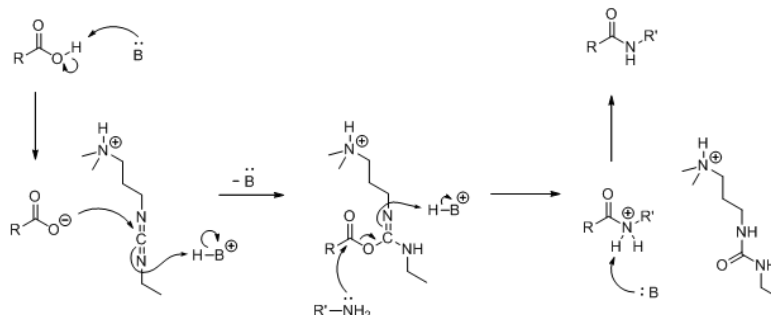
Karbodi-imiinejä käytetään happojen aktivoimiseksi amiinien läsnäollessa sivutuotteiden helpon erottamisen takia sekä *N*-asyyliurean muodostumisen ehkäisemiseksi.⁶¹ Karbodi-imiiniyhdisteisiin lukeutuva EDC (kuva 27) reagoi karboksyylihappojen kanssa muodostaen *o*-asyyli-isourea-välivaiheen, joka on kosteusherkkä.⁶² Menetelmällä on kuitenkin tehty amideja myös vesiympäristössä.⁶³ EDC-silloitus on tehokkainta pH:ssa 4,7, mutta toimii myös neutraaleissa olosuhteissa. Reaktioita on tehty 0–40 °C lämpötiloissa 6–24 tunnin reaktioajoilla.⁶³



KUVA 27 Karbodi-imiinit EDC ja DCC.

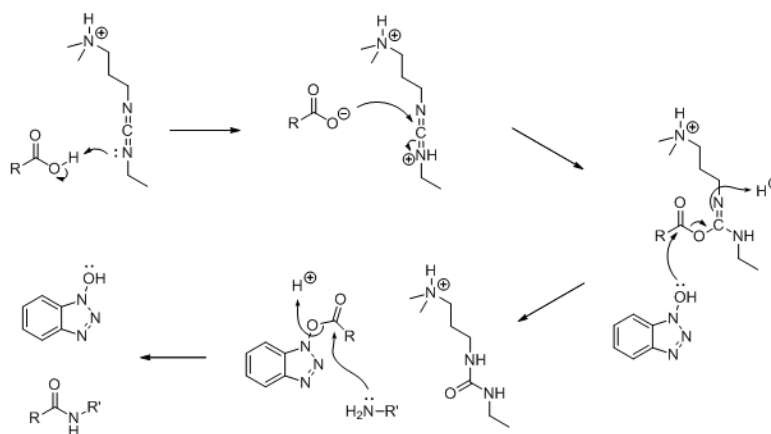
Primäärisen amiinin nukleofilinen liittyminen karbonyylihiileen ja amididoksen muodostuminen vapauttaa sivutuotteena isoureaa (kuva 28), joka on vesiliukoinen toisin kuin toisen usein käytetyn karbodi-imiinin, DCC:n (kuva 27), sivutuotteet. Raseemisten tuotteiden muodostumista ehkäistään ja

saantoa parannetaan lisäaineiden, kuten HOBT:n, käytöllä.⁶³



KUVA 28 Karboksyylihapon ja primäärisen amiinin välisen amidisidoksen muodostuminen EDC:n avulla.

Käytetyn HOBT:n määrä on vaihdellut katalyyttisestä stoikiometriseen.⁶³ HOBT toimii reaktion toisessa välivaiheessa irrottaen ja korvaten isourea-ryhmän (kuva 29). Tuote muodostuu tällöinkin primäärisen amiinin liittyessä karbonyyliryhmään, minkä jälkeen HOBT regeneroituu. Myös matalan dielektrisyysvakion omaavien liuottimien käyttö parantaa saantoa ja välivaiheen stabiilisuutta karbodi-imiinikytkentäreaktioissa.



KUVA 29 HOBT:n vaikutus EDC-kytkentään.⁶⁴

12 Työssä käytetyt reagenssit, liuottimet ja laitteet

12.1 Käytetyt reagenssit ja liuottimet

Käytetyt, kaupallisesti saatavilla olevat reagenssit

| Reagenssi | Puhtaus (%) | Valmistaja |
|--|-------------|------------------|
| 1,2-diaminobentseeni (<i>o</i> -fenyleenidiamiini) | ≥ 98,0 | Aldrich |
| 2-aminobentsoehappo (antraniilihappo) | ≥ 98,0 | Sigma-Aldrich |
| EDC | ≥ 97,0 | Aldrich |
| Et ₃ N | ≥ 99 | Sigma-Aldrich |
| HOBt | ≥ 97,0 | Aldrich |
| Na ₂ CO ₃ | 99,8 | Riedel-de Haën |
| Na ₂ SO ₄ | ≥ 99,0 | Sigma-Aldrich |
| SOCl ₂ | > 99 | Merck-Schuchardt |
| TBA-Br | 99 | Fluka |
| TBA-Cl | ≥ 97,0 | Fluka |
| TBA-F · 3 H ₂ O | 97,0 | Aldrich |

Työn aikana käytetyistä liuottimista tetrahydrofuraani ja tolueni oli kuivattu MBraun Solvent Purification System -laitteistolla.

Käytetyt liuottimet

| Liuoitin | Puhtaus (%) | Valmistaja |
|------------------------------|--------------------|-------------------|
| asetoni | ≥ 99,5 | Sigma-Aldrich |
| asetonitrili | HPLC grade | J.T. Baker |
| dietyylieetteri | ≥ 99,8 | Sigma-Aldrich |
| dikloorimetaani | 99,9 | Sigma-Aldrich |
| dimetyyliasetamidi | 99,7 | VWR |
| dimetyyliformamidi | 99,9 | VWR |
| dimetyylisulfoksidi | 99 | Merck-Schuchardt |
| etanoli | 99,5 | ETAX |
| etyyliasetatti | 99,5 | Aldrich |
| heksaani | 97,0 | Sigma-Aldrich |
| kloroformi | 99,0–99,4 | VWR |
| isopropanoli | 99,7 | VWR |
| metanoli | HPLC grade | J.T. Baker |
| tetrahydrofuraani (kuivattu) | 99,9 | Sigma-Aldrich |
| tolueeni (kuivattu) | 99,7 | Riedel-de Haën |

12.2 Käytetyt laitteet

NMR-mittauksissa liuottimina käytettiin CDCl_3 :a ja DMSO-d_6 :a. Puhtaiden tuotteiden julkaisukelpoiset NMR-mittaukset Bruker Avance DRX 500 -spektrometrillä suoritti laboratorioinsinööri Esa Haapaniemi. Bruker Avance AV 300 -spektrometrillä mitattiin alustavat spektrit, mutta myös 2-amino-*N*-(2-aminofenyli)bentsamidin spektri. Alkuaineanalyysit teki laboratoriomestari Elina Hautakangas Vario EL III -analysaattorilla. Kukin näyte analysoitiin kahdesti. Massa-analyysit mittasi yliopistonlehtori Elina Kalenius LCT

Käytetyt, aiemmin syntetisoidut reagenssit

| Reagenssi | Valmistaja |
|--|--|
| 6-((2-bentsamidofenyli)karbamoyyli)-pikoliinihappo (46) | Anniina Aho, 17.-18.4.2012 (TDS-020F) |
| N^2 -(2-bentsamidofenyli)- N^6 -fenyyli-pyridiini-2,6-dikarboksiamidi (45) | Minna Kortelainen, valmistuspäivä tuntematon |
| N^2 -(2-aminofenyli)- N^6 -(2-bentsamidofenyli)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi (47) | Aku Suhonen, 4.12.2012 (TDZ-032) |

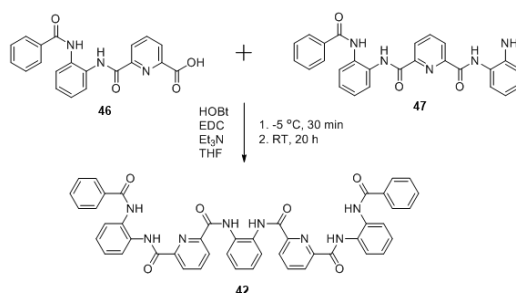
Micromass ESI-TOF -massaspektrometrilla. Sulamispisteet mitattiin Stuart Scientific Melting Point Apparatus SMP30:lla.

Yksikidemittauksissa käytettiin kolmea laiteyhdistelmää. Mittaukset suoritti työnohjaajana toiminut Aku Suhonen. Laiteyhdistelmät ja mittausolosuhteet olivat:

1. Bruker Nonius KappaCCD -diffraktometri ja Bruker AXS APEX II CCD-detektori, Mo-K α -säteily (0,7107 Å) ja 173 K:n lämpötila. Absorptiokorjaus tehtiin Sadabs-2008 -ohjelmalla.
2. Agilent SuperNova -diffraktometri ja Eos CCD-detektori, peilimonokromatisoitu Mo-K α -säteily (0,7107 Å) ja 173 K:n lämpötila. Absorptiokorjaus tehtiin CrysAlisPro-ohjelmalla SCALE3 ABSPACK -skaalausalgoritmillä.
3. Agilent Supernova Dualsource -diffraktometri ja Atlas CCD-detektori, peilimonokromatisoitu Cu-K α -säteily (1,54178 Å) ja 123 K:n lämpötila. Absorptiokorjaus tehtiin CrysAlisPro-ohjelmalla SCALE3 ABSPACK -skaalausalgoritmillä.

13 Synteesiohjeet

13.1 $N^2, N^{2'}$ -(1,2-fenyleeni)bis(N^6 -(2-bentsamidofenyyli)-pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42)



Foldameerin **42** valmistus.

Tehtiin kaksi synteesiä, joista ensimmäinen oli kokeileva ja pienempien ainemäärien synteesi. Tämän reaktion saanto oli pieni eikä sitä saatu määritettyä. Saanto kuitenkin riitti NMR-spektrin (DMSO- d_6) ja massaspektrin mittaamiseen. Molemmat synteesit tehtiin argonilmakehässä käyttäen lämpökaapissa kuivattuja astioita ja kuivia liuottimia.

Karboksylihappo **46** (230 mg; 0,63 mmol), amiini **47** (280 mg; 0,63 mmol) ja HOBT (97 mg; 0,63 mmol) liuotettiin THF:iin (150 ml), jolloin syntyi kirkas kellertävä liuos. Liuos jäähdytettiin alle 0 °C:n lämpötilaan ja annettiin sekoittua 30 minuuttia, minkä jälkeen lisättiin EDC (130 μ l; 0,73 mmol) ja Et_3N (100 μ l; 0,72 mmol). Tämän jälkeen sekoittamista jatkettiin, ensin suola-jää-hauteessa toiset 30 minuuttia, sitten huoneenlämmössä 22 tuntia. Huomattavaa värinmuutosta ei tapahtunut. Liuotin haihdutettiin, jolloin muodostui hunajamainen jäännös, jossa erottui kiteitä. Jäännös liuotettiin DCM:iin (60 ml, hidas liukeneminen) ja pestiin 1 M HCl:lla (3 \times 60 ml). Tämän jälkeen orgaaninen faasi pestiin vielä NaCl-liuoksella, jonka NaCl-

pitoisuus oli noin 80 % kylläisestä. NaCl-pesussa faasien välille muodostui kiinteämmästä aineksesta valkoinen ”kalvo”, joka jäi vesifaasiin. Orgaaninen faasi kuivattiin Na₂SO₄:lla ja liuotin haihdutettiin, jolloin saatiin keltaisen ruskeaa raakatuotetta.

Pylväspuhdistusta (silika) varten kokeiltiin TLC:llä kymmenen eri eluentivaihtoehtoa. Sekä lähtöaineen että tuotteen erottivat vain CHCl₃-asetoni 80:20 ja CHCl₃-EtOAc 80:20 -seokset, joista käytettiin jälkimmäistä. Raakatuote ei liennut täysin eluenttiin, joten samea liuos imusuodatettiin ja kirkas kellertävä suodos ajettiin saman pylvään läpi kahdessa osassa. Puhdistettu tuote kuivattiin vakuuissa, mutta kuivaus ei poistanut kaikkea etyyliase-taattia. Saanto 66,1 mg eli 13,2 %.

$M(C_{46}H_{34}N_8O_6) = 794,81 \text{ g/mol}$

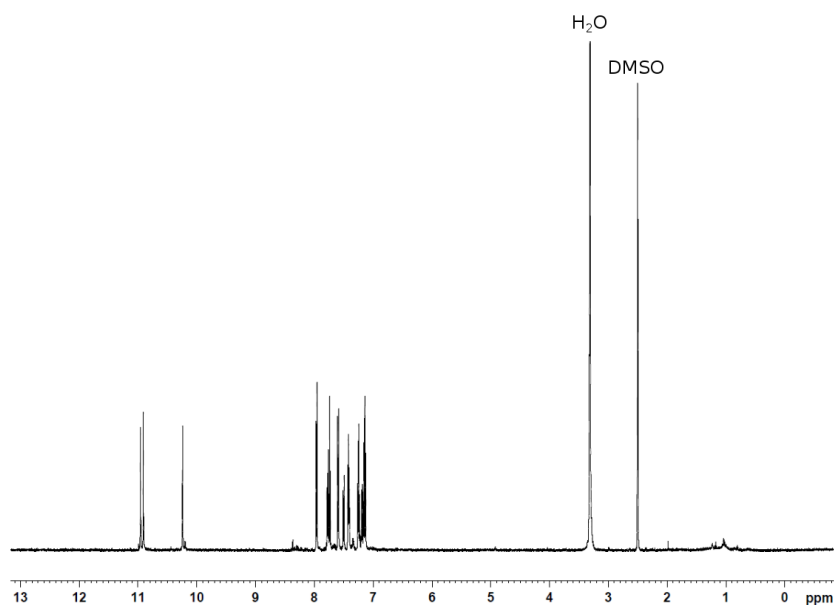
Sulamispiste 298–300 °C.

¹H NMR (DMSO-d₆) 500 MHz: 10.96 (s, 2H), 10.91 (s, 2H), 10.24 (s, 2H), 7.96 (qd, 4H, J₁ = 1,0 Hz, J₂ = 2,4 Hz, J₃ = 3,9 Hz), 7.80–7.72 (m, 4H), 7.60 (dd, 4H, J₁ = 8,3 Hz, J₂ = 1,1 Hz), 7.52–7.49 (m, 2H), 7.44–7.40 (m, 4H), 7.28–7.22 (m, 4H), 7.20–7.17 (m, 2H), 7.17–7.12 (m, 4H)

¹³C NMR (DMSO-d₆) 126 MHz: 165.9, 161.7, 160.8, 148.2, 147.6, 138.7, 133.3, 131.8, 130.4, 130.2, 130.1, 128.0, 127.7, 125.6, 125.4, 125.3, 125.3, 125.1, 124.8

MS(ESI-TOF): m/z 817,62 [M + Na]⁺

NMR:n perusteella foldameerin mukana on 0,5 ekvivalenttia EtOAc:a. Veden osuutta ei voida NMR:n perusteella arvioida, mutta 1 ekvivalentti vettä ja 0,5 ekvivalenttia EtOAc:a pitää kunkin hiilen ja typen alkuaineanalyysin maksimivirheen alle 0,4 %-yksikössä, vedyn osalta virhe jää kuitenkin noin

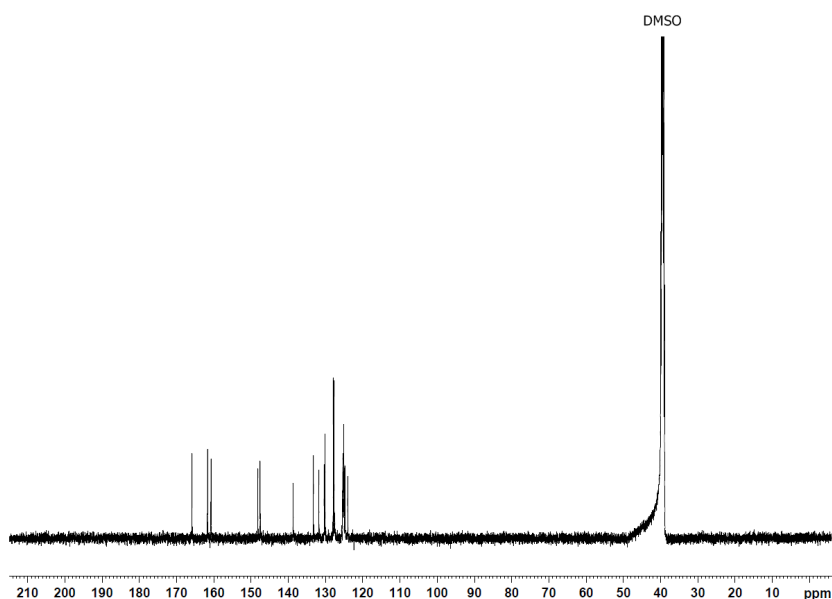


Foldameerin **42** ^1H NMR -spektri (DMSO- d_6).

0,6 %-yksikköön.

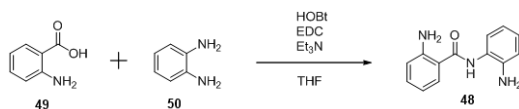
13.2 2-amino-*N*-(2-aminofenyyli)bentsamidi (**48**)

Yhdistettä **48** yritettiin valmistaa kahdella tavalla, joista vain EDC/HOBt-kytkentään perustuva menetelmä A toimi. Menetelmän B erona oli yritys muuttaa karboksyylihappolähtöaine **49** ensin vastaavaksi happokloridiksi, joka sitten olisi reagoinut lähtöaineamiinin **50** kanssa muodostaen tavoitellun tuotteen **48**.

Foldameerin **42** ^{13}C NMR -spektri (DMSO- d_6).

13.2.1 Menetelmä A

Tehtiin kaksi synteesiä, kuivatulla liuottimella ja kuivatuilla astioilla argonilmakehässä. Ensimmäinen oli jälleen kokeileva synteesi, joka ei tuntemattomaksi jääneestä syystä onnistunut. Myöhemmin tehty toinen synteesi sen sijaan onnistui hyvin.



Antraniilihappo **49** (0,30 g; 2,21 mmol), fenyleenidiamiini **50** (0,71 g; 6,60 mmol) ja HOBT (0,34 g; 2,21 mmol) liuotettiin THF:iin (50 ml) ja liuos jäähdytettiin alle 0 °C:n lämpötilaan. Liuoksen annettiin sekoittua 50 minuuttia ennen kuin EDC (0,55 ml; 3,11 mmol) ja Et_3N (0,45 ml; 3,23 mmol) lisättiin, minkä jälkeen sekoittamista jatkettiin jäähauteessa toiset 50 minuuttia. Tä-

Alkuaineanalyysi, $C_{46}H_{34}N_8O_6$, 794,812 g/mol

| Alkuaine | Teoreettinen arvo % | Mitattu k.a. % | Virhe %-yks. |
|----------|---------------------|----------------|--------------|
| C | 67,278 | 66,905 | 0,372 |
| H | 4,705 | 4,0965 | 0,609 |
| N | 13,080 | 13,105 | -0,025 |

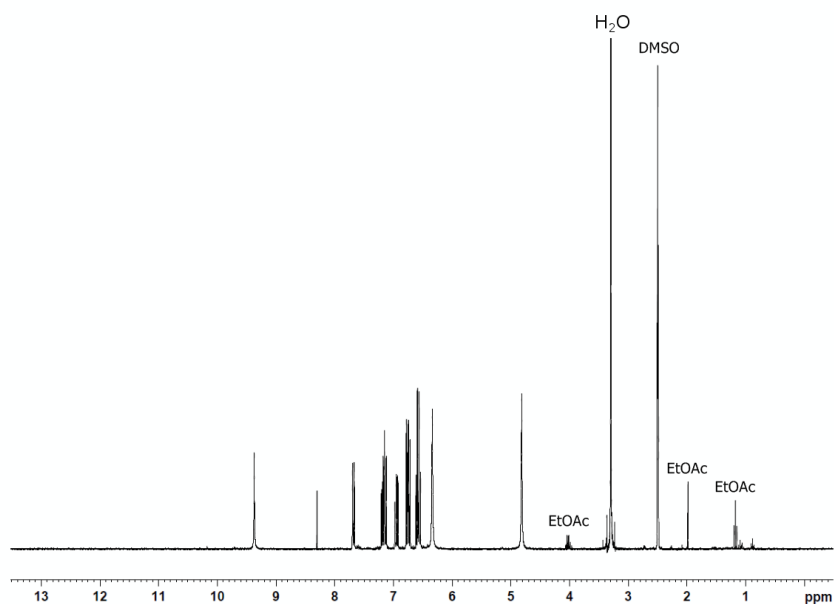
män jälkeen liuos siirrettiin huoneenlämpöön ja annettiin sekoittua 20 tuntia. Sekoittumisen jälkeen liuos oli kirkas ja oranssi. Liuotin haihdutettiin ja saatiin tumma jäännös. Jäännös liotettiin EtOAc:iin (20 ml) ja liuos pestiin vedellä (3×40 ml). Kolmannessa pesussa punertavan EtOAc-faasin ja kellertävän vesifaasin välille muodostui samea oranssi välifaasi. EtOAc-faasi kuivattiin (Na_2SO_4) ja haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin pylväällä (silika, EtOAc- $CHCl_3$ 80:20 -eluentti). Kaikki jäännös ei liennut pylväseluenttiin, ja TLC:n perusteella liukenematon yhdiste oli tuotetta. Pylväs pidatti diaminofenyleenin ja läpi tuli vain tuotetta. Tuotetta vakuumikuivattiin 15 tuntia, mutta kaikki $CHCl_3$ ja EtOAc ei silti haihtunut. Saanto 55,5 %.

Ensimmäisessä synteesissä tuotetta pestiin ensin 1 M HCl:lla ja sitten kyläisellä NaCl:lla. Synteesi epäonnistui todennäköisesti HCl-pesussa, jolloin tuote lienee siirtynyt protonoituneena vesifaasiin. Vesifaasi värjäytyi, mutta tämän ajateltiin johtuvan fenyleenidiamiinista **50**. Myöhemmin vesifaasi neutraloitiin Na_2CO_3 :lla ja uutettiin etyyliasetaatilla, jolloin TLC:llä havaittiin uutoksessa lähtöaineita. Vesifaasi myös haihdutettiin, jolloin jäljelle jäi vaaleanruskea suolajäännös. Jäännöksestä ei saatu uutettua mitään etyyliasetattiin tai kloroformiin.

$M(C_{13}H_{13}N_3O) = 227,26$ g/mol

Sulamispiste 127 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6) 500 MHz: 9.37 (s, 1H), 7.68 (dd, 1H, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz), 7.11–7.22 (m, 2H), 6.99–6.91 (m, 1H), 6.77 (dd, 1H, $J_1 = 10,5$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz), 6.74 (dd, 1 H, $J_1 = 11,0$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz), 6.58 (qd, 2H, $J_1 = 15,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz), 6.34 (s, 2H), 4.82 (s, 2H)

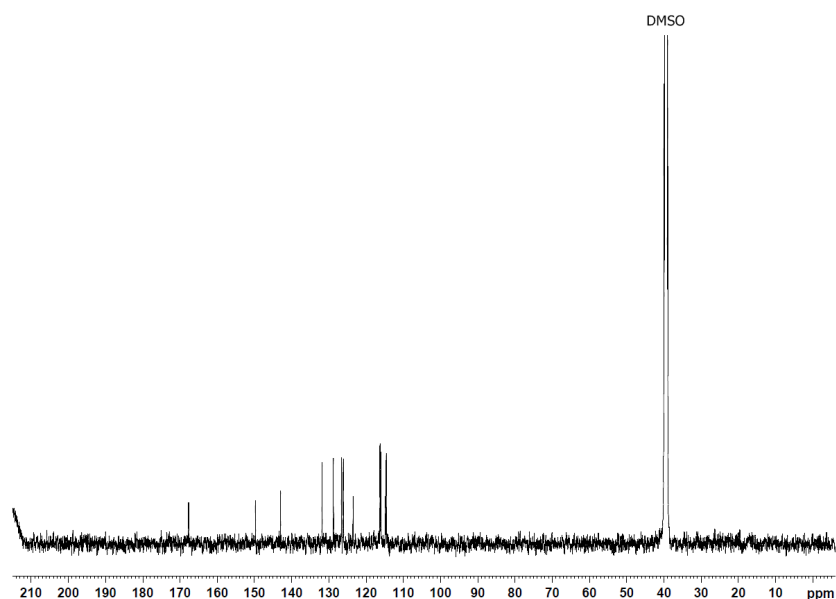


Yhdisteen **48** ^1H NMR -spektri (DMSO- d_6).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) 126 MHz: 167.7, 149.8, 143.0, 131.9, 128.8, 126.6, 126.2, 123.5, 116.3, 116.2, 116.1, 114.8, 114.6

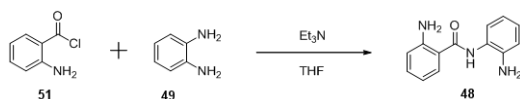
MS(ESI-TOF): m/z 250,02 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

NMR:n perusteella foldameerin mukana on noin 0,04 ekvivalenttia EtOAc:ia ja CHCl_3 :a. Näillä liuotinjäämien osuuksilla alkuaineanalyysin virhe jää alle 0,3 %-yksikköön. Veden osuutta ei voi NMR:n perusteella arvioida, mutta 0,12 ekvivalenttiin asti maksimivirhe (hiili) pysyy alle 0,4 %-yksikössä.



Yhdisteen **48** ^{13}C NMR -spektri (DMSO-d_6).

13.2.2 Menetelmä B



Synteesi tehtiin Minna Kortelaisen ja Aku Suhosen erikoistyöselostusten pohjalta, joissa lähtöaineena oli käytetty bentsoyylikloridia.^{59,60} Synteesi tehtiin typpi-ilmakehässä ja kuivatuissa astioissa.

Puhtaan 2-aminobentsoyylikloridin sijaan lähtöaineena käytettiin aiemman synteesin tuotetta (2-aminobentsoyylikloridi **51**, taulukko 1, synteesi 3), jonka ajateltiin sisältävän sekä 2-aminobentsoyylikloridia **51** että 2-aminobentsoehappoa **49** 1:1-suhteessa. Lähtöaine **51** yritettiin liuottaa THF:iin lämmityksen avulla, mutta tuloksena oli samea keltainen liuos, joka kuitenkin käytettiin sellaisenaan.

Alkuaineanalyysi, C₁₃H₁₃N₃O, 227,264 g/mol

| Alkuaine | Teoreettinen arvo % | Mitattu k.a. % | Virhe %-yks. |
|----------|---------------------|----------------|--------------|
| C | 67,299 | 67,045 | 0,254 |
| H | 5,717 | 5,5865 | 0,133 |
| N | 17,842 | 17,660 | -0,182 |

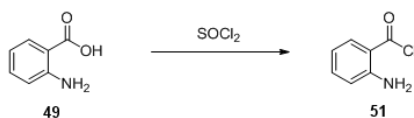
Fenyleenidiamiini **50** (1,08 g; 10,0 mmol) liuotettiin THF:iin (25 ml) ja liuokseen lisättiin Et₃N (240 µl; 2,44 mmol), jonka jälkeen lämpötila nostettiin refluksoitumisen vaatimalla tasolle. THF:iin liuotettu lähtöaine **51** lisättiin liuokseen vähitellen 100 minuutin aikana. Liuoksen väri muuttui kirkkaan keltävästä melko sameaksi ja vihertävän keltaiseksi. Liuosta refluksoitettiin kaksi tuntia, minkä jälkeen liuos jätettiin jäähtymään huoneenlämpöön. Reaktioastian pohjalla oli jonkin verran vaaleaa sakkaa. Liuos pyöröhaihdutettiin ja jäljelle jäi ruskea, sakaton liuos. Liuos kiinteytyi 20 tunnin aikana.

Raakatuote sisälsi TLC:n perusteella 4–5 yhdistettä. Tuote pylväspuhdistettiin (silika, EtOAc–CHCl₃ 50:50 -eluentti). Kaksi todennäköisintä yhdistettä tuotteeksi eristettiin ja tutkittiin ¹H NMR:lla ja MS:lla. Kumpikaan ei kuitenkaan osoittautunut tuotteeksi.

13.3 2-aminobentsoylikloridi (51)

Tehtiin neljä synteesiä hieman eri olosuhteissa (taulukko 1), joista mikään ei kuitenkaan tuottanut toivottua tulosta ja tunnistettavaa tuotetta, vaikka osa synteesiohjeista perustui kirjallisuuteen.^{65,66}

Antraniilihappo **49** liuotettiin orgaaniseen liuottimeen tai SOCl₂:iin. SOCl₂:a



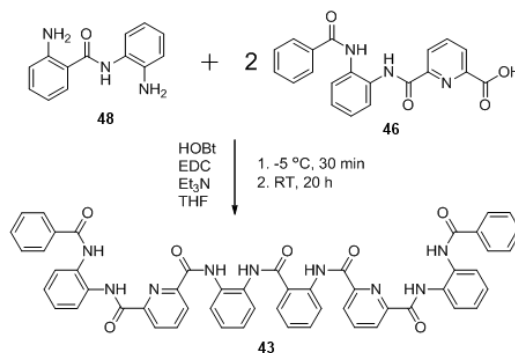
käytettiin ylimäärin. DMF:a käytettiin reaktion edistämiseen kahdessa synteesissä. Liuosta refluksoitii vähintään 30 minuuttia ja annettiin jäähtyä, jonka jälkeen liuotin erotettiin. Jäännös oli niukkaliukoista.

Yhden synteesin tuote pylväspuhdistettiin kahdesti (silika, CHCl_3 -MeOH 90:10 -eluentti) ja TLC osoitti tuoteseoksen sisältävän kolme isompaa ja kaksi pienempää komponenttia. Isommat komponentit tutkittiin ^1H NMR:lla. Amidi- ja amiiniprotoneita ei voitu selkeästi löytää, mikä viittasi siihen, ettei tuotetta ollut muodostunut tai jäljellä.

TAULUKKO 1 2-aminobentsoylikloridisynteesien olosuhteet

| Synteesi | 1 | 2 | 3 | 4 |
|-----------------------------|----------------------------------|-----------------|----------------------|---|
| m(happo) / g | 0,88 | 1,37 | 4,4 | 1,76 |
| m(happo) / mmol | 6,4 | 10 | 32 | 13 |
| V(SOCl_2) / ml | 2,0 | 8,0 | 10 | 10 |
| n(SOCl_2) / mmol | 28 | 110 | 140 | 140 |
| liuotin | tolueeni | CHCl_3 | SOCl_2 | SOCl_2 |
| V(liuotin) / ml | 15 | 50 | 10 | 10 |
| t(refluksointi) / h | 4 | 20 | 0,5 | 0,5 |
| muuta | 3 tippaa DMF:a, argonilmakehä | - | pylväs- puhdistus | 5 tippaa DMF:a, SOCl_2 tislattiin |

13.4 N^2 -(2-bentsamidofenylyli)- N^6 -(2-(2-(6-((2-bentsamidofenylyli)karbamoyyli)pikolinamido)bentsamido)fenylyli)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi (43)

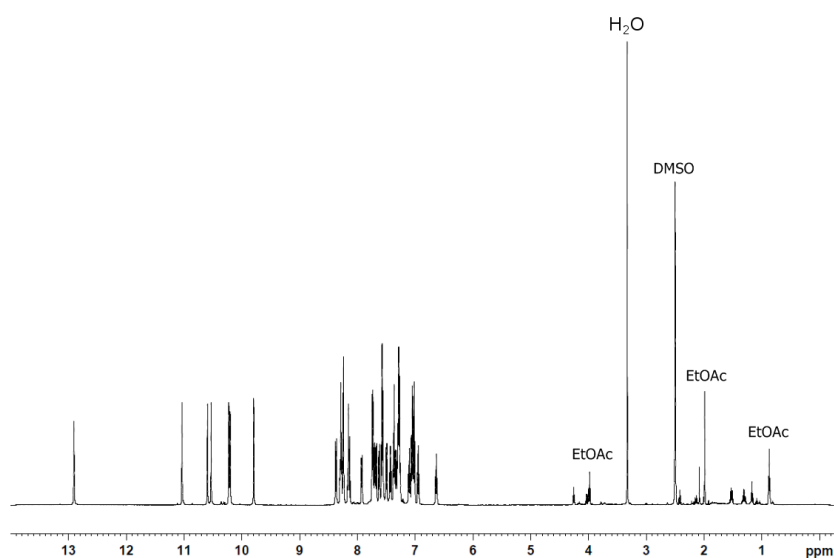


2-amino- N -(2-aminofenylyli)bentsamidi **48** (51 mg; 0,22 mmol), karboksyylihapo **46** (150 mg; 0,42 mmol) ja HOBT (68 mg; 0,45 mmol) liuotettiin THF:iin (50 ml), jolloin syntyi kirkas, hieman kellertävä liuos. Liuos jäädytettiin alle 0 °C:n lämpötilaan ja annettiin sekoittua 45 minuuttia. Lisättiin EDC (100 μ l; 0,57 mmol) ja Et₃N (80 μ l; 0,57 mmol) ja annettiin sekoittua 60 minuuttia, jonka jälkeen poistettiin jäähaude. Sekoitettiin huoneenlämmössä 21 tuntia, minkä aikana kirkas liuos kellertyi hieman. TLC-reaktio seurannan perusteella tuotteen muodostuminen alkoi huoneenlämmössä. Liuotin haihdutettiin, jolloin saatiin vaaleanharmaan kellertävä, jähmeä jäännös. Jäännös liuotettiin DCM:iin (20 ml), pestiin vedellä (3 \times 40 ml) ja kuivattiin Na₂SO₄:lla. Liuotin haihdutettiin ja saatiin vaaleanruskea jäännös. Jäännös pylväspuhdistettiin (silika, EtOAc-CHCl₃ 80:20 -eluentti) ja vakuumikuivattiin. Vakuumikuivaus ei poistanut kaikkea eluenttia. Saanto 33,5 mg eli 8,7 %.

$$M(C_{53}H_{39}N_9O_7) = 913,93 \text{ g/mol}$$

Sulamispiste 174–177 °C.

^1H NMR (DMSO- d_6) 500 MHz: 12.91 (s, 1H), 11.04 (s, 1H), 10.60 (s, 1H), 10.53 (s, 1H), 10.23 (s, 1H), 10.20 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 8.37 (d, 1H), 8.32–8.22 (m, 4H), 8.18–8.12 (m, 2H), 7.93 (d, 1H), 7.76–7.66 (m, 4H), 7.62 (d, 1H), 7.60–7.54 (m, 3H), 7.50 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.39–7.32 (m, 3H), 7.32–7.24 (m, 4H), 7.10 (t, 1H), 7.08–6.99 (m, 4H), 6.95 (t, 1H), 6.64 (t, 1H)

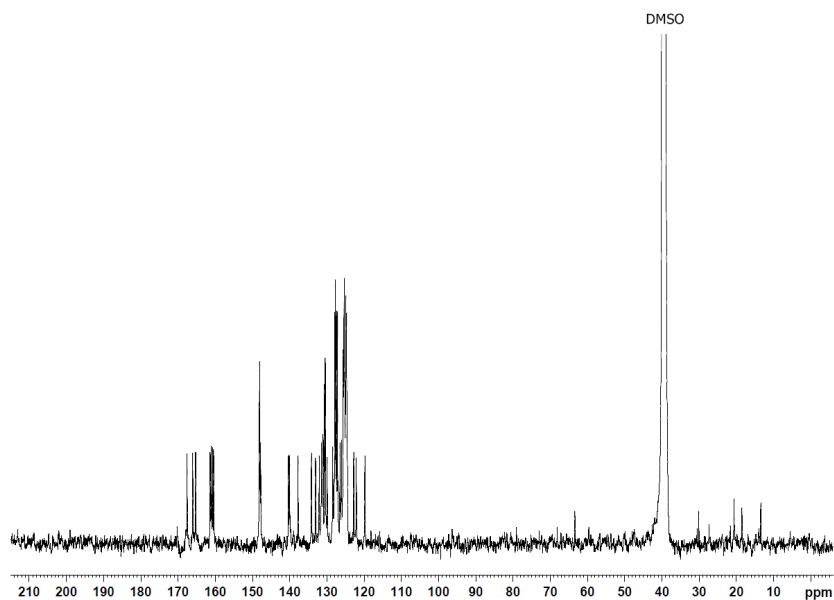


Foldameerin **43** ^1H NMR -spektri (DMSO- d_6).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) 126 MHz: 167.6, 166.1, 165.3, 161.4, 161.1, 160.8, 160.5, 148.1, 147.8, 140.3, 140.1, 137.8, 134.2, 133.1, 132.1, 131.5, 131.2, 131.0, 130.7, 130.5, 130.0, 128.5, 127.9, 127.8, 127.5, 127.2, 126.5, 126.1, 125.6, 125.5, 125.4, 125.3, 125.1, 124.9, 124.7, 124.6, 122.8, 122.1, 119.8

MS(ESI-TOF): m/z 936,10 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

NMR:n perusteella tuotteessa oli jäljellä noin 0,15 ekvivalenttia EtOAc:a, mikä jättää virheen vielä huomattavaksi, hiilen osalta lähes 2 %-yksikköön. NMR paljasti myös pieniä määriä muita epäpuhtauksia alifaattisella alueella.

Foldameerin **43** ^{13}C NMR -spektri (DMSO-d_6).Alkuaineanalyysi, $\text{C}_{53}\text{H}_{39}\text{N}_9\text{O}_7$, 913,93 g/mol

| Alkuaine | Teorettinen arvo % | Mitattu k.a. % | Virhe %-yks. |
|----------|--------------------|----------------|--------------|
| C | 69,432 | 67,590 | 1,842 |
| H | 4,371 | 4,331 | 0,040 |
| N | 13,600 | 12,710 | 0,890 |

14 Kiteytykset ja kompleksoinnit

14.1 $N^2, N^{2'}$ -(1,2-fenyleeni)bis(N^6 -(2-bentsamidofenyyli)-pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42)

14.1.1 Kiteytykset

Seitsenrenkaista foldameeria **42** kiteytettiin kahdeksasta eri puhtaasta liuottimesta 4 mg:n näytteillä (taulukko 2). Liuotinta käytettiin aluksi 0,5–1,0 ml ja sitä lisättiin 5–6 ml:aan, jos kiinteä aine ei liennut kokonaan. Liukenemattomien näytteiden annettiin sekoittua huoneenlämmössä kaksi vuorokautta. Alkuliuostilavuudeltaan 0,5 ml:n kiteytykset tehtiin koeputkessa ja muut painokansipurkeissa. Haihtuvimpien liuottimien, asetonin ja DCM:n, haihtumista rajoitettiin kansittamalla purkit, muissa tapauksissa liuottimen annettiin haihtua rei'itetyn parafilmin läpi.

Foldameeri liukeni DMA:iin helposti ja DMF:iin melko hyvin. DMSO:ssa foldameeri sen sijaan yllättäen sakkasi. DMSO:sta saatiin kuitenkin kiteitä, kun NMR-näyte jätettiin kiteytymään. DCM liuotti myös hyvin. MeOH ja EtOAc eivät liuottaneet foldameeriä kokonaan. Tästä johtuen sakan yläpuolelta pipetoitiin liuos koeputkeen kiteytymään. Siirron jälkeen koeputkeen lisättiin 0,5 ml vastaavaa liuotinta, jottei kylläinen liuos muodostunut liian nopeasti. Asetoniin liukeneminen vaati aikaa (< 1 vrk), mutta samanaikaista sekoittamista ei tarvittu. Asetonista kiteytymistä tapahtui vasta kun liuotin oli lähes kokonaan haihtunut. Etyliasetaatista sen sijaan havaittiin sakkautumista. Asetoni- ja DMSO-kiteet olivat heikkolaatuisia.

TAULUKKO 2 Foldameerin **42** kiteytykset.

| Liuotin | V / ml | Huomioita | Kiteitä |
|---------------------|---------------|---|-----------------------|
| Asetoni | 6,0 | liukeneminen n. 1 vrk:ssa | kyllä, huonolaatuisia |
| ACN | 1,0 | nopein kiteytyminen | kyllä |
| DCM | 1,0 | liukeni | kyllä |
| DMA | 0,5 | liukeni | kyllä |
| DMF | 0,5 | liukeni | kyllä |
| DMSO-d ₆ | 0,5 | saostui | kyllä, huonolaatuisia |
| EtOAc | 6,0 | ei liuennut kokonaan, liuennut osuus siirrettiin kiteytymään, saostui | ei, saostui |
| MeOH | 6,0 | ei liuennut kokonaan, liuennut osuus siirrettiin kiteytymään | kyllä |

14.1.2 Kiderakenteet

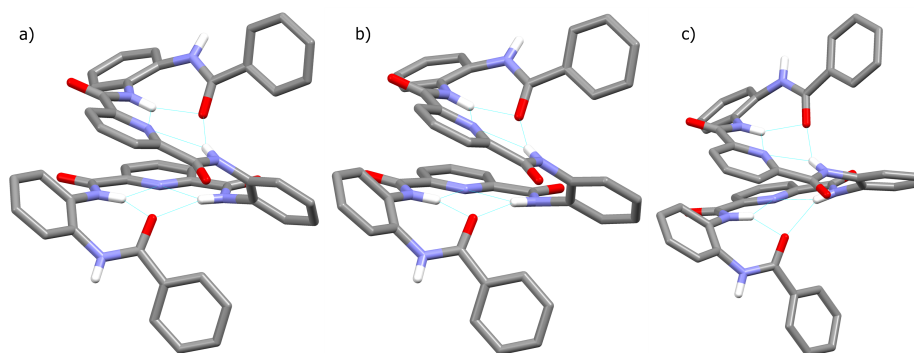
Kiteytyessään ACN:sta, DMF:sta, DMA:sta ja MeOH:sta foldameerin **42** kidejärjestelmä oli trikliininen ja avaruusryhmä P-1 (taulukko 3, kuva 30). ACN- ja DMA-kiteytykset kiteytyivät isomorfisesti. Vain MeOH-kiteytyksen kiderakenteeseen ei sisältynyt vettä. Muissa kiteytyksissä vettä oli mukana ja vetysidokset vesimolekyyleihin linkittivät foldameerit toisiinsa. Trikliinisen kidejärjestelmän foldameerit muodostivat kierteisen rakenteen, noin kaksi kierrosta, jonka muodostumisessa foldameerin kaikkein kauimmaisten amidien karbonyyliryhmillä on merkittävä rooli vetysidosten vastaanottajana. Vetysidosten luovuttajina toimivat karbonyyliryhmää seuraavien ja edeltävien amidien vedyt. Vetysidoksiksi huomioitiin kontaktit, joissa kulma on

105° tai enemmän ja kun vetysidoksen luovuttajaa ja vastaanottajaa erottaa vähintään kolme kovalenttistä sidosta.

TAULUKKO 3 Foldameerin **42** kiderakenteen ominaisuuksia.

| Kiteytys- liuotin | Kide- rakenteen avaruus- ryhmä | Vettä kide- rakenteessa | Liuotin- molekyylejä kiderakenteessa | Vetysidoksia liuotin- molekyylien ja foldameerin välillä |
|----------------------|---|----------------------------|--|--|
| ACN | P-1 | kyllä, 1 kpl | kyllä, 2 kpl | kyllä |
| DCM | P21/c | ei | kyllä, 1 kpl, epäjär- jestäytynyt | ei |
| DMA | P-1 | kyllä, 1 kpl | kyllä, 3 kpl (1 epä- järjestäytynyt) | kyllä |
| DMF | P-1 | kyllä, 1 kpl | kyllä, 1 kpl, epäjär- jestäytynyt | kyllä |
| MeOH | P-1 | kyllä, 1 kpl | kyllä, 1 kpl | kyllä |

Foldameeri **42** kiteytyi DCM:sta monokliinisessä avaruusryhmässä P21/c (kuva 31). DCM ei odotetusti muodostanut vetysidoksia, eikä rakenteessa ollut mukana vettä. Molekyylin konformaatio ei ollut enää kierteinen johtuen DCM:n sijainnista päätyrenkaiden välissä ja ylimääräisestä vetysidoksesta foldameerin toisessa päässä. Foldameerimolekyylit järjestäytyivät pareittain, dimeerimäisesti.

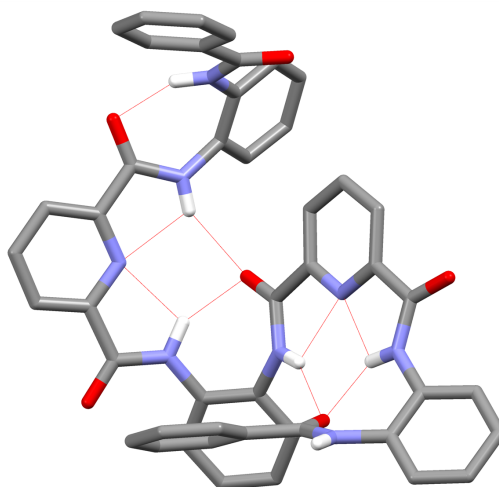


KUVA 30 Foldameerin **42** a) MeCN-, b) DMF- ja c) MeOH-kiteytysten kiderakenteet. Vetyisitoutumattomat protonit poistettu selvyyden vuoksi.

14.2 N^2 -(2-bentsamidofenyyl)- N^6 -(2-(2-(6-((2-bentsamidofenyyl)karbamoyyli)pikolinamido)bentsamido)fenyyli)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi (**43**)

14.2.1 Kiteytykset

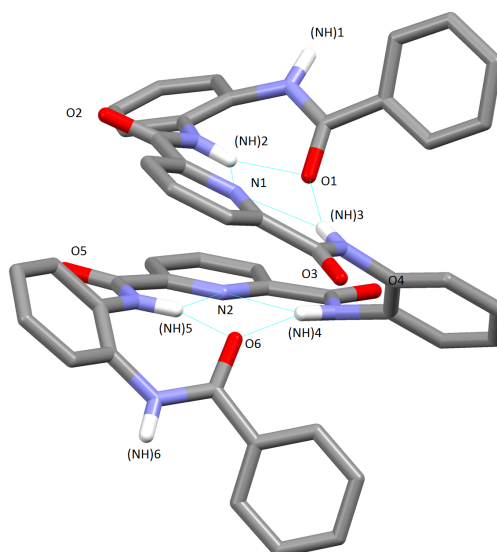
Kahdeksanrenkaista foldameeria **43** kiteytettiin neljästä liuottimesta 4 mg:n näytteillä (taulukko 4) rei'itetyllä parafilmillä peitetyissä koeputkissa. Liuotinta käytettiin 1,0–2,0 ml. Lisäksi viides, DMSO-kiteytys tehtiin NMR-näytteestä. ACN ja MeOH eivät liuottaneet foldameeriä edes lämmitettynä. Molemmissa tapauksissa 24 tuntia seisoesta näytteestä siirrettiin sakan yläpuolinen liuos toiseen koeputkeen kiteytymään. Erikoistyon puitteissa ei ehditty saada kaikkia näytteitä kiteytymään eikä mitattua kaikkia kiteitä ja ratkaistua rakenteita.



KUVA 31 Foldameerin **42** kiderakenne DCM-kiteytyksestä. Päättyrenkaiden väliin jäävä liuotinmolekyyli ja vetysitoutumattomat protonit poistettu selvyuden vuoksi.

14.2.2 Kiderakenteet

Kahdeksan aromaattista rengasta sisältävästä foldameeristä **43** ehdittiin mitata kaksi kiderakennetta (taulukot 5 ja 6, kuva 33), joista kummassakaan ei ollut mukana vettä. Molemmat rakenteet, DCM:sta ja DMSO:sta kiteytyneet, kiteytyivät avaruusryhmässä P-1. DCM-kiteytyksessä foldameerit eivät muodostaneet verkostoa vaan kaksi foldameeriä muodosti dimeerimäisen rakenteen kahden identtisen vetysidoksen avulla ((NH)1...O2 -vetysidokset, joiden pituus oli 2,045 Å ja kulma 161,35°, ”puuttuvan” vetysidoksen (NH)6...N2 pituus olisi 2,622 Å ja kulma 84,12°). DMSO-kiteytys tuotti kaksoiskiteen, jonka kiderakenne onnistuttiin kuitenkin määrittämään. Tällä kertaa foldameerien välillä ei ollut vetysidoksia, vaan kaksi DMSO-molekyyliä toimi vetysidoksen vastaanottajina ((NH)1...DMSO: 2,021 Å ja 147,79° sekä (NH)4...DMSO: 1,939 Å ja 140,57°).



KUVA 32 Nimetyt heteroatomit ja vetysidosten muodostajat foldameerissä **42**. Vetysitoutumattomat protonit poistettu selvyyden vuoksi. Rakenne DMF-kiteytyksestä, mutta vastaa melko tarkasti ACN-, DMA- ja MeOH-kiteytyksiä.

14.3 N^2 -(2-aminofenyyl)- N^6 -(2-bentsamidofenyyl)pyriidiini-2,6-dikarboksiamidi (**45**)

14.3.1 Kompleksointikiteytykset

Nelirenkaista foldameeria **45** kiteytettiin yhdessä TBA-F, TBA-Cl ja TBA-Br -suolojen kanssa neljästä liuottimesta (taulukko 7, s. 99). Tavoitteena oli uusien kidemuotojen aikaansaaminen. Asetoni liuotti foldameerin ja suolan huoneenlämmössä, mutta liukeneminen vaati neljä vuorokautta. Muut liuottimet vaativat lämmitystä ja liuottimen lisäystä. Tavoitteena oli 8 mM pitoisuus molempien yhdisteiden suhteen, mutta lämmityksen aiheuttama liuottimen haihtuminen ja liuottimen lisääminen muuttivat lopullista konsentraatiota. Liuottimen lisäykset, 2 ml kerrallaan, tehtiin ennen lämmitystä

TAULUKKO 4 Foldameerin **43** kiteytykset.

| Liuotin | V / ml | Huomioita | Kiteitä |
|---------------------|---------------|--|---|
| ACN | 2,0 | ei liuennut täysin | ei ehtinyt muodostua |
| DCM | 1,0 | ei huomioita | kyllä |
| EtOAc | 2,0 | kiteytymistä 24 h:ssa | kyllä |
| MeOH | 2,0 | ei liuennut täysin, kiteytymistä 9 vrk:ssa | kyllä, kiteet pieniä ja neutramaisia, eivät tarpeeksi suuria mitattavaksi |
| DMSO-d ₆ | 0,6 | kiteytymistä 9 vrk:ssa | kyllä |

TAULUKKO 5 Foldameerin **43** kiderakenteen ominaisuuksia.

| Kiteytysliuotin | Liuotinmolekyylejä kiderakenteessa | Vetysidoksia liuotinmolekyylien ja foldameerin välillä |
|------------------------|---|---|
| DCM | kyllä, 1 kpl | ei |
| DMSO-d ₆ | kyllä, 4 kpl (2 kpl epäjärjestäytyneitä) | kyllä |

ja tätä toistettiin tarpeen mukaan. Etanoli oli heikoin liuottamaan, mutta tuotti nopeasti kiteitä. Yleisesti TBA-F:n ja TBA-Cl:n mukanaolo edisti liukenemistä parhaiten. EtOAc:ssa foldameeri saostui. Asetonissa ei ehtinyt muodostua kiteitä. Aiemmin ratkaistuihin kidemuotoihin⁵⁹ verrattuna ACN- ja EtOH-kiteytykset tuottivat vain tunnettuja kidemuotoja, avaruusryhmiltään P₂₁2₁2₁ ja P-1, eikä kiderakenteita näin ollen ratkaistu tarkemmin.

TAULUKKO 6 Foldameerin **43** DCM- ja DMSO-kiteytysten intramolekulaaristen vetysidosten pituudet ja kulmat.

| Kiteytys | | | | | |
|---------------|-------------|--------|---------------------|-------------|--------|
| DCM | | | DMSO-d ₆ | | |
| Vetysidos | Sidospituus | Kulma | Vetysidos | Sidospituus | Kulma |
| | / Å | / ° | | / Å | / ° |
| (NH)2...O1 | 2,125 | 123,97 | (NH)2...O1 | 2,103 | 135,71 |
| (NH)2...N1 | 2,148 | 115,13 | (NH)2...N1 | 2,273 | 108,73 |
| (NH)3...O1 | 2,427 | 144,99 | (NH)3...O1 | 2,719 | 149,48 |
| (NH)3...N1 | 2,270 | 105,12 | (NH)3...N1 | 2,195 | 111,66 |
| (NH)3...(NH)4 | 2,330 | 108,52 | (NH)4...O1 | 1,955 | 148,33 |
| (NH)5...O4 | 1,848 | 44,98 | (NH)5...O4 | 2,052 | 134,27 |
| (NH)5...N2 | 2,190 | 108,38 | (NH)5...N2 | 2,080 | 117,34 |
| (NH)6...O4 | 2,183 | 159,48 | (NH)6...O4 | 2,286 | 156,23 |
| (NH)7...O3 | 2,094 | 159,05 | (NH)6...N2 | 2,276 | 110,62 |
| | | | (NH)7...O6 | 1,955 | 146,41 |

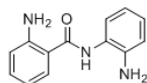
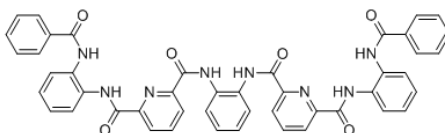
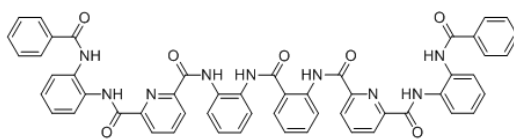
14.3.2 Foldameerin **45** ja TBA-F:n liuostilan kompleksointi

Foldameeristä **45** ja TBA-F:sta tehtiin NMR-näyteliuokset (DMSO-d₆) suhteilla 1:4 ja 5:1. Näytteiden foldameerikonsentraatio oli 8 mM. NMR-putkeen lisättiin ensin 300 µl TBA-F-liuosta ja sitten 300 µl foldameeriliuosta. 1:4-liuos muuttui keltaiseksi heti foldameerilisäyksen jälkeen. Kompleksoitumista tutkittiin ¹H NMR -spektrien muutoksista vertaamalla puhtaan foldameerin **45** spektriin (kuva 34). Puhtaan foldameerin spektriin verrattuna amidipiikit hävisivät ja aromaattisen alueen resonanssit eivät muodostaneet selkeitä

TAULUKKO 7 Foldameerin 43 kompleksointikiteytykset.

| Liuotin | TBA-X | m(43) / mg | m(TBA-X) / mg | n(43): n(TBA-X) | Kidemuotojen avaruusryhmä |
|---------|--------|---------------|------------------|--------------------|---|
| Asetoni | - | 9,9 | - | 1:0 | ei kiteitä |
| Asetoni | TBA-F | 10,3 | 7,2 | 1,03:1 | ei kiteitä |
| Asetoni | TBA-Cl | 10,0 | 7,6 | 1:1,19 | ei kiteitä |
| Asetoni | TBA-Br | 10,0 | 7,8 | 1:1,06 | ei kiteitä |
| ACN | - | 10,0 | - | 1:0 | P-1 |
| ACN | TBA-F | 10,2 | 7,7 | 1:1,04 | P-1 |
| ACN | TBA-Cl | 10,0 | 6,7 | 1:1,05 | P ₂ ₁ 2 ₁ 2 ₁ |
| ACN | TBA-Br | 10,3 | 7,7 | 1:1,01 | P-1 |
| EtOAc | - | 9,9 | - | 1:0 | ei kiteitä |
| EtOAc | TBA-F | 10,1 | 7,7 | 1:1,05 | ei kiteitä |
| EtOAc | TBA-Cl | 10,1 | 6,2 | 1,04:1 | ei kiteitä |
| EtOAc | TBA-Br | 10,1 | 7,8 | 1:1,05 | ei kiteitä |
| EtOH | - | 10,2 | - | 1:0 | P-1 |
| EtOH | TBA-F | 10,1 | 7,4 | 1:1,03 | P-1 |
| EtOH | TBA-Cl | 10,0 | 6,2 | 1,02:1 | P-1 |
| EtOH | TBA-Br | 10,4 | 7,7 | 1:1,00 | P-1 |

15 Valmistetut yhdisteet

**48****42****43**

16 Lähteet

- [1] H. Masu, I. Mizutani, T. Kato, I. Azumaya, K. Yamaguchi, K. Kishikawa ja S. Kohmoto, Naphthalene- and anthracene-based aromatic foldamers with iminodicarbonyl linkers: Their stabilities and application to a chiral photochromic system using retro [4 + 4] cycloaddition, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 8037–8044.
- [2] J.-L. Hou, X.-B. Shao, G.-J. Chen, Y.-X. Zhou, X.-K. Jiang ja Z.-T. Li, Hydrogen bonded oligohydrazide foldamers and their recognition for saccharides, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 12386–12394.
- [3] Z.-T. Li, J.-L. Hou ja C. Li, Peptide mimics by linear arylamides: A structural and functional diversity test, *Acc. Chem. Res.*, **2008**, *41*, 1343–1353.
- [4] D. Seebach, M. Overhand, F. Kühnle ja B. Martinoni, β -peptides: Synthesis by Arndt-Eistert homologation with concomitant peptide coupling. structure determination by nmr and cd spectroscopy and by x-ray crystallography. Helical secondary structure of a β -hexapeptide in solution and its stability towards pepsin, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, *79*, 913–941.
- [5] D. Appella, L. Christianson, I. Karle, D. Powell ja S. Gellman, β -peptide foldamers: Robust helix formation in a new family of β -amino acid oligomers, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 13071–13072.
- [6] Y. Hamuro, S. Geib ja A. Hamilton, Oligoanthranilamides. Non-peptide subunits that show formation of specific secondary structure, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 7529–7541.

- [7] H.-P. Yi, J. Wu, K.-L. Ding, X.-K. Jiang ja Z.-T. Li, Hydrogen bonding-induced aromatic oligoamide foldamers as spherand analogues to accelerate the hydrolysis of nitro-substituted anisole in aqueous media, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 870–877.
- [8] H. Jiang, J.-M. Léger, C. Dolain, P. Guionneau ja I. Huc, Aromatic γ -peptides: design, synthesis and structural studies of helical, quinoline-derived oligoamide foldamers, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 8365–8374.
- [9] N. Delsuc, J.-M. Léger, S. Massip ja I. Huc, Proteomorphous objects from abiotic backbones, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 214–217.
- [10] E. R. Gillies, F. Deiss, C. Staedel, J.-M. Schmitter ja I. Huc, Development and biological assesment of fully water-soluble helical aromatic amide foldamers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 4081–4084.
- [11] E. Berni, C. Dolain, B. Kaufmann, J.-M. Léger, C. Zhan ja I. Huc, Expanding the registry of aromatic amide foldamers: Folding, photochemistry and assembly using diaza-anthracene units, *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 2687–2694.
- [12] Y.-X. Lu, Z.-M. Shi, Z.-T. Li ja Z. Guan, Helical polymers based on intramolecularly hydrogen-bonded aromatic polyamides, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 9019–9021.
- [13] H. Jiang, J.-M. Léger ja I. Huc, Aromatic δ -peptides, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 3448–3449.
- [14] N. Peet, L. Baugh, S. Sunder ja J. Lewis, Synthesis and antiallergic activity of some quinolinones and imidazoquinolinones, *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 298–302.

- [15] E. Berni, B. Kauffmann, C. Bao, J. Lefeuvre, D. Bassani ja I. Huc, Assessing the mechanical properties of a molecular spring, *Chem. Eur. J.*, **2007**, *13*, 8463–8469.
- [16] A. Khan ja S. Hecht, Towards photocontrol over the helix-coil transition in foldamers: Synthesis and photoresponsive behavior of azobenzene-core amphiphilic oligo(*meta*-phenylene ethynylene)s, *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 4764–4774.
- [17] C. Dolain, A. Grélard, M. Laguerre, H. Jiang, V. Maurizot ja I. Huc, Solution structure of quinoline- and pyridine-derived oligoamide foldamers, *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 6135–6144.
- [18] I. Huc, V. Maurizot, H. Gornitzka ja J.-M. Léger, Hydroxy-substituted oligopyridine dicarboxamide helical foldamers, *Chem. Commun.*, **2002**, 578–579.
- [19] L. Delaurière, Z. Dong, K. Laxmi-Reddy, F. Godde, J.-J. Toulmé ja I. Huc, Deciphering aromatic oligoamide foldamer-DNA interactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 473–477.
- [20] D.-W. Zhang, X. Zhao ja Z.-T. Li, Aromatic amide and hydrazide foldamer-based responsive host-guest systems, *Acc. Chem. Res.*, **2014**, *47*, 1961–1970.
- [21] T. de Greef ja E. Meijer, Supramolecular polymers, *Nature*, **2008**, *453*, 171–173.
- [22] J. Garric, J.-M. Léger ja I. Huc, Encapsulation of small polar guests in molecular apple peels, *Chem. Eur. J.*, **2007**, *13*, 8454–8462.

- [23] M. Stone, J. Heemstra ja J. Moore, The chain-length dependence test, *Acc. Chem. Res.*, **2006**, *39*, 11–20.
- [24] Y.-X. Xu, G.-T. Wang, X. Zhao, X.-K. Jiang ja Z.-T. Li, Folding of aromatic amide-based oligomers induced by benzene-1,3,5-tricarboxylate anion in DMSO, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 7267–7273.
- [25] C. Sun, C. Ren, Y. Wei, B. Qin ja H. Zeng, Patterned recognition of amines and ammonium ions by a stimuli-responsive foldamer-based hexameric oligophenol host, *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 5307–5309.
- [26] C. Li, X. Zhao, X. Gao, Q. Wang ja Z. Li, Foldamer-derived preorganized bi- and tri-zinc porphyrin tweezers for a pentafluorobenzene-bearing pyridine guest: The binding pattern study, *Chin. J. Chem.*, **2013**, *31*, 582–588.
- [27] R. Parra, H. Zeng, J. Zhu, C. Zheng, X. Zeng ja B. Gong, Stable three-center hydrogen bonding in a partially rigidified structure, *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 4352–4357.
- [28] J. Nowick, N. Powell, E. Martinez, E. Smith ja G. Noronha, Molecular scaffolds I: Intramolecular hydrogen bonding in a family of di- and triureas, *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 3763–3765.
- [29] G. Dado ja S. Gellman, Intramolecular hydrogen bonding in derivatives of β -alanine and γ -amino butyric acid: Model studies for the folding of unnatural polypeptide backbones, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 1054–1062.
- [30] Y. Wang, F. Bie ja H. Jiang, Controlling binding affinities for anions by a photoswitchable foldamer, *Org. Lett.*, **2010**, *12*, 3630–3633.

- [31] C. Dolain, H. Jiang, J.-M. Léger, P. Guionneau ja I. Huc, Chiral induction in quinoline-derived oligoamide foldamers: Assignment of helical handedness and role of steric effects, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 12943–12951.
- [32] L. Pauling, R. Corey ja H. Brandon, The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1951**, *37*, 205–211.
- [33] J. Kendrew, R. Dickerson, B. Strandberg, R. Hart, D. Davies, D. Phillips ja V. Shore, Structure of myoglobins: A three-dimensional fourier synthesis at 2 Å. resolution, *Nature*, **1960**, *185*, 422–427.
- [34] F. Crick ja J. Watson, A structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature*, **1953**, *171*, 737–738.
- [35] R. Cahn, C. Ingold ja V. Prelog, Specification of molecular chirality, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1966**, *5*, 385–415.
- [36] V. Prelog ja G. Helmchen, Basic principles of the cip-system and proposals for a revision, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1982**, *21*, 567–583.
- [37] C. Li, G.-T. Wang, H.-P. Yi, X.-K. Jiang, Z.-T. Li ja R.-X. Wang, Diastereomeric recognition of chiral foldamer receptors for chiral glucoses, *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 1797–1800.
- [38] A. Palmans, J. Vekemans, E. Havinga ja E. Meijer, Sergeants-and-soldiers principle in chiral columnar stacks of disc-shaped molecules with C_3 symmetry, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1997**, *36*, 2648–2651.
- [39] R. Prince, S. Barnes ja J. Moore, Foldamer-based molecular recognition, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 2758–2762.

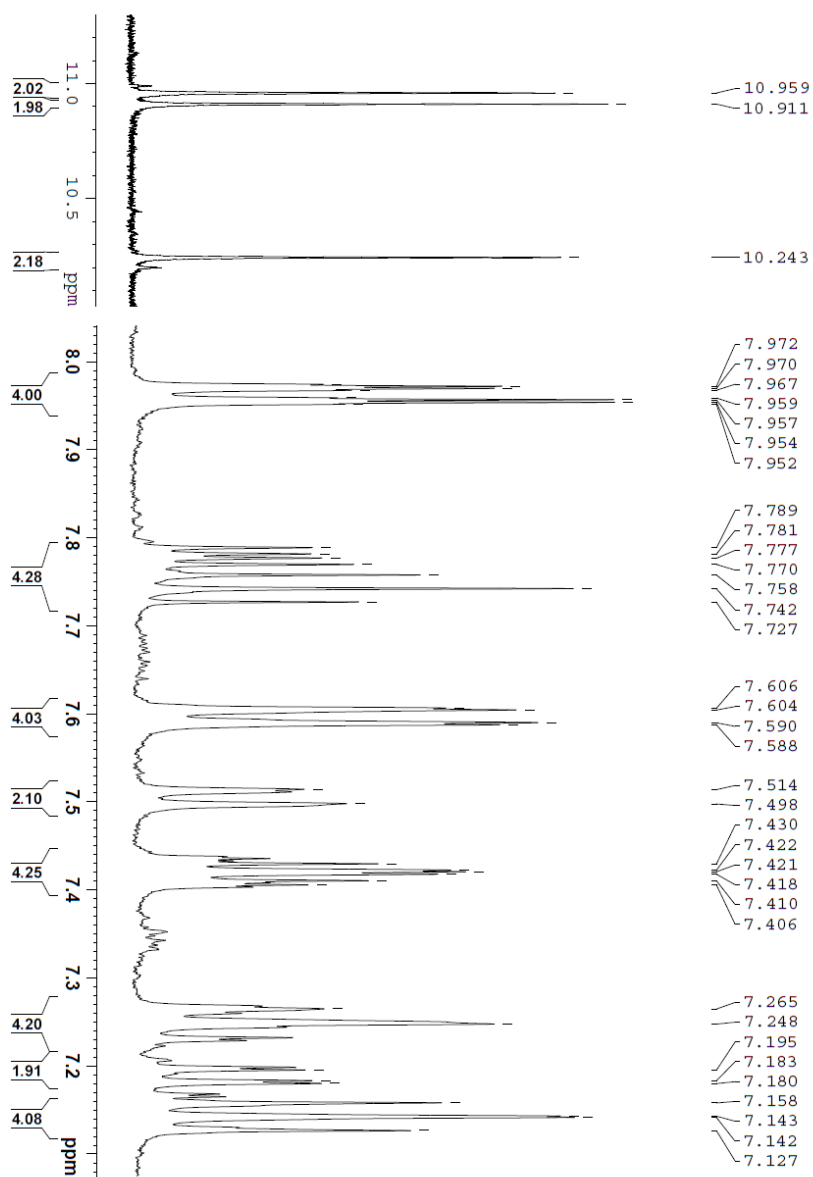
- [40] Y. Ferrand, A. Kendhale, B. Kauffmann, A. Grélard, C. Marie, V. Blot, M. Pipelier, D. Dubreuil ja I. Huc, Diastereoselective encapsulation of tartaric acid by a helical aromatic oligoamide, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 7858–7859.
- [41] M. Williams ja G. Young, Amino-acids and peptides. Part XVI. Further studies of racemisation during peptide synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 881–889.
- [42] G. Anderson ja F. Callahan, Racemization by the dicyclohexylcarbodiimide method of peptide synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, *80*, 2903–2904.
- [43] I. Bassi, O. Bonsignori, G. Lorenze, P. Pino, P. Corradini ja P. Temussi, Structure and optical activity of a crystalline modification of isotactic poly-(s)-4-methyl-1-hexene, *J. Poly. Sci.*, **1971**, *9*, 193–208.
- [44] C. Pedersen, Cyclic polyethers and their complexes with metal salts, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 2495–2496.
- [45] C.-Z. Li, Z.-T. Li, X. Gao ja Q.-R. Wang, Hydrogen bonded semi-rigidified bispyridyl-incorporating aryl amide oligomers: Efficient “C”-styled receptors for aliphatic ammoniums, a remarkable protonation effect and chiral induction, *Chin. J. Chem.*, **1967**, *25*, 1417–1422.
- [46] Z.-Y. Xiao, J.-L. Hou, X.-K. Jiang, Z.-T. Li ja Z. Ma, Complexes between hydrogen bonded bisporphyrin tweezers and cholesterol-appended fullerenes as organogelators and liquid crystals, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 10 182–10 191.

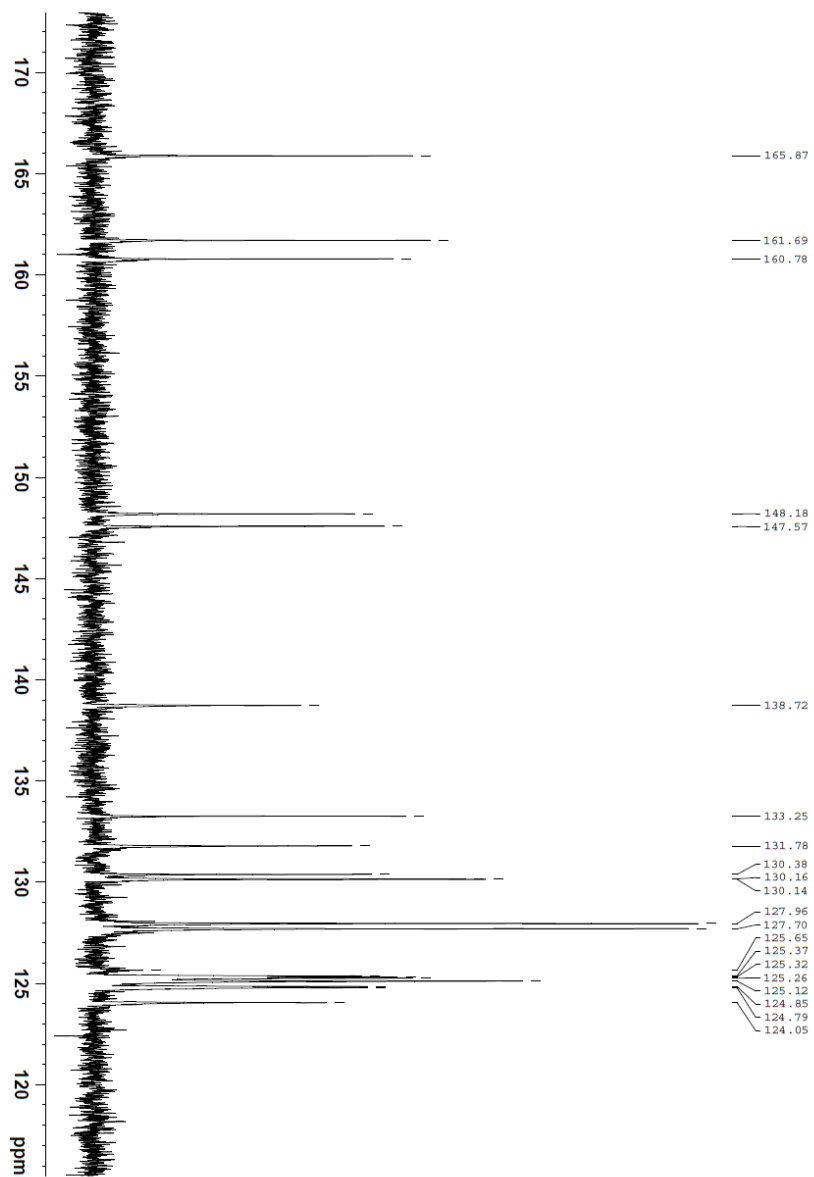
- [47] B. Babtiste, F. Godde ja I. Huc, How can folded biopolymers and synthetic foldamers recognize each other?, *ChemBioChem*, **2009**, *10*, 1765–1767.
- [48] J. Frackepohl, P. Arvidsson, J. Schreiber ja D. Seebach, The outstanding biological stability of β - and γ -peptides toward proteolytic enzymes: An in vitro investigation with fifteen peptidases, *ChemBioChem*, **2001**, *2*, 445–455.
- [49] A. Unciti-Broceta, F. Diezmann, C. Ou-Yang, M. Fara ja M. Bradley, Synthesis, penetrability and intracellular targeting of fluorescein-tagged peptoids and peptide-peptoid hybrids, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 959–966.
- [50] D. Monchaud ja M.-P. Teulade-Fichou, A hitchhiker's guide to G-quadruplex ligands, *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, *6*, 627–636.
- [51] A. Khan, C. Kaiser ja S. Hecht, Prototype of a photoswitchable foldamer, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 1878–1881.
- [52] K. Wang, Y.-S. Wu, G.-T. Wang, R.-X. Wang, X.-K. Jiang, H.-B. Fu ja Z.-T. Li, Hydrogen bonding-mediated foldamer-bridged zinc porphyrin- C_{60} dyads: ideal face-to-face orientation and tunable donor-acceptor interaction, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 7718–7729.
- [53] K. Lefler, D. Co ja M. Wasielewski, Self-assembly-induced ultrafast photodriven charge separation in perylene-3,4-dicarboximide-based hydrogen-bonded foldamers, *J. Phys. Chem. Lett.*, **2012**, *3*, 3798–3805.
- [54] M. Wolffs, N. Delsuc, D. Veldman, N. V. Anh, R. Williams, S. Meskers, R. Janssen, I. Huc ja A. Schenning, Helical aromatic oligoamide

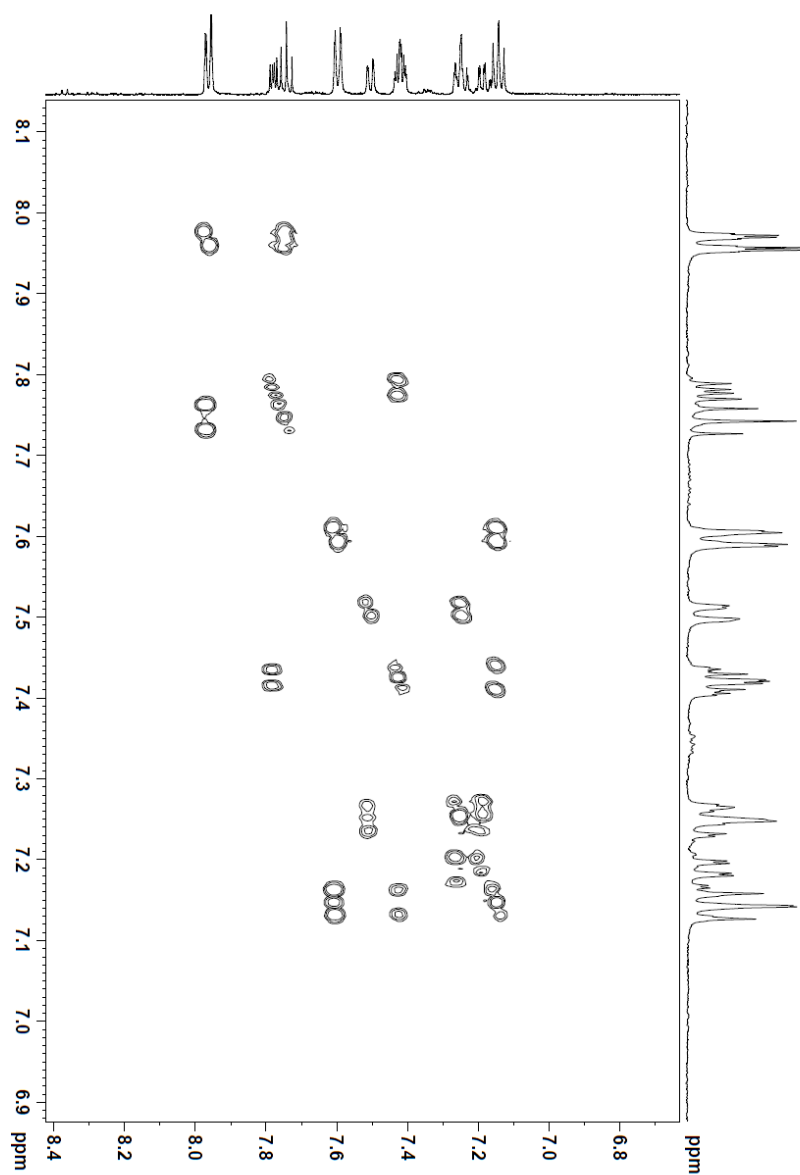
- foldamers as organizational scaffolds for photoinduced charge transfer, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 4819–4829.
- [55] S. Choi, A. Isaacs, D. Clements, D. Liu, H. Kim, R. Scott, J. Winkler ja W. DeGrado, De novo design and in vivo activity of conformationally restrained antimicrobial arylamide foldamers, *PNAS*, **2009**, *106*, 6968–6973.
- [56] B. Mensa, Y. Kim, S. Choi, R. Scott, G. Caputo ja W. DeGrado, Antibacterial mechanism of action of arylamide foldamers, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2011**, *55*, 5043–5053.
- [57] D. Liu, S. Choi, B. Chen, R. Doerksen, D. Clements, J. Winkler, M. Klein ja W. DeGrado, Nontoxic membrane-active antimicrobial arylamide oligomers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 1158–1162.
- [58] Y. Su, W. DeGrado ja M. Hong, Orientation, dynamics, and lipid interaction of an antimicrobial arylamide investigated by ^{19}F and ^{31}P solid-state NMR spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 9197–9205.
- [59] M. Kortelainen, *Oksoanionikuoppia jäljittelevät synteettiset rakenteet*, pro gradu, Jyväskylän yliopisto, Jyväskylä, **2012**.
- [60] A. Suhonen, *Orgaanisten yhdisteiden kiinteän tilan rakennemääritysmenetelmät*, pro gradu, Jyväskylän yliopisto, Jyväskylä, **2011**.
- [61] S.-Y. Han ja Y.-A. Kim, Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 2447–2467.
- [62] Thermo Scientific, <http://www.piercenet.com/method/carbodiimide-crosslinker-chemistry>, (8.4.2014).

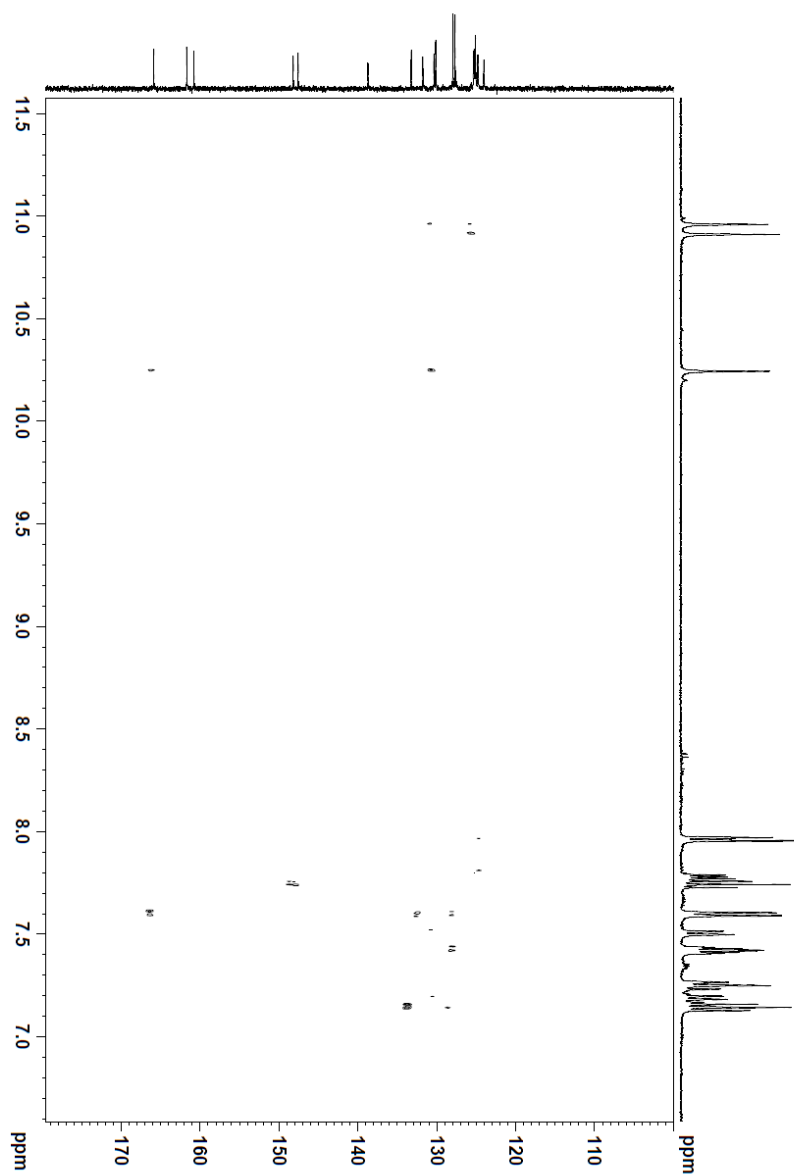
- [63] Y. Pu, R. Vaid, S. Boini, R. Towsley, C. Doecke ja D. Mitchell, A practical method for functionalized peptide or amide bond formation in aqueous-ethanol media with edc as activator, *Org. Process Res. Dev.*, **2009**, *13*, 310–314.
- [64] Common Organic Chemistry, http://www.commonorganicchemistry.com/Rxn_Pages/Amine_to_Amide_Coupling/Amine_to_Amide_Coupling_HOBt_EDC_Mech.htm, (8.4.2014).
- [65] Z. Xia, K. Wang, J. Zheng, Z. Ma, Z. Jiang, X. Wang ja X. Lv, Copper-catalyzed domino intramolecular cyclization: a facile and efficient approach to polycyclic indole derivatives, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, 1602–1611.
- [66] K. Mahiwal, P. Kumar ja B. Narasimhan, Synthesis, antimicrobial evaluation, ot-QSAR and mt-QSAR studies of 2-amino benzoic acid derivatives, *Med. Chem. Res.*, **2012**, *21*, 293–307.

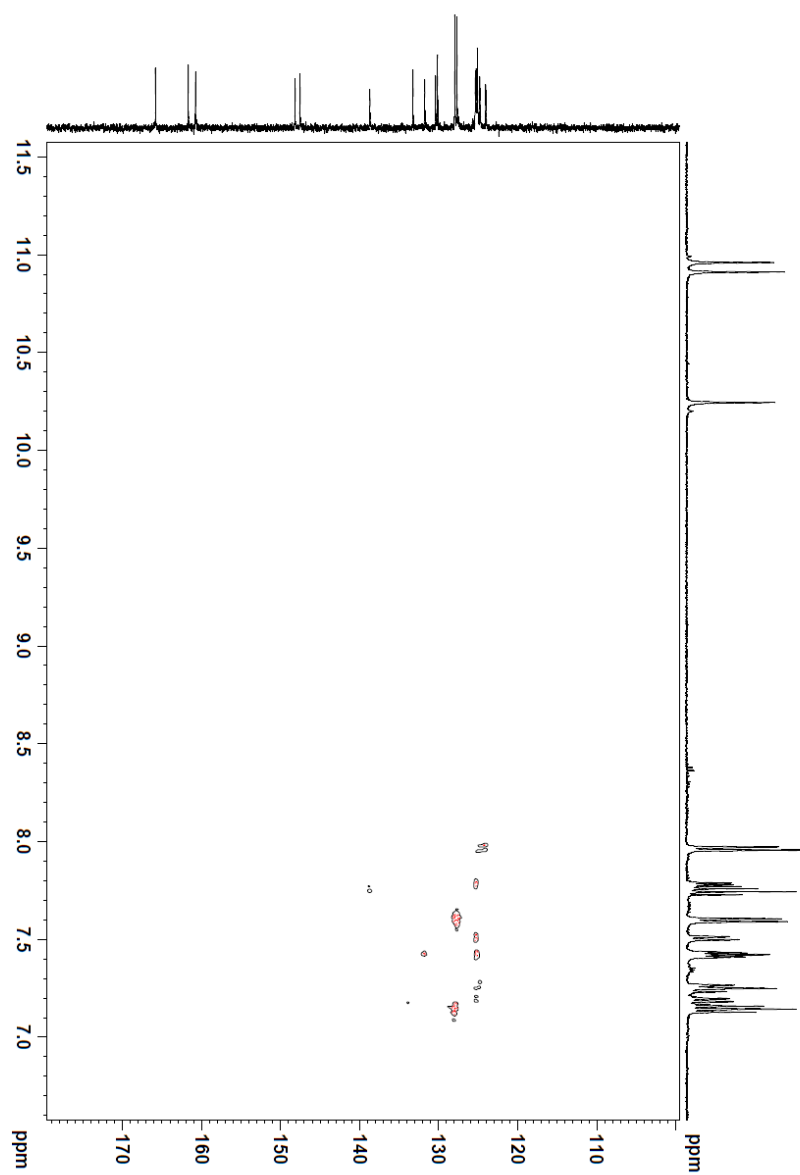
LIITE 1

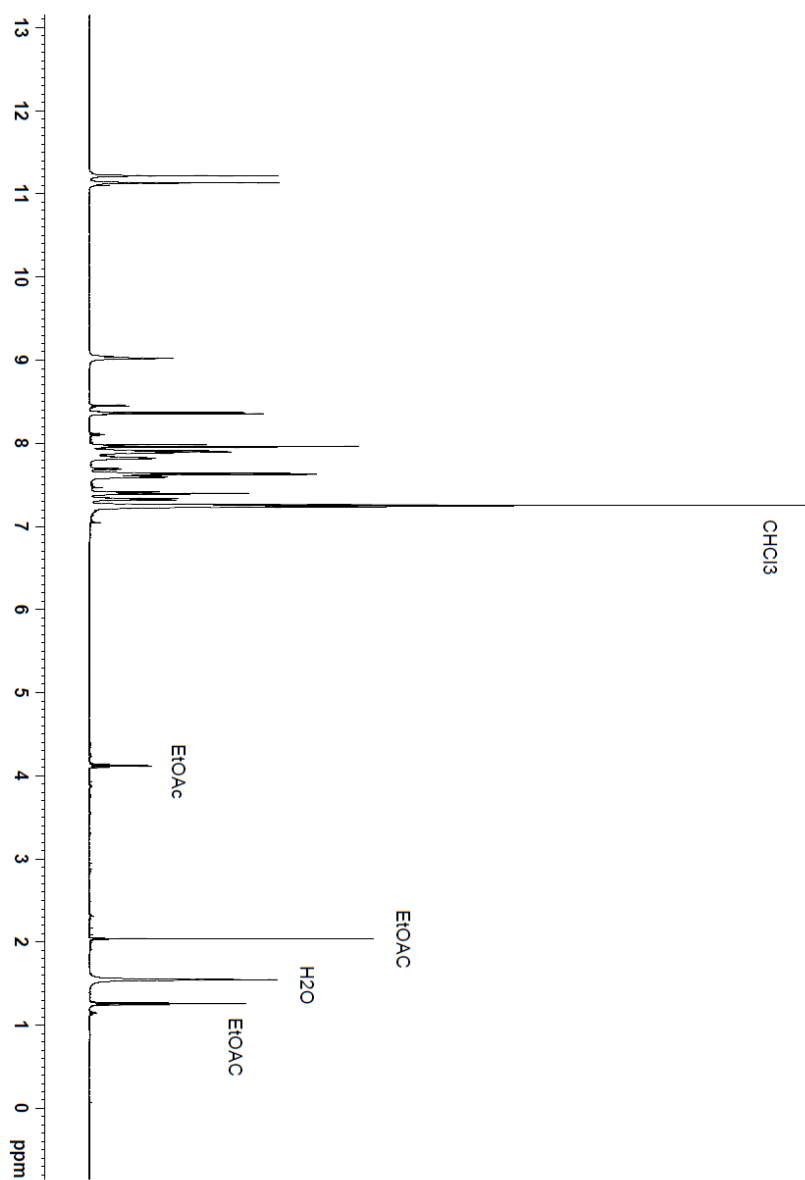
Foldameerin 42 1D ja 2D NMR -spektrit (DMSO-d₆ ja CDCl₃)Foldameerin 42 levitetty ¹H NMR -spektri (DMSO-d₆)

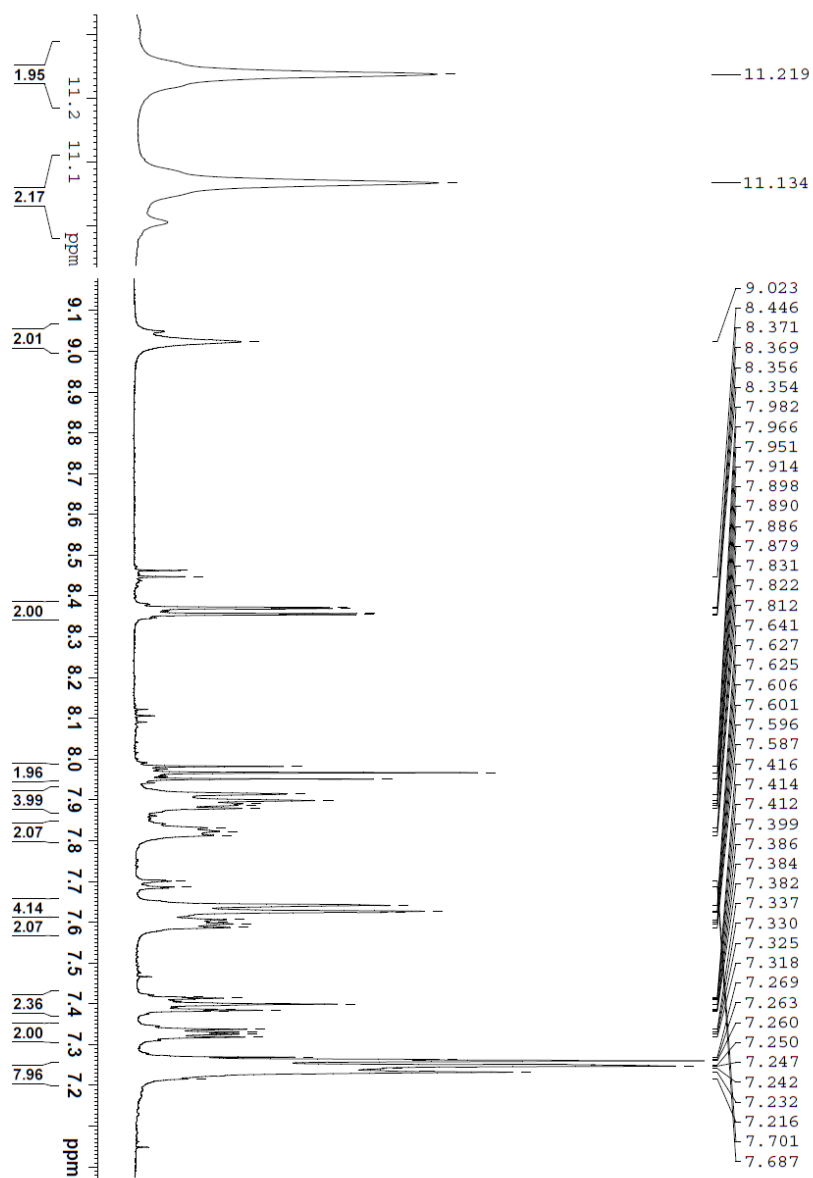
Foldameerin **42** levitetty ^{13}C NMR -spektri (DMSO-d_6)

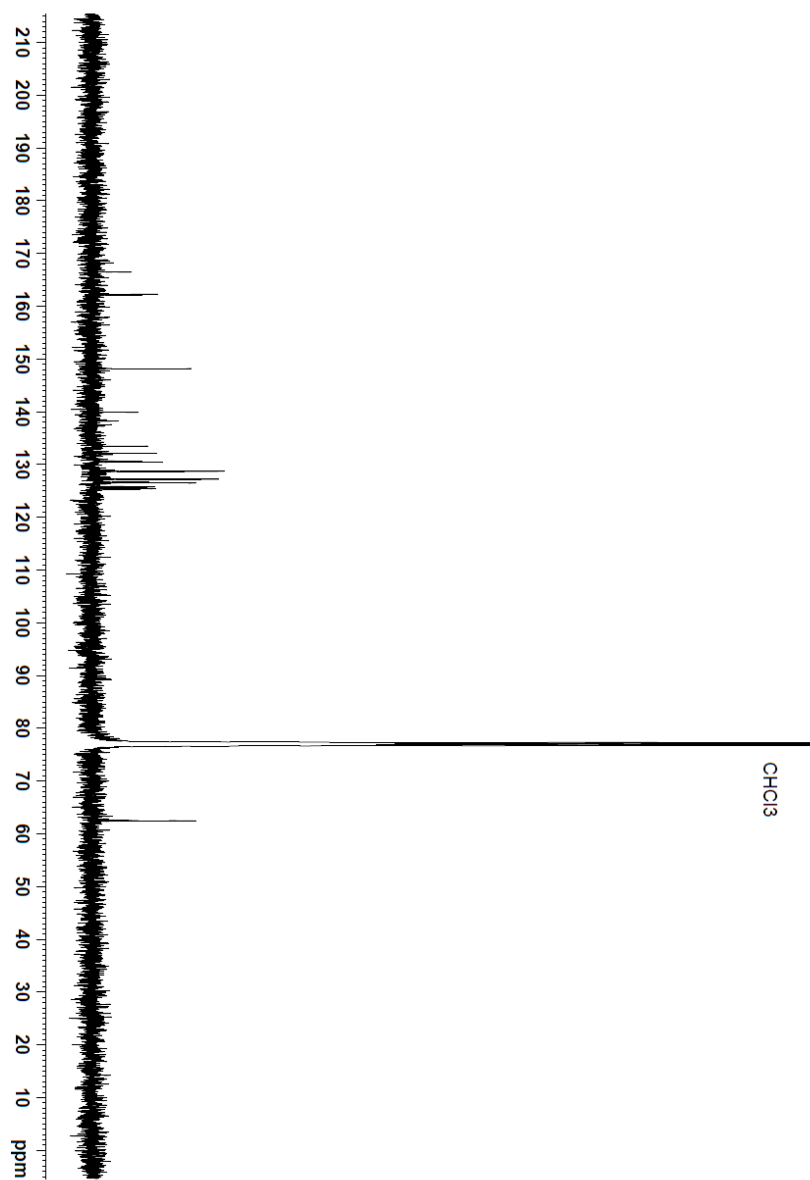
Foldameerin **42** COSY-spektri (DMSO-d₆)

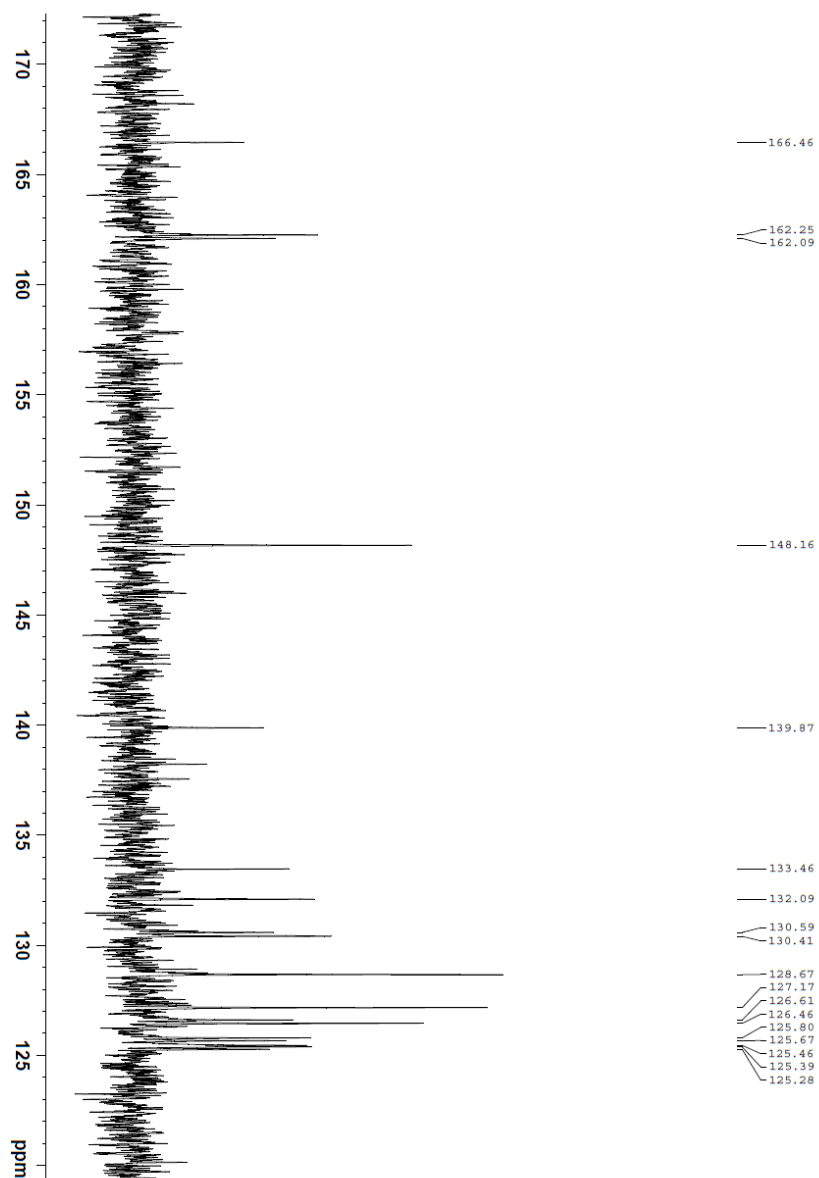
Foldameerin **42** HMBC-spektri (DMSO-d₆)

Foldameerin **42** HMQC-spektri (DMSO- d_6)

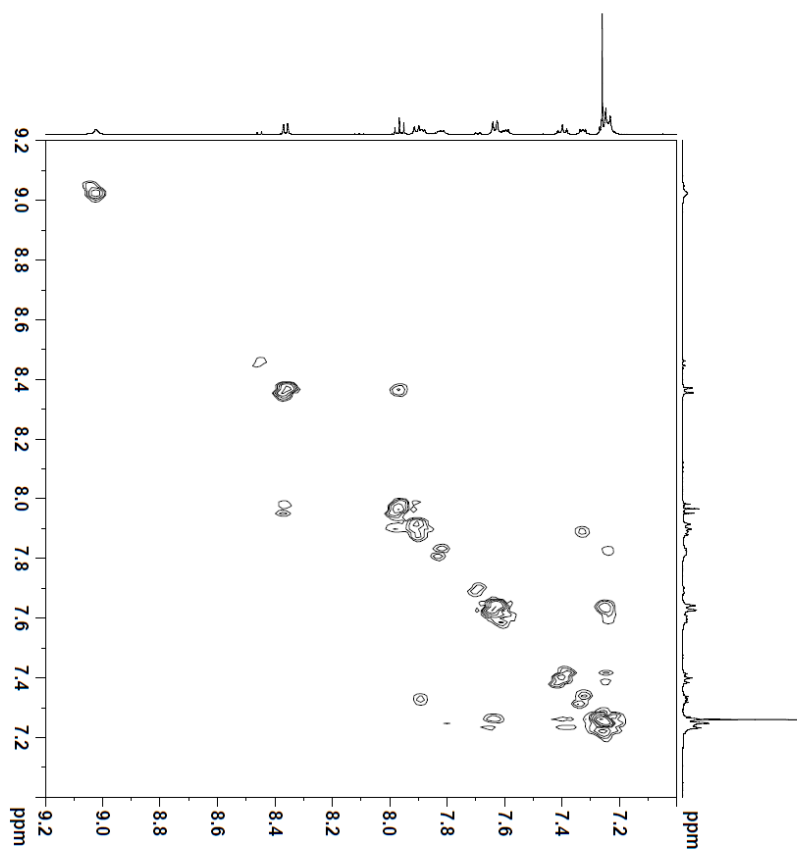
Foldameerin **42** levitetty ^1H NMR -spektri (CDCl_3)

Foldameerin **42** levitetty ^1H NMR -spektri (CDCl_3)

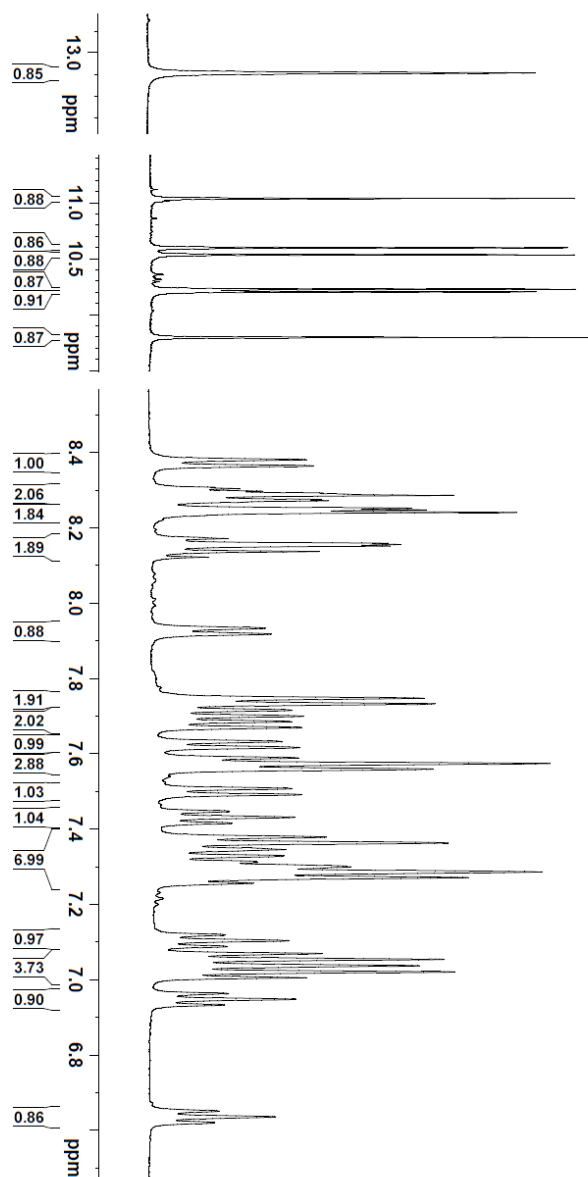
Foldameerin **42** ^{13}C NMR -spektri (CDCl_3)

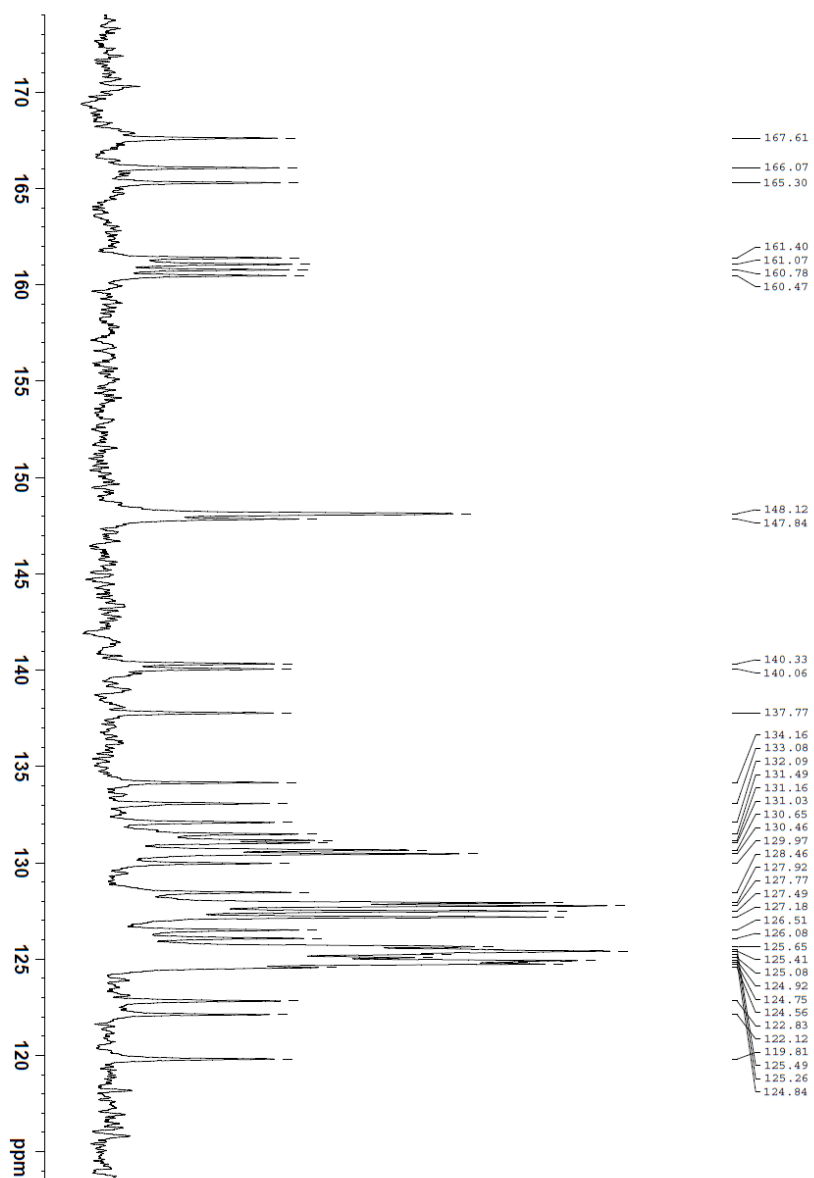


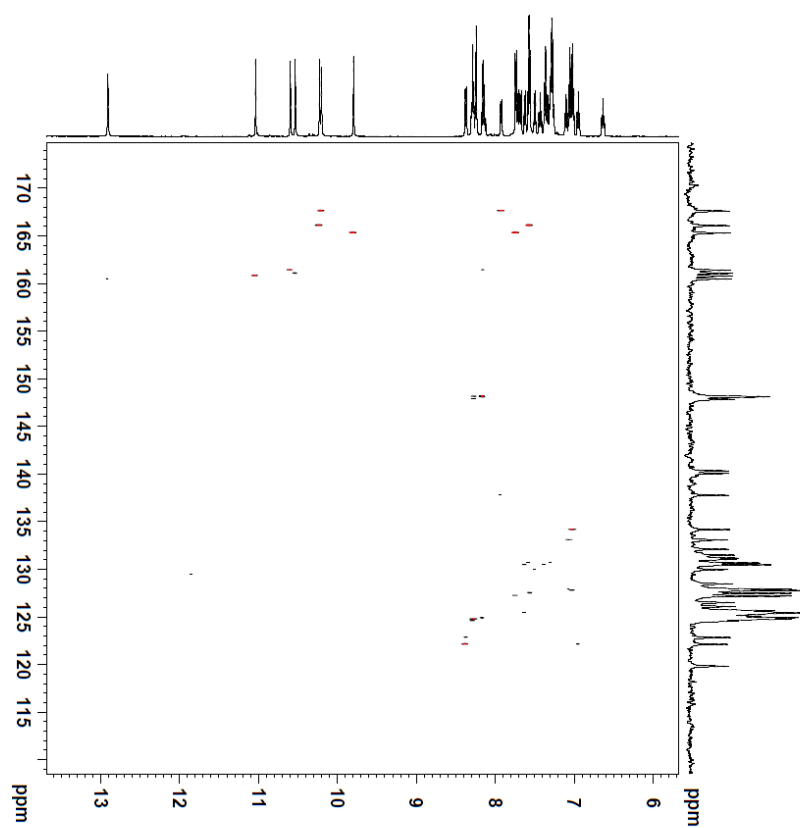
Foldameerin **42** levitetty ^{13}C NMR -spektri (CDCl_3)

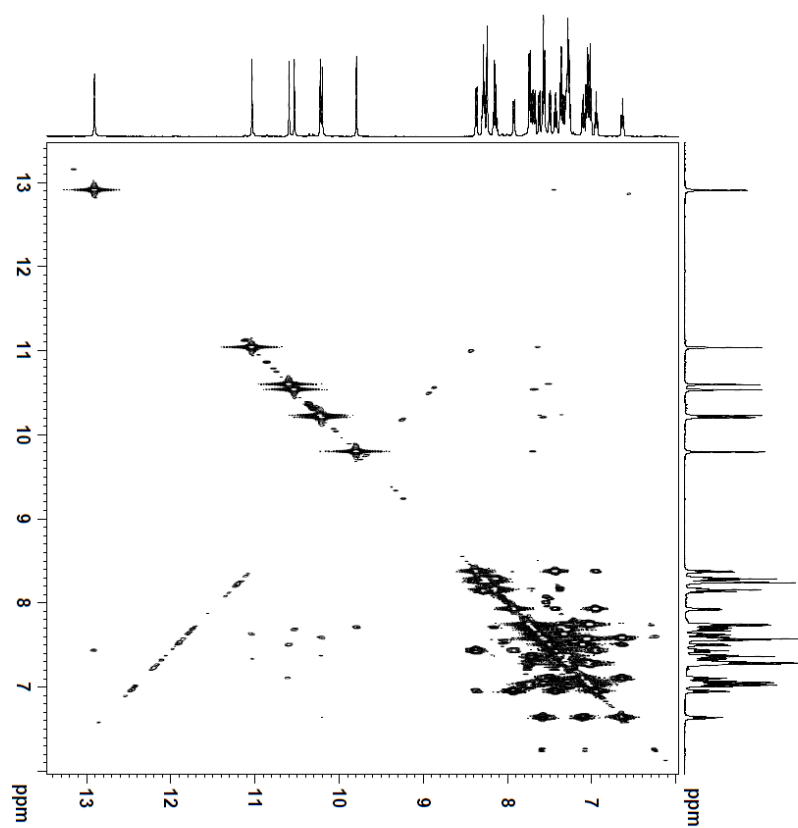
Foldameerin **42** levitetty COSY-spektri (CDCl₃)

LIITE 2

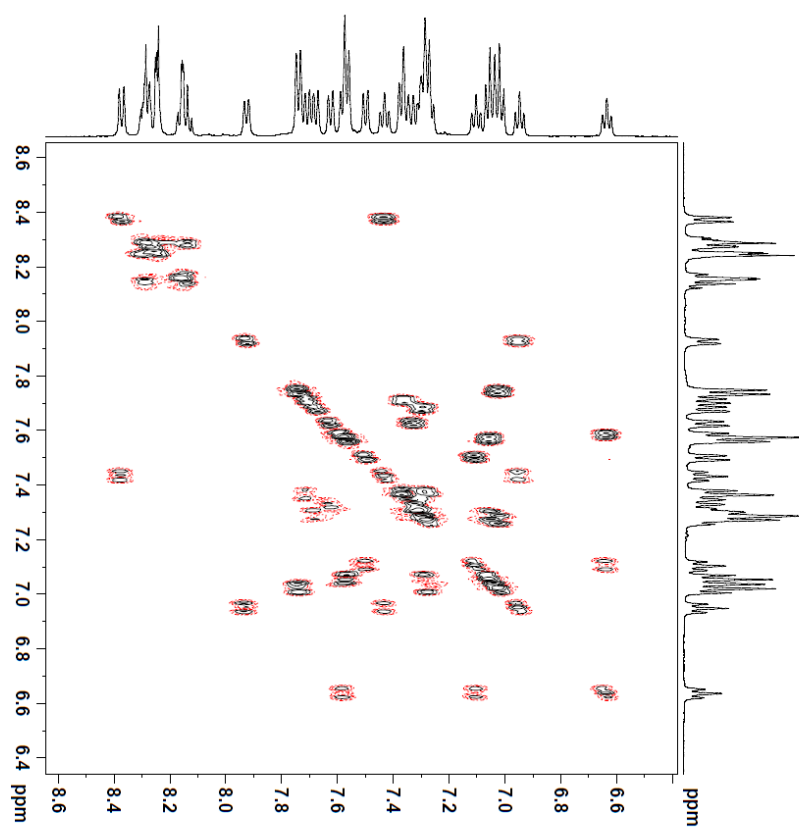
Foldameerin 43 1D ja 2D NMR -spektrit (DMSO-d₆)Foldameerin **43** levitetty ¹H NMR -spektri (DMSO-d₆)

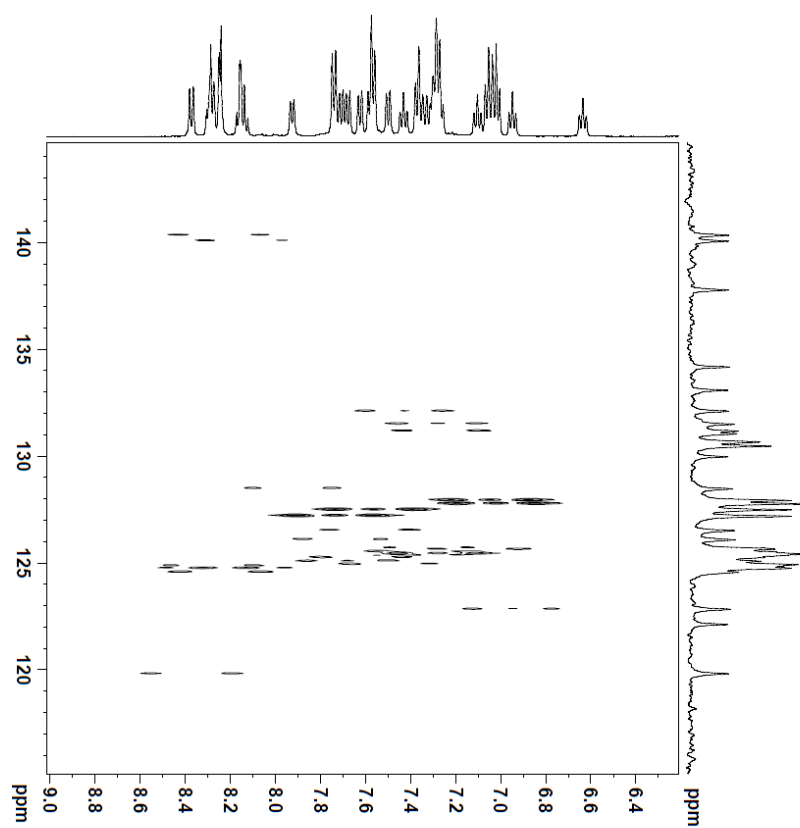
Foldameerin **43** levitetty ¹³H NMR -spektri (DMSO-d₆)

Foldameerin **43** levitetty C—H -spektri (DMSO-d_6)

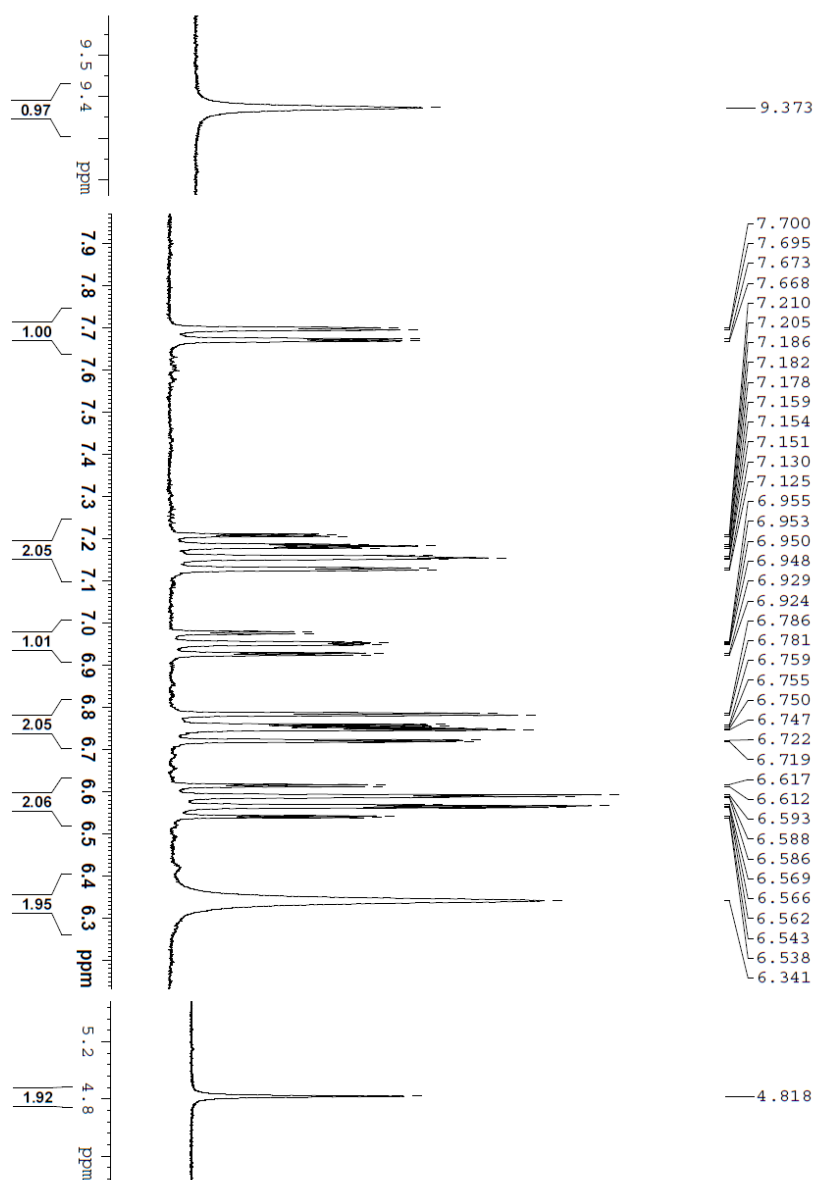


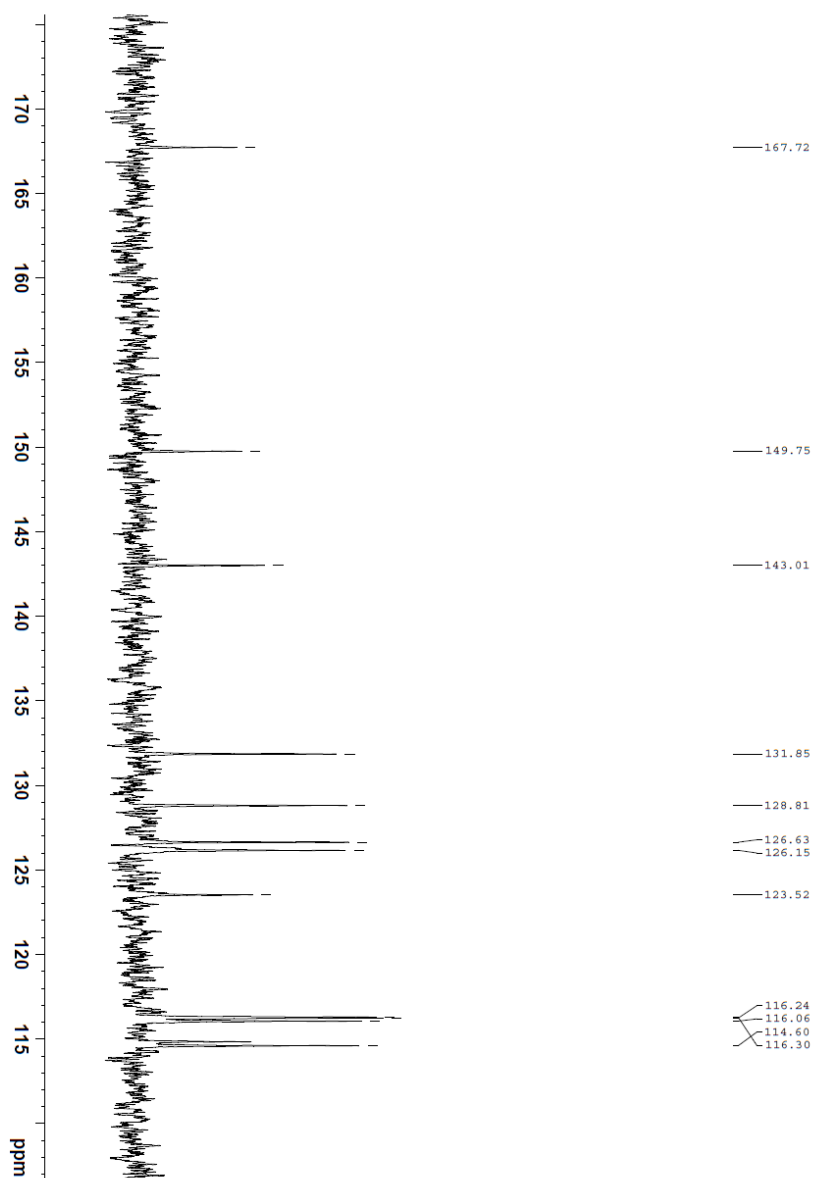
Foldameerin **43** levitetty COSY-spektri (DMSO-d₆)

Foldameerin **43** levitetty COSY-spektri (DMSO-d₆)

Foldameerin **43** levitetty HSQC-spektri (DMSO-d₆)

LIITE 3

Yhdisteen 48 1D NMR -spektrit (DMSO-d₆)Yhdisteen 48 levitetty ¹H NMR -spektri (DMSO-d₆)

Yhdisteen 48 levitetty ^{13}C NMR -spektri (DMSO-d_6)

LIITE 4

Yksikideröntgendiffraktiomitaukset

$N^2, N^{2'}$ -(1,2-fenyleeni)bis(N^6 -(2-bentsamidofenyyli)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42), ACN

| | | |
|-----------------------------------|---|-------------------------------|
| Empirical formula | $C_{46}H_{34}N_8O_6 \cdot 2 C_2H_5N \cdot H_2O$ | |
| Formula weight | 894.94 | |
| Temperature | 173(2) K | |
| Wavelength | 0.71073 Å | |
| Crystal system | Triclinic | |
| Space group | P-1 | |
| Unit cell dimensions | a = 11.6438(2) Å | $\alpha = 102.3950(10)^\circ$ |
| | b = 12.0526(2) Å | $\beta = 98.7150(10)^\circ$ |
| | c = 17.3568(3) Å | $\gamma = 101.0190(10)^\circ$ |
| Volume | 2287.60(7) Å ³ | |
| Z | 2 | |
| Density (calculated) | 1.299 Mg/m ³ | |
| Absorption coefficient | 0.090 mm ⁻¹ | |
| F(000) | 936 | |
| Crystal size | 0.28 x 0.24 x 0.16 mm ³ | |
| Theta range for data collection | 1.89 to 28.78° | |
| Index ranges | -15 ≤ h ≤ 15, -16 ≤ k ≤ 16, -23 ≤ l ≤ 23 | |
| Reflections collected | 22724 | |
| Independent reflections | 11763 [R(int) = 0.0391] | |
| Completeness to theta = 28.78° | 98.6 % | |
| Absorption correction | Semi-empirical from equivalents | |
| Max. and min. transmission | 0.9858 and 0.9753 | |
| Refinement method | Full-matrix least-squares on F ² | |
| Data / restraints / parameters | 11763 / 0 / 630 | |
| Goodness-of-fit on F ² | 1.087 | |
| Final R indices [I > 2σ(I)] | R1 = 0.0590, wR2 = 0.1196 | |
| R indices (all data) | R1 = 0.0899, wR2 = 0.1328 | |
| Largest diff. peak and hole | 0.485 and -0.451 e.Å ⁻³ | |

*N*²,*N*^{2'}-(1,2-fenyleeni)bis(*N*⁶-(2-bentsamidofenyyl)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42), DCM

| | | |
|-----------------------------------|---|-----------------|
| Empirical formula | C ₄₆ H ₃₄ N ₈ O ₆ · CH ₂ Cl ₂ | |
| Formula weight | 879.74 | |
| Temperature | 173(2) K | |
| Wavelength | 0.71073 Å | |
| Crystal system | Monoclinic | |
| Space group | P21/c | |
| Unit cell dimensions | a = 21.4224(4) Å | α = 90°. |
| | b = 8.59630(10) Å | β = 98.435(2)°. |
| | c = 23.4432(5) Å | γ = 90°. |
| Volume | 4270.45(13) Å ³ | |
| Z | 4 | |
| Density (calculated) | 1.368 Mg/m ³ | |
| Absorption coefficient | 0.213 mm ⁻¹ | |
| F(000) | 1824 | |
| Crystal size | 0.26 x 0.08 x 0.08 mm ³ | |
| Theta range for data collection | 1.76 to 26.70°. | |
| Index ranges | -27<=h<=15, -10<=k<=10, -29<=l<=27 | |
| Reflections collected | 15304 | |
| Independent reflections | 8910 [R(int) = 0.0244] | |
| Completeness to theta = 26.70° | 98.6 % | |
| Absorption correction | Semi-empirical from equivalents | |
| Max. and min. transmission | 0.9832 and 0.9468 | |
| Refinement method | Full-matrix least-squares on F ² | |
| Data / restraints / parameters | 8910 / 0 / 614 | |
| Goodness-of-fit on F ² | 1.019 | |
| Final R indices [I>2sigma(I)] | R1 = 0.0532, wR2 = 0.1056 | |
| R indices (all data) | R1 = 0.1041, wR2 = 0.1265 | |
| Largest diff. peak and hole | 0.520 and -0.466 e.Å ⁻³ | |

*N*²,*N*^{2'}-(1,2-fenyleeni)bis(*N*⁶-(2-bentsamidofenylyl)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42), DMA

| | | |
|-----------------------------------|--|-----------------|
| Empirical formula | C ₄₆ H ₃₄ N ₈ O ₆ · C ₄ H ₆ NO DMA C50 H45 N9 O8 | |
| Formula weight | 899.95 | |
| Temperature | 173(2) K | |
| Wavelength | 0.71073 Å | |
| Crystal system | Triclinic | |
| Space group | P-1 | |
| Unit cell dimensions | a = 11.7500(4) Å | α = 105.575(4)° |
| | b = 12.2120(6) Å | β = 99.439(3)° |
| | c = 17.0988(6) Å | γ = 100.534(4)° |
| Volume | 2264.02(16) Å ³ | |
| Z | 2 | |
| Density (calculated) | 1.320 Mg/m ³ | |
| Absorption coefficient | 0.092 mm ⁻¹ | |
| F(000) | 944 | |
| Crystal size | 0.18 x 0.10 x 0.10 mm ³ | |
| Theta range for data collection | 1.78 to 26.70° | |
| Index ranges | -14 ≤ h ≤ 14, -15 ≤ k ≤ 15, -21 ≤ l ≤ 21 | |
| Reflections collected | 28734 | |
| Independent reflections | 9562 [R(int) = 0.0266] | |
| Completeness to theta = 26.70° | 99.8 % | |
| Absorption correction | Semi-empirical from equivalents | |
| Max. and min. transmission | 0.9909 and 0.9837 | |
| Refinement method | Full-matrix least-squares on F ² | |
| Data / restraints / parameters | 9562 / 0 / 650 | |
| Goodness-of-fit on F ² | 1.038 | |
| Final R indices [I > 2σ(I)] | R1 = 0.0455, wR2 = 0.1022 | |
| R indices (all data) | R1 = 0.0724, wR2 = 0.1133 | |
| Largest diff. peak and hole | 0.203 and -0.210 e.Å ⁻³ | |

***N*²,*N*^{2'}-(1,2-fenyleeni)bis(*N*⁶-(2-bentsamidofenyyli)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42), DMF**

| | | |
|-----------------------------------|---|----------------|
| Empirical formula | C ₄₆ H ₃₄ N ₈ O ₆ · C ₃ H ₇ NO · H ₂ O | |
| Formula weight | 1032.12 | |
| Temperature | 173(2) K | |
| Wavelength | 0.71073 Å | |
| Crystal system | Triclinic | |
| Space group | P-1 | |
| Unit cell dimensions | a = 11.7989(4) Å | α = 87.464(3)° |
| | b = 12.1280(5) Å | β = 87.205(3)° |
| | c = 18.4010(8) Å | γ = 79.838(3)° |
| Volume | 2587.04(18) Å ³ | |
| Z | 2 | |
| Density (calculated) | 1.325 Mg/m ³ | |
| Absorption coefficient | 0.093 mm ⁻¹ | |
| F(000) | 1088 | |
| Crystal size | 0.22 x 0.20 x 0.18 mm ³ | |
| Theta range for data collection | 1.75 to 26.70° | |
| Index ranges | -14 ≤ h ≤ 14, -15 ≤ k ≤ 15, -23 ≤ l ≤ 23 | |
| Reflections collected | 54121 | |
| Independent reflections | 10945 [R(int) = 0.0345] | |
| Completeness to theta = 26.70° | 99.9 % | |
| Absorption correction | Semi-empirical from equivalents | |
| Max. and min. transmission | 0.9834 and 0.9797 | |
| Refinement method | Full-matrix least-squares on F ² | |
| Data / restraints / parameters | 10945 / 0 / 725 | |
| Goodness-of-fit on F ² | 1.039 | |
| Final R indices [I > 2σ(I)] | R1 = 0.0461, wR2 = 0.1098 | |
| R indices (all data) | R1 = 0.0610, wR2 = 0.1200 | |
| Largest diff. peak and hole | 0.475 and -0.244 e Å ⁻³ | |

***N*²,*N*^{2'}-(1,2-fenyleeni)bis(*N*⁶-(2-bentsamidofenyyli)pyridiini-2,6-dikarboksiamidi) (42), MeOH**

| | |
|-----------------------------------|--|
| Empirical formula | C ₄₆ H ₃₄ N ₈ O ₆ · CH ₄ O |
| Formula weight | 826.85 |
| Temperature | 123(2) K |
| Wavelength | 1.54178 Å |
| Crystal system | Triclinic |
| Space group | P-1 |
| Unit cell dimensions | a = 11.8824(5) Å α = 91.830(3)° b = 12.7973(5) Å β = 105.781(3)° c = 14.6130(5) Å γ = 111.941(4)° |
| Volume | 1961.13(13) Å ³ |
| Z | 2 |
| Density (calculated) | 1.400 Mg/m ³ |
| Absorption coefficient | 0.792 mm ⁻¹ |
| F(000) | 864 |
| Crystal size | 0.56 x 0.14 x 0.06 mm ³ |
| Theta range for data collection | 3.18 to 74.60° |
| Index ranges | -14 ≤ h ≤ 14, -15 ≤ k ≤ 15, -18 ≤ l ≤ 18 |
| Reflections collected | 37631 |
| Independent reflections | 7836 [R(int) = 0.0383] |
| Completeness to theta = 74.60° | 97.6 % |
| Absorption correction | Semi-empirical from equivalents |
| Max. and min. transmission | 0.9540 and 0.6655 |
| Refinement method | Full-matrix least-squares on F ² |
| Data / restraints / parameters | 7836 / 0 / 581 |
| Goodness-of-fit on F ² | 1.043 |
| Final R indices [I > 2σ(I)] | R1 = 0.0390, wR2 = 0.0978 |
| R indices (all data) | R1 = 0.0453, wR2 = 0.1038 |
| Largest diff. peak and hole | 0.216 and -0.306 e.Å ⁻³ |

LIITE 5

Foldameerin 42 kiderakenteiden vetysidospituuksia ja -kulmia.

Foldameerin 42 kiderakenteiden vetysidospituuksia. DCM-kiteytyksen vetysidokset poikkeavat (merkitty *:lla).

| Vetysidos | Vetysidospituudet eri kiteytysliuottimilla / Å | | | | |
|------------|--|--------|-------|-------|-------|
| | ACN | DCM* | DMA | DMF | MeOH |
| (NH)2...O1 | 1,966 | 2,188* | 1,903 | 1,914 | 1,947 |
| (NH)2...N1 | 2,222 | 2,241 | 2,199 | 2,238 | 2,190 |
| (NH)3...O1 | 2,457 | 1,970* | 2,234 | 2,276 | 2,271 |
| (NH)3...N1 | 2,251 | 2,192 | 2,257 | 2,270 | 2,163 |
| (NH)4...N2 | 2,273 | 2,240 | 2,292 | 2,243 | 2,227 |
| (NH)4...O6 | 2,307 | 2,199 | 2,425 | 2,429 | 2,543 |
| (NH)5...N2 | 2,231 | 2,191 | 2,240 | 2,213 | 2,247 |
| (NH)5...O6 | 1,910 | 1,989 | 1,958 | 1,930 | 1,942 |

Foldameerin **42** kiderakenteiden vetysidospituuksia. DCM-kiteytyksen vetysidokset poikkeavat (merkitty *:lla).

| Vetysidos | Vetysidoskulmat eri kiteytysliuottimilla / ° | | | | |
|------------|--|---------|--------|--------|--------|
| | ACN | DCM* | DMA | DMF | MeOH |
| (NH)2...O1 | 141,54 | 150,11* | 145,42 | 147,52 | 143,20 |
| (NH)2...N1 | 110,74 | 112,20 | 109,95 | 108,61 | 110,83 |
| (NH)3...O1 | 155,30 | 149,36* | 157,27 | 159,08 | 149,51 |
| (NH)3...N1 | 112,20 | 109,13 | 107,73 | 108,00 | 110,80 |
| (NH)4...N2 | 109,40 | 110,79 | 106,61 | 111,25 | 111,86 |
| (NH)4...O6 | 158,33 | 153,73 | 158,85 | 156,02 | 154,12 |
| (NH)5...N2 | 108,69 | 111,22 | 109,90 | 110,78 | 108,05 |
| (NH)5...O6 | 146,96 | 146,82 | 142,83 | 141,34 | 142,31 |

Foldameerin **42** DCM-kiteytyksen vetysidosten vastaavuus muihin kiteytyksiin ja vetysidoskulmat.

| Vetysidokset | | Sidospituus / Å | Sidoskulma / ° |
|--------------|------------|-----------------|----------------|
| muut | DCM | (DCM-kiteytys) | (DCM-kiteytys) |
| - | (NH)1...O2 | 1,945 | 145,99 |
| (NH)2...O1 | (NH)2...O4 | 2,188 | 150,11 |
| (NH)2...N1 | (NH)2...N1 | 2,241 | 112,20 |
| (NH)3...O1 | (NH)3...O4 | 1,970 | 149,36 |
| (NH)3...N1 | (NH)3...N1 | 2,192 | 109,13 |
| (NH)4...N2 | (NH)4...N2 | 2,240 | 110,79 |
| (NH)4...O6 | (NH)4...O6 | 2,199 | 153,73 |
| (NH)5...N2 | (NH)5...N2 | 2,191 | 111,22 |
| (NH)5...O6 | (NH)5...O6 | 1,989 | 146,82 |