



SMART CHEMISTRY  
PARK



Hyvinvointia rakentamassa



Luonnon-, ympäristö- ja metsätieteilijöiden liitto

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Are you interested on science and  
looking for career possibilities?

## In Turku PET Centre

we provide research opportunities in the fields of

- Physics and biophysics
- Chemistry, radiochemistry, and biochemistry
- Instrumentation and software development
- Molecular biology, human biology, and integrative biology
- Preclinical and clinical imaging with variety of methods
- Mathematical modelling and data analyses



Take a look at <http://www.pet.fi> and [https://www.youtube.com/watch?v=8Vdr\\_ek7B3I](https://www.youtube.com/watch?v=8Vdr_ek7B3I) for more information about Turku PET Centre. Do not hesitate to contact us if you have an idea that you would like to pursue. We will find the right person to help you!

Research Manager Kari Kalliokoski, Turku PET Centre [kari.kalliokoski@utu.fi](mailto:kari.kalliokoski@utu.fi)



## SISÄLLYSLUETTELO

<b>Esipuhe</b>	2
<b>Ohjelma</b>	7
<b>Lääkekehityksen kemian pääaine</b>	10
<b>Materiaalikemian pääaine</b>	13
<b>Kemian opettaja</b>	16
<b>Detektioteknologian tutkimusryhmä</b>	18
Tutkimusryhmäesittely	19
LuK-esitelmäabstrakti	23
FT-vaiheen abstraktit	24
<b>Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä</b>	30
Tutkimusryhmäesittely	31
LuK-esitelmäabstrakti	36
FM-esitelmien abstraktit	37
FT-vaiheen abstraktit	47
<b>Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä</b>	63
Tutkimusryhmäesittely	64
LuK-esitelmien abstraktit	67
FM-esitelmien abstraktit	70
FT-vaiheen abstraktit	74
<b>Bio-organisen kemian tutkimusryhmä</b>	80
Tutkimusryhmäesittely	81
LuK-esitelmien abstraktit	86
FM-esitelmien abstraktit	97
FT-vaiheen abstraktit	103
<b>Kemian opetus ja oppimisen tutkimus</b>	125
Tutkimusryhmäesittely	126
LuK-esitelmien abstraktit	127
FM-esitelmän abstrakti	131
<b>Epäorganisen materiaalikemian tutkimusryhmä</b>	133
Tutkimusryhmäesittely	134
LuK-esitelmien abstraktit	140
FM-esitelmän abstrakti	143
FT-vaiheen abstraktit	145
<b>Fysikaalisen kemian tutkimusryhmä</b>	157
Tutkimusryhmäesittely	158
FT-vaiheen abstraktit	164
<b>Materiaalikemian tutkimusryhmä</b>	170
Tutkimusryhmäesittely	171
LuK-tutkielmien abstraktit	177
FM-esitelmien abstraktit	181
FT-vaiheen abstraktit	187
<b>Henkilöhakemisto</b>	197

## Esipuhe: Kemian kevät '20 – Sata lasissa

Arvoisat Kemian kevät '20 –tapahtuman osanottajat ja tämän kirjan lukijat,

Kevät on jo täällä, vaikka talvi ei koskaan tullutkaan. Luonnon muuttunutta rytmiä seurailen Kemian kevät -seminaarinkin piti tulla tänä vuonna vastaan kolme viikkoa normaalia aikaisemmin. Tämä aikataulun muutos tehtiin puhtaasti opiskelijoiden toiveesta, mutta koronavirus halusi olla eri mieltä. Tätä kirjoitettaessa ei vielä tiedetä milloin Kemian kevät voitaisiin pitää, vai pidetäänkö se puhtaasti sähköisenä etäyhteyksien avulla, mutta tämä kirja julkaistaan joka tapauksessa. Seuraamme tilanteen kehittymistä.

Tämän vuoden teemaksi muotoutui aika luontevasti ”Sata lasissa”. Se kuvaa paitsi Turun yliopiston ja luonnontieteen ja tekniikan tiedekunnan yhteistä satavuotistaivalta, mutta myös kemian laitoksen tämän hetkistä tilaa. Meillä on projektipuolella enemmän ulkoista rahoitusta kuin koskaan ja samalla uuden laitoksen rakennuksen – Aurumin – suunnittelu etenee erittäin kiivaaseen tahtiin, työllistäen henkilökuntaa satojen ja tuhansien suunnittelutuntien verran.

Kemian kevät on edelleen opiskelijoiden juhla. Pääosissa ovat LuK- ja FM-vaiheen lopputöitä tekevät opiskelijat. Molemmilta kuulemme – toivottavasti – suomenkieliset esitykset ja FM-opiskelijat pääsevät loistamaan lisäksi posterinäyttelyssä. Tänä vuonna halusimme ottaa ohjelmaan parin vuoden tauon jälkeen myös väitöskirjatönteekijät. Heille lankesi nyt kolmen minuutin mittainen napakka esitys, jolla he saavat hienosti tiivistettyä oman tutkimuksensa pääkohdat kaikille ymmärrettävässä muodossa. He esiintyvät englanniksi, koska niin he tekisivät joka tapauksessa kansainvälisissä konferenssissa, jota Kemian kevät –tapahtuma heidän osaltaan simuloi. Mutta voi olla, että tässä muuttuneessa tilanteessa nämä esitykset jäävät pitämättä.

Ensimmäisen ja toisen vuoden opiskelijoille on ensiarvoisen tärkeää käydä kuuntelemassa paitsi opiskelijoiden esityksiä, niin myös tutkimusryhmien johtajien esittelyjä omista ryhmistään ja heidän tutkimusintresseistään. Tätä kautta on mahdollista – jos esiintyjät puhuvat niin että myös vähemmän varttuneet kemistit ymmärtävät – saada omaa opiskelun aikaista uravalintaa helpottavaa tietoa pääaineiden ja ryhmien opetuksesta ja tutkimuksesta. Toisen vuoden keväällä, Kemian kevät –tapahtuman ja erillisen LuK-työinfon jälkeen, opiskelijoiden tulee tehdä valinta kahden pääaineen ja niiden tarjoamien temaattisten moduulien välillä. Yleensä temaattinen moduuli tarkoittaa käytännössä tiettyä tutkimusryhmää tai ryhmiä eli opiskelijan olisi hyvä mieltää mikä on se tutkimusryhmä, joka tarjoaa hänelle mielenkiintoisimman opiskelu- ja urapolun, alkaen kolmannen vuoden LuK-työstä.

Kaikesta edellä mainitusta voidaan päätellä, että Kemian kevät –tapahtuma on tärkeä kaikille kemian laitoksessa opiskeleville tai työskenteleville. Tapahtumassa esiintyviä opiskelijoita ja heidän esityksiään voidaan kunnioittaa paitsi tulemalla paikalle, mutta myös esittämällä nasevia, mutta asiallisia kysymyksiä esitysten jälkeen. Kuten aina ennenkin, esitys ilman kysymyksiä on tulkittavissa huonoksi esitykseksi. Emmehän halua antaa esityksen pitäjille tällaista vaikutelmaa? Keksikäämme siis sopiva määrä kysymyksiä jokaisesta esityksestä, jotta saamme elävää keskustelua aikaan kemiasta. Tässä taidossa meillä kaikilla on kehittämisen varaa, joten otetaan myös esitysten kuunteleminen harjoituksen kannalta. Toisaalta, voi taas hyvin olla, että nykyisessä tilanteessa kysymykset jäävät vain kysyjien mieleen, jos tapahtuma järjestetään virtuaalisena.

Lopuksi haluan kiittää kaikkia tapahtuman järjestelyihin osallistuneita tahoja työstänne kemian laitoksen tärkeimmän vuosittaisen tapahtuman hyväksi. Suurin kiitos kuuluu kuitenkin erinomaisille opiskelijoillemme, ja heidän ohjaajilleen. Olette tehneet ison työn niin LuK- kuin erityisesti FM-vaiheen lopputöiden eteen. Toivottavasti voimme juhlia töitänne yhteisessä iltajuhlassa! Jos iltajuhla ja posterinäyttely pitää siirtää esimerkiksi kesäkuulle, niin sitten juhlimme niitä näytävästi silloin. Kukaan ei tätä kirjoitettaessa tiedä miten tämä kevät lopulta etenee, mutta toivottavasti tilanne rauhoittuu mahdollisimman nopeasti ja saamme Kemian keväänkin vietyä jollakin tekniikalla juhmalliseen loppuun asti.

## Jorinoiden perinne jatkuu

Kemian kevät –kirja uudistettiin vuonna 2015 nykyiseen formaattiinsa. Silloin aiempi lehtinen muuttui oikeaksi kirjaksi ja mukaan otettiin myös laitoksen väitöskirjatyöntekijöiden projektikuvaukset. Samalla FM-vaiheen opiskelijoiden raportteja laajennettiin 2-sivuisiksi, mallintamaan oikeita tieteellisen konferenssin julkaisunkaltaisia abstrakteja. Jokainen LuK-, FM- ja FT-vaiheen abstrakti varustettiin lisäksi kuvalla, joten Kemian kevät –kirjaa on voinut pitää kemian laitoksen vuosittaisena naamakirjana, johon voi aina palata, kun muisti alkaa pätkiä.

Uudistuksen myötä Kemian kevät –kirjaa alettiin käyttää myös yleisenä tiedonjakokanavana, koska kokemukseen perustuen voi sanoa, että tietoa ei työ- tai opiskelijayhteisössä jaeta koskaan liikaa. Tai jos sitä jaetaan, se ei koskaan enää myöhemmin löydy mistään, mistä sitä voisi katsoa uudelleen omaa muistiaan päivittääkseen. Tämän vuoksi aloin kirjoittaa osiota ”Johtajan jorinat” ja sen tarpeellisuus tuli osoitetuksi viimeksi viime vuonna, kun minulta kysyttiin, miksi kemian laitoksella ei koskaan pohdi tutkimuksensa profilointia. Sinällään hyvä ja asiallinen kysymys, mutta profilointia on Turussa tehty kemian suhteen jo reilusti yli 10 vuotta ja vuoden 2015 Kemian kevät –kirjassakin avauduin asiasta muutaman sivun verran. Jorinoiden suhteen voikin sanoa, että saa lukea, mutta ei ole pakko. Tässä välivaiheessa jorinat tulevat nyt tyypistetyssä muodossa, ensi vuonna sitten enemmän.

## Kemian kevät –kirjan ilme muuttui



Kemian kevät –toimikunta halusi muuttaa kirjan ilmettä, joka oli vuodesta 2009 lähtien noudattanut kevään ja tiedekunnan värisävyjä. Vihreä sävy muutettiin nyt valkoiseksi ja toivottavasti se on hyvä näin jatkossakin. Ilmeen raikastus valkopohjaiseksi tavoittelee myös mielikuvaa siitä, miten kemistin perusväri laboratoriossa on valkoinen. Samalla päivitimme kirjan graafista ilmettä, mutta näitä pieniä nyansseja tuskin huomaa, ellei osaa hakea. Sisällöltään kirja on kuten ennenkin, tietopaketti kemian laitoksen tutkimuksesta ja vähän opetuksestakin. Kirja ansaitsee edelleen paikkansa kirjajuhllyssä menneiden vuosien Kemian kevät –kirjojen vieressä.



## Ensin juhliitaan yliopistoa ja tiedekuntaa, sitten ...

Turun yliopisto on juhlinut tänä vuonna hienosti 100-vuotistaivaltaan. Samalla on juhlittu luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunnan yhtä pitkää matkaa. Tällä nimellä tiedekuntaa tietenkään ei ole tunnettu kuin pari vuotta ja pian edessä on erittäin suurella todennäköisyydellä uusi nimenmuutos, ehkä myös isompi rakenteellinen muutos.

Tätä kirjoitettaessa ei ollut vielä varmaa, mitä Turun yliopiston hallitus päättää 20.3. luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunnasta ja sen tulevaisuudesta. Selvää oli, että yliopistolla ja asiaa valmistelleella työryhmällä oli vahva tahtotila uuden teknillisen tiedekunnan perustamiseksi. Sen tueksi oli löydetty joukko perusteluja, sisältäen ison listan niistä negatiivisista vaikutuksista, joita yliopistolle seuraisi, jos uutta tiedekuntaa ei saataisikaan perustetuksi. Luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunta – sen dekaanisto ja laitosjohtajat – oli valmistellut oman yksityiskohtaisesti perustellun vastineensa asiasta ja löytänyt ratkaisun, jossa edellä mainituista negatiivisista perusteluista oli saatu muokattua vahvuuksia, tukemaan ajatusta nykyisen tiedekuntarakenteen vahvistamiseksi. Yliopistolla käytyjen avoimien keskustelutilaisuuksien kautta kävi kuitenkin ilmi, että tiedekunnan näkemys ei välttämättä olisi ratkaisevassa asemassa tiedekunnan tulevaisuudesta päätettäessä. Toivottavasti tulkinta oli väärä ja hallituksen päätöksensä syntyi sellainen ratkaisu, joka on omiaan vahvistamaan Turun yliopiston koulutus- ja tutkimuskenttää – lisäämättä toimintaan ylimääräisiä hallinnollisia kerroksia ja tehtäviä.

## Aurum valmistuu – oletko valmis?

Ensi vuonna voimme Kemian kevään yhteydessä toivottavasti juhlia Aurumin valmistumista ja olemme erittäin lähellä sinne muuttamista. Muuton pitäisi toteutua toukokuusta 2021 alkaen, mutta aikataulun ympärillä on vielä joitain epävarmuustekijöitä (vuonna 2017 kirjoitin, että muutto on kesällä 2020). Varmaa on, että Aurumin suunnittelu jatkuu vielä pitkälle vuotta 2020, toivottavasti rauhoittuen loppuvuotta kohti mentäessä.

Kun projektia neljä vuotta sitten aloitettiin, ei kenelläkään varmasti ollut aavistustakaan, kuinka paljon se tulee teettämään töitä meille kemisteille. Muun työn ohessa. On ollut suorastaan hämmästyttävää – ellei peräti hämmentävää – seurata, kuinka kemistiä on prosessin aikana pidetty lähes kaikkien alojen asiantuntijana. Tavallaan tietenkin ihan ymmärrettävä lähtökohta, mutta voisi Suomessa olla muitakin asiantuntijoita vaikkapa vetokaappien poistokanavien kemikaalinkestävyydestä tai lattiamateriaalien sopivuudesta tiettyihin tiloihin.

Aurumin suunnittelussa saavutettiin paitsi merkittäviä voittoja, niin kärsittiin myös kirveleviä tappioita. Henkilökunta on melko yksimielinen toimistotilojen onnistumisen suhteen; suurta monitilatoimistoa ei edelleenkään pidetä järkevänä ratkaisuna, mutta tämä taistelu ei ollut voitettavissa, koska tällä trendillä näitä tiloja nyt halutaan rakentaa. Aika näyttää miten tilat tulevat toimimaan.

Laboratoriotiloissakin on tiettyjä haasteita, mukaan lukien varastotilojen vähyys, mutta lähdetään siitä, että toiminta on mahdollista sopeuttaa myös näihin tiloihin. Ainakin se antaa loistavan mahdollisuuden päästä muuton yhteydessä eroon vuosikymmenien aikana kertyneestä ylijäämämaterialista, jota kukaan ei oikeasti tarvitse, edes pahana päivänä.

Ainakaan maisemista homma ei jää kiinni. Aurumissa koko kemian laitoksen tutkimustoiminta, pois lukien toisen kerroksen laitekeskus, tulee toimimaan samoissa viidennen kerroksen tiloissa. Alemmista kerroksista poiketen, viidennen kerroksen toimistovyöhyke on ympäröity koko seinän korkuisilla lasi-ikkunoilla, joista aukeavaa maisemaa voi jäädä ihaillemaan pidemmällekin iltaa (kuva ylhäällä). Näihin maisemiin tulee myös opiskelijoiden olohuone ”Student Lounge”, jolle voi tietty uskoa löytyvän paljon käyttöä. Kuvassa näkyvälle tasanteelle on myös tehty alustava varaus terassia varten. Sen rakentaminen vaan jäänee kemian laitoksen harteille. Saas nähdä.



## Metsätammi (*Quercus robur*) teemana Aurumin taideteoksessa



että pienimpiä yksityiskohtia kuten tammenterhoja työnty esiin valittujen neuvotteluhoitajien seinistä. Valmis teos kiillotetaan kullanhoidoiseksi, jolloin se sopii Aurumiin entistä paremmin. Teoksesta tulee loistava, lähtökohtaisesti ☺.

Valtion taideteostoimikunta valitsi salolaisen taiteilijan, Noora Schroderuksen *Quercus robur* –teemaisen taideteoksen toteutettavaksi Aurumiin. Teoksen materiaali on alumiinipronssia. Turkulaiseen maisemaan hyvin sopiva metsätammi kasvaa ala-aulassa, mutta ulottuu koko valoaulan rakenteiden läpi aina viidennen kerrokseen asti. Tammen runko ja oksat pilkottavat näkyviin aulan rakenteista eri kerroksissa, niin



## Laitekeskus – uuden konseptin luominen Aurumiin

Tulemme uudistamaan koko laitekeskuskonseptin Aurumiin siirryttäessä, nimineen päivineen. Laitekeskus ei tule olemaan jatkossa enää fyysisesti rajattu tila, jossa keskitytään vain NMR-analytiikkaan ja sitten siinä rinnalla tehdään vähäisessä määrin myös MS-analytiikkaa. Rakennamme Aurumin ”laitekeskuksesta” kokonaisuuden tai sateenvarjon, jonka alle tulee mahdollisimman laaja kirjo kemistien hallitsemaa huippuanalytiikkaa niin Turun yliopiston kuin Åbo Akademin kemian laboratorioista.

Uudistuksen tarkoituksena on paitsi tehostaa huippulaitteiden käyttöastetta, niin myös tarjota laitteita entistä laajemmin tutkijajoukon hyödynnettäväksi. Samalla tarjonta lisääntyy myös yrity maailman suuntaan, mistä ei voi olla kuin positiivisia sivunaisvaikutuksia kaikille osapuolille. Ideana on, että laitteiden käyttö maksaa, mutta loogisuuden vuoksi maksajana toimiikin käyttäjä tai paremminkin se taho, jolle analyysit tehdään. Tällä hetkellähän tilanne on osittain monimutkaisempi ja tilannetta on syytä selkeyttää.

Erittäin merkittävä asia – vaikkakaan ei helppo – on yhtenäisistä hinnoista sopiminen kullekin huippulaitteelle. Ajatuksena on, että sama analyysi on kaikille yliopistolaisille saman hintainen, mutta toki erilaisten analyysien kuuluu olla erihintaisia. Hintojen tulee kattaa käytöstä aiheutuneet todelliset kustannukset, jolloin jostain tietystä laitteesta huolta pitävän tutkimusryhmän ei tarvitse subventoida muita ryhmiä, vaan analyysikustannuksilla saadaan katettua myös laitteen huoltokustannukset. Mitä enemmän käyttöä, sitä paremmin tämä yhtiö toimii. Mitä vähemmän käyttöä, sitä turhempi laite ja silloin voi miettiä kannattiko laitetta ylipäänsä hankkia.

Analyysejä ei edelleenkään pääse tekemään kuka tahansa, vaan jokaisen huippulaitteen hyvinvointi taataan hyvin suunnitelluilla käyttäjäsopeimuksilla. Tämä vaatii hienovaraista lähestymistä, koska tutkimusryhmissä ”omiin” laitteisiin suhtaudutaan ymmärrettävän



omistavaisesti. Laitteet eivät yleensä kuitenkaan kuulu yhdenkään tutkimusryhmän omistukseen, joten ne pitää hyvällä suunnittelulla ja vielä paremmalla toteutuksella saada altistettua laaja-alaiseen huippututkimuksen eteenpäin viemiseen. Tästä yhtälöstä hyötyvät lopulta kaikki.

Entistä laajemmin ”laitekeskuksen” turvin meidän on myös mahdollista helpommin päästä mukaan infrastruktuurihankinnoissa niin tärkeille tiekartoille, kuin myös moniin muihin tieteiden välisiin yhteistyökuvioihin. Tätä työtä ja koko laitekeskusuudistusta eteenpäin viemään rekrytoimme laitekeskuksen uudeksi johtajaksi 1.4.2020 alkaen PhD Alex Dickensin. Alex siirtyy meille aiemmista työpaikoistaan Metabolomiikkakeskuksesta (Turun biotiedekeskus) ja Orionilta (Espoo). Hänen taustansa on etenkin metabolomiikassa ja massaspektrometriassa ja hän on tottunut operoimaan eri tieteenalojen välisillä rajapinnoilla. Hänellä on runsaasti raikkaita ajatuksia laitekeskuksen uudistamisesta ja uskomme näkevämme jo seuraavan puolen vuoden aikana – emme pelkkää puhumista – vaan myös jo konkreettisia toimia laitekeskuksen toiminnan kehittämisessä yllä kuvatuin ja muin keinoin.

## Bioanalyttisen laboratorion muuttaminen Aurumiin

Neuvottelemme parhaillaan Biolääketieteen laitoksella toimivan Bioanalyttisen laboratorion siirtymisestä Aurumiin. Välivaiheessa he siirtyvät Arcanumiin huhtikuussa 2020, mutta Aurumissa he voisivat muodostaa yhden osan uutta laitekeskuksen sateenvarjon alla toimivaa kokonaisuutta.

Bioanalyttinen laboratorio tekee pääasiassa LC-MS –analytiikkaa erilaisille lääketieteellisesti orientoituneille tahoille ja heidän erikoisuutenaan on GLP-status. Se asettaa heidän laboratorioilleen erityisvaatimuksia, joita yritämme nyt saada sovitettua Aurumin yhteyteen.

## Yliopisto-opettajien rekrytoinneista

Laitekeskuksen johtajan rekrytoinnin lisäksi olemme etenemässä kahden yliopisto-opettajan rekrytoinnissa. Ensimmäisenä täytettäneen detektioteknologian tutkimusryhmään sijoittuva analyttisen lääkekehityskemian yliopisto-opettajan tehtävä. Saimme siihen kuusi hyvää hakijaa, joista neljä on kutsuttu haastattelu- ja opetusnäyttekierrokselle.

Toinen yliopisto-opettajan tehtävä täytettäneen epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmään. Tämän tehtävän määrittely on vielä kesken, joten ei siitä sen enempää toistaiseksi.

## Muutoksia temaattisiin moduuleihin

Detektioteknologian tutkimusryhmän piti siirtyä jo aiemmin lääkekehityksen kemian pääaineeseen, mutta siirto toteutettiin nyt alkuvuonna 2020. Tämä vaikuttaa jonkin verran molempien pääaineiden temaattisiin moduuleihin. Moduulikuvaukset löytyvät tästä kirjasta lääkekehityksen kemian ja materiaalikemian pääaineiden esittelyjen yhteydestä.

Suurin muutos moduuleissa on se, että luonnonyhdistekemia luopui omasta moduulistaan ja toivotti detektioteknologian tervetulleeksi samaan moduuliin kanssaan, jolloin moduulin nimeksi muotoutui osuvasti bioanalyttinen kemia. Se kuvaa hyvin molempien tutkimusryhmien fokusta niin tutkimuksessa kuin opetuksessa. Uskomme opiskelijoidenkin nyt paremmin ymmärtävän mitä näissä ryhmissä oikeasti tehdään, siis bioanalyttistä kemiaa.

## Syventävien kurssien rytmitys

Syventävistä kursseista tulee aina välillä kysymyksiä, kuinka usein ne kemian laitoksella järjestetään, kun Pepistä tai muualta ei tahdo sitä tietoa helposti löytää. Niin se on tämän kuin monen muunkin asian kanssa, että aiemmin tämä tieto oli helposti löydettävissä laitoksen omilta sivuilta, mutta nyt sitä ei sitten välttämättä löydä mistään. Teemme parhaamme näiden kaikkien uudistusten luomien mahdollisten virhelähteiden korjaamiseksi, mutta kun saamme asiat kuntoon, niin ne muutetaan ja taas ollaan nollapistessä. Kamalaa ruikutusta, mutta tältä se välillä näiden järjestelmä- ja nett uudistusten keskellä tuntuu. Jos jokin asia toimii, se on pakko korjata.

Kemian laitoksen logiikka syventävien kurssien suhteen on helppo. Ne järjestetään säännöllisesti joka toinen vuosi. Sen kun muistaa, niin iloisena yllätyksenä tulee kaupan päälle tieto, että lääkekehityskemian core-kurssit sekä Rakenne & reaktiivisuus II, järjestetään joka vuosi.

## Kemian laitoksen asioista tiedottaminen: Instagram ja sähköposti edellä

Osa opiskelijoista ja henkilökunnasta on tietoisia, että kemian laitoksen ja tutkimusryhmien uutisista tiedotetaan laitoksen ja ryhmien Instagram-tileillä. Jokaisessa tutkimusryhmässä on ns. Instagram-vastaava, jonka tehtävänä olisi päivittää laitoksen tilille kemiaan linkittyviä ajankohtaisia asioita. Toistaiseksi näiden tehtävien hoitaminen on langennut yhden käden sormissa laskettavalle henkilömäärälle ja lisääktiivisuus ei olisi pahitteeksi.

Koska oma tutkimusryhmäni pakotti minut Instagram-käyttäjäksi vajaan kaksi vuotta sitten, en tunne ollenkaan huonoa omaatuntoa siitä, että ajattelen muidenkin varttuneiden tutkijoiden siihen kykenevän. Jokaisella on varmaan kännykkä ja muuta ei käytännössä tarvita. Siitä huolimatta jatkamme viestittelyä myös vanhanaikaisesti, esimerkiksi sähköpostitse. Hyvää kevättä kaikille!



Turku, 18.3.2020

Prof. Juha-Pekka Salminen, kemian laitoksen johtaja



## Tiistai 21.4.

### 9.00–11.55 Pääaineiden ja tutkimusryhmien esittelyt

9.00 Tapahtuman avaus (laitoksen johtaja, prof. Juha-Pekka Salminen)

#### *Lääkekehityksen kemian pääaineen esittely*

- 9.15 Lyhyt yhteenveto pääaineesta
- 9.25 Bio-orgaanisen kemian tutkimusryhmä
- 9.40 Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä
- 9.55 Detektioteknologian tutkimusryhmä
- 10.10 Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä

10.25 TAUKO

#### *Materiaalikemian pääaineen esittely*

- 10.45 Lyhyt yhteenveto pääaineesta
- 10.55 Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmä
- 11.10 Fysikaalisen kemian tutkimusryhmä
- 11.25 Materiaalikemian tutkimusryhmä

#### *Kemian opettaja, pääaineen esittely*

11.40 Kemian opettaja, pääaineen esittely

11.55 LOUNASTAUKO

### 13.30–13.50 Detektioteknologian tutkimusryhmän opiskelijat

- 13.30 Lyhyt esittely (yliopistonlehtori Harri Härmä)
- 13.35 LuK Titta Yli-Hollo

### 13.50–16.00 Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmän opiskelijat

- 13.50 Lyhyt esittely (prof. Juha-Pekka Salminen)
- 13.55 LuK Sebastian Andrejeff
- 14.10 FM Niko Luntamo
- 14.30 FM Mimosa Sillanpää
- 14.50 TAUKO
- 15.00 FM Matias Kari
- 15.20 FM Ilari Kuukkanen
- 15.40 MSc Alesia Levanova

## Keskiviikko 22.4.

### 9.00–10.30 Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmän opiskelijat

- 9.00 Lyhyt esittely (prof. Olof Solin)
- 9.05 LuK Pauliina Pihlavisto
- 9.20 LuK Juho Salonen
- 9.35 LuK Simo Salo
- 9.50 MSc Adeleh Zaferanloo
- 10.10 FM Krista Heikkilä

10.30 TAUKO

### 10.50–16.00 Bio-orgaanisen kemian tutkimusryhmän opiskelijat

- 10.50 Lyhyt esittely (prof. Pasi Virta)
- 10.55 LuK Hanni Haapsaari
- 11.10 LuK Ville Fock
- 11.25 LuK Josefiina Wallin
- 11.40 LuK Ville-Veikko Rämö
- 11.55 LuK Verner Saari

12.10 LOUNASTAUKO

- 13.10 LuK Milja Virtanen
- 13.25 LuK Edla Kerminen
- 13.45 LuK Maaret Toiviala
- 14.00 LuK Erika Mesimäki

14.15 TAUKO

- 14.35 LuK Julia Eloranta
- 14.50 LuK Suvituuli Poikonen
- 15.05 MSc Venera Dyunyasheva
- 15.20 FM Niko Lehtinen
- 15.40 FM Mika Sulkanen

## Torstai 23.4.

### 9.00–10.20 Kemian opettajaopiskelijat

- 9.00 Lyhyt esittely (yliopistonlehtori Veli-Matti Vesterinen)  
9.05 LuK Mari Nurmio  
9.20 LuK Mikko Kinnari  
9.35 LuK Johanna Helin  
9.50 LuK Tommi Katila  
10.05 FM Suvisaara Holmström
- 10.20 TAUKO

### 10.40–11.50 Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmän opiskelijat

- 10.40 Lyhyt esittely (yliopistonlehtori Mika Lastusaari)  
10.45 LuK Saara Pellinen  
11.00 LuK Samu Raunio  
11.15 LuK Nina Rehnberg  
11.30 FM Kirsi Miller
- 11.50 LOUNASTAUKO

### 13.30–16.00 Materiaalikemian tutkimusryhmän opiskelijat

- 13.30 Lyhyt esittely (prof. Carita Kvarnström)  
13.35 LuK Pulmu Eloranta  
13.50 LuK Aliisa Pakarinen  
14.05 LuK Emilia Hautala  
14.20 LuK Elli Virtanen
- 14.35 TAUKO
- 15.00 MSc Ibrahim Kamara  
15.20 MSc Jesse Ponkamo  
15.40 FM Mia Turunen

## LÄÄKEKEHITYKSEN KEMIAA: HALUATKO LÖYTÄÄ, TUNNISTAA, KVANTITOIDA, SUUNNITELLA, VALMISTAA TAI KOHDENTAA UUSIA LÄÄKEAINEITA, TAI KEHITTÄÄ NIILLE ANALYYSIMENETELMIÄ?

Prof. Pasi Virta, prof. Olof Solin, yliopistonlehtori Harri Härmä ja prof. Juha-Pekka Salminen

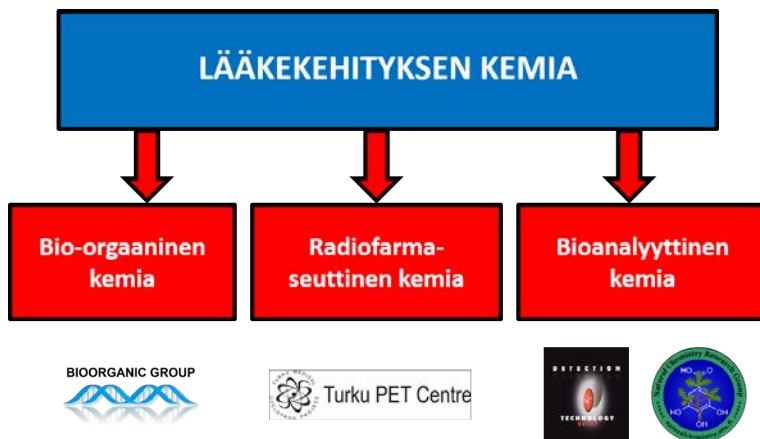
*Lääkekehityksen kemian pääaine, Orgaanisen kemian ja kemiallisen biologian laboratorio, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto*

s-posti: [pasi.virta@utu.fi](mailto:pasi.virta@utu.fi), [olof.solin@utu.fi](mailto:olof.solin@utu.fi), [harri.harma@utu.fi](mailto:harri.harma@utu.fi) ja [j-p.salminen@utu.fi](mailto:j-p.salminen@utu.fi)

Lääkekehityksen kemian pääaineessa opiskelija varustetaan työelämän kannalta relevanteilla teoreettisilla ja käytännön taidoilla yhdessä tai useammassa seuraavista aihepiireistä: uusien lääkeaineiden suunnittelu ja synteesi, lääkeaineiden radioleimaus ja kohdentaminen, sekä lääkeaineiden kartoitus, menetelmäkehitys ja aktiivisuuden määrittäminen. Lisäksi opiskelija oppii käyttämään moderneja kvalitatiivisia ja kvantitatiivisia analyysimenetelmiä.

*Suomenkielinen ja kansainvälinen maisteriohjelma neljän tutkimusryhmän yhteistyönä*

Lääkekehityksen kemian opetus ja tutkimus tapahtuu neljässä tutkimusryhmässä: Bio-organisen kemian tutkimusryhmä (<http://bioorganic.utu.fi/>), detektioteknologian tutkimusryhmä (<https://sites.utu.fi/reagentanalytics/>) ja luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä (<http://naturalchemistry.utu.fi/>) toimivat Arcanumissa, kun taas radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä (<http://turkupetcentre.fi/radiochemistry-and-targetry/>) toimii TYKS:in kupeessa, PET-keskuksessa. Opetuspuolella bio-organaisella ja radiofarmaseuttisella kemialla on oma temaattinen orientaationsa, kun taas bioanalyttisen kemian opetus järjestetään yhteistyössä detektioteknologian ja luonnonyhdistekemian ryhmien kesken (kuva 1).



**Kuva 1.** Lääkekehityksen kemian opiskelijat valitsevat yhden kolmesta temaattisesta erikoistumisalasta, jolle he syvenyvät kurssien ja laboratorioprojektien kautta. Näillä aloilla on lisäksi yhteisiä kursseja ja erikoistua voi myös kahta alaa sovitusti yhdistelemällä. Bioanalyttisen kemian opetus järjestetään valmiiksi kahden tutkimusryhmän yhteistyönä.

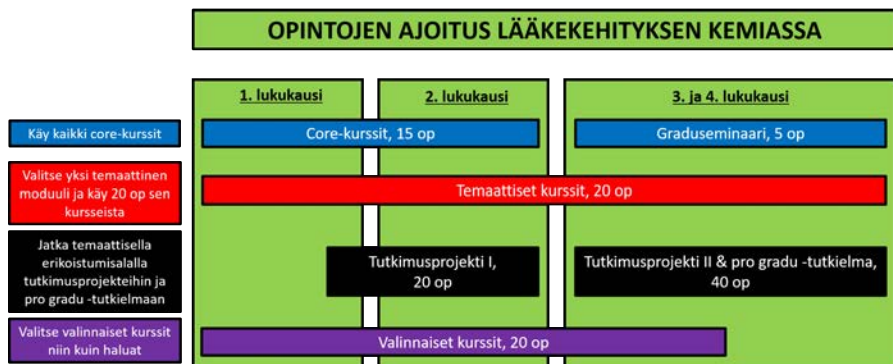
### **Maisterivaiheen valintoja on hyvä miettiä jo toisena vuonna LuK-työaihetta valittaessa**

Lääkekehityksen kemian pääaineen kolme temaattista erikoistumisalaa lähestyvät lääkekehityksen kemian eri perspektiiveistä. Bio-organisessa ja radiofarmaseuttisessa kemiassa potentiaalisia lääkeyhdisteitä opitaan valmistamaan ja kohdentamaan orgaanisen synteessin kautta. Bioanalyttisessä kemiassa potentiaalisille lääkeaineille kehitetään analytyttisiä menetelmiä ja yhdisteitä kartoitetaan analyysimenetelmien avulla.

Nämä kaikki kolme erikoistumisalaa ovat edustettuina omina vaihtoehtoina jo LuK-työtä valittaessa. Onkin suositeltavaa miettiä jo tuossa vaiheessa mille lääkekehityksen kemian alalle haluaa maisterivaiheessa erikoistua, jotta LuK-työ ja –tutkielma antaisivat vankan sysäyksen oikeaan suuntaan jo kolmannen opiskeluvuoden aikana. Ei ole huono ajatus käydä juttelemassa asiasta tutkimusryhmien johtajien kanssa, jos LuK-vaiheen valinnoissa on kysyttävää.

### **Maisterivaiheen opintojen ajoitukseen uusi, entistä selkeämpi rytmi**

Lääkekehityksen kemian opetus järjestetään opiskelijaystävällisesti niin, että kaikille pakolliset ns. core-kurssit järjestetään joka vuosi. Temaattiset kurssit sen sijaan järjestetään joka toinen vuosi, jolloin ne on mahdollista suorittaa tasaisesti kahden vuoden aikana. Opintojen ajoittamisessa pyritään siihen, että ensimmäisenä vuonna on mahdollista suorittaa 40 op verran kursseja + Tutkimusprojekti I, jolloin toiselle vuodelle kursseja jää vain 15 op verran. Näin toisena vuonna on mahdollista keskittyä Tutkimusprojekti II:een ja siihen pohjautuvaan pro gradu –tutkielmaan sekä näitä molempia tukevaan Graduseminariin (kuva 2).



**Kuva 2.** Lääkekehityksen kemian maisterivaiheen opinnot kestävät kaksi lukuvuotta. Ensimmäisenä vuonna keskitytään kursseihin ja Tutkimusprojekti I:een. Toisena vuonna pääpaino on Tutkimusprojekti II:ssa ja siihen pohjautuvassa pro gradu –tutkielmassa, joka kirjoitetaan tieteellisen julkaisun muotoon. Opintoja selkeyttää ennen neljättä vuotta tehtävä FM-HOPS.

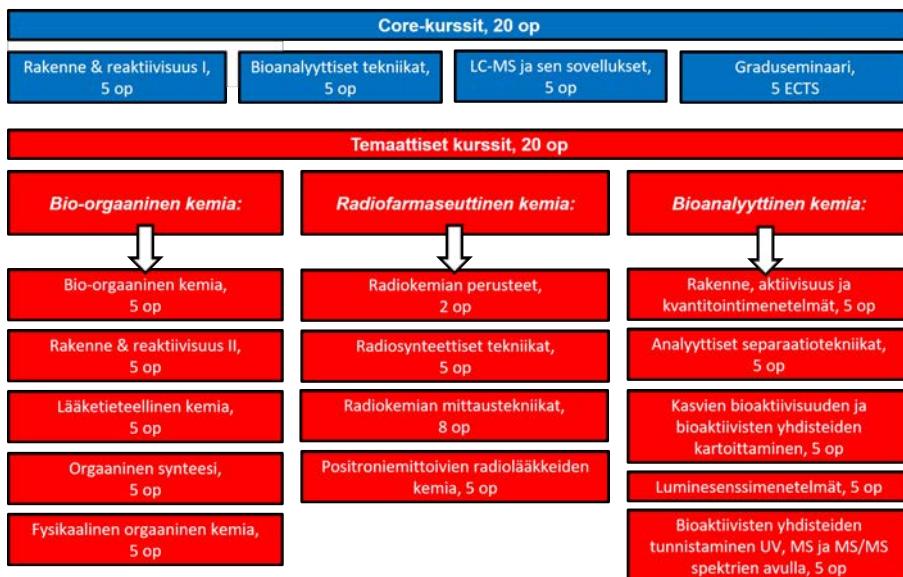
### **Temaattiset kurssit sekä Tutkimusprojektit I ja II edustavat valittua erikoistumisalaa**

Bio-organisen kemian, radiofarmaseuttisen kemian ja bioanalyttisen kemian core-kurssien ja temaattisten kurssien (kuva 3) sisältö on suunniteltu niin, että ne tukevat opiskelijan erikoistumista näille aloille, tarjoten samalla teoreettisen ja käytännöllisen tietoperustan, josta olisi mahdollisimman paljon hyötyä opiskelijan jatkaessa jatko-opintoihin tai työelämään. Tutkimusprojekti I ja/tai II ja jälkimmäiseen liittyvä pro gradu on mahdollista tehdä yhteistyössä yliopiston ulkopuolisessa yrityksessä, jos se on erikoistumisalaa vetävän professorin tai yliopistonlehtorin näkemyksen mukaan opiskelijan etujen mukaista. Nämä neuvottelut käydään tapauskohtaisesti yrityksen, opiskelijan ja tutkimusryhmän edustajan kesken.

### Tyypilliset työtehtävät valmistumisen jälkeen

Lääkekehityksen kemian pääaineesta valmistuvat maisterit jatkavat tyypillisesti joko jatko-opintoihin tai siirtyvät töihin teollisuuteen. Tutkijan uralle erikoistuvien on mahdollista anoa jatko-opintopaikkaa Turun yliopiston tutkijakoulusta, jossa lääkekehityksen kemian opiskelijat voivat saada paikan joko Fysikaalisten ja kemiallisten tieteiden tohtoriohjelmasta tai Lääkekehityksen tohtoriohjelmasta. Jos tavoittelet tätä vaihtoehtoa, sinulle on eduksi, jos suoritat pääaineen opinnot erinomaisin arvosanoin. Jatko-opintoasia kannattaa ottaa puheeksi tutkimusryhmää vetävän professorin tai yliopistonlehtorin kanssa jo hyvissä ajoin, esimerkiksi Tutkimusprojekti II:n aikana.

Teollisuudessa varsin tyypillisiä työpaikkoja Turun seudulla ovat Bayer, Orion, Wallac sekä pienemmät bioalan yritykset. Työtehtävistä yleisimpiä ovat tuotekehityskemisti, laadunvalvontakemisti, tutkija, analyysikemisti ja bioanalytiikko.



**Kuva 3.** Lääkekehityksen kemian kurssirakenne on hyvin selkeä. Osaa listatuista temaattisista kurseista on mahdollista vaihtaa erikoistumisalojen välillä tai Åbo Akademin kemian tarjoamien kurssien kanssa. Valinnaisiin opintoihin löytyy runsaasti vaihtoehtoja myös Biolääketieteen laitoksen Drug Discovery and Development –maisteriohjelman kurssitarjonnasta.

### Lisätietoja lääkekehityksen kemian tutkimusryhmistä löytyy sivuilta 18-85

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä on esitelty tarkemmin sivuilla 80-85, radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä sivuilla 63-66, detektioteknologian tutkimusryhmä sivuilla 18-22 ja luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä sivuilla 30-35.

## MATERIAALIKEMIA – RATKAISUJA JA YMMÄRRYSTÄ IHMISKUNNAN ONGELMIIN

Prof. Carita Kvarnström, yliopistonlehtori Mika Lastusaari, yliopistonlehtori Ari Lehtonen, prof. Jukka Lukkari

Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

s-posti: [carita.kvarnstrom@utu.fi](mailto:carita.kvarnstrom@utu.fi), [mika.lastusaari@utu.fi](mailto:mika.lastusaari@utu.fi), [ari.lehtonen@utu.fi](mailto:ari.lehtonen@utu.fi),  
[jukka.lukkari@utu.fi](mailto:jukka.lukkari@utu.fi)

Materiaalikemiassa selvitetään moderneja tutkimus- ja analyysimenetelmiä käyttäen, mitä ominaisuuksia materiaaleilla on, miksi materiaaleilla on tiettyjä ominaisuuksia, mitä ominaisuuksia materiaaleilta eri sovelluksissa edellytetään sekä mihin käyttötarkoituksiin materiaaleja voi käyttää. Materiaalikemian pääaineessa opiskelija voi syventyä tarkemmin joko sovellettuun materiaalikemiaan, fysikaaliseen materiaalikemiaan tai epäorgaaniseen materiaalikemiaan. Koulutuksen tavoitteena on antaa hyvät tiedot *orgaanisista, epäorgaanisista ja hybridimateriaaleista, niiden ominaisuuksista, rakenteesta ja sovelluksista, materiaalien tutkimusmenetelmistä, metallien kemiasta ja kemian teoreettisesta perustasta sekä opettaa yleisesti ajattelemaan kemiaa teoreettisten mallien avulla*. Opintosisällöt ovat luonteeltaan varsin monitieteellisiä ulottuen fysiikasta biologiaan, geologiakaan unohtamatta. Mikäli olet monipuolisesti kiinnostunut luonnosta ja sen ilmiöistä, tämä on sinun alasi!

Materiaalikemian pääaine on tiiviisti yhteydessä englanninkieliseen maisteriohjelmaan, **MDP in Physical and Chemical Sciences, Materials Chemistry**. Kansainvälisistä opiskelijoista johtuen kaikki maisterivaiheen kurssit luennoidaan englanniksi.

### **Opintojen sisältö**

Opiskelijalle itselleen on hyödyllistä jo opintojen alusta alkaen miettiä, mikä kemian osa-alue olisi kiinnostavinta. Viimeistään kolmannen opintovuoden alussa, valittaessa aihetta LuK-työlle ja – tutkielmalle, voi opiskelija suuntautua oman kiinnostuksensa mukaisesti.

Materiaalien ja pintojen fysikaalisessa kemiassa (*Physical Chemistry of Materials and Surfaces*) materiaalien ominaisuuksia tutkitaan erilaisten fysikaaliskemiallisten mallien avulla käyttämällä sekä kokeellisia tutkimusmenetelmiä että teoreettisia lähestymistapoja.

Epäorgaanisessa materiaalikemiassa (*Inorganic Materials Chemistry*) syvennyttään epäorgaanisten ja hybridimateriaalien valmistukseen ja tutkimusmenetelmiin sekä epäorgaanisten yhdisteiden ja materiaalien hyödyntämiseen erimerkiksi terveys- ja energiateknologioissa sekä katalyysissä.

Soveltavassa materiaalikemiassa (*Applied Materials Chemistry*) tutkittavia materiaaleja ovat esimerkiksi energiateknologian materiaalit, elektroniikan ohutkalvomateriaalit, polymeerit, orgaaniset puolijohteet, hiilimateriaalit, hybridimateriaalit, nanopartikkelit ja itsejärjestäytyvät nanorakenteet.

**Kaikki pääaineen opiskelijat** suorittavat oppiaineen *perusmoduulin (Core Module)*, johon kuuluu luentokursseja sekä *Pro gradu -seminaari (Thesis Seminar)*.

### CORE MODULE (20 ECT)

- Master Thesis seminar 5 ECT
- Chemistry of Metals 5 ECT
- Experimental techniques for materials characterization 5 ECT
- Functional Materials 5 ECT

Tämän lisäksi on valittava *joku kolmesta aihemoduulista eli temaattisesta moduulista (Thematic Modules)*, jotka kuvastavat opetuksen ja tutkimuksen tarkempaa jakautumista. Kussakin temaattisessa moduulissa on *useita vaihtoehtoisia kursseja, joita on suoritettava 20 op:n verran*.

### THEMATIC MODULES (20 ECT)

- Physical Chemistry of Materials and Surfaces
- Inorganic Materials Chemistry
- Applied Materials Chemistry

Lisäksi suoritetaan *20 op:n verran vapaavalintaisia kursseja (Optional Module)*. Ne voidaan valita vapaasti muista oppiaineen temaattisista moduuleista, toisen oppiaineen (kemiassa bio-organisen kemian, luonnonyhdistekemian ja radiofarmaseuttisen kemian, fysiikan, biokemian, geologian, biokemian) moduuleista, kieliopinnoista, Åbo Akademin tarjoamista kursseista, muiden yliopistojen tarjoamista opinnoista.

### OPTIONAL MODULE (20 ECT)

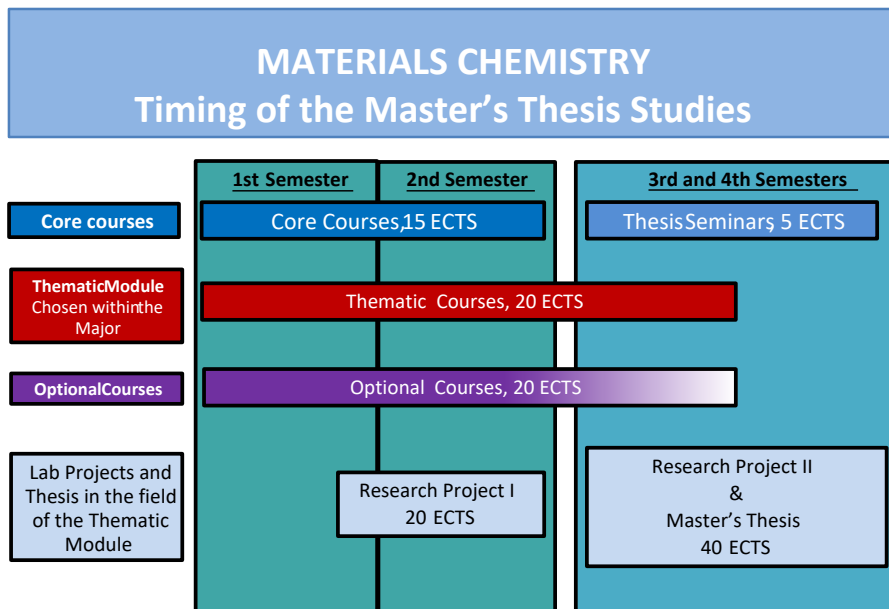
- Other Thematic Modules
- Other Majors
- Other Faculties and Universities
- Language courses
- Etc..

Tärkeä osa maisterivaiheen opintoja ovat *Tutkimusprojektit I (20 op) (Research Project I)* sekä *Tutkimusprojekti II ja pro gradu –tutkielma (Research Project II & Master’s Thesis, 40 op)*.

- Research project I (20 ECT)
- Research project II & Master’s thesis (40 ECT)



Maisteriopinnot ovat kaksivuotiset ja *opintojen ajoitus on esitetty ao. kuvassa*. Temaattisten moduulien kurssit luennoidaan useimmiten joka toinen vuosi. On hyvä suorittaa suuri osa luentokursseista ensimmäisen opintovuoden aikana, jolloin toisena vuonna pääsee keskittymään Tutkimusprojekti II:en ja pro gradu -tutkielmaan. Tutkielma kirjoitetaan tieteellisen artikkelin muotoon ja sen kirjoittamisen tueksi järjestetään graduseminaari. Opiskelijan on syytä tehdä opintojen FM-HOPS ajoissa jo ennen maisterivaiheen opintojen aloittamista. Tutkimusprojektit ja tutkielmaan liittyvä kokeellinen työ on mahdollista tehdä myös yliopiston ulkopuolella, mutta tämä vaatii aina neuvotteluja asianomaisten vastuuolettajien kanssa.



### Maisterin jälkeen...

Valmiit maisterit voivat siirtyä jatko-opintoihin tai työtehtäviin teollisuudessa ym. yrityksissä ja yhteisöissä. Turun seudulla on suuri kemian teollisuuden keskittymä ja paljon pieniä start up – yrityksiä, jotka tarjoavat työpaikkoja kemisteille. Jatko-opinnoista kiinnostuneiden kannattaa hyvissä ajoin ottaa yhteyttä mahdolliseen ohjaajaan, jolloin tutkimussuunnitelma- ja rahoitusasioita voidaan rauhassa miettiä. Rahoitusta jatko-opintoihin tarjoavat Turun yliopiston tutkijakoulut, mm. fyysikaalisten ja kemiallisten tieteiden tohtoriohjelma, tutkimusprojektit sekä useat säätiöt. Jatko-opintoihin tähtäävän kannattaa pyrkiä suorittamaan opintonsa mahdollisimman hyvin arvosanoin.

Ennen kaikkea, ota rohkeasti henkilökuntaa hihasta kiinni, jos sinulla on asiaa, emme me pure.

## KEMIAN OPETTAJAKSI OPISKELEMINEN

Yliopistonlehtori Veli-Matti Vesterinen

*Opetuslaboratorio*

*Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto*

*s-posti: [veli-matti.vesterinen@utu.fi](mailto:veli-matti.vesterinen@utu.fi)*

Kemian opettajan tutkinto-ohjelmassa opintonsa suorittaneet opettajat saavat pätevyuden kemian aineenopettajaksi peruskouluun, lukioon sekä ammattikoulutukseen. Valmistuneet ovat kemian opetuksen ammattilaisia, jotka osaavat laaja-alaisesti kemiaa sekä hallitsevat erityisesti kemian opetukseen ja oppimiseen liittyvät kysymykset. Suomessa peruskoulujen ja lukioiden opetussuunnitelmat on laadittu suhteellisen väljästi, jolloin opettajalla on suuri vastuu sekä opetusmenetelmistä että opetuksen sisällöstä. Tämä edellyttää kemian aineenopettajilta laajaa tietämystä kemian oppimisesta ja opetuksesta, kemian eri aloista ja niillä käytettävistä tutkimusmenetelmistä sekä kemian yhteiskunnallisesta merkityksestä. Tämä seikka otetaan koulutuksessa huomioon siten, että kemian opetuksen ja oppimisen opinnot tapahtuvat jo kandidvaiheesta saakka rinnakkain kemian opintojen kanssa. Tällä tavoin aineenhallinnasta muodostuu yhdessä kasvatustieteellisen tiedon ja taitojen kanssa opetuksessa vaadittava elävä kokonaisuus.

### **Kemian opetuksen suuntaavat opinnot**

Tutkimuksellinen laboratoriotyöskentely on keskeinen osa kemian opetusta ja oppimista. Kemian opettajuuteen suuntaavat opinnot aloitetaan kursilla Tutkimuksellinen kemian opetus (5 op), jossa tutustutaan kokeellisuuden ja tutkimuksellisuuden roolin kemian oppimisessa ja opetuksessa. Keskeinen osa tätä kurssia on myös opetusharjoittelu, joka toteutetaan osana laitoksen koulu- ja lukio-yhteistyötä.

Aineenopettajan opinnot sisältävät kemian ja kemian opetuksen opintojen lisäksi myös toisen opetettavan aineen opintoja sekä opettajan pedagogisia opintoja. Sivuaineista suosituimmat ovat matematiikka ja fysiikka, mutta yhä useampi on opiskellut lisäksi myös muita luonnontieteitä kuten biologiaa tai maantiedettä. Opettajan pedagogiset opinnot suoritetaan LuK-tutkinnon jälkeen osana maisteriopintoja neljäntenä opiskeluvuonna.

Kemian aineenopettajakoulutuksessa LuK-tutkinnon laajuus on 180-opintopistettä. Opintoihin sisältyvät kuuluu seuraavat kokonaisuudet:

- Kemian sekä kemian opetuksen opinnot (80 op)
- Toisen opetettavan aineen opintoja (60 op)
- Kieli ja viestintäopinnot (10 op)
- Muita opintoja (30 op)

Maisteriopinnat kemian opettajan tutkimusohjelmassa sisältävät tutkimusprojektin ja pro gradu -tutkielman lisäksi useita muita kemian opetukseen liittyviä kursseja. Useimmat näistä kursseista järjestetään yhteistyössä tiedekunnan muun laitosten kanssa tai muiden yliopistojen kanssa. Esimerkiksi Kemia, opetus ja tutkimus (5 op) -kurssi järjestetään yhteistyössä Helsingin yliopiston kanssa. Viimeisenä opiskeluvuonna suoritettava kurssi sisältää myös kenttäosion, joka järjestetään keväisin jonkin kurssin järjestämisessä mukana olevan yliopiston tutkimusasemalla. Tiedekunnan kanssa yhteistyössä järjestettävillä kursseilla aiheina ovat esimerkiksi sähköiset oppimisympäristöt ja ylioppilaskoe sekä kestävä kehityksen kasvatus.

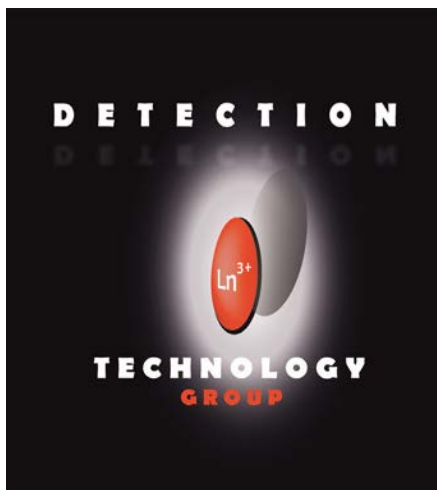
Kemian opettajan tutkinto-ohjelmassa maisteriopintojen laajuus on 120-opintopistettä ja ne sisältävät seuraavat kokonaisuudet:

- Kemian opettajan pro gradu -tutkielma (20 op)
- Kemian sekä kemian opetuksen syventävät opinnot (40 op)
- Opettajan pedagogiset opinnot, aineenopettajakoulutus (60 op)

### **Työllistyminen ja jatko-opinnot**

Valmistuminen kemian opettajan tutkinto-ohjelmasta antaa pätevyyden toimia aineenopettajana peruskouluissa, lukioissa sekä ammatillisessa koulutuksessa. Valtaosa valmistuneista työllistyykin opettajan tehtäviin. Valmistuneita työllistyy kuitenkin myös erilaisiin kemian tai opetuksen ja oppimisen asiantuntijatehtäviin. Opinnot antavat myös jatko-opintokelpoisuuden ja kemian opetuksen ja oppimisen tutkimuksesta kiinnostuneet voivat jatkaa opintojaan väitöskirjatutkijoina.

# DETEKTIOTEKNOLOGIAN TUTKIMUSRYHMÄ



## Uudet menetelmät lääkeainekehitykseen

Dos. Harri Härmä

*Detektioteknologian tutkimusryhmä  
Lääkekehityksen kemia  
Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: harri.harma@utu.fi*

*Detektioteknologian tutkimusryhmä* (Detection Technology Research Group) kehittää täysin uudenlaisia homogeenisiä analyysimenetelmiä mm. lääkeainekehitykseen, tehoseulontaan ja diagnostiikkaan. Tutkimuksemme lähtökohtana on menetelmän uutuusarvo, yksinkertaisuus ja edullisuus. Nämä ns. mix-and-measure tyyppiset määritysratkaisut ovat usein huomattavasti vaikeampia kehittää kuin pesuun tai erotukseen perustuvat menetelmät, koska näytekomponentteja ei erotella havainnoinnin helpottamiseksi. Tarkoituksena on aina kehittää uniikkeja käytännönläheisiä sovelluksia, joilla on todellista teollista ja tutkimuksellista käyttöä. Tämän vuoksi teemme tiivistä yhteistyötä alan ammattilaisten ja yritysten kanssa.

### Tutkimusryhmä:

Dos. Harri Härmä  
FT Kari Kopra (Akatemiatutkija)  
FM Ville Eskonen (tohtorikoulutettava)  
FM Emmiliisa Vuorinen (tohtorikoulutettava)  
FM Salla Valtonen (tohtorikoulutettava)  
LuK Titta Yli-Hollo  
Opiskelijat



Kehittämämme menetelmät perustuvat pääosin erittäin herkkään luminesenssin havainnointiin. Menetelmiä sovelletaan tärkeisiin biokemiallisiin kohteisiin kuten syövän sekä proteiinilääkkeiden karakterisointiin ja seulontaan. Määrityskehitys jakautuu eri työvaiheisiin, joissa hyödynnetään laajasti eri menetelmiä. Tyypillisesti, leimamolekyylit konjugoidaan kohdemolekyyleihin (1) ja konjugaatit erotellaan matala/korkeapainekromatografisia erotusmenetelmiä käyttäen lähtöaineistaan (2). Tämän jälkeen lopulliset molekyylit karakterisoidaan käyttäen olemassa olevia tekniikoita (3). Leimakonjugaatteja puolestaan käytetään varsinaisten luminesenssimenetelmien kehityksessä (4) ja niiden toimintaa verrataan standardimenetelmiin (5).

Kehitystyössämme on kaksi päälinjaa:

1. Bioaffiniteettiin perustuvat analyysitekniikat biokemiallisille lääkekohteille.
2. Analyttiset menetelmät biomolekyylien fysikaalisten ominaisuuksien karakterisointiin.

(Bio)analyttisten menetelmien taitava käyttö ja kehitystyö ovat selkeästi talousalueemme kantavia voimavaroja ja yritysten suurin yksittäinen työtehtävien osaamisalue kemian näkökulmasta. Ryhmämme teknologiat ja kehitystyö antavat analytiikan perusasioiden sekä detektioteknologioiden osaamisen kautta hyvät taidot ja lähtökohdan talousalueellamme oleville työnantajille kuten Wallac, Bayer, Orion, Radiometer, Eurofins, Abacus ja Syrinx Bioanalytics.

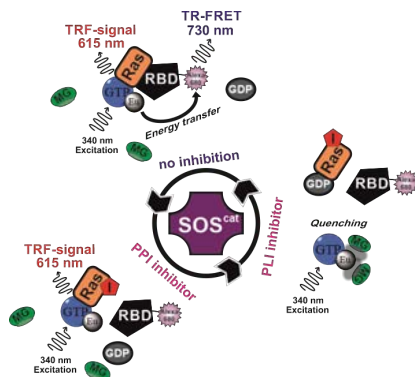
### Bioaffiniteettiin perustuvat analyysitekniikat biokemiallisille lääkekohteille

Luminesenssimenetelmät ovat ensisijaisesti käytettäviä detektioteknologioita uusien lääkeaineiden tehoseulonnassa. Optinen luenta on yksinkertaista, edullista ja nopeaa soveltuvin hyvin satojen tuhansien tai jopa miljoonien pienmolekyylien seulontaan. Homogeeninen mTR-FRET-teknologiamme perustuu sitoutumattoman leimatun molekyylin luminesenssisignaalin sammutukseen liuoksessa, kun taas sitoutunut leimattu molekyyli tuottaa luminesenssia. Teknologiaalla erotellaan kohteeseen sitoutuneet lääkeainekandidaatit liuoksessa ilman sitoutuneen ja sitoutumattoman leimatun molekyylin separaatiota esim. kromatografisesti. Teknologiaa on kehitetty lääkeaineseulontaan mm. proteiinien ja nukleiinihappojen sekä näihin vaikuttavien lääkeainekandidaattien mittaamiseksi.

Biologiset lääkeaineet (biologics) ovat tuotteita, jotka on tuotettu elävissä organismeissa tai sisältävät elävien organismien komponentteja. Näitä ovat esim. sokerit, proteiinit, nukleiinihapot ja niiden yhdistelmät. Immuunijärjestelmän vasta-aineet ovat tyypillisiä biologisia lääkeaineita ja niitä käytetään myös yleisesti sitojamolekyyleinä bioanalytiikassa. Detektioteknologian tutkimusryhmä käyttää ja kehittää biologisia lääke- ja sitojamolekyyliä ja hyödyntää niitä uusien määritysmenetelmien kehittämiseksi.

### Syövän analytiikkaa

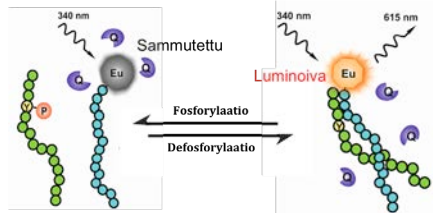
Biologisen tiedon määrä liittyen lukuisiin sairaustiloihin kuten syöpään on ollut voimakkaassa kasvussa viime vuosina. Lisääntynyt tieto on seurausta analyttisten menetelmien kehityksestä ja se on johtanut aiemmin lääkinnällisesti mahdottomina pidettyjen kohdemolekyylien uudelleen arviointiin. KRAS on yksi uudelleen herätetyistä kohdemolekyyleistä, koska sen mutatoituneet muodot ilmenevät noin 30% kaikista syövästä. KRAS toimii molekyylikytkimenä säädellen solun toimintoja sitoutuessaan GTP tai GDP molekyyliin ja tämän seurauksena myös toisiin proteiineihin.



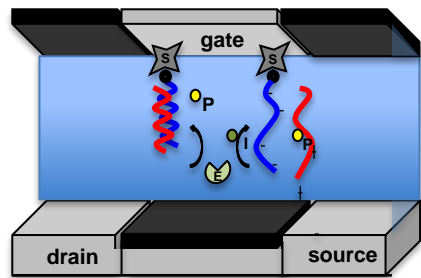
Ryhmämme on kehittänyt lukuisia menetelmiä KRAS aktiivisuuden, interaktioiden ja signaalointiin liittyvien reaktioiden havainnointiin. Menetelmät perustuvat pääosin lantanidileimattujen pienmolekyylien ja peptidien sitoutumisen aiheuttaman signaalin muutoksen havainnointiin. Eri menetelmien kehitys on tehty yhteistyössä esimerkiksi NIH (USA), Uni. Luxemburg ja Uni. Zürich (Sveitsi) kanssa, ja työn pohjalta on jatkokehitetty menetelmiä laaja-alaisempaan solun signaaloinnin analyysiin, Uni. Houston (USA), Uni. Cincinnati (USA) ja Keio Uni. (Tokyo, Japani).

### Proteiinien jälkitranslaation modifikaatiot

Entsymaattiset proteiinien jälkitranslaationaaliset modifikaatiot ovat elintärkeitä säätelymekanismeja soluissa. Tärkeimpiä modifikaatioita ovat mm. fosforylaatio, asetylaatio, glykosylaatio ja ubikitinaatio, jotka määrittävät mm. solun signaalointia ja proteiinien hajoitusta. Nykyisin modifikaatiot tai modifikaatioryhmät määritetään spesifisesti eri menetelmillä. Useimmat näistä menetelmistä soveltuvat lääkeainekehitykseen ja uusien lääkeaine-molekyylien etsintään. Ryhmämme on kehittänyt homogeenisen tehoselontamenetelmän, jolla voidaan universaalisti mitata monta eri jälkitranslaatiomodifikaatiota eikä vain yksittäistä modifikaatiota tai modifikaatioryhmää. Menetelmässä peptidien välisetvuorovaikutukset muuttuvat modifikaatioiden ilmenemisestä johtuen, aiheuttaen luminesenssisignaalin muutoksen riippuen siitä ovatko peptidit sitoutuneena vai erillisinä liuoksessa. Teknologiaa on sovellettu usean erimodifioivan entsyymin inhibition ja aktiivisuuden mittaamiseen ja kehitystyö jatkuu uusien menetelmän lähestymistapojen parissa.



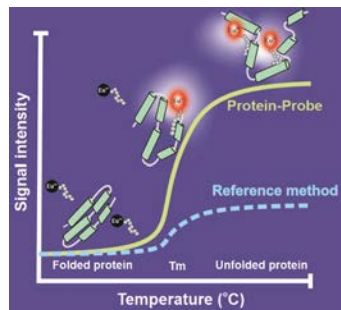
Yleisesti määritysmenetelmien absoluuttisena herkkyysrajana voidaan pitää yksittäistä molekyyliä. Tämän herkkyysrajan saavuttaminen liuoksessa on kuitenkin erittäin hankalaa ilman kalliita erikoislaitteita. Olemme tehneet yhteistyötä Uni. Bari (Italia) ja Åbo Akademin kanssa jälkitranslaatiomenetelmän kehittämiseksi yksittäismolekyylin tasolle. Mittaus perustuu transistorilla (FET) tehtävään sähköiseen luentaan liuoksesta. Olemme onnistuneesti havainnoineet yhden peptidiparin sitoutumisen ja näin ollen saavuttaneet absoluuttisen mittausrajan. Työtä jatketaan peptidiä modifioivan entsyymin konsentraation pienentämiseksi, koska tyypillisesti määrityksen hinnasta valtaosa muodostuu kalliista entsyymistä. Kehitetty määrittäminen ei käytä lainkaan leimamolekyyliä, joten sen soveltuvuus lääkeainekehitykseen on erittäin hyvä.



## Analyttiset menetelmät biomolekyylien fysikaalisten ominaisuuksien karakterisointiin

Makromolekyylien toiminta ja aktiivisuus riippuvat niiden rakenteesta ja stabiilisuudesta. Monet biologiset ja kemialliset olosuhteet vaikuttavat näihin ominaisuuksiin. Rakenteellisesti stabiilit makromolekyylit ovat erittäin tärkeitä teollisten tuotteiden säilyvyyden maksimoimiseksi ja erityisesti käytettäessä korkealaatuisina biologisina lääkeaineina. Etenkin makromolekyylien hajoaminen sekä aggregaatio saattavat tuhota niiden aktiivisuuden tai jopa aiheuttaa lääkeaineiden toksisuuden. Tämän vuoksi lääkeainekehityksessä yhtenä tärkeänä trendinä on kehittää uusia parempia menetelmiä makromolekyylien stabiilisuuden mittamiseen ja parantamiseen. Tällä hetkellä analytiikka perustuu pitkälti differentiaalisen pyyhkäisykalorimetrian (DSC), ympyrädikroismin (CD), ultraviolettivalon (UV) tai termalisen stabiilisuusmäärittelyn (TSA) hyödyntämiseen. Valitettavasti kaikkien näiden teknikoiden ongelmana on niiden huonosta herkkyydestä johtuva korkea materiaalien kulutus ja kustannukset.

Tutkimusryhmämme on kehittänyt lantanidikemiaan ja aikaerotteiseen luminesenssiin perustuvan leimavapaan menetelmän (Protein-Probe) makromolekyylien tutkimiseen. Menetelmän herkkyys on noin 50-kertaa parempi kuin parhaiden olemassa olevien teknikoiden, joka mahdollistaa tehokkaan biologisten makromolekyyliin perustuvien lääkeaineiden stabiilisuuksien tutkimuksen. Menetelmän suuren herkkyyden vuoksi pystymme seuraamaan proteiinien denaturaatiota, hajoamista ja aggregaatiota paremmin kuin referensseinä käytetyt kaupalliset menetelmät. Parhaillaan todennamme menetelmän toimivuutta proteiini-ligandi (PLI) ja proteiini-proteiini (PPI) –vuorovaikutusten havainnointiin yhdessä yhteistyötahojemme NIH (USA), MRC (UK) ja Beatson Institute (UK) kanssa.



## Työskentely Detektioteknologian ryhmässä

Toimimme aina tiiviinä ryhmänä, jossa kukintutkimusryhmän jäsen osallistuu kunkin uuden määrittämenetelmän kehittelyyn. Tarkoituksena on, että kaikki ryhmän jäsenet tuntevat niin itse kehitetyt kuin referenssimenetelmät laajasti ja oppivat ymmärtämään menetelmien kehitystyön vaiheet. Työmme alkaa usein määrittäykseen liittyvien peruskomponenttien rakentamisella. Tämä voi käsittää esim. pienmolekyylin synteisiä ja leimaamista sekä siihen liittyvää analytiikkaa hyödyntäen mm. eri erotustekniikoita ja karakterisointimenetelmiä. Suunnittelemme ja rakennamme usein myös itse sijojamolekyyliä olemassa olevilla tekniikoilla kuten faaginäytöllä, peptidi/DNA-synteesillä tai aptameerikirjastoista SELEX-tekniikalla.

Detektiossa hyödynnämme laajasti luminesenssin eri muotoja sekä sähköistä luentaa. Lisäksi menetelmän kehitys vaatii aina referenssimenetelmien käyttöä kuten DLS, DSC, SEC, CD, PCR, SPR, sekä absorptioon ja luminesenssiin perustuvat olemassa olevat menetelmät.

Tervetuloa lääkekehityksen pariin.



## SOLUN GTP-KONSENTRAATIOMÄÄRITYSMENETELMÄT

Titta Yli-Hollo

Detektioteknologian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

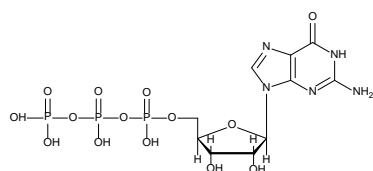


theyh@utu.fi

Guanosiinitrifosfaatti eli GTP (kuva 1) on soluissa esiintyvä nukleotidi. GTP:n rakenneosat ovat guaniinimäs, ribosisokeri ja kolmen fosfaatin ketju. GTP on energiamolekyyli, mutta tärkeämpi tehtävä GTP:llä on olla osana G-säätelyproteiinin signaalinvälitysketjua. Solujen GTP-konsentraatio muutokset liittyvät moniin eri sairauksiin, esimerkiksi syöpäsoluissa on todettu olevan korkeampi GTP-konsentraatio kuin terveissä soluissa [1].

Olisi tärkeää kehittää GTP-konsentraatiota solusta mittaava menetelmä, jotta lääkemolekyylien toimivuutta virus- tai syöpälääkkeeksi voitaisiin detekoida solutasolla. Referenssimetodina tarkastelin konsentraatiomittauksessa yleisesti käytettyä korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa eli HPLC:tä [1]. Soluista eristettyjen nukleotidien erottamiseen soveltuu erityisesti käänteisfaasikromatografia ja ioninvaihtokromatografia. HPLC:llä näytteen valmistelu ja detekointi vaatii hyvin paljon solunäytettä, työvaiheita ja aikaa (kaavio 1).

LuK-tutkielmassani selvitin sammutusresonanssienergiansiirron eli QRET-menetelmän mahdollisuuksia GTP-konsentraation mittaamenetelmänä [2]. Solunäytteen GTP-molekyyli ja leimattu GTP-molekyyli kilpailevat sitoutumisesta kehitettyyn vasta-aineeseen [3] ja konsentraatio voidaan detekoida laitteella havaitun luminesenssin perusteella. QRET-menetelmässä materiaaleja ja näytettä tarvitaan verrattain vähän ja kuoppalevyllä on mahdollista testata nopeasti useita näytteitä kerrallaan (kaavio 1), joten menetelmällä olisi sovellusmahdollisuuksia uusien lääkemolekyylien seulonnassa [2].



**Kuva 1.** Guansiinitrifosfaatti

**Kaavio 1.** Määrittämenetelmien työvaiheiden keskeiset erot

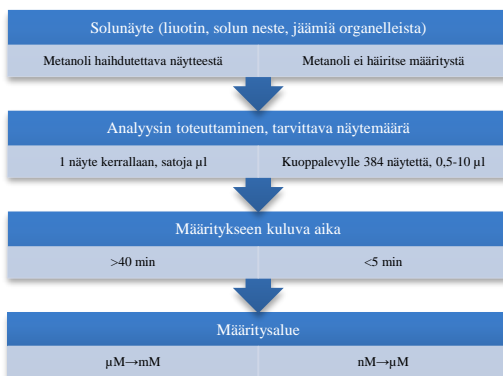
### Viitteet

[1] Sumita, K., Lo, Y., Takeuchi, K., Senda, M., Kofuji, S., Ikeda, Y., Terakawa, J., Sasaki, M., Yoshino, H., Majd, N., Zheng, Y., Kahoud, E. R., Yokota, T., Emerling, B. M., Asara, J. M., Ishida, T., Locasale, J. W., Daikoku, T., Anastasiou, D., Senda, T., Sasaki, A. T., *Mol. Cell* **2016**, 61, 187–198.

[2] Kopra K., Härmä, H., *New Biotechnol.* **2015**, 32, 575–580.

[3] Kopra, K., Rozwandowicz-Jansen, A., Syrjänpää, M., Blaževič, O., Ligabue, A., Veltel, S., Lamminmäki, U., Abankwa, D., Härmä, H., *Anal. Chem.* **2015**, 87, 3527–3534.

### HPLC Kehitettävä menetelmä



## Peptides as analytical tools in drug discovery

Ville Eskonen

Detection Technology Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



vijues@utu.fi

**Research Director:** Adj. Prof. Harri Härmä

**Supervisor(s):** Adj. Prof. Harri Härmä and Dr. Kari Kopra

**Funding:** Drug Research Doctoral Programme DRDP, Vilho, Yrjö ja Kalle Väisälä foundation

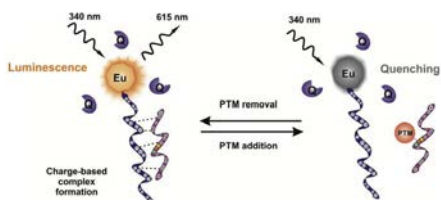
**Estimated time of PhD dissertation:** 12/2020

### Main aims of the PhD research

Drug discovery and screening require increasingly efficient and sensitive tools for screening large libraries of molecules in the early stages of drug development process. Universal and low-material consumption assays are in demand. Because of the high throughput screening (HTS) on microtiter plates being the industry standard, luminescence-based assays are the most widely developed assay detection formats. With luminescence detection, sub-nanomolar concentration can be detected and the assays are simple and rapid to perform. I have developed in my three years of PhD research a selection of different peptide-based techniques for drug screening of protein post-translational modifications (PTMs) that utilizes the time-resolved luminescence detection of lanthanide chelates.

### Main results so far

The research of my PhD thesis can be divided into two different core techniques. The first technique is called Peptide-Break and my three first publications are an expansion of the technique. The assay includes a substrate peptide that is modified by a given enzyme, and a detection peptide that is labelled with a europium chelate. A PTM-enzyme modifies the peptide substrate “breaking” the interaction of this peptide with the detection peptide. This leads to a reduced time-resolved luminescence (TRL) signal as added soluble modulator quenches the signal. In search for new drug candidates, a potential new molecule inhibits the enzymatic activity and the peptides bind together due to the opposite net charges. The formed peptide-peptide-duplex shields the TRL-signal of the Eu-chelate from the soluble quencher molecules (Fig 1, left). This technique was successfully applied to measure the inhibition of protein kinase A (PKA) [1].



**Figure 1.** Principle of the Peptide-Break assay.

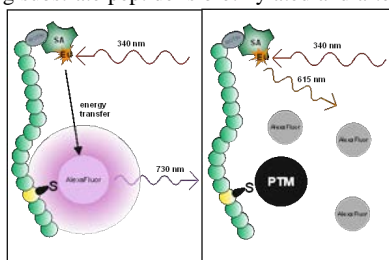
The unmodified peptide binds to the Eu-peptide whereas the PTM disrupts the binding. TRL-signal from the unbound Eu-peptide is quenched while the complex-formation shields the Eu-chelate from quenching and a high TRL-signal is detected.

In the first part of my thesis work, I have improved the Peptide-Break method by investigating alternative chemical entities in the assay concept. In the previous work, we applied leucine zipper-based coiled-coil peptide structures. I used charged-based peptide structure to eliminate structural constraints associated with the coiled-coil structure. All our previous work was based on negative (quenching) time-resolved Förster resonance energy transfer (TR-FRET) signal mechanism. Thus,

I investigated modulators that can also provide positive TR-FRET signal to enable dual-signal detection. This means that now it is possible to detect a high TRL-signal when the Eu-peptide is unbound. This was demonstrated with two different signal modulators using PKA as a model system in collaboration with the Department of Biology [2].

Low-activity and low-affinity enzymes cause problems in assays at low-nanomolar concentrations as reaction kinetics and binding parameters are not favoring the interaction. We have been able to use low-nanomolar concentrations of substrate and enzyme in previous assays but when dealing with enzymes which substrate affinity/activity is generally low, higher concentration of substrate is needed. In peptide-duplex formation, this is not easily realized because the complex is formed independent of the substrate modification at high substrate concentration. We tackled this problem in my third paper where high temperature was used to accomplish successful assay concept. The complex without PTM modification in the substrate is more stable than the modified one and this was demonstrated with phosphatase PTP1B activity assay [3].

As described above the dual-peptide system have issues in providing entirely general assay platform. Thus, I developed a single-peptide concept appropriate to detect protein post-translational cysteine-modifications (Fig 2). The cysteine-containing substrate peptide is biotinylated and after enzymatic modification, a cysteine-specific dye and Eu-labelled streptavidin (EuSA), were added. PTM modified cysteine prevents the reaction between the dye and the substrate leading to low TR-FRET signal while TR-FRET signal is obtained when enzyme is inhibited with drug candidates. The functionality of this high throughput assay was demonstrated with APD-ribosylation in collaboration with the Institute of Biomedicine [4].



**Figure 2.** Principle the single-peptide TR-FRET assay. Enzymatic PTM modification of substrate peptide prevents the dye-labelling and thus no TR-FRET-signal is detected while inhibition of the enzyme results in a high TR-FRET-signal.

The Peptide-Break technology has also been applied to single-molecule electrical detection in collaboration with researchers from University of Bari, Italy and Åbo Akademi. A capture peptide is attached to a FET gold gate surface and the binding of a substrate peptide can be detected by observing the resistance changes in the system. The project is ongoing but based on preliminary data, the binding can be detected at zM range ( $10^{-21}$ ) – at a single molecule level.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

This thesis work provided new assay tools to early-stage drug discovery screening process. The elimination of intact protein substrates decreases the cost of the assays and low-nanomolar material consumption supports the cost-effective screening process. The writing process of my thesis is ongoing and I will graduate within 3 years.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Kopra, K., Tong-Ochoa, N., Laine, M., Eskonen, V., Koskinen, P. J., Härmä, H., *Analytical Chimica Acta* 2018, 1055, 126–132.
2. Kopra, K., Eskonen, V., Seppälä, T., Jakovleva, J., Huttunen, R., Härmä, H., *ACS Omega* 2019, 4, 2, 4269–4275.
3. Eskonen, V., Tong-Ochoa, N., Valtonen, S., Kopra, K., Härmä, H., *ACS Omega* 2019, 4, 15, 16501–16507
4. Eskonen, V., Tong-Ochoa, N., Mattsson, L., Lastusaari, M., Miettinen, M., Pulliainen, A., Kopra, K., Härmä, H., manuscript

## High throughput and secondary screening methods for drug research – versatile use of time-resolved fluorescence

Emmiilisa Vuorinen

Detection Technology Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



emmvuo@utu.fi

**Research Director:** Adj. Prof. Harri Härmä

**Supervisor(s):** Adj. Prof. Harri Härmä, Dr. Kari Kopra

**Funding:** Academy of Finland, Drug Research Doctoral Programme, Instrumentarium foundation

**Estimated time of PhD dissertation:** 6/2021

### Main aims of the PhD research

Protein aggregation and stability properties are of high interest in the modern biochemical industry. Aggregation is a severe problem in e.g. protein-based drugs and in biochemical reagent business where the integrity of the product is of great importance. Currently, protein aggregation and unfolding can be studied using e.g. thermal stability assays (TSA), circular dichroism, UV/VIS, and differential scanning calorimetry. Unfortunately, these methods suffer from low sensitivity, which forces them to use high concentration of sample protein. This is expensive and may lead to problematic spontaneous aggregation. Thus, new methods are required to enable novel approaches in drug discovery.

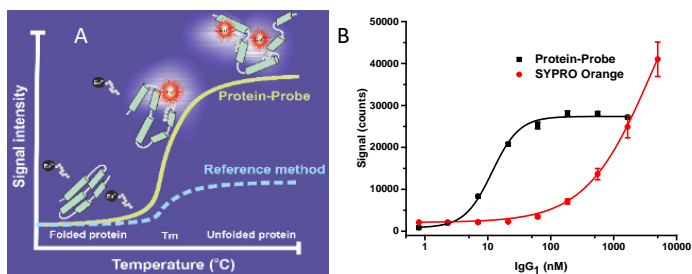
During the on-going part of my PhD project, I have developed a new label-free thermal stability/shift assay (TSA) to overcome the problems of the current TSAs by improving significantly the assay sensitivity but retaining cost-effectiveness. It is evidently important to ensure that biochemical products and drugs are stable, since they can lose their efficiency and be lethal to patients when they are degraded or aggregated.

During the completed part of my thesis, I developed a quencher-modulated TR-FRET technique (QTR-FRET) first utilized in protein-ligand interaction studies (PLI) and later in dual-parametric simultaneous PLI and protein-protein interaction (PPI) monitoring since these are one of the most monitored reactions in bioanalysis and drug discovery.

### Main results so far

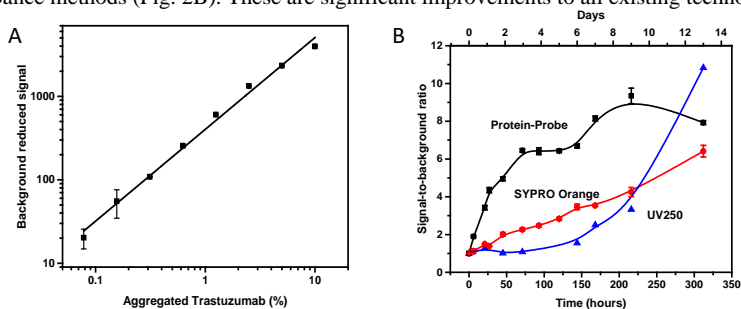
As the first part of my PhD thesis, I have successfully developed novel and improved high throughput assay formats for drug discovery during 2018 and 2019. QTR-FRET assay systems were developed to improve TR-FRET functionality by eliminating background signal sources in the detection [1]. This detection principle led us to further investigate and develop the method for PLI and PPI detection into a dual-parametric assay platform [2].

The second part of my thesis has produced an entirely novel detection platform. The new TSA named Protein-Probe is based on external  $\text{Eu}^{3+}$ -labeled peptide, Eu-probe, interacting with denaturated and aggregated proteins. The method principle is simple: increased time-resolved luminescence (TRL) signal is measured when the Eu-probe interacts with denaturated target protein. (Fig. 1A) The developed Protein-Probe was compared to the methods such as SYPRO Orange TSA, dynamic light scattering, isothermal calorimetry, UV and size-exclusion separation methods to understand the functionality of method. The Protein-Probe method is 50-fold more sensitive than the gold standard SYPRO Orange technique (Fig. 1B). The higher sensitivity will lower the cost of the assay as less sample is needed and potential spontaneous protein aggregation can be prevented when working at low protein concentration [3].



**Figure 1.** Protein-Probe assay for protein stability and interaction monitoring. A) The Protein-Probe method is based on Eu-probe, which interacts only with unfolded or aggregated protein. The Eu-probe interaction is monitored as increased TRF-signal. B) The Protein-Probe method (black) is 50-fold more sensitive than SYPRO Orange (red) when tested with IgG<sub>1</sub> antibody.

The Eu-probe of Protein-Probe method has been modified to detect aggregation of one class of drugs: antibodies. This method now has a lower limit of detection below 0.1% of the total sample protein (Fig. 2A) and detects aggregation 10 times earlier than SYPRO Orange and UV250 absorbance methods (Fig. 2B). These are significant improvements to all existing technologies.



**Figure 2.** Modified Protein-probe method for protein aggregation investigation. A) Protein-Probe method is capable of detecting aggregates even when under 0.1% of the protein (trastuzumab) is aggregated. B) The comparison between Protein-Probe (black), SYPRO Orange (red) and UV250 absorbance (blue) methods used in protein aggregation studies. The Protein-Probe method detects the protein aggregation after 18 h when it takes 123 h and 205 h for SYPRO Orange and UV250.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Our group develops novel techniques to drug discovery and diagnostics. The methods developed during my PhD process have a broad applicability within biochemical research and drug discovery. They can lower costs and speed the process of finding novel drug molecules and targets. These methods can also improve the evaluation processes of manufactured drugs and thus make them safer for patients, when potential protein aggregation and degradation are detected earlier.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Syrjänpää M., Vuorinen E., Kulmala S., Wang Q., Härmä H., Kopra K. *Analytica Chimica Acta* 2019, 1092, 93-101, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.045>
2. Kopra K., Vuorinen E., Abreu-Blanco M., Wang Q., Eskonen V., Gillette W., Pulliainen A., Holderfield M., Härmä H. *Anal. Chem.* 2020, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05126>
3. Vuorinen E., Valtoinen S., Eskonen V., Kariniemi T., Jakovleva J., Kopra K., Härmä H. *Anal. Chem.* 2020, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05712>

## FUTURE OF BIOLOGICS – NOVEL BIOLOGICAL BINDERS AND ASSAYS FOR THEIR CHARACTERIZATION

Salla Valtonen

Detection Technology Group, Department of Chemistry, University of Turku



samaval@utu.fi

**Research Director:** Adj. Prof. Harri Härmä

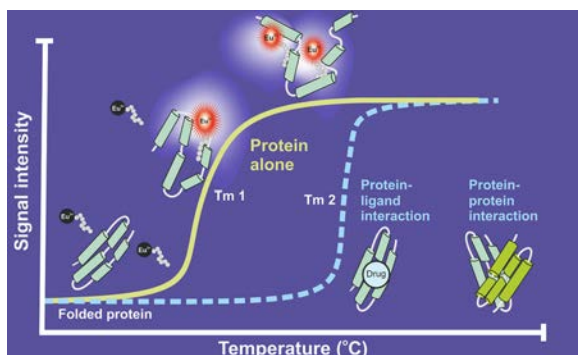
**Supervisor(s):** Adj. Prof. Harri Härmä and Dr. Kari Kopra

**Funding:** Academy of Finland

**Estimated time of PhD dissertation:** 12/2021

### Main aims of the PhD research

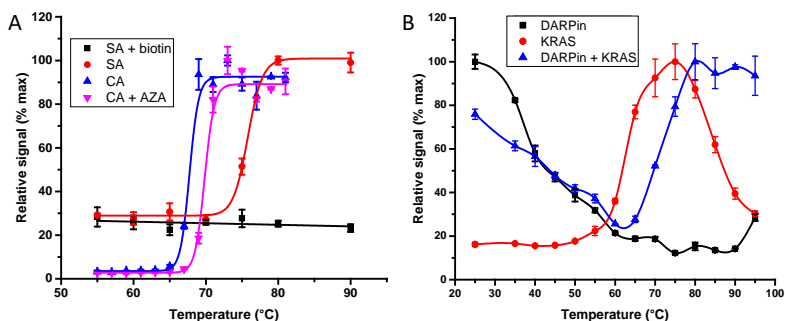
Biologic drugs, or biologics, are products that are produced from living organisms or contain components of living organisms. Biologics can be composed of e.g. sugars, proteins, or nucleic acids, and their combinations. Antibodies are the traditional example of biologics and they are the most common binder used in bioanalytical assays. However, alternatives to antibodies have lately attracted increasing interest due to their simpler production schemes, smaller size, and improved binding properties. These properties can simplify the transport of biologic compounds to target organs and cells, as well as enable the development of novel, simpler assay platforms. In my PhD work, antibodies and two novel classes of biologic binders, aptamers and designed ankyrin repeat proteins (DARPin), are studied as alternative binders and potential drug candidates e.g. for KRAS, a protein that is mutationally activated in 30% of all cancers. As a second part to my project, I am further developing a label-free assay platform to study a wider variety of biologic drug interactions. The assay is based on a Eu(III)-labeled peptide (Eu-probe) and its interaction with the target protein, protein complex and aggregate. In the assay, Eu-probe interaction with the selected target is monitored from the change in time-resolved fluorescence (TRF) signal, reporting the state of the studied reaction (Figure 1).



**Figure 1.** Principle of the Protein-Probe method. Eu-probe-derived TRF signal is low for intact proteins and increases as the protein is heated, due to unfolding of the protein structure. The unfolding/melting temperature ( $T_m$ ) can be modulated by a small molecular ligand or protein and the thermal shift of  $T_m$  provides information on the interactions with these potential drug candidates.

## Main results so far

Since starting in early 2019, I have successfully used the Eu-probe method to study protein-ligand interaction (PLI) in a thermal shift type assay [1]. In this assay, ligand binding is observed through their stabilizing effect on proteins, which leads to a shift in the protein  $T_m$  (Fig. 2A). Currently, the same principle is being converted to analyze protein-protein interactions (PPI), e.g. between KRAS and KRAS-specific DARPins and antibody and its target protein. Based on our findings, the required conditions for PLI and PPI approaches are not identical, and thus extensive Eu-probe development is ongoing. In the assay with KRAS, the interaction with DARPIn is identified by a shift in the  $T_m$ , indicating DARPIn ability to stabilize KRAS (Fig. 2A). The PPI work is performed in collaboration with University of Zürich and NCI/NIH (USA). The PLI and PPI methods are compared to existing reference methods, such as the external probe SYPRO Orange, circular dichroism, and differential scanning calorimetry.



**Figure 2.** **A.** Protein-ligand interaction assay. Biotin binding to streptavidin (SA) and acetazolamide (AZA) binding to carbonic anhydrase (CA) shift the  $T_m$  values of the proteins. Black: SA + biotin. Red: SA. Blue: CA. Magenta: CA + AZA. **B.** Protein-protein interaction assay for KRAS. DARPIn binds to KRAS as observed with shifted KRAS  $T_m$  value. Red: KRAS. Blue: KRAS with DARPIn. Black: DARPIn.

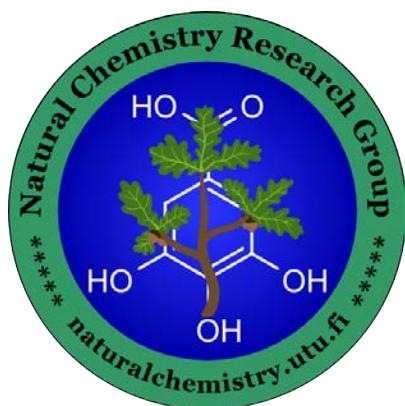
## The significance of my research for the research group and the whole research field

Biologics are growing class of drugs that are currently under increased development, and thus there is a constant need for new methods to characterize them and their properties. Lately, label-free approaches have become highly desired to select novel binders. In label-free methods, none of the interacting molecules need to be labeled, so the tested interaction is not hindered by modifications. In my work, external Eu-probe is used in a simple label-free platform to monitor varying reactions without major changes in the assay scheme. Compared to currently available external probes, the Eu-probe provides 50-fold higher sensitivity and thus allows a lower sample concentration. Not only does this reduce the cost of the assay – it also lowers the risk of spontaneous aggregation caused by high protein concentration in the sample, and thus leads to more reliable results. The developed methodologies can be applied to drug discovery processes to study PPI, PLI and structural integrity of biologics.

## Papers to be included in the PhD thesis

1. Vuorinen, E., Valtonen, S., Eskonen, V., Kariniemi, T., Jakovleva, J., Kopra, K., Härmä, H. *Anal. Chem.* 2020, DOI: 10.1021/acs.analchem.9b05712.

# LUONNONYHDISTEKEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ



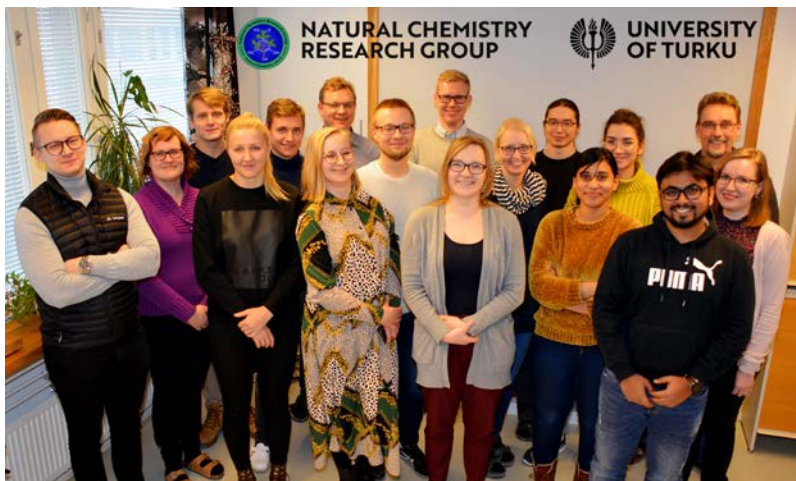


## BIOANALYTIKKAA LUONNONYHDISTEILLÄ: KROMATOGRAFIAA, MASSASPEKTROMETRIA JA BIOAKTIIVISUUDEN MALLINTAMISTA

Prof. Juha-Pekka Salminen

*Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä,  
Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: [j-p.salminen@utu.fi](mailto:j-p.salminen@utu.fi)*

**Luonnonyhdistekemia pähkinänkuoressa.** Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä opetuksen ja tutkimuksen pääpaino on bioanalyttisissä menetelmissä. Näistä keskiössä ovat modernit kromatografiset, massaspektrometriset ja kuoppalevytekniset sovellukset. Tavoitteena on altistaa opiskelijat riittävässä määrin kvalitatiivisen ja kvantitatiivisen analyysin teorialle LuK- ja FM-vaiheen aikana, käytäntöä unohtamatta; lähes kaikki kurssimme sisältävät myös laboratorio-osuuden. Pyrimme rakentamaan opiskelijalle mielekkäitä, mutta hyödyllisiä laboratoriotyökokonaisuuksia myös LuK-työn, tutkimusprojekti I:n ja II:n sekä pro gradu –työn kautta niin, että tehty kokonaisuus palvelee mahdollisimman hyvin paitsi opiskelijan työllistymistä, mutta myös tutkimusryhmämme tieteellisiä tavoitteita. Ryhmämme tekee paljon yhteistyötä yritysten kanssa, ja aika ajoitin tutkimuksen tavoitteet voivat olla myös yrityslähtöisiä. Luonnonyhdisteitä tutkittaessa on aika luonnollista, että suurin osa tutkimuskohteistamme ja –aiheistamme käsittelee jotenkin luontoa tai luonnontieteellisiä ilmiöitä. Opiskelijoille tarjottavat projektit voivat olla hyvin monenlaisia: ne vaihtelevat analyttisten menetelmien kehittämisestä, kemiallisen tai biologisen ilmiön tai ongelman tutkimiseen, tai puhtaasti yrityksiä hyödyttävään tutkimukseen, tai näiden kaikkien yhdistelmään. Hyvä työilmapiiri on meille ensiarvoisen tärkeää ja pidämme siitä kiinni hampaat irtessä, kuten kuvasta 1 voi päätellä. Jostain syystä huumori voi ja kukkii ryhmässämme myös ihan hyvin ☺.



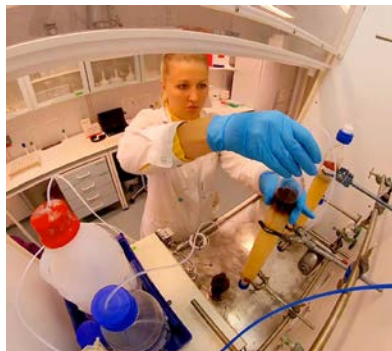
**Kuva 1.** Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä (NCRG, Natural Chemistry Research Group, <http://naturalchemistry.utu.fi/>) maaliskuussa 2020. Kuvasta puuttuu FT Marica Engström, FM Jussi Suvanto, FM Suvi Vanhakylä, neljä FM- ja kaksi LuK-opiskelijaa.

**Kaikki lähtee hyvästä kromatografiasta.** Kromatografian tarve lähtee yhdisteseoksesta, tarpeesta erottaa seoksen komponentit toisistaan. Puhdasyhdisteille kromatografian tarve on ilmeisen pieni, siis jos yhdiste ylipäänsä on mahdollista todeta puhtaaksi ilman kromatografiaa. On vaikeaa löytää kromatografisesti haastavampia näytteitä kuin kasvien ja eläinten tuottamat satojen ja tuhansien yhdisteiden seokset (kuva 2). Tämän vuoksi kromatografisten menetelmien kehittäminen ja niistä nipottaminen on luonnonyhdistekemistillä DNA:ssa; tavoite on jatkuvasti entistä tehokkaammassa ja nopeammassa kromatografiassa. Mikä kelpaa toiselle, ei välttämättä kelpaa luonnonyhdistekemistille.

Kromatografian toteuttamisessa on luonnonyhdistekemiassa monia erilaisia tasoja (kuvat 3-9). Kromatografiaa voidaan tehdä preparatiivisella, semipreparatiivisella tai analyyttisellä tasolla, jolloin kromatografinen erotuskyky voi vaihdella matalasta korkean kautta erittäin korkeaan. Kullakin tasolla löytyy yhtä lailla rutiininluontoisia tapoja kromatografian toteuttamiseen, kuin myös jatkuvaa tarvetta

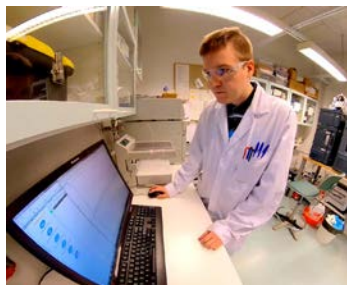


**Kuva 2.** Ilari Kuukkanen ja Santeri Salminen keräävät kasvinäytteitä kasvitieteellisen puutarhan kokoelmista.



**Kuva 3.** Erika Alander puhdistaa teen polyfenoleja geelikromatografian avulla.

kompaakin, MS/MS-detektion huolehtiessa analyysin selektiivisyydestä. Kuten sanottua, luonnonyhdistekemistin tai bioanalytikon tulee ymmärtää, milloin on tarpeen kehittää kromatografiaa ja milloin detektio menetelmiä, tai niitä molempia.

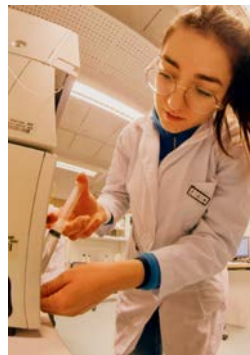


**Kuva 5.** Ville-Pekka Manninen puhdistaa maitohorsman oligomeerisia ellagitanniineja semipreparatiivisen kromatografian avulla.

kehittää kromatografiaa edelleen. Pitää aina tapauskohtaisesti ymmärtää milloin kromatografian kehittämiseksi on oikea tarve ja milloin se toisaalta on täysin tarpeetonta.

Yleensä kromatografia palvelee yhdisteiden puhdistamista sekä niiden kvalitatiivista ja kvantitatiivista analyysiä. Puhtaita yhdisteitä tarvitaan uusien yhdisteiden tarkkaan karakterisointiin sekä minkä tahansa yhdisteen aukottomaan bioaktiivisuuden määrittämiseen.

Jos kvantitatiivinen analyysi perustuu esimerkiksi UV-detektiioon, pitää kromatografian olla erotuskyvyltään erittäin korkea. MS/MS-detektiioon perustuvassa kvantitoinnissa kromatografia voi olla erotuskyvyltään heikompaa.



**Kuva 4.** Milica Tufegdžić puhdistaa mesiangeron yhdisteitä preparatiivisen kromatografian avulla.

**Detektiomenetelmien kehitystä ei voi pysäyttää.** Monelle kemistille massaspektrometri on vain laite, jolla voidaan määrittää kullekin yhdisteelle spesifinen massaspektri. Luonnonyhdistekemistille se on vasta alku massaspektrometrin monipuolisessa hyötykäytössä (kuvat 6 ja 7). Suurin osa ryhmämme analyttisestä tarpeesta liittyy nestekromatografian ja massaspektrometrian yhdistämiseen tavoilla, joista osa on rutiinomaisia, osa täysin uusia, ja osa näiden tapojen välimaastossa. Opiskelijalle nämä kaikki tavat ovat tietysti uusia. Onkin järkevää opetella ensin perinpohjaisesti kaikki tavanomaisesti käytössä olevat massaspektrometriset detektiomenetelmät. Niiden hallinta

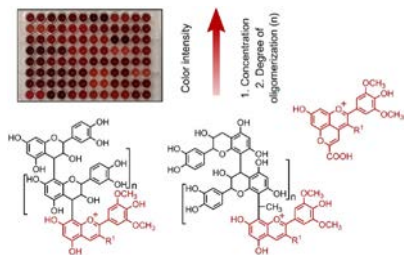


**Kuva 7.** Vuoden 2019 kesätyöntekijät analysoivat alkaloideja korkean resoluution massaspektrometrilla.

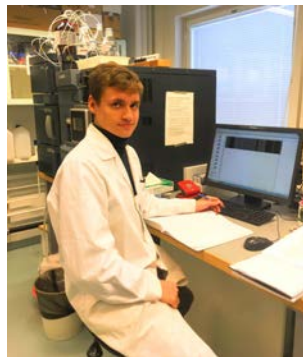
antaa mahdollisuudet uusien menetelmien kehittämiseen, jos ja kun ryhmän tutkimushaasteet kaipaavat uusia ratkaisutapoja vanhojen rinnalle. On myös hyvä ymmärtää, että aina uusi menetelmä ei välttämättä ole vanhaa parempi, jos menetelmänkehitys ei onnistu hyvin.

Detektiomenetelmien kehittämisessä olemme lyöneet syvimmän puumerkkimme massaspektrometrian alalle ns. yhdisteryhmäspesifisillä MS/MS-menetelmillä. Näiden menetelmien avulla pystymme määrittämään mm. kasvi- ja viininäytteistä 2D-sorjenjälkiä sellaisista yhdisteryhmistä, joita ei muuten voitaisi analysoida tällä tarkkuudella. Näin saatiin esim. uutta tietoa punaviinin värin aiheuttavista hybridiyhdisteistä (kuva 8) ja luotiin kasvien väriaineisiin keskittyvä laboratorioharjoitustyö koululaisille (kuva 9).

Detektiomenetelmien kehittämisen rinnalla mietimme jatkuvasti uusia tapoja hyödyntää olemassa olevien menetelmien tuottamaa monipuolista ja äärimmäisen yksityiskohtaista dataa. Tässä yhteydessä bioanalytiikka linkittyy entistä tiiviimmin bioinformatiikkaan. Suurien datavirtojen hallinta konelaskennan avulla alkaa jo nyt olla arkipäivää. Tieteelliset läpimurrot eivät aina vaadikaan uusia mittauksia, vaan vanhassakin datassa voi piillä uskomaton potentiaali, joka pitää vain osata kaivaa esiin.



**Kuva 8.** Juuso Laitilan uudella analyttisellä menetelmällä voidaan analysoida punaviinin hybridiyhdisteistä paljon entistä tarkemmin.



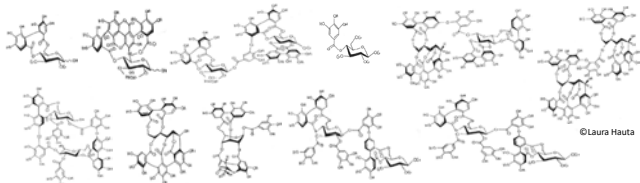
**Kuva 6.** Matias Kari kehittää analyysinjälkeistä kvantitointiprotokollaa kolmoisikvadrupoli-massaspektrometrille.

Detektiomenetelmien kehittämisessä olemme lyöneet syvimmän puumerkkimme massaspektrometrian alalle ns. yhdisteryhmäspesifisillä MS/MS-menetelmillä. Näiden menetelmien avulla pystymme määrittämään mm. kasvi- ja viininäytteistä 2D-sorjenjälkiä sellaisista yhdisteryhmistä, joita ei muuten voitaisi analysoida tällä tarkkuudella. Näin saatiin esim. uutta tietoa punaviinin värin aiheuttavista hybridiyhdisteistä (kuva 8) ja luotiin kasvien väriaineisiin keskittyvä laboratorioharjoitustyö koululaisille (kuva 9).



**Kuva 9.** Marianna Mannisen kehittämä luonnon värejä tutkiva menetelmäkokonaisuus soveltuu käytettäväksi niin yläkoulussa kuin lukiossa.

**Bioaktiivisuus pitää pystyä ennustamaan.** Kasvien ja eläinten tuottamat yhdisteet ovat erinomainen tutkimuskohde erilaisista bioaktiivisuuksista kiinnostuneille. Tutkimusryhmämme tuhansia lajeja sisältävä kasvilajikirjasto, yli tuhat fraktiota sisältävä fraktiokirjasto sekä joitakin satoja yhdisteitä sisältävä yhdistekirjasto ovat omiaan nopeuttamaan bioaktiivisuustutkimusta (kuva 10). Jonkin ajan kuluttua näitä kirjastoja tullaan toivottavasti täydentämään tuhansia



©Laura Hauta

yhdisteitä sisältävällä hyönteismetaboliittikirjastolla (kuva 11), jolla on erinomainen potentiaali toimia uusien bioaktiivisten yhdisteiden lähteenä.

**Kuva 10.** Bioaktiivisuustutkimuksia varten pitää pystyä puhdistamaan ja karakterisoimaan laaja joukko erilaisia yhdisteitä.

Bioaktiivisuustutkimus aloitetaan yleisimmin puhdasyhdistetasolta. Siinä on kemistille runsaasti monipuolista tekemistä niin yhdisteiden puhdistamisessa kuin niiden rakenteen tarkassa määrittämisessäkin. Sen jälkeen relevantti bioaktiivisuus pitää vielä pystyä määrittämään luotettavasti ja tarkasti, tyypillisesti kuoppalevylukijalla (kuva 12). Tämän jälkeen saadaan toivottavasti selville selvä linkitys tutkittujen yhdisteiden rakenteiden ja niistä mitatun bioaktiivisuuden välille. Mikäli tutkimus on tehty riittävän laajasti, on tämän jälkeen mahdollista muodostaa kyseiselle aktiivisuudelle ennustavia malleja, joiden avulla uusien näytteiden bioaktiivisuus voidaan ennustaa suoraan aiemmin tutkimattomien näytteiden yhdistekoostumuksesta tai näytteiden tiettyjen kemiallisten ominaisuuksien yhteissormenjäljestä.



**Kuva 11.** Trooppisten sademetsien hyönteiset ovat mielenkiintoinen tutkimuskohde esimerkiksi potentiaalisten bioaktiivisten yhdisteiden tuottajina (kuvat: Elina Mäntylä).



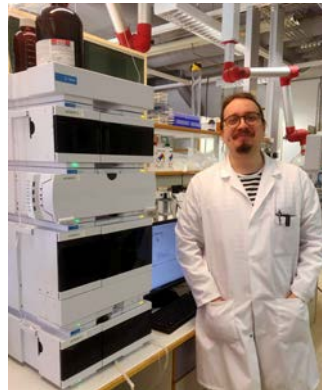
**Kuva 12.** Mimosa Sillanpää tutkii kuoppalevylukijalla proteiiniin kompleksoitumista proantosyanidiinien ja hydrolysoituvien tanniinien kanssa.

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä keskitymme erityisesti kahteen bioaktiivisuustyyppiin: polyfenolien oksidatiivinen aktiivisuus ja proteiiniaffiniteetti. Oksidatiiviselle aktiivisuudelle olemme luoneet täysin uusia kuoppalevytekniisiä mittaamenetelmiä ja proteiiniaffiniteetille olemme ajaneet sisään oman menetelmän parantaen kirjallisuudesta löytynyttä korkeamman tason sovellusta. Mietimme koko ajan mahdollisuuksia uusien

bioaktiivisuusmenetelmien kehittämiseksi ja samalla käytämme hyödyksi yhteistyöverkostoaamme, josta löytyy iso kirjo muita aktiivisuusmenetelmiä. Opiskelijoillamme on mahdollisuus hyödyntää tätä kokonaisuutta Suomessa tai ulkomailla ja olemme avoimia verkoston kasvattamiseksi edelleen.

**Bioanalytiikan hallinta tarjoaa monia työmahdollisuuksia.** Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä pyrkii altistamaan opiskelijat riittävän laajalle valikoimalle bioanalyttisiä menetelmiä ja sovelluksia kurssien, LuK-työn, tutkimusprojekti I:n ja II:n sekä pro gradu -työn kautta. Laboratoriotyösuuksissa opiskelija voi itse vaikuttaa millaisiin menetelmällisiin tai tutkimuksellisiin haasteisiin kulloinkin pureudutaan. Tarjolla olevaan valikoimaan vaikuttaa ryhmän ajankohtaiset tutkimusprojektit, yritysmaailmasta tulevat tutkimushaasteet ja tarve testata uusia analyttisiä teorioita jo olemassa olevilla laitteilla. Motivoitunut ja ahkera opiskelija saa tämän paketin kautta hyvät valmiudet monelle eri bioanalytiikan saralle. Yhteinen temaanen moduuli detektioteknologian ryhmän kanssa parantaa tilannetta edelleen.

Yrityksistä lähtöisin oleva kysyntä osaajista on jo vuosia ryhmässämme kohdistunut erityisesti kromatografian ja massaspektrometrian asiantuntijoihin; jonain vuonna olemme joutuneet myymään eiota. Tällä hetkellä tässä kysynnässä ei ole nähtävissä laantumisen merkkejä, mutta tulevaisuutta ei voi kukaan ennustaa. Suosittelemmekin mahdollisimman laajan asiantuntemuksen hankkimista bioanalytiikasta opintojen aikana; esimerkiksi rakennekemiallisten työkalujen (UV, MS, NMR, CD) laaja tuntemus antaa vankan pohjan työmarkkinoille siirtymiseen.



**Kuva 13.** Jussi Suvanto sai kesken väitöskirjatyon vakituisen pestin ReBio Technologies Oy:stä (Smart Chemistry Park, Raisio).

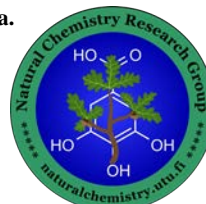


**Kuva 14.** Eerik Piirtola (toinen vas.) siirtyi FM-tutkinnon jälkeen väitöskirjatyon-tekijäksi yhteistyökumppanimme ryhmään Kanadaan (UVic, University of Victoria).

Meiltä valmistuneet opiskelijat ovat työllistyneet mitä moninaisempiin tehtäviin esimerkiksi seuraaviin yrityksiin: Orion Oy, Bayer Oy, Wallac, ExxonMobil, Ramboll Analytics, Recipharm Oy, Pro Farm Technologies Oy, ReBio Technologies Oy, Pöyry Oyj, Ductor Oy, ja Livsmedelsverket. Merkittävä osa on jatkanut valmistuttuaan jatko-opintoihin esim. omassa ryhmässämme, tai siirtynyt radiokemialle, elintarvikekemialle tai ulkomaille (kuvat 13-14).

### Lisätietoja Instagramista, YouTubesta ja ryhmämme nettisivuilta.

Tarkkoja lisätietoja luonnonyhdistekemiasta ja bioanalyttisen kemian temaanisesta moduulista saa helpoiten Arcanumin 2. kerroksesta, huoneesta K222. Toinen vaihtoehto on seurata Instagram-päivityksiämme osoitteessa @ncrg\_utu. Tutkimusvideoitamme päätyy YouTube-kanavallamme rauhallisella tahdilla ja nettisivutkin (<https://naturalchemistry.utu.fi/>) ovat edelleen käypä tiedon lähde.



@ncrg\_utu



YouTube

naturalchemistry.utu.fi

## TROOPPISTEN KASVILAJIEN POLYFENOLIT

Sebastian Andrejff

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



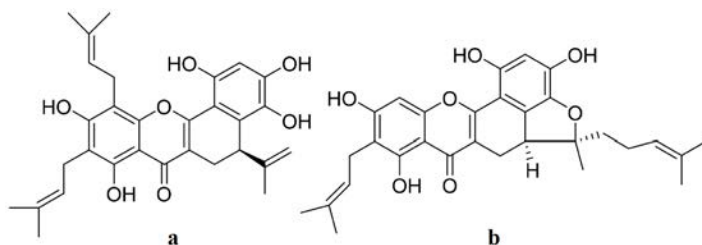
sebastian.o.andrejff@utu.fi

Trooppisen vyöhykkeen kasvillisuus on mielenkiintoinen tutkimuskohde, koska taksonominen diversiteetti on niillä alueilla runsaimmillaan; amazonilaisen metsähehtaarin lajipooli on moninkertainen verrattuna suomalaisen metsähehtaariin. Tässä tutkielmassa perehdytään trooppisten kasvilajien sisältämiin polyfenoleihin.

Polyfenolit ovat kasvien tuottamia erikoistuneita metaboliitteja, ja yleisimmät fenolisten yhdisteiden alaluokat ovat tanniinit ja flavonoidit. Flavonoidit ovat kasvien tärkeimpiä väriaineita ja ne täten vaikuttavat osin lajien yhteisöekologiaan, koska jotkin lajit syntetisoivat väriaineita kukintoihinsa houkutelakseen pölyttäjiä. Tanniinien ajatellaan suojaavan kasveja herbivoreilta.

Erään panamalaisen saaren puuvartisten lajien siementen herbivoreilta suojaavien polyfenolien koostumusta tutkittiin, ja yleisimmät havaitut polyfenoliryhmät olivat proantosyanidiinit ja hydrolysoituvat tanniinit [1]. Samassa tutkimuksessa havaittiin myös, että kasvin elinkierron siemenvaiheen polyfenolikoostumus korreloi kasvuvaiheen nopeuden kanssa siten, että hitaasti kasvavien lajien siementen polyfenolikoostumus oli suurempi kuin nopeasti kasvavien lajien.

Kemiallisen ekologian tutkimuksen lisäksi kasvien erikoistuneita metaboliitteja tutkitaan niiden farmakologisten ominaisuuksien vuoksi. Noin puolet syöpälääkkeiksi hyväksytyistä yhdisteistä on luonnonyhdisteitä tai johdettu luonnonyhdisteistä [2]. Esimerkiksi *Artocarpus*-suvussa on noin 50 lajia, ja yhden sen suvun edustajan, *A. rigidan*, oksista eristettyjen polyfenolien (kuva 1), prenyyliflavonoidien, on todettu tuhoavan syöpäsoluja [2].



**Kuva 1.** Indonesialaisen *Artocarpus rigidan* -lajin oksista eristettyjä prenyyliflavonoideja: a) (+)-artorigidiini A ja b) (+)-artorigidiini B [2]. Lajista eristettyjen yhdisteiden on todettu tuhoavan syöpäsoluja.

### Viitteet

- Gripenberg, S., Rota, J., Kim, J., Wright, S. J., Garwood, N. C., Fricke, E. C., Zalamea P. C., Salminen, J. P., *J. Ecol.* **2018**, *106*, 87–100.
- Ren, Y., De Blanco, E. J. C., Fuchs, J. R., Soejarto, D. D., Burdette, J. E., Swanson, S. M. ja Kinghorn, A. D., *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 657–679.

## ChemPro100-kaasunilmaisimen membraaninäytteenyöttö

Niko Luntamo\*, Tarmo Humpi<sup>2</sup>, ja Juha-Pekka Salminen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

<sup>2</sup>Puolustusvoimien tutkimuslaitos, Räjähde- ja suojelutekniikan osasto, Paroistentie 20, 34110 Lakiala



nitalu@utu.fi

### Abstrakti

ChemPro100-kaasunilmaisimen on Puolustusvoimien suojelutiedustelussa käytettävä kenttäkäyttöön tarkoitettu ilmaisimen. Environics Oy:n (Mikkeli, Suomi) valmistaman laitteen toiminta perustuu ioniliikkuvuuspektrometriaan sekä puolijohdeanalytiikkaan. Laitteen toiminnan kannalta on olennaista, minkälaisessa ympäristössä sitä käytetään. Esimerkiksi ilmankosteuden muutokset ja häiriöaineet tuottavat laitteen antureissa vasteen, joka voi joko aiheuttaa virheellisen hälytyksen tai peittää haitallisen yhdisteen signaalin pohjatason noustessa. Ympäristön olosuhteiden vakiointi ja selektiivinen näytteenotto mahdollistaisivat laitteen paremman toimintavarmuuden ja luotettavuuden. Tutkimuksessa laitteen toimintavarmuutta pyrittiin parantamaan käyttäen membraaninäytteenyöttöä, jonka avulla voitiin vakioida laitteen sisäinen ilmankosteus. Lisäksi tarkasteltiin taisteluainesimulanttien ja taisteluaineiden diffuusiota polydimetyylisiloksaanikalvon (PDMS) läpi, jotta voitiin todeta kalvomateriaalin soveltuvan kyseiseen tarkoitukseen.

### Johdanto

Ioniliikkuvuuspektrometria (IMS) perustuu kaasufaasissa olevien ionien liikkuvuuden mittaamiseen sähkökentässä. Mittalaitteessa on neljä pääraakenneosaa: näytteenyöttö, ionilähde, analyyttori ja ilmaisim. Laitteet voidaan erottaa toisistaan ionisaatiotekniikan ja analyyttorin perusteella [1, 2]. Menetelmää hyödynnettävien laitteiden pienen koon, massan ja energian kulutuksen vuoksi ne soveltuvat hyvin käytettäväksi kenttäolosuhteissa [1]. Menetelmää hyödynnetäänkin näiden ominaisuuksien vuoksi useissa kaupallisissa laitteissa, joita käyttävät sekä siviili- että sotilasviranomaiset. Lisäksi kenttäkäyttöisten laitteiden detektiokykyä ja lineaarista aluetta voidaan laajentaa puolijohdeanturein [2].

Tässä tutkimuksessa pyrittiin parantamaan ChemPro100-kaasunilmaisimen (Environics Oy, Mikkeli, Suomi) toimintavarmuutta membraaninäytteenyöttöllä. Kyseinen kaasunilmaisim on aspiraatioioniliikkuvuuspektrometri, jossa on lisäksi SnO<sub>2</sub>- ja WO<sub>3</sub>-puolijohdeanturit. Toimintaperiaate on esitetty kuvassa 1. Laitteessa on jatkuva näytteenotto, joten se imee jatkuvasti näyteilmaa ympäristöstä ja kaikki ympäristön kaasut päätyvät antureille. Sekä ioniliikkuvuuspektrometrien että puolijohdeanturien vasteeseen vaikuttavat näytteen ilmankosteus ja suhteellisen haitattomat kaasut, kuten räjähdys- tai pakokaasut. Muun muassa ilmankosteuden muutokset ja häiriöaineet tuottavat laitteen antureissa vasteen, joka voi joko aiheuttaa virheellisen hälytyksen tai peittää haitallisen yhdisteen signaalin pohjatason noustessa [3].

Tutkimuksen tavoitteena oli tutkia, voidaanko PDMS-kalvolla vakioida laitteen keräämän näytteen kosteus, ja diffuusiota taisteluainesimulantti sekä rikkisnappikaasu, sariini, somaani ja VX-hermokaasu (O-etyyli-S-(2-diisopropyyliaminoetyyli)metyylifosfonotiolaatti) kalvon läpi, jotta sitä voitaisiin käyttää kyseisessä tarkoituksessa.

### Materiaalit ja menetelmät

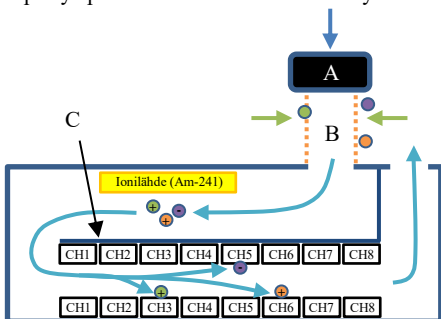
Polydimetyylisiloksaanikalvoa, jonka paksuus oli 0,125 mm, altistettiin dimetyylimetyylifosfonaatille ja 2-kloorietyylietyylisulfidille, jotka ovat taisteluainesimulantteja sekä rikkisnappikaasulle, sariinille, somaanille sekä VX:lle. Kalvo oli pingotettu kahden hioksellisen astian väliin ja sen toi-

selle puolelle tuotettiin tunnettu pitoisuus kulloinkin tutkittua kaasua. Kalvon puhtaalta puolelta määritettiin kaasun kumulatiivinen pitoisuus, jonka perusteella määritettiin kalvon läpi siirtyneen kaasun määrä. Pitoisuusmääritykset tehtiin GC-MS-laitetta sekä läpivirtauskyvytillä varustettua FTIR-laitetta käyttäen. Lisäksi seurattiin ChemPro100-laitteiden anturivasteita tietokoneavusteisesti.

## Tulokset ja johtopäätökset

Tutkimuksessa havaittiin, että PDMS-kalvon avulla laitteen sisäänsä imemän ilman kosteus voitiin vakioida varsin tehokkaasti. Kuten kuvasta 2 voitiin havaita, kalvon takapuolella ilmankosteus pysyi miltei vakiona, vaikka ulkoinen ilmankosteus kasvoi. Täten voitiin pienentää ympäristön muutoksen vaikutusta antureihin. Toisaalta kuvasta 2 voitiin havaita, että esimerkiksi somaani diffundoituu kyseisestä materiaalista valmistetun kalvon läpi, joten materiaalia periaatteessa voitaisiin käyttää tässä tarkoituksessa. Kuitenkin, kun selvitetiin diffuusioprosessin aiheuttamaa viivettä laitteen tuottamaan ilmaisuun, havaittiin, että vasteaika kasvoi 1–35 minuuttia riippuen diffuntoituvasta kemikaalista. Lisäksi esimerkiksi VX ei läpäissyt kyseistä kalvomateriaalia, mutta VX:n hajoamistuotteista muun muassa 2-(diisopropyyliamino)etaanitioli läpäisi materiaalin, mikä voisi mahdollistaa epäsuoran tunnistuksen.

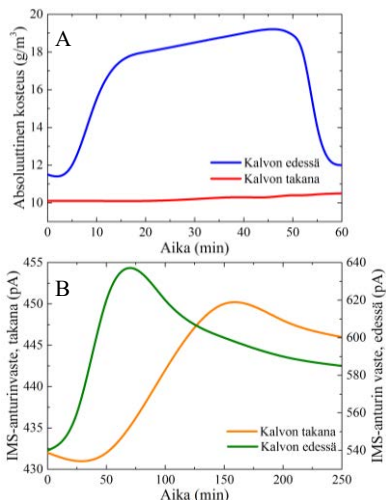
PDMS-kalvo kykeni osittain täyttämään lisälaitteelle annetut toimintavaatimukset. Siitä huolimatta, jotta laitetta voitaisiin käyttää membraaninäytteensyötön kera turvallisesti, pitäisi kalvomateriaalin päästää lävitseen mahdollisimman suuren kirjon erilaisia kemiallisissa sodankäynnissä käytettyjä kemikaaleja käyttötarkoituksella huomioiden. Näin ollen esimerkiksi kalvomateriaalin ohentaminen voisi parantaa sovelluksen ominaisuuksia kohdekemikaalien läpäisyä parantamalla sekä vasteaikaa lyhentämällä.



**Kuva 1.** Membraaninäytteensyötön aktiivihilisuodatin (A) suodattaa korvausilman, johon haitalliset aineet liukenevat diffundoiduttuaan ohuen kalvon (B) läpi. Aspiratioionilichtspektrometrin ionilähteessä muodostuu positiivisia ja negatiivisia ioneja, jotka liikkuvat eri tavoin sähkökentässä. Ionit detektoidaan mikrodetektoreilla (C), joihin muodostuu hyvin pieni sähkövirta ionin osuessa niihin. Tällöin saadaan yhdistespesifinen spektri.

## Viitteet

- [1] Borsdorf, H., Eiceman, G. A., *Appl. Spectrosc. Rev.* **2006**, *41*, 323–375.
- [2] Mäkinen, M. A.; Anttalainen, O. A.; Sillanpää, M. E. T., *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9594–9600.
- [3] Mikedi, K.; Pallis, G. C.; Koumoundouros, G. C.; Vamvakari, J.; Statheropoulos, G.; Psarras, G.; Moll, V. H.; McEntee, R.; Statheropoulos, M., *Sens. Actuators B Chem.* **2016**, *222*, 240–248.



**Kuva 2.** Ilman absoluuttinen kosteus (A) ja kahden laitteen IMS-anturinvaste somaaniälytystuksessa (B) PDMS-kalvon molemmilla puolilla.



## TANNIINIRAKENTEEN VAIKUTUS LIUKENEMATTOMIEN TANNIINI-PROTEIINI- KOMPLEKSIEN MUODOSTUMISEEN JA PYSYVYYTEEN

Mimosa Sillanpää\*, Marica Engström ja Juha-Pekka Salminen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian  
pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



mamsii@utu.fi

### Abstrakti

Tanniiniin yksi tunnetuimmista ominaisuuksista on niiden kyky sitoutua proteiineihin ja muihin makromolekyyleihin. Tanniinien ja proteiinien välisiä komplekseja on tutkittu paljon, mutta näiden kompleksien pysyvyydestä erilaisissa pH-olosuhteissa on hyvin vähän tietoa. Tässä tutkimuksessa selvitettiin puhdistettujen proantosyanidiinifraktioiden ja proteiinin muodostamien liukenemattomien kompleksien pysyvyyttä pH:n funktiona. Lisäksi testattiin tanniinien kombinatorisia vaikutuksia niiden proteiinsaosustuskapasiteettiin. Proantosyanidiinien keskimääräinen polymerisaatioaste vaikutti eniten tanniini-proteiini-kompleksien uudelleenliukoistumiseen, kun taas kombinatorinen vaikutus oli proantosyanidiinifraktioilla vähäisempi. Hydrolysoituvien tanniinien kohdalla havaittiin proteiinsaosustus-kapasiteettia kasvattavaa kombinatorista vaikutusta erityisesti avoketjuisilla yhdisteillä.

### Johdanto

Aiemmat tutkimukset ovat osoittaneet, että tanniineja sisältäviä kasveja käyttämällä on mahdollista tehostaa märehitjoiden kasviproteiinien hyötykäyttöä, alentaa märehimisprosessin metaanipäästöjä sekä vähentää märehitjoiden loiskuormaa. [1] Näiden vaikutusten uskotaan yleisesti olevan seurausta tanniinien kyvystä sitoutua proteiineihin pötsissä ja tanniini-proteiini-kompleksien uudelleenliukoistumisesta pH-muutoksen vaikutuksesta märehittäjän ruoansulatuskanavan myöhemmissä osissa. Vaikka tanniinien ja proteiinien välisiä komplekseja on tutkittu paljon, näiden kompleksien pysyvyydestä erilaisissa pH-olosuhteissa on hyvin vähän tietoa.

Hydrolysoituvat tanniinit (HT) ja proantosyanidiinit (PA) ovat luonnossa yleisimmän esiintyvät tanniiniluokat, ja näistä tutkimusryhmämme on aiemmin selvittänyt hydrolysoituvien tanniinien ja proteiinien muodostamien liukenemattomien kompleksien pysyvyyttä pH:n funktiona. pH-muutoksen vaikutusta PA-proteiini-kompleksien pysyvyyteen ei ole aiemmin tutkittu. Tässä työssä tutkittiin PA-fraktioiden sekä malliproteiinin, naudan seerumin albumiinin (BSA) muodostamien liukenemattomien kompleksien uudelleenliukoistumista pH:n funktiona. Lisäksi haluttiin tutkia erilaisten tanniinien kombinatorisia vaikutuksia proteiiniin sitoutumisessa; tätä tutkittiin sekä PA-fraktioilla että HT:lla.

Työn tarkoituksena oli paremmin ymmärtää tanniinien märehittäjiin liittyvien positiivisten vaikutusten toimintamekanismeja molekyyllitasolla ja selvittää, tukevatko kemian keinoin saatavat tulokset aiempia hypoteeseja tanniinien hyödyistä märehittäjille.

### Materiaalit ja menetelmät

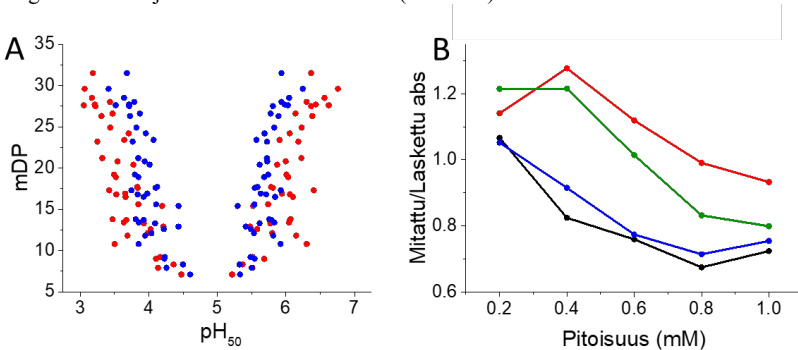
Työssä käytetyt 40 PA-fraktiota oli aikaisemmin puhdistettu semipreparatiivisella nestekromatografialla [2] ja niiden keskimääräinen polymerisaatioaste (mDP) ja proantosyanidiini/prodelfinidiini-suhte oli määritetty UPLC-MS/MS:llä. Työn analyyseissä käytettiin turbidometristä kuoppalevylukija-menetelmää, jossa muodostuvien liukenemattomien PA-proteiini-kompleksien absorbanssi mitattiin 414 nm aallonpituudella ennen ja jälkeen pH-

muutoksen. Tuloksista laskettiin se pH-arvo, jossa kompleksia oli jäljellä 50 % (pH<sub>50</sub>-arvo) ja PA-fraktioiden ominaisuuksia verrattiin tähän arvoon. Kompleksien uudelleenliukoistumista tutkittiin pH-arvoilla 3, 4, 5, 6 ja 7. Tanniinien kombinatorista vaikutusta proteiiniinsaostuskapasiteettiin (PPC) mitattiin yhdistämällä ristiin kolmea erilaista PA-fraktiota kolmessa konsentraatiossa ja kuutta eri HT:tä viidessä konsentraatiossa ja mittaamalla muodostuvien saostumien absorbanssi kuoppalevylukijalla. Myös yksittäisten HT:den PPC mitattiin käytetyissä konsentraatioissa, jolloin saatiin laskettua seosten teoreettinen absorbanssi. Teoreettista absorbanssia verrattiin tämän jälkeen mitattuihin arvoihin.

### Tulokset ja johtopäätökset

Uudelleenliukoistusanalyysien tulosten perusteella proantosyanidiinien rakenteelliset ominaisuudet vaikuttivat siihen, kuinka iso pH:n muutos tarvittiin uudelleenliukoistamaan muodostunut liukenematon tanniini–proteiini-kompleksi. Suurin vaikuttava tekijä oli yhdisteiden mDP; mitä suurempi keskimääräinen polymerisaatioaste fraktiolla oli, sitä suurempi pH-arvon muutos tarvittiin kompleksin uudelleenliukoistamiseksi (Kuva 1A). Lisäksi suurempi PA–BSA-moolisuhte ja mahdolliset galloylylryhmät proantosyanidiinien rakenteessa kasvattivat tarvittavaa pH:n muutosta, kun taas prosyaniidiini/prodelfinidiini-suhteella ei havaittu olevan suurta vaikutusta. Nämä tulokset osoittivat, että ei-kovalenttiset tanniini–proteiini-kompleksit voidaan uudelleenliukoistaa pH-muutoksella, joka vastaa märehitjän ruoansulatuselimestön pH-vaihtelua.

Tanniinien kombinatorisen PPC:n analyysin tuloksista havaittiin avoketjuisten ellagitanniinien kasvattavan kombinatorista vaikutusta muita tanniineja enemmän. Vaikutus oli suurin tanniini–proteiini-moolisuhteen ollessa alhainen ja hävisi suuremmilla tanniini–proteiini-moolisuhteilla. Esimerkiksi gemiini A:n ja avoketjuisten ellagitanniinien kombinatorinen vaikutus oli suurempi kuin gemiini A:lla ja muilla tutkituilla HT:illa (Kuva 1B).



**Kuva 1.** Proantosyanidiinifraktioiden keskimääräisen polymerisaatioasteen (mDP) vaikutus tarvittavaan pH-arvoon, jossa 50 % tanniini–proteiini-kompleksista on uudelleenliukoistunut (A), kun tanniini–proteiini-suhde 1:2 (pun.) tai 1:4 (sin.). Kuvaajassa B on esitetty kombinatorinen vaikutus proteiiniinsaostuskapasiteettiin gemiini A:n ja veskalaginiin (pun.), veskaloniinihapon (vihr.), pentagalloylylglyukoosin (musta) ja oenotheiini B:n (sin.) seoksissa tanniinikonsentraation funktiona. Gemiini A:n ja BSA:n konsentraatit olivat vakiot (0,2 mM).

### Viitteet

- [1] Mueller-Harvey, I. et al. Benefits of Condensed Tannins in Forage Legumes Fed to Ruminants: Importance of Structure, Concentration, and Diet Composition. *Crop Sci.* **2019**, *59*, 861–885.
- [2] Leppä, M. M.; Karonen, M.; Tähtinen, P.; Engström, M. T.; Salminen, J.-P. Isolation of Chemically Well-Defined Semipreparative Liquid Chromatography Fractions from Complex Mixtures of Proanthocyanidin Oligomers and Polymers. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1576*, 67–79.

## Yksittäisten hydrolysoituvien tanniinien kvantitointi UPLC-MS-datasta

Matias Kari\* ja Juha-Pekka Salminen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



mpokar@utu.fi

### Abstrakti

Hydrolysoituvia tanniineja on aiemmin kvantitoitu luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä UPLC-DAD-ESI-Qq-MS-laitteistolla yhdisteryhmäkohtaisten menetelmien avulla yli 13 000 kasvinäytteestä. Ryhmäkohtaisilla menetelmillä on saatu tarkasti ja luotettavasti tietoa hydrolysoituvien tanniinien esiintyvyydestä kasvukunnassa. Tämän projektin tarkoituksena oli kehittää kvantitointiprotokolla, jolla voidaan kvantitoida 120 hydrolysoituvien tanniinien biosynteesipolun malliyhdistettä jo olemassa olevasta massaspektrometrisestä kokonaisonivirtadatasta. Valmis protokolla testattiin yli 700 eukalyptus- ja tamminäytteellä, jolloin saatiin aiempaa tarkempaa tietoa näytteiden sisältämistä hydrolysoituvista tanniineista sekä kasvien kemian linkityksestä niiden fylogeniaan eli lajien evolutiiviseen polveutumiseen.

### Johdanto

Hydrolysoituvat tanniinit ovat monipuolinen tanniiniluokka, johon kuuluu lähes tuhat [1] tähän mennessä tunnistettua rakennetta. Hydrolysoituvia tanniineja ovat mm. galloyyyliglukoosit, gallotanniinit ja ellagitanniinit. Hydrolysoituvien tanniinien yleisin biosynteettinen polku alkaa yksinkertaisista galloyyyliglukooseista ja jakautuu ainakin 14 eri haaraan. Jokaisesta polusta muodostuu erityyppisiä hydrolysoituvia tanniineja, joita luokitellaan niiden yhdisteryhmien, monomeerien välisten sidostyyppien tai keskuspolyolin mukaan. Näiden yksittäisten tanniiniyhdisteiden esiintyvyyttä kasvukunnassa ei tunneta vielä tarkkaan, vaikka tietynlaista kaavamaisuutta tunnetaan yhdisteryhmille lakko- ja sukutasolla. Tutkimusryhmämme on seulonut kasvikuntaa läpi etsien erilaisia tanniiniryhmiä yhdisteryhmäkohtaisilla LC-MS-menetelmillä [2], joissa on ollut sisällytettynä myös kokonaisonivirtadata. Tässä tutkimuksessa luotiin yhdistekohdittaisen analysoinnin jälkeinen menetelmä, jolla pystyi kvantitoimaan 120 erilaista hydrolysoituvaa tanniinia, jotka edustavat 14:a eri biosynteettistä polkua. Metodia käytettiin ja sovellettiin 628 *Eucalyptus*-suvun (eukalyptukset) lajiin tai alalajiin sekä 54 *Quercus*-suvun (tammet) lajiin.

### Materiaalit ja menetelmät

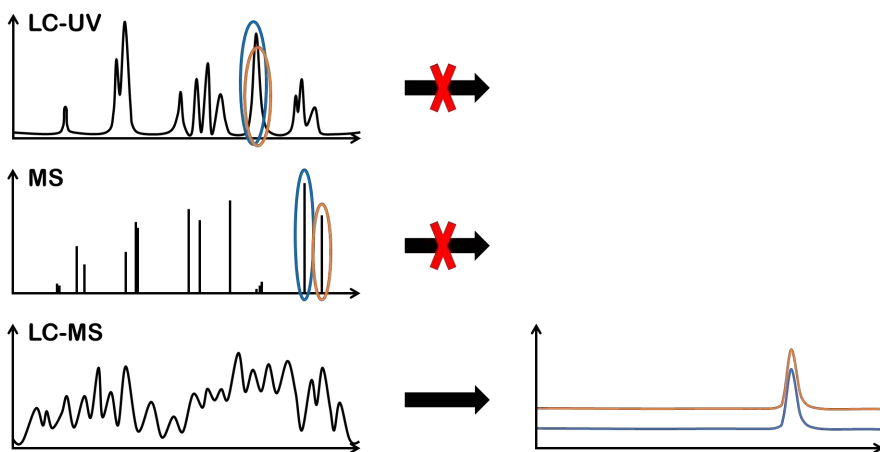
Tammi- ja eukalyptusnäytteiden olemassa oleva data analysoitiin MassLynx- ja TargetLynx-ohjelmistoilla. Näytteistä etsittiin ja kirjattiin ylös näytteille ominaisia pääyhdisteitä intensiteetin ja erottuvuuden mukaan. Pääyhdisteistä otettiin ylös yhdisteen retentioaika, intensiivisimmät ionien massavaraussuhteet ja retentioaikaikkuna. Pääyhdisteet tunnistettiin retentioajan, pääionin massavaraussuhteen ja yhdisteen UV-spektrin perusteella. Tietojen perusteella luotiin TargetLynx-menetelmä, jota käytettiin uudestaan tammi- ja eukalyptusnäytteiden analysointiin. Analysoinnin perusteella valittiin yhteensä 46 näytettä molemmista suvuista, jotka analysoitiin tarkemmin UPLC-DAD-ESI-Orbitrap-MS-laitteistolla. Lopuksi ajettiin kaikille kvantitatiivisen menetelmän kalibraatio suorat UPLC-DAD-ESI-Qq-MS-laitteistolla.

### Tulokset ja johtopäätökset

Menetelmän luominen aloitettiin edellä mainittujen kasvisukujen näytteistä löytyvien pääyhdisteiden kirjaamisella ylös ja tunnistamisella. Pääyhdisteiden tietojen perusteella luotiin menetelmä,

jolla tarkasteltiin uudestaan näytteitä kvalitatiivisella tasolla. Kvalitatiivisen tarkastelun perusteella pystyttiin katsomaan, mitä yhdisteitä löytyi tammilajeista ja mitä eukalyptuslajeista. Tämän tiedon perusteella valittuja näytteitä analysoitiin korkean erotuskyvyn UPLC-MS/MS:llä yhdisteiden rakenteen varmistamiseksi ja tuntemattomien yhdisteiden tunnistamiseksi. Saadun tiedon perusteella vanhaa menetelmää korjattiin vastaamaan uutta tietoa. Uudella menetelmällä analysoitiin kvantitointia varten valitut tунnetut näytesarjat ja lopulta eukalyptus- ja tamminäytteet.

Saatujen tulosten perusteella nopea hydrolysoituvien tanniinien kvantitointi UPLC-MS-datasta on mahdollista. Nestekromatografia yhdistettynä massaspektrometriaan mahdollistaa riittävän selektiivisyyden yhdisteiden kvantitointiin, sillä harvoin kahdella yhdisteellä on täsmälleen sama retentioaika ja ionien massavarausuhde. Kolmoiskvadrupolin resoluutio ei riitä kaikkien yhdisteiden kvalitatiiviseen analyysiin, vaan yhdisteet on tunnistettava täsmällisesti korkean resoluution massaspektrometrillä ja/tai NMR-spektroskopiolla. UPLC-MS-analytiikka ei myöskään anna täydellistä kuvaa yhdisteiden rakenne- ja stereoisomeriasta, vaan yhdisteen täsmällisen karakterisointiin on käytettävä esimerkiksi NMR-spektroskopiaa.



**Kuva 1.** LC-MS:n toimivuuden peruseriaate analytiikassa. Nestekromatografia (LC) ei yksinään riitä erottamaan yhdisteitä toisistaan selektiivisesti, sillä jotkin yhdisteet voivat eluoitua samaan aikaan. Vastaavasti näytteen massaspektri (MS) saattaa sisältää samoja ioneja eri yhdisteistä, jolloin selektiivisyys kärsii. Menetelmät yhdistettäessä saadaan erotettua yhdisteet toisistaan siten, että kvantitointi on mahdollista.

### Viitteet

- [1] Quideau, S.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C.; Pouységú, L. Natural Products Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte*. **2011**, 586–621.
- [2] Engström, M. T.; Päljjarvi, M.; Salminen, J. P. Rapid Fingerprint Analysis of Plant Extracts for Ellagitannins, Gallic Acid, and Quinic Acid Derivatives and Quercetin-, Kaempferol- and Myricetin-Based Flavonol Glycosides by UPLC-QqQ-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, 63 (16), 4068–4079.

## ALKALOIDIEN MOLEKYYLIVERKOSTOANALYTIikka

Ilari Kuukkanen\*, Marianna Manninen, Maarit Karonen ja Juha-Pekka Salminen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



jlikuu@utu.fi

### Abstrakti

Alkaloidit ovat aminohappojohdannaisiin kuuluvia kasvien tuottamia erikoistuneita metaboliitteja, jotka tunnetusti bioaktiivisina yhdisteinä ovat suuri mielenkiinnon kohde muun muassa lääkekehityksessä. Molekyyliverkostoanalytiikasta on tullut lyhyessä ajassa yksi käytetyimmistä bioinformatiikan työkaluista, joka mahdollistaa tuhansien erilaisten yhdisteiden tunnistamisen, kvantitoinnin ja kemiallisen avaruuden visualisoinnin, ei-kohdehakuista korkean resoluution massaspektrometria (MS) -datasta. Tutkimusprojektin tavoitteena oli kehittää nopea ja tehokas UHPLC-MS/MS-analyysimenetelmä molekyyliverkostoanalytiikkaa varten ja hyödyntää tätä menetelmää yhdisteiden perinteisen tunnistamisen ja kvantitoinnin tukena. Lisäksi analysoitujen näytteiden avulla rakennetaan alkaloidikirjasto ja muodostetaan kokonaiskuva alkaloididiversiteetistä viideltä eri mantereelta, joista kasvinäytteet ovat peräisin.

### Johdanto

Alkaloidit ovat suuri ja monimuotoinen joukko bioaktiivisia, aminohapoista johdettuja erikoistuneita metaboliitteja, joiden rakenteet sisältävät tyypillisesti yhden tai useamman typpiatomia. Alkaloideja löydetään yleisesti kasvikunnasta, mutta myös tietyistä eläinlajeista [1,2]. Merkittävän bioaktiivisuuden vuoksi alkaloidit ovat hyvin potentiaalinen tutkimuskohde muun muassa lääkekehityksessä [1].

Suurten näytemäärien analysointi ja sen jälkeinen yhdisteiden tunnistaminen ja kvantointi ovat perinteisesti hyvin työläitä ja aikaa vieviä prosesseja. Näitä prosesseja helpottamaan ja tehostamaan on kehitetty erilaisia strategioita, joista yhdeksi lupaavimmista on osoittautunut MS:an pohjaava molekyyliverkostoanalytiikka [3]. Molekyyliverkostot ovat informatiivinen tapa visualisoida ei-kohdehakuista UHPLC-MS/MS-analyysijä. UHPLC-MS/MS-datan avulla rakennettu molekyyliverkosto visualisoi analyyseissä havaitut ja fragmentoidut molekyylit ja luo korrelaation niiden kemiallisten rakenteiden samankaltaisuudesta, tehostaen samalla uusien potentiaalisten yhdisteiden identifiointia [4,5].

Tutkimusprojektin oleellisin päätavoite oli kehittää tehokas ja nopea UHPLC-MS/MS-analyysimenetelmä, joka kykenee tuottamaan riittävän korkealaatuista MS-dattaa kvantitoitavaksi, vielä silloinkin, kun havaittavien MS/MS-fragmentaatioiden määrä pysyy riittävän suurena laadukasta molekyyliverkostoanalytiikkaa varten. Toinen tärkeä osa tutkimusprojektia oli UHPLC-MS/MS-datan jälkikäsitteily ja parametrien optimointi totuudenmukaisen verkoston luomiseksi. Viimeisenä tavoitteena oli rakentaa toimiva, molekyyliverkostoanalytiikkaan optimoitu analyysimenetelmä ja kattava alkaloidikirjasto, johon kuuluvat yhdisteet on tunnistettu ja kvantitoitu molekyyliverkoston tukemina. Tutkimusprojektissa luodaan myös lopulta kuva viideltä eri mantereelta kerättyjen kasvilajien alkaloididiversiteetistä.

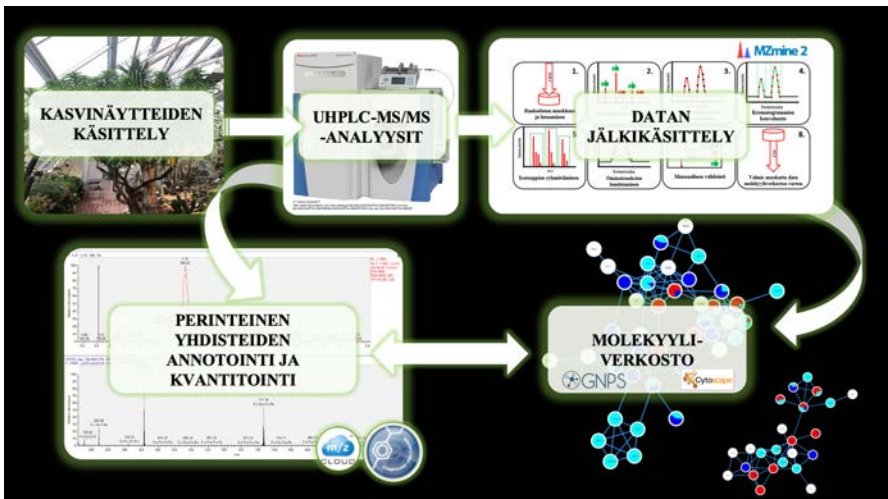
### Materiaalit ja menetelmät

Alkaloidit uutettiin kasvimateriaalista asetoni/vesi (80/20, v/v) -uuttoliuottimen avulla, konsentroitiin vesifaasiin ja kylmäkuivattiin. Lopuksi kylmäkuivatut näytteet liuotettiin 5 mM suolahappoon ja analysoitiin UHPLC-DAD-ESI-Orbitrap-laitteistolla. Laadunvarmistukseen

lisättiin näytteiden välille ja Orbitrap QExactive -massaspektrometrin toimintaa seuraamaan sisäinen ja ulkoinen standardi. Tuotettu UHPLC-MS/MS-data käsiteltiin LC-MS-datan *in silico*-käsittelyyn fokusoidulla mzMine 2 -ohjelmalla ja ladattiin kaikille avoimeen GNPS (Global Natural Product Social Molecular Networking) -järjestelmään molekyyliverkoston rakentamista varten. Lopullisen molekyyliverkoston visualisointiin käytettiin Cytoscape 3 -verkostodatan integrointi-, analysointi- ja visualisointiohjelmalla.

### Tulokset ja johtopäätökset

Tutkimusprojektissa onnistuttiin kehittämään nopea ja tehokas analyysimenetelmä molekyyliverkostoanalytiikkaa varten (Kaavio 1). UHPLC-MS/MS-analyysimenetelmä rakennettiin niin, että se tuottaa riittävän määrän MS-datapisteitä analysoituja ioneja kohden ja samalla turvaa kriittisten MS/MS-spektrien määrän molekyyliverkostoa varten. Analyysimenetelmään kehitettiin lisäksi MS/MS-fragmentaatioon keskittyvä vaihe, jolla lisätään fragmentaatiodataa verkoston laadun parantamiseksi. UHPLC-MS/MS-analyysin tuottaman datan *in silico*-käsittelyn parametrit optimoitiin analysoiduille näytteille sopiviksi.



**Kaavio 1.** Molekyyliverkostoanalytiikkaan optimoidun analyysimenetelmän päävaiheet, näytteiden käsittelystä molekyyliverkoston tukemaan tunnistamiseen ja kvantitointiin.

### Viitteet

- [1] Aniszewski, T. *Alkaloids – Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*, 1. painos, Elsevier, Amsterdam, Alankomaat, 2007, s. 1–59
- [2] Kurek, J. *Alkaloids – Their Importance in Nature and for Human Life*, 1. painos, IntechOpen, Lontoo, Iso-Britannia, 2019, s. 1–7.
- [3] Watrous, J. et al.; Mass spectral molecular networking of living microbial colonies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109*, E1743–52.
- [4] Quinn, R. A. et al.; Molecular Networking As a Drug Discovery, Drug Metabolism, and Precision Medicine Strategy. *Trends Pharmacol. Sci.* **2017**, *38*, 143–154.
- [5] Fox Ramos, A. E.; Evanno, L.; Poupon, E.; Champy, P.; Beniddir, M. A.; Natural products targeting strategies involving molecular networking: different manners, one goal. *Nat. Prod. Rep.* **2019**, *36*, 960–980.

## RNA-dependent RNA polymerase from *Heterobasidion* RNA virus 6 initiates RNA replication *de novo* and possesses TNTase activity

Alesia A. Levanova<sup>1,2</sup>, Minna Poranen<sup>2</sup>, Juha-Pekka Salminen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Natural chemistry research group, Medicinal and Radiopharmaceutical Chemistry, Department of Chemistry, 20014 University of Turku

<sup>2</sup>Research Programme in Molecular and Integrative Biosciences, Faculty of Biological and Environmental Sciences, 00014 University of Helsinki



alesia.a.levanova@utu.fi

### Abstract

An unassigned virus *Heterobasidion* RNA virus 6 (HetRV6) was discovered in 2012 and initially was described as a capsidless double-stranded RNA virus encoding a single protein, RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), which is responsible for synthesis of viral RNA. The purpose of this project was to clone, express and purify HetRV6 RdRp to study its biochemical activities. The purified recombinant protein was enzymatically active and demonstrated replicase and terminal nucleotidyltransferase (TNTase) activities.

### Introduction

A number of fungi from the genus *Heterobasidion* are notorious parasites of boreal forests of the Northern hemisphere causing root and butt rot diseases in firs, spruces and pines. *Heterobasidion* species have different host preferences and variable disease manifestations [1]. About 15-17% of *Heterobasidion* isolates collected in Europe, Asia, and North America carry at least one double-stranded (ds)RNA virus, mostly from the family *Partitiviridae* [2]. An unassigned virus HetRV6 was detected in 70% of European isolates of *Heterobasidion* [3]. When I started my research project, it was considered that the virus consists of only one genome segment of 2050 base pairs long that codes for viral RdRp, an enzyme indispensable for viral existence. Therefore, the goal of my project was to study biochemical activities of recombinant RdRp to understand mechanisms of viral replication and virus life cycle in general.

### Materials and Methods

To construct an expression plasmid, a gene of HetRV6 RdRp was amplified by PCR and cloned into pET28a(+) vector. The construct was transformed into BL21(DE3) *Escherichia coli* strain and protein expression was induced by 0.5 mM of isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside at +17°C. The RdRp was purified by heparin chromatography followed by anion exchange chromatography and gel filtration. The specific polymerase activity or TNTase activity of recombinant RdRp was assayed in a 10  $\mu$ l reaction mixture containing 50 mM Hepes-KOH pH 7.4, 40 mM ammonium acetate (NH<sub>4</sub>OAc), 6% (w/v) PEG4000, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM MnCl<sub>2</sub>, 0.1 mM EDTA, 0.1% Triton X-100, 1 mM of each nucleotide triphosphates, 73 nM of RNA substrate, 0.8 U/ $\mu$ l RNasin, and 0.25 mCi/ml of [ $\alpha$ -<sup>33</sup>P]UTP (PerkinElmer, 3000 Ci/mmol). Reactions were initiated by addition of the RdRp preparation and incubated at 30°C. The single-stranded (ss) and double-stranded (ds) RNA substrates were generated by enzymatic synthesis using DNA-dependent RNA polymerase from bacteriophage T7 to produce ssRNA on DNA template. The resulting ssRNA was used as a template for dsRNA production using phi6 RdRp.

## Results and conclusions

To produce recombinant HetRV6 RdRp in *E.coli* cells, the expression plasmid pAL1 was constructed, which contained a cDNA copy of the coding region of the RdRp gene cloned into a pET28a(+) vector. A calculated molecular weight of the protein was 69.3 kDa and its pI 5.62. Bacterial strain BL21(DE3/pAL1) produced a detectable amount of the soluble protein at 17°C. For the protein purification, resins used for routine purification of the enzymes involved in nucleic acid metabolism were used. HetRV6 RdRp was bound to heparin agarose eluting from the column at ~400 mM NaCl. The HetRV6 RdRp was finally subjected to gel-filtration chromatography and eluted from the column as a single peak. SDS-PAGE and western blotting confirmed the purity and identity of the purified protein. The estimated yield of the purified protein was ~0.5 mg per liter of the bacterial culture.

I set up polymerase assay with the purified RdRp, which showed that enzyme is catalytically active and is able to replicate ssRNA molecules without any primers, i.e. *de novo*, and does not require any viral or cellular co-factors. Although the activity of HetRV6 polymerase was highest with the native ssRNA, the enzyme is capable of using heterologous templates, but with lower processivity. TNTase activity, the ability to add nontemplated nucleotides to the 3' end of RNA, has been found in a number of viral RdRp, including two viruses with dsRNA genome, bacteriophage phi6 and human picobirnavirus [4,5]. TNTase activity was studied under the same conditions as polymerase activity in a presence of UTP only. The data obtained demonstrate that HetRV6 RdRp has TNTase activity to add extra nucleotides to the 3' end of ssRNA substrate.

To characterize the biochemical properties of HetRV6 RdRp, I studied its activity under different reaction conditions. I kept the same basic buffer composition as was reported for phi6 RdRp [6], and systematically changed the concentration of a single buffer component. Similar to RdRp from phi6, the highest activity of HetRV6 RdRp is observed in Hepes-KOH buffer at pH 8.0. Tris-HCl buffer inhibits the replicase activity of the enzyme. HetRV6 polymerase requires two-fold less ammonium ions for its activity, 40 mM instead of 80 mM reported for phi6 RdRp [6]. Similar to phi6 RdRp, polymerase from HetRV6 needs 1-2 mM Mn<sup>2+</sup> and 1-5 mM Mg<sup>2+</sup> ions for optimal activity. Although HetRV6 RdRp is active in the absence of Mg<sup>2+</sup> ions, Mn<sup>2+</sup> ions are absolutely required for dsRNA synthesis. TNTase activity is also compromised in the absence of Mn<sup>2+</sup> ions. Ca<sup>2+</sup> at the concentration 1 mM impairs the processivity of the enzyme and only truncated version of dsRNA is produced. At higher Ca<sup>2+</sup> concentrations the replicase activity of polymerase is completely blocked. On the contrary, TNTase activity seems to be stimulated by Ca<sup>2+</sup> ions. The polymerization rate of the enzyme at 30°C and 37°C is 22.7 nt/min and 45.5 nt/min, respectively.

To sum up, the project was dedicated to the investigation of activities and biochemical properties of RdRp from mycovirus HetRV6. In the course of the experiments, I showed that enzyme possesses both replicase and TNTase activities. It is able to initiate synthesis of dsRNA *de novo* on the native and heterologous templates, and Mn<sup>2+</sup> ions are indispensable for the activities of HetRV6 polymerase. This is the first study of the biochemical properties of RdRp from mycoviruses.

## References

1. Garbelotto, M. and Gonthier, P., *Ann. Rev. Phytopathology*. **2013**, *51*, 39-59.
2. Vainio, E. J., Hakanpää, J., Dai, Y. C., Hansen, E., Korhonen, K. and Hantula, J., *Fungal Biol.* **2011**, *115*(12), 1234-1243.
3. Vainio, E. J., Hyder, R., Aday, G., Hansen, E., Piri, T., Dogmus-Lehtijärvi, T., . . . and Hantula, J., *Virology*. **2012**, *422*(2), 366-376.
4. Poranen, M.M., Koivunen, M.R.L. and Bamford, D.H., *J. Virol.* **2008**, *82*, 9254-9264.
5. Collier, A.M., Lyytinen, O.L., Guo, Y.R., Toh, Y., Poranen, M.M. and Tao, Y.J., *PLoS Pathog.* **2016**, *12*(4), e1005523.
6. Makeyev, E. V. and Bamford, D. H., *EMBO J.* **2000**, *19*, 124-133.



## PROANTHOCYANIDINS AND ANTHOCYANINS IN BERRIES: DEVELOPMENTS IN ANALYSES AND STUDIES IN BIOSYNTHESIS AND BIOTECHNOLOGICAL CULTIVATION

Jussi Suvanto



Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisors:** Prof. Juha-Pekka Salminen, Doc. Maarit Karonen and Doc. Petri Tähtinen

**Funding:** NCRG Research Services, Kemian Päivien Säätiö

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

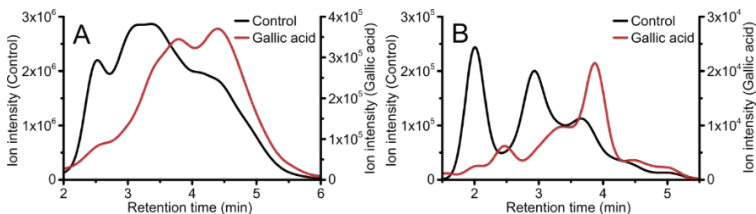
### Main aims of the PhD research

My project aims to (1) study the content of specialized metabolites in cell suspension cultures of a wide variety of Nordic plant species, (2) find different ways of modifying the polyphenolic profiles of these unique cell suspension cultures, (3) study the biosynthesis of proanthocyanidins (PAs) in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) both during the berry maturation and in other plant parts, and (4) create new analysis methods for both rapid and accurate quantitative and qualitative analysis for polyphenols abundant in many berries.

### Main results so far

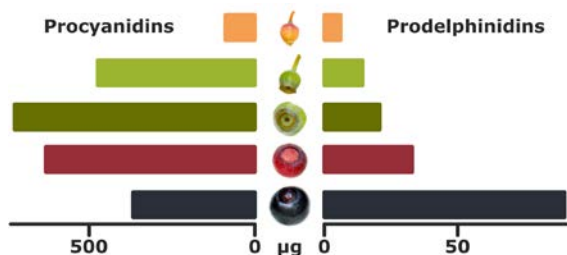
The results for Goal 1 were published in 2017.[1] The study, which included 12 plant species, showed a considerable variability in both the profiles and quantities of specialized metabolites in the different cell suspension cultures; some cell cultures were very similar in their polyphenolic profiles when compared to wild plants, while some differed greatly. *V. myrtillus*, for example, was PA-rich and contained both A- and B-type PAs in a mixture resembling its natural counterpart, whereas rowan (*Sorbus aucuparia*) produced mainly galloyl glucoses and ellagitannins, neither of which are found in the plant in nature.

In Goal 2, various compounds of the polyphenol biosynthesis pathway, elicitors, and hormones were fed in the cell cultures introduced in Goal 1 to study how they modulate the polyphenolic profile of these cell cultures.[2] A couple of different main effects were observed: while in some cell cultures derived from *Rubus* species the most significant change was seen in the chromatographic profiles of the procyanidins and prodelfinidins (Figure 1), a different set of cell cultures produced such galloyl glucoses that are seldom, if ever, found in plants.



**Figure 1.** The changes in the chromatographic profiles of procyanidins (A) and prodelfinidins (B) when a *Rubus arcticus* cell suspension culture was subjected to gallic acid.

The manuscript concerning the PA biosynthesis in *V. myrtillus* (Goal 3) was submitted for review in February 2020.[3] In this study, the profiles and concentrations of PAs and their immediate biosynthetic precursors, flavan-3-ols, were studied and linked with the expression of flavonoid pathway biosynthetic genes. While soluble procyanidins behaved during berry ripening as has been reported for the total PAs of some other *Vaccinium* species, prodelphinidins showed a curious behaviour in which their concentration and degree of polymerization only peaked in the ripe berry (Figure 2). Moreover, it was found out that total amount of PAs, i.e. the sum of both soluble and cell-wall-bound insoluble PAs, reaches its maximum in mid-ripening, suggesting that they are not recycled and are merely transported to the cell wall during fruit maturation, thus rendering them insoluble when the need for a feeding deterrent in the berry is diminished.



**Figure 2.** The accumulation of soluble procyanidins and prodelphinidins in *V. myrtillus*.

The method development for Goal 4 is mostly completed, with a few possible additional steps needed to prove their robustness and repeatability. The results show their strengths in ease of use and accuracy when compared to traditional anthocyanin quantification methods.[4]

### The significance of my research for the research group and the whole research field

The cell cultures provide an excellent base for biosynthetic studies on plant secondary metabolites. When the cell cultures are optimized for e.g. the productions of polyphenols, they can be later accumulated into large-scale batch cultures at VTT for further testing by the industry collaborators to be potentially used in the future as e.g. ingredients of cosmetics products.

Previously, some *Vaccinium* berries have been studied for their PA metabolism, but the methods have lacked the accuracy to find the patterns now observed. Thanks to the use of several complementary analysis methods, these findings provide insight into how PAs are accumulated and transported in plant cells during fruit maturation.

New analysis methods have been created, and these methods can easily be applied to a wide range of plant studies, possibly revealing new information on compounds not detected previously.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Suvanto, J., Nohynek, L., Seppänen-Laakso, T., Rischer, H., Salminen, J.-P., Puupponen-Pimiä, R. *Planta* 2017, 246, 227–241.
2. Suvanto, J., Nohynek, L., Rischer, H., Puupponen-Pimiä, R., Salminen, J.-P. Modulating the Polyphenolic Profile of Berry-derived Cell Cultures Using Their Biosynthesis Pathway Precursors. Manuscript in preparation.
3. Suvanto, J., Karppinen, K., Riihinen, K., Jaakola, L., Salminen, J.-P. Changes in Proanthocyanidin Composition and Transcription Profile in Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Manuscript submitted to *J. Agric. Food Chem.*
4. Suvanto, J., Salminen, J.-P. Quantitative Profiling of Anthocyanins Using UHPLC–3Q-MS. Manuscript in preparation.

## MODIFIED TANNINS TO INCREASE THE VALUE OF BARK WASTE AS A SOURCE OF BIOACTIVE FEED

Iqbal Bin Imran

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



Iqbal.imran@utu.fi

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisor(s):** Prof. Juha-Pekka Salminen, Doc. Maarit Karonen and Dr. Marica Engström

**Funding:** University of Turku, Biofuture strategy

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

With my PhD project, I aim (1) to find rare tannins and produce tannin modifications by multiple different methods, (2) to understand how tannin modification affects their chemical properties and *in vitro* bioactivities (3) to find out the structure-activity relationships for modified tannins and their anthelmintic activities and (4) to unravel how tannin structures may be altered by incorrect sample preparation techniques.

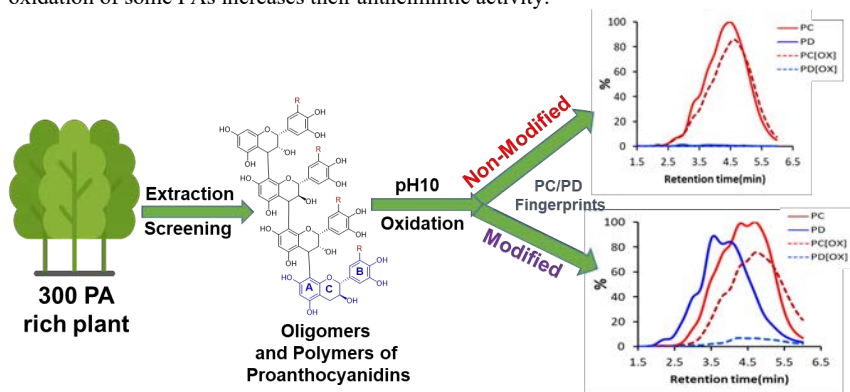
Tannins are the specialized metabolites that are increasingly considered responsible for many positive effects related to ruminant nutrition and health. The ultimate goal of my PhD research is to reveal the best ways to produce active and stable tannin products for the more efficient commercial utilization of waste materials as sources of bioactive additives in the feeds of the future.

I will utilize biotechnology, chemistry, and parasitology to achieve the objectives. I aim to produce tools for the production of valuable products such as modified bioactive tannins that can be used as feed additives to battle worldwide infections of ruminants with intestinal nematodes. I will develop technologies and processes that support the biotechnology-based production of bioactive modified tannins. The target is to reduce the raw material utilization and decrease the waste generation by creating these modified bioactive tannin products from the thousands of tons of bark waste annually produced e.g. by Finnish wood industry.

### Main results so far

In my first experiment, I was looking for such modified proanthocyanidins (PAs) that cannot be found in plants. To develop the production methods of these rare tannins I tested a couple of methods for tannin modification via oxidative reactions. To maximize the heterogeneity of PAs in my tests, I included 300 plant samples from the Botanical Garden of the University of Turku in the experiments. In addition, seven commercial tannin preparations were investigated. From the preliminary screening, 130 plant samples had procyanidin and prodelphinidin rich oligomers and polymers. The tannins in these plant samples were extracted and analyzed by UPLC connected to Waters XEVO triple quadrupole mass spectrometer. Then the plant extracts were oxidized at pH 10 buffer. Altogether, 37 samples contained PAs that were uniquely oxidized or otherwise modified in alkaline conditions. The main patterns suggested that the higher was the prodelphinidin share of the PA oligomers and polymers, the easier they were modified during oxidation. In contrast, high levels of procyanidins resulted in relatively stable structures. In my first research paper, I show in detail the PA fingerprints of the samples before and after modifications and explain the chemical reasons for their reactivity or the lack of it. For the second experiment, I used both oxidized and non-oxidized PAs to conduct a detailed analysis of their *in vitro* anthelmintic effects against *Ascaris suum* nematodes during my research visit at the University of Copenhagen, Denmark.

These results show that there is a significant difference between the oxidized and the non-oxidized samples, the oxidized sample typically having a higher inhibition value. This suggests that the oxidation of some PAs increases their anthelmintic activity.



**Figure 1.** Modification method of proanthocyanidins (PAs) from PA rich plants in alkaline condition. Where, PC = Procyanidin, PD = Prodelphinidin, OX = Oxidized.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My work is part of the ModiFeed project and this research entity is part of the Biofuture strategy of the University of Turku. ModiFeed and my PhD work will build on this knowledge of Natural Chemistry Research Group and produce several new types of active tannin products from the industry side streams. This will be accompanied by the state-of-the-art chemical analysis and anthelmintic assays that are done in Finland and Denmark. The ModiFeed project and my PhD work differ from all previous feed projects involving bark waste and tannins in that we can very carefully characterize all modified tannin products and link their chemical properties into enhanced or decreased bioactivities. When combined with the resources and aims of OptiFeed, another NCRG project, ModiFeed and my work have the potential to achieve much more significant results than when operating alone.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Imran, I.B., Karonen, M., Engström, M.T., Salminen, J.-P. New types of tannin oligomers and polymers via chemical oxidation of natural proanthocyanidins (manuscript to be submitted to *Macromolecules* in March 2020).
2. Imran, I.B., Karonen, M., Engström, M.T., Williams, A., Salminen, J.-P. Modification of proanthocyanidins increases their anthelmintic activity against *Ascaris suum* gastrointestinal nematodes (manuscript to be submitted to *Parasitology* in May 2020).
3. Imran, I.B., Karonen, M., Engström, M.T., Salminen, J.-P. Structural activity and protein precipitation capacity of modified proanthocyanidins by rapid well-plate reader assays (manuscript in progress).

## NOVEL MASS SPECTROMETRIC TOOLS REVEAL NEW FUNDAMENTAL POLYPHENOLIC PATTERNS IN RED WINES

Juuso Laitila

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



juerlai@utu.fi

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisor(s):** Prof. Juha-Pekka Salminen, Dr. Petri Tähtinen and Dr. Maarit Karonen

**Funding:** Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

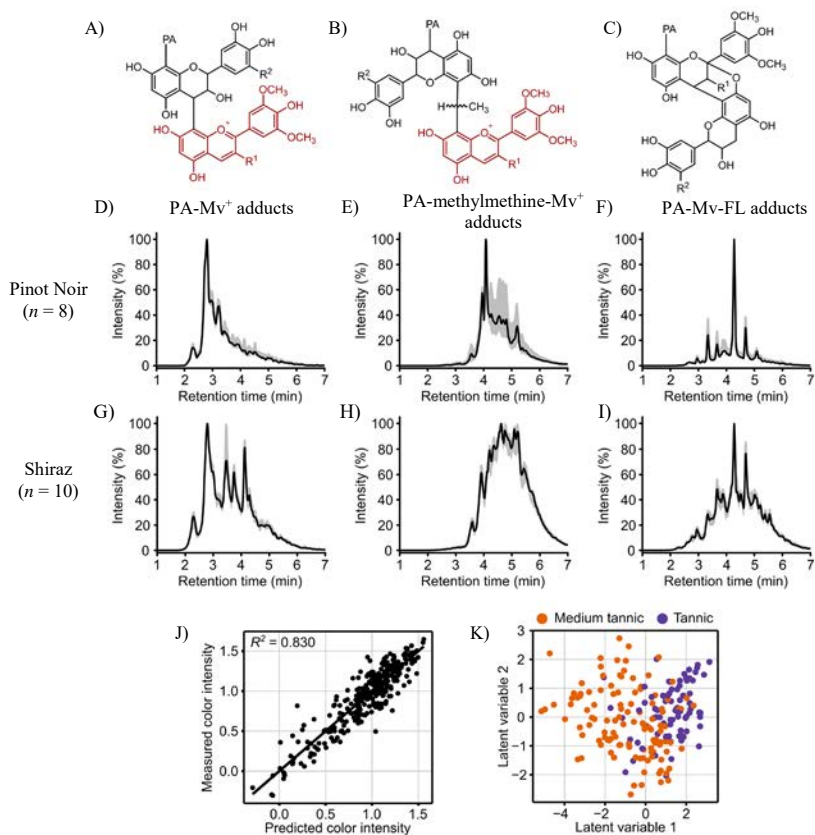
Red wine have been extensively studied during the past decades, but the complexity of the wine matrix as a plant extract has ensured that the detailed polyphenolic composition of wines has largely remained as an uncharted territory. I aim to develop new analytical tools for the detection of various types of complex oligomeric adducts consisting of proanthocyanidins, i.e., the wine tannins, and anthocyanins, which are naturally occurring polyphenolic pigments in grape skins. The method will be used to screen hundreds of red wines to study the compositions and functions of the oligomeric adducts in red wines. Additionally, I plan to prepare completely new types of proanthocyanidin adducts via hemisynthesis by utilizing the same chemical reactivity of proanthocyanidins that leads to the formation of the oligomeric adducts in red wines.

### Main results so far

An ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method was developed for the rapid analysis of anthocyanins and anthocyanin adducts in red wines [1]. The method produces two-dimensional (2D) chromatographic fingerprints (e.g., Fig. 1D–1I), which provide both quantitative and qualitative information about the targeted compound groups. The method exceeds all other methods in analytical accuracy regarding the oligomeric adducts (Figure 1A–1C) in red wines.

A new protocol was developed to visualize and summarize the qualitative data [3]. In Figure 1D–1I, the protocol made it possible to condense chromatographic information from 162 individual chromatograms into only six quantile fingerprints. The compositions of all three oligomeric adducts were noticeably different between the young Pinot Noir and Shiraz wines (Fig. 1D–1I) but, interestingly, there was generally only little compositional variation within the wine types (grey areas in Fig. 1D–1I) [3]. Overall, the adduct composition was remarkably similar between many common wine varieties (e.g., Shiraz, Merlot and Cabernet Sauvignon) but there were still quantitative differences between these wine varieties [3].

In a large wine set consisting of 317 commercial red wines, the color intensity of the wines was largely explained by the oligomeric pigments (Fig. 1A–1B) [2]. While the concentrations explained most of the variation in the color intensity, the sizes of the oligomeric pigments explained a unique and distinctive part of the color intensity that was not explained by the concentrations. Finally, the perceived tannicity was estimated by expert panelists at Alko Inc. and the wines were categorized to medium tannic and tannic wines. The features related to the composition and structures of the proanthocyanidins and proanthocyanidin-containing adducts were more important in separating the two tannicity groups than the concentrations [4]. The work related to the hemisynthesis experiments remains to be started.



**Figure 1.** Structures of PA-Mv<sup>+</sup>, PA-methylmethine-Mv<sup>+</sup> and PA-Mv-FL adducts (A–C) and their two-dimensional fingerprints in 1–2-year-old Pinot Noir and Shiraz red wines (D–I). Scatter plot of the measured and predicted color intensities in 317 commercial red wines (J) and separation of medium tannic and tannic wines based on their proanthocyanidin profiles (K).

### The significance of my research for the research group and the whole research field

The analytical accuracy regarding the oligomeric adducts made it possible to arrive at precise conclusions about the formation, composition, evolution and color contribution of the oligomeric adducts in red wines. Typically, in red wine analytics, only a fraction of the true molecular complexity of red wines is considered because of analytical limitations. From the research group's point of view, all four papers are an integral part of one of the core functions of the research group. Namely, the development and utilization of novel analytical tools to study the fascinating polymeric polyphenols originating from the nature.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Laitila, J.E., Suvanto, J., Salminen, J.-P. Food Chem. 2019, 294, 138–151.
2. Laitila, J.E., Salminen, J.-P. J. Agric. Food Chem. 2020 (accepted)
3. Laitila, J.E. Food Chem. 2020. (submitted)
4. Laitila, J.E., Salminen, J.-P. Food Chem. 2020. (to be submitted)

## UNDERSTANDING THE PARTLY INVISIBLE: HOW TO EXCITE STUDENTS AND GENERAL PUBLIC OF PLANT CHEMISTRY

Marianna Manninen

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



mailma@utu.fi

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisors:** Prof. Juha-Pekka Salminen, Dr. Veli-Matti Vesterinen, Doc. Maarit Karonen, Prof. Mari Murtonen

**Funding:** NCRG Research Services, Turku University Foundation, Finnish Cultural Foundation

**Estimated time of PhD dissertation:** 2022

### Main aims of the PhD research

In my PhD work, I will create tools that show students of all ages and even the general public examples of the role of chemistry in different biological phenomena related to plants. With these tools, students may study experimentally lipophilic defense compounds (flavonoids) of leaf buds in the spring, red and yellow pigments (anthocyanins and carotenoids) of autumn leaves and the biologically and pharmaceutically active compounds (tannins and alkaloids) of plants of the Botanical Garden of the University of Turku. All of the topics will include chemistry at different levels and different chemical methods from simple color change reactions to sophisticated mass spectrometric methods. In collaboration with the botanical garden, I will make the chemistry of the plants more visible for the visitors by renewing the plant labels to include simple bioactivity data and a QR code to a plant chemistry database that I will create. The database will include chemical data of a variety of specialized metabolites found in species of the botanical garden.

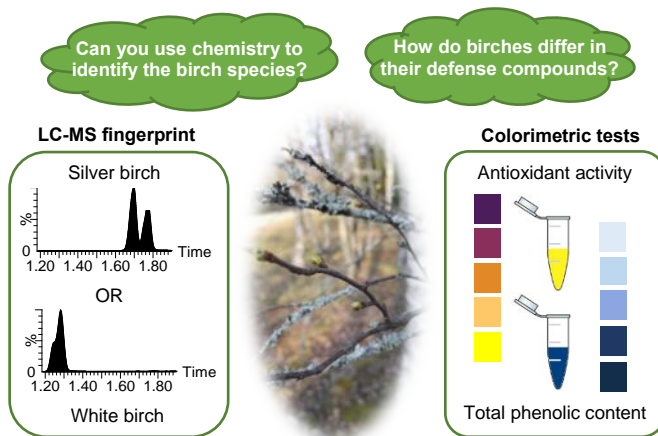
### Main results so far

The experimental methods for autumn leaves were developed and tested with 18 secondary school students and 16 university students [1]. The experiment gave students hands-on experience with separation and analysis of natural compounds from plant leaves. It introduced the students to the quantitative analysis of the pigments by a spectrophotometer. It also provided a chance to utilize modern methods and the UPLC–ESI–QqQ instrument to reveal more details of the pigment composition of a plant sample. The students could obtain reliable results with the instructions provided and they enjoyed the colorfulness of the experiment.

The methods for studying the defense compounds of leaf buds and identifying white birch and silver birch (Figure 1) were tested with 130 upper and lower secondary school and university students. The students were tested for their prior knowledge of chemistry of plants, and their attitudes and learning were measured before and after the experiment. The goal is to find out, how this experiment can help students to understand the chemical differences of plants, how their conceptions of the methods changed, and what are their attitudes towards the different aspects of the experiment. Manuscript of this data will be prepared during this year.

For creating fingerprinting tools for other common Finnish tree species, 13 leaf bud samples from different species were analyzed with UPLC–ESI–Q–Orbitrap–MS. A molecular network was created from the high-resolution MS/MS data to find marker compounds for each plant species. Molecular networks are powerful computational tools in finding similarities between different samples by highlighting structural analogues across them. Instead of finding the similarities

between the samples, the aim for the molecular network is in fact the opposite: to find such compounds, that exist only in one of the plant species. These marker compounds will then be used to produce the fingerprinting tools by creating Selected Ion Recording (SIR) methods for each species.



**Figure 1.** An overview of the experiment with leaf buds of birches.

NCRG has studied the polyphenol content and polyphenol-derived bioactivities of over 1000 species of plants growing in the botanical garden. All the plant species inside the greenhouses were analyzed during in summer 2019 for the pharmacologically active alkaloids. These results will be combined with the polyphenol data in the database to show the visitors all the exciting patterns of plant chemistry during their visit to the garden, even during the winter months. The alkaloid data will also be used to create molecular networks to reveal the diversity of alkaloids in the plant samples of the botanical garden. This information will be utilized to create rapid methods for students visiting the botanical garden to identify the main pharmacologically active alkaloids groups in chosen plant samples. Students and visitors of the botanical garden will also be able to test selected plants by themselves for their antioxidant activity, protein precipitation capacity, oxidative activity and the presence of alkaloids by rapid tests and compare their results to the data collected in the database.

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

My PhD work will show students of all ages and even the general public examples of the role of chemistry in different biological phenomena. By giving them out-of-school and hands-on experiences we hope to increase their interest in chemistry and natural sciences. Especially giving an authentic experience of research in chemistry is the key goal in all activities created during my PhD. My work will not therefore benefit just our research group but chemistry in general. This is the first time when a botanical garden will be equipped with plant signs including chemical data, making thus my PhD project a true pilot experiment in this way as well.

### **Papers to be included in the PhD thesis**

1. Manninen, M., Vesterinen, V-M., Salminen, J-P. J. Chem. Educ. 2020 (in press).



## DISTRIBUTION OF THE DIVERSITY OF PLANT POLYPHENOLS ACROSS THE PLANT PHYLOGENY AND ITS EFFECTS ON PLANT DEFENSIVE PROPERTIES

Suvi Vanhakylä

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



smhvan@utu.fi

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisor(s):** Prof. Juha-Pekka Salminen, Dr. Maarit Karonen, Dr. Ilari Sääksjärvi and Dr. Simon Segar

**Funding:** Finnish Cultural Foundation

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

### Main aims of the PhD research

Currently the distribution of plants' polyphenol-based defensive chemistry within plant phylogeny is relatively poorly known, even though tannins are among the most common group of plants' specialized metabolites. Their high prevalence and variability make them an excellent tool for studying the evolution of plant defenses.

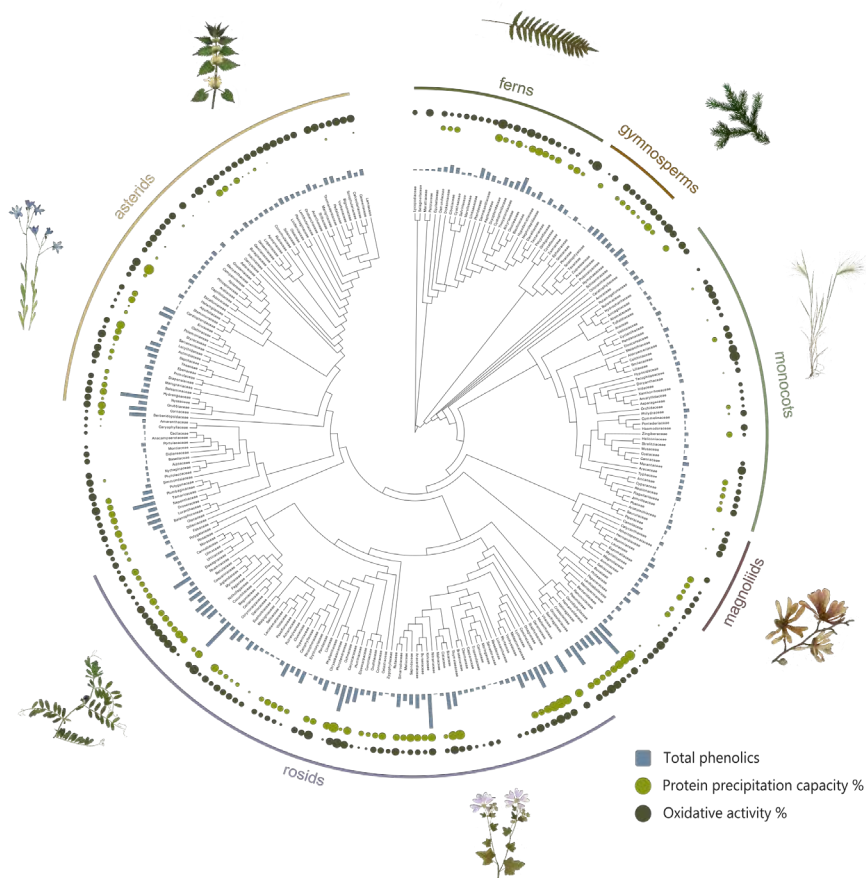
In my PhD project I aim to (1) examine plant polyphenol-based defensive chemistry in thousands of plant species across the phylogeny of land plants, (2) search links between specific metabolite types and functional activities and their effects on insect herbivores, (3) draw conclusions about where in the plant phylogeny the crucial steps of different biosynthetic pathways of defense chemistry evolved and (4) estimate the chemical diversity's effect on the plant species' herbivory rates to resolve the effectiveness of different defenses. This can be accomplished by linking the cutting-edge methods in chemistry and thousands of plant species with the latest knowledge of plant phylogeny and herbivore rates.

### Main results so far

At the moment the data set contains over 10000 samples from 3400 plant species from 270 plant families, which covers the main branches of the vascular plant phylogeny relatively well. All of the collected species are now screened with UPLC-MS/MS for their composition of major groups of polar polyphenols. Every plant sample was also measured for two bioactivities; protein precipitation capacity and oxidative activity, which are the two key defense properties of phenolics against insect herbivores. The first results of the distribution of total phenolic content, percentage of easily oxidized phenolics and protein precipitation capacity across the plant phylogeny at the family level are shown in Figure 1. Next, I'll focus on individual compounds within the polyphenol groups to obtain a detailed picture of the true diversity of polyphenols across the plant kingdom.

To build a better understanding of the patterns of variation of different chemical fingerprints I have studied seasonal and between individuals variation of plant species, which have been chosen on the basis of their highly variable polyphenol fingerprint. I have done two separate experiments and repeated the sampling for three years now.

To test the effects of various polyphenols on herbivores, a feeding experiment was conducted using a generalist moth species as a model. We examined how the larvae metabolize diet and how does a transfer to a new host influence the larval digestion process. The results so far suggest that the previous experience or a habituation to a specific host influences insect herbivores and their metabolism.



**Figure 1.** Distribution of total phenolics, oxidative activity and protein precipitation capacity across the phylogenetic tree of 270 plant families.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My PhD project is based on the Natural Chemistry Research Group’s extensive plant collections and analyzes since 2011. With my background in ecology and evolutionary biology I’m able to link the chemical data to phylogenetic relationships of vascular plants and herbivory rates. This multidisciplinary approach will significantly increase the knowledge of the distribution and significance of different types of chemical defenses in the plant kingdom.

It is expected that the data will reveal new records for compound occurrence in hundreds of species. Due to the selectivity and sensitivity of my analyses, it is not unexpected to even find compounds that are new to the plant kingdom. These findings will reshape the chemical landscape that scientists have thought to dominate ecologically and economically significant families and genera. My research will undoubtedly produce important data for any chemist or biologist, who aims to focus on the most polyphenol-rich plant families or biologically most active clades in their research.

## Lipid interactions and hydrophobic properties of hydrolysable tannins

Valtteri Virtanen

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



vtjvir@utu.fi

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisor(s):** Doc. Maarit Karonen, Doc. Petri Tähtinen

**Funding:** LipidET project funded by the Academy of Finland (2017–2021, decision 310549)

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

### Main aims of the PhD research

Hydrolysable tannins (HT) are plant specialized metabolites, which have been shown to possess many nutritionally and pharmacologically beneficial activities such as oxidative activity, protein precipitation capacity and anthelmintic activity. However, the aptitude of HTs to interact with lipids/lipid bilayers has been far less studied previously even though it affects how well and to what direction these compounds are transported once ingested in different biological systems. Main aims of my project are **(I)** studying the hydrophobicity of tens of different HTs, **(II)** finding which HT structural features are the most crucial in HT-lipid interactions, **(III)** probe the complex structures formed by HTs and lipids in solution and **(IV)** study the thermodynamics of HT-lipid interaction.

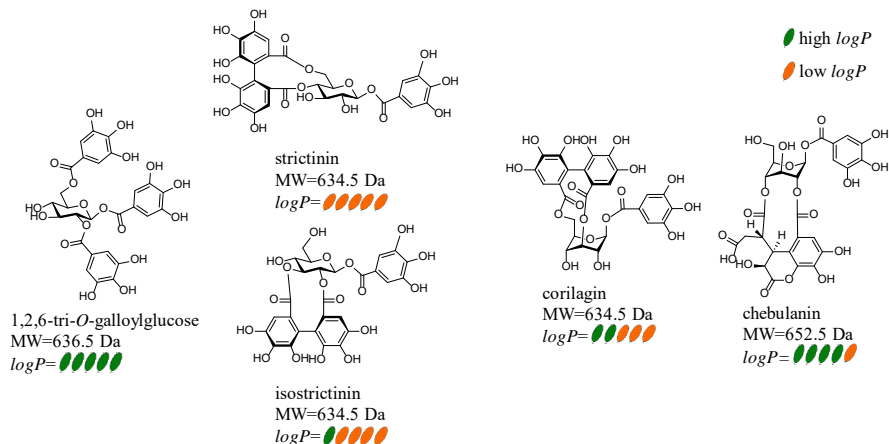
### Main results so far

The hydrophobicity **(I)** of a compound can be determined based on the amount it partitions to either organic solvents or water. The most common solvent pair used when determining hydrophobicity is that of *n*-octanol/water. The partition coefficient (*P*) is typically expressed as the decadic logarithm *logP*. So far I've been able to measure the *logP* of 47 characterized and purified HTs with ultra-high-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography utilising the shake flask method. The method briefly is as follows: both the *n*-octanol and water phases are saturated with each other, studied compound is dissolved into one of the solvents, the second solvent is added, the sample is vortexed, centrifuged, phases separated and both phases analyzed with a suitable analytical method. Results of these measurements look promising and will be the main focal point of my first manuscript in the near future. Some preliminary results are shown in Figure 1 with a five point scoring system in place of the actual measured values due to it being unpublished data. Still the figure illustrates that small structural changes within compounds that are in a relatively narrow molecular weight range can cause their *logP* i.e. hydrophobicity to differ drastically.

The *logP* measurement results will be used to select which compounds are good candidates for the subsequent HT-lipid interaction measurements. For this, I will be using high-resolution magic angle spinning (HR-MAS) NMR spectroscopy **(II)**, which has been previously shown to be a good method for probing the interactions of lipids and other polyphenolic compounds. HR-MAS-NMR combines different properties of liquid- and solid-state NMR and tolerates cloudy biological samples. If the HTs and lipids have any weak interactions, they are expected to show correlations with NOESY (nuclear Overhauser effect spectroscopy) experiments. The measurements with HR-MAS NMR will be performed during the second half of 2020.

During the later parts of my PhD I'm aiming to expand the understanding of HT-lipid interactions and more specifically examine how they affect each other in solution **(III, IV)**. I will study the

lipid-binding behavior of HTs with different surface analytical techniques and try to determine the role and significance of different properties of HTs and how the structure and size of a lipid is changed in the presence of HTs. The modes of action and the thermodynamics of the HT-lipid interactions will be probed by isothermal titration calorimetry.



**Figure 1.** Structures of five monomeric hydrolysable tannins within molecular weight range of 634–652 Da showing relative *logP* values between these five hydrolysable tannins.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

HTs have beneficial effects for animal nutrition and health but the activities can be highly specific depending, for example, on the different structural features and physico-chemical properties of HTs or the macromolecules present or the chemical conditions. That is why further information is needed in order to understand the modes and mechanism of their actions. When the mechanisms of actions are understood, we can start to design practical implementations, such as the use of HTs or HT-rich forages as natural *in vivo* feed additives.

My project will uncover novel insights about HT-lipid interactions and the hydrophobic properties of a more comprehensive set of HTs than currently available anywhere in the literature. This in itself is already a significant addition to all that we already know about the bioactivities and structure-activity relationships of tannins and hydrolysable tannins more specifically and this knowledge can hopefully be used in future practical implementations.

### Papers to be included in the PhD thesis

Virtanen, V., Karonen, M. Manuscript on the hydrophobicity of hydrolysable tannins to be submitted in 2020.

# THE EFFECTS OF VARIABLE TANNIN FINGERPRINTS ON THE BIOACTIVITY OF PROMISING LEGUME CROPS: MECHANISTIC STUDIES VIA METHOD DEVELOPMENTS IN CHEMISTRY

Milla Leppä



mimale@utu.fi

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisor(s):** Prof. Juha-Pekka Salminen, Dr. Maarit Karonen, Dr. Petri Tähtinen and Dr. Marica Engström

**Funding:** Satakunta Regional Fund of Finnish Cultural Foundation, Finnish Cultural Foundation, Raisio Research Foundation, NCRG Research Services, Department of Chemistry

**Estimated time of PhD dissertation:** 12/2020

## Main aims of the PhD research

My PhD focuses on multiple new aspects of proanthocyanidins (PA). I started the work by developing new analytical tools to investigate the complex mixtures of PA. These advantages in method development [1] enabled the more detailed structure-bioactivity studies [2,3] than has been earlier possible. By utilizing the new analytical tools, I studied two bioactivities of PA, protein precipitation capacity (PPC) [2] and anthelmintic activity against *Ascaris suum* [3]. Lastly, I studied the faith of PA in faba bean samples after ensiling [4].

Plants produce up to hundreds of different PA molecules with varying polymer chain length and monomer compositions [1]. The first step in my PhD work was to very finely fractionate the naturally occurring complex PA mixtures into several sub-fractions with lesser individual PA molecules. These sub-fractions were analysed by both tandem [1] and high-resolution mass spectrometers. The produced sub-fractions were further utilized as source material in the bioactivity assays. This approach of studying the distribution of bioactivity within plant species enabled us to reveal the active parts of the PA fingerprints and compare the structural features causing the protein precipitation and anthelmintic activity.

The last aspect in my research was to study the PA composition of faba bean (*Vicia faba*) after different ensiling conditions. Faba bean was selected as the model plant species in the last study, since it is one of the most promising crops to cultivate in the Finnish climate. The faba bean samples were provided and analysed for their nutritive values by the Natural Resources Institute Finland (Luonnonvarakeskus, Luke).

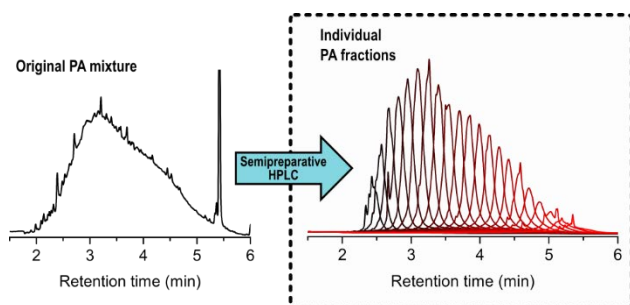
## Main results so far

The sub-fractionation of the PA in the first research step was carried out by semi-preparative LC separation and many interesting findings were made from the purified tannin fractions [1]. Firstly, the retention time windows of produced fractions were significantly narrower than the ones of the starting material (Fig. 1). Secondly, the monomer composition of PA varied greatly in the produced sub-fractions. Even prodelphinidin (PD) rich tannin material produced sub-fractions, which were rich in procyanidin (PC) instead of PD units. These quantitative results were obtained by UPLC-MS/MS and they were confirmed by high-resolution mass spectrometry. This is the first time, that

diversity of PA oligomers and polymers within a single plant species has been shown in this detailed manner.

The PPC of 350 PA sub-fractions was tested via turbidimetry based well-plate reader method [2]. The results showed that the PPC varied significantly even within individual plant species and the distribution of the activity differed considerably in different plant species. The effect of one structural feature was especially significant and the details of these yet-unpublished results will be available in my third paper [2]. The antinematode-activity of PA sub-fractions was studied against *Ascaris suum* L3 stage larvae at the University of Copenhagen [3]. The studied modes of activity were mortality and migration inhibition. In total of 110 PA sub-fractions with variable polymer sizes and PC/PD ratios were studied and the structure dependence of antinematode activity was revealed. These results will be available in my fourth paper [3].

The faith of PA in faba beans in different ensiling treatments was studied in the second paper of this PhD project [4]. The nutritional values of the samples were determined by Luke and the PA fingerprints and the amount of soluble PA was measured with the compound group specific UPLC-MS/MS method (*a.k.a.* the Engström method) in our laboratory.



**Figure 1.** The separation of tannins as illustrated with UPLC chromatograms ( $\lambda = 280$  nm).

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My PhD work is a direct continuation for the EU and Academy projects of our research group that have investigated the environmental benefits of using tannin-rich forages with ruminants. The new tools that are developed in this PhD project will give a significant boost for our understanding of how the very complex PA composition of plant samples can be used to estimate the bioactivity of any given plant sample. Our group has pioneered in finding the structure-activity relationships between the above activities and ellagitannins, and my work will aim at producing tools for similar breakthroughs with proanthocyanidins.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Leppä, M. M.; Karonen, M.; Tähtinen, P.; Engström, M.; Salminen, J.-P., 2018, *J Chrom A*, 1576:67–79.
2. Leppä, M. M. Laitila, E. J., Salminen, J.-P, 2020, “Protein precipitation activity of refined proanthocyanidin fractions via turbidimetry based well-plate reader assay” *to be submitted to J Agric Food Chem*.
3. Leppä, M. M.; Williams, A. R.; Engström T. M.; Karonen, M.; Tähtinen, P.; Salminen, J.-P, 2020, “Antinematode activity of refined proanthocyanidin fractions against *Ascaris suum*”, *to be submitted to Parasitology*.
4. Rinne, M.; Leppä, M. M.; Kuoppala, K.; Koivunen, E.; Kahala, M.; Jalava, T., Salminen, J.-P.; Manni, K., 2020, *re-submitted to Anim Feed Sci Tech*.

## Phenolic composition and oxidative activities of Finnish and Panamanian plant species

Jorma Kim

Natural Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



jookim@utu.fi

**Research Director:** Prof. Juha-Pekka Salminen

**Supervisors:** Prof. Juha-Pekka Salminen and Dr. Maarit Karonen

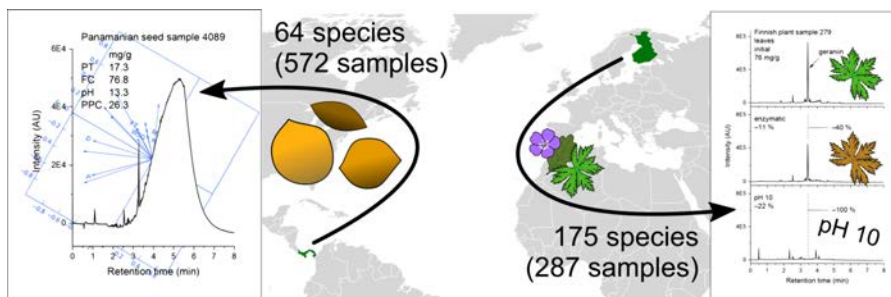
**Funding:** NCRG Research Services, Department of Chemistry, Emil Aaltonen Foundation, Finnish Academy of Science and Letters

**Estimated time of PhD dissertation:** 12/2020

### Main aims of the PhD research

Plants are known to produce phenolic compounds as chemodefensive means against herbivores. Upon oxidation phenolics turn into highly reactive quinones, and further reactions lead to oxidative stress to the herbivore as the oxidation products and byproducts damage nutrients or cause cytotoxic effects on the gut lumens of the herbivore. Phenolic compounds can be oxidized by enzymes present in the plant (e.g. polyphenol oxidase, PPO) and by the alkaline conditions of the insect herbivores' midgut. The vast majority of chemical analyses in the field utilized the so-called "total methods", e.g. total phenolics and total flavonoids, despite the fact that individual phenolics can have different, structure-dependent activities. The enzymatic activity of plants, on the other hand, is usually studied using commercial 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA) as a substrate for the enzymes extracted from the plant, or by subjecting the extracted phenolics to commercial tyrosinase enzyme extracted from mushrooms. While this enzyme belongs to the PPO family, its ability to oxidize monophenolic compounds is not common in the plant kingdom.

My research aims to 1) record the phenolic profiles of a large collection of Finnish and Panamanian plants together with their activity at alkaline pH, 2) help to understand how the environmental conditions and life history of maternal trees affect their investment in chemical defenses, i.e. phenolic content, of their seeds, and 3) develop a physiologically relevant enzymatic oxidation method where both the substrate phenolics and the enzymes originate from the same plant source (Figure 1).



**Figure 1.** An overview of the PhD project.

**Main results so far**

The enzymatic oxidation method has been developed [1] and tested in large scale with 287 plant samples collected in Finland [2]. The method showed that the same compounds were completely oxidized enzymatically in certain plants, but not in the others. For example, 5-CQA was oxidized completely in the leaves of *Achillea millefolium*, but remained intact in the leaves of *Vincetoxicum hirundinaria*. This kind of observation could not be made with the typical analysis involving commercial PPO. The chromatograms of every sample will be provided as supplementary data, showcasing the distribution and activity of individual phenolics in Finnish plants and underlining the importance of understanding the exact phenolic composition of the samples.

The Panamanian seed samples have been analyzed for their polyphenol content and the results have been studied from an ecological standpoint [3]. Several hypotheses regarding the maternal plant's investment in chemical defenses of its seeds in respect to its apparency, life history and resource availability were tested. Trees and lianas did not statistically differ in their investment in phenolics, whereas physical defense traits of maternal trees (e.g. leaf mass per area) were positively correlated with chemical defenses. This was the largest community-level study of tropical seed polyphenols conducted by that time.

Many seed samples had an exceptional content of polyphenols. For example, seeds of a number of species contained proanthocyanidins consisting of other than the most typical procyanidin and prodelphinidin subunits, while the seeds of other species contained a curious composition of mono- and trigalloyl glucoses but no digalloyl glucoses. The manuscript focusing on seed polyphenols is in preparation.

**The significance of my research for the research group and the whole research field**

Chromatographically analyzing the phenolic content of an array of samples this vast (287 from Finland and 572 from BCI) is exceptional itself. In the first paper [1], we introduced the simple and physiologically relevant method to test plant samples for their readiness to enzymatically oxidize their phenolics. The method was put into practice in the second paper [2]. The other two papers [3,4] are a huge step in understanding the poorly covered field of the phenolic content of seeds and their relationship with the ecology of maternal trees. This PhD work is a part of NCRG's large umbrella project PolyphenOx dedicated to analyze thousands of plant samples around the globe for their phenolic content and oxidative activities.

**Papers to be included in the PhD thesis**

1. Kim, J., Päljjarvi, M., Karonen, M., Salminen, J.-P. J. Chem. Ecol. 2018, 44, 483–496.
2. Kim, J., Päljjarvi, M., Karonen, M., Salminen, J.-P. Manuscript to be submitted to Phytochemistry in 2020.
3. Gripenberg, S., Rota, S., Kim, J., Wright, S. J., Garwood, N. C., Fricke, E. C., Zalamea, P.-C., Salminen, J.-P. J. Ecol 2018, 106, 87–100.
4. Kim, J., Gripenberg, S., Karonen, M., Salminen, J.-P. Manuscript to be submitted to Phytochemistry in 2020.



# RADIOFARMASEUTTISEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ



Turku PET  
Centre

**RADIOFARMASEUTTINEN KEMIA:  
RADIOLÄÄKKEITÄ POSITRONIEMISSIONOMOGRAFIAAN**

Prof. Olof Solin ja Apulaisprof. Anu Airaksinen

*Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine,  
Kemian laitos, Valtakunnallinen PET-keskus, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: olof.solin@utu.fi ja anu.airaksinen@utu.fi*

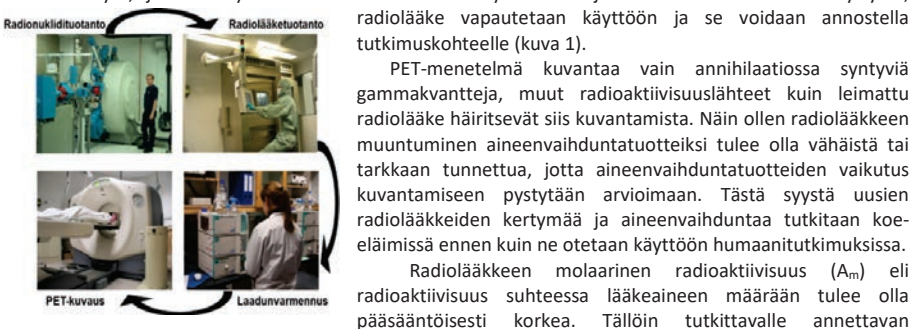
PositroniemiSSIONomografia- eli PET-kuvantaminen perustuu lyhytikäisten (puoliintumisaika,  $T_{1/2} = 2 \text{ min} - 2 \text{ h}$ ) positronisäteilevien radionuklidien hajoamisen seuraamiseen kehossa. Positronisäteilevien radionuklidien hajoamisessa muodostuu positroni ( $\beta^+$ ), joka kulkee väliaineessa energiansa määräämän matkan ennen kuin törmää elektroniin. Törmäyksessä muodostuu kaksi vastakkaisiin suuntiin lähtevää gammavianttia, joiden energia on 511 keV. Tätä kutsutaan häviämisseiteilyksi (annihilaatiosäteily) ja se havainnoidaan PET-kameralla. Radiokemistin tehtävänä on kehittää menetelmiä radionuklidin liittämiseksi biologisesti kiinnostavaan molekyyliin ja optimoida näin saadun radioaktiivisen molekyylin valmistusprosessi radiolääketuotantoon sopivaksi.

**Radiofarmaseuttisen kemian tehtävät ja tavoitteet Turun yliopistossa:**

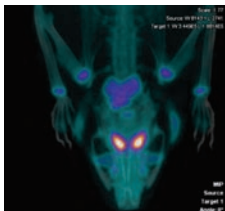
- tehdä korkeatasoista tutkimus- ja kehitystyötä, joka liittyy radiosyntetiikkaan ja -analytiikkaan käyttäen lyhytikäisiä positronisäteileviä radionuklideja sekä uusien radiolääke kandidaattien prekliiniseen arviointiin
- tuottaa hyvien valmistustapojen mukaisesti positronisäteilevillä radionuklideilla leimattuja radiolääkkeitä kliiniseen ja tutkimuskäyttöön
- antaa opetusta radiokemiassa ja radiofarmaseuttisessa kemiassa Turun yliopiston kemian laitoksella
- toimia yhteistyössä elinkeinoelämän kanssa edistääkseen PET-menetelmän käyttöä

Positronisäteileviä radiolääkkeitä on kehitetty useita ja niiden rakenne riippuu tutkittavasta biologisesta prosessista. Radiolääkkeen tulee sitoutua tutkittavaan kohteeseen mahdollisimman valikoivasti ja tehokkaasti. Radiolääkkeen leimaamiseen käytetään lyhytikäisiä radionuklideja, jotta tutkittavan saama säteilyannos pysyisi mahdollisimman matalana, mutta radionuklidin puoliintumisaika tulee olla kuitenkin riittävän pitkä tutkittavaan biologiseen prosessiin nähden. Lyhyen puoliintumisajan vuoksi radiolääkkeet on valmistettava käyttöpäivänä.

Yleisimmin käytetyt PET-radionuklidit ovat:  $^{15}\text{O}$  ( $T_{1/2}=2.0 \text{ min}$ ),  $^{13}\text{N}$  ( $T_{1/2}=10.0 \text{ min}$ ),  $^{11}\text{C}$  ( $T_{1/2}=20.4 \text{ min}$ ),  $^{68}\text{Ga}$  ( $T_{1/2}=67.7 \text{ min}$ ) ja  $^{18}\text{F}$  ( $T_{1/2}=109.8 \text{ min}$ ). Käytettävä radionuklidi tuotetaan yleensä hiukkaskiihdyttimellä sopivalla ydinreaktiolla. Tuotettu radionuklidi kuljetetaan automatisoidusti puhdistilassa sijaitsevaan lyijykaappiin, kuimakemiakammioon, jossa radiolääkkeen tuotanto tapahtuu automatisoidusti tai vähintään kauko-ohjatuksi hyvien valmistustapojen mukaisesti (Good Manufacturing Practice, GMP). Lopputuotteesta otetaan näyte, josta analysoidaan etukäteen määritetyt laatutekijät. Jos laatuvaatimukset täyttyvät, radiolääke vapautetaan käyttöön ja se voidaan annostella tutkimuskohteelle (kuva 1).



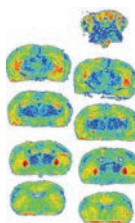
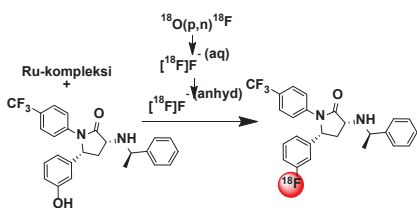
Kuva 1. Radiolääkkeen valmistus potilaan PET-kuvausta varten.



**Kuva 2.** [<sup>18</sup>F]CFT:n kertymä rotan aivojen vyutumakkeisiin. Merkkiaine kertyy kohtiin, joissa dopamiinitransportteri ilmentyy (Forsback et al. EJNMMI Research (2012) 2, 3)

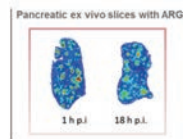
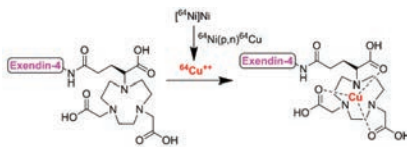
lääkeaineen määrä pysyy mahdollisimman pienenä. Radiolääke ei siis muuta kuvannettavia biologisia prosesseja tai aiheuta vaaraa tutkittavalle. Kun leimauslähtöaineen  $A_m$  on korkea, muiden reagoivien aineiden ainemäärät ja näin ollen myös reaktioliuosten tilavuudet voidaan pitää pieninä. Tämä helpottaa leimaussynteisin automatisointia ja erityisesti lopputuotteen kemiallista erottamista. Kuvassa 2 nähdään erään reseptorivälittäjäaineen, [<sup>18</sup>F]CFT:n, kertymä rotan aivoissa. Korkea  $A_m$  varmistaa sen, että kertymä kyetään analysoimaan tarkasti.

Tyypillisesti radiolääkkeen leimaussynteesi alkaa hiukkaskiihdyttimellä tuotetusta radioaktiivisuudesta, kuvassa 3 [<sup>18</sup>F]fluoridista. [<sup>18</sup>F]FPEP merkkiaineen synteesissä leimaus tehdään rutenium-välitteisesti. Preparatiivisen puhdistuksen jälkeen sopivasti formuloituna merkkiaineella kuvannetaan kannabinoidi-1 reseptorien jakaumaa elimistössä. Kyseinen merkkiaine on kehitetty Turussa ja sitä on käytetty akateemisissa tutkimuksissa tutkittaessa tämän reseptorin ilmentymistä aivoissa (kuva 3).



**Kuva 3.** [<sup>18</sup>F]FPEP merkkiaineen synteesi rutenium-välitteisesti. Oikealla kuvassa merkkiaineen jakautuminen terveän hiiren aivoileikkeissä. Lahdenpohja et al. (submittoitu 2020)

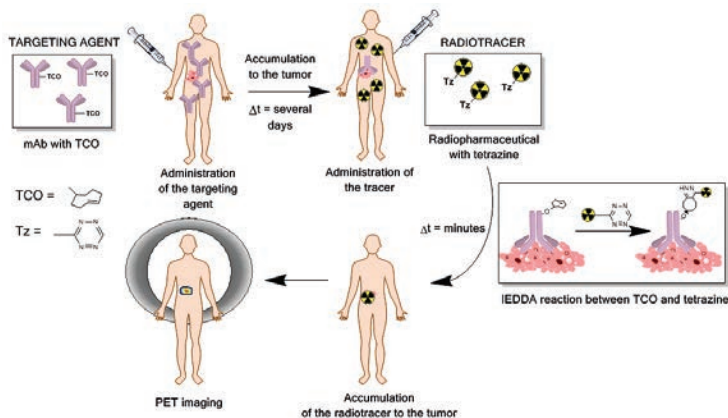
Toinen esimerkki radiosyntetiikasta on joko kupari-64-radiometallilla tai fluori-18-isotoopilla leimattu GLP-1-reseptorin merkkiaine exendiini-4-peptidi, jota käytetään mm. haimatutkimuksessa. Tavoitteena on saada nämä merkkiaineet kliiniseen käyttöön. Kuvassa 4 on esitetty merkkiainepeptidin <sup>64</sup>Cu-leimaussynteesi, sekä merkkiaineen jakauma rotan haimassa *ex vivo*. Havaitaan, että merkkiaine kertyy terveessä rotassa haiman saarekkeisiin, joissa GLP-1-reseptori ilmentyy. GLP-1-reseptorin pitoisuuden on havaittu alentuvan sairauden edetessä diabeteksen koe-eläinmallissa. Kupari-64-radionuklidin etu on sen pidempi puoliintumisaika verrattuna esim. fluori-18-isotoopin puoliintumisaikaan. Kun exendiini-peptidiä käytetään lääkkeenä, sen kerta-annos on 10 mikrogramman luokkaa ja sen lääkevaikutus on erittäin vahva. Täten on helppo ymmärtää, että vaatimukset  $A_m$ :n suhteen ovat tämän molekyylin kohdalla erityiset.



**Kuva 4.** Exendin-4-peptidin leimaaminen <sup>64</sup>Cu-radionuklidilla. Oikealla kuvassa merkkiaineiden jakauma terveän rotan haimaleikkeissä. Mikkola et al. MIB (2014) 16, 255

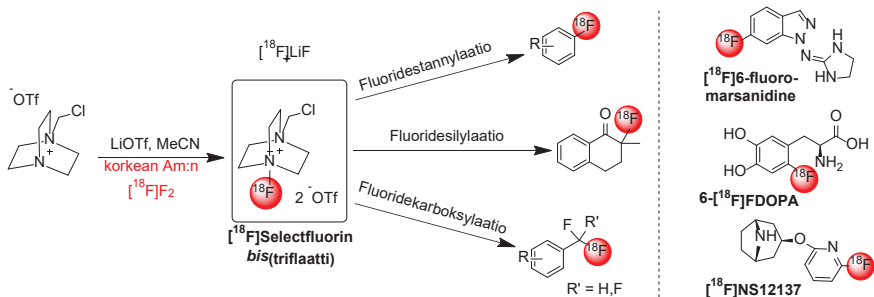
Joskus pidempää radionuklidin puoliintumisaikaa tarvitaan, koska kohdentavan biologisesti aktiivisen molekyylin jakautuminen ja kohdentuminen elimistössä on hidasta. Tyypillisiä hitaasti jakautuvia kohdentavia molekyyliä ovat esim. vasta-aineet ja muut suurikokoiset makromolekyylit, joiden kertyminen kohteeseensa voi kestää jopa useita päiviä. Pitkäikäisen radionuklidin käyttö voi aiheuttaa kuvattavalle kuitenkin turhaa säteilyrasitusta, koska kuvattava altistuu elimistössä kiertävälle radioleimatulle molekyyliille koko sen jakautumisen ajan. Ryhmässämme kehitetäänkin menetelmiä, joiden avulla hitaasti kohdentuva molekyyli voidaan leimata lyhytikäistä positronisäteilevää radionuklidia kantavalla pienmolekyylillä kehon sisällä vasta sen jälkeen, kun jakautuminen ja kohdentuminen ovat jo tapahtuneet. Tämä on mahdollista hyödyntämällä nopeita bio-ortogonaalisia reaktioita, kuten käänteisesti elektronivaajata Diels-Alder

reaktiota (IEDDA). Tällaista kaksivaiheista kuvantamista kutsutaan esikohdennetuksi PET-kuvantamiseksi (Kuva 5).



Kuva 5. Esikohdennetun PET kuvantamisen periaate.

Radiokemian tutkimuksessa olemme jo vuosien ajan panostaneet erityisesti elektrofiiliseen radiofluorukseen. Maailmanlaajuisesti nukleofiilinen  $^{18}\text{F}$ -radiofluorauus on vallitseva menetelmä johtuen sen helppoudesta määrättyissä reaktioissa. Myös korkea  $A_m$  on saavutettavissa helposti. Jos tarkastellaan fluorikemiaa sinänsä, havaitaan kuitenkin, että elektrofiilinen fluorikemia on maailmassa ylivoimaisesti yleisempää. Tämä johtuu siitä, että orgaanisen kemian monimutkaisemmat rakenteet ovat paljon helpommin fluorattavissa käyttäen elektrofiilisiä menetelmiä. Olemmekin yhteistyössä Oxfordin yliopiston kemian laitoksen kanssa kehittäneet  $^{18}\text{F}$ -leimattun Selectfluor-reagenssin (kuva 6), jonka radiokemialliset ominaisuudet elektrofiilisessä fluorauksessa ovat erinomaiset. Käyttäen  $[^{18}\text{F}]$ Selectfluor-reagenssia olemme onnistuneet leimaamaan mm. di- ja trifluoriareeneja, mikä on hankalaa muilla leimausmenetelmillä.



Kuva 6.  $[^{18}\text{F}]$ Selectfluorin bis(triflaatin) radiosynteesi ja käyttö radioleimauksissa. Oikealla puolella  $[^{18}\text{F}]$ Selectfluorin bis(triflaatiilla) leimattuja merkkiaineita. Teare et al. Angew Chem Int Ed (2010) 49, 6821, Mizuta et al., Org Lett (2013) 15, 2648

Positronisäteilevien radiolääkkeiden radiokemia on osa suurempaa kokonaisuutta. Rajattomat mahdollisuudet leimata merkkiaineita avaavat loistavat näkymät tutkia kajoamattomasti moninaisia prosesseja terveissä ja vaurioituneissa kudoksissa *in vivo*. Radiokemistin osa on oivaltaa ja ymmärtää hyödyntää kemian osaamista tässä kokonaisuudessa.

## <sup>11</sup>C- ja <sup>18</sup>F-leimatut keskushermostoon sitoutuvat fosfodiesterasimerkkiaineet

Pauliina Pihlavisto

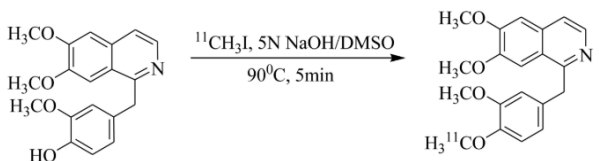
Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Valtakunnallinen PET-keskus ja Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



paempi@utu.fi

Tällä hetkellä ei ole lääkettä, joka hidastaisi Alzheimerin taudin etenemistä. Fosfodiesterasien (phosphodiesterase, PDE) tehtävä hermosolujen viestinnän lisäämisessä tekee niistä kiinnostavan kohteen keskushermoston (central nervous system, CNS) sairauksien hoidossa. PDE:t on jaettu 11 perheeseen, joista jokaisessa on 1 – 4 isoformimuotoa. PDE:t inaktivoivat toisiolähettejä cAMP ja cGMP sykliksen fosfaatin hydrolyysin kautta. Monet tunnetuista PDE-inhibiittoreista on kohdistettu keskushermoston sairauksiin. PDE5, 7 ja 11 -inhibiittorit ovat prekliinisessä tutkimusvaiheessa ja PDE1, 2, 4, 9 ja 10 -inhibiittorit ovat edenneet kliiniseen vaiheeseen, jossa niiden kohteena ovat psykiatriset sairaudet ja muistisairaudet, kuten Alzheimerin tauti. PDE4 ja PDE10 -inhibiittorien kliiniset tutkimukset ovat hidastuneet sivuvaikutuksien ja matalan lääkevaikutuksen takia [1].

Sopivan PDE:hen sitoutuvan PET-merkkiaineen kehittäminen mahdollistaa eri fosfodiesterasien toiminnan havainnoinnin neurologisissa sairauksissa [2]. PET-merkkiaineen avulla voidaan selvittää esimerkiksi PDE-reseptorien ilmentyminen aivoissa. Kuvassa 1 PDE10A-inhibiittoriin liittyy hiili-11 hydroksyyliiryhmän paikalle, jolloin muodostuu <sup>11</sup>C-merkkiaine. Vaikka merkkiaine sitoutuukin aivoissa alueille, joissa on runsaasti PDE10A:ta, merkkiaineen alhainen affiniteetti rajoittaa sen hyötyä. Jatkossa tavoitteena on kehittää inhibiittori, joka inhiboi tehokkaammin PDE:tä [3].



4-desmetyylipapaveriini

[<sup>11</sup>C]papaveriini

**Kuva 1.** Hiili-11 liittyy hydroksyyliiryhmän tilalle ja tuotteena syntyy PET-merkkiaine, [<sup>11</sup>C]papaveriini.

### Viitteet

- Gomez, L, Breitenbucher, J.G *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, 23, 6522-6527
- Thomae, D. et al. *Nucl. Med. Biol.* **2015**, 42, 975-981
- Tu Z. et al. *Nucl. Med. Biol.* **2010**, 37: 509-516

## GMP radiolääkkeiden laadunvalvonnassa

Juho Salonen

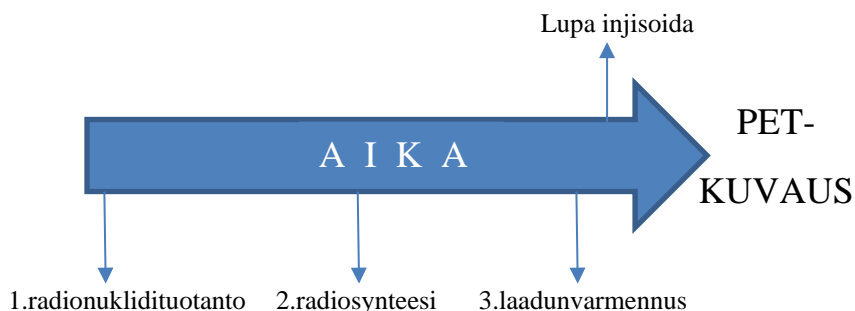
Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Valtakunnallinen PET-keskus ja Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



Juho.a.salonen@utu.fi

Lääkkeiden hyvät tuotantotavat -ohjeistuksen (Good Manufacturing Practices, GMP) tarkoituksena lääketeollisuudessa on taata, että tuote valmistetaan sille määrättyjen standardien mukaan dokumentoidusti ja jäljitettävästi.[1] Näin varmistetaan, että lääkeaine täyttää asetetut laatuvaatimukset ja siten takaa luotettavan tuotteen. Positroniemissiotomografiassa (PET) käytetyt radiolääkkeet injisoidaan tyypillisesti suoraan potilaan verenkiertoon, joten radiolääkkeen valmistajalla täytyy olla varmuus siitä, että radiolääke on steriili ja koostumuksestaan puhdas. GMP on siis tärkeä osa myös radiolääkkeiden tuotantoa (kuva 1) ja asettaen vaatimukset laadunvalvonnalle. PET-radiolääkkeiden lyhyet puoliintumisaajat, tyypillisesti 2 min – 2 tuntia, ohjaavat käytettäviä menetelmiä ja prosesseja laadunvalvonnassa. GMP ohjeistukset sekä eri viranomaismääräykset ja -vaatimukset määrittää, mitä analysointimenetelmiä radiolääkkeiden ominaisuuksien analysointiin voidaan käyttää ja miten menetelmien tulee olla validoituna. Radiolääkkeiden laadunvalvonnassa käytetään esimerkiksi seuraavia testejä: pH, ulkonäkö, kemiallinen ja radiokemiallinen puhtaus, steriilisyys ja pyrogeeninen puhtaus. [2] Analysoitaville ominaisuuksille on eräissä tapauksissa olemassa viranomaisten ohjeita, monografioita. Jos kuitenkin päätetään käyttää analysointimenetelmää, jolle ei ole monografiaa, menetelmä tulee validoida ja osoittaa sopivaksi suunniteltuun käyttökohteeseen. Radiolääkkeille asetetaan ennalta spesifikaatioita, jotka radiolääke-erän tulee täyttää ennen kuin radiolääke voidaan luovuttaa potilaalle PET-kuvausta varten. Laadunvalvonnalla osoitetaan, että erä täyttää sille asetetut spesifikaatiot. Ja jos näin on, voidaan erä vapauttaa PET-tutkimukseen. GMP:n tarkoituksena laadunvalvonnassa on varmistaa luotettava tuote ja taata siten potilaan turvallisuus.

**Kuva 1.** Radiolääkeaine tuotannon vaiheet



### Viitteet.

1. Convention PI, Scheme PIC. GMP Guide Part I. 2018;14(July).
2. International Atomic Energy Agency. Quality control in the production of radiopharmaceuticals. IAEA. 2018;5(2):347-357.

## [<sup>11</sup>C]Hiilimonoksidin tuotanto ja käyttö radioleimauksissa

Simo Salo

Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Valtakunnallinen PET-keskus ja Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

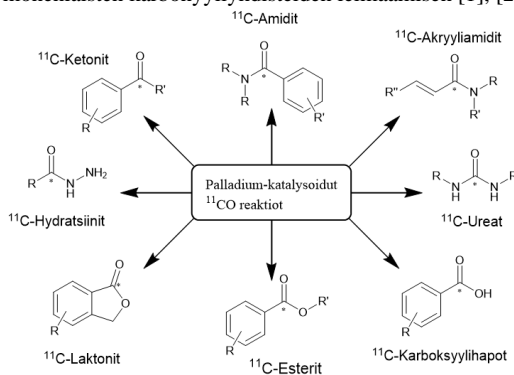


siasal@utu.fi

[<sup>11</sup>C]hiilimonoksidia voidaan käyttää monenlaisten yhdisteiden, kuten <sup>11</sup>C-ketonien, <sup>11</sup>C-ureoiden ja <sup>11</sup>C-karboksyylihappojen karbonyylihiilen leimaamisessa. Karbonyyliyhdisteiden yleisyys biologisesti aktiivisissa molekyyliissä tekee [<sup>11</sup>C]hiilimonoksidista kiinnostavan yhdisteen radioleimauksessa [1].

[<sup>11</sup>C]hiilimonoksidia tuotetaan nykyisin pääasiassa pelkistämällä syklotronilla tuotettu [<sup>11</sup>C]hiilidioksidi kaasufaasissa. Kaasufaasissa tehtävässä pelkistyksessä käytetään yleensä sinkkiä (Zn, 400°C) tai molybdeenä (Mo, 850°C) korkeissa lämpötiloissa. Kaasufaasissa suoritettu pelkistäminen vaatii kiinteän laitteiston, jonka takia kaasufaasimenetelmille on kehitetty nestefaasissa tehtäviä vaihtoehtoisia pelkistysmenetelmiä. Saannot nestefaasissa ovat kuitenkin pieniä kaasufaasimenetelmiin verrattuna, jonka takia nestefaasimenetelmät eivät ole laajassa käytössä [1].

[<sup>11</sup>C]hiilimonoksidin käyttöä radioleimauksissa vaikeuttaa sen heikko liukoisuus orgaanisiin liuottimiin. Ongelman ratkaisemiseksi on kehitetty useita menetelmiä, kuten trap-and-release reagensseja sekä niin sanottuja mikroautoklaavisysteemejä, joissa liukenemistä parannetaan luomalla painetta HPLC-pumpulla. Molekyyliä leimatessa <sup>11</sup>C-karbonylaatioreaktiot ovat yleensä palladium- tai rodium-katalysoituja. Siirtymämetalleilla katalysoitujen reaktioiden kirjo on laaja, joka mahdollistaa monenlaisten karbonyyliyhdisteiden leimaamisen [1], [2].



**Kaavio 1.** Palladium-katalysoitujen <sup>11</sup>C-karbonylaatioiden monipuolisuus. Mukailtu viitteestä [2].

### Viitteet

- [1] C. Taddei and V. W. Pike, “[<sup>11</sup>C]Carbon monoxide: advances in production and application to PET radiotracer development over the past 15 years,” *EJNMMI Radiopharm. Chem.*, vol. 4, no. 1, 2019.
- [2] S. Kealey, A. Gee, and P. W. Miller, “Transition metal mediated [<sup>11</sup>C]carbonylation reactions: Recent advances and applications,” *J. Label. Compd. Radiopharm.*, vol. 57, no. 4, pp. 195–201, 2014.

## <sup>11</sup>C-Methylation of [<sup>11</sup>C] Me-DPA for TSPO imaging, synthesis of [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub> labeling precursor



adeleh.a.zaferanloo@utu.fi

Adeleh Zaferanloo<sup>1,2</sup>, Thomas Keller<sup>1</sup>, Anna Kirjavainen<sup>1,2</sup> and Olof Solin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Radiopharmaceutical Chemistry Research group, Medicinal and Radiopharmaceutical Chemistry, Turku PET Centre, Turku University

### Abstract

The translocator protein 18 kDa (TSPO) is overexpressed during neuroinflammation. TSPO-targeting tracers can be used to study neuroinflammation in diseases such as Alzheimer's disease and stroke. [<sup>18</sup>F]F-DPA, a TSPO-specific tracer, is a recently developed analogue of [<sup>18</sup>F]DPA-714 and it was developed to improve the metabolic stability. The methylated version has been previously reported to have a high binding affinity. Hence, in this study the necessary precursor is synthesized and labeled with [<sup>11</sup>C]iodomethane.

### Introduction

TSPO, also known as peripheral benzodiazepine receptor (PBR), is a transmembrane protein of the outer mitochondrial membrane with the molecular weight of 18 kDa [1]. There are indications for at least two main functions of TSPO: Cholesterol binding followed by cholesterol transport which is used for steroid synthesis and cell membrane formation and repair, as well as porphyrin binding and transport. It also plays a significant role in apoptosis [2][3].

F-DPA is a fluorinated ligand in which the fluorine atom is connected to the structure without the use of a linker. It was developed due to the metabolic instability of the [<sup>18</sup>F]DPA-714 tracer, the metabolism of which lead to the cleavage of the radioactive label and the formation of non-specifically binding radioactive metabolites [4].

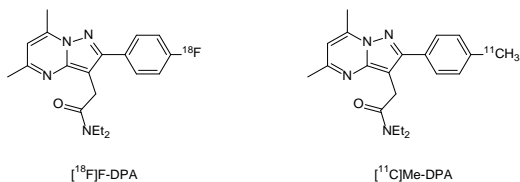
[<sup>18</sup>F]F-DPA was first synthesized by electrophilic fluorination and was evaluated in rats. This showed that the tracer had good entry into the brain and a fast washout, so that equilibrium was reached 20-40 min after tracer injection. Furthermore, comparison between brain samples of animals injected with [<sup>18</sup>F]F-DPA or [<sup>18</sup>F]DPA-714 showed that [<sup>18</sup>F]F-DPA had a higher metabolic stability compared to [<sup>18</sup>F]DPA-714. Moreover, it has also been used successfully to study neuroinflammation in a mouse model of Alzheimer's disease [4] and a nucleophilic synthesis has been developed by many research groups [5][6][7].

It has been shown previously by Damont et al [8] that a methylated analogue of F-DPA, in which the fluorine has been replaced by a methyl group ( $K_i = 0.8 \pm 0.1$  nM) has a ten times higher binding affinity than F-DPA ( $K_i = 9.2 \pm 1.0$  nM). The advantage of labelling it with carbon-11 is to avoid using electrophilic fluorination which is limited to only a few specialized centers and nucleophilic aromatic fluorination which can be troublesome to perform on insufficiently activated aromatic rings.



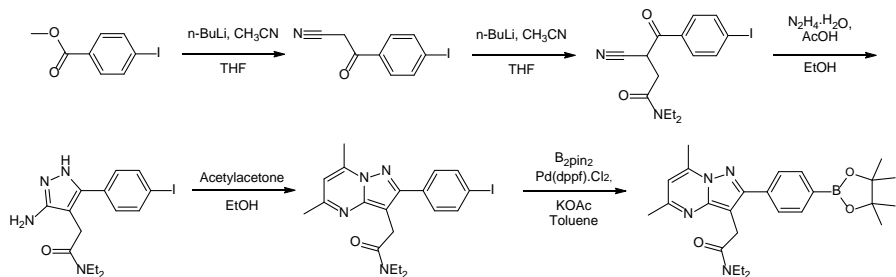
The fast washout of F-DPA, which is mentioned earlier, makes it suitable for labelling with carbon-11 since the equilibrium was reached quickly. Accordingly, the short half-life of carbon-11 will not be a problem.

The purpose of this study is to synthesize a suitable precursor for labelling with  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  and to introduce the  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3$  group onto the same position that is fluorinated  $[^{18}\text{F}]\text{F-DPA}$ .



**Figure 1.**  $[^{18}\text{F}]\text{F-DPA}$  structure and extended  $[^{18}\text{F}]\text{F-DPA}$  structure to  $^{11}\text{C}$ -labelling

## Materials and Methods



**Scheme 1.** Precursor synthesis route

The precursor was synthesized as shown in scheme 1, following previously reported procedure to arrive at the iodo-product. Analysis of intermediate products was carried out using NMR and mass spectroscopy.

## Results and Conclusions

The pinacol boronic ester precursor was made successfully; although, 3-cyano-*N,N*-diethyl-4-(iodophenyl)-4-oxobutanamide and pinacol boronic ester productions were time consuming and challenging especially the purification process. Development of the radiochemistry is being carried out.

## References

- Papadopoulos, V et al., *J. Nuc. Med. Bio.* **2006**, 402-409.
- Casellas, P et al., *Neuro. Chem. Int.*, **2002**, 40 (6), 475-486.
- Taketani, S et al., *J. Bio. Chem.* **1995**, 117 (4), 875-880.
- Keller, T. et al., *J. Nuc. Med. Bio.* **2018**, 67, 1-9.
- Keller, T. et al., *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2019**
- Wang, L. et al., *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2020**
- Zischler, J. et al., *J. ChemPhotoChem.* **2016**, 23 (14), 3251-3256
- Damont, A. et al., *J. Med. Chem.* **2015**, 58(18):7449-64

## 2-kloori-5-fluori-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidin valmistaminen ja 2-kloori-5-hydroksi-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidin Ru-välitteinen F-18 radioleimaus

Krista Heikkilä<sup>1,2\*</sup>, Thomas Keller<sup>1</sup>, Noora Rajala<sup>1</sup>, Salla Lahdenpohja<sup>1</sup>, Anna K. Kirjavainen<sup>1</sup> ja Olof Solin<sup>1,2</sup>

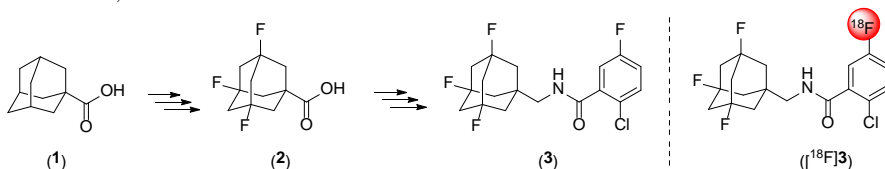


kriheiz@utu.fi

Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, Valtakunnallinen PET-keskus, 20014 Turun yliopisto

### Abstrakti

Adamantyylibentsamidi-yhdisteet sitoutuvat hyvin P2X<sub>7</sub>-resptoreihin, joilla on havaittu olevan rooli erilaisissa hermostollisissa sairauksissa. Tässä tutkimuksessa on keskitytty trifluorutun 2-kloori-5-fluori-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidin, (**3**), valmistamiseen (Kuva 1) sekä 2-kloori-5-hydroksi-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)metyyli)bentsamidin, [<sup>18</sup>F]**3**, <sup>18</sup>F-radioleimaamiseen. Radioleimaus tehdään Ru-välitteisesti, joka mahdollistaa selektiivisen, aromaattisen fluorauksen.



Kuva 1. 2-kloori-5-fluori-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidin synteesi

### Johdanto

P2X<sub>7</sub>-reseptori on ionikanavareseptori, joka kuuluu P2X-reseptorien perheeseen. P2X<sub>7</sub>-reseptoreita esiintyy läpi ääreis- ja keskushermoston ja niillä on havaittu olevan yhteys erilaisten ääreis- ja keskushermostollisten sairauksien välillä. P2X<sub>7</sub>:n on todettu muuttavan muotoaan hermostollisissa sairauksissa aiheuttaen sen alkuperäisen toiminnan muuttumisen. Aiempien tutkimusten mukaan 2-kloori-5-metoksi-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidi, sitoutuu hyvin P2X<sub>7</sub>-reseptoriin, vaikka reseptorin muoto olisi muuttunut. Lisäksi sillä on parhain metabolinen stabiilisuus verrattuna esimerkiksi sen fluoraamattomaan analogiin ja mono- tai difluorattuihin analogeihin.<sup>1</sup>

Janssen et al. ovat tutkineet 2-kloori-5-<sup>[11</sup>C]metoksi-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidin sitoutumista ko. reseptoriin sekä sen muita PET-kuvauksessa vaadittavia ominaisuuksia. He ovat valmistaneet <sup>11</sup>C-leimattua merkkiainetta hyvällä radiokemiallisella saannolla, erittäin hyvällä radiokemiallisella puhtaudella sekä korkealla molaarisella aktiivisuudella.<sup>2</sup>

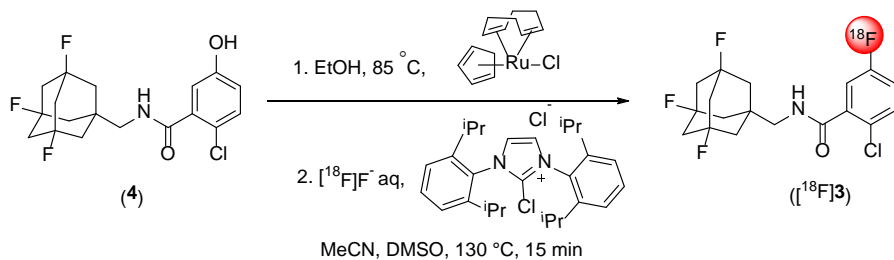
Tämän tutkimuksen tarkoituksena on syntetisoida referenssiyhdiste 2-kloori-5-fluori-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidi, **3**, ja valmistaa <sup>18</sup>F-radioleimauksella 2-kloori-5-hydroksi-*N*-((3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyli)bentsamidi, [<sup>18</sup>F]**3**. Tutkimuksessa keskitytään käyttämään radioleimauksessa <sup>18</sup>F-radionuklidia, hiili-11:den sijaan, koska fluori-18:n radiokemialliset ominaisuudet ovat suotuisampia PET-kuvantamisen kannalta. Fluori-18:lla on pidempi puoliintumisaika (T<sub>1/2</sub>=110 min), joka mahdollistaa erilaisten monimutkaistenkin radiosynteesisten tekniikoiden käytön, ja sen maksimipositronienergia on alhainen (635 keV),

jolloin PET-kuvan resoluutio paranee verrattuna  $^{11}\text{C}$ -kuvantamiseen. Tässä tutkimuksessa  $^{18}\text{F}$ -radioleimaus toteutetaan Ru-kompleksin avulla, jolloin fluoraus aromaattiseen hydroksyyliryhmään onnistuu selektiivisesti.<sup>3</sup>

### Materiaalit ja menetelmät

Referenssiyhdiste, valmistetaan 15-vaiheisella synteesillä lähtien liikkeelle kaupallisesta adamantaanikarboksyylilihaposta. 3,5,7-trifluori-analogi valmistetaan toistamalla esteröinti-, hapetus-, fluoraus- ja demetylaatioreaktiota. Fluori liitetään yksi kerrallaan adamantaanihäkin tertiääriin hiiliin. Trifluorauksen jälkeen 3,5,7-trifluori-analogille tehdään ensin amidikondensaatio ja sen jälkeen amidin pelkistys. Lopulta (3,5,7-trifluoriadamantaan-1-yyli)metyyliamiini yhdistetään kondensaatioreaktiolla 2-kloori-5-fluoribentseenihapon kanssa. Yhdisteiden rakenteet määritetään NMR-spektroskopialla ja massaspektrometrisesti.

Radioleimauksessa käytetään nukleofiilista Ru-välitteistä  $^{18}\text{F}$ -fluorileimausta (Kaavio 1). Radiosynteettiset työt tehdään kuumakemiakammioissa ja tuotteet analysoidaan käyttäen radio-HPLC:tä.



**Kaavio 1.**  $^{18}\text{F}$ 3:n radiosynteesi

### Tulokset ja johtopäätökset

Työssä on tähän mennessä valmistettu onnistuneesti metyyli-3,5-difluoroadamantaanikarboksyylaattia. Radiokemian tuloksia ei toistaiseksi ole saatavilla, mutta kokemuksen mukaan Ru-välitteinen leimaus toimii erittäin hyvin.

### Viitteet

1. Wilkinson, S. M. *et al.* Pharmacological Evaluation of Novel Bioisosteres of an Adamantanyl Benzamide P2X7 Receptor Antagonist. *ACS Chem. Neurosci.* **8**, 2374–2380 (2017).
2. Janssen, B. *et al.* Identification of the allosteric P2X7 receptor antagonist [11C]SMW139 as a PET tracer of microglial activation. *Sci. Rep.* **8**, (2018).
3. Beyzavi, M. H. *et al.* 18F-Deoxyfluorination of Phenols via Ru  $\pi$ -Complexes. *ACS Cent. Sci.* **3**, 944–948 (2017).

**HIGH MOLAR ACTIVITY <sup>11</sup>C-RADIOLABELLING**

Saara Nenonen

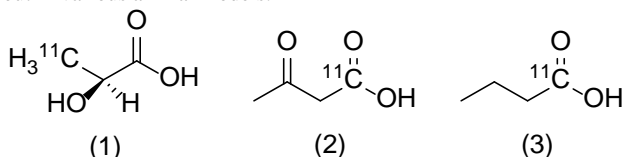
Radiopharmaceutical Chemistry Research group, Department of Chemistry, Turku PET Centre, University of Turku



sakane@utu.fi

**Research Director:** Prof. Olof Solin**Supervisor(s):** Dr. Anna K. Kirjavainen**Funding:** Turku PET Centre**Estimated time of PhD dissertation:** 2025**Main aims of the PhD research**

One of my goals is to find facile production methods suitable for GMP and automation. Production and advanced automation methods for *L*-3-[<sup>11</sup>C]lactate, 1-[<sup>11</sup>C]acetoacetate and 1-[<sup>11</sup>C]butyrate (Figure 1) will be developed in this work. Preclinical evaluation of the compounds will be carried out in various animal models.



**Figure 1.** *L*-3-[<sup>11</sup>C]lactate (1), 1-[<sup>11</sup>C]acetoacetate (2) and 1-[<sup>11</sup>C]butyrate (3).

The precursor syntheses will be performed by standard organic chemistry methods. The products will be purified by silica gel chromatography and if applicable semi-preparative reversed-phase liquid chromatography (RP-HPLC). Nuclear magnetic resonance (NMR), liquid-chromatography mass spectrometry (LC-MS) and radio-HPLC will be used to identify the products. The radiosynthesis will be carried out using automated synthesis devices in lead shielded chambers at the Radiopharmaceutical Chemistry Laboratory at Turku PET Center. Preclinical work will be performed at University of Turku Medicity/PET-research laboratory.

**Main results so far**

PET is a non-invasive functional and metabolic imaging technique that allows the quantification of specific biological and pharmacological processes in humans and animals *in vivo*. Processes such as oxygenation, blood-flow, energy metabolism and the functions of neurotransmitters in the central nervous system (CNS) can be studied by PET imaging. PET provides important information in drug development for understanding drug action and metabolism, as well as disease progression and possible treatment options.

Lactate metabolism affects not only diabetic heart disease but also several cognitive functions. The evaluation of myocardial lactate metabolism has been achieved with the PET-tracer *L*-3-[<sup>11</sup>C]-lactate. Due to the wide variety of functions by lactate in the brain, there is a great need to develop lactate-based PET-tracers.

When carbohydrate intake is low, ketones such as acetoacetate have the function of replacing glucose in the brain. Several studies have reported that these ketones produced by the liver might

have neuroprotective properties in models of epilepsy, stroke and Alzheimer's disease. There is currently a need in elucidating these neuroprotective and other properties by PET imaging.

Butyric acid is antitumor agent known to alter the gene expression through histone deacetylase (HDAC) inhibition. It can be used as a treatment of a variety of CNS and peripheral organ diseases including cancer. Non-invasive methods such as PET imaging are needed for measuring its peripheral organ and brain penetration, pharmacokinetics and biodistribution.

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

There is currently a great need for development and evaluation of new PET radiopharmaceuticals for the imaging of metabolic pathways affecting cardiac and neurological diseases. The aim of this study is to respond to this need and to develop production processes for these radiopharmaceuticals suitable for preclinical and clinical use. There is great interest in these  $^{11}\text{C}$ -labelled radiotracers and particularly in 3- $^{11}\text{C}$ -lactate.

## SYNTHESIS OF $^{18}\text{F}$ -LABELLED RADIOPHARMACEUTICALS FOR THE CNS

Salla Lahdenpohja

Radiopharmaceutical Chemistry Research group, Department of  
Chemistry, Turku PET Centre, University of Turku



saorla@utu.fi

**Research Director:** Prof. Olof Solin

**Supervisors:** Dr. Anna K. Kirjavainen and Prof. Olof Solin

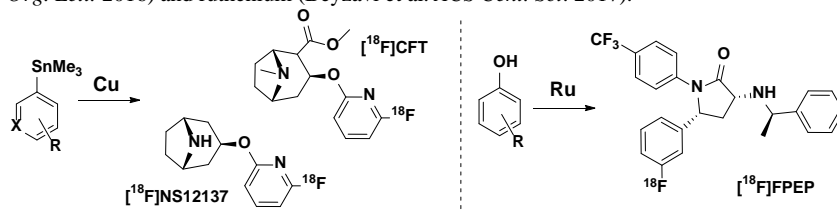
**Funding:** Turku PET Centre, Academy of Finland (project 266891) and Novo Nordisk Fonden (grant no. 10075).

**Estimated time of PhD dissertation:** 12/2020.

### Main aims of the PhD research

The work focuses on developing  $^{18}\text{F}$ -labelling methods for PET-radiopharmaceuticals for the central nervous system (CNS). Traditionally,  $^{18}\text{F}$ -labelling methods have been divided into electrophilic and nucleophilic  $^{18}\text{F}$ -labelling i.e. using  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  or  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  respectively. Both of these methods have certain limitations, e.g. low molar activity ( $A_m$ , the amount of radioactivity compared to the molar amount of substance) of the produced radiopharmaceutical with electrophilic  $^{18}\text{F}$ -fluorination or limited reactivity with nucleophilic  $^{18}\text{F}$ -fluorination. The molar amount of radiopharmaceuticals must be low in order to avoid pharmacological effects, thus the  $A_m$  must be high.

A new approach to  $^{18}\text{F}$ -labelling is to use transition metal mediated  $^{18}\text{F}$ -labelling which is a combination of the traditional fluorination methods described above. The aim of this work is to develop transition metal mediated  $^{18}\text{F}$ -labelling methods in order to increase the  $A_m$ 's and radiochemical yields (RCY) of radiopharmaceuticals as well as increase the reactivity scope of  $^{18}\text{F}$ -fluorination. In this doctoral thesis, in addition to model molecules, the CNS avid radiopharmaceuticals that will be synthesized and explored are:  $[^{18}\text{F}]\text{CFT}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{NS12137}$  and  $[^{18}\text{F}]\text{FPEP}$  (figure 1). Transition metals used in the  $^{18}\text{F}$ -labelling reactions are copper (Makaravage *Org. Lett.* 2016) and ruthenium (Beyzavi et al. *ACS Cent. Sci.* 2017).



**Figure 1.**  $^{18}\text{F}$ -labelled radiopharmaceuticals prepared in my PhD work via copper- or ruthenium-mediated  $^{18}\text{F}$ -fluorination.

### Main results so far

Copper-mediated  $^{18}\text{F}$ -fluorination has been successfully used to produce  $[^{18}\text{F}]\text{NS12137}$  with  $A_m$  up to 300 GBq/ $\mu\text{mol}$  and 15% RCY by using traditional azeotropic drying of  $[^{18}\text{F}]\text{fluoride}$  [1]. ICP-MS analysis showed, that no copper or tin is present in the purified end product. Achieved  $A_m$  is considerably higher than with traditional electrophilic  $^{18}\text{F}$ -radiolabelling (Kirjavainen et al. *Nucl*

*Med Biol* 2018) and the reaction conditions are milder than previously published (López-Picón et al. *Theranostics* 2019).

Copper-mediated  $^{18}\text{F}$ -labelling was further improved by shortening the reaction time by replacing the traditional drying method with solid phase extraction (SPE) [2]. In the SPE method, cyclotron produced  $^{18}\text{F}$ fluoride (aq) is trapped to an anion exchange cartridge and then eluted from the cartridge with  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ . The elution efficiency was optimized by varying the preconditioning of the SPE cartridge and the amount of the copper-complex. Amount of copper in the final product was well under limits considered toxic.  $^{18}\text{F}$ NS12137 and  $^{18}\text{F}$ CFT have been successfully radiolabelled via copper-mediated  $^{18}\text{F}$ -fluorination by using SPE method for the drying of  $^{18}\text{F}$ fluoride. Overall, copper-mediated  $^{18}\text{F}$ -fluorination is an efficient method for labelling structures of clinical interest and the synthesis protocol is suitable for automation and clinical production.

$^{18}\text{F}$ FPEP has been successfully labelled via ruthenium-mediated  $^{18}\text{F}$ -labelling with 17% RCY and more than 100 GBq/ $\mu\text{mol}$   $A_m$  [3]. Preclinical evaluation of the tracer with wild-type mice showed that  $^{18}\text{F}$ FPEP is a potent and selective tracer for cannabinoid subtype 1 ( $\text{CB}_1$ ) receptors. However, ruthenium-mediated labelling has proved to be more challenging than copper-mediated  $^{18}\text{F}$ -labelling.

The final paper to be included in my PhD thesis is about long-term (5 years) user experience in clinical production of  $^{18}\text{F}$ FMPEP- $d_2$  (an analogue of  $^{18}\text{F}$ FPEP), a  $\text{CB}_1$  specific tracer via nucleophilic  $^{18}\text{F}$ -labelling.

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

In positron emission tomography (PET), there is a constant need for new short lived radiopharmaceuticals and for more efficient production methods for known radiopharmaceuticals. The aim of this study is to respond to this need and to develop production processes for known radiopharmaceuticals and to produce completely new PET radiopharmaceuticals suitable for preclinical and clinical use.

Nucleophilic  $^{18}\text{F}$ -fluorination has been the most widely used  $^{18}\text{F}$ -labelling method due to easy access to cyclotron produced aqueous  $^{18}\text{F}$ fluoride. The development of  $^{18}\text{F}$ -labelling method starting from aqueous  $^{18}\text{F}$ fluoride makes the method broadly available over the field. In this work, methods starting from aqueous  $^{18}\text{F}$ fluoride has been used. Our radiopharmaceutical chemistry laboratory in Turku PET Centre is the leading research facility in electrophilic  $^{18}\text{F}$ -labelling. Thus, our group has the resources to label radiopharmaceuticals using various  $^{18}\text{F}$ -labelling methods (nucleophilic, electrophilic and transition metal mediated) and as a result, we can easily compare various approaches in radiosynthesis and find the optimal conditions and methods for radiopharmaceutical production for clinical use.

### **Papers to be included in the PhD thesis**

1. Lahdenpohja, S., Keller, T., Rajander, J., Kirjavainen, A.K. *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2019, 62:259-264
2. Lahdenpohja, S., Rajala, N., Rajander, J., Kirjavainen, A.K. *EJNMMI Radiopharm Chem.* 2019, 28:1-11
3. Lahdenpohja, S., Rajala, N., Helin, J., Haaparanta-Solin, M., Solin, O., López-Picón, F. and Kirjavainen, A.K manuscript in review
4. Lahdenpohja, S., Keller, T., Forsback, S., Viljanen, T., Kokkomäki, E., Kivelä, R.K., Bergman, J., Solin, O. and Kirjavainen, A.K. manuscript in review

# SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF NOVEL RADIOPHARMACEUTICALS FOR PRETARGETED PET IMAGING

Tatsiana Auchynnikava

Radiopharmaceutical Chemistry Research group, Department of Chemistry, Turku PET Centre, University of Turku



**Research Director:** Assoc. Prof. Anu Airaksinen

**Supervisor(s):** Assoc. Prof. Anu Airaksinen and Dr. Xiang-Guo Li

**Funding:** Drug Research Doctoral Programme (DRDP).

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023.

## Main aims of the PhD research

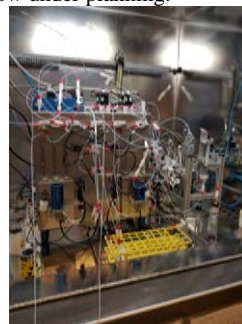
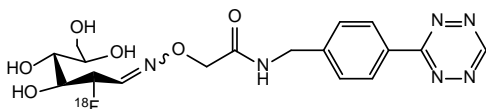
This project will focus on development and evaluation of novel radiopharmaceuticals for diagnostic pretargeted PET imaging prior to anticancer therapies. The radiopharmaceuticals will be investigated for quantifying intracellular boron-10 concentration after  $^{10}\text{B}$  administration and prior to boron neutron capture therapy (BNCT) based on a pretargeted strategy.

Research objectives:

- 1) To design several new  $^{18}\text{F}$ -labeled tetrazine derived radiopharmaceuticals, which can be actively transported across the plasma membrane.
- 2) To synthesize the candidates and their precursors with organic chemistry methods.
- 3) To measure kinetics of transportation of the tracer candidates in cells.
- 4) To develop radiosynthesis methods for production of the  $^{18}\text{F}$ -labelled candidates.
- 5) To evaluate biodistribution of the  $^{18}\text{F}$ -labelled candidates in healthy animals and in disease model of cancer.
- 6) To evaluate tumor accumulation of the  $^{18}\text{F}$ -labelled candidates after pretreatment with  $^{10}\text{B}$  carriers in disease models.

## Main results so far

So far, I have set up a remote controlled method for radiosynthesis of previously reported  $^{18}\text{F}$ -labeled tetrazine derived radiopharmaceutical (Figure 1)<sup>1</sup>, which will be evaluated *in vivo* in mice model. Synthesis of two other radiopharmaceuticals are right now under planning.



**Figure 1.** Structure of the  $^{18}\text{F}$ -labeled tetrazine derived radiopharmaceutical and the synthesis unit for the remote controlled radiosynthesis.



### The significance of my research for the research group and the whole research field

Cancer is the second leading cause of death globally and there is a big need for more efficient anticancer therapies. Positron emission tomography (PET) is a valuable tool not only in cancer diagnostics but also in drug development. Nevertheless, there are some limitations in PET applications. One of them is the necessity to use isotopes with a long half-life (hours and days) for processes with slow pharmacokinetics, which causes unnecessary radiation dose to the patient. Pretargeted PET imaging allows overcoming this problem.

The pretargeting concept includes two separate steps for locating the target and further radionuclide binding. The two-step method enables usage of short-lived radionuclides such as fluorine-18 ( $^{18}\text{F}$ ) for studying processes with slow pharmacokinetics. It is based on bioorthogonal chemical reactions, when a covalent bond between two compounds is formed inside the living organism without interactions with other biological processes in the body. Currently there are no pretargetable radiopharmaceuticals, which are able to reach intracellular targets. Therefore, my solution is to design compounds, which will be actively transported across the plasma membrane. I hypothesize, that actively transported bioorthogonal PET radiopharmaceuticals will allow to target and quantify intracellular processes by using pretargeted PET imaging.

One of the applications for such radiopharmaceuticals can be BNCT. It is a technique, which enables the selective treatment of tumor cells even if they are merged into normal tissues. The concept is a combination of chemotherapy and radiotherapy and is based on the boron neutron capture, the nuclear reaction during which under the absorption of thermal neutron  $^{10}\text{B}$  atoms fragment into an  $\alpha$  particle ( $^4\text{He}$ ) and a recoiled lithium nucleus ( $^7\text{Li}$ ). As these particles travel a very short distance less than cell size and carry on the same time high energy, the reaction occurs within the one cell.<sup>2</sup> The key point here is to place boron selectively to tumor cells. Therefore, compounds, which I will develop, will make possible quantification of particularly intracellular boron prior to the therapy and it will be done with pretargeted PET imaging.

Unfortunately, there are many processes in the human body, which are still unclear for us. Especially cancer raises many questions, as one of the top mortality factors in the world. That is why the continuous development of better and more efficient anticancer therapies is very important for diagnosis and treatment of cancer in early stages because it will allow increase life expectancy, improve quality of life and reduce mortality.

Particularly in these doctoral studies with the purpose to design and synthesize novel radiopharmaceuticals for such promising approaches as pretargeted PET imaging and theranostics, the significance can be explained with possible future clinical applications and promoting personalized medicine. In addition, the development of mentioned above methods in drug research will contribute to speed up and reduce the cost of this process.

### Reference

1. Keinänen O, Partelová D, Alanen O, Antopolsky M, Sarparanta M, Airaksinen AJ. Efficient cartridge purification for producing high molar activity  $^{18}\text{F}$ -glycoconjugates via oxime formation. *Nucl Med Biol*. 2018.
2. Nedunchezian K, Aswath N, Thiruppathy M, Thirugnanamurthy S. Boron neutron capture therapy - a literature review. *J Clin Diagnostic Res*. 2016.

# BIO-ORGAANISEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ

## BIOORGANIC GROUP

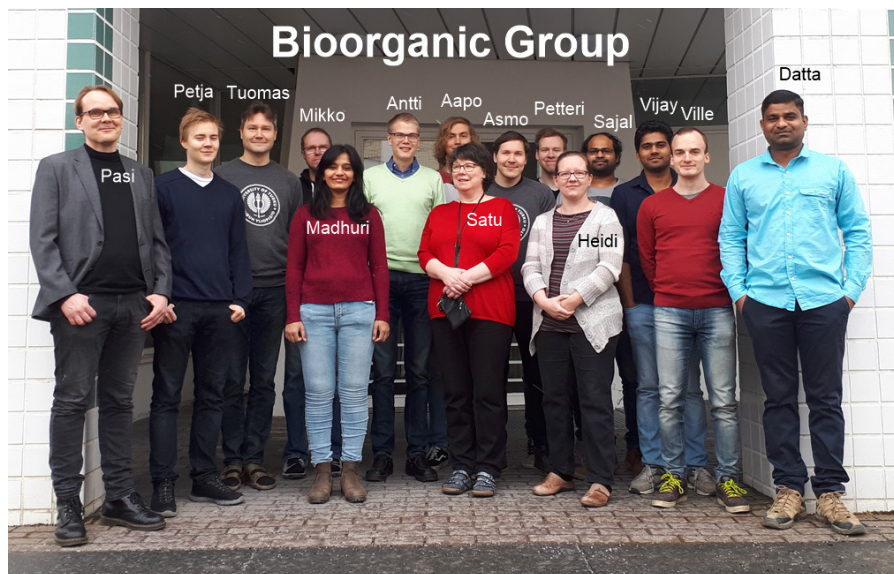


## BIOMOLEKYYLIEN KEMIAA

Prof. Pasi Virta ja apulaisprof. Tuomas Lönnberg

*Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, <http://bioorganic.utu.fi>  
Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: [pamavi@utu.fi](mailto:pamavi@utu.fi)*

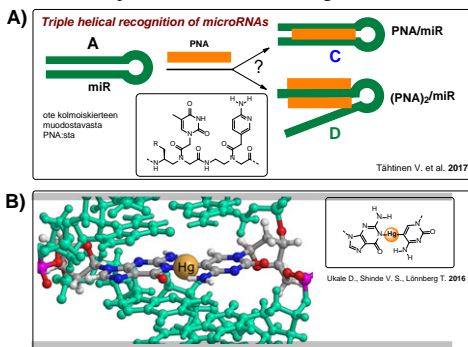
Bio-organisen kemian tutkimus on keskittynyt biopolymeerien; peptidien, hiilihydraattien ja nukleiinihappojen kemiaan. Keskeisimpinä tutkimuksen kohteina ovat kuitenkin oligonukleotidit ja niiden konjugaatit. Konjugoitavina ryhminä toimivat yleensä muut funktionaaliset biopolymeerit. Tavoitteena on nukleiinihappojen manipuloiminen solubiologian, lääkekehityksen ja diagnostiikan tarpeisiin. Ryhmämme tekee tätä nykyä tiivistä yhteistyötä lääketieteellisuuden kanssa, jossa mielenkiinto suuren molekyyllipainon biologisiin lääkkeisiin on lähivuosina kasvanut.



### RNA:han sitoutuvat korkean affiniteetin hybridisaatiokoettimet

Proteiinisynteesiä ohjaavien lähetti-RNA-molekyylien ohella genomi tuottaa runsaasti ns. ei-koodaavia ribonukleiinihappoja. Näistä eniten tutkittuja ovat pienikokoiset mikroRNA (miRNA)-rakenteet, jotka osallistuvat geeni-ilmentymän säätelyyn, mutta erittyvät myös verenkiertoon toimien biologisina merkkiaineina. Ne ovat usein hiusneulamaisia rakenteita, joiden kaksoiskierros on yksi tai useampi pullistuma. miRNA:t ja niitä rakenteellisesti muistuttavat viraaliset RNA:t ovat tärkeä lääkekehityksen kohde. Rakenteiden tunnistus perinteisellä kaksoiskierteen muodostamiseen perustuvalla hybridisaatiodiagnostiikalla on vaikeaa, koska oligonukleotidit eivät useinkaan pysty avaamaan kaksoiskierteistä rakennetta. Tähän ongelmaan on laboratoriossamme pureuduttu useillakin eri menetelmillä. Lyhyiden oligonukleotidien affiniteettia voidaan tehostaa esimerkiksi sopivalla RNA:han sitoutuvalla pienmolekyylliligandilla. Toinen tapa miRNA:n tunnistukseen on sopivasti muokatut kolmoiskierteen muodostavat PNA-juosteet (Kuva 1A). Rajoitteena on tällöin kuitenkin PNA:n heikko spesifisyys sekä itse miRNA:n rakenne, jossa

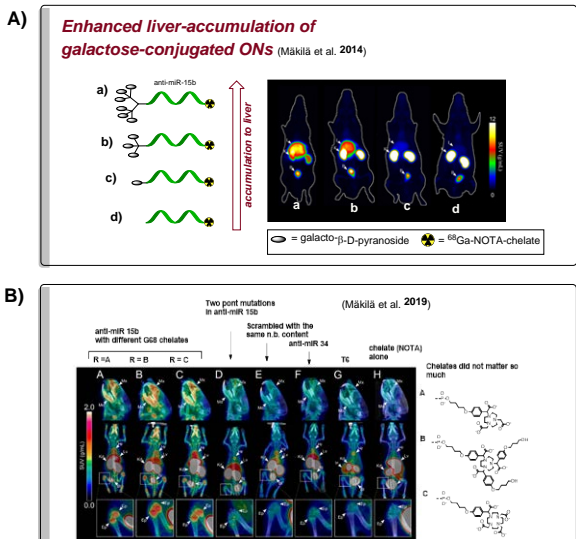
tulee olla puriinirikas alue. Kolmoiskierre-spesifisyyttä on kyetty parantamaan kiraalisilla PNA-yksiköillä. Kolmas ja houkuttelevaksi osoittautunut tapa miRNA:n tunnistuksessa on korvata yksi tai useampi koettimen emäsosista voimakkaasti metalli-ioneja koordinoivalla tai organometallisella analogilla. Metallionin välittämä sitoutuminen voi lisätä muodostuvan kaksoiskierteen pysyvyyttä merkittävästi (Kuva 1B). Toisin kuin puhtaasti koordinaatiiviset kompleksit, organometalliset kompleksit eivät dissosioitu äärimmäisen laimeissa liuoksissa. Tällainen pysyvyys on ehdoton edellytys metalloitujen oligonukleotidien käytölle solunsisäisissä sovelluksissa. Tähän tutkimukseen liittyen kirjassa esitellään kolme väitöskirjaprojektia (Dattatraya Ukale, Madhuri Hande ja Asmo Aro-Heinilä).



**Kuva 1.** A) miRNA:n tunnistus kolmoiskierteen muodostavalla PNA:lla, B) esimerkki metallivälitteisestä emäsparista.

### Oligonukleotidilääkkeiden kudospesifinen kohdentaminen

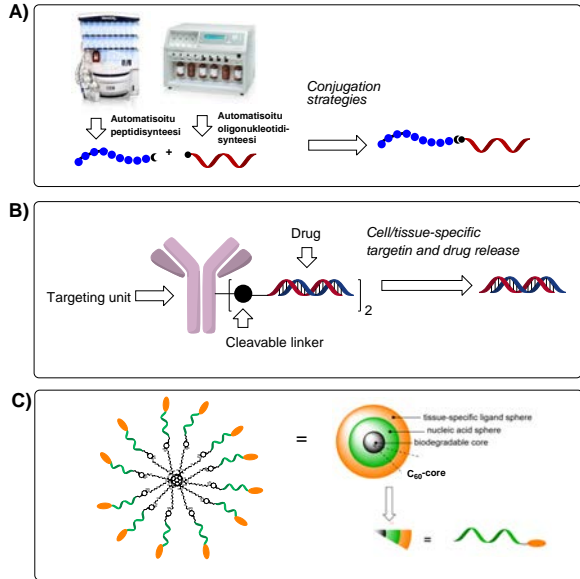
Oligonukleotideja voidaan muokata lääkkeiksi sairauksiin, joita ei kyetä hoitamaan perinteisillä pienimolekyylisillä lääkkeillä. Voidaanko terapeuttisten oligonukleotidien kulkua elimistössä kasvaimeen liittämällä niihin solujen pintarakenteita tunnistavia molekyylijä? Tätä pyritään selvittämään konjugoimalla oligonukleotideja erilaisilla biologisesti aktiivisilla hiilihydraateilla (Kuva 2A) ja peptideillä (Kuva 3A), sekä myös vasta-ainepohjaisilla proteiinerakenteilla (Kuva 3B). Tämän lisäksi ryhmässämme kehitetään myös uusia konjougintekemioita (kontrollidusti katkeavat linkkerit) näiden useammasta biomolekyylistä koostuvien rakenteiden valmistamiseksi (Kuva 3A). Yhteistyössä Turun PET-keskuksen kanssa näiden konjugaattien kulkua on pystytty seuraamaan eläinmallien avulla (Kuva 2).



**Kuva 2.** Kuvasta A) on nähtävissä selkeä korrelaatio konjugoitujen galaktoosi-yksiköiden määrän ja oligonukleotidin maksahakuisuuden välillä, kuvasta B) itse sekvenssin merkitys kudoshakuisuuteen (huom. akkumulaatio rotan polvilla ja kallon pehmeissä osissa)

Tämänhetkinen mielenkiinto on lisäksi DNA-pohjaisissa nanorakenteissa ja näiden mahdollisessa sovellettavuudessa oligonukleotidien kohdennukseen.

Yhtenä mahdollisuutena ovat ns. molekulaariset pallomaiset nukleiinihapot (molecular spherical nucleic acids, SNAs), joiden tiedetään tunkeutuvan tehokkaasti useisiin solutyyppeihin. Ryhmämme pyrkimyksenä on suunnitella SNA-rakenteisiin soveltuvia uudenlaisia biohajoavia ydinrakenteita sekä parantaa niiden soluspesifisyyttä sopivin ligandein. Neljä ryhmämme väitöskirjaprojektia sivuaa näitä tutkimuksia (Vijay Gulumkar, Antti Äärelä, Aapo Aho, Madhuri Hande). Lisäksi tapahtumassa nähdään yksi aiheeseen liittyvä FM-esitelmä (Mika Sulkanen)

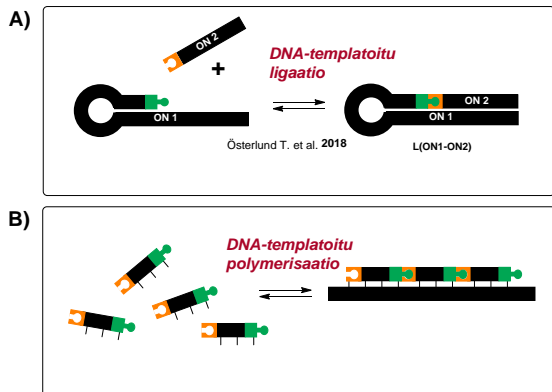


**Kuva 3.** A) Uusien ja suoraviivaisten konjugoitimenetelmien kehittäminen on tärkeää tulevaisuuden lääkemolekyylin suunnittelussa. B) Samaa konjugaatio kemialla voidaan hyödyntää esimerkiksi täsmälääkkeissä. C) Nanopertikkeli voi koostua lääkemolekyylistä itsestään. Pallomaiset nukleiinihapot on yksi ryhmämme tutkimuskohteista.

### DNA:han perustuvan dynaamisen kombinatorisen kemian ja supramolekyylidemian sovellutukset

Dynaamisesti itsejärjestäytyviä molekyyliä voidaan hyödyntää monimutkaisten supramolekulaaristen rakenteiden valmistuksessa, mutta myös reseptori-ligandivuorovaikutusten kartoituksessa sekä perimän toimintaan mielletävän autoreplikaation mallintamisessa.

Yksinkertaisimmillaan kontrolloidusti polymeroituva systeemi voidaan saada aikaan sopivalla tasapainoreaktiolla, jossa molekyylien välinen tunnistus tapahtuu nukleoemästen kautta (Kuva 4B). Tähän liittyen ryhmämme tutkimuksen kohteena on DNA-templatoitu ligaatio ja siihen soveltuvat reaktiot.

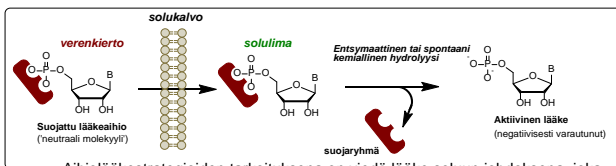


**Kuva 4.** A) DNA-templatoitu reversiibeli ja pH-herkkä ligaatio, B) DNA-templatoutu polymerisaatio sopivilla bifunktionaalisilla rakenyksiköillä

Sovellusmahdollisuuksina ovat esimerkiksi yksittäisen emäspoikkeavuuden detektoiminen DNA-juosteesta (SNP = single nucleotide polymorphism) dynaamisen kombinatorisen kemian (DCC) keinoin, sekä dynaamiset itsejärjestäytyvät nanorakenteet. Myös irreversiibejä reaktioilla on useita sovelluskohteita. Näihin tutkimuksiin liittyen kirjassa esitellään kaksi väitöskirjaprojektia (Aapo Aho, Tommi Österlund).

### Aihiolääkestrategiat biologisesti aktiivisten nukleotidien solunläpäisevyyden tehostamiseksi

Nukleotidien rakenneanalokit ovat potentiaalisia virus- ja syöpälääkkeitä. Niiden tehokkuutta rajoittaa kuitenkin heikko tunkeutuvuus solukalvon läpi. Aihiolääkestrategioiden tarkoituksena on viedä lääke soluun johdoksena, joka helposti läpäisee solukalvon ja vapautuu sitten entsyymien vaikutuksesta solun sisällä. Vaihtoehtoisesti suojatun johdoksen hydrolyyttinen pysyvyys voidaan räätälöidä sellaiseksi, että ionisen lääkkeen vapautuminen tapahtuu ei-entsymaattisesta pääosin soluun tunkeutumisen jälkeen (Kuva 4). Aihiolääkestrategioissa ei rajoiteta pelkästään nukleosidianalogeihin, vaan niiden sovellettavuutta tutkitaan myös muille lääkemolekyyleille, esimerkiksi fosfaatin sisältäville pienmolekyylisille syöpälääkkeille. Yhtenä projektina ovat myös *Streptomyces*-bakteerin tuottamat biologisesti aktiiviset C-nukleosidit ja niiden kemiallisesti muokatut analogit. Yhdisteiden valmistuksessa hyödynnetään täten sekä entsymaattista että kemiallista synteesiä. Nämä tutkimukset tapahtuvat yhteistyössä Turun yliopiston Biokemian laitoksen, Biotekniikan keskuksen ja Luxemburgin yliopiston kanssa. Näihin tutkimuksiin liittyen kirjassa esitellään yksi väitöskirjaprojekti (Petja Rosenqvist). Lisäksi tapahtumassa nähdään yksi tähän liittyvä FM-esitelmä (Veneta Dyunyashaeva).

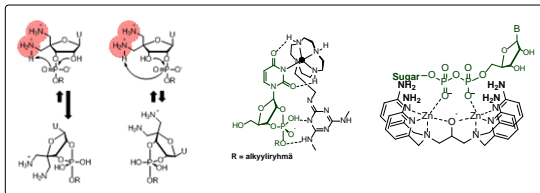


**Kuva 5.** Aihiolääkestrategioiden tarkoituksena on viedä lääke soluun johdoksena, joka helposti läpäisee solukalvon ja vapautuu sitten spontaanin kemiallisen hydrolyysin tai entsyymien vaikutuksesta solun sisällä.

### Biomolekyyliden fosfoesterisidosten pilkkominen: mekanismeista sovelluksiin

Biomolekyylit sisältävät fosfodiesterisidoksia, joilla on tärkeä merkitys biologisissa prosesseissa. RNA:n ja DNA:n fosfodiesterisidokset ovat kaikille tuttuja, mutta fosfoesterisidoksia esiintyy myös mm. hiilihydraateissa ja niiden peptidi- ja lipidikonjugaateissa. Reaktiokineettisellä tutkimuksella selvitetään erilaisten biologisten fosfaattiyhdisteiden reaktiivisuutta ja reaktiomekanismeja. Tällöin edetään monesti yksinkertaisista malleista todellisia biomolekyylejä kohti. Soveltamalla erilaisia fyysikaalisia orgaanisen kemian ”työkaluja”, kuten isotoppieffektejä tai lähtevän ryhmän vaikutuksia, saadaan yksityiskohtaista tietoa reaktiomekanismista. Saatua informaatio mahdollistaa reaktiomekanismin

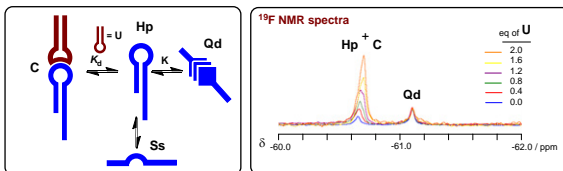
ymmärtämisen ja reaktioiden hyväksikäytön erilaisten hoito- ja diagnostiikkamenetelmien kehitystyössä. (Kuva 5). Tätä tutkimusta sivuaa tällä hetkellä yksi väitöskirjatyö (Yakubu Lange). Lisäksi tapahtumassa nähdään yksi aiheeseen liittyvä FM-esitelmä (Niko Lehtinen).



**Kuva 6.** Fosfodiesterisidoksen reaktiomekanismeja tutkitaan erilaisten malliyhdisteiden avulla.

## RNA:n korkeamman asteen sekundaarirakenteiden dynamiikan tutkimus

Toisin kuin kanoninen kaksoiskierteinen DNA, etenkin RNA esiintyy soluissa monimuotoisina sekundaarirakenteina sisältäen paitsi silmukoita ja pullistumia, myös korkeamman asteen sekundaarirakenteita, kuten kolmoiskierteitä ja guanosiinin muodostamia G-kvadruplekseja, joilla kaikilla on oma osuutensa geenin lopulliseen ilmenemiseen. Sekundaarirakenteet voivat olla myös dynaamisessa tasapainossa keskenään, jolloin kysymys on ns. kahtaispysyvistä RNA-rakenteista. Näiden sekundaarirakenteiden välisen dynamiikan tutkiminen on haastava, mutta tärkeä tutkimusalue, joka saattaa paljastaa paitsi uusia lääkekehityksen kohteita, myös auttaa ymmärtämään RNA:n biokemiallista toimintaa. Yksityiskohtaisempi sekundaarirakenteiden karakterisointi on tärkeää myös DNA-nanorakenteiden sekä metallotujen oligonukleotidien toiminnan ymmärtämiseksi. Konventionaalisten spektrofotometrinen karakterisointimenetelmien lisäksi ryhmämme on soveltanut tähän  $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$  ja  $^{19}\text{F}$  NMR spektroskopiaa.



Kuva 7. Kahtaispysyvän G-kvadrupleksi/hiuspinni RNA:n dynamiikan tutkiminen  $^{19}\text{F}$  NMR-spektroskopian avulla.

## Tutkimuksemme mahdollistajat



Lisätietoja saatavissa Bio-organisen kemian tutkimusryhmän nettisivujen kautta:

<http://bioorganic.utu.fi>

## GLYKOLINUKLEIINIHAPON HYBRIDISAATIO

Hanni Haapsaari

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

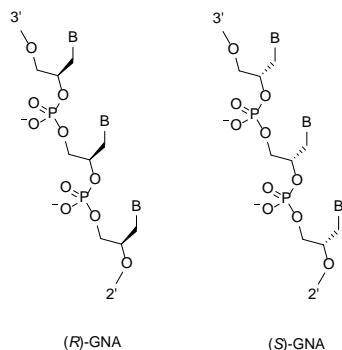


haehaa@utu.fi

Glykolinukleiinihappo eli GNA on keinotekoinen nukleiinihappo, jolla on asyklinen propyleeniglykoli-fosfodiesterirunko. GNA:lla on kaksi eri enantiomeeria, (*S*)-GNA ja (*R*)-GNA (kuva 1). GNA voi muodostaa stabiileja antiparalleelisia kaksoiskierteitä Watson–Crick-emäspariutumisella. Watson–Crick-emäspariutumiseen perustuvan stabiilin dupleksin muodostuminen on havaittu yksinomaan (*S*)-GNA/(*S*)-GNA- ja (*R*)-GNA/(*R*)-GNA-homoduplekseilla. Hybridisaatiota ei tapahdu (*S*)-GNA:n ja (*R*)-GNA:n välillä, eikä kumpikaan näistä pariudu DNA:n kanssa. (*S*)-GNA pariutuu kuitenkin rajoitetusti RNA:n kanssa. [1]

GNA-homoduplekseja on tutkittu paljon erilaisilla pituuksilla ja sekvensseillä. Kaikissa analysoiduissa systeemeissä saman sekvenssin GNA- ja DNA-dupleksien vertailu paljasti, että GNA-dupleksin terminen stabiilius ylittää analogisen DNA-dupleksin terminen stabiiliuden merkittävästi [1]. Sulamislämpötilojen lisäksi määritettiin myös dupleksin muodostumisen entalpian, entropian ja Gibbsin vapaaenergian muutokset. GNA-dupleksin korkeampi terminen stabiilius korreloi myös korkeamman termodynaamisen stabiiliuden kanssa [2].

GNA:ta lähdettiin kehittämään tavoitteena sellainen nukleiinihappo, joka on luonnollisiin nukleiinihappoihin verrattuna rakenteellisesti yksinkertaisempi ja synteettisesti helpommin saatavilla oleva, samalla kuitenkin säilyttäen halutut emäspariutumisominaisuudet [3]. GNA:n yksinkertaisuus ja synteettinen saatavuus yhdistettynä GNA-dupleksin korkeaan stabiiliuteen tekevät GNA:sta potentiaalisen rungon nukleiinihaponanoteknologialle [4].



**Kuva 1.** GNA:n rakenne.

### Viitteet

- [1] Zhang, L., Peritz, A. ja Meggers, E., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4174–4175.
- [2] Schlegel, M. K., Xie, X., Zhang, L. ja Meggers, E., *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2009**, *48*, 960–963.
- [3] Meggers E. ja Zhang, L., *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1092–1102.
- [4] Schlegel, M. K., Essen, L. O. ja Meggers, E., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8158–8159.



## RNA-nanopartikkelit

Ville Fock

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



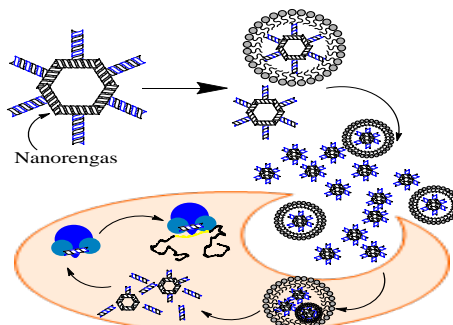
vafock@utu.fi

RNA-nanopartikkeleiksi luokitellaan RNA-nanokomponentin sisältävät yhdisteet, joilla on jokin toiminnallinen ominaisuus. Käytetyimpiä komponentteja RNA-nanopartikkeleissa ovat aptameerit, ribokytkimet sekä miRNA:t ja siRNA:t.

Terapeuttisten RNA-nanopartikkelien kokoluokka on 5–25 nm. Usein rakenne sisältää nanorengaan (Kaavio 1.) sekä siihen kiinnittyneitä funktionaalisia ryhmiä. RNA-nanopartikkelien valmistus koostuu kuudesta vaiheesta. Ensinnäkin pitää suunnitella, mitä ominaisuuksia halutaan nanopartikkeliin. RNA-nanopartikkeleita voidaan valmistaa tietyn kokoisiksi ja muotoisiksi sekä modifioida niitä omaamaan tietyn stoikiometrian. Tämän jälkeen arvioidaan tietokoneella nanopartikkelin rakenteen muodostumista ja sen laskostuminen. Kolmantena vaiheena oleva synteesi on helppo ja suoraviivainen, niin kemiallisesti kuin entsyymaattisesti ja se tehdään bottom-up tekniikalla. Synteessissä voidaan vaikuttaa siihen, mitä funktionaalisia ryhmiä nanopartikkeliin lisätään, ja näin voidaan myös muodostaa monikäyttöisiä RNA-nanopartikkeleita. Synteessin jälkeen kootaan RNA-nanopartikkelien eri osat yhteen ja karakterisoidaan yhdiste. Lopuksi vielä testataan sen toimivuus.[2]

RNA-nanopartikkeleiden nanokokoluokan rakenne mahdollistaa endosomaalisen kuljettamisen solujen sisälle (Kaavio 1.). Haasteena kuljettamisessa on ollut se, ettei rakenne hajoaisi tai aktivoituisi ennen pääsyään kohdesoluun. Liittämällä RNA-nanopartikkeleihin sopivia ryhmiä, esimerkiksi aptameereja, on niiden soluun tunkeutumista ja kohdespesifisyyttä saatu parannettua.[1]

RNA-nanopartikkelien osalta voidaan odottaa läpimurtoja lähitulevaisuudessa, sillä RNA-nanopartikkelit ovat vasta lähiaikoina alkanut herättämään kiinnostusta niiden potentiaalisten käyttötarkoitusten osalta. Suurimpana kiinnostuksen kohteena on RNA-nanopartikkelien käyttö syövän hoidossa.



**Kaavio 1.** RNA-nanopartikkelin kuljetus soluun ja sen vaikuttaminen solun toimintaan.[1]

### Viitteet

1. Parlea L., Puri A., Kasprzak W., Bindewald E., *ACS Comb. Sci.* **2016**, 18, 527-547
2. Shu Y., Sharma A., Rajabi M., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2014**, 66, 74-89

## Hiilihydraattien kemoentsymaattinen synteesi OPME-menetelmällä

Josefiina Wallin

Bio-orgaanisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian  
pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



OPME (one-pot multienzyme) -menetelmän avulla voidaan tehokkaasti syntetisoida luonnossa esiintyviä ja muokattuja hiilihydraatteja. Synteesi on yhdessä astiassa tapahtuva entsyymireaktio. Menetelmässä hyödynnetään glykosyylitransferaaseja ja biosynteesiä katalysoivia entsyymejä. Glykosyylitransferaasit katalysoivat glykosidisidoksen muodostumista suurella regio- ja stereospesifisyydellä [1]. Tämän vuoksi synteessissä ei tarvita suojaryhmiä.

Synteesin ensimmäinen vaihe on monosakkaridien kemiallinen modifikaatio. Luonnossa hiilihydraateilla voi tapahtua glykosylaation jälkeisiä modifikaatioita, kuten *o*-asetylaatio, *o*-metylaatio tai epimerisaatio [2]. OPME-menetelmässä nämä modifikaatiot voidaan tehdä lähes valmiin hiilihydraatin sijaan jo alussa monosakkaridiin. Tätä modifioitua monosakkaridia käytetään donorina glykosylaatioissa (kaavio 1) [3]. Akseptori vastaanottaa monosakkaridin luovuttaman glykosyyliryhmän. Glykosidisidoksen muodostumista katalysoi glykosyylitransferaasi. Koska kyseessä on entsyymireaktio, ei tarvita suojaryhmiä tai välituotteiden eristämistä. OPME-reaktioita voidaan tarvittaessa tehdä myös useita peräkkäin, jolloin voidaan syntetisoida monimutkaisempia hiilihydraatteja [1].



**Kaavio 1.** OPME-menetelmän kokonaisreaktio.

### Viitteet

- [1] Yu, H. ja Chen, X. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2016**, *10*, s. 2799-3002  
 [2] Yu, H. ja Chen, X. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2007**, *6*, s. 853-984  
 [3] Li, W., McArthur, J. B. ja Chen, X., *Carbohydrate Research*, **2019**, *472*, s. 86-97

# ENANTIOPUHTAAT FOSFOROTIOAATTI-OLIGONUKLEOTIDIT LÄÄKEKEHITYKSESSÄ

Ville-Veikko Rämö

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

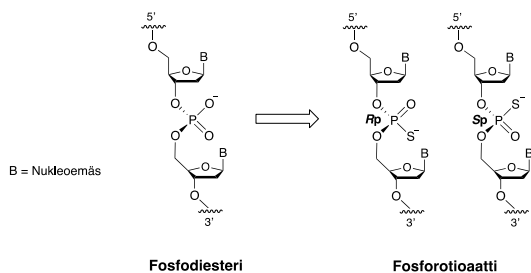


vramo@utu.fi

Antisenseoligonukleotidit ovat yksijuosteisia 13–25 nukleotidia pitkiä oligonukleotideja, joita voidaan käyttää terapeuttisiin tarkoituksiin. Antisenseoligonukleotidien toiminta perustuu niiden spesifiseen hybridisaatioon esilähetti-RNA:n tai lähetti-RNA:n kanssa, jolla pyritään vaikuttamaan sairautta aiheuttavaan proteiinitranslaatioon.

Antisenseoligonukleotidien rakenteen eri osille on vuosikymmenien ajan suunniteltu modifikaatioita niiden toiminnan parantamiseksi. Fosforotioaatit ovat oligonukleotideja, joissa fosfaattiosan ei-silloittava happiatomi on korvattu rikillä [1]. Fosforotioaateilla pystytään parantamaan oligonukleotidin kestävyyttä nukleaaseja vastaan. Tärkeän fosforotioaateista tekee lisäksi se, että niiden muodostama DNA/RNA-heterodupleksi kykenee toimimaan substraattina ribonukleaasi H-entsyymin (RNAasi H) katalysoimassa lähetti-RNA:n pilkkoutumisessa. Tämän ominaisuuden ansiosta fosforotioaatit kykenevät toimimaan katalyyttisesti, mikä tehostaa niiden toimintaa. Fosforotioaatit ovat edelleen yksi tutkituimmista oligonukleotideille kehitetyistä modifikaatioista.

Toisin kuin fosfodiesterisidoksessa, fosforotioaattisidos on kiraalinen ja tämän vuoksi terapeuttiset antisenseoligonukleotidit esiintyvät *Rp*- ja *Sp*-stereoisomeerien seoksina. Stereoisomeriaa kontrolloimalla voidaan parantaa antisenseoligonukleotidien farmakologia ominaisuuksia [2]. Enantiopuhtaat fosforotioaattioligonukleotidit ovat potentiaalinen tutkimuskohde, joka mahdollistaa olemassa olevien oligonukleotidipohjaisten lääkevalmisteiden kehittämisen.



**Kaavio 1.** Fosforotioaattioligonukleotidin jokaisessa fosforotioaattisidoksessa esiintyy kaksi enantiomeeria.

## Viihteet

[1] Eckstein, F., *Nucleic Acid Ther.* **2014**, *24*, 374–387.

[2] Iwamoto, N.; Butler, D. C. D.; Svrzikapa, N.; Mohapatra, S.; Zlatev, I.; Sah, D. W. Y.; Meena; Standley, S. M.; Lu, G.; Apponi, L. H.; Frank-Kamenetsky, M.; Zhang, J. J.; Vargeese, C.; Verdine, G. L., *Nat. Biotechnol.* **2017**, *35*, 845–851.

## Ärsykeherkät oligonukleotidiahioolääkkeet

Vernerin Saari

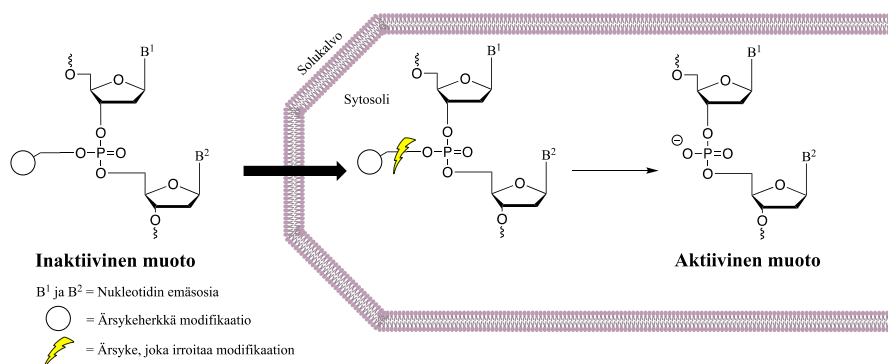
Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



veosaa@utu.fi

Aihioolääke on lääkeaineen inaktiivinen muoto, joka reagoiessaan *in vivo* muuttuu aktiiviseen muotoonsa. Kyseistä aihioolääkestrategiaa hyödynnetään esimerkiksi terapeuttisille oligonukleotideille. Oligonukleotidilääkeaineita on haastava saada solun sisälle niiden suuren koon ja polyanionisuuden vuoksi. Myös muita haasteita niiden kohdalla on, kuten huono nukleasiresistenttisyys [1]. Tämän vuoksi oligonukleotidit on kuljetettava soluun siihen suunnitellun modifikaation kanssa inaktiivisessa aihioolääkem muodossa.

Solun sisällä lääkeaineena toimiva oligonukleotidi pitää saada vapautettua aktiiviseen muotoonsa jonkin ärsyksen avulla. Ärsykkeet, joilla tämä tehdään, jaetaan tyypillisesti solun ulkopuolelta tuleviin fysikaalisiin ärsykkeisiin sekä solun sisäpuolella oleviin biokemiallisiin ärsykkeisiin [2]. Fysikaalisia ärsykeitä ovat mm. valo sekä lämpö ja biokemiallisia ärsykeitä ovat mm. entsyymit ja glutatoni. Näillä ärsykeillä pyritään irrottamaan spesifisesti oligonukleotidiin suunniteltu modifikaatio. Tämä modifikaatio voi kohdistua eri kohtiin oligonukleotidia, kuten fosfaattiasaan, sokerirenkaan 2'-asemaan tai emäsosaan [1]. Modifikaation purkauduttua, oligonukleotidi muuttuu aktiiviseen muotoon, jolloin se pystyy toimimaan terapeuttisissa tarkoituksissa esimerkiksi siRNA:n tai antisense-oligonukleotidin tavoin. Kaaviossa 1 on esitettyä yksinkertaistettu mekanismi ärsykeherkän oligonukleotidin toiminnasta, jossa modifikaatio on kiinnitettyä fosfaattiasaan.



**Kaavio 1.** Yksinkertaistettu kaavio ärsykeherkän oligonukleotidin toiminnasta, jossa modifikaatio on kiinnitetty fosfaattiasaan.

### Viitteet

[1] Deleavey, G. ja Damha, M., *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 937–954

[2] Debart, F., Dupouy, C. ja Vasseur, J. *Beilstein J. Org. Chem.* **2018**, *14*, 436–469

## DNA-pohjaiset elohopeasensorit

Milja Virtanen

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

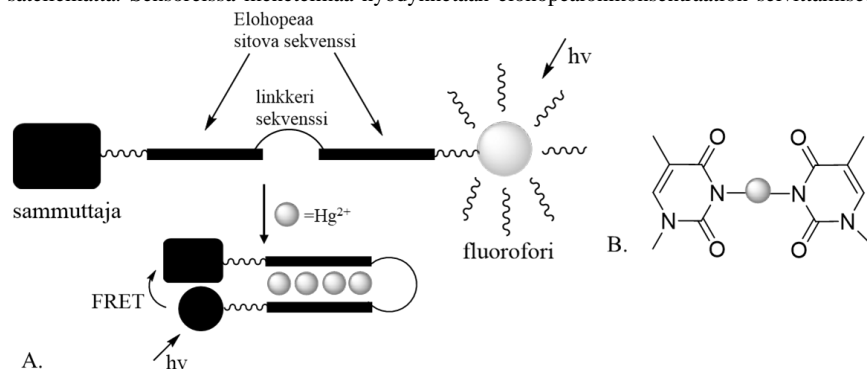


mijulv@utu.fi

DNA-pohjaiset elohopeasensorit ovat kemiallisia sensoreita, joilla detektoidaan elohopeaionin konsentraatioita mm. vesistöistä. Sensoreita (kuva 1A.) on monia erilaisia, mutta tutkielmassani keskityn sovellutuksiin, jotka hyödyntävät fluoresenssiresonanssienergiansiirtoa (FRET) detektoinnissa.<sup>1,2</sup>

Kemiallisella sensorilla tarkoitetaan sellaista itsenäistä laitetta, joka pystyy tunnistamaan ja muuttamaan halutun informaation näytteestä käyttökelpoiseen muotoon. Tämä tapahtuu, kun sensori altistetaan näytteelle ja sensorin tunnistusmolekyylit pääsevät vuorovaikuttamaan analyytin kanssa, jonka jälkeen sensori muuttaa informaation kiinnittyneen analyytin konsentraatiosta havaittavaan muotoon.<sup>3</sup> Elohopeaioni sitoutuu DNA-sensorin tyymiinimästen N3-atomeihin. koordinatiivisella kovalenttisella sidoksella. Muodostuva T-Hg<sup>2+</sup>-T-rakenne näkyy kuvassa 1B. Tämä rakenne stabiloi DNA:n kaksoiskierrettä ja on stabiilimpi kuin luonnollinen A-T-emäspari.<sup>1,2</sup>

FRET on energiansiirtoprosessi, jossa energiaa siirtyy kahden fluoresenssimolekyylin välillä. Prosessi on riippuvainen fluoroforin ja sammuttajamolekyylin välisestä etäisyydestä. Etäisyyden ollessa pieni fluoroforin viritystila purkautuu sammuttajamolekyylille, jolla viritystila purkautuu säteilemättä. Sensoreissa menetelmää hyödynnetään elohopeaionikonsentraation selvittämiseen.<sup>4</sup>



**Kuva 1.** A. D-ODN-F-sensorin rakenne ja toimintaperiaate. B. Elohopean kovalenttinen sitoutuminen tyymiin N3-atomeihin. Mukailtu lähteestä [1].

### Viitteet

- (1) Ono, A. ja Togashi, H. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **2004**, *43*, 4300–4302.
- (2) Miyake, Y., Togashi, H., Tashiro, M. et al. *J. Am. Chem Soc.* **2006**, *128*, 2172–2173.
- (3) Banica, F.-G. ja Fogg, A. G. *Chemical Sensors and Biosensors*; United Kingdom: John Wiley & Sons Inc, 2012.
- (4) Clegg, R. M. Chapter 1 Förster Resonance Energy Transfer-FRET What Is It, Why Do It, and How It's Done. In *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Elsevier: 2009; Vol. 33, pp 1-57.

## Gamma-kiraalisten peptidinukleiinihappojen ominaisuudet ja sovellutukset lääkekehityksessä

Edla Kerminen

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

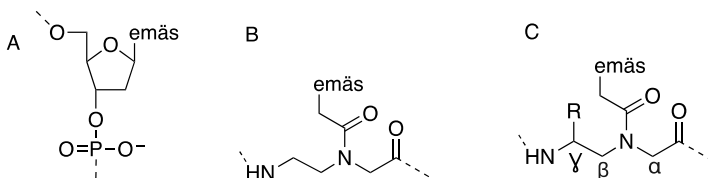


ekkerem@utu.fi

Peptidinukleiinihappo (PNA) on synteettinen nukleiinihappoanalogi (Kuva 1A), jossa nukleoemäkset kiinnittyvät *N*-(2-aminoetyyli)glysiini-yksiköistä koostuvaan peptidirunkoon. PNA-oligomeerit pystyvät hybridisoitumaan DNA:n ja RNA:n kanssa Watson-Crick-emäspariutumisen sääntöjen mukaisesti. Sitoutuminen tapahtuu komplementaarisesti, korkealla affiniteetilla ja on hyvin sekvenssispesifistä. Lisäksi PNA:t ovat entsyymaattisesti pysyviä proteaaseille ja nukleaaseille. Nämä ominaisuudet tekevät PNA:sta potentiaalisen rakenteen diagnostisille ja terapeuttisille sovellutuksille. PNA:lla on kuitenkin muutamia haittoja kuten huono vesiliukoisuus, heikko soluläpäisevyys sekä laskostuminen satunnaisiin rakenteisiin. Näiden ongelmien ratkaisemiseksi PNA:n runkoa on muokattu sopivilla funktionaalisilla ryhmillä (Kuva 1B). [1]

$\gamma$ -substituoidut PNA:t kykenevät kiertymään joko oikea- tai vasenkätisesti riippuen stereogeenisestä keskuksesta  $\gamma$ -asemassa. *L*-aminohapoista syntetisoidut  $\gamma$ -substituoidut PNA:t omaksuvat oikeäkätisen kierteen kun taas *D*-aminohapoista omaksuvat vasenkätisen kierteen. Vain oikeakätinen  $\gamma$ -PNA voi hybridisoitua luonnollisen DNA:n tai RNA:n kanssa. Tällöin myös affiniteetti ja spesifisyys akiraaliseen PNA:han verrattuna tehostuu. [2]

$\gamma$ -asemaa on modifioitu esimerkiksi aminoalkyyli- ja polyetyleeniglykoliketjuilla. Nämä modifikaatiot ovat osoittaneet lupaavia tuloksia miRNA-kohdennuksessa, mikä mahdollistaa esimerkiksi syöpähoitojen kehityksen. Vaikka  $\gamma$ PNA:t osoittavat suurta potentiaalia, on niillä vielä paljon matkaa terapeuttisiin sovelluksiin. Tutkielmassani käsitellän erilaisia  $\gamma$ -PNA-rakenteita sekä niiden sovellutuksia. [1], [2]



**Kuva 1.** A) DNA:n rakenne B) PNA:n rakenne C) gamma-kiraalisen PNA:n rakenne. Kuva piirretty lähteen [2] kuvaa mukaillen.

### Viitteet

- Moccia M, Adamo MFA, Saviano M. Artificial DNA: PNA & XNA Insights on chiral, backbone modified peptide nucleic acids: Properties and biological activity Insights on chiral, backbone modified peptide nucleic acids: Properties and biological activity. 2016. doi:10.1080/1949095X.2015.1107176
- Sugiyama T, Kittaka A. Chiral Peptide Nucleic Acids with a Substituent in the *N*-(2-Aminoethyl)glycine Backbone. *Molecules*. 2012;18(1):287-310. doi:10.3390/molecules18010287

## Biokonjugoidut oligonukleotidit

Maaret Toiviala

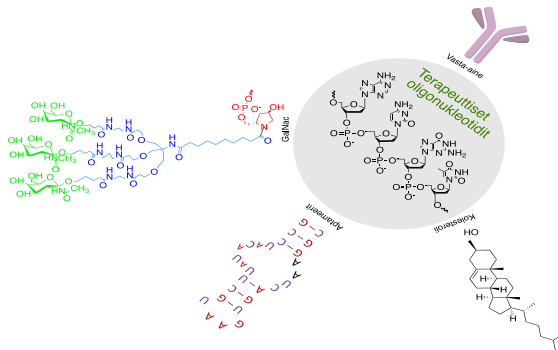
Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



mkoiv@utu.fi

Oligonukleotidit ovat usein lyhyitä pätkiä DNA:ta tai RNA:ta. Luonnolliset oligonukleotidit hajoavat helposti, koska nukleasi pilkkoo fosfodiesterisidoksia. [1] Lisäksi nukleiinihapot ovat polyanionisia, eivätkä siten tunkeudu soluun. Luonnolliset oligonukleotidit täytyy siis modifioida kemiallisesti niiden ominaisuuksien parantamiseksi. Biokonjugoidut oligonukleotidit ovat oligonukleotideja, joihin on kovalenttisesti liitetty jokin biomolekyyli. Toimivan ja hyödyllisen biokonjugaatin suunnittelussa ja toteuttamisessa on tärkeää huomioida konjugoitavien yhdisteiden rakenteelliset ja kemialliset ominaisuudet sekä miten biomolekyylin modifointi vaikuttaa sen aktiivisuuteen. [2]

Biokonjugaattien käyttöön terapeuttisissa sovelluksissa kuuluu monia hyötyjä. Ne muun muassa lisäävät kemiallista pysyvyyttä, suojaavat proteolyysiltä *in vivo*-olosuhteissa ja pidentävät lääkkeen puoliintumisaikaa kehossa. [2] Biokonjugointi ennen kaikkea parantaa oligonukleotidien kulkeutumista sytosoliin ja tumaan. Biokonjugaatit ovat merkittävässä asemassa kehitettäessä uusia lääkkeitä, koska ne toimivat tunnistustehtävissä, solujen ja kudosten kohdentamisessa ja farmakokinetiikassa. Tutkielmassani käsitelen uusimpia biokonjugoinnin kehitysaskleita (Kuva 1) ja mitä hyötyä niistä on geenin hiljentämismekanismeissa RNA-interferenssissä ja Antisense-strategiassa. [3]



**Kuva 1.** Työssä käsiteltävät biokonjugoidut oligonukleotidit. Kuva mukailtu lähteestä [3].

### Viitteet

- [1] T. Nishino and K. Morikawa, “Structure and function of nucleases in DNA repair: Shape, grip and blade of the DNA scissors,” *Oncogene*, vol. 21, no. 58 REV. ISS. 8. pp. 9022–9032, 15-Dec-2002.
- [2] G. T. Hermanson, “Introduction to Bioconjugation,” in *Bioconjugate Techniques*, Elsevier, 2013, pp. 1–125.
- [3] S. Benizri, A. Gissot, A. Martin, B. Vialet, M. W. Grinstaff, and P. Barthélémy, “Bioconjugated Oligonucleotides: Recent Developments and Therapeutic Applications,” *Bioconjug. Chem.*, vol. 30, no. 2, pp. 366–383, 2019.

## Biohajoavat linkkerit täsmälääkkeissä

Erika Mesimäki

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

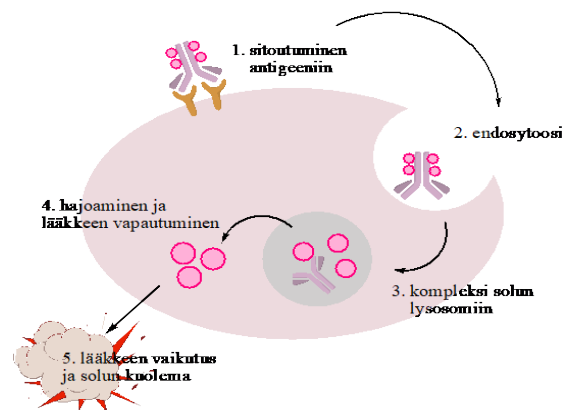


ewmesi@utu.fi

Täsmälääkkeet ovat osoittautuneet potentiaalisiksi hoitokeinoksi syöpää vastaan. Perinteisestä kemoterapiasta eroten, niiden toiminta kohdistuu spesifisesti syöpäsoluihin, jolloin välttyään terveiden kudosten vahingoittumiselta. Täsmälääkkeet koostuvat kudosspesifisestä kuljetinosasta, joka on useimmiten vasta-aine, lääkemolekyylistä sekä näitä kovalenttisesti yhdistävästä linkkeristä. Niiden toiminta (kaavio 1) perustuu syöpäsolun pinnalla oleviin antigeeneihin, jotka eroavat terveiden solujen antigeeneistä. Vasta-aine tunnistaa antigeenit ja sitoutuu niiden kanssa, jolloin vasta-aine-lääke -konjugaatti otetaan soluun sisään. Solun sisällä linkkeri hajoaa, jolloin

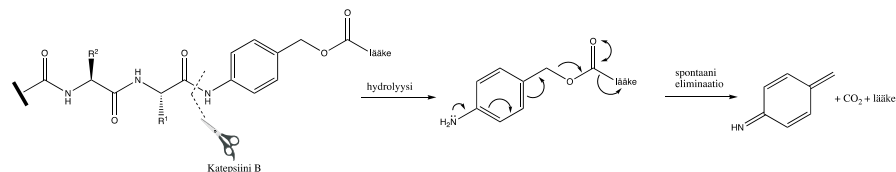
lääkemolekyylit vapautuu ja pääsee vaikuttamaan soluun tuhoten sen. Linkkeri voi hajota eri mekanismeilla, mutta biohajoavat linkkerit hajoavat jonkin entsyymin vaikutuksesta.

[1] Biohajoavia linkkereitä ovat esimerkiksi dipeptidilinkkerit, glykosidaasihajoavat linkkerit sekä fosfataasihajoavat linkkerit. Näistä yleisimmin käytetty ryhmä on dipeptidilinkkerit, ja ne hajoavat usein katepsiini B nimisen entsyymin vaikutuksesta, katepsiini B:n hydrolysoidessa



linkkerin (kaavio 2). [1]

**Kaavio 1.** Täsmälääkkeiden toimintamekanismi. Kaavio piirretty viitteessä [1] esitettyä mukailien.



**Kaavio 2.** Dipeptidilinkkerin hajoamismekanismi. [1]

### Viite

[1] Bargh, JD., Isidro-Llobet, A., Parker, JS. ja Spring, DR., *Chem Soc Rev.* **2019**, 48, 4361-4374.



## DNA- ja RNA-aptameerien kemialliset modifikaatiot

Julia Eloranta

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

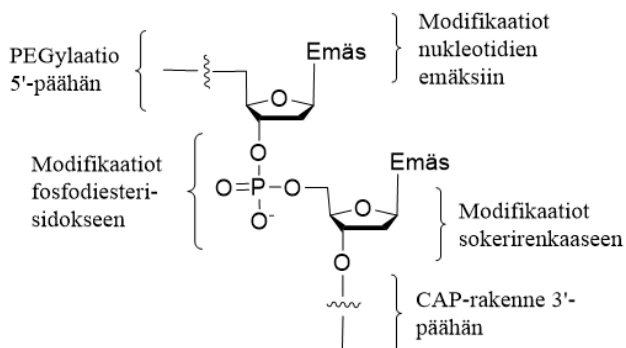


jtelor@utu.fi

Nukleiinihappoaptameerit ovat lyhyitä ja yksijuosteisia DNA- tai RNA-molekyylejä, jotka kykenevät sitoutumaan tiettyyn kohteeseen. Sitoutumiskohteita voivat olla esimerkiksi pienet metalli-ionit, peptidit, proteiinit ja bakteerit. [1] Aptameereillä on suuri sitoutumisaffiniteetti ja -spesifisyys, jotka ovat samankaltaisia kuin antiogeneilla ja vasta-aineilla. Lisäksi aptameereillä on alhainen immunogeenisyys, ne ovat kemiallisesti stabiileja ja suhteellisen helposti ja taloudellisesti valmistettavissa. Näiden ominaisuuksien vuoksi aptameerit ovat lupaavia kandidaatteja terapeuttisille sovellutuksille vaihtoehdoksi vasta-aineille. [2]

Nukleiinihappoaptameerejä voidaan eristää SELEX-menetelmällä, jonka tavoitteena on valita tiettyyn kohteeseen nopeasti sitoutuvia sekvenssejä suuresta joukosta satunnaisia sekvenssejä. [3] SELEXissä toistetaan kolmivaiheista sarjaa, jonka vaiheita ovat kirjaston luominen, sitoutuminen ja erotus sekä laajentaminen, jotta löydetään sekvenssit, jotka sitoutuvat haluttuun kohteeseen. [4]

Aptameerien käyttöä terapeuttisissa tarkoituksissa kuitenkin rajoittavat niiden nopea puoliintumisaika *in vivo* -olosuhteissa ja nopea erityös ulos munuaisista. Lisäksi sitoutumisspesifisyys ja -affiniteetti eivät yleensä ole riittäviä terapeuttisiin tarkoituksiin. [2] Näitä ominaisuuksia voidaan parantaa aptameerien kemiallisilla modifikaatioilla (Kuva 1). Modifikaatiot voidaan liittää aptameereihin post-SELEX modifikaatioina tai SELEXin aikana.



**Kuva 1.** Yleisiä nukleiinihappoaptameerien kemiallisia modifikaatioita, jotka parantavat aptameerin ominaisuuksia. Kuva mukailtu lähteestä [2].

### Viitteet

1. Zhou, J. ja Rossi, J., *Nat. Rev Drug Discov.* **2017**, *16*, 181-202
2. Ni, S., Yao, H. ja Wang, L. et al., *Int J Mol Sci.* **2017**, *18*, 1683-1703
3. Tuerk, C. ja Gold, L., *Science.* **1990**, *249*, 505-510
4. Song, K., Lee, S. ja Ban, C., *Sensors.* **2012**, *12*, 612-631

## Bio-ortogonaaliset click-reaktiot ja niiden sovellukset lääketieteessä

Suvituuli Poikonen

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

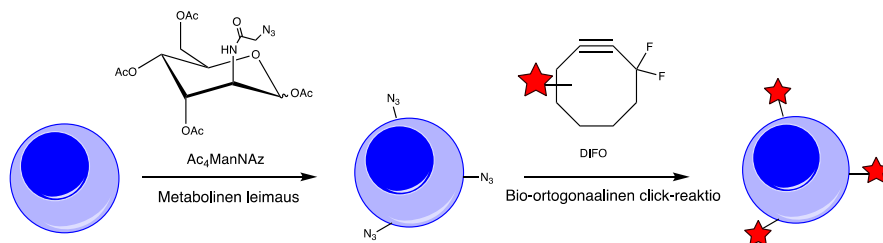


sepoik@utu.fi

Click-kemia on synteesisen menetelmä, joka jäljittelee luontoa hyödyntämällä pienimolekyylisiä reaktiokomponentteja suurten yhdisteiden rakentamiseksi. Reaktioita luonnehtivat yksinkertaiset lähtöaineet ja reaktio-olosuhteet, suuri saanto, regio- ja stereospesifisyys sekä etenkin termodynaamisesti hyvin suotuisa reaktioreitti, joka johtaa yhteen tuotteeseen [1].

Hiilihyaattien metabolinen muokkaus yhdessä click-reaktioiden kanssa on kaksiosainen menetelmä haluttujen solujen tunnistamiseen ja funktionalisointiin jopa elävissä organismeissa (kuva 1). Etenkin kuparivapaiden click-reaktioiden kehittämisen myötä solujen elinkykyisyys on säilynyt muuttumattomana, mikä on avannut ovia näiden spesifisten reaktioiden käyttämiselle lääketieteellisissä sovellutuksissa. Syklisen alkyyinin rengasjännityksen lisäämää reaktiivisuutta (SPAAC-reaktiot) hyödynnetään eniten näissä sovellutuksissa korvaamaan sytotoksista kuparikatalyyttia. Lisäksi erilaisilla sykloalkyyinin modifikaatioilla pyritään edelleen parantamaan reaktionopeutta. SPAAC-reaktion lisäksi toinen lupaava click-reaktio lääketieteellisissä sovellutuksissa on käänteinen Diels–Alder-reaktio. Sen käytön etuina ovat muun muassa ylivoimainen reaktiokinetiikka sekä biologiseen ympäristöön sopivat ominaisuudet [2].

Tutkielmassani käsittelen click-reaktioiden hyödyntämistä siirrettyjen solujen seurannassa sekä etenkin syövän kuvantamisessa ja hoidossa. Näissä hyödynnetään pääasiassa atsidosubstitoituja mannosamiineja ja niiden analogeja atsidiryhmiin liittämiseksi syöpäsolujen pinnalle. Tätä seuraa yleisimmin SPAAC-reaktio ja näin ollen solun funktionalisointi. Suurimpina etuina click-reaktioilla verrattuna muihin kudostutkimusmenetelmiin ovat reaktioiden spesifisyys, suuri saanto sekä abioottisen antigeenin tuoma kontrolli verrattuna luontaisiin antigeeneihin.



**Kuva 1.** Solun pinnan funktionalisointi hiilihyaattien metabolista muokkausta ja bio-ortogonaalista click-reaktiota käyttäen. Kuva on piirretty lähteen Baskin J., Prescher J., Laughlin S., et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2007**, 104, 16793-16797 kuvaa mukailien.

### Viitteet

1. Kolb H., Finn M., Sharpless K., *Angew Chemie Int Ed.* **2001**, 40, 2004-2021.
2. Blackman M., Royzen M., Fox J., *J Am Chem Soc.* **2008**, 130, 13518-13519.

**DEGRADATION PROCESSES OF PDE $\delta$  INHIBITORS**Venera Dyunyasheva\*, Petja Rosenqvist<sup>1</sup>, Mikko Ora<sup>1</sup> and Prof. Pasi Virta<sup>1</sup><sup>1</sup>Bioorganic Chemistry Research Group, Medicinal and Radiopharmaceutical Chemistry, Department of Chemistry, University of Turku

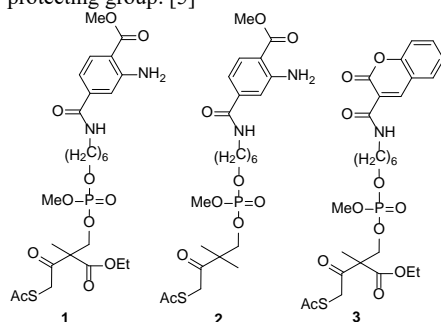
venera.v.dyunyasheva@utu.fi

**Abstract**

Our recently developed PDE $\delta$  inhibitors with a new design principle selectively block K-Ras activity. Stability of the phosphotriester PDE $\delta$  inhibitors bearing an enzyme-labile and a thermolabile 4-acetylthio-2-ethoxycarbonyl-3-oxo-2-methylbutyl or 4-acetylthio-2,2-dimethyl-3-oxobutyl group has been studied under various conditions.

**Introduction**

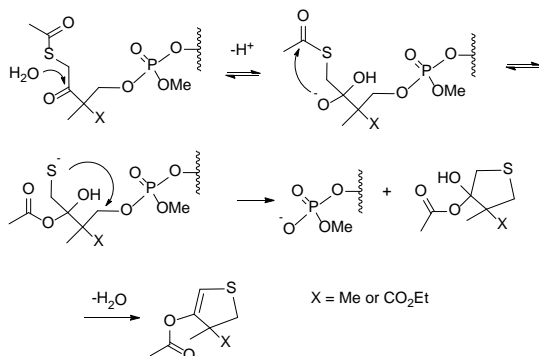
The oncogene Ras is one of the most significant cancer targets that has no approved direct inhibitor. One indirect inhibition strategy consists of PDE $\delta$  inhibitors, which are able to block Ras activity. During the last few years, Waldmann and colleagues have developed PDE $\delta$ -inhibitors, including Deltarasin [1], Deltazinone [2] and Deltasonamide [3]. While these compounds were designed for nano- to picomolar binding, they were unloaded from the target by a natural Arl2 assisted ejection. We have recently developed a flexible linker moiety that would render the compound (**1-3**; Figure 1) resilient to the natural ejection mechanism that would normally unload K-Ras from PDE $\delta$ . [4] Secondly, we improved cell penetration with a 2,2-disubstituted 4-acetylthio-3-oxobutyl phosphate protecting group. [5]

**Figure 1****Materials and methods**

The kinetic samples were analyzed on a *Merck Hitachi LaChrom D7000* HPLC using Hypersil C18 column (4 x 250 mm x 5  $\mu$ m). The products were identified by Agilent 6120 quadrupole LC-ESI-MS. HLE and PLE enzymes were products of Sigma-Aldrich. DMEM cell culture and cell extracts of human carcinoma cells were gifts of Prof. Daniel Abankwa (University of Luxembourg, Cancer Cell Biology and Drug Discovery Group) and University Teacher Johanna Jokinen (University of Turku, Department of Biochemistry), respectively.

## Results and discussion

In aqueous solutions, the non-enzymatic departure of the 2,2-disubstituted 4-acylthio-3-oxobutyl groups takes place as described before (Scheme 1). Accordingly, a hydroxyl group of the *gem*-diol formed by hydration of the keto group attacks as oxyanion on the carbonyl carbon of the sulfur-bound acyl group. The exposed mercapto group may then attack on C1 resulting in removal of the protecting group by cyclization. [5] In the presence of enzyme, degradation is, in turn, initiated by deacylation that exposes the mercapto group. [5]



**Scheme 1**

Since thermolabile and biodegradable 2,2-disubstituted 4-acylthio-3-oxobutyl groups are, not only base labile, but also susceptible to amine nucleophiles and depart rather readily by intramolecular cyclization [6], the development of new drug candidates is not trivial. For this reason, we have studied the stability of the phosphotriesters also in non-aqueous solutions in the presence of amines as a purpose to find out conditions where the degradation process does not take place.

## References

- Zimmermann, G.; Papke, B.; Ismail, S.; Vartak, N.; Chandra, A.; Hoffmann, M.; Hahn, S. A.; Triola, G.; Wittinghofer, A.; Bastiaens, P. I. H.; Waldmann, H. Small molecule inhibition of the KRAS-PDE $\delta$  interaction impairs oncogenic KRAS signalling. *Nature* **2013**, 497, 638– 642.
- Papke, B.; Murarka, S.; Vogel, H. A.; Martín-Gago, P.; Kovacevic, M.; Truxius, D. C.; Fansa, E. K.; Ismail, S.; Zimmermann, G.; Heinelt, K.; Schultz-Fademrecht, C.; Saabi, Al; Baumann, M.; Nussbaumer, P.; Wittinghofer, A.; Waldmann, H.; Bastiaens, P. I. H. Identification of Pyrazolopyridazinones as PDE $\delta$  Inhibitors. *Nat. Commun.* **2016**, 7, 11360.
- Martín-Gago, P.; Fansa, E. K.; Klein, C. H.; Murarka, S.; Janning, P.; Schürmann, M.; Metz, M.; Ismail, S.; Schultz-Fademrecht, C.; Baumann, M.; Bastiaens, P. I. H.; Wittinghofer, A.; Waldmann, H. A PDE6 $\delta$ -KRas Inhibitor Chemotype with up to Seven H-Bonds and Picomolar Affinity that Prevents Efficient Inhibitor Release by Arl2. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, 56.
- Siddiqui, F. A., Alam, C., Rosenqvist, P., Ora, M., Sabt, A., Manoharan, G. b., Bindu, L., Okutachi, S., Gatillon, M., Taylor, T., Abdelhafez, O. M., Lönnberg, H., Stephen, A. G., Papageorgio, A. C., Virta, P., Abankwa, D. *ACS Omega* **2020**, 5, 832-842.
- Kiuru, E., Ahmed, Z., Lönnberg, H., Beigelman, L., Ora, M., *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 950-959.
- Leisvuori, A., Lönnberg, H., Ora, M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, 5816-5826.

## Tionukleotidien ja niiden johdosten hydrolyyttinen pysyvyys

Niko Lehtinen<sup>1\*</sup>, Satu Mikkola<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



nisale@utu.fi

### Abstrakti

Tionukleotideissa yksi nukleotidin fosfaattiryhmän happi on korvattu rikillä. Tällä tio-substituuksiolla on havaittu huomattavaa vaikutusta esimerkiksi joidenkin fosfoestereiden reaktiivisuuteen. Työssä tavoitteena oli selvittää miten tionukleotidien hydrolyysi eroaa vastaavista nukleotideista tutkimalla ATP- (adenosiini-5'-trifosfaatti) ja GTP- (guanosiini-5'-trifosfaatti) nukleotidien sekä tio-analogien hydrolyysireaktion kulkua ja syntyviä tuotteita eri olosuhteissa. Tionukleotidien hydrolyysi todettiin huomattavasti nopeammaksi, ja tio-ryhmän sisältävillä nukleotideilla saattaakin olla poikkeavia reaktiomekanismeja tai reaktiivisuutta. Oligonukleotidien tioanalogeilla saattaa olla tärkeitä terapeuttisia sovelluksia.

### Johdanto

ATP:llä on tärkeä rooli solussa energiavarastona sekä energian siirrossa, ja ATP:n hydrolysoitua ADP:ksi sen sisältämä fosfaattiosa vapauttaa suuren energiamäärän. ATP ja ADP vaikuttavat myös solujen väliseen aineenvaihduntaan. Kun ATP:n tai muun nukleotidin fosfaattiosan yksi happi korvataan rikillä, sen ominaisuudet muuttuvat. Erityisesti  $\gamma$ -fosfaattiryhmän hapen substituuksioksi on herättänyt kiinnostusta, sillä  $\alpha$ -fosfaattiryhmän substituuksion on todettu olevan kineettisesti hyvin vähän merkityksellinen<sup>[1]</sup>. Vastaavanlaisia rikki-happi-substituuksioita on aikaisemmin tutkittu, ja hapen korvaaminen tio-ryhmällä mm. fosfodiesterieissä on osoittanut rikin vaikuttavan reaktiivisuuteen<sup>[2]</sup>. Fosfomono- ja diesterit ovat myös suuressa roolissa nukleotideissa sekä nukleiinihappoissa.

Työn tarkoituksena oli tutkia tarkemmin tionukleotidien hydrolyysin kineettiä eri olosuhteissa vaihdellen lämpötilaa ja pH:ta. Tässä työssä käytetyt nukleotidit olivat ATP sekä GTP, sekä vastaavat tionukleotidit ATP $\gamma$ S (adenosiini-5'-( $\gamma$ -tio)trifosfaatti) ja GTP $\gamma$ S (guanosiini-5'-( $\gamma$ -tio)trifosfaatti). Tarkoituksena oli myös määrittää ensimmäisen kertaluvun nopeusvakiot reaktioille.

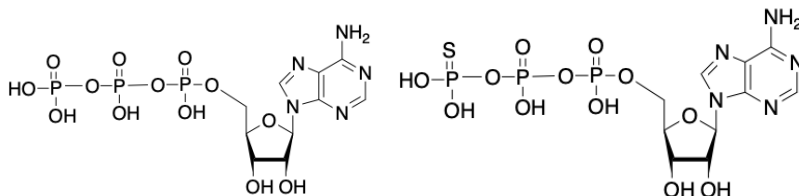
### Materiaalit ja menetelmät

Kaikki hydrolyysi-reaktiot suoritettiin vesihauteessa, ja reaktiosta otettiin noin 6-9 näytettä tasaisin väliajoin. Reaktiot suoritettiin lämpötiloissa 25 °C sekä 60 °C. pH-olosuhteina käytettiin hapanta (10 mM HCl, pH 2), emäksistä (10 mM NaOH, pH 12), tai neutraalia HEPES-puskuria (20 mM, 150 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7,5). Joidenkin reaktioiden ollessa hyvin nopeita, ne ajettiin uudelleen ja neutralisoiitiin 0,5 M HEPES-liuoksella ja jäähauteella. Näytteet olivat väliajan pakkasessa, ja ne ajettiin kapillaarielektroforeesilla (CE). Hiukkaset erotuvat CE:ssä niiden koon, massan ja varauksen perusteella. CE:stä syntyvien piikkien pinta-aloista ja niiden suhteista sekä migraatioajoista voitiin laskea reaktioiden nopeusvakiot. Nopeusvakioiden avulla saatiin muodostettua erilaisia kuvaajia.

## Tulokset ja johtopäätökset

Tionukleotidien hydrolyysi todettiin niin ATP- kuin GTP-reaktiossa huomattavasti vastaavien nukleotidien hydrolyysiä nopeammaksi. Huomattavin ero ATP-reaktioiden hydrolyysin nopeuksien välillä oli happamassa HCl-liuoksessa, jossa ero oli jopa 400-kertainen. Neutraalissa pH:ssa ATP $\gamma$ S oli vain noin 30 kertaa ATP:tä nopeampi, ja HEPES-puskurissa reaktio oli hyvin rauhallinen verrattuna HCl:ään.

ATP $\gamma$ S:n hydrolyysi lämpötilassa 25 °C oli jopa nopeampi kuin ATP:n 60 °C:ssa, kun olosuhteet olivat happamat tai emäksiset. Lasketut nopeusvakiot ATP:n ja ATP $\gamma$ S:n välillä on esitetty taulukossa 1.



**Kuva 1.** ATP:n ja ATP $\gamma$ S eli adenosini-5'-( $\gamma$ -tio)trifosfaatin rakenne.

**Taulukko 1.** ATP:n ja ATP $\gamma$ S:n nopeusvakioiden vertailu 60 °C:ssa sekä ATP $\gamma$ S:n nopeusvakiot 25 °C:ssa. HCl- ja NaOH-liuosten ionivahvuus säädettiin NaCl:illa arvoon 0,1 M.

nopeusvakio, k, (min <sup>-1</sup> )	ATP, 60 °C	ATP $\gamma$ S, 60 °C	ATP $\gamma$ S, 25 °C
NaOH, 10 mM	$3,2 \times 10^{-5}$	$2,2 \times 10^{-3}$	$5,1 \times 10^{-5}$
HCl, 10 mM	$8,5 \times 10^{-4}$	$3,4 \times 10^{-1}$	$3,2 \times 10^{-3}$
HEPES, 20 mM	$1,3 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-3}$	$3,8 \times 10^{-5}$

## Viitteet

[1] Yukawa A; Watanabe R, and Noji H, Effects of an ATP analogue, adenosine 5'-[ $\alpha$ -thio]-triphosphate, on F1-ATPase rotary catalysis, torque generation, and inhibited intermediated formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2015**, 458, 515-519

[2] Subashree Iyer & Alvan C. Hengge, The Effects of Sulfur Substitution for the Nucleophile and Bridging Oxygen Atoms in Reactions of Hydroxyalkyl Phosphate Esters, **2008**, 73, 4819-4829.

## ***N*-metoksioksatsolidiini: reversiibeli ja pH-riippuvainen ligaatio vesiliuoksessa**

Mika Sulkanen<sup>1\*</sup>, Aapo Aho<sup>1</sup>, Heidi Korhonen<sup>1</sup> ja Pasi Virta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



mijosul@utu.fi

### **Abstrakti**

Työssä syntetisoitiin kaksi nukleosidianologia, 2'-deoksi-2'-(metoksiamino)uridiini ja 5'-*O*-(oksoetyyli)tymidiini. 2'-deoksi-2'-(metoksiamino)uridiinin 2'-*N*-metoksiamino- ja 3'-hydroksyyli ryhmät kondensoituvat aldehydiin. Tuotteena on rengasrakenteinen *N*-metoksioksatsolidiini. Reaktio on reversiibeli ja tapahtuu pH-riippuvaisesti vesiliuoksessa. *N*-metoksioksatsolidiinin muodostumisen nopeutta ja tasapainovakiota tutkittiin erilaisten aldehydien kanssa.

### **Johdanto**

Erilaisia biomolekyylikonjugaatteja on usein luonnehdittu tulevaisuuden lääkeaineiksi. Esim. oligonukleotidi-peptidi -konjugaatissa lääkkeenä vaikuttava molekyyli on oligonukleotidi ja tiettyyn soluun kohdistava osa on peptidi. Riippuen konjugaatiomenetelmästä lääkinnällisen osan vapautuminen voi perustua entsyymeihin, pelkistäviin olosuhteisiin tai happamuuteen.[1-2]

Tunnettuja happamuuden reagoivia konjugaattirakenteita ovat oksiimi, hydratsoni ja neoglykosidit. Näille reaktioille on yhteistä  $\alpha$ -nukleofiilisen typen kondensoituminen karbonyylihiileen. Reaktiot ovat tehokkaita, ja ne voidaan siksi toteuttaa vesiliuoksessa. Oksiimi- ja hydratsoni-konjugaattirakenteiden on havaittu hajoavan matalassa pH:ssa (4-5) kun taas pH:ssa 7 ne ovat pysyvämpiä. Esim. hydratsoni-ligaatiolla konjugoitu lääkeaine vapautuisi solun endosomissa (pH 5,5–6,2) tai lysosomissa (pH 4,5–5,0).[3] Neoglykosidaation tiedetään olevan pH-riippuvainen ja se hajoaa hydrolyysissä alhaisessa pH:ssa mutta on pysyvä pH:ssa 7.[4] Aiemman tutkimuksen mukaan neoglykosidaatio on nopeampi matalassa pH:ssa (4), mutta tasapainosaanto on suurempi korkeassa pH:ssa.[4-6] Täten konjugaattien valmistus *N*-metoksi-2-aminoetanolin ja aldehydin sisältävien yhdisteiden välillä olisi pH-riippuvainen, mutta syntyvän *N*-metoksioksatsolidiini-rakenteen (Kaavio 1) vuoksi reaktio tasapainosaanto olisi odotettua suurempi. Työssä pyrittiin todentamaan tätä hypoteesia sopivien pienmolekyyylimallien avulla.

### **Materiaalit ja menetelmät**

Liuottimet kuivattiin molekyyliseuloilla. Kaupallisista lähteistä peräisin olevat lähtöaineet, reagenssit, katalyytit ja liuottimet käytettiin sellaisenaan. NMR-spektrit mitattiin Bruker 500 MHz AVANCE-III - ja Bruker 600 MHz AVANCE-III –NMR-spektrometreillä. Massaspektrit mitattiin Bruker Daltonics micrQTOF massaspektrometrillä. Reaktioiden etenemistä seurattiin ohutlevykromatografisesti (TLC) ja HPLC-MS:llä (Agilent 6120). Kondensaatioreaktioita seurattiin RP-HPLC:llä.

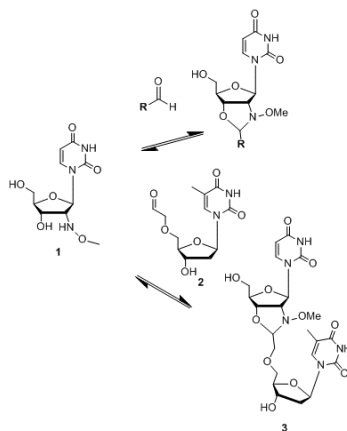
### **Tulokset ja johtopäätökset**

2'-deoksi-2'-(metoksiamino)uridiini (**1**) syntetisoitiin onnistuneesti. 5'-DMTr-2'-deoksi-2'-(metoksiamino)uridiini liitettiin kiinteään kantajaan, jotta kyseinen nukleosidianalogi voitaisiin liittää oligonukleotidin 3'-päähän. Tutkimusryhmä (A. Aho, H. Korhonen, P. Virta) on tutkinut näiden oligonukleotidien ja peptidialdehydien reversiibeliä konjugoimista. 5'-*O*-

(oksoetyyli)tymidiiniin (**2**) synteesi oli vaativampi ja emäksen suojaryhmän poistossa esiintyneet ongelmat pudottivat huomattavasti synteessin saantoa.

Nukleosidianalogin **1** kondensoitumista erilaisiin aldehydeihin (asetaldehydi, butanaali, kanelialdehydi, bentsaldehydi, 2-formyylipyridiini, hippuraldehydi, 3-bentsyylioksi-propanaali ja nukleosidianalogi **2**) tutkittiin puskuroidussa vesiliuoksessa (Kaavio 1). Reaktioiden nopeus ja tasapainovakio määritettiin pH:ssa 4, 5 ja 6 (valikoidut esimerkit taulukossa 1). Tuloksista havaitaan, että ligaatioreaktio on nopein pH:ssa 4 ja hidastuu kun pH kohoaa.

Tuloksista voidaan päätellä, että *N*-metoksioksaatsoliidiini-ligaatio toimii pH-riippuvaisesti kuten aiemmat tutkimukset oksiimeilla, hydratsoneilla ja neoglykosideilla ennustavat. Tuloksista nähdään myös, että aldehydin rakenne vaikuttaa ligaation nopeuteen sekä tasapainosaantoon. Nukleosidianalogin **2** liittäminen oligonukleotidiin ei onnistunut mutta koska ligaatio nukleosidianalogin **2** kanssa toimii, on mahdollisuus jatkossa tutkia ja kehittää oligo-oligo -ligaatiota.



**Kaavio 1.** Nukleosidianalogin **1** kondensoituminen aldehydeihin ja *N*-metoksioksaatsoliidiinin muodostuminen

**Taulukko 1.** Nukleosidianalogin **2** ja aldehydien välisille kondensaatioreaktioille määritetyt kineettiset parametrit.

#	R tai yhdiste	pH <sup>d</sup>	t <sub>0.5</sub>	Tasapainosaanto (%)	K (M <sup>-1</sup> )
1 <sup>a,b</sup>	Me	4	7.93 min	59	693 ± 29
2 <sup>a,b</sup>	Me	5	26.2 min	62	856 ± 27
3 <sup>a,b</sup>	Me	6	3.93 h	67	1211 ± 39
4 <sup>a,b</sup>	BnOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	4	21.6 min	64	959 ± 28
5 <sup>a,b</sup>	BnOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	5	1.92 h	66	1144 ± 39
6 <sup>a,b</sup>	BnOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	6	25.0 h	63	939 ± 34
7 <sup>a,b</sup>	BzNHCH <sub>2</sub>	4	4.85 h	82	4958 ± 50
8 <sup>a,b</sup>	BzNHCH <sub>2</sub>	5	45 h	86	9040 ± 1270
9 <sup>a,c</sup>	<b>2</b>	4	6,95 h	76	4239 ± 249
10 <sup>a,c</sup>	<b>2</b>	5	51,03 h	78	5123 ± 1502

<sup>a</sup> Reaktiolämpötila 21 °C. <sup>b</sup> c(**1**) = c(aldehydi) = 5 mM. <sup>c</sup> c(**1**) = 5 mM, c(**2**) = 3 mM. <sup>d</sup> Reaktioliuoksen pH säädettiin puskuriliuoksella (0,1 M).

## Viitteet

1. Bargh J. D.; Isidro-Llobet A.; Parker J. S.; Spring D. R. *Chem. Soc. Rev.* **2019**.
2. Ducry L.; Stump B. *Bioconjugate Chem.* **2010**, 21, 5–13
3. Kölmel D. K.; Kool E. T. *Chem. Rev.* **2017**, 117, 10358–10376.
4. Munneke S.; Jaimé C. H.; Timmer M. S. M.; Stocker B. L. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 3722–3728
5. Baudendistel, O. R.; Wieland D. E.; Schmidt M. S., and Wittmann V. *Chem.-Eur.J.* **2016**, 22, 17359–17365.
6. Österlund T.; Korhonen H.; Virta, P. *Org. Lett.* **2018**, 20, 1496–1499.



## *N*-methoxyoxazolidine as a novel acid-labile linker

Aapo Aho

Bioorganic Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



aamaah@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Dr. Heidi Korhonen, Asst. Prof. Tuomas Lönnberg, Prof. Pasi Virta

**Funding:** Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences

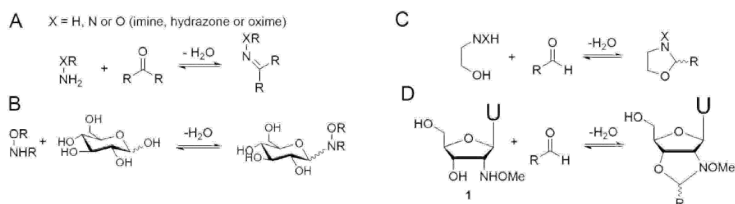
**Estimated time of PhD dissertation:** 2022

### Main aims of the PhD research

Acid-labile linkers are structures which reversibly bond distinct molecular entities together. A drop in pH will trigger degradation of the linker and disconnect the molecules. Acid-labile linkers are utilized in drug design, diagnostics and dynamic combinatorial chemistry. Certain applications, such as targeted drug delivery, requires a linker distinguishing mildly acidic conditions (pH 5.5–6.0) perceived to early endosomes, tumour tissues and inflammation from physiological pH of 7.4.

Examples of well-known pH-responsive linkers are based on maleic acid amides, acetals, orthoesters, imines, *N*-oxyamine glycosylations and 1,3-oxazolidines. The kinetic stability of imine is proportional to the electronegativity of the atom bonded to the nucleophilic nitrogen (**Scheme 1A**). Hydrolysis of a plain imine (X = H) is facile, whereas  $\alpha$ -nucleophile bearing hydrazones (X = N) and oximes (X = O) hydrolyze at slower rate. The  $\alpha$ -nucleophilic nitrogen is also utilized in neoglycosylation (**Scheme 1B**). Both imines and neoglycosides hydrolyze faster in acidic conditions.

1,3-oxazolidines are a class of reversible and pH-responsive condensation products between  $\beta$ -amino alcohols and carbonyl compounds (**Scheme 1C**). Generally, 1,3-oxazolidines are synthesized in anhydrous conditions and rapidly degraded in aqueous environment. However, we have found that 2'-deoxy-2'-(*N*-methoxyamino)uridine (**1**), bearing an  $\alpha$ -nucleophilic nitrogen, condensates with aldehydes to form *N*-methoxyoxazolidines in good yields, even in aqueous conditions (**Scheme 1D**). The reaction is reversible, and the rate is highly dependent on pH, being facile in mildly acidic and slow at neutral conditions. The aim of the thesis is to study the applicability of *N*-methoxyoxazolidines in pH-responsive conjugation chemistry. Currently, we are focusing on oligonucleotide-conjugation.

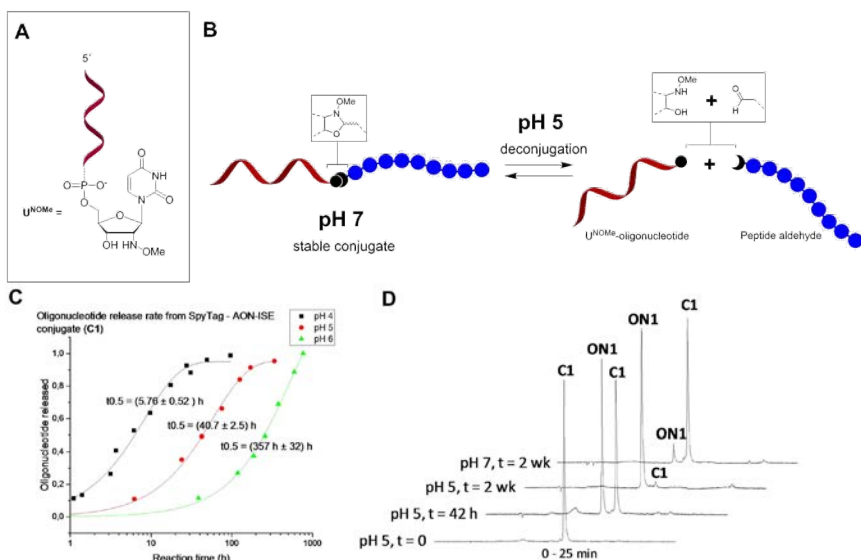


**Scheme 1** Reversible condensation reactions.

### Main results so far

Nucleoside analog **1** was prepared and the kinetics of 2'-*N*-methoxy-3'-*O*-oxazolidine formation (**Scheme 1D**) were studied with structurally different aldehydes in buffered aqueous solutions. The

rate of the reaction was proportional to the acidity (pH 4–7) of the buffer solution (ck. table 1 in the abstract of Mika Sulkanen). Both the rate and the equilibrium constant varied between the aldehydes used in the study. With a biomolecule conjugation in mind, the best yielding (highest equilibrium constant) aldehyde structure was implemented to a peptide aldehyde using an 1,3-oxazolidine solid support (by a published procedure). A solid support was also prepared from nucleoside analog **1**, which was used to synthesize  $U^{NOMe}$ -bearing oligonucleotides (**Scheme 2A**). The  $U^{NOMe}$  oligonucleotides and peptide aldehydes were conjugated and isolated. The conjugates were incubated in buffered aqueous solutions (37 °C) and hydrolysis (**Scheme 2B**) rates were determined by the amount of free oligonucleotide over time. Consistent with the small molecule models, the oligonucleotides were released at faster rate in acidic buffer. For example, AON-ISE phosphorothioate (**ON1**) was released from SpyTag peptide aldehyde with half-life of 5.8–357 h in pH 4–6 (**Scheme 2C**). **ON1** was fully released after two weeks of incubation in pH 5, whereas only 11 % was released in pH 7 (**Scheme 2D**).



**Scheme 2** A)  $U^{NOMe}$ -oligonucleotide. B)  $U^{NOMe}$ -peptide aldehyde conjugate. C) Oligonucleotide release profile in hydrolysis of conjugate **C1** D) HPLC chromatograms during the hydrolysis of conjugate **C1**

### The significance of my research for the research group and the whole research field

A novel pH-responsive method to conjugate oligonucleotides to peptide aldehydes was presented. This may find applications in targeted delivery of therapeutic oligonucleotides. Furthermore, the small molecule experiments show that the hydrolytic stability of the conjugation may be tuned by using different structures in the aldehyde moiety. This flexibility may allow the *N*-methoxyoxazolidine linkage to be used in a wide range of applications. We are currently further studying the robustness of the linkage and its compatibility with other biorthogonal conjugation methods leading to more complex structures and functions.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Aapo M. Aho, Mika J. Sulkanen, Heidi J. Korhonen, Pasi M. Virta, to be submitted?

## SITE SPECIFIC CONJUGATION OF ANTIBODIES WITH OLIGONUCLEOTIDES

Antti Äärelä

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



anakaar@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Prof. Pasi Virta and Asst. Prof. Tuomas Lönnberg

**Funding:** Business Finland

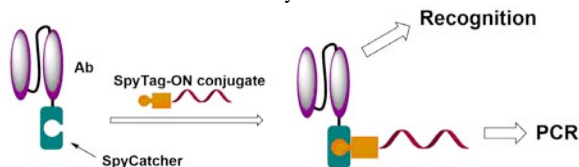
**Estimated time of PhD dissertation:** 2022

### Main aims of the PhD research

Therapeutic oligonucleotides (ONs) are potential drugs against many diseases, but their targeted delivery to site of action is still unsolved. Conjugating ONs with antibodies (Ab) is an attractive strategy to gain a high tissue specific targeting. In addition to therapeutic use, such constructs could be utilized in diagnostic applications e.g. in immuno-PCR. Currently most of the reported ON-Ab-conjugates are polydisperse structures. This work aims to develop ways to synthesize, purify and characterize uniform ON-Ab conjugates to make these macromolecules more accessible for industry.

### Main results so far

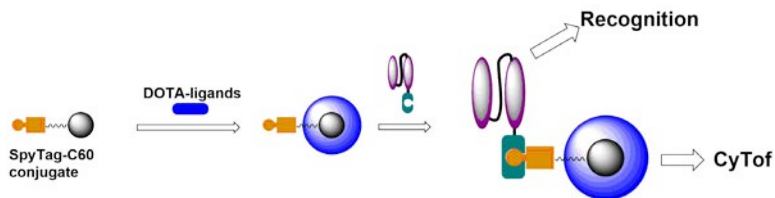
Conjugation of DNA and proteins can be done by utilizing a SpyTag-SpyCatcher peptide domain pair. SpyCatcher is a protein domain that has a lysine residue which can form a spontaneous isopeptide bond with an aspartic acid residue found in the SpyTag peptide. This isopeptide bond formation can occur in various pH, temperature and buffer conditions. It is a robust reaction and the binding is not reversed by temperature or competing peptide. In our recent study, DNA-SpyTag conjugate was synthesized, and conjugated further with an antibody fusion protein containing the SpyCatcher domain. The developed ON-Ab conjugation strategy has been further utilized in an immuno-PCR assay collaborated with Antibody Engineering Group (Biotechnology, UTU). SpyTag-ON was conjugated with SpyCatcher-Ab fusion protein and the conjugate was used in immuno-PCR to detect cyanobacteria toxins. The developed assay was found to have enhanced sensitivity compared to traditional immuno assays.



**Scheme 1.**

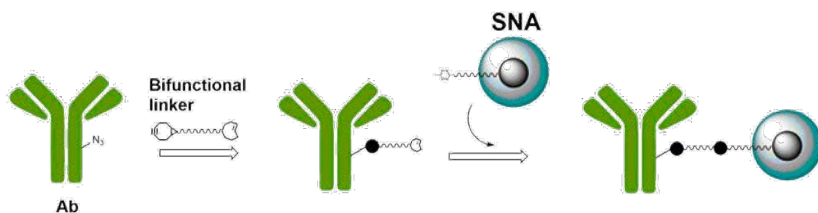
SpyTag-Catcher pair could also be used in mass cytometry. For that purpose, a SpyTag peptide polyazide-fullerene C60 conjugate has been synthesized. This construct will then be decorated with DOTA-ligands using copper-free click chemistry. The multiarmed DOTA-SpyTag is then exposed

to lanthanides and ligated with SpyCatcher-Ab-fusion proteins and the compatibility of the conjugate in mass cytometry will be studied (Scheme 2.).



**Scheme 2.**

Another part of the thesis will be to evaluate, whether the Ab-SNA (Spherical Nucleic Acid) conjugation could combine the beneficial properties of SNAs to that of Abs to find a new potential tool for the targeted delivery of oligonucleotide therapeutics (Scheme 3.). For these studies the synthesis of the SNA core has already been proven. A click chemistry strategy for conjugation of the SNA and the Ab is then developed. Utilization of well biocompatible click chemistry offers a possibility to use these conjugates in pre-targeted PET imaging.



**Scheme 3.**

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

Over the recent years, there has been a re-emergence of oligonucleotide (ON)-based drugs. Their therapeutic potential is limited by issues such as premature elimination via renal clearance, widespread bio-distribution and poor cellular uptake. Conjugating ONs with antibodies could help to solve these problems, especially affinity to target cell. Traditionally, conjugating of other moieties to proteins has been accomplished by treating electrophilic functional groups with nucleophilic amino acids such as lysines and cysteines on the protein surface. The wide spread presence of these residues often limits control over the attachment site and stoichiometry. The approaches presented here could possibly lead to better site-specificity of protein conjugation.

### **Papers to be included in the PhD thesis**

1. Kushnarova-Vakal, A., Äärelä, A., et al., Manuscript to be submitted.

## DNA-templated glycosylation

Tommi Österlund

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



tojuos@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Dr. Heidi Korhonen, Ass. Prof. Tuomas Lönnberg, Prof. Pasi Virta

**Funding:** Department of Chemistry

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

### Main aims of the PhD research

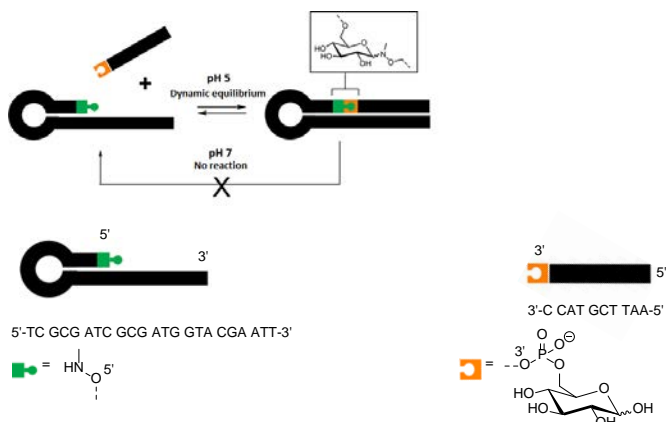
The principle behind DNA-templated organic synthesis (DTS) is that the hybridization between complementary DNA oligonucleotides brings the reactant groups attached to these oligonucleotides to closer proximity, raising the effective molarity. This strategy is used by nature in many cellular biosynthetic pathways, perhaps most prominently in the replication of DNA. While DNA-templated reactions in nature are mostly based on creating new phosphodiester linkages between nucleotides catalyzed by different enzymes such as DNA polymerases, in the laboratory we can use chemical activation or even different reactant groups. Although the first DTS reactions were focused on mimicking the structure of nucleic acids and their derivatives, it has been found that DTS also works with a wide variety of different reactant groups entirely unrelated to the DNA backbone.

The main goal of my research is to study the applicability of non-enzymatic DTS to different *O*- and *N*-glycosylation reactions and to further evaluate the effects of different glycosyl donors, acceptors, and DNA templates on these reactions. Two different glycosylation reactions are being studied currently: the alkoxyamine-based neoglycosylation reaction first reported by Peri and Dumy, and the glycosylation between glycosyl fluorides and sucrose as reported by the Miller group.

### Main results so far

We have demonstrated that the *N*(Me)-alkoxyamine glycosylation can be performed on a DNA-template[1]. An architecture with a hairpin oligonucleotide and a complementary sequence was used (Figure 1). Just as the neoglycosylation without the template, the DNA-templated reaction is at a dynamic equilibrium in pH 5 but halts at pH 7. The reaction was conducted at a 10  $\mu$ M scale, which is typical for DTS as we want the concentration to be low enough to avoid random intermolecular reactions but high enough to achieve efficient hybridization between the oligonucleotides. A notable rate enhancement and equilibrium yield were observed compared to the non-templated reaction. This reaction has many interesting properties with regards to possible applications: it is a dynamic bioorthogonal reaction that can be switched on and off by a mild pH change from 5 to 7. A reaction like this could find applications e.g. in dynamic combinatorial libraries and self-assembled supramolecular DNA constructs. We will be looking at these possibilities.

Research of glycosylation between glycosyl fluorides and sucrose is currently underway. The main challenge right now is whether the reaction can be performed in a low enough pH. The highly alkaline conditions, previously conducted in by the Miller group, would prevent the templating DNA strands from hybridizing. This reaction may offer interesting applications also as a non-templated reaction, in which DNA-containing materials can be glycosylated in aqueous solutions.



**Figure 1.** DNA-templated *N*(Me)-alkoxyamine glycosylation

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Non-enzymatic DNA-templated ligation reactions are one of the research interests of the Bioorganic Group. These reactions produce backbone-modified DNA that may have potential in nucleic acid based diagnosis, drug discovery and study of biological systems. Dynamically self-organizing bifunctional building blocks in particular could be used with dynamic combinatorial chemistry e.g. to detect single nucleotide polymorphism. Guanosine-rich bifunctional building blocks could form G-quadruplex structures which also have interesting applications. In addition, these types of reactions are being researched to be used in modeling and studying of self-replicating biological systems, particularly in prebiotic conditions where enzymes were not available.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Österlund, T., Korhonen, H., Virta, P. *Org. Lett.* 2018, 20, 6, 1496-1499.

## ORGANOMETALLIC OLIGONUCLEOTIDE CONJUGATES AS ARTIFICIAL RIBONUCLEASES

Lange Yakubu Saleh

Bioorganic Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



lysale@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Asst. Prof. Tuomas Lönnberg and Dr. Mikko Ora

**Funding:** CIMO and Academy of Finland.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

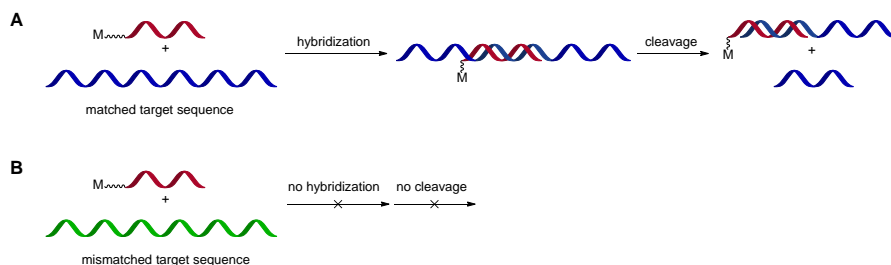
### Main aims of the PhD research

The ultimate goal of the research is to demonstrate the utility of organometallic oligonucleotides as a novel class of artificial ribonucleases, combining the stability of metal-free cleaving agents with the catalytic efficiency of metal-dependent ones. Such artificial ribonucleases would be valuable as therapeutic agents and as tools in biotechnology.

The project will commence with kinetic studies on metal-catalyzed hydrolysis, depurination and desulfurization of dinucleoside phosphodiester and phosphosphorothioate model compounds. The focus will be on metal ions forming stable organometallic compounds, rather than those traditionally employed as catalysts in the cleavage of nucleic acids.

Kinetic studies with simple metal salts will be followed by respective studies employing increasingly elaborate organometallic cleaving agents. These structures will be designed to 1) improve the solubility of the catalytic metal ion, 2) to allow clustering of several metal ions in close proximity and 3) to provide additional catalytic functionalities, such as amino or guanidino groups.

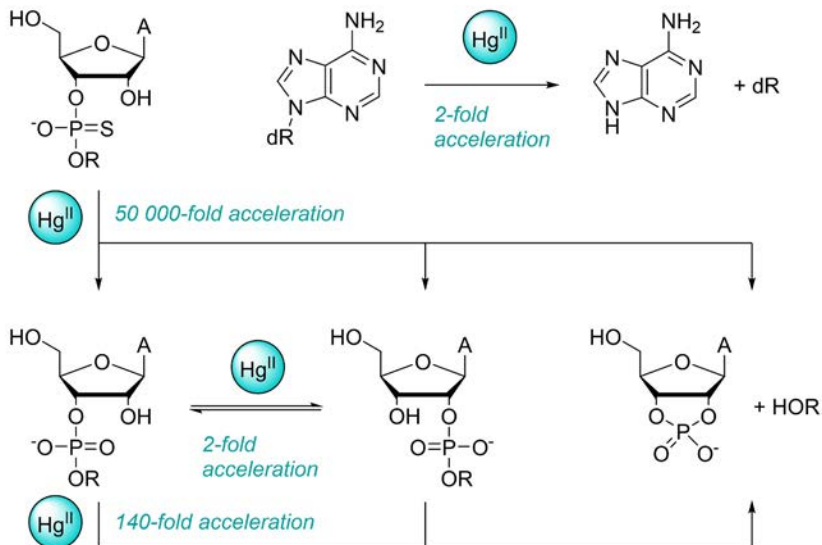
Finally, oligonucleotide conjugates of the most promising organometallic cleaving agents will be prepared using established conjugation methods, such as oximation or strain-promoted azide-alkyne cycloaddition. The potential of these oligonucleotide conjugates as artificial nucleases will be tested with substrates featuring either a matched or a mismatched recognition sequence, allowing the assessment of not only the catalytic efficiency but also selectivity (Scheme 1).



**Scheme 1.** Cleavage of oligonucleotide targets by organometallic artificial ribonucleases; A) the guiding sequence hybridizes with the matched target sequence, leading to proximity-promoted cleavage of the target oligonucleotide; B) with mismatched targets, hybridization is weak and no cleavage is observed.

### Main results so far

Hg(II), a metal ion so-far overlooked in the development of artificial nucleases, was found to facilitate not only the cleavage of the phosphodiester linkage of an RNA model compound, but also depurination and phosphorothioate desulfurization (Scheme 2). These results will serve as a foundation for further studies on organomercury cleaving agents and, eventually, oligonucleotide-based artificial ribonucleases.



**Scheme 2.** Hg(II)-catalyzed phosphodiester cleavage, phosphorothioate desulfurization and depurination.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

The research is closely linked to two areas studied in our group, namely covalently metallated oligonucleotides and mechanisms of biologically relevant phosphate-transfer reactions. If successful, the project will yield a novel class of artificial ribonucleases useful as therapeutic agents and as tools in biotechnology

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Saleh, L.Y.; Ora, M.; Lönnberg, T. Mercury(II)-Catalyzed Cleavage, Isomerization and Depurination of RNA and DNA Model Compounds and Desulfurization of Their Phosphoromonothioate Analogs. *Catalysts* **2020**, *10*, 219.



## RECOGNITION OF SINGLE- AND DOUBLE-STRANDED NUCLEIC ACIDS BY COVALENTLY MERCURATED OLIGONUCLEOTIDES

Dattatraya Ukale

Bioorganic Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku.



datuka@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta.

**Supervisor:** Ass. Prof. Tuomas Lönnberg.

**Funding:** EXPERTS Sustain program, CIMO, Turku University Foundation, Academy of Finland and Finnish Cultural Foundation.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2020.

### Main aims of the PhD research

The objective of the PhD research is to develop covalently mercurated nucleosides, which selectively base pair with the natural nucleic acid bases through coordination of Hg<sup>(II)</sup>. Incorporation of such mercurated nucleosides to oligonucleotides hopefully leads to short oligonucleotide probes that hybridize with native DNA with an enhanced affinity, while retaining the high sequence specificity of the natural nucleic acids. Such probes would be particularly useful in targeting short nucleic acid sequences, such as miRNA but also in detecting single nucleotide polymorphisms.

### Main results so far

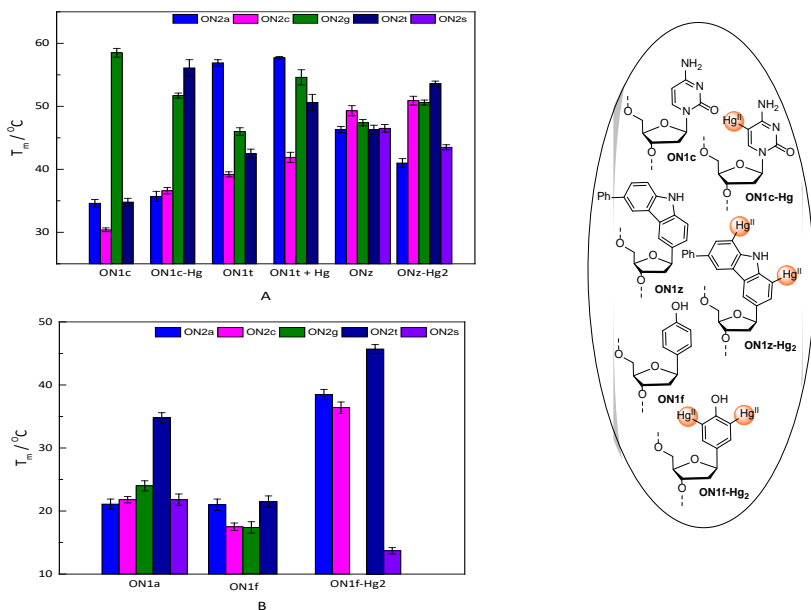
5-mercuricytosine has been identified as a promising candidate for recognition of single stranded nucleic acid sequences through Hg<sup>(II)</sup>-mediated base pairing. Base pairing properties has been explored at monomer level by NMR titrations with nucleoside 5'-monophosphates at oligonucleotide level by melting temperature measurements. The NMR studies revealed a relatively high affinity for guanosine, inosine and uridine. Within an oligonucleotide duplex, **ON1c-Hg** formed Hg<sup>(II)</sup>-mediated base pairs with thymine and guanine (Fig. 1A). The entropic penalty of hybridization was found to be considerably lower with the mercurated duplexes than their natural counterparts.

1,8-Dimercuri-6-Phenyl-1*H*-Carbazole-*C*-nucleoside was incorporated into an oligonucleotide (**ON1z-Hg2**) to test whether dinuclear metal-mediated base pairing could stabilize the duplex even more. **ON1z-Hg2** formed stable duplexes with unmodified oligonucleotides placing either cytosine, guanine or, especially, thymine opposite to the organometallic nucleobase (Fig. 1A). While the melting temperature of the most stable duplex was no greater than with the mononuclear **ON1c-Hg**, DFT calculations at PBE0DH level of theory nevertheless supported the idea of dinuclear base pairing with the two Hg<sup>(II)</sup> ions coordinated to O2 and O4 of the thymine base.

Hg<sup>(II)</sup>-mediated base pairing was also studied in a triple-helical context for the recognition of double stranded nucleic acid sequences. Homothymine oligonucleotides bearing a 3'-terminal 5-mercuricytosine or 5-mercuriuracil residue were tested against a variety of double-helical targets. Nearly all of the triplexes studied were destabilized on mercuration of the 3'-terminal residue of the triplex forming oligonucleotide (TFO), in all likelihood due to competing intramolecular Hg<sup>(II)</sup>-mediated base pairing. Two expectations from this general pattern were, however, observed: 5-mercuricytosine was stabilizing when placed opposite to a T•A or A•T base pair. Unexpectedly the

stabilization was amplified in the presence of mercaptoethanol but not with other thiols (hexanethiol, thiophenol and cysteine).

Finally, the potential of dinuclear  $Hg^{(II)}$ -mediated base pairing for recognition of a non-canonical secondary structure was assessed. Base pairing properties of 2,6-dimercuriphenol were explored at monomer level by NMR titrations and at oligonucleotide level by UV melting experiments. A single  $Hg^{(II)}$ -mediated base triple between 2,6-dimercuriphenol and two thymine bases increased both Hoogsteen and Watson-Crick melting temperatures in a 15-mer pyrimidine•purine\*pyrimidine triple helix by more than 10 °C relative to an unmodified triple helix (Fig. 1B).



**Figure 1.** Watson-Crick melting temperatures of ON1c, ON1c-Hg, ON1z, ON1z-Hg2, ON1f and ON1f-Hg2 duplexes.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Metal mediated base pairs with artificial bases have been extensively studied for use in nanodevices, nanowires and as a tool for biotechnology. Our research opens up new possibilities as the covalently mercurated nucleobases, unlike the more conventional coordination complexes, are not dissociated even under the metal-deficient intracellular conditions. The intended application is targeting of small non-coding RNAs but the results also have implications on DNA nanotechnology.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Ukale, D., Shinde, V., Lönnberg, T. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 7917-7923.
2. Ukale, D. and Lönnberg, T. *ChemBioChem.* **2018**, 19, 1096-1101.
3. Ukale, D. and Lönnberg, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, 57, 16171-16175.
4. Ukale, D. Tähtinen, P., Lönnberg, T. *Chem. Eur. J.* **2020**, 26, 2164-2168.

## Metallaoligonucleotides as High-Affinity Probes for Nucleic Acid Sequences

Madhuri Hande

Bioorganic Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



email@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Dr. Tuomas Lönnberg

**Funding:** EU MMBio – Marie Curie Training Network.

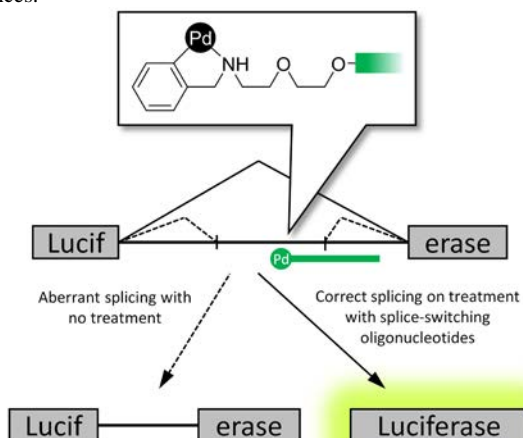
**Estimated time of PhD dissertation:** 2021.

### Main aims of the PhD research

Base pairing preferences of metalated residues will first be studied by conventional melting temperature experiments on heteroduplexes of metalated and natural oligonucleotides. The ultimate goal is to demonstrate the applicability of metalated oligonucleotides as therapeutic agents by PET imaging. For this purpose, the oligonucleotides will be equipped with an appropriate conjugate group to allow enrichment in the target organ as well as a PET label.

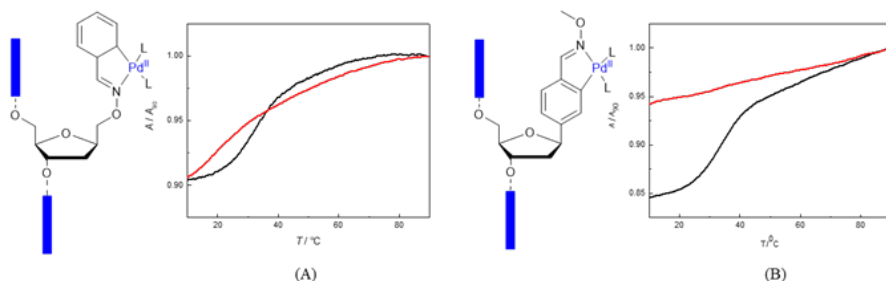
### Main results so far

Previous results concluded that short oligonucleotides incorporating a 5'-terminal cyclopalladated benzylamine with flexible linker at terminal position exhibit higher thermal stability than their unmetallated counterparts. These modified oligonucleotides have also been reported to be effective splice-correction agents in various human cell lines (figure 1). These results make metal-mediated base pairing an attractive approach for conferring therapeutic oligonucleotides higher affinity for their target sequences.



**Figure 1.** Mechanism of RNA targeted splice correction by cyclopalladated antisense oligonucleotides.

In the present study, phthaloyl-protected aminooxymethyl-C-2'-deoxyriboside<sup>3</sup> and acetal-protected benzaldehyde building blocks have been prepared and incorporated in the middle of an oligodeoxyribonucleotide. Removal of the phthaloyl and acetal protections, followed by oximation with benzaldehyde or methoxylamine, respectively, provided a reactive site for covalent palladation. A comparison of the hybridization properties of the benzaldoxime oligonucleotides revealed that all the unmetallated duplexes were more stable than their metallated analogues, suggesting strain caused by Pd (II)-mediated base pairing with both benzaldoxime palladacycles (figure 2). ON1y-Pd (A) exhibited a sigmoidal melting profile indicative of duplex formation while ON1z-Pd (B) did not form a duplex at all. Evidently, the more flexible structure alleviates some of the strain in the former case while in the latter case the Pd(II)-mediated base pair completely prevents hybridization.



**Figure 2.** Representative examples of UV melting profiles for duplexes (A) ON1y•ON2t (black) and ON1y-Pd•ON2t (red) and (B) ON1z•ON2t (black) and ON1z-Pd•ON2t (red).

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Metal-mediated artificial base pairs allow expansion of genetic code. Replacing a hydrogen bond by metal ion offers a sophisticated way for the site-specific functionalization of nucleic acids as well as improving stabilization in short oligonucleotide duplexes. Metallated oligonucleotides have potential as novel therapeutic agents. Moreover, such modifications are receiving attention in nanotechnology to develop sensors or DNA-based molecular machines.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Hande, M., Maity, S., Lönnberg, T., *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 1588.
2. Hande, M., Saher, O., Lundin, K.E., Smith, C.I.E., Zain, R., Lönnberg, T., *Molecules* 2019, 24, 1180.
3. Maity, S., Hande, M., Lönnberg, T., Metal-mediated base pairing of rigid and flexible benzaldoxime metallacycles (submitted to *ChemBioChem*)

**C-nucleoside inhibitors of bacterial RNA polymerase**

Petja Rosenqvist

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



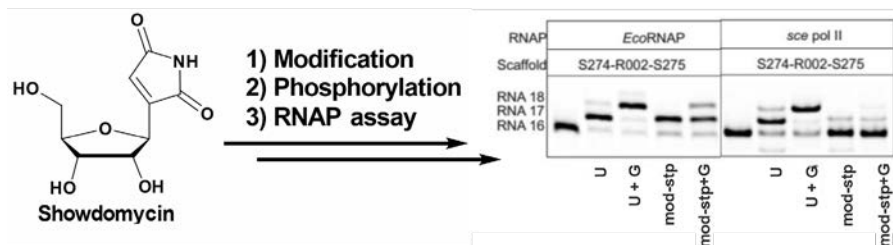
email@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta**Supervisor(s):** Dr. Mikko Ora and Dr. Heidi Korhonen**Funding:** Sigrid Jusélius Foundation**Estimated time of PhD dissertation:** 08/2020**Main aims of the PhD research**

C-nucleoside antibiotics, with their non-hydrolysable C-glycosidic bond, are a group of potential pharmaceuticals that have not yet reached clinical use. Recent advances in synthetic chemistry of C-nucleosides and the clarification of the biosynthesis of natural C-nucleoside antibiotics has renewed interest in this group of compounds. The aim of this research is to combine synthetic biology and chemical synthesis to produce rare C-nucleosides and assess their effects against RNA polymerases, one of the validated drug targets of nucleoside based drugs.

**Main results so far**

Three C-nucleosides, showdomycin [1], pseudouridimycin[2] and oxazinomycin [3] have been produced by cultivating strains of *Streptomyces* soil bacteria in certain culture media. One 5'-triphosphate of a chemically modified C-nucleoside derivative, although having low binding affinity, showed surprising selectivity towards bacterial RNA polymerase (Figure 1). A 5'-monophosphate and a non-phosphorylated analog were prepared for *in vivo* antibacterial assays. Similar analogues of this compound were prepared to investigate the change in the properties of the compounds in relation to the modification.



**Figure 1.** The isolated and synthetically modified C-nucleoside analogues were tested as substrates for RNAPs. Gel panels on the right show the selective incorporation of one prepared showdomycin-5'-triphosphate analogue (**mod-stp**) by bacterial *EcoRNAP* in place of uridine (U) and further elongation by guanosine (G). For comparison, eukaryotic RNAP (*sce pol II*) is less able to elongate the RNAP by the same compound.

Oxazinomycin-5'-triphosphate (OTP) was prepared, and it was found to be as good a substrate for RNAPs as the natural substrate uridine-5'-triphosphate.[3] In certain sequences, OTP incorporation partially arrested the RNA transcription process. Additionally, incorporation of multiple successive

OTPs induced a transcriptional arrest. However, in a cellular environment, a low concentration of OTP and the competition with the natural substrate would unlikely lead to an arrested system. Still, the incorporation of OTP could result in a fraudulent RNA and abnormal post-transcriptional effects.

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

There is currently a strong interest in new antibiotics and anticancer drugs and the semisynthetic C-nucleosides offer a novel chemical space to search for potential drug candidates. The active site of bacterial RNA polymerase is not a target for any current drug in clinical use. Detailed studies of the drug-target interaction may yield novel insight for rational drug desing.

This research is a part of a work done by research group that connects organic chemistry and biochemistry. The verification of secondary metabolites and synthesis of predicted intermediates helps in the discovery of the biosynthetic pathway of C-nucleosides (team of Dr. Mikko Metsä-Ketelä). Also, the RNA polymerase inhibiting triphosphates produced by this work will give tools to gain insight about the functional mechanisms and differences of viral, eukaryotic and prokaryotic RNA polymerases (team of Dr. Georgi Belogurov).

### **Papers to be included in the PhD thesis**

1. Palmu, K., Rosenqvist, P., Thapa, K., Ilina, Y., Siitonen, V., Baral, B., Mäkinen, J., Belogurov, G., Virta, P., Niemi, J., Metsä-Ketelä, M. *ACS Chem. Biol.*, **2017**, *12*, 1472 – 1477.
2. Rosenqvist, P., Palmu, K., Prajapati, R. K., Yamada, K., Niemi, J., Belogurov, G. A., Metsä-Ketelä, M., Virta, P. *Sci. Rep.*, **2019**, *9*, 8935.
3. Prajapati, R. K., Rosenqvist, P., Palmu, K., Mäkinen, J. J., Malinen, A. M., Virta, P., Metsä-Ketelä, M., Belogurov, G. A. *Nucleic Acids Res.*, **2019**, *47*, 10296 – 10312.

## FLUORESCENT AND $^{19}\text{F}$ NMR-BASED PROBES FOR THE DETECTION OF INTERACTIONS OF OLIGONUCLEOTIDE-TARGETING SMALL MOLECULES

Asmo Aro-Heinlä

Bioorganic Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



ajmaro@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Asst. Prof. Tuomas Lönnberg and Prof. Pasi Virta

**Funding:** Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences, Department of Chemistry

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

Short non-coding RNAs and other structurally similar viral RNAs are increasing and important target for drug development. Non-coding RNAs play important roles in cellular homeostasis and are involved in many human diseases including cancer. However recognition of those structures is not possible by conventional hybridization by Watson-Crick base-pairing. One promising approach to overcome this problem is metallo-oligonucleotides, where one or more nucleosides are replaced with metalated nucleobase analogues. In those oligonucleotides, metal-ions increase the stability of forming double-helical construct. The goal of the research is to develop novel fluorescent and  $^{19}\text{F}$ -labelled oligonucleotide targets/probes to evaluate the affinity and nucleobase-specificity of metal-based ligands. The details of binding interactions of metal-mediated base pairing in double-helical constructs are not completely known and will be studied. The final goal is to apply potential candidates for detecting miRNA and single nucleotide polymorphism (SNP).

### Main results so far

For the first goal, novel method for screening potential high-affinity nucleobase surrogates was designed. The method is based on double-helical oligonucleotide probes featuring a single-nucleotide gap flanked by a fluorescent nucleoside analogue, pyrrolo C. Probes were tested with three different palladated ligands which have been used earlier in monomer level NMR studies (Figure 1). From quenching of fluorescence, selectivity of ligands was observed and affinities of chelates to different nucleobases were calculated. Overall in oligonucleotide probe base stacking interactions stabilized all studied metal-mediated base pairs compared to monomer studies.[1]

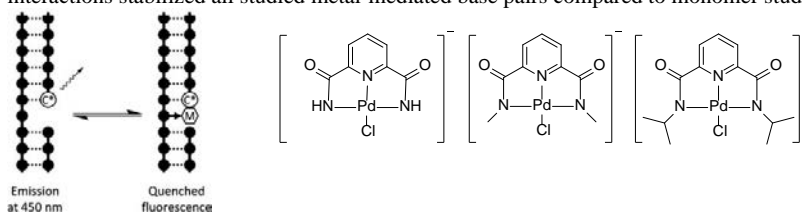
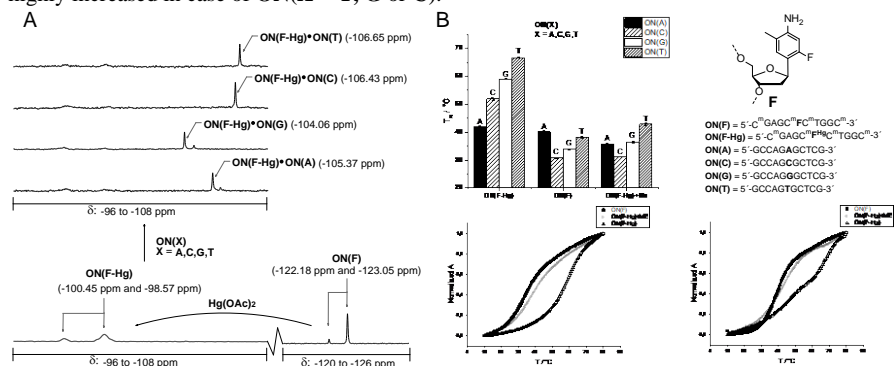


Figure 1. Principle of oligonucleotide probe and structures of  $\text{Pd}^{\text{II}}$  chelates of dipicolinamide and its N2,N6-dialkylated derivatives

For the second goal, knowledge of metal-mediated base pairing is expanded using  $^{19}\text{F}$  NMR and dual-function  $^{19}\text{F}$ -modified nucleosides that are capable for metal-mediated base pairing. Binding interactions can be detected monitoring chemical shift of fluorine, which is sensitive to

environmental changes in oligonucleotides.  $^{19}\text{F}$ -modified nucleoside (**F**) was synthesized and incorporated into oligonucleotide (**ON(F)**). The hybridization properties of the mercurated oligonucleotide **ON(F-Hg)** was studied by UV and  $^{19}\text{F}$  NMR measurements. A clear binding specificity between nucleobases was observed. In addition, stabilities of the formed duplexes were highly increased in case of **ON(X = T, G or C)**.



**Figure 1.** A)  $^{19}\text{F}$  NMR spectra of mercuration of **ON(F)** and titration with **ON(A,C,G,T)**. B) Melting temperatures and melting profiles of duplexes

Based on the high specificity of **F**, it would be a promising candidate for SNP detection. To evaluate this potentiality, **F** is incorporated into molecular beacon and the hybridization was studied by fluorescence measurements. The preliminary results suggest, the probe is capable for discriminating the canonical nucleobases.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Novel methods for recognition of non-coding RNAs are needed. Better knowledge of the metal-mediated base pairing would offer possibilities to create new diagnostic and medical applications for non-coding RNAs. One of the main interests of Bioorganic research group has been applications of modified oligonucleotides (metalated and  $^{19}\text{F}$ -modified oligonucleotides). In my work, the expertise of my research group in  $^{19}\text{F}$ -NMR spectroscopy and metal-based high affinity ligands (including artificial nucleobase surrogates) on oligonucleotides will be combined.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Aro-Heinilä, A., Lönnberg, T. Chem Eur J. 2017, 23, 1028–1029
2. Aro-Heinilä, A., Lönnberg, T., Virta, P. Bioconjugate Chemistry, 2019, 30, 8, 2183–2190
3. Aro-Heinilä, A., Lönnberg, T., Virta, P. Covalently mercurated molecular beacon for discriminating the canonical nucleobases. Manuscript to be submitted in 2020.



## NOVEL CARBOHYDRATE LIGANDS AND SPHERICAL NUCLEIC ACIDS FOR THE TARGETING OF OLIGONUCLEOTIDES

Vijay Gulumkar

Bio-organic Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



vigulu@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Prof. Pasi Virta and Adj. Prof. Tuomas Lönnberg

**Funding:** Academy of Finland

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

Several antisense- and siRNA oligonucleotides (ONs) have recently shown encouraging results in late stage clinical trials[1]. Despite these promising results, the therapeutic potential of ONs still suffers from the known hurdles (e.g. premature elimination via renal clearance, widespread bio-distribution and particularly poor cellular uptake), which severely limit systemic delivery of ONs to target cells. These shortcomings may partly be resolved by covalent conjugation of ONs with agents exhibiting affinity to a certain cell-type. Targeted delivery to a desired site of action may prevent waste-accumulation, decrease passive time in the systemic circulation and eventually enhance internalization by receptor-mediated endocytosis. Among the potential conjugate groups, sugars deserve a special attention, since the known interaction with proteins (responsible for many biologically important events such as cell-cell communication, host-pathogen interaction, immune response and cancer metastasis) may potentially be applied for the targeting of ONs to different tissue types. In the collaboration between Bioorganic Chemistry group and Turku PET Centre remarkable observations considering the biodistribution of intravenously administered ONs have previously been obtained. The goal of my research project is now to create *second generation carbohydrate-based delivery systems for ONs, in which the potential of spherical nucleic acids will be evaluated*. Within these constructs the effect of the ligands may be multiplied that minimizes the ON structure-dependent bio-distribution. The size and the spatial orientation of the ligands on the spherical nucleic acids (SNAs) may be controlled precisely. The delivery potential of SNAs as such and of the covalent conjugate group strategy based on novel carbohydrate ligands (chondroitin sulfate and bleomycin disaccharide, **Scheme 1**) will hence be combined in the present research project.

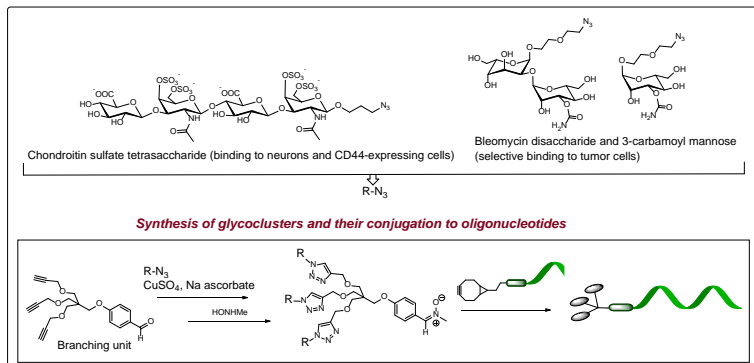
### Main results so far

My project has started on February 2018. We have published one paper related to synthesis of chondroitin sulfate (CS) precursors that are suitable for conjugation with oligonucleotides (collaborated with Prof. Eleanor Coffey). CSs are highly potential oligosaccharides that show activity against neuron cells. They show high binding affinity to certain proteins e.g. midkine and CD44. The next step is to prepare oligonucleotide conjugates of CSs and to evaluate their delivery potential in vitro.

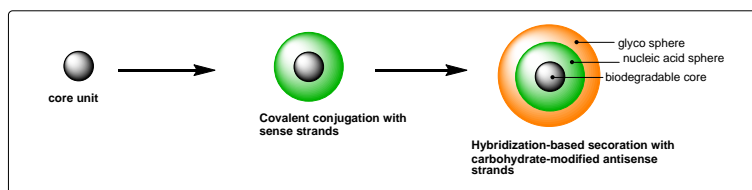
Bleomycin disaccharide shows affinity against breast and prostate cancer cells. In our ongoing research a <sup>18</sup>F-labelled bleomycin disaccharide has been prepared and its in vivo biodistribution evaluated in collaboration with Turku PET Center (collaborated with Prof. Olof Solin). Clusters of bleomycin disaccharides have also been prepared, which are suitable for the conjugation with

oligonucleotides via strain promoted azide-alkyne cycloaddition (SPAAC). The delivery potential of these clusters for the targeting of oligonucleotides will be next studied.

SNAs has been prepared and will be studied soon with Turku PET Center (*manuscript in preparation*). Next step is to prepare glycoconjugated molecular SNAs, CSs and Bleomycin disaccharides will be used for the decoration. Combination of glyco sphere to SNAs may be anticipated to have progressive results on the targeting.



**Scheme 1.** Biologically active carbohydrates to be used for the targeted delivery of oligonucleotides.



**Scheme 2.** Schematic description of the construction of SNAs.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

The targeted delivery of plausible therapeutic oligonucleotides is one of the main objectives in the Bioorganic group.

### Papers to be included in the PhD thesis

- 1) Satish Jadhav, Vijay Gulumkar, Prasannakumar Deshpande, Eleanor T. Coffey, Harri Lönnberg, and Pasi Virta. Synthesis of azide-modified chondroitin sulfate precursors; substrates for Click-conjugation with fluorescent labels and oligonucleotides *Bioconjugate Chem.*, **2018**, 29, 2382–2393.
- 2) Vijay Gulumkar et al. Controlled decoration of bifunctional spherical nucleic acids on Buckminster fullerene core, **2020**, manuscript under preparation.

**References:** [1] a) <http://www.ionispharma.com/pipeline/>, b) <http://www.alnylam.com/product-pipeline/>, c) [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2016/2064881bl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/2064881bl.pdf)



jiyang@utu.fi

## A systematic study of dynamic combinatorial library-induced aggregation

Jinghui Yang

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Dr. Jianwei Li

**Funding:** Finnish Culture Foundation, Sigrid Juselius Foundation, the Turku Collegium for Science and Medicine (starting grant), China Scholarship Council.

**Estimated time of PhD dissertation:** 10/2021.

### Main aims of the PhD research

Dynamic Combinatorial Chemistry (DCC)<sup>1-4</sup> is a promising tool to fabricate complex chemical systems. Dynamic combinatorial chemistry (DCC) employs reversible covalent bonds to create dynamic systems of continuous inter-exchanging chemical entities<sup>5</sup>. Built on the principle of DCC, dynamic combinatorial libraries (DCL) has emerged as an efficient tool for discovering novel ligands for biological targets<sup>6</sup>. Compared with a static library, a DCL has two advantages. Firstly, a DCL allows a spontaneous library synthesis based on the inter-conversion of compounds reversible reactions among building blocks; the library can be synthesized by simply mixing the building blocks without the need for spatial separation. Secondly, a DCL is adaptive: adding the target induces the selection pressure to redistribute the building blocks, favouring the synthesis of target-binding compounds at the expense of non-binding ones. The most important commonly used reversible reactions involve disulfide, hydrazine, or imine bonds. There has been a production of molecular systems whose physical and chemical properties can be reversibly modulated in response to an external stimulus, either light, heat, addition of metal ions, pH changes, or electrochemical potentials. Aggregation-induced emission (AIE) is an extraordinary phenomenon which was first reported by Tang in 2001<sup>7</sup>. Molecules that exhibit AIE are nonfluorescent as isolated solubilized species but emit efficiently upon aggregation, due to the restriction of intramolecular rotations<sup>8</sup>. Previous work used different templates to adjust fluorescence aggregation, but now, we first use dynamic combinatorial library-induced aggregation to construct fluorescent assembly<sup>9</sup>, and imaging in cells.

### Main results so far

We synthesized the tetraphenylethylene derivative (Template) and building block (B.B), as show in Figure 1 (Top). However, no appreciable fluorescence of the template aggregates was observed (Figure 1). One reasonable explanation is that the free template aggregates were not compact enough to restrict intramolecular rotation of the phenyl rings and thus showed no AIE<sup>9</sup>. When the building block B.B was added to the template solution, the AIE fluorescence was clearly observed. When the concentration of B.B is lower than 1 mM, the B.B cannot be assembled completely. With the concentration of B.B is increased, the fluorescence intensity and the diameter of DLS decreased. In the presence of excessive B.B, the host-guest interaction overwhelms the others, resulting in the higher-order aggregate disassembled and the simple complex formed. Furthermore, the fluorescence imaging of the assembly in cells showed similar results as in vials.

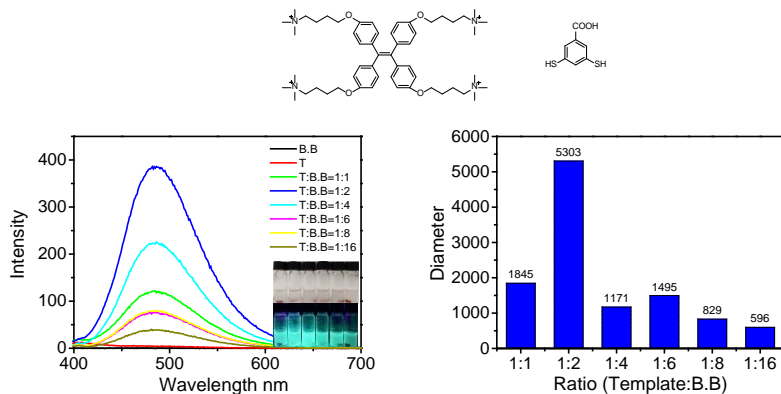


Figure 1. Structure of Template and Building Block (top), Fluorescence spectra of T (0.5 mM), DLS of Template (0.5 mM).

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Our group uses the tools of dynamic combinatorial chemistry (DCC), supramolecular chemistry and computer chemistry to fabricate the framework of complex chemical systems, investigates the self-assembly in such systems and uncovers the working principles at molecular level behind them. The templates used in this group are mainly simple positive-charged molecules. The complex obtained from this way have great limitations in application. Now we introduce fluorescent molecules into dynamic combinatorial chemistry, which makes our aggregates have better application prospects.

AIE is generated because it limits the restriction of intramolecular rotations. Scientists study various molecules to limit molecular rotation, but now we use dynamic combinatorial chemistry as a tool, the macrocycle formed by the building block maybe as a host for various positive-charged AIE molecules. Dynamic combination is the law of nature, our approach may be able to better study the mysteries of AIE.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Ludlow, R. F.; Otto, S. *Chem. Soc. Rev.* 2008, 37, 101-108.
2. Peyralans, J. J.; Otto, S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2009, 13, 705-713.
3. Hunt, R. A.; Otto, S. *Chem. Commun.* 2011, 47, 847-858.
4. Cougnon, F. B.; Sanders, J. K. *Acc. Chem. Res.* 2011, 45, 2200-2210.
5. Meyer, C. D.; Joiner, C. S.; Stoddart, J. F. *Chem. Soc. Rev.* 2007, 36, 1705-1723.
6. Mondal, M.; Hirsch, A. K. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44 (8), 2455-2488.
7. Luo, J.; Xie, Z.; Lam, J.; Cheng, L.; Chen, H.; Qiu, C.; Kwok, H. S.; Zhan, X.; Liu, Y.; Zhu, D. *Chem. Commun.* 2001, 1740-1741.
8. Hong, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. *Chem. Commun.* 2009, 4332-4353.
9. Jiang B. P.; Guo, D. S.; Liu, Y. C.; Wang, K. P.; Liu, Y. *ACS Nano*, 2014, 8 (2), 1609-1618.

# CONVALENT CAPTURE OF STABLE, RESPONSIVE AND CONTROLLABLE GENE NANOCARRIERS FROM DYNAMIC MOLECULAR NETWORKS

Yonglei Lyu

Bioorganic Chemistry, Department of Chemistry, University of Turku



yonlyu@utu.fi

**Research Director:** Prof. Pasi Virta

**Supervisor(s):** Dr. Jianwei Li and Dr. Tuomas Karskela

**Funding:** Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences, The Finnish Cultural Foundation, EDUFI Fellowship.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

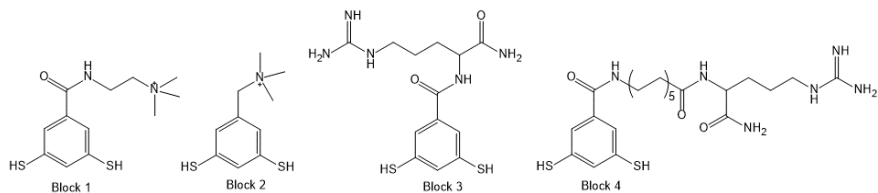
## Main aims of the PhD research

Over the recent two decades, gene therapy has gained great attention as it provides an effective treatment for genetic disorders, such as cystic fibrosis, severe combined immunodeficiency and Parkinson's disease, as well as a promising therapeutic tool for cancer.<sup>1</sup> However, it is still challenging to design effective and stable carrier vectors that are able to deliver oligonucleotides, DNA and small interfering RNA to the target cells, as they are rapidly degraded by serum nucleases in the serum.<sup>2</sup> Although viruses are the most common and effective agent for gene transfer in nature, the potential of viral vectors introducing or generating infectious viruses limits their application in gene therapy.<sup>3</sup> Therefore, researchers focus on exploring non-virus effective gene carrier vectors which could protect oligonucleotides.

To make stable and responsive carrier vectors, we propose to develop an innovative strategy of covalently capturing nanomicelles/nanovesicles that emerge from dynamic combinational libraries (DCLs). Generally, DCLs are molecular network where network members exchange building blocks via dynamic covalent chemical reactions. The resulting product distribution is controlled by thermodynamics, while the presence of a guest or a template can shift the equilibrium towards compounds which are receptors for the guest. As all the members are not alone but linked to each other, the whole library can also present unique function at systems level that could not be discovered by a single component in the network. Based on this approach, a variety of synthetic receptors<sup>4</sup>, ligands for biomolecules<sup>5</sup>, sensors<sup>6</sup>, interlocked molecules<sup>7</sup> and supramolecular hydrogel materials<sup>8</sup> have been discovered.

## Main results so far

In the experiment part, four kinds of building block which will be utilized in gene delivery are designed (shown in Figure 1). For the Block 1, the interactions between block and positive templates, such as RGD peptide, ADP and ATP, are not strong, which may be attributed to the existence of flexible carbon chains inhibits the self-assembly of nanostructure. Based on this phenomenon, Block 2, 3, 4 have been designed and synthesized, the stronger rigidity may promote the nano vector's formation.



**Figure 1.** Structures of the building block which will be used in the gene delivery.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

We intend to design an innovative gene-delivery nanocarriers from a DCLs-based approach. Through this method, responsive carrier vectors will be produced via non-covalent assembly and they can be further stabilized through covalent capture of the reversible covalent bonds in the molecular networks. Thus, the final product will be stable, responsive and also degradable for clinical application in gene delivery. In this research, we will propose a new strategy for exploring gene-delivery nanocarriers, which is totally distinct from the conventional vectors. In future, we will introduce a variety of gene sequences focusing on different diseases into the proposed systems.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. M. A. Mintzer; E. E. Simanek. *Chem. Rev.* 2009, 109, 259-302.
2. M. Morille; C. Passirani; A. Vonarbourg; A. Clavreul; J. Benoit. *Biomaterials.* 2008, 25, 3477-3496.
3. H. Yin; R. L. Kanasty; A. A. Eltoukhy, A. J. Vegas, J. R. Dorkin; D. G. Anderson. *Nat Rev Genet.* 2014, 8, 541-555.
4. M. Mondal; A. K. H. Hirsch, *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44, 2455-2488.
5. A. Herrmann, *Chem. Soc. Rev.* 2014, 43, 1899-1933.
6. L. O. Ofori; J. Hoskins; M. Nakamori; C. A. Thornton; B. L. Miller, *Nucleic Acids Res.* 2012, 40, 6380- 6390.
7. F. B. L. Cougnon; J. K. M. Sanders, *Acc. Chem. Res.* 2012, 45, 2211-2221.
8. J. Li; I. Cvrtila; M. Colomb-Delsuc; E. Otten; S. Otto, *Chem.-Eur. J.* 2014, 20, 15709-15714.

# KEMIAN OPETUS JA OPPIMISEN TUTKIMUS

## KEMIAN OPETUKSEN JA OPPIMISEN TUTKIMUS

Veli-Matti Vesterinen

*Opetuslaboratorio,  
Kemian opettajan pääaine,  
Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: [veli-matti.vesterinen@utu.fi](mailto:veli-matti.vesterinen@utu.fi)*

Turun yliopiston kemian laitoksella tutkitaan kemian opetusta ja oppimista sekä kouluopetuksen että korkeakouluopetuksen tasoilla. Tutkimuksessa tehdään läheistä yhteistyötä sekä kasvatustieteen tutkijoiden että kemian muiden alojen tutkijoiden kanssa. Keskeinen osa tutkimusta ovat myös kemian opettajan tutkinto-ohjelman opiskelijoiden LuK- ja pro gradu-tutkielmat.

### **Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimus**

Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimus on monitieteinen tutkimusala, jossa hyödynnetään sekä kasvatustieteellistä että kemian eri osa-alueiden tietoa. Kemian laitoksella opetuksen ja oppimisen tutkimusta tehdäänkin läheisessä yhteistyössä sekä muiden tiedeopetuksen tutkijoiden, kasvatustieteilijöiden että kemian tutkijoiden kanssa. Kemian kouluopetuksen tutkimus rakentuu myös yhteistyölle useiden peruskoulujen ja lukioiden kanssa. Lisäksi laitoksella tehdään korkeakouluopetuksen tutkimusta yhteistyössä yliopistopedagogiikan tutkijoiden kanssa.

Pro gradu ja luK -tutkimusten yksi tavoite on kehittää tutkielman tekijää opettajana. Opettajakoulutuksen tavoitteena onkin kasvattaa tutkivia opettajia, jotka osaavat hyödyntää tutkimustietoa opetustyössään sekä kehittää omaa opetustaan tutkimuksellisesti. Tästä syystä useimpien pro gradu -tutkielmien yhtenä tavoitteena on tuottaa uusia opetuksellisia innovaatioita, joita valmistuva opettaja voi hyödyntää opetustyössään.

### **Tutkimuksen painopistealueet**

Opetus- ja oppimislaboratoriossa tehtävällä kemian opetuksen ja oppimisen tutkimuksella on tällä hetkellä kaksi painopistealuetta. Ensimmäinen tutkimusalue liittyy kemian opetukseen ja oppimateriaaleihin opetuksen eri tasoilla. Tässä kirjassa esitellään kolme tähän painopistealueeseen liittyvää opinnäytetutkimusta: Suvisaara Holmström tutkii pro gradu -tutkielmassaan S2-oppilaiden kemian opiskelun kielellisiä vaikeuksia sekä heidän oppimisensa tukemista. Johanna Helinin ja Mari Nurmion LuK-tutkielmat käsittelevät kemian opetusta varhaiskasvatuksessa sekä ammatillisessa peruskoulutuksessa. Mikko Kinnarin LuK-tutkielma puolestaan keskittyy vihreän kemian ja kestäväen kehityksen huomioimiseen peruskoulu- ja lukio-opetuksessa.

Tutkimuksen toinen painopistealue on kemian tutkimuksellinen oppiminen laboratorioympäristössä. Tätä tutkimusta tehdään läheisessä yhteistyössä muiden tutkimusryhmien kanssa. Tässä kirjassa on mukana kuvaus Marianna Mannisen väitöskirjaprojektista, jossa kehitetään uusia kasvien väriaineita tutkivia kokeellisia oppilastöitä, sekä Tommi Katilan LuK-työstä, jonka aiheena on energian sähkökemiallinen varastointi. Näiden töiden tuloksia voidaan hyödyntää sekä kemian kouluopetuksessa että yliopisto-opetuksessa.



## Kemian ja fysiikan opetus ammatillisessa peruskoulutuksessa: Saavutetaanko valmiudet jatko-opintoihin

Mari Nurmio

Kemian opettajan pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

Tässä kirjallisuuskatsauksessa tarkastelen viittä eri tutkimusta, jotka liittyvät kemian ja fysiikan opetukseen ammatillisessa peruskoulutuksessa. Aihetta on tutkittu melko vähän ja lisäksi ammatillisen peruskoulutuksen tutkinnon perusteissa (2018) kokonaisuus on nimellä Fysikaaliset ja kemialliset ilmiöt ja niiden soveltaminen. Kokonaisuuden pakollisten osaamistavoitteiden laajuus on 2 osaamispistettä ja valinnaisia tavoitteita on lisäksi 3 osaamispistettä. Koska OPS-perusteissakin fysiikka ja kemia ovat samassa kokonaisuudessa, niitä on useimmissa tutkimuksissakin käsitelty yhdessä.

Tähän tutkielmaan olen sisällyttänyt myös tutkimuksia, joissa käsitellään opiskelijoiden opiskeluvalmiuksia korkeakouluissa. Ammatillisen perustutkinnon suorittaminen antaa yleisen jatko-opintokelpoisuuden korkeakouluihin. Siksi ammatillisessa perusopetuksessa yhteisten tutkinnon osien opiskelemisen pitäisi antaa valmiudet myös korkeakoulussa opiskeluun. Erityisen tärkeää on taata oman alan kannalta oleellinen kemian ja fysiikan osaaminen, jotta saman alan korkeakouluopinnoissa voi menestyä ilman kohtuutonta lisätyötä.

Lähdetutkimuksistani kahdessa tutkitaan opettamista ammatillisessa koulutuksessa, yksi on keskittynyt opetusmateriaalin tuottamiseen, mutta siitä löytyy myös tämän tutkimuksen kannalta relevantteja osia. Kahdessa tutkimuksessa taas tutkitaan AMK-opiskelijoiden perustutkinnossa saamia valmiuksia. Tutkielmassani olen kerännyt lähdetutkimuksista tämän tutkimuksen kannalta oleellista tietoa, tarkistanut tietojen oikeellisuutta ja ajantasaisuutta sekä pyrkinyt kyseenalaistamaankin joitakin asioita. Tavoitteenani oli tarkastella nykytilannetta ja sen mahdollisia ongelmia sekä pohtia ratkaisuja ongelmiin. Halusin pitää tutkielmani tiukasti sidoksissa jokapäiväiseen opetustyöhön ammatillisessa peruskoulutuksessa ja tuottaa ratkaisuja, joita jokainen kemiaa ammatillisessa koulutuksessa opettava voi halutessaan hyödyntää.

### Käytetyt lähdetutkimukset

Blomster, Teuvo–Nurmela, Tarja **2007**. *Fysiikkaa integroidusti metallialan perustutkinnossa, Lämpölaajeneminen havainnollisesti*. Kehittämishankeraportti Jyväskylän ammattikorkeakoulu, ammatillinen opettajakorkeakoulu.

Iakovleva, Evgenia **2011**. *Fysiikan ja kemian opetus ammattioppilaitoksessa (liiketalouden linjalla)*. Opinnäytetyö Hämeen ammattikorkeakoulu, ammatillinen opettajakorkeakoulu.

Kemppainen Maiju **2014**. *Kontekstuaalisuutta hyödyntävän opetusmateriaalin kehittäminen ammatillisen koulutuksen elintarvikealan kemian opetukseen*. Pro gradu -tutkielma Jyväskylän yliopisto.

Taipalus, Jussi-Matti **2019**. *Ammattioppilaitoksen ja lukion antamien valmiuksien eroavaisuudet haettaessa korkea-asteelle*. Opinnäytetyö Seinäjoen ammattikorkeakoulu.

Valkonen, Tiina **2011**. *Matemaattisten aineiden opintojen haasteet AMK-opinnoissa tekniikan alalla Lahden ammattikorkeakoulussa*. Opinnäytetyö Hämeen ammattikorkeakoulu, ammatillinen opettajakorkeakoulu.

## Vihreä kemia ja kestävä kehitys kemian opetuksessa

Mikko Kinnari

Kemian opettajan pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



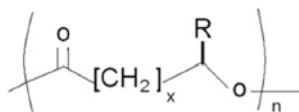
mijokin@utu.fi

Vihreä kemia voidaan määritellä kemian osa-alueeksi, joka pyrkii etsimään ratkaisuja esimerkiksi turvallisempien kemikaalien, vähemmän haitallisten synteesismenetelmien, tehokkaampien katalyyttien ja uusiutuvien raaka-aineiden kehittämiseen [1]. Kestävän kehityksen toteuttamisessa vihreä kemia on olennainen osa, koska monet kulutushyödykkeitä tuottavat teollisuusprosessit perustuvat kemian synteesismenetelmiin. Ekologisesti kestävä kehitys on muuttunut koko ajan yhä tärkeämmäksi ja on elintärkeää ainakin, jos maapallo halutaan pitää elinkelpoisena edes nykyisen suuruiselle väestömäärälle.

Kemian opetuksessa vihreää kemialla ja kestävästä kehityksestä voidaan tuoda esille tieteellisyhteiskunnallisten opetusmenetelmien avulla, joka tarkoittaa suurelta osin poikkiteieteellisyttä. Yhteiskunnan toimintaa tarkastelevat tieteet ja kemia mukaan lukien muutkin luonnontieteet ovat olleet kauan opetussuunnitelmissa melko erillään toisistaan. Vasta viimeaikaisissa opetussuunnitelmissa, kuten Suomessa nyt käytössä olevassa 2016 vuoden opetussuunnitelmassa huomioidaan jo paremmin yhteiskunnallisten asioiden ja kemian liittäminen toisiinsa opetuksessa.

Kestävän kehityksen on yhteiskunnallinen asia ja sen yhdistäminen peruskoulu- ja lukiotasoisessa opetuksessa kemian tieteenä tuo sekä monia etuja että haasteita. Tärkeinä opetuksen laatua edistävänä seurauksina voi mainita oppilaiden motivaation kasvun opiskella kemialla ja tieteellisen teorian oppiminen yhtä aikaa yhteiskunnallisten ongelmien ratkaisuvaihtoehtojen kanssa. Erityisesti oppilaiden motivaatiota lisää kemian liittyminen jokapäiväiseen elämään opetuksessa [2]. Esimerkiksi öljyn käytön vähentämisestä puhuttaessa voidaan oppitunnilla käsitellä teoria-asiana erilaisia polymerisoitumisreaktioita ja samaan aikaan kertoa muovivaikuttavista uusista ei-öljypohjaisista polymeereistä (Kuva 1) ja niiden valmistamisesta.

Haasteita, joita kestävästä kehityksestä kemialla opettava opettaja joutuu kohtaamaan ovat esimerkiksi puuttuvat valmiit opetusmateriaalit, sopivan aiheen valitseminen oikealla hetkellä ja valmistelemaan työn määrä ennen oppitunteja. Opettajien on luotava oppimateriaali tällöin suurelta osin itse, joten hyvät tiedonhakutaidot ja oppilaiden ryhmätyötaidot ovat erityisen tärkeitä [2].



**Kuva 1.** Polyhydroksialkanaoattien yleinen rakennekaava. Näistä valmistetaan ei-öljypohjaista biohajoavaa muovia.

### Viitteet

1. Mike Lancaster, Green Chemistry : An Introductory Text, **2002**, The Royal Society of Chemistry
2. M.K. Juntunen, M.K. Aksela, Education for sustainable development in chemistry – challenges, possibilities and pedagogical models in Finland and elsewhere, **2014**, DOI: 10.1039/c4rp00128a

## Kemian opetus varhaiskasvatuksessa

Johanna Helin

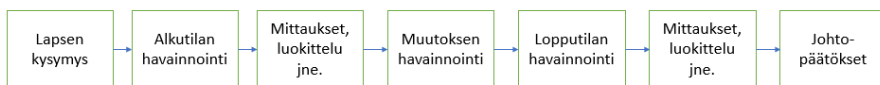
Kemian opettajan pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



jtheli@utu.fi

Luonnontieteet mielletään usein hyvin kaukaisiksi arjen ympärillä. Kuitenkin luonnontieteitä on ympärillämme jatkuvasti, kunhan vain annamme itsellemme aikaa havainnoida niitä. Varhaiskasvatuksessa ja esiopetuksessa kemia on osana Tutkin ja toimin ympäristössäni - oppimiskokonaisuutta. Oppimiskokonaisuudessa pääpaino on ympäristön havainnoinnissa, sillä sekä varhaiskasvatus- että esiopetussuunnitelmassa painotetaan lapsen oman havainnoinnin merkitystä. Tehdyistä havainnoista keskustellaan yhdessä muiden kanssa ja pyritään opettamaan lapselle kysymisen taito. Puhutaan siis lapsen kyvystä luoda havainnoistaan kysymys. [1],[2]

Tutkimisen taitoja opetellaan aina varhaiskasvatuksesta lähtien. Kaikki lähtee lapsen omasta havainnoinnista (kaavio 1). Hyviä havainnoinnin kohtia ovat esimerkiksi kaikki konkreettiseen muutokseen liittyvä havainnointi, kuten jään sulaminen, tai esineen ominaisuuksiin liittyvä havainnointi, kuten kelluminen ja uppoaminen. Muutosta voidaan havainnoida määrällisesti tai laadullisesti, eli yliopistokielellä kvantitatiivisesti ja kvalitatiivisesti. Koska lapsi on hyvä saada osallistumaan itse tutkimukseen, kannattaa hänen itsensä antaa suorittaa mittaukset, esimerkiksi lämpötilan muutoksiin liittyvät mittaukset. Lisäksi yhtenä tärkeänä harjoiteltavana taitona on ennusteen eli hypoteesin tekeminen. Hypoteesi ei ole arvaus tulevasta, vaan se rakentuu lapsen kokemuksista vastaavista tapahtumista. Tutkimisen taitoja opetellessa lapsi tulee sivussa opetelleeksi myös arkielämän kommunikointitaitoja. Kommunikointi voi tosin tapahtua muullakin tavoin kuin pelkästään puhumalla, kuten kuvin, piirroksin tai videoin. [3]



**Kaavio 1.** Havainnointiketju.

### Viitteet

[1] Opetushallitus: Varhaiskasvatussuunnitelman perusteet 2018, s.46–47,

[https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/varhaiskasvatussuunnitelman\\_perusteet.pdf](https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/varhaiskasvatussuunnitelman_perusteet.pdf) (viitattu 1.3.2020)

[2] Opetushallitus: Esiopetuksen opetussuunnitelman perusteet 2014, s.35–37,

[https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/esiopetuksen\\_opetussuunnitelman\\_perusteet\\_2014.pdf](https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/esiopetuksen_opetussuunnitelman_perusteet_2014.pdf) (viitattu 1.3.2020)

[3] Vartiainen J., Mistä syntyy tuulen voima, 1. painos, PS-kustannus, Keuruu, 2018, s.17, 105, 108, 118–120, 126–129

## Energian sähkökemiallinen varastointi

Tommi Katila

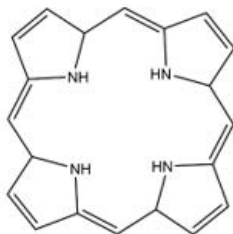
Kemian opettajan pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



tomakat@utu.fi

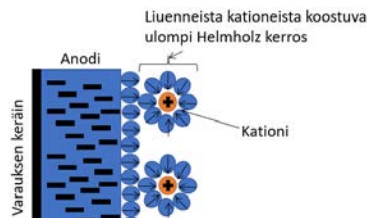
Sähköistyvä yhteiskunta tarvitsee päivä päivältä enemmän ja parempia tapoja varastoida sähköenergiaa. Sähköautojen akut voivat painaa useita satoja kiloja ja se aiheuttaa suuria hyötysuhde ja suunnittelu ongelmia. Myös varastointimetodien ympäristöystävällisyys on noussut tärkeäksi ominaisuudeksi niitä suunniteltaessa, erityisesti käyttöikänsä loppuvaiheessa akkujen ja superkondensaattorien epäorgaanisia materiaaleja on vaikea kierrättää ja liikenteen sähköistyessä entisestään suurien sähköakkujen kierrätys muuttuu yhä tärkeämmäksi. Tutkielmani tarkoituksena on valaista eroja kolmen suuren sähköenergian varastointimetodin, akkujen, paristojen ja superkondensaattorien välillä, sekä selventää niiden perustoimintaperiaatteet. Käsittelem myös kahta mahdollista orgaanista korviketta kondensaattorien ja akkujen epäorgaanisille elektrodeille. Akut ovat paljon ympäristöystävällisempiä kuin paristot niiden ladattavuuden ansiosta. Akut voivatkin korvata paristot melkein kaikissa pienelektronikan käyttökohteissa, niiden ainoa merkittävä heikkous paristoihin verrattuna on niiden luontainen tyhjentymisen, jonka takia paristot ovat edelleen parempi valinta vähän energiaa käyttävissä sähkölaitteissa, kuten palovaroitimissa. Käyttöikänsä lopussa akkujen katodit, jotka koostuvat erinäisistä litium yhdisteistä, hankaloittavat niiden kierrätystä. Suunnitteilla olevat orgaaniset elektrodyhdisteet voisivat korvata nämä epäorgaaniset aineet niin akuissa kuin superkondensaattoreissa. Käyttämällä enemmän orgaanisia yhdisteitä akkujen ja kondensaattorien valmistuksessa olisi niiden kierrätys huomattavasti helpompaa.

Yksi potentiaalinen lähtömateriaali epäorgaanisten elektrodien korvaajana on porfyriini. Normaalisti orgaanisten elektrodimateriaalien ongelma on niiden liukeneminen akkujen ja kondensaattorien orgaanisiin elektrolyytteihin. Porfyriiniin voidaan kuitenkin liittää keskusatomit ja substituutteja, joilla sen ominaisuuksia voidaan muokata haluttuun suuntaan, ja tutkinrossani käsittelemäni kaksi yhdistettä on saatu niukkaliukoiksi.<sup>1</sup> Porfyriini sisältää myös useita piisidoksia, jotka helpottavat elektronien hyppimistä ja siis yhdisteen sähköjohtavuutta, joka on toinen yleinen puute orgaanisissa aineissa.



**Porfyriini**

Kuva 1. Porfyriinin rakenne



Polarisoituneesta liuottimesta koostuva sisempi Helmholtz kerros

Kuva 2. Lähikuva superkondensaattorin anodin toiminnasta

1. Yang H, Zhang S, Han L, et al. High Conductive Two-Dimensional Covalent Organic Framework for Lithium Storage with Large Capacity. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(8):5366-5375. doi:10.1021/acsami.5b12370

## S2-OPPIJAN KEMIAN OPISKELUN KIELELLISET VAIKEUDET JA HEIDÄN OPPIMISENSA TUKEMINEN

Suvisaara Holmström<sup>1\*</sup>, Veli-Matti Vesterinen<sup>1</sup>, Jan Jansson<sup>2</sup> ja Jenni Alisaari<sup>3</sup>



suseho@utu.fi

<sup>1</sup>Kemian opettajan pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

<sup>2</sup>Töölön yhteiskoulun aikuislukio

<sup>3</sup>Opettajankoulutuslaitos, 20014 Turun Yliopisto

### Abstrakti

Opetusta, oppimista, ajattelua tai ymmärrystä on liki mahdoton muodostaa ilman perustavaa kielitaidon tasoa. Kemiassa kielen roolia opetuksessa korostaa sen oma symbolinen järjestelmä, erikoistunut sanasto sekä luonnontieteelliselle tekstille tyypilliset kielen konventiot. Pro gradu -tutkielmassa perehdyttiin S2-oppijoiden kielellisiin vaikeuksiin sekä keinoihin tukea S2-oppijoiden kemian opiskelua.

### Johdanto

Kieli on jatkuvasti läsnä jokapäiväisessä elämässänne. Miltei kaikki opettaminen ja oppiminen perustuu jonkin suullisen tai kirjoitetun kielen muodon käyttöön. Globalisoituvassa maailmassa on tärkeää ottaa huomioon monikielisten oppijoiden kielelliset ja kulttuuriset taustat ja tarjota heille tasavertainen mahdollisuus menestyä opinnoissaan. Tämän toteuttamiseksi opetuksen tulisi olla kielitietoista.

Kielitietoisuus voidaan määritellä ymmärykseksi kielen keskeisestä merkityksestä oppimisessa, vuorovaikutuksessa ja yhteistyössä sekä identiteettien rakentumisessa ja yhteiskuntaan sosiaalistumisessa [1]. Kielitietoiseen opetukseen kuuluu opetuksen ja materiaalien kielen tyylin ja vaikeustason tiedostamisen lisäksi eri kieliin liittyvien asenteiden tunnistaminen ja niistä luokassa keskusteleminen.

Jokaisella oppiaineella on oma kielensä sekä tapa kertoa oppiaineeseen liittyvistä ilmiöistä [2]. Euroopassa kielitaitoa arvioidaan Euroopan neuvoston kehittämällä eurooppalaiselle viitekehyskellä (EVK, engl. *Common Framework of Reference for Languages* tai *CEFR*). Viitekehysten taso B2 pidetään yleisesti tietoaiteiden opiskeluun riittävänä kielitaidon tasona, koska silloin kielitaito riittää abstraktien aihealueiden käsittelyyn. Kuitenkin monet S2-oppijat opiskelevat kemiaa kielitaidolla, joka ei ole riittävä tietoaiteiden opiskeluun.

Tutkimuksen tarkoituksena oli perehtyä laajemmin S2-oppijoiden kielellisiin ongelmiin etsien ja pohtien myös mahdollisia ratkaisuja S2-oppijoiden kemian opiskelun tukemiseksi. Tutkimuksessa luotiin kuvaus S2-oppijoiden kielellisistä ongelmista ja kemian oppimisen haasteista kirjallisuuden ja kemian opettajille tehdyn kyselyn avulla sekä kehitettiin selkokielistä materiaalia S2-oppijoiden kemian opetuksen tukemiseksi aikuisten perusopetukseen (kuva 1).

### Materiaalit ja menetelmät

Kemian oppimisen ja opetuksen tutkimusprojekti toteutettiin Webpropol-kyselyllä, joka lähetettiin kemian opettajille, jotka opettavat myös S2-oppijoita peruskouluissa, aikuisten perusopetuksessa tai kansanopistoissa. Kysely koostui kahdesta osasta, joista ensimmäisessä pyrittiin hankkimaan tietoa kemian opettajien näkemyksistä S2-oppijoiden opetuksesta ja toisessa selvitettiin S2-oppijoiden kemian opetuksen haasteita. Kysymykset käsitelivät muun muassa opettajan tarjoamaa tukea, kielitietoisuutta, oppisisältöjä ja työskentelytapoja. Kyselyssä kartoitettiin myös tarvetta S2-oppijoille suunnattuun oppimateriaaliin. Kyselyn vastauksista koottiin kvalitatiivinen sisällönanalyysi.

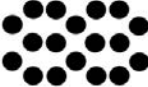



Tutkimusprojektiin kuului selkokielisen oppimateriaalin kehittämisprojekti. Materiaalin pohjana toimi Jan Janssonin päättövaiheen kemian kurssille valmistama opetusmateriaali, jota lähdettiin muokkaamaan selkokieliseksi oman kielitaidon sekä muiden opettajien ohjeiden ja kommenttien mukaan.

### Tulokset

S2-oppijoiden kemian oppimisen ongelmista monet liittyvät kemiassa käytettyyn kieleen. Suureksi ongelmaksi S2-oppijoiden kemian opetuksessa muodostavat niin kutsutut tekniset sanat. Tieteellinen teksti sisältää myös arkikielestä poiketen runsaasti merkitykseltään abstrakteja substantiiveja, jotka ovat usein peräisin kreikan tai latinan kielestä. Omat haasteensa tuo myös kemiassa käytetty merkikieli ja symboliikka sekä erilaiset graafiset esitysmuodot.

S2-oppijoille tulisi kirjallisuuskatsauksen mukaan tarjota sellaista oppimisen tukea, minkä avulla heillä olisi mahdollisuus menestyä kemian opinnoissa huolimatta edellä mainituista kielellisistä oppimista vaikeuttavista tekijöistä. Tällaisia tukikeinoja voisi olla esimerkiksi lukemisen taitojen opettelu oppikirjan tai kemiaan liittyvien lehtiartikkelien avulla, käsitteen ja sen merkityksen yhdistämistehtävät, käsitesanastojen kerääminen, uusien sanojen sijoittaminen lauseeseen tai niiden käyttäminen itse muodostetussa lauseessa. Lisäksi kemian opetuksessa kannattaisi hyödyntää paljon visuaalisia keinoja ilmiöiden/ohjeiden selittämiseen (esim. laboratoriotyön ohje sarjakuvana ja kokeellisuutta silloin, kun sen avulla voidaan suoraan esittää jokin käsite, jonka sisäistäminen puhetta seuraamalla voisi olla S2-oppijalle vaikeaa.

Tehtävä 3. Yhdistä viivalla sana, sen selitys ja esimerkkikuva.

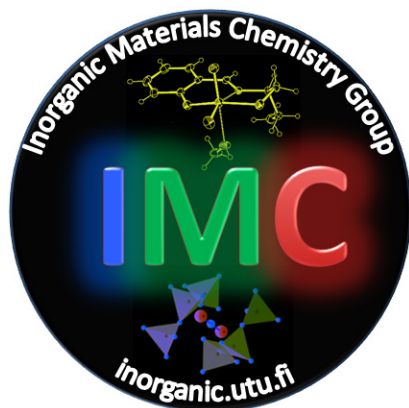
sana	selitys	esimerkkikuva
alkuaine	aineen pienin osa, mitä ei voida jakaa	
molekyyli	ryhmä atomeja, jotka ovat toisissaan kiinni	
yhdiste	aine, jonka kaikki atomit ovat samanlaisia	
atomi	aine, jossa on vähintään kaksi erilaista atomia	

**Kuva 1.** Tehtävä selkokielisestä aikuisten perusopetuksen päättövaiheeseen tarkoitettua oppimateriaalista.

### Viitteet

- [1] Opetushallitus 2014. Perusopetuksen opetussuunnitelman perusteet. Helsinki: Opetushallitus. [https://www.oph.fi/saadokset\\_ja\\_ohjeet/opetussuunnitelmien\\_ja\\_tutkintojen\\_perusteet/perusopetus](https://www.oph.fi/saadokset_ja_ohjeet/opetussuunnitelmien_ja_tutkintojen_perusteet/perusopetus). (Luettu 20.4.2019)
- [2] Aalto, E. Mihin koulun tekstit sosiaalistavat? S2-oppijan haasteita. Kirjassa Kieli ja globalisaatio – Language and globalization. Garant, M.; Helin, I.; Yli-Jokipii, H. AFinLAN vuosikirja. Suomen soveltavan kielitieteen julkaisuja n:o 66; Jyväskylä, 2008, 71–95.

# EPÄORGAANISEN MATERIAALIKEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ



## EPÄORGAANISTA MATERIAALIKEMIAA

Dos. Mika Lastusaari ja Dos. Ari Lehtonen

*Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine,  
Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: mika.lastusaari@utu.fi ja ari.lehtonen@utu.fi  
inorganic.utu.fi*

Epäorgaanisessa materiaalikemiassa tutkitaan ns. kovia materiaaleja eli materiaaleja, joissa on mukana myös epäorgaaniselle kemialle tyypillisiä alkuaineita. Turun yliopistossa Epäorgaanisen Materiaalikemian Ryhmä keskittyy loisteaineiden ja fotokromisten materiaalien tutkimukseen (vetäjä: Mika Lastusaari) sekä metalliorgaaniseen kemiaan (vetäjä: Ari Lehtonen). Loisteaineet sisältävät joskus harvinaisia maametalleja (eli lantanidit + Y ja Sc), jotka eivät nimestään huolimatta ole harvinaisia, vaan yleisempiä kuin esimerkiksi Ag tai Au ja yhtä yleisiä kuin vaikka Cr, Cu, Zn, Ni, V, Mo ja W, joita tutkitaan metalliorgaanisessa kemiassa. Epäorgaanisen materiaalikemian ryhmässä (Kuva 1) tutkitaan toki myös muita epäorgaanisia yhdisteitä.



**Kuva 1.** Epäorgaanisen materiaalikemian ryhmä.

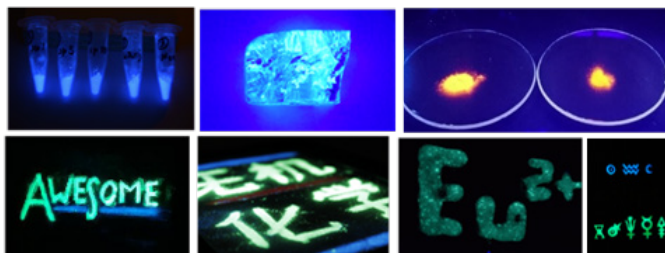
### LOISTEAINHEET JA FOTOKROMISET MATERIAALIT

Loisteaineet muuntavat monenlaista energiaa näkyväksi valoksi, luminesenssiksi. Niiden tavallisia käyttökohteita ovat näytöt, lamput, laserit, setelien turvamerkinnot ja lääketieteellinen kuvantaminen. Ryhmässämme luminesenssitutkimuksen pääkohteet ovat kestoluminesenssi-materiaalit, joiden arkipäiväisin käyttö on itsevalaisevissa poistumistiekilvissä sekä käänteisviritteiset (up-converting) loisteaineet, joilla voidaan muuntaa IR-säteilyä näkyväksi valoksi ja jopa UV-säteilyksi. Fotokromiset materiaalit taas muuttavat väriään erilaisten säteilylajien vaikutuksesta ja palautuvat alkuperäiseen väriinsä säteilyaltistuksen loputtua. Näiden arkipäiväinen käyttökohte on auringon valon voimakkuuden mukaan tummeneva lasi. Kumpikin materiaalityyppi on siis vahvasti funktionaalinen. Ryhmässämme on kehitetty myös patentoitu SensoGlow®-materiaaliperhe, joka toimii sellaisissa sovelluksissa, joissa voidaan käyttää loisteominaisuuksia ja fotokromismia. Seuraavissa kappaleissa kerrotaan vähän tarkemmin loisteaineiden ja fotokromisten materiaalien tutkimuksesta ryhmässämme.



### Kestoluminesenssimateriaalit

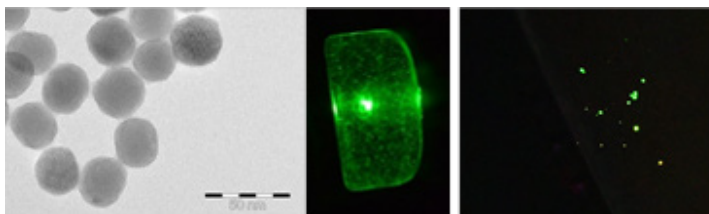
Kestoluminesenssissa materiaali luminoi pimeässä vielä pitkän aikaa sen jälkeen, kun virityslähde on sammutettu (Kuva 2). Kestoluminoivia materiaaleja ryhmässämme tutkivat tällä hetkellä väitöskirjatyöntekijät Cecilia Degbe, Sobia Rashid ja Sami Vuori. Kirsi Miller tekee Tutkimusprojekti II:n työtään ja graduaan kestoluminesenssimateriaaleista. Myös LuK-työntekijät Nina Rehnberg sekä Samu Raunio työskentelevät kestoluminesenssin parissa ja Teppo Kreivilä teki Tutkimusprojekti I:n työnsä tästä aihepiiristä. Lisäksi kestoluminesenssimateriaalien parissa työskentelevät post doc –tutkijat FT Isabella Norrbo ja FT Minnea Tuomisto, tutkija Nellie Inkinen sekä vaihto-opiskelija Felix Memmel. Yhteistyötä kestoluminesenssin saralla tehdään São Paulon yliopiston (Brasilia), sekä Tampereen Teknillisen Yliopiston Optoelektroniikan Tutkimuskeskuksen (kestoluminoivat lasit ja biorakenteet) kanssa. Tavoitteena on selvittää kestoluminesenssin mekanismeja eri materiaaleissa sekä kehittää halpoja materiaaleja erilaisiin sensori- ja merkkiainesovelluksiin.



**Kuva 2.** Luminoivia materiaaleja toiminnassa. Yläriivi: pimeässä loistavia hackmaniitteja, kestoluminoiva lasi ja loistavia nanokiteitä. Alarivi: LuK-töissä valmistettuja kylttejä.

### Käänteisviritteiset loisteaineet

Up-konvertoivien materiaalien tutkimiseen ryhmässämme on keskittynyt post doc -tutkija FT Emilia Palo. Up-konversion osalta tehdään yhteistyötä Turun yliopiston Biotekniikan sekä Molekulaarisen Kasvibiologian kanssa, koska tavoitteena ovat uudenlaiset lääketieteelliseen diagnostiikkaan soveltuvat määrytykset sekä auringon energian käytön tehostaminen. Uusien up-konversiomateriaalien kehityksessä tehdään yhteistyötä Aalto-yliopiston kemian laitoksen (up-konvertoivat ohutkalvot, kuva 3) sekä Tampereen Teknillisen Yliopiston Optoelektroniikan Tutkimuskeskuksen kanssa (up-konvertoivat lasit, kuva 3, ja aurinkokennot). Layer-by-layer-tekniiikan osalta taas yhteistyötä tehdään Kemian laitoksen Materiaaliekemian tutkimusryhmän kanssa.



**Kuva 3.** NaYF<sub>4</sub>,Yb,Er-nanokiteitä elektronimikroskooppikuvassa, up-konvertoiva lasi sekä täplämäistä up-konversiota epäorgaanis-orgaanisen hybridiohutkalvon pinnalla.

### Fotokromiset materiaalit

Fotokromiset materiaalit voidaan herkistää erilaisille säteilytyypeille ja siksi niitä voidaan käyttää säteilyn sensoreina ja myös kvantitatiivisina säteilyilmaisimina (Kuva 4). Fotokromisten materiaalien parissa väitöskirjatyötään tekevät Hannah Byron ja Sobia Rashid. Ryhmässämme kehitetään uusia fotokromisia materiaaleja ja värin muutokseen vaikuttavia tekijöitä tutkitaan kokeellisin sekä laskennallisin menetelmin. Laskennallisten tutkimusten osalta yhteistyötä tehdään Claude Bernard –yliopiston (Lyon, Ranska) teoreettisen kemian ryhmän kanssa.



**Kuva 4.** Fotokromismilla kuvitettu pinta, fotokromisen materiaalin värin voimakkuus eri UVC-säteilyannosten vaikutuksesta ja eriväristä fotokromismia.

### SensoGlow®-materiaalit ja -teknologiat

Tutkimusryhmässämme on kehitetty patentoidut SensoGlow®-materiaalit, joita voidaan käyttää joko loisteaineina (Kuva 5), fotokromisina materiaaleina tai näiden yhdistelminä. Tällä hetkellä ryhmässä kehitetään uusia teknologioita, jotka käyttävät hyväksi näitä materiaaleja. Väitöskirjatyöntekijä Isabella Norrbo työskentelee säteilyilmaisimien kehitystyössä. Myös Sami Vuori teki erikoistyönsä tästä aiheesta. Tutkimuksen tuloksena on kehitetty myös Androidissa toimiva sovellus (Kuva 2), jolla voidaan määrittää fotokromisen SensoGlow®-materiaalin värin perusteella materiaalin saama UV-säteilyannos ja siitä mm. auringon UV-indeksin arvo.



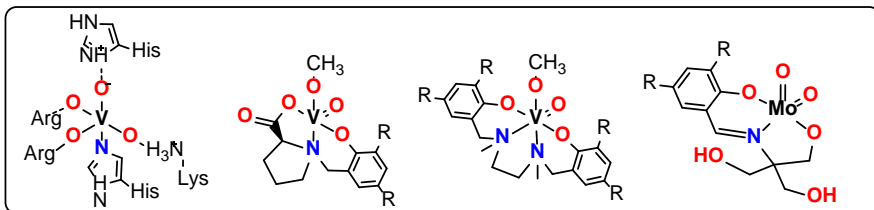
**Kuva 5.** Taipuisa, pimeässä valkoisena loistava SensoGlow®-materiaali (vas.) ja SensoGlow®-applikaation toimintaperiaate (oik.).

## METALLIORGAANINEN KEMIA JA KOORDINAATIOKEMIA

### Katalyytit ja entsyymien malliyhdisteet

Metalliorganisten yhdisteiden tutkimus tähtää uusien katalyyttien löytämiseen ja entsyymien aktiivisten keskusten mallintamiseen. Tutkittavat yhdisteet ovat pääasiassa monihampaisten orgaanisten ligandien muodostamia vanadiini-, molybdeeni- ja volframikomplekseja. Ryhmässä tehty tutkimus keskittyy pääasiassa biologisia hapetusreaktioita jäljitteleviin reaktioihin. Esimerkiksi vanadiini on yleinen alkuaine, jota on pieninä määrinä monissa eliöissä. Vanadiini on niissä usein osana jotain entsyymiä ja sen tehtävänä on katalysoida erilaisia hapetus- ja

pelkistysreaktioita. Tässä ryhmässä tutkitaan sellaisia vanadiiniyhdisteitä, jotka muistuttavat rakenteeltaan (*biomimeettinen*) ja toiminnaltaan (*biovirikkeinen*) luonnossa esiintyviä entsyymejä. Eräs ryhmä vanadiiniensyymejä on haloperoksidaasit, jotka tuottavat halogenoituja orgaanisia yhdisteitä biologisissa prosesseissa (Kuva 6).

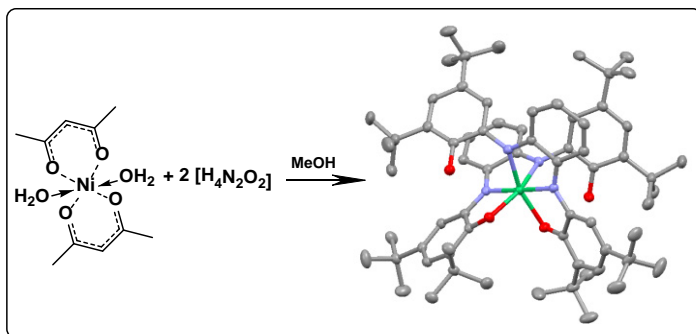


**Kuva 6.** Haloperoksidaasin rakenne (vasemmalla) ja malliyhdisteitä (oikealla).

Väitöskirjatyöntekijä Pasi Salonen tutkii vanadiini-, molybdeeni- ja volframikompleksien valmistusta monihampaisten orgaanisten ligandien kanssa sekä valmistettujen yhdisteiden käyttöä katalyyteinä erilaisissa hapetusreaktioissa, ennen kaikkea alkeeni epoksidointireaktiossa. Otto Rouhio valmisti Projekti I -työssään uusia titaanikomplekseja, joille haetaan sovelluksia mm. syklisten karbonaattien valmistuksessa hiilidioksidin ja epoksidien välisellä kytkentäreaktiolla. Saara Pellinen käytti LuK-työssään kobolttikomplekseja veratryyialkoholin hapettamiseen tutkiessaan ligniinin katalyyttistä hapetusta. Katalyytitutkimuksen yhteistyökumppanit löytyvät Jyväskylän yliopistosta (etenkin laskennallinen kemia ja kiderakennemääritykset), Lundin yliopistosta (Ruotsi), Gdanskin yliopistosta (Puola) ja Karl Franzen -yliopistosta (Graz, Itävalta). Edellä kuvattuja vanadiiniyhdisteitä tutkitaan nyt myös potentiaalisina syöpälääkkeinä University College Londonissa (UK).

### NIR-säteilyä absorboivat ja magneettiset molekyylit

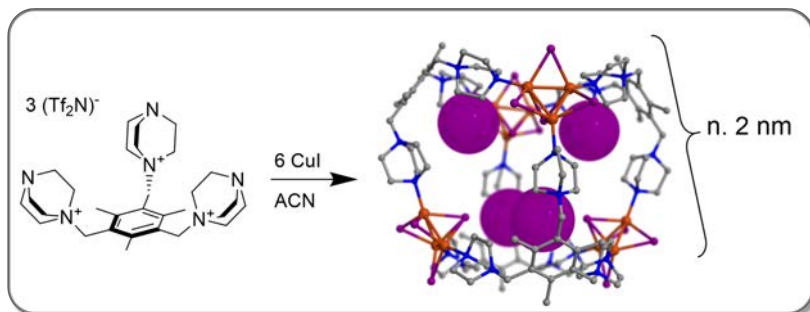
Monilla siirtymämetallien kompleksiyhdisteillä ligandin sitoutuminen metalliin mahdollistaa molekyyliorbitaalien välisen prosessin, jota kutsutaan varauksensiirroksi ligandilta metallille. Tämä aiheuttaa voimakkaan absorption etenkin näkyvän valon alueella, joten kompleksit saattavat toimia myös aurinkokennoissa herkistiminä. Väitöskirjatyöntekijä Esko Salojärvi tutkii omassa työssään siirtymämetallikompleksien soveltamista aurinkoenergian käytön tehostamiseen valmistamalla lähi-IR-säteilyä absorboivia komplekseja. Tässä työssä metalliorganaisen kemian tutkimus nivoutuu yhteen loisteainetutkimuksen kanssa. Tässä työssä ligandina käytetään ns. non-innocent ligandeja eli sellaisia orgaanisia yhdisteitä, joihin voi erilaisten kompleksin sisäisten hapetus-pelkistysprosessien seuraksensa jäädä parittomia elektroneja. Parittomat elektronit aiheuttavat yhdisteissä mielenkiintoisia magneettisia ja spektroskooppisia ominaisuuksia, joita tutkitaan yhdessä Turun yliopiston Wihurin fysiikantutkimuslaboratorion kanssa sekä Jyväskylän yliopistossa olevien kumppanien kanssa.



**Kuva 7.** Nikkelikompleksi potentiaalisen non-innocent-ligandin kanssa.

### Metalliorganinen supramolekulaarikemia

Eräs ryhmämme viimeisimmistä tutkimusaiheista metalliorganisen kemian alueella on koordinaatiosidosten avulla rakennettavat nanokokoiset kolmiulotteiset häkkirakenteet. Nämä supramolekulaariset yhdisteet muodostuvat orgaanisista ligandeista sekä metalli-ioneista nk. koordinaatiovälitteisten itsejärjestymisprosessien avulla. Visuaalisen näyttävyyden lisäksi näiden yhdisteiden erityispiirteisiin kuuluu niiden kyky vangita sisäänsä vierasmolekyylejä. Tämän ansiosta koordinaatiohäkkeitä voidaan hyödyntää mm. molekyylien tunnistuksessa, sieppauksessa ja kuljetuksessa sekä sensoreina tai katalyytteina. Tutkijatohtori Anssi Peurosen tekemä tutkimus tähtää erityisesti biologisesti merkittävien anionien – kuten nitraatti, halidit sekä fosfaatit – tunnistukseen tarkoitettujen positiivisesti varautuneiden koordinaatiohäkkien valmistukseen. Tutkittavien yhdisteiden käyttötarkoituksena ovat edellä mainittujen ionien tunnistus biologisessa ympäristössä sekä lääketieteelliset kuvantamissovellukset.

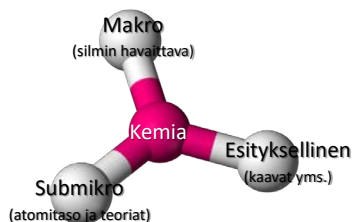


**Kuva 8.** Jodidi-ioneja sisäänsä vangitsevan koordinaatiohäkin valmistus ja yksikideröntgendifraktiomenetelmän avulla havaittu rakenne.

Tärkeimmät yhteistyökumppanit supramolekulaarikemian tutkimuksessa löytyvät Jyväskylän yliopistosta sekä Sheffieldin yliopistosta (UK).

## PEDAGOGINEN TUTKIMUS

Epäorgaanisen materiaalikemian ryhmässä tehdään myös pedagogista tutkimusta. Mielenkiinnon kohteena ovat kemiaa yliopistossa opiskelevien opiskelu- ja oppimisstrategiat (Kuva 9). Tutkimuksen tarkoituksena on antaa kemian yliopisto-opetukselle välineitä paremmin suunnattuun opetukseen ja sitä kautta vaikuttaa oppimistuloksiin. Pedagogista tutkimusta tehdään yhteistyössä Turun yliopiston Yliopistopedagogiikan yksikön kanssa.



**Kuva 9.** Kemian kolmijakoisuus, jonka osaluiden hallitsemiseen opiskelu- ja oppimisstrategioilla on merkittävä vaikutus.

## TUTKIELMIEN AIHEITA

Epäorgaanisen materiaalikemian projektitoita voi tehdä kaikissa yllä esitellyissä aihepiireissä. Myös opiskelijan itsensä ehdottamat aiheet ovat tervetulleita. Aiheita voi kysyä Ari Lehtoselta ja Mika Lastusaarealta.

## LISÄTIETOJA



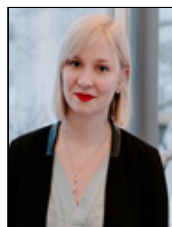
## ESIMERKKEJÄ JULKAISUISTA



## Kemiallisen massan valmistuksessa käytettävän sulfaattimenetelmän reaktio- ja sivutuotteiden energiatehokas ja ympäristöystävällinen jatkokäyttö

Saara Pellinen

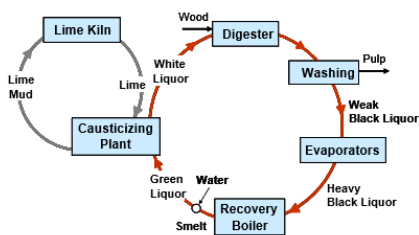
Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



skpell@utu.fi

Sulfaattimenetelmä on sellunvalmistuksessa käytetyin kemiallinen prosessi. Sen avulla muodostetaan kemiallista massaa, joka toimii mm. paperin ja kartongin valmistuksen lähtöaineena. Kemiallisella massalla tarkoitetaan kuitumassaa, joka syntyy puumassan tai muun kuituraaka-aineen keitossa erilaisten kemikaalien vaikutuksesta.[1] Sulfaattimenetelmä perustuu emäksiseen keittomassaan, valkolipeään, joka koostuu natriumhydroksidista (NaOH), natriumsulfidista (Na<sub>2</sub>S), natriumkarbonaatista (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) sekä natriumsulfaatista (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Yksinkertaistetusti kemiallinen massa saadaan aikaan keittämällä haluttuja puukuituja valkolipeässä niille otollisissa olosuhteissa riittävän kauan haluttujen ominaisuuksien aikaansaamiseksi.[2][3]

Kemiallisen massan valmistuksessa sivutuotteina syntyy esimerkiksi mustalipeää, joka voidaan monivaiheisen reaktiosarjan ja kalkin avulla muokata taas valkolipeäksi ja näin saada uudelleen käyttöön prosessissa. Kemikaalien reduktioaste on yli 90% parhaimmillaan jopa 97%. Muita sivutuotteita ovat esimerkiksi prosessin kaasumaisista yhdisteistä eristetty tärpätti sekä mustalipeän pinnalle muodostuva raakasuoapa, joka voidaan jalostaa jatkokäyttöön mäntysuoapana. [2][3] Mustalipeän puhdistaminen valkolipeäksi tuottaa itsessään paljon energiaa, joka pyritään hyödyntämään tehdasyksikön sähkö- ja lämmöntuotantoon.[4] Näitä hyödynnetään prosessin vaiheissa ja näin tehdasyksiköt eivät tarvitse ulkopuolisia energianlähteitä. Samalla prosessissa on pyritty minimoimaan niin kemikaalien, energian kuin materiaalienkin hukka, monet sivutuotteet pystytään kierrättämään joko prosessissa tai sen ulkopuolella.



**Kuva 1.** Kemikaalikierto mustalipeästä valkolipeäksi.[5]

### Viitteet

- [1] Dryden C. E., *Outlines of Chemical Technology*, East-West Press, 2008.
- [2] Kirk R. E., Othmer D. F., *Encyclopedia of Chemical Technology*, Wiley, 2012.
- [3] Azo Materials, *Monitoring the Pulping Process Online – The Benefits*, www.azom.com 2017.
- [4] Lovelace R. W., Thom K., *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, Elsevier, 2002.
- [5] Porter J., Trung T., Sands T., *Understanding and controlling the kraft liquor cycle using FT-NIR analysis*, Eastern Canadian BLRBAC and Paptac Steam and PowerCommittee, 2010.

## Stimuloitavat tallennusloisteainemateriaalit

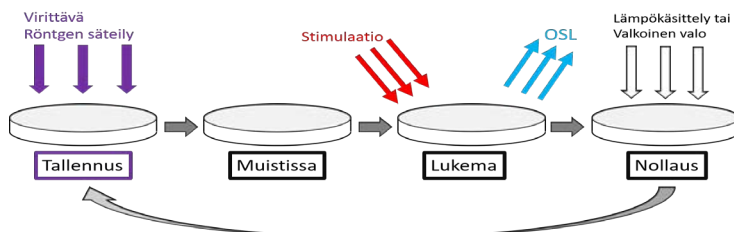
Samu Raunio

Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



saperau@utu.fi

Stimuloitavat tallennusloisteainemateriaalit kykenevät tallentamaan ionisoivan säteilyn aiheuttaman varauksen, ja säilyttämään sen lukeman ottamista varten myöhemmäksi. Tätä ominaisuutta käyttäviä ilmaisimia kutsutaan passiivityyppisiksi ilmaisimiksi [1]. Passiivityyppin lisäksi on aktiivityyppisiä ilmaisimia, mutta tallennusloisteainemateriaaleja sovelletaan vain passiivityyppisissä ilmaisimissa [1]. Stimuloitavia tallennusloisteainemateriaaleja käytetään dosimetriassa, eli ionisoivan säteilyn havainnoinnissa ja annosmittaamisessa. Sille löytyy käyttökohteita laadunvalvonnassa, säteilyn kertymää mittaavissa dosimetreissa ja lääketieteellisessä kuvantamisessa [1]. Tallennusloisteaineiksi voidaan luokitella aineet, jotka kykenevät tuottamaan luminesenssia vähintään yhdellä kolmesta prosessista: optisesti stimuloitu luminesenssi (OSL), lämpöstimuloitu luminesenssi (TSL) tai radiofotoluminesenssi (RPL). TSL- ja OSL-luminesenssien prosessi on samanlainen, mutta stimulaatiolähde on eri lukemanottovaiheessa (Kaavio 1). Suurin osa syntetisoiduista tallennusloisteainemateriaaleista kykenee toimimaan TSL-prosessilla ja noin puolet OSL-prosessilla [2]. RPL-prosessiin kykeneviä materiaaleja on arvon mukaan vähemmän kuin 5% kaikista tallennusloisteainemateriaaleista [2].



**Kaavio 1.** Optisen- ja lämpöstimuloitujen luminesenssin prosessi tallennusloisteaineilla. Mukailtu artikkelista [1].

Tunnettuja stimuloitavia tallennusloisteainemateriaaleja löytyy mm. alkuhalideista (esim.  $\text{LiF:Mg,Ti}$ ; TSL-materiaali), sulfideista (esim.  $\text{ZnS:Mn,Eu}$ ; RPL). Oksideista esimerkiksi C-seostettu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  on yleisesti käytetty OSL-materiaali, jota käytetään henkilökohtaisissa dosimetreissa.[2]

### Viitteet

- Nanto, H. (2018). Photostimulable storage phosphor materials and their application to radiation monitoring. *Sensors and Materials*, 30(3), 327–337.
- Yanagida, T., Okada, G., & Kawaguchi, N. (2019). Ionizing-radiation-induced storage-luminescence for dosimetric applications. *Journal of Luminescence*, 207, 14–21.

## MEKANOLUMINOIVIEN MATERIAALIEN VÄRIEN MUOKKAAMINEN JA KÄYTTÖ

Nina Rehnberg

Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

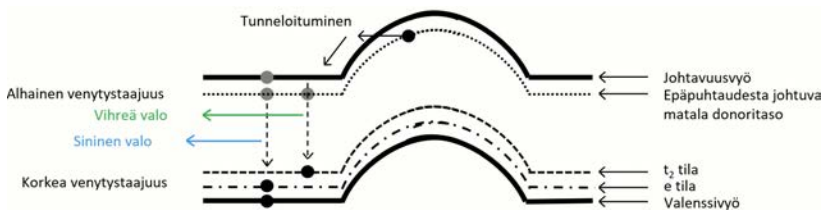


nmrehn@utu.fi

Mekanoluminesenssi, eli kiinteän aineen mekaanisesta rasituksesta syntyvä luminesenssi, on tunnettu satoja vuosia, mutta mekanoluminoivien materiaalien tutkimus on kehittynyt vasta viime vuosikymmeninä. Aluksi materiaalien tutkimus oli lähinnä tieteellinen kuriositeetti, mutta nyt on löydetty tapoja soveltaa mekanoluminoivia materiaaleja käyttökohteisiin. Näitä käyttökohteita löytyy paljon turvallisuuden valvonnasta, kuten rakenteiden murtumien ja rasituksen havaitsemisessa ja seurannassa. Rakenteiden rasituksen havaitsemiseen voidaan käyttää pinnoitusaineena materiaaleja, jotka reagoivat paineeseen ja murtumiseen tuottamalla valoa.[1] Painesensitiivisiä materiaaleja voidaan käyttää parantamaan allekirjoitusten oikeutta, sillä harjoitellun allekirjoituksen paineprofiili on erilainen kuin aidon, vaikka ne visuaalisesti näyttäisivätkin samalta.[2]

Mekanoluminoivien materiaalien luminesenssin väriin voidaan vaikuttaa monella tavalla. Joillain materiaaleilla, jos ne liitetään joustavaan kalvoon jota venytetään, niiden emissiospektri siirtyy pienemmälle aallonpituudelle venytys-rentoutus-taajuuden kasvaessa.[3] Väriä voidaan muokata myös yksinkertaisemmin vain sekoittamalla kahta eriväristä valoa emittoivaa mekanoluminoivaa materiaalia keskenään eri suhteissa, jolloin näkyvä väri on sekoitettujen materiaalien värien summa.[4]

Mekanoluminesenssin toimintamekanismia ei vielä tunneta täysin, mutta joitain teorioita on esitetty. Toiminta myös hyvin todennäköisesti vaihtelee eri materiaalien välillä.



**Kuva 1.** Mahdollinen mekanoluminesenssin toiminta ZnS:Cu:ssa. Mukailleen Jeong *et al.*[3]

### Viitteet

- [1] K. Hyodo, C. Xu, H. Mishima, and S. Miyakawa, "Optical stress imaging for orthopedic biomechanics - Comparison of thermoelastic stress analysis and developed mechanoluminescent method," in *IFMBE Proceedings*, 2010, vol. 31 IFMBE, pp. 545–548.
- [2] X. Han, M. Chen, C. Pan, and Z. L. Wang, "Progress in piezo-phototronic effect enhanced photodetectors," *J. Mater. Chem. C*, vol. 4, no. 48, pp. 11341–11354, 2016.
- [3] S. Moon Jeong, S. Song, S. K. Lee, and B. Choi, "Mechanically driven light-generator with high durability," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 102, no. 5, pp. 05110-1-5, 2013.
- [4] S. M. Jeong, S. Song, S.-K. Lee, and N. Y. Ha, "Color Manipulation of Mechanoluminescence from Stress-Activated Composite Films.," *Adv. Mater. (Weinheim, Ger.)*, vol. 25, no. 43, pp. 6194–6200, 2013.



## Raskaiden hackmaniittien synteesi ja karakterisointi

Kirsi Miller\*, Sami Vuori, Isabella Norrbo, Hannah Byron ja Mika Lastusaari



kimami@utu.fi

Epäorgaanisen materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

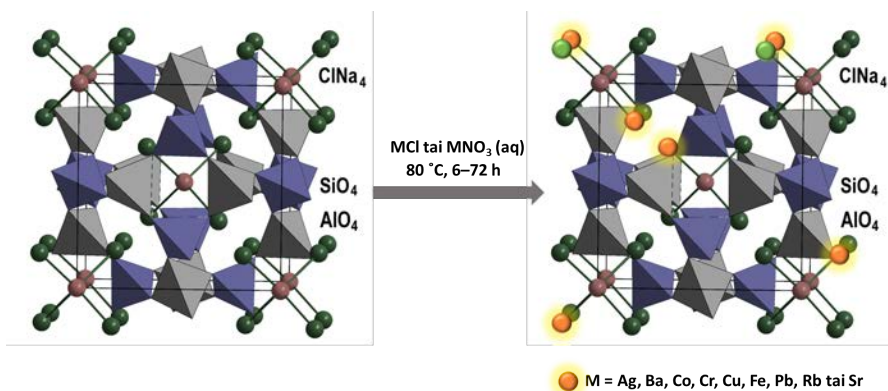
### Abstrakti

Hackmaniitti on mineraali, jolla on rakenteesta riippuen erilaisia optisia ominaisuuksia. Työn tavoitteena oli syntetisoida raskaampia metallihackmaniitteja, jotka absorboisivat säteilyä paremmin. Metallihackmaniitteja valmistettiin kahdella eri kationinvaihtomenetelmällä sekä seostamalla. Syntetisoinnin jälkeen metallihackmaniitit karakterisoitiin usealla eri menetelmällä.

### Johdanto

Hackmaniitti ( $\text{Na}_8(\text{SiAlO}_4)_6(\text{Cl,S})_2$ ) on mineraali, jota esiintyy luonnossa, mutta sitä voidaan valmistaa myös synteettisesti kiinteän olomuodon synteessillä, jossa lähtöaineina käytetään zeoliittia, natriumkloridia ja natriumsulfaattia [1]. Työn tarkoituksena oli korvata osa hackmaniitissa olevista natriumatoimeista toisella metallilla. Tähän käytettiin seostamista ja kationinvaihtoa (kuva 1).

Eri kationinvaihtomenetelmien avulla voitiin vertailla, miten ne vaikuttavat hackmaniitin rakenteeseen ja/tai ominaisuuksiin. Karakterisoinnissa käytettiin useita menetelmiä, kuten röntgenfluoresenssispektrometriaa (XRF), jonka avulla voitiin määrittää metallihackmaniittien alkuainepitoisuudet. Röntgendiffraktion (XRD) avulla tutkittiin metallihackmaniittien rakennetta ja mahdollisia epäpuhtauksia. Näiden lisäksi mitattiin muun muassa tuotteiden loisteominaisuuksia ja palautuvaa fotokromismia eli materiaalin kykyä vaihtaa värejä ja palautumista alkuperäiseen väriin.



**Kuva 1.** Hackmaniitin rakenne kationinvaihdossa. Todellisuudessa vaihtuneiden kationien määrä riippuu metallista ja valmistusmenetelmästä.

## Materiaalit ja menetelmät

Työssä tehtiin kationinvaihtoa kahdella menetelmällä hackmaniittiin ja zeoliittiin. Ensimmäisessä menetelmässä seosta refluksoitettiin 80 °C:ssa yhtäjaksoisesti sekoittaen 24 tunnin ajan, kun kationinvaihtoliuoksen pitoisuus oli 0,1 mol l<sup>-1</sup>. Tämä toistettiin kolme kertaa vaihtaan kationinvaihtoliuos vuorokauden välein Mikulan et al. artikkelin mukaisesti. [2] Kationinvaihtoliuoksessa käytettiin eri metalliklorideja ja -nitraatteja.

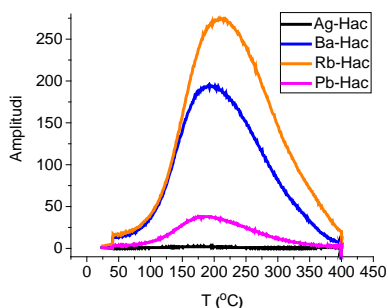
Toisessa menetelmässä hackmaniittiin ja kationinvaihtoliuoksen seoksen pH säädettiin yhdeksään. Seosta pidettiin lämpökaapissa 77 °C:ssa kaksi tuntia, minkä jälkeen sakka suodatettiin ja pestiin vedellä. Sakan kuivuttua käsittely toistettiin kaksi kertaa Kayiranin et al. artikkelin mukaisesti. [3] Toisen menetelmän kationinvaihtoliuokset tehtiin metalliklorideista, ja niiden pitoisuus oli liukoisuuksista riippuen 3–10 mol l<sup>-1</sup>.

Kationivaihdetusta zeoliitista valmistettiin hackmaniittia kiinteän olomuodon synteesillä. Myös seostettu hackmaniitti valmistettiin kiinteän olomuodon synteesillä.

## Tulokset ja johtopäätökset

Kaikilla kolmella tavalla voitiin valmistaa metallihackmaniitteja, mutta seostuksella ja toisella menetelmällä oli myös rajoituksia. Paras syntetisointimenetelmä on ensimmäinen kationinvaihtomenetelmä ja toisella menetelmällä metallihackmaniittin synteesit onnistuivat bariumilla ja strontiumilla. Raskaammilla metalleilla, kuten kuparilla ja kromilla hackmaniitin kiderakenne hajoaa. Seostamisessa ja metallizeoliiteista valmistetuissa hackmaniiteista havaittiin, että korkea lämpötila vaikuttaa näiden loisteominaisuuksiin. Esimerkiksi seostettujen Ag- ja Rb-hackmaniittien luminesenssi oli vaimentunut verrattuna vastaaviin ensimmäisellä menetelmällä valmistettuihin.

Karakterisoinnissa havaittiin hopeazeoliitin loistavan UV-lamppujen alla poiketen muista metallizeoliiteista. Se loistaa kaikilla kolmella viritysaallonpituudella eri värisenä, mikä poikkeaa myös metallihackmaniiteista (kuva 3). Ag-hackmaniitti, joka loistaa myös kirkkaasti, ei ole kuitenkaan hyvä optinen varasto, koska sen termoluminesenssisignaali on heikko (kuva 2). Muut metallihackmaniitit, kuten Rb-hackmaniitti; soveltuvat tähän paremmin niiden suuremman loukkutiheyden vuoksi.



**Kuva 2.** Termoluminesenssikuvajaaja eri metallihackmaniiteille viritysaallonpituudella 302 nm.



**Kuva 3.** Ag-zeoliitti ja Ba-hackmaniitti kuvattuna loisteputki- ja UV-lamppujen alla.

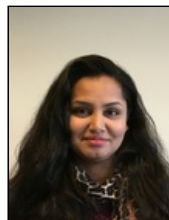
## Viitteet

1. Norro, I., Gluchowski, P., Paturi, P., Sinkkonen, J., Lastusaari, M., *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 7717–7724
2. Mikula, A., Król, M., Koleżyński, A., *J. Mol. Struct.*, **2016**, *1126*, 110–116
3. Kayiran, S. B., Darkim, F. L., *Surf. Interface Anal.*, **2002**, *34*, 100–104

## Energy storing radiation sensors based on hackmanites

Sobia Rashid

Inorganic Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



sobia.s.rashid@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor:** Adj.Prof. Mika Lastusaari

**Funding:** No funding at the moment.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2022.

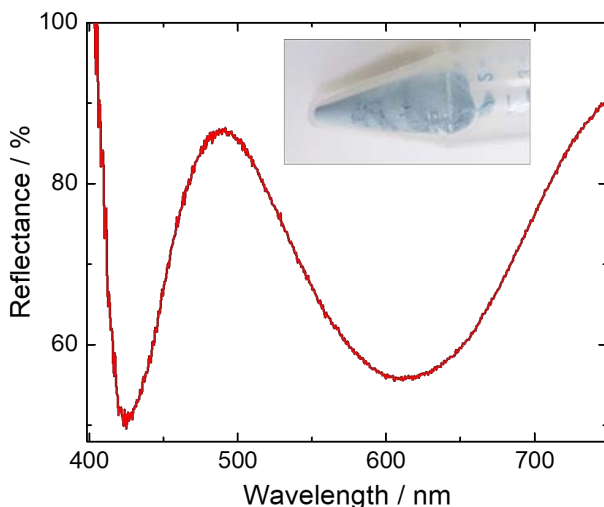
### Main aims of the PhD research

The goal of the project is to gain deeper insight into the processes controlling the light absorption and coloration of hackmanites (general composition:  $\text{Na}_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}\text{Cl}_2$ ). In practice, the present project aims to

- 1) Develop new light-absorbing hackmanites.
- 2) Thus tune the absorption spectrum of hackmanites.
- 3) Investigate the applicability of the new materials in radiation detection.

### Main results so far

Different compositions of hackmanites have been investigated as well as novel faster ways of synthesizing them. The latter is especially important since the current best synthesis protocol takes about three days to complete, which is rather long for an oxidic optically active material. These have produced some interesting new properties in hackmanites such as sky blue persistent luminescence and permanent color centers (Figure 1).



**Figure 1.** Photo and reflectance spectrum of a blue hackmanite with permanent color.

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

The Inorganic Materials Chemistry group of University of Turku has recently developed a new family of photochromic inorganic materials based on the structure of the mineral hackmanite<sup>6</sup>. These materials show highly efficient photochromism and tunable absorption edges. The adaptability that is currently lacking from the inorganic materials could come from these materials, but more research is needed.

The present project aims in increasing the efficiency of hackmanites in the aforementioned applications by developing new hackmanite-based materials. These materials are aimed to optimize the harvesting of excitation radiation and transferring it to use in the production of photochromic systems for radiation detection.

### **Papers to be included in the PhD thesis**

No academic publications at the moment.

## NIR-EMITTING PHOSPHORS FOR BIOPHOTONIC IMPLANTS

Sami Vuori

Inorganic Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



sami.p.vuori@utu.fi

**Research Director:** Professor Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Adjunct Professor Mika Lastusaari

**Funding:** Academy of Finland

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

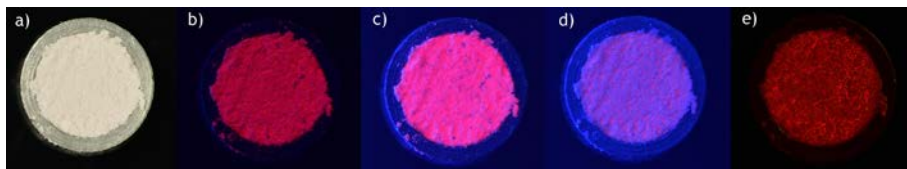
### Main aims of the PhD research

Bioactive glasses have been used to mend and repair various bone-related damages and issues inside the body for a long time. They are currently manufactured as implants with different geometries such as particulates, fibers and scaffolds. The geometry depends on the target: e.g. small particulates ( $< 45 \mu\text{m}$ ) are used in teeth sensitivity treatments, whereas bigger particles are used in bone reconstruction. The glasses usually consist of non-toxic, bioresorbable constituents such as  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$  and  $\text{P}_2\text{O}_5$ .

According to current research, while the glasses are generally thought to degrade in time, in some cases they have not absorbed, and also – in extreme cases – begun to migrate inside the body. Currently there are few means to track or image the pieces of bioactive glass from outside the body, and that is where this PhD research project steps in: my goal is to synthesize safe, low-cost and biocompatible materials with persistent luminescence (PeL) in the NIR ( $\sim 750\text{--}1400 \text{ nm}$ ) region. Tampere University's team, led by Assoc. Prof. Laeticia Petit and Assoc. Prof. Jonathan Massera, will dope bioactive glass samples with these NIR-emitting particles, after which I will study the optical properties of these new NIR-emitting bioactive glasses. In other words, the main goal of the project is to create bioactive glasses that can be probed with white light safely through the skin and thus allow the tracking of bone healing.

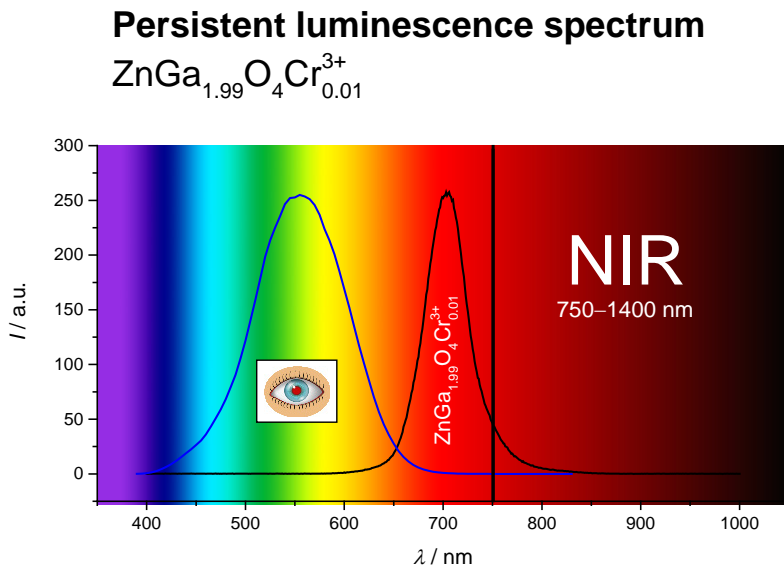
### Main results so far

Chromium is known to give rise to red persistent luminescence, and one extensively studied material known to emit strong red persistent luminescence is  $\text{ZnGa}_{1.99}\text{O}_4:\text{Cr}_{0.01}^{3+}$ , which I synthesized among the first materials in this research. The material itself is whitish or faint pink under natural light, but upon exposure to UV or even sunlight it emits deep, long-lasting red persistent luminescence (Figure 1).



**Figure 1.**  $\text{ZnGa}_{1.99}\text{O}_4:\text{Cr}_{0.01}^{3+}$  a) under an incandescent lamp light b) under 254 nm UV light c) under 302 nm UV light d) under 365 nm UV light and e) in darkness with its own red persistent luminescence after being exposed to 302 nm UV light.

The persistent luminescence spectrum of the chromium-doped zinc gallate is depicted in Figure 2. Although the human's scotopic vision (vision of the eye in low-light conditions) cutoff is located at ~650 nm, the persistent luminescence of this material was so intense that it was easy to see in darkness.



**Figure 2.** The scotopic vision spectrum of the human eye (blue) and chromium-doped zinc gallate's PeL spectrum (black).

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My PhD research project belongs to a new Academy of Finland-funded consortium named GlowTrack where our university is working in collaboration with Tampere University. The project is under the RADDESS (*Radiation Detectors for Health, Safety and Security*) program which was granted two million euros in funding, with 470 775 € allocated for GlowTrack. Thus, this is a significant project for both the research group and the research field since its goal is to discover other imaging technologies than the ones using the effective, yet harmful X-rays.

While I am concentrating on synthesizing and characterizing persistent luminescence materials, Tampere University's expertise lies in synthesizing and manipulating bioactive glasses and scaffolds, meaning that both groups have a distinct area of expertise and can contribute equally to the realization of this project.

### Papers to be included in the PhD thesis

The work started in the beginning of 2020. There are no publications to be included in the PhD thesis at this time.

## NATURE-BASED PERSISTENT LUMINESCENCE MATERIALS

Cecilia Degbe

Inorganic Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



cedegb@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström  
**Supervisor(s):** Adj. Prof. Mika Lastusaari  
**Funding:** Chemistry Department- University of Turku  
**Estimated time of PhD dissertation:** 2022

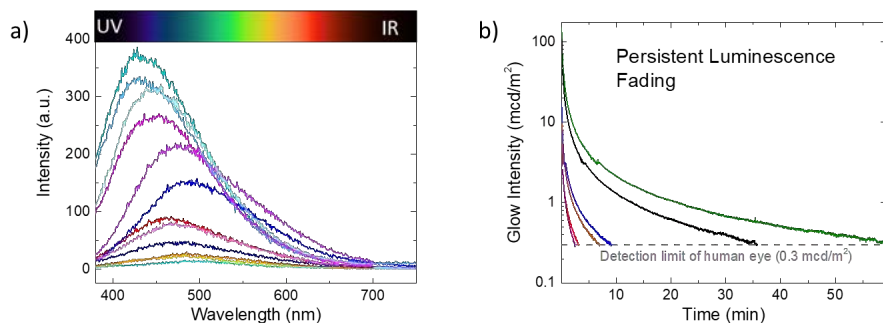
### Main aims of the PhD research

The research is mainly focused on developing synthetic lanthanide-free yet effective luminescent materials based on natural mineral structures. The motivation has been that although luminescent materials are used abundantly in everyday life, e.g. in LED and luminescent lighting, screens (cell phones, televisions, computers, etc.) as well as medical imaging, the common denominator with these materials is that the light produced is due to the presence of lanthanides. Lanthanides, however, have the drawbacks that they are generally costly and that the price may suffer from large variations depending on their main producer China. We aim to produce lanthanide-free luminescent compounds that have applications aside those found by the group already for example in vivo imaging and bio detection and to gain deeper insight into the processes controlling the light absorption of these compounds as well as the energy transfer between the antenna compounds aside.

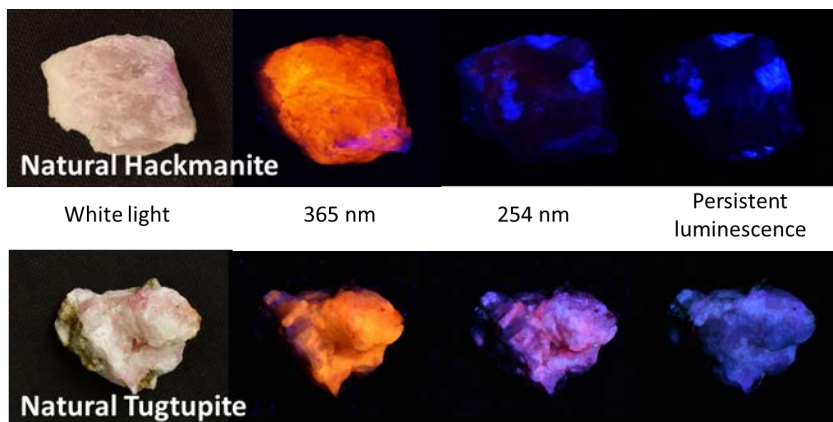
### Main results so far

The Inorganic Materials Chemistry group has developed synthetic low-cost lanthanide-free luminescent materials – SensoGlow® materials based on the mineral hackmanite ( $\text{Na}_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}\text{Cl}_2$ ) which show highly efficient luminescence and the potential of being used in different applications. We however seek to improve the efficiency of hackmanite as well as to study synthetic materials based on other mineral structures such as tugtupite,  $\text{Na}_4\text{AlBeSi}_4\text{O}_{12}\text{Cl}$ , and scapolite ( $(\text{Na,Ca})_4(\text{Al,Si})_3\text{Si}_6\text{O}_{24}(\text{Cl,CO}_3)$ ). The properties of the synthetic materials will be compared with the natural ones.

We have observed that synthetic hackmanites' persistent luminescence color can be tuned by the composition as well as the synthesis conditions (Figure 1a). Similarly, these factors affect also the duration of the persistent luminescence (Figure 1b). Moreover, we have resolved the reasons why only some natural hackmanites show persistent luminescence [2]. The optimization of the synthesis protocol of tugtupite is well on the way.



**Figure 1.** (a) Persistent luminescence emission spectra and (b) fading curves of some synthetic hackmanites.



**Figure 2.** (a) Luminescence and persistent luminescence of natural hackmanite and tugtupite.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My research will help add up to the usability of hackmanites. Through this research, new, cheaper and more efficient lanthanide-free compounds will be synthesized.

### Papers to be included in the PhD thesis

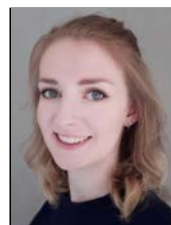
I. Degbe, C., Vuori, S., Norrbo, I., Carvalho, J., Nakamura, L., Lindblom, J., van Goethem, L., Emmerman, A., Saarinen, T., Laihin, T., Laakkonen, E., Lindén, J., Smet, P., Le Bahers, T., and Lastusaari, M., Hackmanite – A Natural Persistent Luminescence Material, *to be submitted*.



## TUNING TENEBRESCENT HACKMANITES ACROSS THE VISIBLE SPECTRUM

Hannah Byron

Inorganic Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



hbyro@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Adj. Prof. Mika Lastusaari

**Funding:** Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences, Business Finland

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

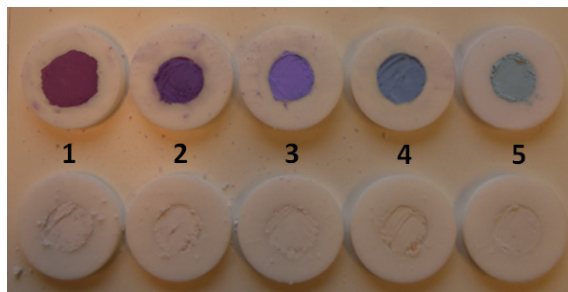
### Main aims of the PhD research

The aims of this PhD research are to thoroughly investigate the tenebrescent (reversibly photochromic) property of hackmanite ( $\text{Na}_8(\text{AlSiO}_4)_6(\text{Cl},\text{S})_2$ ). The natural colour of hackmanite's tenebrescence is purple, but through altering the chemical composition it is possible to change the observed colour of photochromism. Along with the aim of tuning the tenebrescence to show any desired colour of the rainbow, the material will be tuned to also change colour after exposure to a range of wavelengths of light, from UV to visible.

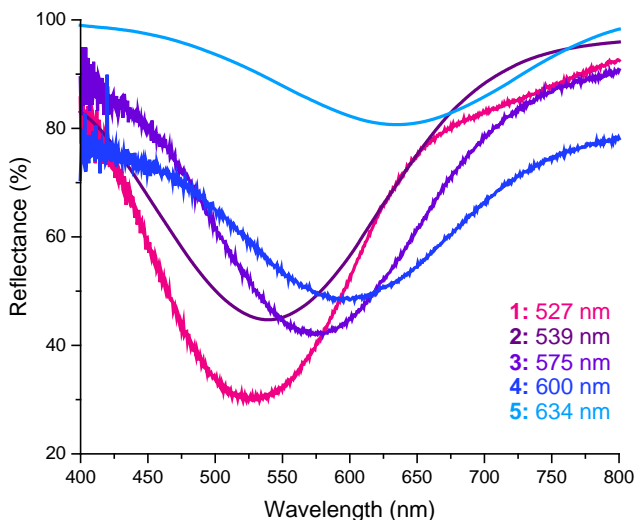
The motivation for this is to produce a cheap and robust reversibly photochromic material, easily tuneable to change to the desired colour, for applications such as smart windows, photochromic eyeglasses and radiation dosimetry. Current inorganic photochromic materials are limited in terms of tuneability and often contain expensive and/or toxic heavy metals. Organic alternatives are highly tuneable but are often not robust enough for extensive and repeated use. Hackmanite, as an easily tuneable, cheap and non-toxic material, is an ideal candidate for the advancement of inorganic photochromic materials.

### Main results so far

A range of hackmanites of differing compositions have been synthesized and their tenebrescence observed. Tuning currently has been done through substitution of sodium and chlorine for other elements. A range of colours has been observed, ranging from a bright pink, through purple, to blue (Figure 1). The observed colour is related to the maximum absorption wavelength of the sample; the reflectance curves of the samples after 254 nm UV irradiation are shown in Figure 2.



**Figure 1.** Tenebrescence of 5 samples made in the PhD work. Top row: after exposure to 254 nm UV light, bottom row: before exposure.



**Figure 2.** Reflectance curves of samples **1-5** after 5 min irradiation with 254 nm UV light. Maximum absorption wavelengths for each are indicated on the graph.

The relationships between the composition, the observed tenebrescence colour and possible excitation wavelengths are still being determined. Some computational methods may be used to assist in understanding this. Once this has been done, more samples will be synthesised in an attempt to achieve red, green, yellow, orange and brown tenebrescence. Synthesis parameters will be optimised so that materials which change to any of the colours are easily synthesisable.

#### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

This work will deepen the understanding of tenebrescence in hackmanites. This will facilitate the tuning of this property for the production of a low-cost, versatile and robust inorganic photochromic material for a range of real-life applications.

#### **Papers to be included in the PhD thesis**

The work started in the beginning of 2020. There are no publications to be included in the PhD thesis at this time.

## Near-IR absorbing metal complexes and their applications in photovoltaic systems

Esko Salojärvi

Inorganic Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



email@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Dr. Ari Lehtonen and Dr. Mika Lastusaari

**Funding:** University of Turku, Doctoral Programme of Physical and Chemical Sciences, Walter Ahlström Foundation and Magnus Ehrnrooth Foundation.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

The main scope of this research is to study the synthesis of some base metal complexes, i.e. 3d transition metals, Zn, Al etc., with so-called non-innocent ligands. A ligand is regarded as non-innocent when the formal oxidation state of the complex is ambiguous. Complexes with non-innocent ligands may have stable organic radicals or conjugated  $\pi$ -systems, which result in the intense absorption of the electromagnetic radiation, usually in the range of visible light. However, some of the complexes, with ligands that have, for example, o-aminophenol moieties coordinating to the central metal ion, may have also intramolecular, low energy metal-to-ligand (MLCT) or ligand-to-metal (LMCT) charge transfer processes that enables the complex to absorb near-IR radiation. The desired application for these complexes is, at the moment, to use them as dye sensitizers in TiO<sub>2</sub> based dye sensitized solar cells (DSSC). In order to produce electric current with DSSC, the sensitizer dye molecule needs an anchoring group that attaches to the TiO<sub>2</sub> surface of the cell. Usually, carboxylic acid group is considered but in many cases, with base metal complexes, carboxylic acid may coordinate to the metal center of the proposed dye complex thus forming polymeric structures that are not utilizable as dye molecules in DSSC application. Therefore, other aim is to develop an alternative for the carboxylic acid anchor.

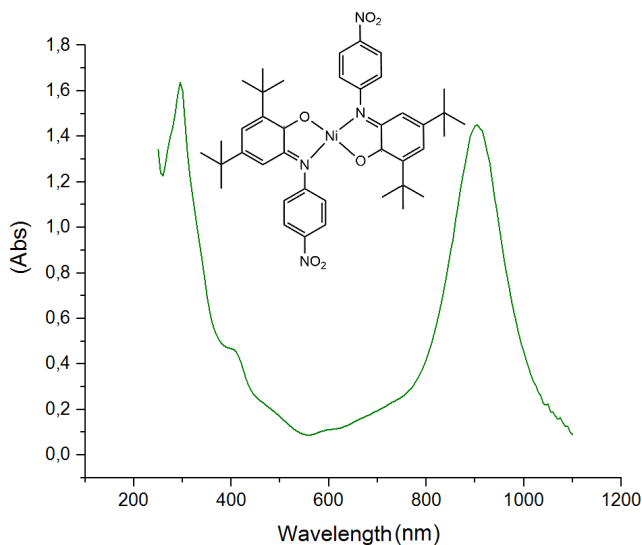
### Main results so far

In this study, stable near-IR absorbing molecules have been obtained and their structures, especially electronic structures, which are quite unusual, have been fully studied. Regretfully, with the lack of a functioning anchor, no successful DSSC experiments have been done. On the other hand, lot of progress have been made when it comes to synthesizing and studying near-IR absorbing transition metal complexes. The research has produced one published article and two manuscripts. The study is ongoing and efforts towards functioning DSSC application are on their way.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Metal organic chemistry is only a part of the superb research done in the Inorganic Materials Chemistry Group but nevertheless, an important one. My research is quite closely related to the inorganic materials chemistry for both of the fields are concentrated to utilize solar irradiation in harvesting energy. On the other hand, these near-IR absorbing complexes may be used in medical imaging as ‘antenna molecules’ incorporated to the surface of nanoparticles that have been studied by other researcher in our group. This research is still very relevant, for the demand for cleantech applications is soaring globally. One finding may turn everything around, rendering previously

praised inventions obsolete. New applications for the complexes with non-innocent ligands will be studied in the future, as stable radicals may be utilized as pharmaceuticals in cancer therapy as well as catalysts in radical-promoted reactions.



**Figure 1.** Synthesised near-IR absorbing Ni complex[1] with its absorption spectrum (in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

#### Papers to be included in the PhD thesis

1. Salojärvi, E., Peuronen, A., Huhtinen, H., Vlasenko, L. S., Halme, J., Mäkinen, P., Lastusaari, M., Lehtonen, A. "NIR-absorbing transition metal complexes with redox-active ligands" *Inorg. Chem. Comm.* 112 (2020) 107711.
2. Salojärvi, E., Peuronen, A., Lahtinen, M., Huhtinen, H., Vlasenko, L. S., Lastusaari, M., Lehtonen, A. Manuscript in progress
3. Salojärvi, E., Peuronen, A., Mansikkamäki, A., Moilanen, J., Huhtinen, H., Lastusaari, M., Lehtonen, A. Manuscript in progress.

## Bioinspired Mo, W and V complexes as oxidation catalysts

Pasi Salonen

Inorganic Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



pajusal@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Dr. Ari Lehtonen

**Funding:** Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences

**Estimated time of PhD dissertation:** 12/2020

### Main aims of the PhD research

The aim of the PhD research is to prepare Mo, W and V model complexes that structurally and/or functionally mimic vanadium haloperoxidase and molybdenum oxotransferase enzymes. These enzymes catalyze various biological oxygen atom transfer (OAT) reactions such as hydroxylation, as well as other oxidation reactions like oxidative halogenation of organic substrates. In the PhD research, structural and/or functional model complexes of these enzymes have been used as catalysts for various industrially relevant OAT reactions *e.g.* epoxidation, sulfoxidation and alcohol oxidation. In order to mimic biological systems, a rational starting point has been to incorporate amino acids, and derivatives thereof, into the ligand and complex designs throughout the project. More specifically, the research has focused in the use and modification of a well-known class of multidentate “aminophenolato” ligands (Fig. 1A and C). Additionally, during the course of the PhD, the introduction of hydrogen bond donor and/or acceptor moieties in the catalyst structures has become a key motivation. These H-bonding motifs have recently been associated with heightened catalytic activities, a phenomenon we have also observed. This, in turn, has allowed for a significant reduction in catalyst loadings, in accordance with the tenets of Green Chemistry.

### Main results so far

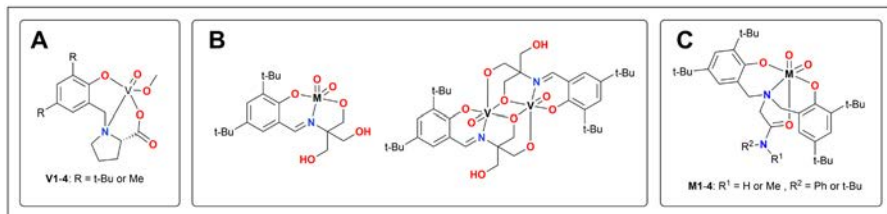
In the first published article, oxidovanadium(V) model complexes (Fig. 1A) bearing biomimetic L-proline derived aminophenolato ligands were investigated as structural and functional models of the enzyme vanadium bromoperoxidase (VBrPO).[1] The model compounds showed some activity in alkene epoxidation and sulfide sulfoxidation, mimicking the action of the VBrPO, as well as in catechol oxidation (unpublished results). However, <sup>51</sup>V NMR investigations revealed that the model compounds were moderately sensitive towards water and oxidants such as peroxides, and that the complexes decomposed during catalytic turnover conditions. It was thus difficult to draw any meaningful structure-reactivity conclusions from the catalytic experiments.

Recently, there has been some evidence to suggest that hydrogen bond donor/acceptor moieties in the outer coordination spheres of various complexes may exert a significant enhancing effect in their catalytic activities. In the subsequent three publications, multiple H-bond donor/acceptor functionalized Mo, W and V complexes have been prepared to further test this hypothesis. In the second paper, bioinspired Mo, W and V complexes bearing a highly hydroxyl functionalized iminophenolato Schiff base ligand were assessed as OAT and catechol oxidation catalysts (Fig. 1B).[2] While their OAT activities were not remarkable, the V variant showed moderate activity in the oxidation of 3,5-di-*tert*-butylcatechol as well as 4-*tert*-butylcatechol, mimicking the action of catechol oxidase. Mechanistic studies investigating the V-catalyzed catechol oxidation strongly point towards a so-called “common catalyst hypothesis”, which is known in the context of

catechol dioxygenase research, but, to the best of our knowledge, never previously reported in the context of catechol oxidase investigations.

The last two publications, for which experimental work is still underway, are done in collaboration with the Mösch-Zanetti Group from the University of Graz, Austria. In both projects, dioxidomolybdenum(VI) and -tungsten(VI) complexes based on aminophenolato ligands featuring variable amido groups – functionalities which have both H-bond donor and acceptor capability simultaneously – are being evaluated as alkene epoxidation catalysts. More specifically, in the third paper, we have been able to show that the activity of MoO<sub>2</sub> and WO<sub>2</sub> complexes is enhanced 10–100-fold if their aminobisphenolato ligand structures contain an amido functionalized pendant arm (“amidobisphenolato” ligands), in comparison to those that contain only either a H-bond accepting (*e.g.* —NMe<sub>2</sub>, —OR), or donating (*e.g.* —OH) moieties (Fig. 1C). In practice, the enhanced catalytic activity has allowed lowering the catalyst loadings to 0.01 mol-% relative to the substrate, while still maintaining reasonable reactivity.

The fourth publication introduces “diamidophenolato” type of ligands. While they are still, in principle, a subclass of the general aminophenolato class of ligands used throughout the PhD, the coordination mode of these new ligands to Mo and W is very different. Catalytic investigations using these new complexes are still on going, but preliminary results are very promising. In the benchmark *cis*-cyclooctene (ep)oxidation, a truly catalytic reaction can be achieved with as low as 0.0001 mol-% (1 ppm) catalyst loads, with total turnover numbers (TON) and turnover frequencies (TOF) reaching up to *ca.* 350 000 and *ca.* 15 000 h<sup>-1</sup>, respectively, values which are matched only by a few other known complexes. Moreover, these new catalysts also display unusual catalytic behavior never before reported, namely that the relative catalytic activity increases with decreasing catalyst load, until plateau is reached at and below 0.1 ppm loadings. Further examination into catalysis, as well as synthetic work for the project is ongoing.



**Figure 1.** Structures of some of Mo, W and V complexes bearing (a/i)minophenolato ligands used throughout the PhD. Structures A–C correspond to publications 1–3, respectively. M = Mo or W.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

In general, the catalysis of organic oxidation reactions using bioinspired transition metal complexes based on earth abundant Mo, W and V is of particular interest to *e.g.* pharmaceutical industry as well as academia when looking for sustainable protocols that endorse the principles of Green Chemistry. Moreover, with the introduction of the new “amidobisphenolato”, as well as the “diamidophenolato” subclass of ligands in particular – both ligand types being as of yet unexploited outside the context of Mo/W catalyzed oxidation – new future protocols involving other transition elements as well as other catalytic reactions, not only limited to oxidation, can be readily envisioned.

### Papers to be included in the PhD thesis

- Salonen, P., Peuronen, A., Sinkkonen, J., Lehtonen, A., *Inorg. Chim. Acta*, 2019, 489, 108–114.
- Salonen, P., Peuronen, A., Lehtonen, A., *Inorg. Chim. Acta*, 2020, 503, 119414.
- Manuscript: Salonen, P., Peuronen, A., Belaj, F., Schachner, J., Mösch-Zanetti, N., Lehtonen, A.
- Manuscript: Salonen, P., Peuronen, A., Belaj, F., Schachner, J., Mösch-Zanetti, N., Lehtonen, A.

# FYSIKAALISEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ

## FYSIKAALINEN KEMIA – KEMIAN TEOREETTINEN PERUSTA JA YHDYSSIDE LÄHITIETEISIIN

Prof. Jukka Lukkari

*Fysikaalisen kemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine,  
Kemian laitos, 20500 Turun yliopisto  
s-posti: jukka.lukkari@utu.fi*

Fysikaalinen kemia muodostaa *teoreettisen pohjan kaikille kemian aloille*. Vaikka fysikaaliskemiallisia teorioita ja malleja ei suoranaisesti käytettäisikään tutkimuksessa, niin tulosten analysointi ja käsittely kuitenkin pohjimmiltaan nojaa fysikaalisen kemian luomaan perustaan. Fysikaalinen kemia on luonnollisesti *kiinteästi yhteydessä fysiikkaan*, niin kuin itse asiassa koko kemiakin. Se käyttää termodynamiikkaa, statistista fysiikkaa, kvanttimekaniikkaa, epälineaarista dynamiikkaa ja muita luontoa koskevia perusteorioita ja -malleja, ja soveltaa niitä kemiallisiin ilmiöihin, jotka ovat usein monimutkaisia ja epäideaalisia. Tämä korostaa kemian ja fysiikan hyvin läheistä suhdetta, nämä ”sisartieteet” kuvaavat materiaalista maailmaamme eri puolilta. Fysikaalinen kemia muodostaa myös luonnollisen *sillan fysikaalisten tieteiden ja biotieteiden välille*, mikä tekee siitä tärkeän myös biologeille ja biokemisteille; tämä seikka on viime aikoina ilahduttavasti näkynyt biokemistien lisääntyneenä osanottona fysikaalisen kemian aineopintokursseille. Opiskelijoiden keskuudessa fysikaalista kemiaa yleisesti pidetään vaikeana alana. Tähän vaikuttaa se, että fysikaalinen kemia perustuu *formaaliseen malliajatteluun* enemmän kuin muut kemian alat; itse asiassa malliajattelun opettaminen onkin fysikaalisen kemian opetuksen tärkeimpiä tehtäviä.

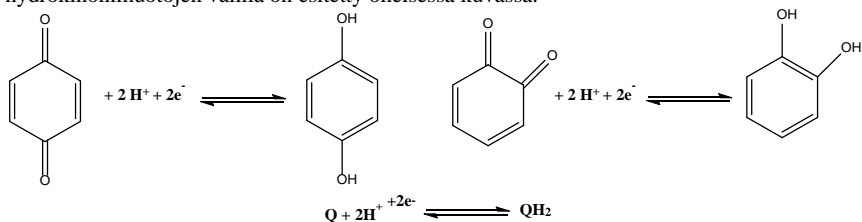
Yleisesti ottaen fysikaalisen kemian tutkimus maailmalla kattaa laajan monitieteisen alueen sisältäen mm. kvanttikemiaa, reaktiodynamiikkaa, rajapintaprosesseja, ja materiaalien sekä biologisten systeemien tutkimusta. Turun yliopistossa fysikaalinen kemia keskittyy lähinnä pariin suurempaan temaattiseen alueeseen ja muutamaaan niitä tukevaan tutkimuskohteeseen. Päättämiskohteina olevat biohajoavan elektroniikan materiaalit sekä syväeutekiset liuottimet liittyvät molemmat läheisesti myös biologisiin ilmiöihin. Kaikessa tutkimuksessa päätavoitteena on *pyrkimys ymmärtämiseen ja mallintamiseen*, ei niinkään ensisijaisesti sovellutuksiin; fysikokemisti on onnellinen, kun hän voi laatia tutkitusta ilmiöstä teorioihin perustuvan mallin ja selittää havaintonsa sen avulla.

### Biohajoava elektroniikka

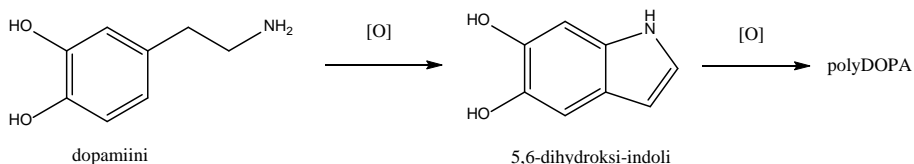
Moderni elektroniikka on tuonut mukanaan vakavan jäteongelman. Tämä ns. e-jäte on useimmiten ihmisille ja ympäristölle haitallista tai jopa myrkyllistä, ja sen sekalainen luonne vaikeuttaa sen käsittelyä. Monissa jokapäiväisissä kuluttajatuotteissa, ympäristöanalytiikassa ja kehonsisäisissä lääketieteellisissä tutkimuksissa tarvittaisiin kuitenkin vain *lyhytikäistä elektroniikkaa*. Kestävän kehityksen mukaisen ratkaisun näihin sovellutuksiin voisi tarjota *biohajoava elektroniikka*. Se valmistetaan käyttäen biologisia tai bioinnoitettuja materiaaleja, jotka aikanaan hajoavat vaarattomiksi tuotteiksi joko elimistössä tai mikrobien vaikutuksesta luonnossa. Biohajoavilla laitteilla olisi laaja sovellutusalue esimerkiksi lääketieteellisessä diagnostiikassa väliaikaisesti kehon sisälle sijoitettavissa mittalaitteissa (esim. ruuansulatuskanavan tutkimus, ”*syötävä elektroniikka*”), laajamittaisessa ympäristöanalytiikassa (esim. ilmasta levitettävien laitteiden parvi, joita ei tarvitsisi kerätä pois), sekä kuluttajapakkausliittettävissä sensoreissa (esim. suoraan ruokatarvikkeisiin lisätyt sensorit).



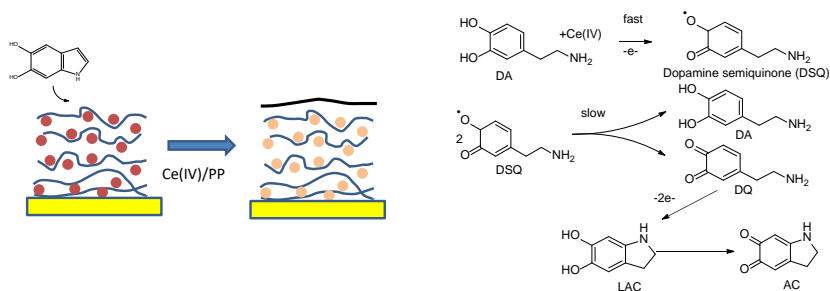
Oleellinen osa mitä tahansa elektronista laitetta on voimanlähde, ja tutkimuksemme lopullinen tavoite onkin kehittää *biohajoavia paristoja ja superkondensaattoreita* voimanlähteiksi biohajoavaan elektroniikkaan. Tässä yhteydessä mielenkiinto on suuntautunut *kinoneihin* ja niiden kaltaisiin yhdisteisiin, kuten esimerkiksi *melaniinipigmenttiin*. Näitä bioinnoitettuja yhdisteitä onkin viime aikoina esitetty käytettäväksi edulliseen ja tehokkaaseen energian varastointiin ja aurinkoenergian tuottamiseen. Tämä ei ole yllättävää, sillä useat elämän kannalta keskeiset energiaprosessit, kuten soluhengitys ja fotosynteesi, perustuvat kinoneihin. Yksinkertaisten 1,4- ja 1,2-bentsokinonin (katekoli) vesiliuoksissa tapahtuvat hapetus-pelkistysreaktiot vastaavien kinoni- ja hydrokinonimuotojen välillä on esitetty oheisessa kuvassa.



Melaniinit ovat kinoidisia biologisia pigmenttejä, joiden tarkkaa rakennetta ei tunneta. Tunnetuin on tumma eumelaniini, jota esiintyy mm. ihossa ja hiuksissa. Melaniinin tärkeimpänä rakennneosana on 5,6-dihydroksi-indoli ja sen johdannaiset, ja synteettistä melaniinia voidaan valmistaa hapettamalla kemiallisesti dihydroksi-indolia tai hermoston välittäjäaine dopamiinia. Tällöin tuotteena on luonnon melaniinin kanssa käytännössä identtinen polydopamiini (polyDOPA). Luonnontuotteena melaniini on bioyhenteensopiva ja -hajoava, ja sitä voidaan myös kemiallisesti muunnella. Se on luonteeltaan puolijohde, sitoo hyvin metalleja (esimerkiksi myrkyllisiä raskasmetalleja) ja muuntaa käytännössä kaiken absorboituneen valoenergian lämmöksi.



**Kuva 1.** Melaniinikalvon muodostuminen ja ceriumin avulla valmistetun melaniinin massaspektri

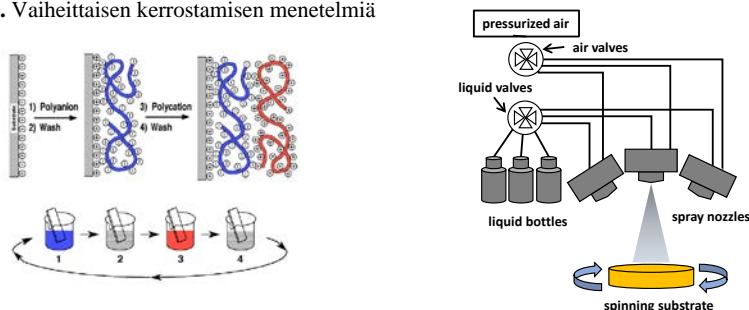


Melaniini esiintyy nanopartikkeleina, mutta hyvälaatuisten kalvojen muodostaminen siitä on ongelmallista, mikä suuresti haittaa sen käyttöä sovellutuksissa. Olemme kehittäneet menetelmän, jonka avulla voidaan muodostaa ohuita melaniinikalvoja haluttuun paikkaan käyttäen Ce(IV) -metalli-ioniin perustuvia hapettavia ohutkalvoja (kuva 1). Olemme myös selvittäneet pH:n ja eri

hapettimien vaikutusta dopamiinin hapetuksen mekanismiin ja kinetiikkaan. Jatkokutkimuksissa selvitetään kinoni- ja melaniinikalvojen mekaanisia ja sähkökemiallisia ominaisuuksia, lopullisena päämääränä niiden käyttö biohajoavassa elektroniikassa. Biohajoavuustutkimukset tehdään yhteistyössä Turun kliinisen biomateriaalikeskuksen kanssa.

Biohajoavat paristot ja superkondensaattorit muodostuvat ohutkalvoista, ja **funktionaalisten ohutkalvojen valmistus ja tutkimus** liittyykin oleellisesti tähän tutkimuskohteeseen. Ohutkalvoilla tarkoitetaan tässä yhteydessä kalvoja, joiden paksuus vaihtelee yleensä välillä 1 – 100 nm. **Vaiheittainen kerrostus** (sequential layer-by-layer deposition, kuva 2) on monipuolinen ja helppo menetelmä, jolla voidaan muodostaa lähes mielivaltaisia eri komponentteja sisältäviä monikerroskalvoja lähes mille tahansa alustalle. Menetelmä voidaan käytännössä toteuttaa eri tavoin ja laitoksella on rakennettu automaattiset kalvonkasvatustaitteistot ns. kasto-, pyöritys-, ruiskutus-, pyöritys-ruiskutus – ja sumutusmenetelmiä varten; oheisissa kuvissa esitetään vaiheittaisen kerrostuksen yleinen periaate ja pyöritys-ruiskutus – sekä sumutusmenetelmä.

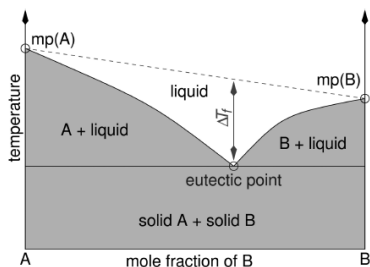
**Kuva 2.** Vaiheittaisen kerrostamisen menetelmiä



Kaikissa peruseräaatteena on kuitenkin kalvojen muodostaminen adsorboimalla pintaan vuorotellen positiivisesti tai negatiivisesti varautuneita molekyylejä. Automaattisten kasvatustaitteistojen avulla voidaan valmistaa lähes mielivaltaisen koostumuksen omaavia satojakin kerroksia sisältäviä ohutkalvoja. Tällä hetkellä keskitymme bioyhteensopiiviin hapettaviin monikerroskalvoihin ja grafeenioksidin (GO) käyttöön niissä. Olemme todenneet GO:n suuresti nopeuttavan kalvojen kasvua ja voimakkaasti vaikuttavan niiden rakenteeseen ja mekaanisiin ominaisuuksiin; tämän ilmiön perusteellinen teoreettinen selvittely on vielä kesken.

### Syväeutteettiset liuottimet

Uusimpana tutkimuskohteena on **syväeutteettisten liuottimien** (deep eutectic solvents, DES) rakenne ja ominaisuudet. Kahden (kiinteän) komponentin A ja B eutektisella seoksella tarkoitetaan tietyn tarkan moolisuhteen omaavaa koostumusta, jossa seos kokonaisuudessaan sulaa selvästi alemmassa lämpötilassa kuin yksittäiset komponentit tai niiden muut seokset (kuva 3). Syväeutteettisiä liuottimia on eri tyyppisiä, mutta mielenkiintoisimmat muodostuvat vetysidononoriasta ja –akseptorista, jotka usein ovat biomolekyylejä; itse asiassa eliöiden selviytyminen ääriolosuhteissa näyttäisi perustuvan niiden soluissa syntyviin syväeutteettisiin liuottimiin. Tämä liuotintilaji tunnistettiin vasta 2000-luvun alussa ja nyt tunnetaan suuri määrä erilaisia eutektisiä seoksia, joista monet ovat nestemäisiä huoneenlämpötilassa (vaikka komponentit olisivatkin kiinteitä aineita).

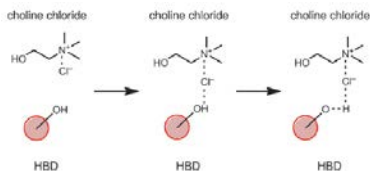


**Kuva 3.** Eutektisen seoksen periaate (vas) ja muodostuminen kiinteistä komponenteista (oik).

Eutektiset liuottimet muistuttavat osittain ionisia nesteitä, mutta niistä poiketen ne eivät ole suoloja, vaan molekulaarisia seoksia. Niillä on useita etuja ionisiin nesteisiin verrattuna. Ne ovat täysin myrkyttömiä ja biohajoavia sekä sietävät vettä. Ionisista nesteistä poiketen eutektisten liuottimien valmistaminen on lisäksi erittäin helppoa ja tarvittavat komponentit hyvin halpoja; useita myydään maailmalla tonnikaupalla. Näillä erittäin ”vihreillä” liuottimilla tulee olemaan suuri merkitys esimerkiksi nanoteknologiassa, syntetiikassa, katalyyttisissä ja erotusmenetelmissä, biosovelluksissa sekä yleensä ns. *kestävässä kemiassa*. Erityisen kiintoisaa on niiden käyttö biohajoavien voimanlähteiden yhteydessä mahdollisina elektrolyyttiliuoksina.

Koliinikloridi on hyvin yleinen komponentti eutektisissa liuottimissa, joita se muodostaa mm. etyleeniglykolin, urean ja glyserolin kanssa. Näissä eutektisen seoksen muodostumisen katsotaan yleisesti aiheutuvan kloridi-ionin vetysitoutumisesta vetysidosdonorin (HBD kuvassa 4) hydroksyyliiryhmään.

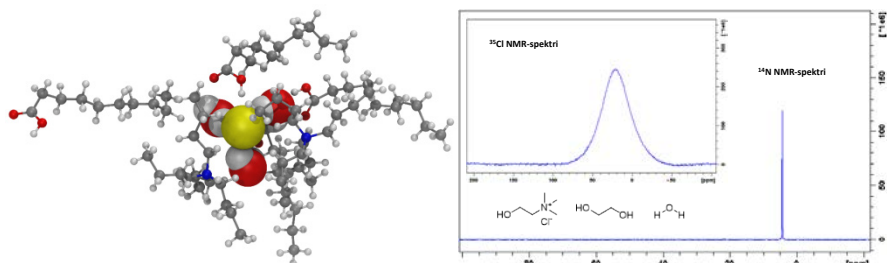
**Kuva 4.** Vetysitoutumisen aiheuttama stabilisaatio eutektisissa liuottimissa.



Tutkimme sekä *hydrofilisia* että *hydrofobisia syväeutektisia liuottimia*. Erityisesti ensin mainitut ovat hyvin hygroskooppisia ja seokset sisältävätkin runsaasti vettä. Veden merkitystä eutektisten liuottimien ominaisuuksiin ja rakenteeseen on, yllättävää kyllä, tutkittu varsin vähän. Tutkimusprojektissamme pyrimme selvittämään

veden merkitystä koliinikloridin ja etyleeniglykolin moolisuhteessa 1:2 muodostamalle syväeutektiselle liuottimelle, etaliinille. Tutkimme veden vaikutusta liuottimen rakenteeseen, ominaisuuksiin ja liuotin-metalli –rajapintojen rakenteeseen käyttäen sekä erittäin kuvia että erilaisen vesipitoisuuden omaavia liuottimia. Hydrofobiset eutektiset liuottimet voivat myös imeä vettä, ja olemme osoittaneet sillä olevan merkittävä vaikutus liuottimen ominaisuuksiin. Tutkimusta tehdään yhteistyössä Modenan yliopiston kanssa, olemme mm. olleet ensimmäisiä, jotka ovat käyttäneet hydrofobisia syväeutektisia liuottimia sähkökemiassa.

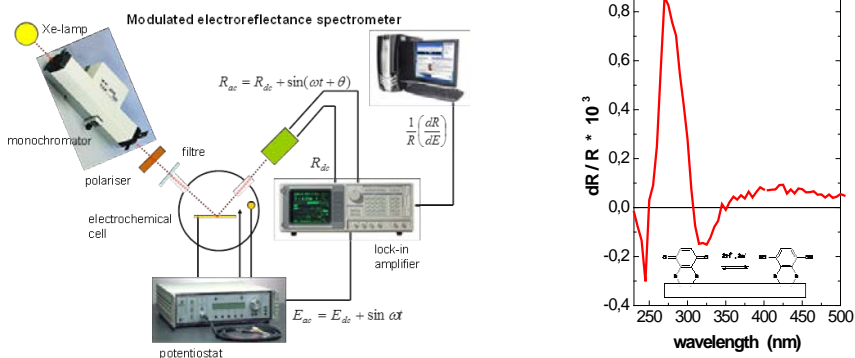
Mikrotason käyttäytymisen tunteminen on ratkaisevaa liuottimien ominaisuuksien ymmärtämiseksi (muista; fysikokemisti haluaa ymmärtää asioita!), mutta useimmat tutkimusmenetelmät antavat vain keskimääräistä makrotason informaatiota. Eräät spektroskooppiset menetelmät, erityisesti NMR, antavat kuitenkin keskimääräistetyn kuvan molekyyllä tapahtumista. Tämä on jo arvokasta tietoa, mutta molekyyllä yksityiskohtainen ymmärtäminen vaatii molekyyllimallinnuksen käyttöä; tämä onkin uusin tutkimussuuntamme (kuva 5).



**Kuva 5.** Molekyylimallinnus vesimolekyylien ympäröimästä kloridi-ionista (keltainen) dekaanihapon ja tetrabutyyliammoniumkloridin muodostamassa 2:1 hydrofobisessa syväeutkisessa liuotimessa (vas.). Etaliinin (1 p-% vettä)  $^{14}\text{N}$  ja  $^{35}\text{Cl}$  NMR-spektrit (oik). Typpispektrin yksinkertaisuus ja kapeus johtuu suuresta symmetriasta ja kloorispektrin leveys kloridi-ionin rajoittuneesta liikkumisvapaudesta.

### *Spektroskooppiset menetelmät: mukana kaikessa*

**Kuva 6.** Mittauslaitteisto moduloitua UV-Vis-reflektanssispektrosähkökemian varten ja kinonimonokerroksen reflektanssispekttri.



Ohutkalvojen ja materiaalien tutkimiseen käytetään ja kehitetään spektroskooppisia menetelmiä, erityisesti spektrosähkökemiallisia menetelmiä. Elektrodi-liuos –rajapintaa voidaan tutkia *pinta-herkistetyllä Ramanspektroskopiolla* (SERS). Sähkökemiallisesti aktiivisten kalvojen tutkimiseen UV-vis –alueella soveltuu esimerkiksi *moduloitu reflektanssispektroskopia*. Siinä elektrodin potentiaalia moduloidaan ja mitataan tämän aiheuttamat (erittäin pienet) vaihtelut pinnasta heijastuvan valon intensiteetissä. Menetelmä on niin herkkä, että sillä pystytään tutkimaan jopa epätäydellisiä monokerroksia elektrodin pinnalla.

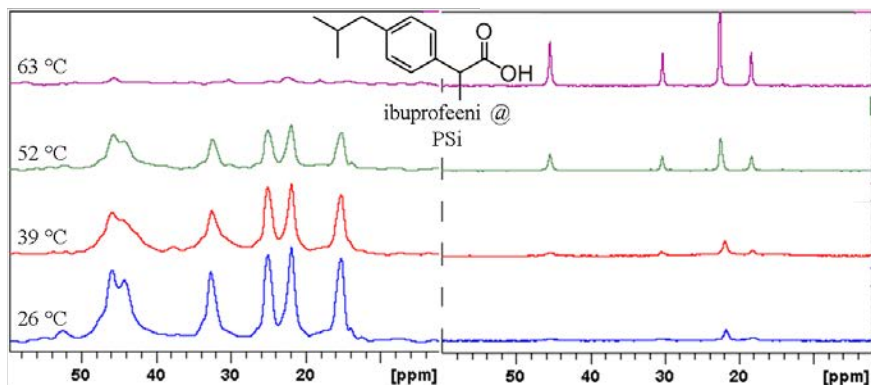
*Ydinmagneettisen resonanssispektroskopian* (NMR) avulla voidaan toisaalta tutkia monia orgaanisten, epäorgaanisten ja metallo-orgaanisten yhdisteiden, sekä seosten, polymeerien ja nanomateriaalien ominaisuuksia (kaasu-), neste- ja kiinteässä faasissa. Sovelluksia ovat mm. yhdisteen rakenteen varmistus ja/tai määrittäminen, liuostilaisen yhdisteen kolmiulotteisen avaruusrakenteen selvittäminen, polymeerien ja makromolekyylien koon arviointi, diffuusion tutkiminen, kemiallinen kinetiikka ja termodynamiikka, sekä molekulaarisen liikkeen tutkiminen. Näissä

tutkimuksissa sovelletaan monia moderneja pulssitettuja FT-NMR-tekniikoita, kuten kaksiuotteista korrelaatiokeskittämistä (2D NMR), NOE-mittauksia (1D ja 2D NOESY), diffuusioeroiteista gradienttivasteista spektroskopiaa (DOSY),  $T_1/T_2$ -relaksaatioaikamittauksia ja kiinteän tilan NMR-tekniikoita (SSNMR). Tulosten analysoinnissa käytetään apuna mm. iteratiivista spektrisimulaatiota, spektrioppiin dekonvoluutiota, ja molekyylihallinnusta. NMR-spektroskopiolla voidaan saada keskimääräistä molekyyliolosuhteiden informaatiota mm. syväeutekisten liuottimien rakenteesta ja yhdistää tämä mallinnustuloksiin täydellisemmän kuvan saamiseksi.

*Elektronin spinresonanssispektroskopia* (ESR) on erityisen tärkeä menetelmä kiinteiden yhdisteiden tutkimuksessa, ja mittaukset tehdään yhteistyönä Slovakian teknillisen yliopiston kanssa.

kiinteälle faasille selektiivinen  
 $^{13}\text{C}$  CP/MAS SSNMR-spektri:

nestefaasille selektiivinen  
 $^{13}\text{C}$  MAS SSNMR-spektri:



**Kuva 7.** Huokoiseen piihin (PSi, huokoskoko n. 12 nm) absorboidun ibuprofeenin asteittainen kiinteä–neste-faasitransitio lämpötilaa kasvatettaessa kiinteän tilan NMR:llä (SSNMR) havaittuna. Ibuprofeenin sulamispiste vapaana ("bulkki") on n. 77 °C.

### Lantanoidikelaattien fotofysiikka ja luminesenssi.

Lantanoidien, erityisesti europiumin kelaatteja käytetään runsaasti bioanalytiikassa niiden luminesenssiominaisuuksien vuoksi. Niihin liittyvässä tutkimuksessa pyritään löytämään aikaisempaa parempia yhdisteitä, jotka ovat sopivan pysyviä ja luminoivat kirkkaasti. Samalla tutkitaan näissä komplekseissa esiintyviä energiansiirtoreittejä. Tämä tutkimus on keskittynyt Eu- ja Tb-kelaattien fotofysiikkaalisiin ominaisuuksiin.

## MATERIALS FOR BIODEGRADABLE POWER SOURCES

Lauri Marttila

Physical Chemistry, Department of Chemistry, University of Turku



ljmart@utu.fi

**Research Director:** Prof. Jukka Lukkari

**Supervisor(s):** Prof. Jukka Lukkari, Dr. Mikko Salomäki and Dr. Henri Kivelä

**Funding:** Emil Aaltonen Foundation; University of Turku, Department of Chemistry

**Estimated time of PhD dissertation:** 3/2021

### Main aims of the PhD research

Transient implantable medical devices and biodegradable environmental sensors are examples of instruments that can be powered by small batteries or supercapacitors. The long-term goal of our group is to fabricate small biodegradable power sources suitable for these devices by using bioinspired materials.

Many biological processes dealing with energy are based on quinones, and we are particularly interested in melanins. Natural melanins like eumelanin are widely distributed in nature. In the human body, melanins can be found, e.g., in the skin, hair and eyes. Synthetic polydopamine resembles natural eumelanin and it can be easily produced by oxidizing dopamine with various oxidants. However, although melanin-type compounds are highly studied materials, it is challenging to prepare electroactive melanin-type films suitable for applications. We attempt to solve this problem by using oxidative films that can oxidize precursors from an aqueous solution into the film structure. For this reason, I study the production and the properties of oxidative films in detail. We also study the applicability of other quinonoid materials like p-benzoquinone in the production of electroactive thin films for energy storage.

### Main results so far

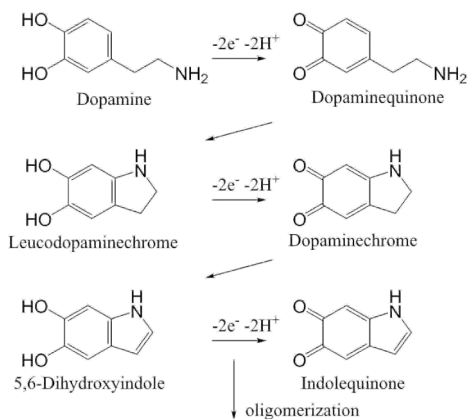
Hydroquinone/p-benzoquinone are mobile redox active molecules with potential in energy storage applications. Attachment of p-benzoquinones to self-assembled layer-by-layer (LbL) multilayer films has been studied in our laboratory.[1] p-Benzoquinone can diffuse into the multilayer films and attach covalently to the amino groups of polyelectrolyte molecules or non-covalently to the aromatic structure of graphene oxide (GO). The electrochemical response of hydroquinone/p-benzoquinone pair in the films depends e.g. on the pH and on the quinone substitution.

Thin redox active melanin-type films have already been previously prepared in our laboratory by using oxidative LbL multilayers. These oxidative films are based on redox active metal cation, e.g. on Ce(IV). However, the oxidative capacity of thin oxidative films is limited and has to be increased.

In order to prepare thicker melanin-type films with oxidative LbL multilayers, we have studied two research questions. First, we have studied transition-metal-assisted polydopamine formation in detail. Polydopamine is a widely studied material and it is well known that even dissolved oxygen from air oxidizes dopamine into polydopamine in basic conditions. However, metal ions like Ce(IV) and Fe(III) can be used for dopamine oxidation even in acidic and anaerobic conditions. The general pathway of the polydopamine formation from dopamine is also well known (Figure 1) even though the structure of polydopamine is very complicated.

We have studied[2] the pH dependency of the oxidation of dopamine and the role of metal ions (Ce(IV), Fe(III) and Cu(II)) in the oxidation process, both under aerobic and anaerobic conditions. We have explained the pH dependency of the oxidation of dopamine by using the thermodynamic analysis of the initial steps of the reaction. In addition, we clarified the role of metal ions in the oxidation process. We showed that the acceleration of dopamine oxidation to dopaminesemiquinone by metals is enough to explain the rate enchantment of the overall oxidation process.

Our second aim is to study the preparation and properties of oxidative films further. Oxidative LbL multilayer films can be produced with automated techniques like spin-spray technique.[3] We have studied the performance of oxidizing spin-spray-[polyphosphate/Ce(IV)/GO/Ce(IV)] films by oxidizing 3,4-ethylenedioxythiophene into poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) into the film structure. GO in the films can be electrochemically reduced after the polymerization. The amount of electrochemically active PEDOT in the films and their areal capacitance (F/cm<sup>2</sup>) both increase nearly linearly with the film thickness. The specific capacitance of the films is promising, over 100 F/cm<sup>3</sup>.



**Figure 1.** The oxidation of dopamine to polydopamine (metal-ions are not taken into account)

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My work provides knowledge about melanin-type compounds and p-benzoquinone based films. In addition, I study the production and properties of oxidative films in detail and we aim to study the preparation of polydopamine-based films further with this method.

In the long term, the aim of the group is to create the prototype(s) of biodegradable power source(s). The future applications of implantable electronic devices are greatly dependent on the development of biodegradable and nontoxic components for electronic devices. Additionally, these power sources could be used in sustainable electronic devices, e.g., for widespread environmental monitoring with a minimal burden to the nature.

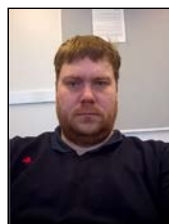
### Papers to be included in the PhD thesis

1. "Incorporation of p-Benzoquinone in Layer-by-Layer Films for Energy Storage", manuscript in preparation.
2. Salomäki, M., Marttila, L., Kivelä, H., Ouvinen, T., Lukkari, J. J. Phys. Chem. B, 2018, 122, 6314–6327.
3. "Oxidative Spin-Spray Assembled Coordinative Multilayers as Platforms for Capacitive Films", manuscript in preparation.

## ENERGY TRANSFER IN LUMINESCENT LANTHANOID CHELATES

Markus Räsänen

Physical Chemistry, Department of Chemistry, University of Turku



mpvras@utu.fi

**Research Director:** Prof. Jukka Lukkari

**Supervisor(s):** Prof. emer. Jouko Kankare

**Funding:** Doctoral Programme DIA-NET, Turku University Foundation, Magnus Ehrmrooth Foundation.

**Estimated time of PhD dissertation:** 06/2020.

### Main aims of the PhD research

The aim of this research is to study the factors that affect the luminescence properties of the lanthanoid complexes. Depending on the ligand, the complexes are strongly luminescent and thus have a wide application area including their use in bioanalysis. The discussion in the literature concerning the roles of the charge transfer (CT) and singlet states in the energy flow within the lanthanoid complexes leaves the energy transfer route question unresolved. The main purpose of this research is to study the energy flow in these complexes.

### Main results so far

In the first article [1], the photophysical properties of a series of substituted aromatic  $\beta$ -diketone complexes of Eu(III) were studied, and the substituents were selected based on their different electron donating ability. The electron donating ability had no straightforward effect on the quantum yield of the whole complexes series but if only the complexes with appropriate ligand triplet state level are taken into account, the ILCT-state (Intra Ligand Charge Transfer state) seems to have a role in the energy transfer from the ligand to Eu(III). The LMCT-state (Ligand-to-Metal Charge Transfer state) seems to quench the luminescence.

In the second article [2], the blue-light excitable ternary Eu(III) complexes and their encapsulation into the polystyrene nanoparticles were studied. The ternary complexes consisted of the most interesting  $\beta$ -diketones used in the first article, the Lewis base (4'-(4-diethylaminophenyl)-2,2':6,2''-terpyridine) and Eu(III). The complexes can be excited even at 450 nm and thus they can be applied to biological imaging. Unfortunately, they are not stable in aqueous environments. Because of this, we tried to encapsulate them in polystyrene nanoparticles. This attempt was successful, suggesting that the particles loaded with these ternary complexes can be used for bioimaging. Moreover, the results show that there does not exist the energy transfer between ligands.

In the third article [3], the ternary complexes of EuY (Y = EDTA) with differently substituted dipicolinic acids (dpads) were studied in order to evaluate the role of dpads in the luminescence brightnesses of these complexes. These ternary complexes mimic the homogeneous duplex polymerase chain reaction assay concepts, for which the dpads are synthesized. The aim of this study was to improve the brightness of the ternary complex of Eu(III) currently used in this assay. Eight of the studied ternary dpad complexes had brighter luminescence than the currently used dpad, and one of them was nearly three times brighter. Moreover, the tridentate dpads were shown to



complex partially as monodentate ligands. The results indicate that the ILCT state has a role in the energy transfer from the dpads to Eu(III).

In the fourth article [4], the study of TbY with a series of some of the previously studied dpads revealed that within these TbY-dpad complex series the quantum yield order followed the triplet state energy order rather than the ILCT state energy order. However, the energy back-transfer to the triplet state cannot be excluded as a reason for this observation. Moreover, the study pointed out that the energy can back-transfer to the emissive ILCT state emphasizing that only deconvoluted emission spectra must be taken into account in the ligand development.

The results of these articles on the energy transfer in lanthanide complexes will be combined to a Ph.D. thesis.

### **The significance of my research for the research group and the whole research field**

The research will increase the understanding of the fundamental photophysics of the lanthanide complex luminescence and, thus, probably widen their applications area.

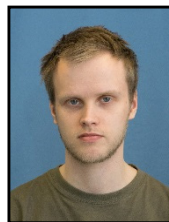
### **Papers to be included in the PhD thesis**

1. Räsänen, M., Takalo, H., Rosenberg, J., Mäkelä, J., Haapakka, K., Kankare, J. J. *Lumin.* 2014, *146*, 211-217.
2. Räsänen, M., Takalo, H., Rosenberg, J., Soukka, T., Haapakka, K., Kankare, J. J. *Lumin.* 2015, *160*, 128-133.
3. Räsänen, M., Rosenberg, J., Lukkari, J., Haapakka, K., Kankare, J., Takalo, H. *J. Lumin.* 2017, *187*, 471-478.
4. Räsänen, M., Takalo, H., Rosenberg, J., Haapakka, K., Lukkari, J., Kankare, J. J. *Lumin.* 2020, *220*, Article 116967.

## BIODEGRADABLE POWER SOURCES – PERFORMANCE AND OPTIMIZATION

Tuomo Ouvinen

Physical Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



thouvi@utu.fi

**Research Director:** Prof. Jukka Lukkari

**Supervisor(s):** Prof. Jukka Lukkari, Dr. Mikko Salomäki and Dr. Henri Kivelä

**Funding:** Finnish Cultural Foundation, TOP-Säätiö, Magnus Ehrnrooth Foundation.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2022

### Main aims of the PhD research

Many everyday products, environmental sensors, implantable medical devices and consumer packages require only transient electronic components. Biodegradable electronics would be an environmentally friendly solution. Previous fabrication methods for such electronics have enabled automation and mass production but not nanoscale precision or structures with complicated composition. To achieve these goals, my research applies advanced layer-by-layer (LbL) techniques for biodegradable supercapacitor fabrication.

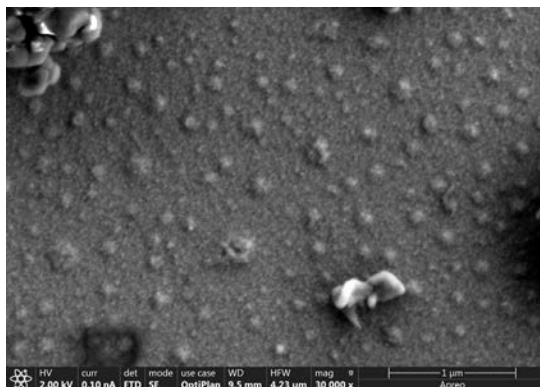
Quinones and other bio-related compounds, e.g., melanin and polydopamine, are versatile and cost-effective high energy density materials. As an alternative to traditional dipping methods, I utilize techniques such as spin spray coating and nebulization-LbL to form electroactive and biodegradable films from suitable precursors such as dopamine. The mechanisms of charge transfer, kinetics and added metals will be studied. The results are used to optimize the composition and structure of the films in order to achieve optimal charge capacity, redox kinetics and conductivity.

Supercapacitors and batteries also require an ion-conducting phase between the electrodes. Traditional aqueous solutions can dry easily and are prone to leakage. Deep eutectic solvents will be studied for this role, as they are ideally biocompatible and –degradable, low-cost solvents, which also have very low vapor pressure and higher viscosity than water. Natural DESs containing water and, e.g., sugars would be an attractive possibility. These solvents mimic concentrated biological fluids and the water content offers an extra parameter to control their properties. DESs would offer a nontoxic electrolytic connection in biodegradable power sources but the characteristics of proton coupled electron transfer processes of quinonoid compounds, and the charge transfer kinetics must be studied in these solvents.

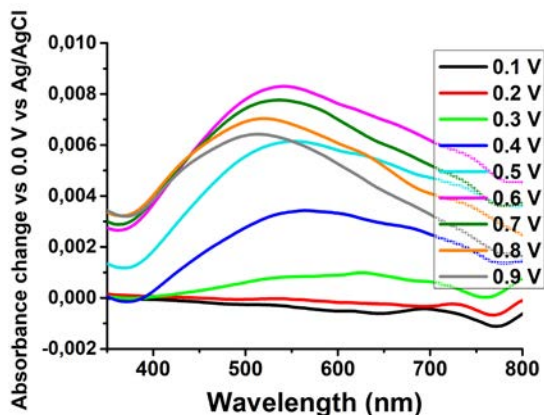
### Main results so far

Reaction speed is critical in film formation through spin spray coating. Typical melanin-like films are prepared through autoxidation by ambient oxygen and have reaction times of hours to days, but spin coating requires the reactions to take place quickly. Suitable oxidants and pH range allow film deposition to take place in approximately one minute per layer. Even this requires relatively low rotational speeds (~250 rpm) from the spin coater. Film formation is very fast with this method. In fact, the films produced have been so thick that their electrochemical characterization has proven difficult.

In order to study the electrochemical properties of the films, thinner films have been prepared with the traditional dipping method and analyzed with cyclic voltammetry, alternating current voltammetry, impedance and capacitance measurements and spectroelectrochemical methods.



**Figure 1.** SEM-image of a polydopamine film on gold surface.



**Figure 2.** UV-Vis spectra of a PDA film measured at different potentials.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

Functional organic thin films have been a major research focus in our laboratory. Significant international collaboration has been planned for my research. The difficulty of precise physicochemical characterization of melanin-like materials has complicated their utilization in materials development despite of their many intriguing properties. New, advanced methods are required to produce high quality films.

### Papers to be included in the PhD thesis

I. Salomäki, M.; Ouvinen, T.; Marttila, L.; Kivelä, H.; Leiro, J.; Mäkilä, E.; Lukkari, J. Polydopamine Nanoparticles Prepared Using Redox-Active Transition Metals. The Journal of Physical Chemistry B 2019, 123, 2513-2524.

# MATERIAALIKEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ



Materials Chemistry Research Group

## MATERIAALIKEMIA – MODERNIN TEKNOLOGIAN PERUSTA

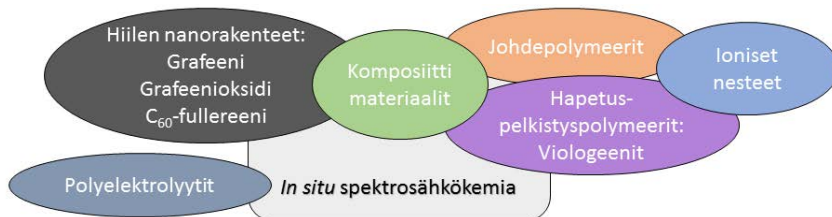
Prof. Carita Kvarnström, yliopisto-opettajat Pia Damlin ja Mikko Salomäki

*Materiaalikemian tutkimusryhmä,  
Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto  
s-posti: [carita.kvarnstrom@utu.fi](mailto:carita.kvarnstrom@utu.fi)*



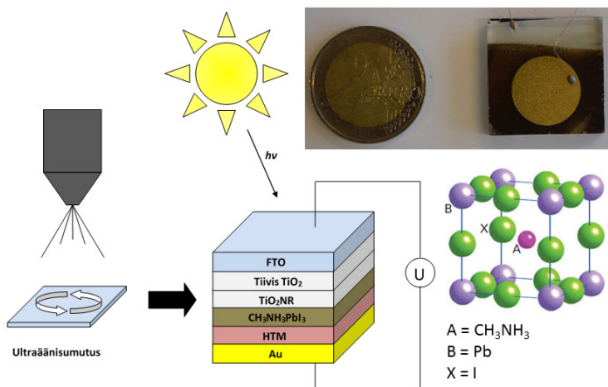
**Kuva 1.** Materiaalikemian tutkimusryhmä.

Toiminnalliset materiaalit, jotka arkikielessä tunnetaan ”älykkäinä materiaaleina”, reagoivat ympäristössä tapahtuviin fysikaalisiin tai kemiallisiin ilmiöihin esimerkiksi muuntamalla ominaisuuksiaan kuten sähkönjohtavuutta tai väriä. Materiaalikemian tutkimusryhmässä ([materialschemistry.utu.fi](http://materialschemistry.utu.fi)) tutkittavat materiaalit ovat sähköä johtavia, valoherkkiä, ionierkkiä tai katalyyttisesti aktiivisia. Yhteistä niille on, että niiden ominaisuuksia voidaan säädellä ulkoisin keinoin tai materiaalit itse mukautuvat kulloiseenkin fysikaaliseen ja kemialliseen ympäristöönsä. Tutkittavat materiaalit ovat orgaanisia materiaaleja, kuten johdepolymeerejä, polyelektrolyyttejä ja hiilen uusimpia allotrooppeja fullereeneja ja grafeenia sekä näiden materiaalien komposiitteja. Ryhmässä kehitetään paitsi uusia materiaaleja myös uusia valmistus- ja analyysimenetelmiä materiaaleille.



## Aurinkokennot ja energian varastointi

Aurinkokenno on laite, joka pystyy muuttamaan auringon säteilyn sähköenergiaksi. Arjesta tutut siniset aurinkokennot ovat ensimmäisen sukupolven aurinkokennoja ja niiden toiminta perustuu epäorgaaniseen piihin. Toisen ja kolmannen sukupolven aurinkokennot perustuvat orgaanisiin tai orgaanis-epäorgaanisiin hybridimateriaaleihin ja ne voivat olla ohuita ja taipuisia. Materiaalikemian tutkimusryhmällä on pitkät perinteet toisen ja kolmannen sukupolven aurinkokennoihin soveltuvien materiaalien tutkimuksessa. Tutkimuksemme on keskittynyt lähinnä johdepolymeereihin sekä fullereenin johdannaisiin. Johdepolymeerit koostuvat konjugoituneesta hiilivetyketjusta. Konjugoitunut rakenne tarkoittaa, että ketjussa yksinkertaiset ja kaksinkertaiset sidokset vuorottelevat (Kuva 4). Konjugoituneen rakenteensa ansiosta johdepolymerien sähköjohtavuutta voidaan muuttaa ulkoisen sähköpotentiaalilla eli lisäämällä tai riistämällä rakenteesta elektroneja. Aurinkokennoissa johdepolymeerit toimivat elektronin luovuttajina. Fullereenien tutkimus keskittyy C<sub>60</sub>-fullereenin johdannaisiin. Nämä johdannaiset sisältävät kompleksoivia ja itsejärjestymistä edesauttavia toiminnallisia ryhmiä. Fullereenijohdokset toimivat aurinkokennoissa elektroninvastaanottajina. Kuvassa 2 on esitetty perovskittiin perustuva aurinkokenno, joka on valmistettu ultraäänisumutusmenetelmällä.



**Kuva 2.** Kaaviokuva ultraäänisumutuksesta ja perovskittiaurinkokennosta sekä perovskitiin kiderakenne.

Ryhmässämme tutkitaan paitsi energian muuttamista valosta sähköenergiaksi myös sähköenergian varastoinnista. Autoilu on yksi merkittävimmistä kasvihuonekaasupäästöjen lähteistä, mutta sähköautojen määrä on kuitenkin edelleen hyvin alhainen. Yksi syy tähän ovat raskaat perinteiset akut, joiden vuoksi sähköautojen tehokkuus on heikko, ja joiden lataaminen kestää pitkään. Superkondensaattorit ovat yksi ratkaisu. Ne ovat energianvarastointisovelluksia, joiden toiminta perustuu sähkökemiallisen kaksoiskerroksen muodostumiseen elektrodin pinnalle, minkä vuoksi ne voidaan ladata nopeasti ja niiden elinikä on huomattavasti pidempi kuin akkujen. Ryhmässämme tutkitaan johdepolymerien ja grafeenin komposiitteja aktiivisina komponentteina kevyissä ja taipuisissa superkondensaattoreissa (Kuva 4). Komposiitit nimensä mukaisesti muodostuvat useasta aineesta (engl. compose), jotka eivät kuitenkaan sulaudu toisiinsa. Toinen tuo lujuutta, toinen sitoo lujuutta tuovan materiaalin, antaa kappaleelle muodon ja jakaa rasitusvoimia. Oljista ja savesta tehty tiili on ikivanha esimerkki komposiitista.

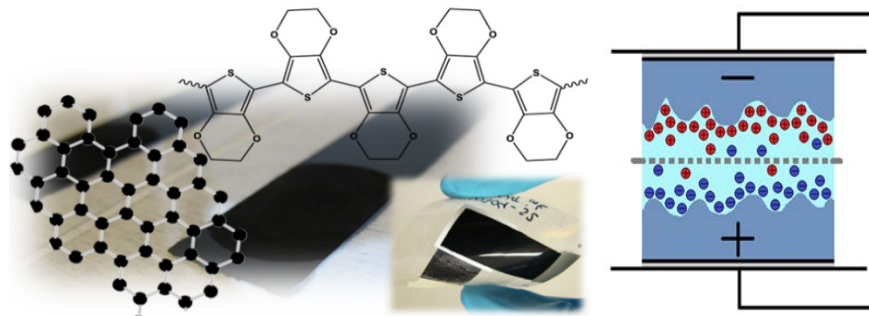
Grafeeni on saavuttanut merkittävän aseman materiaalitutkimuksessa, koska se on erinomainen sähkö- ja lämmönjohde sekä mekaanisesti kestävin tällä hetkellä tunnettu materiaali. Tuiki tavallinen grafiitti koostuu löyhästi toisissaan kiinni olevista yhden hiiliatomin paksumista

grafeenilevyistä. Grafeenia voidaan valmistaa grafiitista erottelemalla siitä yksittäisiä levyjä tai hapettamalla grafiitti grafeenioksidiksi, joka muodostuu irrallisista hapettuneista grafeenilevyistä. Grafeenioksidi on eriste, joten useimpia sovelluksia varten se on pelkistettävä takaisin grafeeninkaltaiseksi. Tutkimme erityisesti grafeenin valmistusta suoraan grafiitista mekaanis-kemiallisiin menetelmiin, grafeenioksidin kemiallista ja sähkökemiallista pelkistystä sekä grafeenilevyjen muokkaamista ionisilla nesteillä.



**Kuva 3.** Ionisia nesteitä

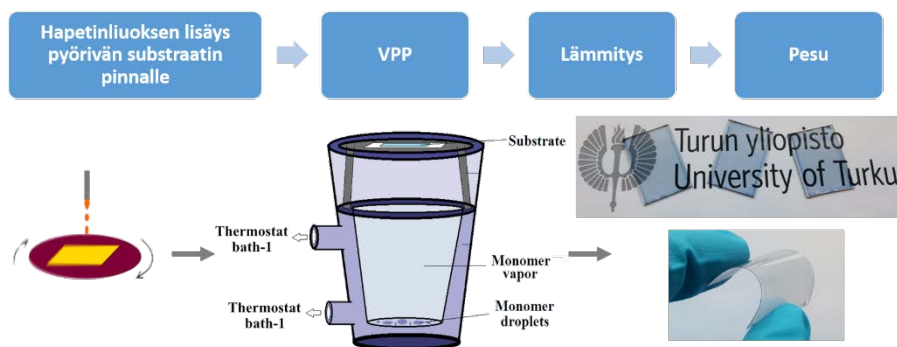
Ionisilla nesteillä on osoitettu olevan suuri vaikutus johdepolymerien rakenteeseen ja sähkökemialliseen aktiivisuuteen. Ioniset nesteet ovat suurikokoisia ja epäsymmetrisistä orgaanisista ja epäorgaanisista kationeista ja anioneista koostuvia suolasulua, jotka ovat huoneenlämmössä nestemäisiä (Kuva 3). Ioniset nesteet eivät haihdu, minkä vuoksi niiden käyttö on turvallisempaa kuin orgaanisten liuottimien. Viime vuosina on valmistettu myös useita koliinipohjaisia ionisia nesteitä, jotka on luokiteltu biohajoaviksi. Käytämme ionisia nesteitä sekä kalvojen valmistuksessa että elektrolyyttinä itse sovelluksissa kuten superkondensaattoreissa.



**Kuva 4.** Johdepolymeeri-grafeenikompositista valmistettu joustava superkondensaattori ja sen toimintaperiaate.

Sovellutuksia varten on usein tarkoituksenmukaista valmistaa ohuita kalvoja. Ohutkalvoilla tarkoitetaan tässä yhteydessä kalvoja, joiden paksuus vaihtelee 1 nm – 1  $\mu$ m. Ohutkalvoja valmistetaan ryhmässä usealla eri menetelmällä: itsejärjestäytyminen, vaiheittainen kerrostaminen, sähkökemiallinen polymerisaatio, höyryfaasipolymerisaatio sekä aerosoli- tai nebulisaatiopinnoitus. Sähkökemiallista polymerisaatiota käytetään erityisesti johdepolymerikalvojen valmistuksessa. Tällä menetelmällä voidaan valmistaa kalvot suoraan sovellukseen käytettävään johtavaan pintaan hallitusti. Vaiheittainen kerrostus on monipuolinen menetelmä, jolla voidaan muodostaa lähes mielivaltaisia eri komponentteja sisältäviä monikerroskalvoja lähes tahansa alustalle. Menetelmä voidaan käytännössä toteuttaa eri tavoin, mutta kaikissa peruseräaatteena on kalvojen muodostaminen adsorboimalla pintaan vuorotellen positiivisesti ja negatiivisesti varautuneita molekyylejä. Aerosolipinnoituksessa pinnoitemateriaali sumutetaan paineilman avulla hienojakoisena aerosolina kalvoksi halutulle pinnalle. Usein menetelmässä käytetään pyörivää kohdepintaa homogeenisen kalvon aikaansaamiseksi. Aerosolipinnoituksella voidaan saavuttaa jopa nanometrimittaluokan tarkkuus kalvonkasvatuksessa. Nebulisaatiopinnoituksessa eli ultraäänivusteisessa pinnoitus-menetelmässä pinnoitemateriaalista muodostetaan hyvin hienojakoinen silmälle näkymätön sumuvirtaus kohti

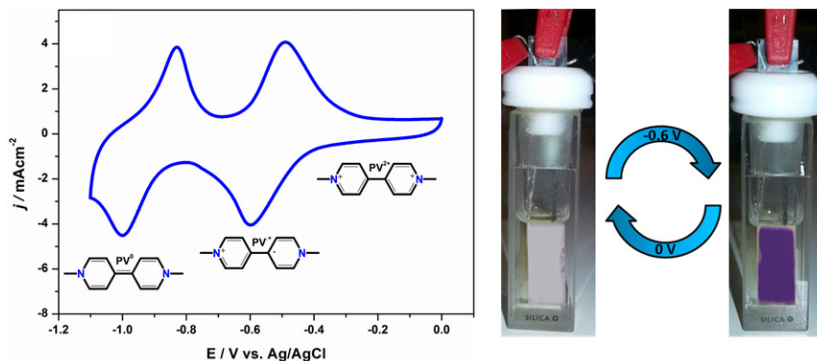
pinnoitettavaa materiaalia (Kuva 2). Kyseisellä menetelmällä voidaan minimoida arvokkaiden pinnoitemateriaalien kulutus jopa mikrolitratasolle. Ryhmässä on valmistettu täysin automaattiset tietokoneohjatut pinnoituslaitteistot, joita voidaan käyttää monessa eri pinnoitusmenetelmässä. Höyryfaasipolymerointi (vapour phase polymerization, VPP) on innovatiivinen menetelmä, jossa höyrytetty monomeeri on kontaktissa sopivalla hapettimella pinnoitetun substraatin kanssa (Kuva 5). Kyseisessä menetelmässä polymerointireaktio tapahtuu hapetinkalvo/höyryfaasi – rajapinnalla. VPP-menetelmällä on muutamia keskeisiä etuja verrattuna muihin käytössä oleviin polymerointimenetelmiin. Sen avulla voidaan valmistaa erittäin johtavia johdepolymeerikalvoja halutun substraatin pinnalle. Korkea johtavuus aiheutuu pääasiassa siitä, että VPP:ssä polymerointireaktio tapahtuu kiinteällä pinnalla, eikä liuoksessa, jossa liuoksen kuljetusominaisuudet johtavat usein tuotteen agglomeroitumiseen ja passiivisen materiaalin muodostumiseen. VPP:n avulla voidaan valmistaa myös hyvin läpinäkyviä johdepolymeerikalvoja, joita voitaisiin käyttää indiumtinaoksidin korvaajana esimerkiksi näyttösovelluksissa.



**Kuva 1.** Höyryfaasipolymerisaation vaiheet, reaktiokkenno ja valmistettuja polymeerikalvoja lasi/PET substraateilla.

### Sähkökromiset ikkunat ja näytöt

Kuvittele ikkuna, jonka saat pimennettyä täysin nappia painamalla käyttämättä verhoja. Entä ikkuna, johon saat heijastettua kauniin kesäpäivän synkimpään kaamosaikaan, tai aurinkolasit, jotka vaihtavat väriä sen mukaan, kuinka paljon auringonvaloa niihin osuu. Sähkökromiset



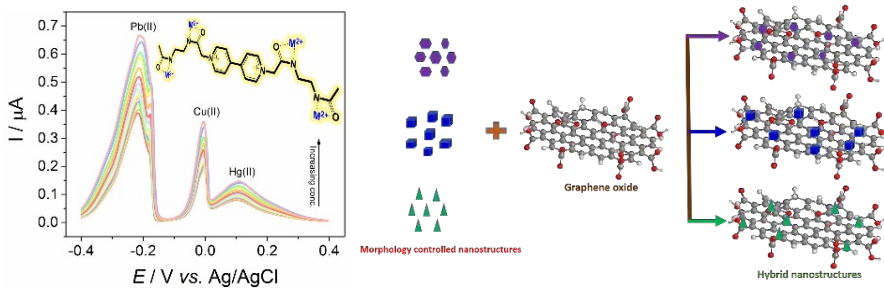
**Kuva 6.** Viologeenikalvot muuttavat väriään, kun niihin kohdistetaan negatiivinen jännite.



materiaalit vaihtavat väriään, kun niille asetetaan tietty potentiaali tai kun niissä tapahtuu hapetus-pelkistysreaktio. Sähkökromisia materiaaleja ovat erilaiset metallien oksidit, johdepolymeerit, metallikompleksit ja viologeenit. Materiaalikemian tutkimusryhmässä tutkitaan viologeenien ja niiden erilaisten grafeeni- ja johdepolymeeriyhdistelmien sähkökromisia ominaisuuksia. Viologeenit muodostetaan syanopyridiinimonomeereista sähkökemiallisella polymerisaatiolla suoraan johtavalle, läpinäkyvälle lasialustalle (Kuva 6). Viologeenikalvojen pysyvyyttä sekä värin vaihtumisen nopeutta on pystytty parantamaan muodostamalla komposiitteja grafeenin kanssa.

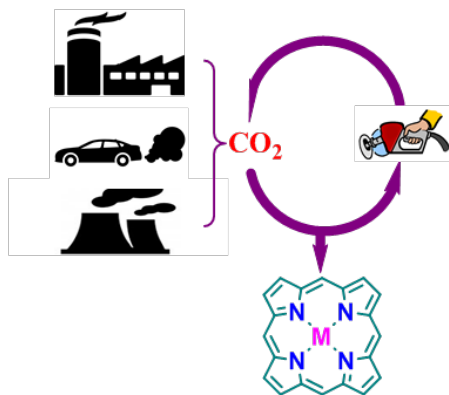
### Sensorit ja katalyysi

Paitsi että johdepolymeerejä ja grafeenia voidaan käyttää energian muuttamiseen ja varastointiin liittyvissä sovelluksissa, niitä voidaan hyödyntää myös erilaisissa antureissa. Ryhmässä on mm. valmistettu pelkistettyä grafeenioksidista paperin pinnalle kertakäyttöinen kaasuanturi, joka pystyy havaitsemaan 60 miljardisosan typpidioksidipitoisuuden. Myös viologeenikalvot voivat toimia antureina mm. erilaisille raskasmetalleille (Kuva 7).



**Kuva 7.** Viologeenikalvot soveltuvat raskasmetallien tunnistamiseen liuoksesta ja grafeenioksidi voi toimia edullisena kantajamateriaalina Pd- ja Pt-nanopartikkeleille.

Ryhmässämme tutkittavilla materiaaleilla on lisäksi vielä katalyyttisiä ominaisuuksia. Viologeenien ja kultananopartikkelien on tutkittu katalysoivan 4-nitrofenolin pelkistymistä 4-aminofenoliksi. Grafeenioksidia voidaan myös hyödyntää katalyyttisissä sovelluksissa edullisena kantajamateriaalina. Pd- ja Pt-nanopartikkelit ovat mielenkiintoisia metallikatalyyttejä, mutta korkean hintansa vuoksi niiden soveltaminen käytännössä on hankalaa; kantajamateriaalia käyttäen katalyytin aktiivisuus saavutetaan huomattavasti pienemmällä määrällä metallia, mikä parantaa kustannustehokkuutta. Ryhmässämme tutkitaan pelkistettyä grafeenioksidia kantajana morfologialtaan erilaisille Pd- ja Pt-nanopartikkeleille. Näitä materiaaleja voidaan hyödyntää katalyysin lisäksi antureissa. Uutena tutkimuskohteenaamme ovat makrosykliset metallikompleksit, porfyriinit, joita voidaan soveltaa hiilidioksidipäästöjen vähentämiseen. Porfyriineillä on monipuolinen

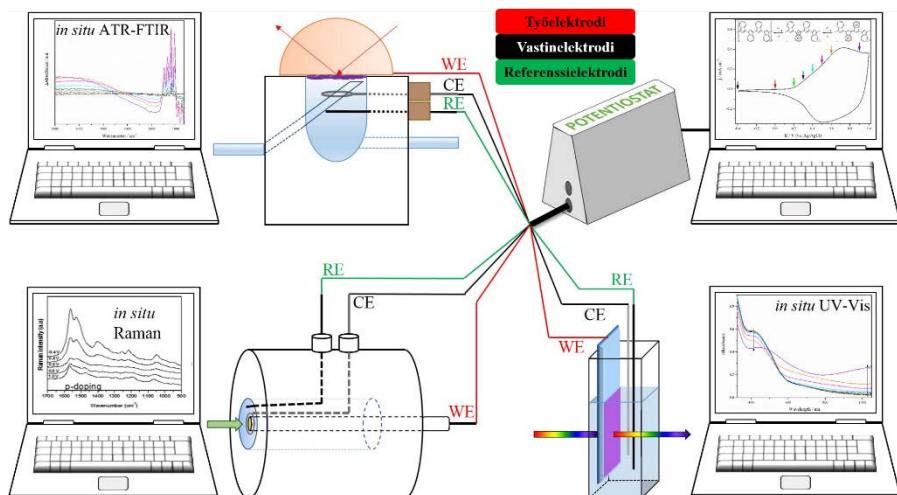


**Kuva 8.** Hiilidioksidin sähkökatalyyttinen pelkistys ja hyödyntäminen uusiutuvien polttoaineiden valmistuksessa.

molekyylirakenne, jota voidaan räätälöidä selektiivisyyden parantamiseksi ja sähkökatalyyttisen tehokkuuden lisäämiseksi (Kuva 8). Tutkimuksemme pyrkii sekä uusien materiaalien löytämiseen ja valmistamiseen materiaalikemian keinoin että sähkö-katalyyttisen reaktion kulun ymmärtämiseen yhdistämällä kehittyneitä karakterisointi-menetelmiä. Tutkimuksen tulokset auttavat kehittämään lupaavia katalyyttimateriaaleja, joiden avulla hiilidioksidi voidaan muuntaa hyötypolttoaineiksi tai polttoaineen esiasteiksi. Sitomalla ilmastolle haitallista kasvihuonekaasua voidaan lieventää ilmaston lämpenemistä.

### Analysitekniikat: *in situ* spektrosähkökemialla

Jotta uutta materiaalia voidaan käyttää osana sovellusta, tulee sen ominaisuudet tuntea tarkasti. Materiaalikemian tutkimusryhmä keskittyy uusien materiaalien kehittämisen lisäksi uusien analyysimenetelmien kehittämiseen. Ryhmämme keskittyy pääasiassa menetelmiin, jotka yhdistävät spektroskooppisen rakennetutkimuksen sähkökemiallisten ominaisuuksien tutkimukseen. Näitä menetelmiä kutsutaan *in situ* –spektrosähkökemiallisiksi menetelmiksi, jotka suoritetaan liuosolosuhteissa. Tutkimme materiaaleja värähdyspektroskooppisten (FTIR, Raman, UV-Vis spektroskopia) ja sähkökemiallisten menetelmien yhdistelmämenetelmillä (Kuva 9).



Kuva 9. Kaaviokuva ryhmässä käytetyistä *in situ* –spektrosähkökemiallisista tekniikoista.

## Johdepolymeerikalvojen kuviointimenetelmät

Pulmu Eloranta

Materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine,  
Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

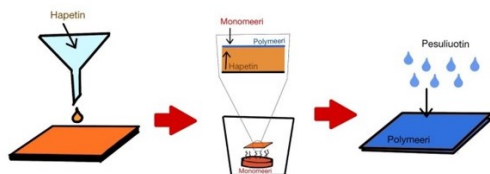


phelor@utu.fi

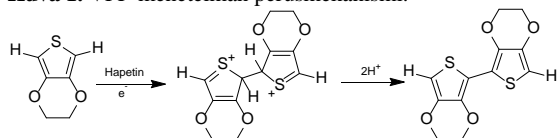
Johdepolymeerikalvoja valmistettaessa monomeerit eli pienimolekyyliset lähtöaineet liittyvät eri reaktiotyyppien kautta toisiinsa. Nämä konjugoituneet hiiliketjut eivät itsessään johda sähköä. Pelkistävää tai hapettavaa ainetta lisäämällä saadaan polymeeristä joko hapettunut tai pelkistynyt, ja näin ollen myös sähköä johtava. Johdepolymeerikalvoja voidaan valmistaa monella tavalla, joista yksi tapa on VPP-menetelmä (Vapour Phase Polymerization) eli höyryfaasipolymerisaatio. [1]

VPP-menetelmä on hapetuspolymerisaatio. Nestemäinen hapetin ja kaasumaiset monomeerit reagoivat nestemäisen ja kaasumaisen olomuodon rajalla (Kuva 1). VPP-menetelmä soveltuu eri materiaalien ja suurempien pinta-alojen päällystämiseen, mikä tekee siitä kiinnostavan sovelluskohteen teollisuuteen. Sähköä johtavien ohutkalvojen käyttötarkoitukset ovat moninaiset. Kalvoja tutkitaan niiden sovelluskohteiden takia. Johdepolymeerikalvot voisivat korvata esimerkiksi elektroniikassa johtavia maametalleja, joiden varat maaperässä ovat rajalliset. Juuri kaupallisiin kuluttajille tarkoitettuihin käyttökohteisiin johtavista polymeereistä poly(3,4-etyleenidioksitiofeeni) eli PEDOT on todettu hyväksi sen korkean sähkönjohtokyvyn vuoksi. Kaaviossa 1 on esitetty EDOT-monomeerin liittyminen toisiinsa. [1]

Kalvojen kuviointi on tärkeää elektronisissa laitteissa, esimerkiksi näytöissä, aurinkokennoissa tai erilaisissa sensoreissa, joissa sähkönjohtavuutta halutaan säännellä. [1] Johdepolymeerikalvoja voidaan kuvioida esimerkiksi laserin, UV-valon, litografian ja leimojen sekä tulostimien avulla. [2] Kuvioitujen johdepolymeerikalvojen tarve kasvaa lähitulevaisuudessa, joten erilaisia edullisia, helposti toistettavia ja yksinkertaisia tapoja kehitetään esimerkiksi teollisuuden käyttöön.



**Kuva 1.** VPP-menetelmän perusmekanismi.



**Kaavio 1.** Hapettimen vaikutuksesta radikalisoituneet EDOT-monomeerit liittyvät toisiinsa muodostaen PEDOT:n.

### Viitteet

- [1] R. Brooke, P. Cottis, P. Talemi, M. Fabretto, P. Murphy, and D. Evans, *Prog. Mater. Sci.*, **2017**, 86, 127–146.  
[2] J. S. Choi, K. Y. Cho, and J.-H. Yim, *Eur. Polym. J.*, **2010**, 46, 389–396.

## Hiilidioksidin sähkökemiallinen pelkistäminen

Allisa Pakarinen

Sovelletun materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

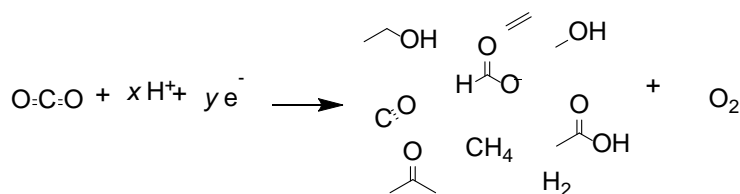


[ahpaka@utu.fi](mailto:ahpaka@utu.fi)

Ihmisen toiminnan takia hiilidioksidipitoisuus maapallon ilmakehässä on lisääntynyt voimistuvalla tahdilla. Tämä on johtanut ilmastomuutokseen, joka uhkaa ekosysteemejä kaikkialla maapallolla. Suuri osa päästöistä on peräisin fossiilisten polttoaineiden palamisesta. Jotta ilmastolämpeneminen saataisiin hallintaan, on hiilidioksidin määrä ilmakehässä saatava laskuun ja fossiilisille polttoaineille löydettävä hiilineutraaleja vaihtoehtoja.

Hiilidioksidin sähkökemiallisella pelkistämällä pyritään muuttamaan hiilidioksidi takaisin hyödyllisiksi polttoaineiksi tai niiden esiasteiksi ja samalla vähentää uusien hiilidioksidipäästöjen päätymistä ilmakehään. Reaktiossa pelkistetään hiilidioksidi sähkökemiallisesti veden toimiessa protonien lähteenä. Tuotteina muodostuu hiilivetyjä ja alkoholeja, sekä hiilimonoksidia ja muurahaishappoa (kuva 1), joita voidaan käyttää esimerkiksi polttoaineina. Käyttämällä uusiutuvaa sähköä, kuten aurinko- tai tuulivoimaa, saadaan reaktiosta hiilineutraali, sekä varastoitua sähkökemialliseen muotoon, jolloin sitä voidaan käyttää uusissa kohteissa kuten liikenteessä.

Hiilidioksidi on hiilen hapettunein muoto, joka vaatii reagoidakseen sopivat olosuhteet ja katalyytin. Pelkistysreaktiota vaikeuttaa sen vaatima suhteellisen korkea ylijännite, joka heikentää reaktion tehokkuutta, sekä sovellusten kannalta sen heikko selektiivisyys ja kilpailevat reaktiot, kuten vedyn muodostuminen. Ylijännitettä pyritään alentamaan sopivilla katalyyteillä, jotka taas vaikuttavat muodostuviin tuotteisiin. Tuotteiden kannalta parhaaksi katalyytiksi on osoittautunut kupari, joka muista metalleista poiketen pystyy pelkistämään hiilidioksidin pisimmälle eli useaa hiiltä sisältäviksi yhdisteiksi. Reaktion selektiivisyys kuparilla on kuitenkin heikko, minkä vuoksi tutkimuksissa pyritään selvittämään hiilidioksidin pelkistysmekanismeja, sekä eri tekijöiden vaikutusta reaktion etenemiseen.



**Kuva 1** Hiilidioksidin sähkökemiallisen pelkistyksen reaktiokaavio ja mahdollisia reaktiotuotteita.

### Viitteet

[1] Nitopi, S., Bertheussen, E., Scott, B. S., et al., Chem. Rev. **2019**, 119, 7610–7672.

## PINTAKÄSITTELYMENETELMÄT JA NIIDEN VAIKUTUS OHUTKALVOJEN VALMISTUKSESSA

Emilia Hautala

Materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine,  
Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

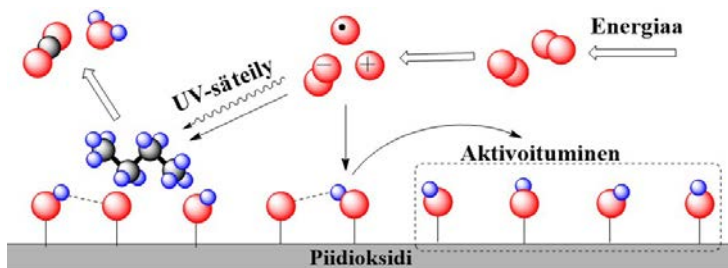


emjhau@utu.fi

Höyryfaasipolymerisaatiotekniikassa johdepolymeeriohutkalvo muodostuu hapetinkerroksen pinnalle, kun se altistetaan monomeerihöyrylle. Laadukas kalvo voidaan valmistaa vain, jos substraatti on päällystetty yhtenäisellä hapetinkerroksella. Hapettimen leviäminen substraatin pinnalle riippuu pinnan ominaisuuksista, joita muokataan erilaisilla esikäsitelyillä. [1]

Ultraääni-, plasma- ja SC-1 -käsittelet puhdistavat substraatin pintaa ja tekevät siitä hydrofiilisemmän, jolloin hapetin leviää tasaisemmin koko pinnalle. Ultraäänihauteessa substraatin pinta puhdistuu ultraääniaaltojen aiheuttaman kavitaatio- ja imploosioilmion sekä akustisen virran ansiosta. [2] Tehokkaammin epäpuhtauksia poistavassa SC-1 eli Standard Clean 1 -puhdistusvaiheessa lasisubstraatti upotetaan 1:1:5 valmistettuun ammoniumhydroksidivetyperoksidi-vesihiuteeseen. Hauteessa substraatin päällimmäiset piidioksidit korvautuvat uusilla, jolloin epäpuhtauksia irtoaa tehokkaasti. [3] Plasmakäsittelyllä substraatin pinnalta poistetaan epäpuhtauksia ja aktivoidaan sitä niin, että sen hydrofiilisyyden kasvaa. [4] Orgaaniset epäpuhtaudet hajoavat ablaatiolla ja plasmanmuodostuksessa syntyvällä UV-säteilyllä. [5] Kuvassa 1 havainnollistetaan, miten UV-säteily ja happiplasma hajottavat orgaanisia epäpuhtauksia ja muodostavat niistä pieniä kaasumaisia yhdisteitä. Substraatin pinnan hydrofiilisyyttä lisää merkittävimmin pinnan aktivointi. [4] Happiplasma aktivoi pintaa muodostamalla siihen polaarisia funktionaalisia ryhmiä, kuten kuvasta 1 nähdään.

Substraatin käsittelyn tuloksia voidaan tutkia kontaktikulmamittauksilla. Kontaktikulma on pisan rajapinnan tangentin ja substraatin rajapinnan välinen kulma.



**Kuva 1.** Happiplasmakäsittelyn toiminta piidioksidisubstraattilla

### Viitteet

- [1] Choi, S., Boo, J. H., Sohn, H., ja Kim, S., *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2014**, 14, 9005–9010.
- [2] Podolian, A., Nadtocchiy, A., Kuryliuk, V., Korotchenkov, O., Schmid, J., Drapalik, M. ja Schlosser, V., *Sol. Energy Mater. Sol. Cell*, **2011**, 95, 765–772.
- [3] Kern, W., *Handbook of Silicon Wafer Cleaning Technology*, 3. painos, William Andrew Publishing, 2018, s. 3–85.
- [4] Terpilowski, K. ja Rymuszka, D., *Glass Phys. Chem.* **2016**, 42, 535–541.
- [5] Wolf, R. ja Sparavigna, A. C., *Engineering* **2010**, 2, 397–402.

## Orgaaniset sähkökromiset materiaalit

Elli Virtanen

Materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine,  
Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto



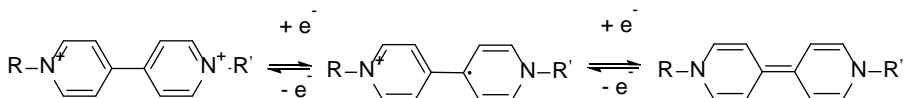
ejvirt@utu.fi

Sähkökromismi tarkoittaa ilmiötä, jossa redox-reaktio tai sähkökemiallinen potentiaali saa aikaan muutoksia materiaalin absorptiospektrissä [1,3,4]. Käytännössä materiaalissa tapahtuu silloin värinmuutos. Tietyt orgaaniset materiaalit ovat sähkökromisia, ja näistä tärkeimmät ovat viologeenit ja johdepolymeerit. Lisäksi tietyt siirtymämetallikompleksit saavat sähkökromiset ominaisuutensa orgaanisten ligandien vaikutuksesta. [3] Orgaanisia sähkökromeja on hyödynnetty erityisesti erilaisissa näytöissä. [3]

Viologeenit ovat bipyridiliumsuloja. Niillä esiintyy yleensä kolmea erilaista redox-tilaa (kaavio 1). Dikationinen muoto on puhtaana kirkas. Dikationin pelkistäminen synnyttää radikaali-kationin ja edelleen neutraalin muodon. Radikaali-kationi ja neutraali muoto ovat värillisiä. Yksinkertaisin viologeeni on 1,1'-dimetyyli-4,4'-bipyridilium ja sitä kutsutaan myös metyyliviologeeniksi. [2-4]

Tunnetuimpia sähkökromisia johdepolymeerejä ovat polytiofeenit, polyaniliinit ja polypyrrolit. Johdepolymeerien sähkökromisuus aiheutuu konjugaatiosta, jonka seurauksena elektronit delokalisoituvat ja absorboivat näkyvää valoa. Hapettuneessa muodossa johdepolymeerit ovat p-douppattuja. Pelkistäminen saa aikaan neutraalin muodon, jonka väri aiheutuu muutoksesta elektronien lokalisaatiosta. [2-4]

Sähkökromisista siirtymämetallikomplekseista tunnetuimmat ovat metallopolymeerit ja metalloftalosyaniinit. Sähkökromisuus niissä johtuu kompleksin donori-akseptori-luonteesta ja elektronien siirtymistä. [4]



**Kaavio 1.** Viologeenin kolme yleisintä redox-tilaa. Vasemmalta oikealle dikationi, radikaali-kationi ja neutraali muoto. Kuva mukailtu viitteistä [3,4].

### Viitteet

- [1] Monk, P. M. S., Mortimer, R. J. ja Rosseinsky, D. R., *Electrochromism: Fundamentals and Applications*, Wiley-VCH, 1995, s. 3, 124-125  
 [2] Mortimer, R. J., Rosseinsky, D. R. ja Monk, P. M. S., *Electrochromic Materials and Devices* [online], Wiley-VCH, Turun yliopiston kirjasto, Volter. 2015, s. 57, 113-114, 185  
 [3] Mortimer, R. J., *Electrochim. Acta.* **1999**, 44, 2971-2981.  
 [4] Mortimer, R. J., Dyer, A. L. ja Reynolds, J. R., *Displays* **2006**, 27, 2-18.

## LIGNIN VALORISATION

Ibrahim Kamara

Materials Chemistry Research Group, Materials Chemistry,  
Department of Chemistry, University of Turku.



**Research Director:** Prof. Carita Kvarnstrom

**Supervisor(s):** Dr. Lokesh Kesavan

### Main aims of the Master's thesis research

About 50 – 70 million tons of lignin is produced annually; however, only 1- 2 % of this used in the production of value added products (concrete additive, dispersant, animal feed, resins and adhesives and vanillin production).<sup>1</sup> Lignin is gaining interest in the development of value added products due to its low cost, renewability, biodegradability, nontoxicity, high carbon content, high thermal stability, and favourable stiffness.<sup>1-5</sup> However, the valorization of lignin has been limited mainly because of its structural complexity and challenges in finding a green, robust, and cost-effective solvents.<sup>3,4</sup> On contrary to cellulose, lignin solubility decreases almost linearly with the hydrogen bonding strength.<sup>5</sup> Understanding the solubility of lignin in varying solvents namely aqueous, organic, ionic liquids and deep eutectic solvents will help in the use of lignin for the production of high value added products.<sup>1</sup> Lignin's complex structure, broad molecular weight distribution, polydispersity, and variability in the physico-chemical properties affect the dissolution efficiency of lignin thus making lignin dissolution a significant challenge.<sup>3</sup> Consequently, we are in search for a suitable eco-friendly solvent for lignin dissolution. Upon finding a green solvent, we plan to move forward by chemical modifying lignin into new lignin composite materials such as engineering plastics, adhesives, hydrogels, films, resin, polyurethanes, polyesters, and nanofibers.<sup>5</sup>

### Main results so far

#### Dissolution of Lignin in various solvents:

We received from UPM two lignin precursors: UPM BioPiva 199 (BP) containing about 90 % Kraft lignin and EH Lignin (EH) containing about 80 % lignin, 12.5 % cellulose, 2.5 % hemicellulose, 0.5 % acetic acid, 0.05 % 2-furaldehyde, 0.05 % formic acid, 0.05 % oxalic acid, and 0.005 % 2-furoic acid. After extensive literature review we have identified several solvents capable of lignin dissolution to varying degrees. These solvents include aqueous, organic, ionic liquids and deep eutectic solvents. In our aim to find an efficient eco-friendly solvent, we've so far carried out dissolution trials with water, NaOH/water system, NaOH/urea/water system and ethylene glycol. BP and EH are both insoluble in water. BP is readily soluble in NaOH/water system whereas EH is partially soluble. This partial solubility can be attributed to the several constituents present in the EH lignin. Further tests are currently on the way for the dissolution of the insoluble species. On the other hand, NaOH/urea/water system and ethylene glycol show high capacity for the dissolution of BP. The dissolution process has just begun, there is still a long and exciting way ahead. We are looking forward to it and the subsequent synthesis of new lignin-based products.



**Figure 1.** Lignin dissolution from left to right. BP in NaOH/water system; EH in NaOH/water system; BP in NaOH/urea/water system; and BP in ethylene glycol.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

As part of materials chemistry research group, our interest focus to work on some fresh material, which is unexplored so far in the hosting research group. It would be worth to try developing renewable material composites for various applications using available infrastructure facilities. Lignin was chosen as raw material since the group recently received two different lignin from UPM pulp industry for scientific research. With the increasing interest in renewable bioresources due to the climate change and the depletion of petroleum and natural gas resources, lignin is becoming a significant bioresource of interest. The valorization of lignin would not only reduced the waste produced by wood and pulp industries but as well create new business avenue providing renewable lignin-based materials with better physico-chemical properties. Given its potential use in the energy sector, value added products from lignin and lignin-based materials could help in circumvention of climate change.

### References

1. Elodie Melro, Luis Alves, Filipe Antunes, Bruno Medronho, A brief overview on lignin dissolution. *Molliq* (2017), doi:10.1016/j.molliq.2018.06.021.
2. Rashid et al., *Industrial Crops and Products* 84 (2016) 284-293.
3. Semeni et al. (2017). "Acetylation & lignin solubility," *BioResources* 12 (1), 1548-1565
4. Strassberger et al., *Green Chem.*, 2015, 17, 325–334
5. Yasuyuki Matsushita, *J. Wood Sci* (2015) 61:230-250.



## Nitrogen Doped Graphene for Electrocatalytic Reduction of CO<sub>2</sub>

Jesse Ponkamo<sup>1\*</sup>, Dr. Mikko Salomäki<sup>1</sup> and Professor Carita Kvarnström<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Materials Chemistry Research Group, Materials Chemistry, Department of Chemistry, 20014 University of Turku



[Jesse.v.ponkamo@utu.fi](mailto:Jesse.v.ponkamo@utu.fi)

### Abstract

One of the ongoing issues on Earth is the endeavor to lower greenhouse gases such as CO<sub>2</sub>. A novel method to address this is the use of electrocatalysts to reduce CO<sub>2</sub> to valuable chemical feedstocks such as methanol or formic acid. In the quest for catalysts, the development of graphene and related materials have been studied as candidates. Nitrogen doped graphene (N-graphene) has recently been demonstrated to be a capable electrocatalyst for CO<sub>2</sub> reduction; however, the multitude of different synthesis and preparation methods available produce unique morphology and chemistry in the subsequent N-graphene. In light of this, the effort undertaken herein is to evaluate two different preparation methods and their resultant N-graphene.

### Introduction

One of the main culprits of global warming is CO<sub>2</sub> expelled from power plants and factories and released into the atmosphere. One approach to mitigating the release of CO<sub>2</sub>, and curb the use of fossil fuels, is by utilizing CO<sub>2</sub> as a source of value added chemicals such as methanol, formic acid, and others[1]. The investigation of graphene based catalysts for CO<sub>2</sub> reduction has been a subject of research at the Materials Chemistry Research Group at the University of Turku for some time now. To continue the foundation of research and add to the body of work on metal-free catalysts the preparation of N-graphene was undertaken. Figure 1 shows a model N-graphene and the three nitrogen functionalities associated with it; graphitic, pyrrolic, and pyridinic nitrogen[2]. Recently it has been shown that pyridinic nitrogen is the most important in CO<sub>2</sub> reduction and especially those that are found at the edges of N-graphene sheets [2]. As mentioned previously the preparation methods of N-graphene are many and each produces unique features on surface morphology and concomitant surface chemistry[3]. Of the possible methods hydrothermal and pyrolysis syntheses were chosen, refer to scheme 1 and 2. The two methods are likely to produce different N-graphene, regarding their morphology and ratio of nitrogen functional groups. The differences in morphology and chemistry will likely influence the electrocatalytic properties once studied as an electrode for CO<sub>2</sub> reduction. One question to be posed is whether the relatively green hydrothermal synthesis can produce a desirable catalyst.

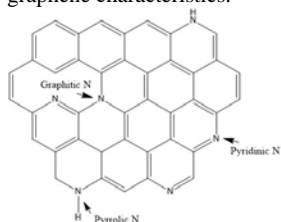
### Materials and methods

The hydrothermal synthesis method employs a template of graphene oxide (GO) which is reduced in situ which then incorporates a nitrogen dopant into the graphene[4]. A dispersion of GO was prepared by diluting 0.8mL of a 5mg/mL stock solution of GO into 7.2mL of DI H<sub>2</sub>O and sonicated for 2 hours. 2-cyanoguanidine (0.2μmol) was then added to the GO solution and sonicated until the solid 2-cyanoguanidine was dissolved. The solution was then transferred to a Teflon coated acid digestion bomb, sealed, placed in an oven and heated to 180°C for 24 hours. The bomb was then air cooled to room temperature, once cooled the solid contents were collected by filtration and washed with DI H<sub>2</sub>O, ethanol, 30% HCl, and DI H<sub>2</sub>O then finally dried. In the pyrolysis method, the graphene network is formed by melamine polymerizing to form carbon nitride and incorporating

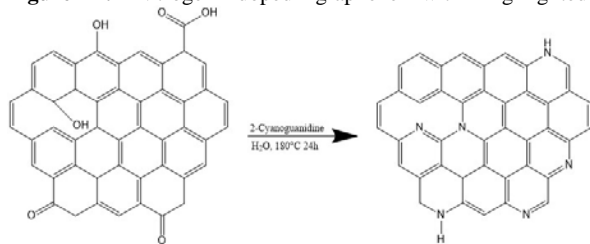
the alanine at 600°C and as the temperature increases to greater than 800°C, the material carbonizes[2]. The pyrolysis method began by grinding a 1:4 molar ratio of melamine to alanine in a mortar and pestle until they were sufficiently mixed. The melamine/alanine mixture was then placed in a tube furnace and fired under nitrogen atmosphere according to a specific temperature/time profile. The solid collected was filtered and washed using the same procedure as with the hydrothermal method.

## Results and conclusions

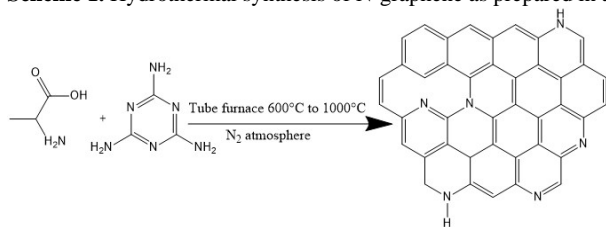
As of this writing, a conclusive characterization of the materials made to date have not been made due to the unavailability of the XPS, which is the definitive characterization method for N-graphene. However, Raman, XPS, cyclic voltammetry, and SEM will be used to characterize the morphology and chemical identity of the N-graphene produced. In addition a NMR spectroscopic method for determining specific surface area will be investigated, such as to further elucidate N-graphene characteristics.



**Figure 1.** Nitrogen doped graphene with highlighted carbon-nitrogen functionality.



**Scheme 1.** Hydrothermal synthesis of N-graphene as prepared in an acid digestion.



**Scheme 2.** Pyrolysis method of synthesis as carried out in a tube furnace.

## References

1. Kibria, M. G.; Edwards, J. P.; Gabardo, C. M.; Dinh, C.; Seifitokaldani, A.; Sinton, D.; Sargent, E. H. *Adv Mater* **2019**, *31*, 1807166.
2. Liu, S.; Yang, H.; Huang, X.; Liu, L.; Cai, W.; Gao, J.; Li, X.; Zhang, T.; Huang, Y.; Liu, B. *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1800499.
3. Xu, H.; Ma, L.; Jin, Z. *Journal of Energy Chemistry* **2018**, *27*, 146-160.
4. Zhang, Y.; Fugane, K.; Mori, T.; Niu, L.; Ye, J. *Journal of Materials Chemistry* **2012**, *22*, 6575-6580.

## Käytännönläheisen menetelmän kehittäminen kivivillanäytteen Fe(II)- ja Fe(III)-pitoisuuksien määrittämiseen

Mia Turunen\*, Pia Damlin<sup>1</sup>, Jani Trygg<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Materiaalikemian tutkimusryhmä, Materiaalikemian pääaine, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

<sup>2</sup>Paroc Group Oy, Skräbböлениеtie 14, 21600 Parainen



mikrtu@utu.fi

### Abstrakti

Työssä kehitettiin kaksi käytännönläheistä menetelmää, joilla voidaan selvittää Fe(II) ja Fe(III) hapetusasteiden pitoisuudet kivivillanäytteestä. Menetelmät, joita työssä käytettiin, olivat sähkökemiallinen voltammetria ja spektrometrinen kolorimetria. Saatuja tuloksia verrattiin röntgenfluoresenssilla saatuihin kokonaisraudan tuloksiin.

### Johdanto

Kivivilla valmistetaan sideaineesta ja kivimateriaalista, jonka kemiallinen koostumus vaihtelee materiaalin alkuperän mukaan. Yksi yleisimmistä alkuaineista on rauta, joka esiintyy villan kuidussa hapetusasteilla +II ja +III, oksideina FeO ja Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Hapetusasteen mukaan raudalla on eri tehtävät villan kuidun verkkomaisessa rakenteessa. Kolmenarvoisena atomina rauta muodostaa tetraedrisen rakenteen osaksi kuidun verkkomaista rakennetta [1]. Kahdenarvoisena rauta-atomit puolestaan muokkaavat tätä verkkomaista rakennetta ja sen varauksia [1].

Yleisempiä menetelmiä alkuainepitoisuuksien määrittämiseen ovat röntgenfluoresenssi (XRF) sekä atomiabsorptiospektrometria (AAS). Näillä menetelmillä ei kuitenkaan saada selville alkuaineiden eri hapetusasteiden pitoisuuksia näytteissä. Työssä käytetyllä sähkökemiallisella lineaarisella pyyhkäisyvoltammetrialla saadaan eri hapetusasteiden pitoisuudet selville hapettamalla ja pelkistämällä rauta muuttamalla jännitettä elektrodien välillä.

Mittaus tehtiin sähkökemiallisessa kennossa kolmielektrodijärjestelmällä. Työelektrodina käytettiin hiilielektrodia, vastaelektrodina platinaelektrodia ja referenssielektrodina kyllästettyä kalomielektrodia. Potentiaali muutettiin hapettaessa rauta 0-1 V ja pelkistäessä 1-0 V välillä. Raudan hapettuminen tapahtui potentiaalissa 0,65 V ja pelkistyi 0,2 V. Näissä potentiaaliarvoissa saadun virtavasteen maksimin perusteella määriteltiin näytteen rautapitoisuudet tehdyn standardisuoran avulla (kuva 1).

Kolorimetrisessä määrittämisessä käytetään puolestaan hyödyksi kahdenarvoisen raudan kykyä muodostaa värillinen kompleksi orgaanisen 1,10-fenantroliinin kanssa. Hapetusasteiden pitoisuudet saadaan määriteltä mittaamalla absorbanssi näyteliuoksesta, jolloin saadaan selville alkuperäinen Fe(II):n pitoisuus. Pelkistämällä osa näyteliuoksesta hydrokinonilla, saadaan selville kokonaisrautapitoisuus, jonka avulla voidaan laskea hapetusasteiden osuudet.

Työn alussa tutkittiin kivivillan liukenevuutta eri happojen vesiliuoksiin, koska näytteen täytyy olla kokonaan liuennut molempia menetelmiä varten. Tarkoituksena oli välttää käyttämästä vahvimpia happoja, kuten vetyfluoridia HF, sen vaarallisuuden vuoksi.

### Materiaalit ja menetelmät

Työssä tutkittiin kymmenen koostumukseltaan erilaista villanäytettä, joiden kokonaisrautapitoisuudet olivat mitattu XRF:lla. Työn alussa tehtyjen liuotuskokeilujen perusteella työssä käytettiin suolahapon 1 M vesiliuosta.

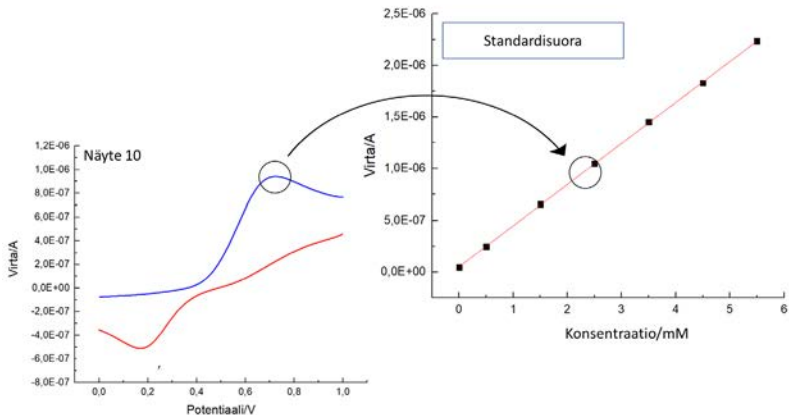
Linearisessa pyyhkäisyvoltammetriassa mitattiin virtavaste hiilielektrodilla kyllästettyä kalomelielektrodia (saturated calomel electrode, SCE) vasten potentiaaliaalueella 0-1 V käyttäen pyyhkäisynopeutta 10 mV/s. Työssä valmistettiin standardisuorat sekä +II ja +III arvoiselle raudalle käyttäen tunnetun pitoista rautaliuosta. Saadun suoran yhtälöllä voitiin ratkaista näytteiden rautapitoisuudet mittaamalla näiden virtavasteiden maksimit.

Kolorimetrisessa määrittämisessä valmistettiin myös standardisuora tunnetun pitoisilla rautaliuoksilla mittaamalla jokaiselle pitoisuudelle absorbanssi aallonpituudella 510 nm. Näytteiden kokonaisrautapitoisuus määriteltiin pelkistämällä osasta näyteliuoksesta kaikki rauta orgaanisella hydrokinonilla. Alkuperäinen Fe(II) määriteltiin mittaamalla absorbanssi liuoksesta, jota ei ollut pelkistetty. Saadulla absorbanssilla ratkaistiin standardisuoran avulla näytteiden hapetusasteiden pitoisuudet.

## Tulokset ja johtopäätökset

Linearisella pyyhkäisyvoltammetrialla saatiin näytteiden kokonaisrautapitoisuudet hyvin lähelle XRF:n tuloksia. Saadut tulokset poikkesivat XRF:n tuloksista noin 4-16 % ja kahta näytettä lukuun ottamatta kokonaisrautapitoisuus oli suurempi XRF:n tuloksiin verrattuna. Kahdenarvoisen raudan pitoisuus suhteessa kokonaisrautaan oli jokaisessa näytteessä  $60 \pm 2 \%$ .

Kolorimetrisessa määrittämisessä kokonaisrautamäärä jäi selkeästi pienemmäksi XRF:n ja voltammetrian tuloksiin verrattuna. Ero oli noin 0,6-4 prosenttyyksikköä ja oli sitä suurempi, mitä suurempi rautapitoisuus näytteessä oli. Menetelmällä saatu kahdenarvoisen raudan pitoisuus kokonaisrautaan näytteissä oli 82-93 %. Pienempipitoisissa näytteissä suhdeluku oli suurempi kuin näytteissä, joissa oli enemmän rautaa. Näin ollen saatujen tulosten perusteella voltammetrinen menetelmä on tarkempi kuin kolorimetrinen määrittäminen verrattessa XRF:n tuloksiin.



**Kuva 1.** Esimerkki näytteen konsentraation määrittämisestä standardisuoran yhtälön avulla sähkökemiallisessa voltammetriassa.

## Viitteet

1. Flint, M. N., Crystallization of glass fibers for fireproof insulation. Väitöskirja, Alfred University, 2017.

## DEVELOPMENT OF ROBUST CATALYST FOR ELECTROREDUCTION OF CO<sub>2</sub>

Sachin Kochrekar

Material Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



spkoch@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Prof. Carita Kvarnström, Dr. Pia Damlin and Dr. Mikko Salomäki

**Funding:** Magnus Ehrmrooth Foundation, Department of Chemistry, COMPOL TUTLI.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

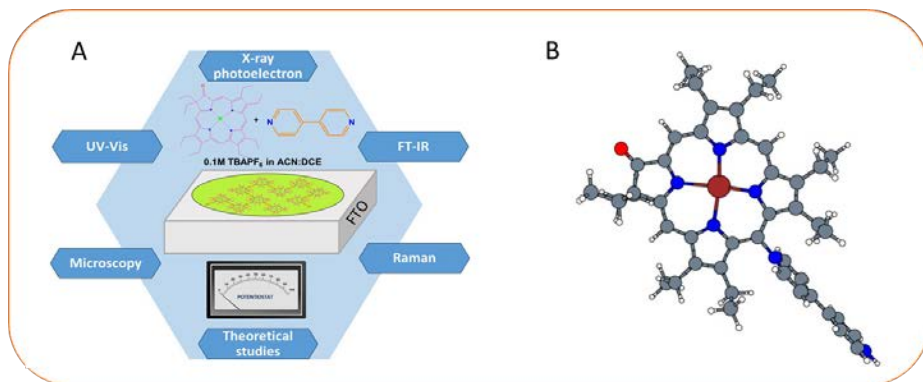
### Main aims of the PhD research

Molecular catalyst based systems have always piqued interest due to their unique properties, consisting of a wide range of compounds containing transition metal complexes. Among these, catalyst based on M-N-C extended structures mostly metal porphyrins bears perceptible advantage of well-defined molecular structures, efficient and robust. That allows the functionalization and customization at atomic level to optimize and improve the overall catalytic performance and mechanistic study[1].

The aim of this doctoral research is to polymerize different metal containing porphyrin and phthalocyanine thin films with various functional groups on the electrode surface that will be screened for its electrocatalytic activity and selectivity in reduction of CO<sub>2</sub>. This polymerized macrocyclic metal complexes will be modified with various 1D and 2D nanoparticles to enhance its chemical and physical properties. The objective can be accomplished by a successful synergy between advanced characterization tools, electrochemistry and material chemistry. The outcome of this investigation will aid in the development of promising electrocatalysts for the generation of transportation fuel/fuel precursors.

### Main results so far

Inspired from the molecular catalyst, we demonstrate one-pot electropolymerization of the novel keto functionalized metal porphyrins (NiOEPK and ZnOEPK) in the presence of a bridging ligand 4,4 bipyridine, (4,4BPy) on the FTO surface. UV-Vis, FTIR, Raman and X-ray Photoelectron spectroscopy along with AFM, SEM and EDX verifies the grafting of 4,4BPy with the porphyrin to form copolymer films on the electrode surface. DFT calculations were used to investigate the mechanism behind electropolymerization of keto functionalized porphyrin (ZnOEPK and NiOEPK) with 4,4 BPy and to get understanding of the effect of the central metal atom on the electropolymerization. The catalytic activity of the copolymer films towards the electrochemical reduction of CO<sub>2</sub> is shown.



**Figure 1.** (A) Scheme of described research work and (B) optimised structure of interaction between 4,4 BPys and a porphyrin at meso position.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

The goal of this dissertation is to develop robust and reliable electro-catalyst with high chemical stability, selectivity and efficiency towards the electro-reduction of CO<sub>2</sub>. Thus, this research plan covers a wide spectrum of topics ranging from material design and synthesis, detailed physical and chemical characterization followed by application as a catalyst for electrochemical reduction of CO<sub>2</sub>. Theoretical investigation to understand the electropolymerization process and the mechanism. The realization of the proposed objectives should lead to major steps forward in the development of solutions for the reduction of anthropogenic carbon dioxide into useful fuel or fuel precursors

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Kochrekar, S., Kalekar, A., Mehta, S., Joshi, K., Damlin, P., Salomäki, M., Meltola, N., Granroth, S., Kvarnström, C., Electrocatalytic reduction of CO<sub>2</sub> using polymerized porphyrin (Zn and Ni) modified electrode. (Manuscript submitted)

## PEDOT/cyanobacteria photosynthetic cell as an environmentally friendly energy source

Jenna Hannonen

Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



jealhan@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Dr. Pia Damlin and Prof. Carita Kvarnström

**Funding:** No funding yet.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2023

### Main aims of the PhD research

Cyanobacteria have a lot of potential to be used as an energy source, once we find a way to gather the electrons efficiently. Photosynthesis apparatus can be utilized best in energy production by taking the energy from the water splitting instead of letting it produce biomolecules, that are later on oxidized to get energy out of the biomass. There is a 20 % photon efficiency in energy conversion in the water splitting reaction, which is much better than the efficiency reached with biomass energy conversion (1 %). My aim in the thesis work, is to gather these energetic electrons from the photosynthetic energy transfer chain and utilize them.

Energy production is based on renewable solar energy that cyanobacteria turn into electrons during photosynthesis and occurring electron transfer reactions. These electrons are highly energetic and can be harvested via an electrode, that should make the electron transfer effective. First electrode material to be studied for the efficient electron transfer in this hybrid cell, is a conducting polymer called PEDOT (poly-3,4-ethylenedioxythiophene). PEDOT is prepared via vapor phase polymerization (VPP) and the film itself is highly conducting, making it suitable for the required efficient electron transfer.

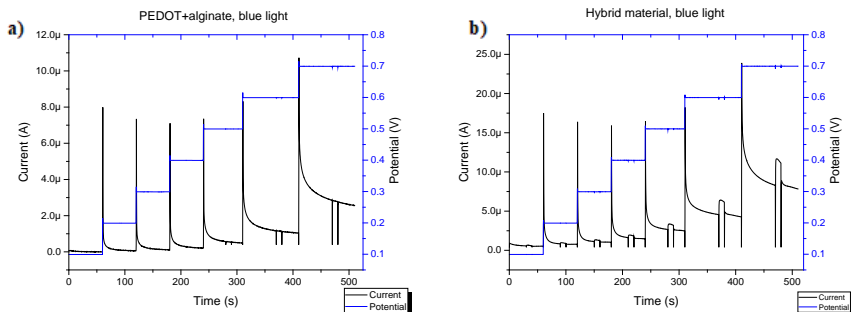
In the first 1-2 years, the properties of the hybrid material will be studied. They will be improved by making genetic alterations to the cyanobacteria (Molecular Plant Biology, UTU) and alternating the electrode material. Final goal is to be able to use the harvested energy from the hybrid material in an application as an environmentally friendly energy source.

Main aims along the thesis work are to get information on the material to improve it so that it can be used in an application as an energy source. Measurements are mainly electrochemical but spectroelectrochemistry will also be used which is a new thing regarding the characterization of the cyanobacteria and these hybrid materials.

### Main results so far

Measurements in this thesis work are mainly performed electrochemically (e.g. Mixed Mode measurements seen in Graph 1). With this technique we can monitor the electron flow from the cyanobacteria and see changes in the redox properties of the material. It has already been established that the electrochemical response of PEDOT isn't affected when combined with cyanobacteria, which makes this a good electrode material for the set up. It is also easy and fast to produce and we can control its properties by altering the parameters in the vapor phase polymerization process. Different electrolyte media have been tested in order to find one suitable both for the electrochemical analysis as well as for the cyanobacteria. Biocompatibility tests for VPP PEDOT films have been made regarding cyanobacteria and they show that they aren't toxic to cyanobacteria (Molecular Plant Biology).

A current flow has been detected while lighting the system with blue light (Graph 1). Different light sources and parameters will be tested to gain more information on the material. It has also been proven that the rise in the output current is due to the lighted cyanobacteria (Graph 1).



**Graph 1.** Electrochemical measurements (current measured) performed in different set potentials. In all potentials the material is first kept in the dark, then a light is turned on and then off. Then the potential is changed. Measured material contains components of the hybrid material **a)** without cyanobacteria **b)** with cyanobacteria.



**Picture 1.** On the left: Structure of PEDOT. In the middle: Hybrid material after electrochemical measurements. On the right: Electrochemical measurements with blue light.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

My research objectives are aligned with the objectives of Materials Chemistry Research Group. The interest is to study materials (conducting polymers and cyanobacteria in this case) and their properties and to use those materials in energy applications. This research will give new information on the hybrid material in question and its possible use as an energy source. I'm also aiming to use spectroelectrochemistry which hasn't been used in this research field. That might give us interesting new information on the interactions (electron transfer reactions and changes in the materials) taking place in the hybrid cell.



## MATERIALS FOR ELECTRO-CATALYTIC REDUCTION OF CO<sub>2</sub>

Adefunke Koyejo

Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku



adkoye@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Prof. Carita Kvarnström and Dr. Pia Damlin

**Funding:** Real Estate Foundation, Business Finland.

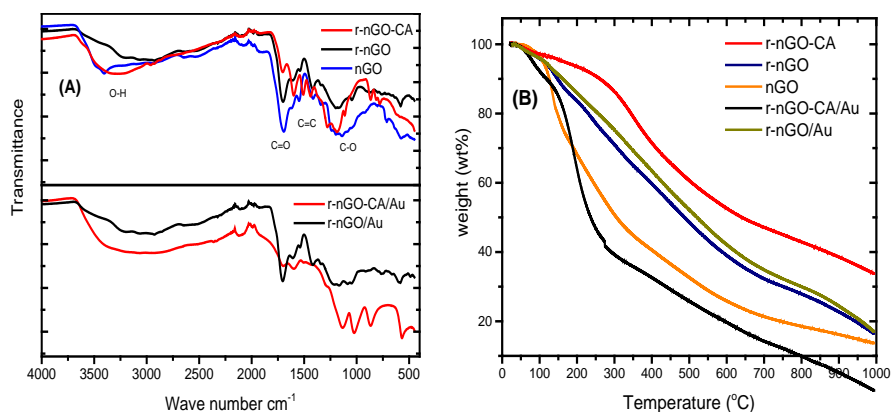
**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

This research focuses on the development of environmentally friendly electro-catalysts to combat climate change by directly reducing a major contributor to greenhouse gases (CO<sub>2</sub>), to hydrocarbons that can be used as fuels. To achieve this, we have synthesized composite materials containing reduce graphene oxide and metal nanoparticles. CO<sub>2</sub> reduction on synthesized materials shall be examined using electrochemical, surface enhanced Raman spectroscopy and Fourier Transform Infrared spectroscopy (FT-IR) in room temperature ionic liquid (RTIL) and aprotic solvent systems. This research paves a way for a better understanding of the dependence of electrode material, electrolyte and nanostructure on the electrochemical reduction of CO<sub>2</sub>.

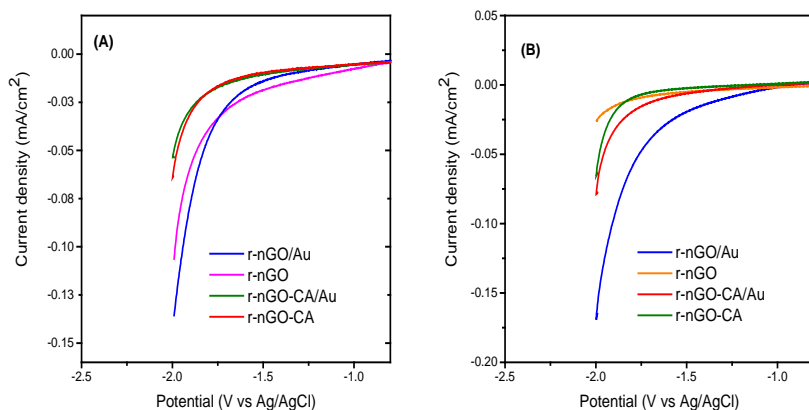
### Main results so far

Cellulose derived Graphene oxide (nGO) was synthesized and reduced using two different reduction methods. r-nGO was prepared using water as reducing agent and r-nGO-CA was obtained using caffeic acid as reducing agent. Synthesized reduced graphenes were further decorated with 1 % Au nanoparticle of approx. 2 - 5 nm in size. As prepared composite materials were used as catalysts for the electrochemical reduction of CO<sub>2</sub> (ERCO<sub>2</sub>).



**Figure 1.** (A) FTIR spectra and (B) TGA curves of bio-synthesized graphenes with and without gold (Au).

Figure 1 shows the FTIR (Fourier Transform infrared), and TGA (thermogravimetric analysis) analysis of the catalytic materials. The effect of electrode material on electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction was studied in two RTIL: [Emim][NTF<sub>2</sub>] and [Hmim][BF<sub>4</sub>]. ERCO<sub>2</sub> was determined by Cyclic Voltammetric measurements in a one compartment-three-electrode cell. Figure 2 shows the voltammetric data obtained for ERCO<sub>2</sub> using different catalysts. According to voltammetric data, the ERCO<sub>2</sub> in [Emim][NTF<sub>2</sub>] follows the order r-nGO/Au<r-nGO<r-nGO-CA/Au<r-nGOCA, and ERCO<sub>2</sub> in [Hmim][BF<sub>4</sub>], follows the order; r-nGO/Au<r-nGO-CA/Au<r-nGO-CA<r-nGO. In both ionic liquids, r-nGO/Au showed improved catalytic activity towards CO<sub>2</sub> reduction. This is a clear indication that the extent of reduction of the graphene materials and the deposition of Au nanoparticles, play a significant role in improving their catalytic performance.



**Figure 2:** Electro-catalytic reduction of CO<sub>2</sub> by synthesized materials in (A): [Emim][NTF<sub>2</sub>] and (B): [Hmim][BF<sub>4</sub>]

### The significance of my research for the research group and the whole research field

It is no longer news that Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) has a bad reputation of changing the climate in harmful ways. With its ever-increasing amount, comes severe environmental and climate conditions not limited to global warming alone. The reduction and utilization of CO<sub>2</sub> serves as the only possible way to slow-down climate change and save the planet. The research group is well known for electrochemical and spectroelectrochemical synthesis and applications. This research is therefore, significant to the research group as it utilizes electrochemical techniques for the development and study of catalytic materials and their applications.

### Papers to be included in the PhD thesis

Koyejo, A., Kesavan, L., Damlin, P., Salomäki, M., Hakkarainen, M., and Kvarnström, C., Electrocatalytic evaluation of biobased reduced graphene oxide supported on Au nanoparticles for carbon dioxide reduction, 2019. (Manuscript to be submitted)

## Highly doped and high surface area composite materials for supercapacitors

Rahul Balu Yewale

Turku University Centre for Materials and Surfaces (MATSURF),

Department of Chemistry, University of Turku,



rabaye@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström

**Supervisor(s):** Prof. Carita Kvarnström and University teacher Dr. Pia Damlin

**Funding:** The real estate foundation, Fortum foundation, Jenny and Antti Wihurin foundation, Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences, (COMPOL) Business Finland.

**Estimated time of PhD dissertation:** 2021

### Main aims of the PhD research

The research project focuses on a new way of obtaining energy rich conducting polymer graphene composites for flexible energy storage prepared by eco-friendly methods. The main goals are to prepare highly doped conducting polymers by modified vapor phase polymerization (VPP) and produce them as composites with reduced graphene oxide. In materials preparation as well as in devices, eco-friendly methods and bio-mimicking ionic liquids will be used. The drive is towards a clear understanding of the charge-transfer mechanisms of conducting polymer-graphene composites in the device. Finalizing these tasks should lead to improved stability and power density of carbon-polymer energy storage devices.

### Main results so far

In this work, we produced highly (electrically) conducting PEDOT thin films by utilizing an efficient atmospheric pressure vapor phase polymerization (VPP) method. In situ ATR-FTIR and UV-VIS measurements were performed during electrochemical charging/discharging of the films (Fig. 1). Doping-induced IR active vibrations (IRAV) appeared during the anodic scan and gradually vanished during cathodic scanning. The shift in IR bands, doping induced IRAV bands, conformational change in the polymer and conductivity are correlated in this study. The formation of polaronic states, their reversibility and isobestic point during cyclic voltammetry was determined by in situ UV-VIS measurements.

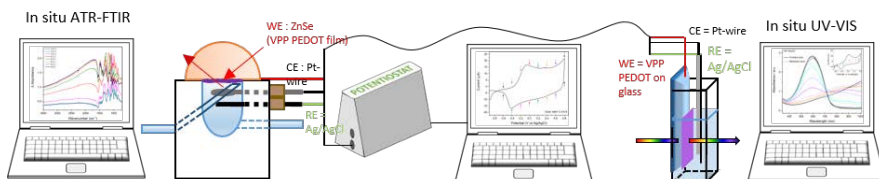
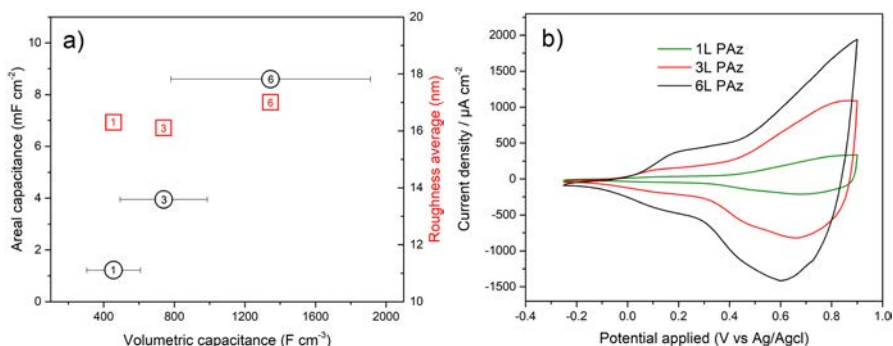


Figure 1. In situ ATR-FTIR and in situ UV-VIS experimental set up



**Figure 2.** a) Areal capacitance, volumetric capacitance, and roughness average b) cyclic voltammogram of the 1, 3, and 6 layers of vapor phase polymerized polyazulene films (0.1M TBABF<sub>4</sub> in acetonitrile, scan range -0.25 to 0.9 V, scan rate 200 mV/s)

The VPP method has been developed and optimized for polyazulene (Paz). Figure 2 a and b show the PAz films, prepared by atmospheric pressure VPP, acquired very high volumetric capacitance values. The copolymer film of PEDOT and Paz have been prepared by VPP. The copolymer and composite materials of PEDOT, PAz, and reduced graphene oxide are under studies.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

There is a great demand for the development of new inexpensive, flexible energy storage devices for flexible-portable equipment's. The objectives of this work are to develop and study new energy rich conducting polymer-graphene composite materials for sustainable energy storage devices. These composite materials are suitable not only for energy storage but also for energy conversion applications like solar cells. In order to understand the charging and the charging limiting factors in the composite materials, in situ FTIR and Raman measurements will be applied. In situ spectroelectrochemistry gives information on the type of charge carriers, transfer kinetics, charge recombination, localization and loading processes. Additionally the charging induced structural changes can be recorded. The prepared composites will be applied in symmetric flexible energy storage devices.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Rahul Yewale, Pia Damlin, Mikko Salomäki, Carita Kvarnström, "Layer-by-layer approach to engineer and control conductivity of atmospheric pressure vapor phase polymerized PEDOT thin films" (Submitted to the "Polymers")
2. Rahul Yewale, Pia Damlin, Milla Suominen, Carita Kvarnström, "High capacitance polyazulene thin films by atmospheric vapor phase polymerization" (To be submitted)
3. Rahul Yewale, Pia Damlin, Carita Kvarnström, "In situ UV-VIS, IR, and Raman probing into the doping-dedoping processes of atmospheric pressure vapor phase polymerized PEDOT, PAz and their copolymer" (To be submitted)
4. Under preparation

**TITLE OF THE PhD RESEARCH**

Ashwini Jadhav

Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry,  
University of Turku

aajadh@utu.fi

**Research Director:** Prof. Carita Kvarnström**Supervisor(s):** Prof. Carita Kvarnström, Dr. Pia Damlin and Dr. Mikko Salomäki**Funding:** Compol Tutli, Business Finland.**Estimated time of PhD dissertation:** 2023.**Main aims of the PhD research**

The objective of this work is to synthesize conducting polymer-MXene composites for energy storage applications. Owing to their versatile properties and ease of synthesis, conducting polymers have been used in energy storage systems, sensors, etc. However, they possess very poor cycling stability. One of the ways to overcome this is to make composites with materials that possess high stability. Our goal is to study and characterize these composite materials, and further use them for supercapacitor devices. We primarily aim to use Polyazulene (PAz) as the conducting polymer and combine them with a relatively new class of 2-dimensional materials called MXenes, both of which exhibit high specific capacitance values.

**Main results so far**

Electrochemical polymerization is known to produce conducting polymer films of higher quality when compared to chemically made films, however, electrochemical fabrication lacks behind on the scalability possibilities offered by chemical polymerization. So far, we have performed chemical polymerization of azulene to polyazulene using four different oxidants in different ionic liquids, [Choline][TFSI] and [HMIM][BF<sub>4</sub>]. The materials were characterized by UV-Vis, FTIR, Raman, SEM, XPS and by cyclic voltammetry (CV). The chemically polymerized azulene (cPAz) was compared to the previously reported electrochemically polymerized azulene (ePAz) in the same IL's (ref). FTIR spectra of cPAz matched well with that of the ePAz, thus confirming the successful polymerization in the IL's (fig 1a). Preliminary cyclic voltammetry studies indicate that the current is much higher for cPAz than ePAz at the same scan rate. The CV curves for cPAz also show a pseudocapacitive feature as opposed to the rectangular curve for ePAz, typically observed for EDLC type materials. For further comparison, polymerization was also carried in an organic solvent, acetonitrile, in this case. However, the electrochemical behavior of polyazulene synthesized in IL's far exceeds the polymers synthesized in acetonitrile. In addition to this, when FeCl<sub>3</sub> was used as an oxidizing agent, the current was almost double as opposed to compared to the use of CuBr<sub>2</sub>.

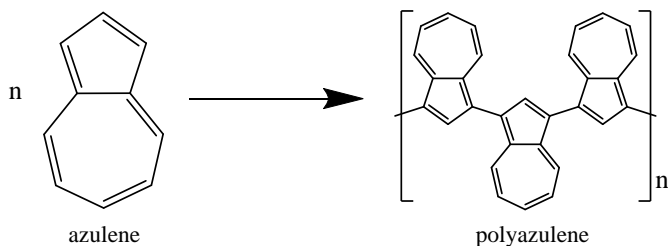


Figure 1 : Structure of monomer and polymer of azulene.

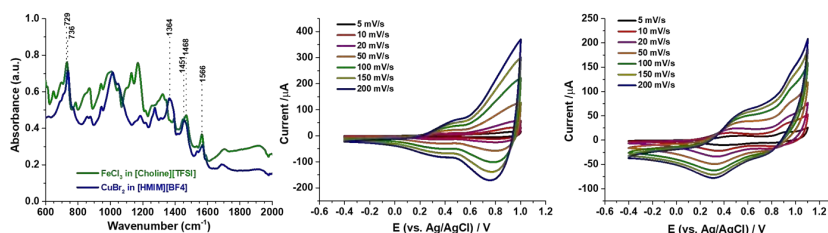


Figure 2 : (a) FTIR spectra of cPAZ in different oxidants and ILs (b) CV for PAZ synthesized using  $\text{FeCl}_3$  as oxidant and [Choline][TFSI] as the solvent and (c) CV for PAZ synthesized using  $\text{CuBr}_2$  as oxidant and [HMIM][ $\text{BF}_4$ ] as the solvent.

### The significance of my research for the research group and the whole research field

The ever-growing demand for the consumption of energy calls for new and effective ways to store and utilize energy. With non-renewable sources of energy being overused, in the current scenario, they are expected to exhaust shortly. Renewable energy, on the other hand, is abundant but is not available all the time and the distribution is not uniform geographically, thus it needs to be stored. Consequently, energy storage devices are of utmost importance to meet energy demands. Batteries, fuel cells, capacitors, and supercapacitors are some of the devices presently used for this purpose. Among these, supercapacitors represent an important class energy storage device that bridges the gap between batteries and capacitors to give optimal energy and power density.

Conducting polymers and their composites provide a vast potential for their use as supercapacitor devices. This work is focused on making these composites by an environmentally friendly method, by use of ionic liquids. Due to the ability of these composites to be deposited or directly synthesized on various substrates, they can be further used in flexible devices, paving way for better electronic materials.

### Papers to be included in the PhD thesis

1. Souminen, M., Jadhav, A., Damlin, P., Kvarnström, C., Chemical Oxidative Polymerization of Azulene in Ionic Liquids (Manuscript to be submitted)

## HENKILÖHAKEMISTO

<b>Nimi</b>		<b>Tavoitetutkinto</b>	<b>Tutkimusryhmä</b>	<b>Sivunumero</b>
Aho	Aapo	FT	Bio-organinen kemia	103
Andrejeff	Sebastian	LuK	Luonnonyhdistekemia	36
Aro-Heinilä	Asmo	FT	Bio-organinen kemia	117
Auchynninkava	Tatsiana	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	78
Byron	Hannah	FT	Epäorganinen materiaalikemia	151
Degbe	Cecilia	FT	Epäorganinen materiaalikemia	149
Dyunyasheva	Venera	MSc	Bio-organinen kemia	97
Eloranta	Julia	LuK	Bio-organinen kemia	95
Eloranta	Pulmu	LuK	Materiaalikemia	177
Eskonen	Ville	FT	Detektioteknologia	24
Fock	Ville	LuK	Bio-organinen kemia	87
Gulumkar	Vijay	FT	Bio-organinen kemia	119
Haapsaari	Hanni	LuK	Bio-organinen kemia	86
Hande	Madhuri	FT	Bio-organinen kemia	113
Hannonen	Jenna	FT	Materiaalikemia	189
Hautala	Emilia	LuK	Materiaalikemia	179
Heikkilä	Krista	FM	Radiofarmaseuttinen kemia	72
Helin	Johanna	LuK	Kemian opettaja	129
Holmström	Suvisaara	FM	Kemian opettaja	131
Imran	Iqbal	FT	Luonnonyhdistekemia	49
Jadhav	Ashwini	FT	Materiaalikemia	195
Kamara	Ibrahim	MSc	Materiaalikemia	181
Kari	Matias	FM	Luonnonyhdistekemia	41
Katila	Tommi	LuK	Kemian opettaja	130
Kerminen	Edla	LuK	Bio-organinen kemia	92
Kim	Jorma	FT	Luonnonyhdistekemia	61
Kinnari	Mikko	LuK	Kemian opettaja	128
Kochrekar	Sachin	FT	Materiaalikemia	187
Koyejo	Adefunke	FT	Materiaalikemia	191
Kuukkanen	Ilari	FM	Luonnonyhdistekemia	43
Lahdenpohja	Salla	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	76
Laitila	Juuso	FT	Luonnonyhdistekemia	51
Lehtinen	Niko	FM	Bio-organinen kemia	99
Leppä	Milla	FT	Luonnonyhdistekemia	59
Levanova	Alesia	MSc	Luonnonyhdistekemia	45
Luntamo	Niko	FM	Luonnonyhdistekemia	37
Lyu	Yonglei	FT	Bio-organinen kemia	123
Manninen	Marianna	FT	Luonnonyhdistekemia	53
Marttila	Lauri	FT	Fysikaalinen kemia	164
Mesimäki	Erika	LuK	Bio-organinen kemia	94
Miller	Kirsi	FM	Epäorganinen materiaalikemia	143

## HENKILÖHAKEMISTO

<b>Nimi</b>		<b>Tavoitetutkinto</b>	<b>Tutkimusryhmä</b>	<b>Sivunumero</b>
Nenonen	Saara	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	74
Nurmio	Mari	LuK	Kemian opettaja	127
Ouvinen	Tuomo	FT	Fysikaalinen kemia	168
Pakarinen	Aliisa	LuK	Materiaalikemia	178
Pellinen	Saara	LuK	Epäorgaaninen materiaalikemia	140
Pihlavisto	Pauliina	LuK	Radiofarmaseuttinen kemia	67
Poikonen	Suvituuli	LuK	Bio-orgaaninen kemia	96
Ponkamo	Jesse	MSc	Materiaalikemia	183
Raunio	Samu	LuK	Epäorgaaninen materiaalikemia	141
Rashid	Sobia	FT	Epäorgaaninen materiaalikemia	145
Rehnberg	Nina	LuK	Epäorgaaninen materiaalikemia	142
Rosenqvist	Petja	FT	Bio-orgaaninen kemia	115
Rämö	Ville-Veikko	LuK	Bio-orgaaninen kemia	89
Räsänen	Markus	FT	Fysikaalinen kemia	166
Saari	Verner	LuK	Bio-orgaaninen kemia	90
Saleh	Lange	FT	Bio-orgaaninen kemia	109
Salo	Simo	LuK	Radiofarmaseuttinen kemia	69
Salojärvi	Esko	FT	Epäorgaaninen materiaalikemia	153
Salonen	Juho	LuK	Radiofarmaseuttinen kemia	68
Salonen	Pasi	FT	Epäorgaaninen materiaalikemia	155
Sillanpää	Mimosa	FM	Luonnonyhdistekemia	39
Sulkanen	Mika	FM	Bio-orgaaninen kemia	101
Suvanto	Jussi	FT	Luonnonyhdistekemia	47
Toiviala	Maaret	LuK	Bio-orgaaninen kemia	93
Turunen	Mia	FM	Materiaalikemia	185
Ukale	Dattatraya	FT	Bio-orgaaninen kemia	111
Valtonen	Salla	FT	Detektioteknologia	28
Vanhakylä	Suvi	FT	Luonnonyhdistekemia	55
Virtanen	Elli	LuK	Materiaalikemia	180
Virtanen	Milja	LuK	Bio-orgaaninen kemia	91
Virtanen	Valtteri	FT	Luonnonyhdistekemia	57
Vuori	Sami	FT	Materiaalikemia	147
Vuorinen	Emmiliisa	FT	Detektioteknologia	26
Wallin	Josefiina	LuK	Bio-orgaaninen kemia	88
Yang	Jinghui	FT	Bio-orgaaninen kemia	121
Yewale	Rahul	FT	Materiaalikemia	193
Yli-Hollo	Titta	LuK	Detektioteknologia	23
Zaferanloo	Adeleh	MSc	Radiofarmaseuttinen kemia	70
Äärelä	Antti	FT	Bio-orgaaninen kemia	105
Österlund	Tommi	FT	Bio-orgaaninen kemia	107