

KEMIAN KEVÄT '24

HUOMINEN HORISONTISSA

LuK- ja FM-seminaari 23.-26.4.



TURUN
YLIOPISTO



DelSiTech



Hyvinvointia rakentamassa



Turku PET
CENTRE

revvity

SEQENS



TuT
Turun
tieteentekijät



SISÄLLYSLUETTELO

Esipuhe	2
Ohjelma	4
Lääkekehityksen kemian linja	8
Kestävän kehityksen materiaalien kemian linja	12
Kemian opettaja	15
Bio-organisen kemian tutkimusryhmä	17
Tutkimusryhmäesittely	18
LuK-esitelmien abstraktit	24
FM-esitelmien abstraktit	31
FT-vaiheen abstraktit	53
Detektioteknologian tutkimusryhmä	69
Tutkimusryhmäesittely	70
LuK-esitelmien abstraktit	75
FM-esitelmien abstraktit	83
FT-vaiheen abstraktit	89
Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä	91
Tutkimusryhmäesittely	92
FM-esitelmien abstraktit	96
FT-vaiheen abstraktit	102
Fysikaalisen kemian tutkimusryhmä	110
Tutkimusryhmäesittely	111
FM-esitelmien abstraktit	117
Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä	119
Tutkimusryhmäesittely	120
LuK-esitelmien abstraktit	126
FM-esitelmien abstraktit	132
FT-vaiheen abstraktit	136
Materiaalikemian tutkimusryhmä	148
Tutkimusryhmäesittely	149
LuK-esitelmien abstraktit	155
FM-esitelmien abstraktit	161
FT-vaiheen abstraktit	171
Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä	187
Tutkimusryhmäesittely	188
LuK-esitelmien abstraktit	194
FM-esitelmien abstraktit	202
FT-vaiheen abstraktit	208
Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimus	212
Tutkimusryhmäesittely	213
LuK-esitelmien abstraktit	214
FM-esitelmien abstraktit	216
CCMA / Neurometabolomics Research Group	220
Tutkimusryhmäesittely	221
FT-vaiheen abstraktit	225
Henkilöhakemisto	229

Esipuhe: Kemian kevät 24–Huominen horisontissa

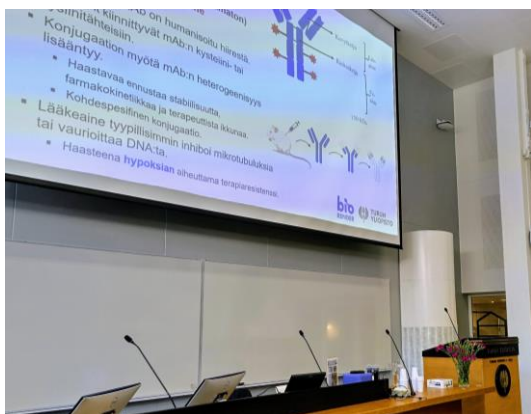
Arvoisat Kemian kevät 2024-tapahtuman osallistujat ja tämän kirjan lukijat,

Elämme tällä hetkellä yliopistossamme muutoksien aikaa. Turun yliopistolle on valittu uusi rehtori, professori Marjo Kaartinen. Hän aloittaa tehtävässään elokuussa 2024. Seuraavana vuorossa on vararehtorien, dekaanien ja laitosjohtajien nimittäminen. Nämä henkilöt luotsaavat toimintaamme seuraavana viisivuotiskautena. Toivottakamme siis rehtorille, vararehtoreille, dekaaneille ja laitosjohtajille onnea ja menestystä vaativissa tehtävissään!

Siirrymme tuota pikaa myös uuteen opetussuunnitelmaan. Pyrkimyksenä on opetuksen kuluvan opetusresurssin vähentäminen opetuksen laadusta kuitenkin tinkimättä. Kemian laitoksella opetusta on jo menneinä vuosina merkittävästi tehostettu ja tämä uudistus tarkoittaa lähinnä vain pientä hienosäätöä opetustarjontaan. Paljon puhetta on ollut myös 1000-tohtoria-pilotista, jossa tavoitteena on tohtoritutkintojen merkittävän lisäämisen lisäksi tohtoritutkintoon käytettävän ajan lyhentäminen - kolmeen vuoteen. Tämä tarkoittaa tutkinnon rakenteen ja vaatimusten uudistamista ja myös näiden tulisi tapahtua tutkinnon laadusta tinkimättä. Tohtoripilotti on valtiolta merkittävä satsaus kansallisen tutkimukseen ja kehitykseen. Tuleva näyttää, miten tässä tullaan onnistumaan ja mitkä tulevat olemaan panostuksen todelliset vaikutukset. Tämä heijastune myös maisterikoulutukseen.



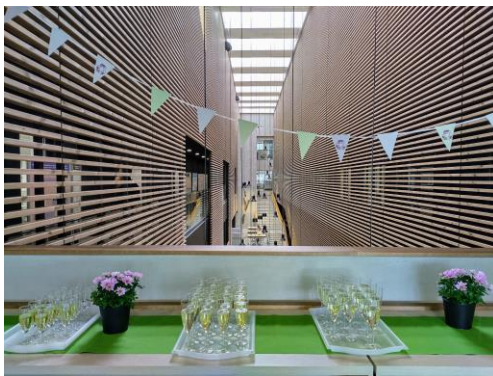
Keväthenkisen tapahtumamme teemana on tänä vuonna **”Huominen Horisontissa”**. Slogan kuvaa tutkimuksemme ideologista tavoitetta, joka pyrkii paremman huomisen rakentamiseen kemiallisten innovaatioiden keinoin, sekä opiskelijoiden odottavaa valmistumisen tunnelmaa, jota jo perinteeksi muodostunut tapahtumamme edustaa. Slogan kuvaa myös hyvin yliopistomme muutoksen tuulia sekä tämän hetken maailman menoa, joka on maltillisestikin ilmaistuna **”odottava”**.



Viime kertaisen tapaan *Kemian kevät* järjestetään Tauno Nurmela-salissa Turun yliopiston päärakennuksessa ja posteriesitykset Aurumin 5. kerroksessa. Samoin tapahtuman kruunaava iltajuhla järjestetään Aurumin 5. kerroksessa. Tapahtumaan osallistuvien opiskelijoiden määrä

jatkaa kasvuaan. Tällä kertaa meillä on ilo nähdä peräti 70 esitelmää: 40 LuK- ja 30 FM-esitelmää. Tällä saadaan 5. kerros natisemaan liitoksistaan, joka on tietysti hieno asia!

Kannustan opiskelijoita osallistumaan aktiivisesti tapahtumaan, myös muihin kuin oman tutkimusalan osioihin. Tehkää rohkeasti kysymyksiä ja tehdään näin tapahtumasta todellinen tieteellinen symposium! Esitelmien määrässä me emme jälkeen jää.



Oleelliset henkilörekrutoinnit

Onnistuimme erinomaisesti uuden materiaalikemian professorin rekrytoinnissa. Tehtävässä aloittaa ensi syksystä lähtien Dr. Jovana Milic. Hänen erikoistumisalanaan ovat supramolekyyliekemaa hyödyntävät hybridimateriaalit, perovskiiitit ja niiden valoaktiiviset sovellutukset, mukaan lukien aurinkokennoteknologiat. Hän tuo mukanaan laitokselle myös arvostetun ERC-rahoituksen. Tämä tulee muuttamaan merkittävästi laitoksessamme tehtävää materiaalikemian tutkimusta ja opetusta. Tutkimusryhmään (n. 6 henkeä) liittyvät laitehankinnat ja osa rekrytoinneista ovat paraikaa käynnissä.

Toivotan kaikille antoisaa Kemian kevät -tapahtumaa ja alkanutta kevättä!

Turussa 15.3.2024 Prof. Pasi Virta, kemian laitoksen johtaja

Tiistai 23.4.

8.30 Tapahtuman avaus (laitoksen johtaja, prof. Pasi Virta)

8.40 Turun Kemistikerho ry

8.50-10.00 Bio-organainen kemia I

8.50 Bio-organaisen kemian tutkimusryhmän esittely

9.00 LuK Onni Jussila: Modifioidut nukleasiresistentit oligonukleotidit

9.15 LuK Eevi Kallio: Staudingerin ligaatio ja sen sovellutukset biokonjugointimenetelmänä

9.30 LuK Alekski Leppänen: DNA-pohjaiset nanojohtimet

9.45 LuK Lydia Ojamo: Bio-ortogonaaliset ”click/napsautus”-reaktiot

10.00-10.20 Kahvitauko/tarjoilu

10.20-11.30 Bio-organainen kemia II

10.20 LuK Pihla Peltomäki: Heksofuranosidinukleosidit

10.35 LuK Reetta Santahuhta: Emäsosastaan fleksiibelit nukleosidianalogit

10.50 FM Janni Ollikainen: Ruskean rasvan aktivointikokeet makrofagipuutteisilla hiirillä

11.10 FM Alessandra Rafkin: Tetrahydrotsoliini HCl-lääkeaineen synteesireitin optimointi teollisessa mittakaavassa

11.30-12.30 Lounastauko

12.30-13.50 Bio-organainen kemia III

12.30 FM Eero Sillanpää: Hiilihydraattifosfodiesterien synteesi ja kemiallinen reaktiivisuus

12.50 FM Ossi Tanhuanpää: *N,N*-dimetoksi-2,2-bis(aminometyyli)propani-1,3-diolien synteesi

13.10 FM Juulia Tuominen: Dinukleosidifosfotriesterien fosforamidiitti-johdannaisten synteesi liuoksessa

13.30 FM Mikael Viitakoski: Atsakruunuklusterit keinotekoisina nukleaseina

13.50-14.10 Kahvitauko/tarjoilu

14.10-15.30 Bio-organainen kemia IV

14.10 MSc Muditha Herath: Post-SELEX modification of aptamers through reversible formation of *N*-methoxy-1,3-oxazinane (MOANA) nucleoside analogues

14.30 MSc Kseniia Petrova-Szczasiuk: Synthesis of modified D-allohexafuranosyl nucleoside analogues

14.50 MSc Kai Yan: Improving the structure of organomercury oligonucleotide conjugations for ribonuclease activity

15.10 MSc Müjgan Üstbas: Environmentally Friendly Process for Racemization of Benzofuroquinolizines and Recovery of T1143 from Production Waste-stream

Keskiviikko 24.4.

8.30-9.55 Detektioteknologia I

- 8.30 Detektioteknologian tutkimusryhmän esittely
- 8.40 LuK Emma Aho: RNA:n partikkelipohjainen eristäminen nisäkässoluista
- 8.55 LuK Olivia Kuivala: Kaspaasien aktiivisuuden havainnointi fluoresenssiin perustuvilla in vitro -menetelmillä
- 9.10 LuK Anu Kultalahti: Pikatestit virtsarakon syövän diagnosoinnissa
- 9.25 LuK Sara Lahti: *In vitro* -yhteensopivat menetelmät molekyylihajottajien seulontaan
- 9.40 LuK Dahir Mohamed: Proteiinipitoisuuden määrittäminen

9.55-10.15 Kahvitauko/tarjoilu

10.15-11.40 Detektioteknologia II

- 10.15 LuK Kalle Mäntylä: Peptidilääkkeiden aggregaation mittaamenetelmät
- 10.30 LuK Ilona Nieminen: IMPDH 1 ja 2 rakenteelliset eroavaisuudet syöpälääkekehityksen näkökulmasta
- 10.45 LuK Mei Pham: Yhden nukleotidin polymorfismin havainnointimenetelmät
- 11.00 FM Eemeli Kujala: Eu-peptidikonjugaattiin perustuvan detektiomenetelmän optimointi ja analysointi virtsarakon syöväälle
- 11.20 FM Jenni Vuorio: Analytical method development for protein concentration and aggregation: Release study from a silica-based drug carrier

11.40-12.40 Lounastauko

12.40-14.20 Radiofarmaseuttinen kemia ja Fysikaalinen kemia

- 12.40 Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmän esittely
- 12.50 FM Matti Kortelainen: Karbonylaatioreaktiot ¹¹C-radiokemiassa
- 13.10 FM Leo Nissilä: Zirconium-89:llä leimatun di-scFv1F4 – vasta-ainefragmentin synteesi aivoissa sijaitsevien GABA-A reseptorien PET-kuvantamiseen
- 13.30 FM Joonas Pohja: Electrophilic synthesis of [¹⁸F]UCB-J and evaluation of metabolic profile in rats
- 13.50 Fysikaalisen kemian tutkimusryhmän esittely
- 14.00 FM Juuso Kuusisto: Mustalipeän viskositeetti ja sen määrittämisen ongelmat

14.30-16 Posterinäyttely Aurumin 5. kerroksessa

Torstai 25.4.

8.30-9.40 Luonnonyhdistekemia I

- 8.30 Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmän esittely
- 8.40 LuK Justus Hakamäki: Polyfenolien synteettiset polymerisaatio- ja stabilointimenetelmät
- 8.55 LuK Saku Halonen: Merellisten organismien tuottamien meroterpenoidien monimuotoisuus ja antibakteerinen aktiivisuus
- 9.10 LuK Hanna Lammassaari: Indoli- ja karbatsoliaikaloidien MRSA-aktiivisuus: mekanismit ja rakenneaktiivisuusvuorovaikutukset
- 9.25 LuK Tiina Seppänen: Flavonoidien antimikrobiaktiivisuuden parantaminen prenyloimalla

9.40-10.00 Kahvitauko/tarjoilu

10.00-11.10 Luonnonyhdistekemia II

- 10.00 LuK Siiri Suuronen: Artemisiinin kvantitatiivinen LC-MS/MS-analytiikka
- 10.15 LuK Amanda Teh: Antimikrobiaaliset metallifenoliset verkostot
- 10.30 FM Tiia Myllymäki: Ionilähteessä syntyvien ionisuhteiden hyödyntäminen flavonoliglykosidien karakterisoinnissa ja kvantitoinnissa
- 10.50 FM Tuuli Väisänen: Flavonien yhdisteryhmäspesifinen UPLC-MS/MS-analytiikka: näppärän työkalun luominen flavoniryhmien tunnistamiseen

11.10-12.15 Lounastauko

12.15-13.55 Materiaalikemia I

- 12.15 Materiaalikemian tutkimusryhmän esittely
- 12.25 LuK Sofia Karivieri: Power-to-X – ympäristöystävällistä kemiaa uusiutuvalla energialla
- 12.40 LuK Akseli Korkeamäki: Hyödyllisiä kemikaaleja hiilidioksidista sähkökemiallisesti
- 12.55 LuK Riku Kovanen: Nestemäisiä polttoaineita hiilidioksidista sähkökemiallisesti pelkistämällä
- 13.10 LuK Nicola Nurmi: Viologeeneit ja johtavat polymeerit sähkökromisina materiaaleina
- 13.25 LuK Paavo Suominen: Metalliyhdisteet sähkökemiallisissa superkondensaattoreissa
- 13.40 LuK Katariina Varpio: Superkondensaattorit – kestävän kehityksen energianvarastointilaitteina

13.55-14.15 Kahvitauko/tarjoilu

14.15-15.55 Materiaalikemia II

- 14.15 FM Roni Hentula: Lääkeaineiden poistaminen vedestä MXene hybridimateriaalien avulla
- 14.35 FM Kalle Katavisto: PEDOT-polymeerin käyttö bioaurinkokennossa
- 14.55 FM Salla-Sofia Mäkinen: Hydrothermal synthesis of reduced graphene oxide-cellulose composites for supercapacitor application
- 15.15 MSc Ciara O'Gorman: Revolutionising the future of EVA interlayers: A comprehensive analysis of interlayer properties
- 15.35 MSc Siyan Peng: Chemically synthesized PEDOT-RGO nanocomposite for supercapacitor applications

Perjantai 26.4.

8.30-9.40 Älykkäiden materiaalien kemia I

8.30 Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmän esittely

8.40 LuK Jenni Ali-Penttilä: Lantanideihin perustuvat aikaerotteiset biosensorit ja biokvanttaminen

8.55 LuK Aino Kärämänoja: Luminoivat lantanidiohutkalvot ja niiden käyttö sensoreissa sekä valaistusmateriaaleissa

9.10 LuK Timo Laukkanen: Metalliorgaaniset verkkorakenteet (MOF) ja niiden synteesimenetelmät

9.25 LuK Kaisa Miller: Loisteputkilamppujen kierrätys

9.40-10.00 Kahvitauko/tarjoilu

10.00-11.00 Älykkäiden materiaalien kemia II

10.00 LuK Tommi Mäenpää: Luminoivat materiaalit LCD-näyttöjen LED-taustavaloissa

10.15 LuK Miika Mäkipää: Vanadiini ympäristössä ja lääketieteessä

10.30 LuK Pekka Piivek: Hackmaniittien foto- ja radiokromismi

10.45 LuK Joonatan Tuoresjärvi: UV-alueen kestoluminesenssimateriaalit ja niiden sovellukset

11.00-12.15 Lounastauko

12.15-13.15 Älykkäiden materiaalien kemia III

12.15 MSc Josh Baggott: Lanthanide doping of photochromic sodalites

12.35 FM Bettiina Muurinen: Fotokromisten bromihackmaniitti-linsien valmistus ja ominaisuudet

12.55 MSc Madara Tomele: Luminescence and tenebrescence in aluminate sodalites and related materials

13.15-13.35 Kahvitauko/tarjoilu

13.35-14.55 Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimus

13.35 Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimuksen esittely

13.45 LuK Laura Alakiikonen: Tutkiva oppiminen kemian oppimisen ja opetuksen välineenä

14.00 LuK Riina Hyypiä: Yhteistoiminnallinen oppiminen – STAD-menetelmän käyttö lukion kemian opetuksessa

14.15 FM Amanda Virrankoski: Tavoiteorientaatioprofilien yhteys keskeyttämisajatuksiin luonnontieteiden opiskelijoilla

14.35 FM Reetta Kyyränäinen: Sitoutuminen kemian harjoitustöissä

14.55 Tapahtuman päätös (laitoksen johtaja, prof. Pasi Virta)

18.00 Iltajuhla

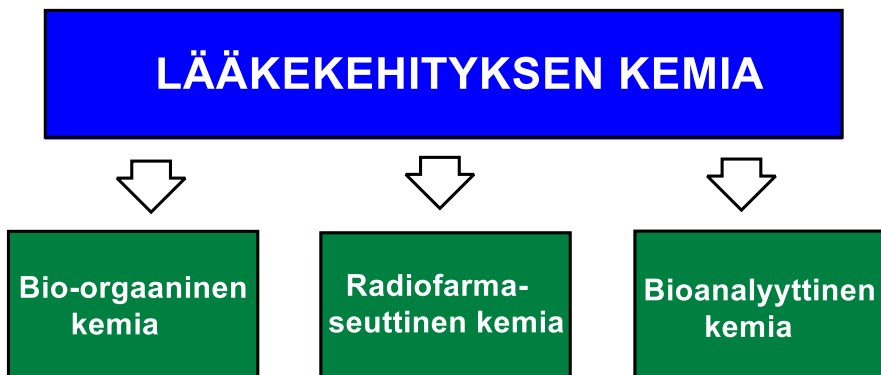
LÄÄKEKEHITYKSEN KEMIAA: HALUATKO LÖYTÄÄ, TUNNISTAA, KVANTITOIDA, SUUNNITELLA, VALMISTAA TAI KOHDENTAA UUSIA LÄÄKEAINEITA, TAI KEHITTÄÄ NIILLE ANALYYSIMENETELMIÄ?

yliopistonlehtori Harri Härmä, prof. Tuomas Lönnberg, prof. Anu Airaksinen, prof. Juha-Pekka Salminen, prof. Pasi Virta

Lääkekehityksen kemia, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto
s-posti: pasi.virta@utu.fi, anu.airaksinen@utu.fi, harri.harma@utu.fi ja 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 kudosspesifinen 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 (<http://bioorganic.utu.fi/>), detektioteknologian (<https://sites.utu.fi/reagentanalytics/>), luonnonyhdistekemian (<http://naturalchemistry.utu.fi/>) ja radiofarmaseuttisen kemian (<https://turkupetcentre.fi/research-strategy/pet-radiochemistry-research/>) tutkimusryhmässä. Bio-organisella ja radiofarmaseuttisella kemialla on oma temaattinen opetustarjontansa, kun taas bioanalyttisen kemian opetus järjestetään yhteistyössä detektioteknologian ja luonnonyhdistekemian ryhmien kesken (kuva 1).



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

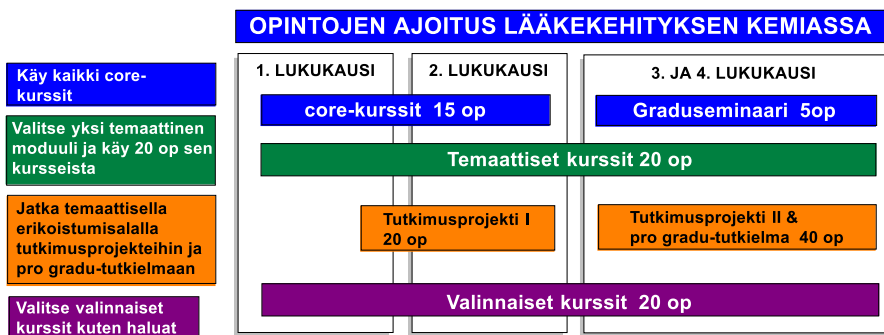
Maisterivaiheen valintoja on hyvä miettiä jo toisena vuonna LuK-työaihetta valittaessa

Lääkekehityksen kemian pääaineen kolme temaattista erikoistumisalaa lähestyvät lääkekehityksen kemian eri perspektiiveistä. Bio-organaisessa ja radiofarmaseuttisessa kemiassa potentiaalisia lääkeyhdisteitä ja diagnostisia työkaluja opitaan valmistamaan synteettisesti sekä tutkimaan lääkeainekandidaattien alustavia farmako- ja dianoforisia ominaisuuksia. Bioanalyytisessä kemiassa potentiaalisille lääkeaineille kehitetään analyytisiä menetelmiä ja yhdisteitä kartoitetaan analyysimenetelmien avulla.

Nämä kaikki kolme erikoistumisalaa ovat edustettuina omina vaihtoehtoina jo LuK-työtä valittaessa. Huolimatta maisteriopintojen modulaarisuudesta, on suositeltavaa miettiä jo tuossa vaiheessa mille lääkekehityksen kemian alalle haluaa maisterivaiheessa erikoistua. Tällöin LuK-työ ja –tutkielma antavat vankan sysäyksen oikeaan suuntaan jo kolmannen opiskeluvuoden aikana. Kannattaa jutella tutkimusryhmien johtajien kanssa, jos LuK-vaiheen valinnoissa on kysyttävää.

Maisterivaiheen opintojen ajoituksen aikataulu

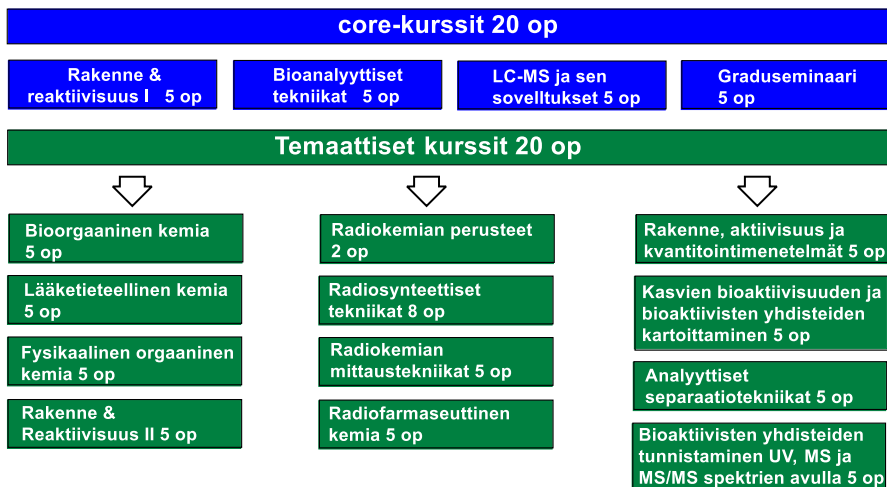
Lääkekehityksen kemian opetus järjestetään niin, että kaikille pakolliset ns. core-kurssit järjestetään joka vuosi. Temaattiset kurssit sen sijaan järjestetään pääosin joka toinen vuosi, jolloin ne voidaan suorittaa tasaisesti kahden vuoden aikana. Opintojen ajoittamisessa pyritään siihen, että ensimmäisenä 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 liittyvään pro gradu –tutkielmaan sekä näitä molempia tukevaan Graduseminariin (kuva 2).



Kuva 2. Lääkekehityksen kemian maisterivaiheen opinnot kestävät kaksi vuotta. 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-organaisen kemian, radiofarmaseuttisen kemian ja bioanalyytisen kemian core-kurssien ja temaattisten kurssien (kuva 3) sisältö on suunniteltu niin, että ne tukevat opiskelijan erikoistumista näille aloille, tarjoten samalla teoreettisen ja käytännön 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 muun tutkimusorganisaation tai yrityksen kanssa, jos se on erikoistumisalaa vetävän professorin näkemyksen mukaan opiskelijan etujen mukaista. Nämä neuvottelut käydään tapauskohtaisesti yhteistyökumppanin, opiskelijan ja tutkimusryhmän edustajan kesken.



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

Tyypilliset työtehtävät valmistumisen jälkeen

Lääkekehityksen kemian pääaineesta valmistuvat maisterit siirtyvät joko töihin teollisuuteen tai jatkavat tohtoriopintoihin. Tutkijan uralle erikoistuvien on mahdollista anoa tohtorikoulutettavan opintopaikkaa Turun yliopiston tutkijakoulusta, jossa lääkekehityksen kemian opiskelijat voivat saada paikan joko Eksaktien tieteiden tohtoriohjelmasta (<https://www.utu.fi/fi/tutkimus/tutkijakoulu/eksaktien-tieteiden-tohtoriohjelma>) tai Lääkekehityksen tohtoriohjelmasta (<https://www.utu.fi/fi/tutkimus/tutkijakoulu/laaketutkimuksen-tohtoriohjelma>). Jos tavoittelet tohtoriopintoja, sinulle on eduksi, jos suoritat pääaineen opinnot erinomaisin arvosanoin. Tohtoriopinnot kannattaa ottaa puheeksi tutkimusryhmää vetävän professorin kanssa jo hyvissä ajoin, esimerkiksi Tutkimusprojekti II:n aikana.

Teollisuudessa varsin tyypillisiä työpaikkoja Turun seudulla ovat Bayer, Orion, Revvity, Radiometer, Biovian, Organon, Seqens sekä pienemmät bio/kemian alan yritykset. Työtehtävistä yleisimpiä ovat tutkija, tuotekehityskemisti, synteetikemisti, laadunvalvontakemisti, analyysikemisti ja bioanalytikko. Tohtorit työllistyvät samoihin tutkimusaloihin tutkijoiksi ja johtotehtäviin.

Lisätietoja lääkekehityksen kemian tutkimusryhmistä

Bio-orgaanisen kemian tutkimusryhmä on esitelty tarkemmin sivuilla 17–23, detektioteknologian tutkimusryhmä sivuilla 69–74, radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä sivuilla 91–95 ja luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä sivuilla 119–125.



KESTÄVÄN KEHITYKSEN MATERIAALIEN KEMIA – RATKAISUJA JA YMMÄRRYSTÄ IHMISKUNNAN ONGELMIIN

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

Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

s-posti: carita.kvarnstrom@utu.fi, mika.lastusaari@utu.fi, ari.lehtonen@utu.fi,
jukka.lukkari@utu.fi

Kestävän kehityksen materiaalien kemiassa 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. Kestävän kehityksen materiaalien kemian pääaineessa opiskelija voi syventyä tarkemmin joko sovellettuun materiaalikemiaan tai älykkäiden materiaalien kemiaan. Koulutuksen tavoitteena on antaa hyvät tiedot *orgaanisista ja epäorgaanisista materiaaleista sekä hybridimateriaaleista, niiden ominaisuuksista, rakenteesta ja sovelluksista, materiaalien tutkimusmenetelmistä ja kemian teoreettisesta perustasta sekä opettaa yleisesti ajattelemaan kemiaa*. Opintosisällöt ovat *monitieteellisiä fysiikasta biologiaan, geologiakaan unohtamatta*. Jos olet kiinnostunut **materiaaleista, luonnosta ja sen ilmiöistä sekä kestävästä kehityksestä**, tämä on sinun alasi!

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

Kestävän kehityksen materiaalien kemian linjaan kuuluu tällä hetkellä kolme tutkimusryhmää:

- Fysikaalisen kemian ryhmä (Prof. Jukka Lukkari)
- Materiaalikemian tutkimusryhmä (Prof. Carita Kvarnström)
- Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä (Prof. Mika Lastusaari ja dos. Ari Lehtonen)

Opintojen sisältö

Viimeistään kolmannen opintovuoden alussa, valittaessa aihetta LuK-työlle ja -tutkielmalle, opiskelija suuntautuu oman kiinnostuksensa mukaisesti haluamaansa tutkimusryhmään. Kestävän kehityksen materiaalien kemian pääaineen tutkimusryhmien suuntautumiset ovat seuraavat:

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

Älykkäiden materiaalien kemiassa (*Intelligent Materials Chemistry*) syvennyttään materiaalien valmistukseen, tutkimusmenetelmiin sekä hyödyntämiseen esimerkiksi sensoreissa, detektoreissa, valaistus- ja energiateknologioissa sekä katalyysissä. Lisäksi tutkitaan materiaalien kierrätystä jätteestä uusiksi älykkäiksi materiaaleiksi.

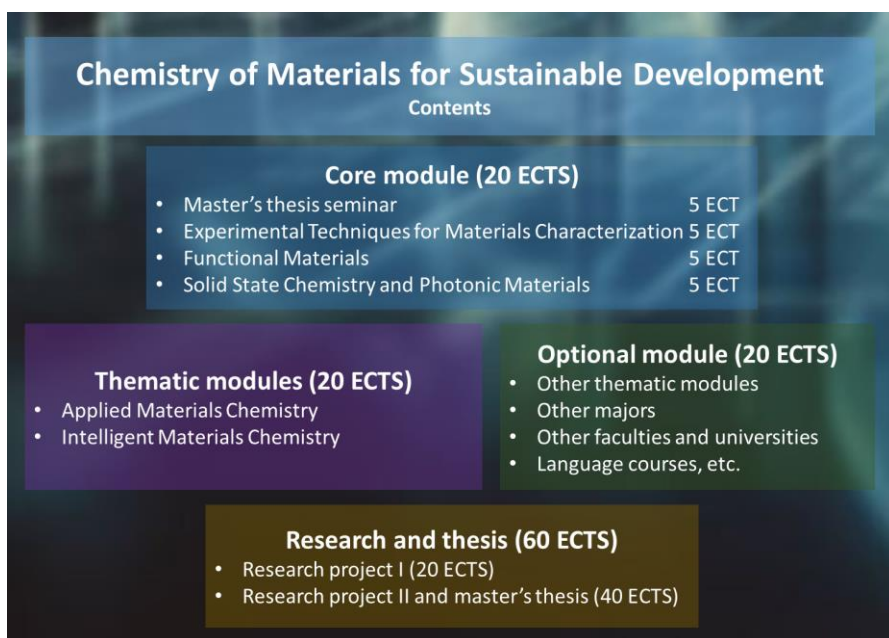
Kaikki pääaineen opiskelijat suorittavat oppiaineen *perusmoduulin (Core Module)*, johon kuuluu luentokursseja sekä *Pro gradu -seminaari (Thesis Seminar)*.

Tämän lisäksi on valittava *toinen kahdesta aihemoduulista eli temaattisesta moduulista (Thematic Modules)*, jotka kuvastavat opetuksen ja tutkimuksen tarkempaa jakautumista.

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.

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)*.

Kuva 1 kokoaa kestävän kehityksen materiaalien kemian opintojen sisällön.

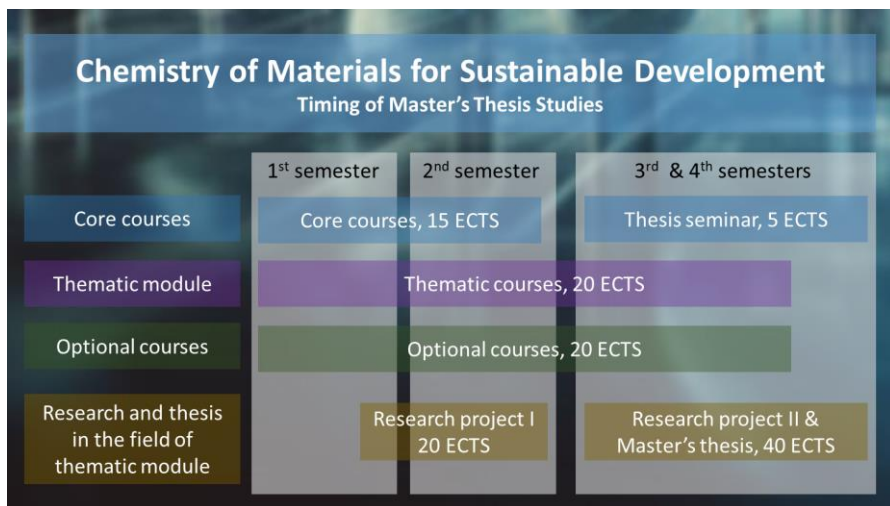


Kuva 1. Kestävän kehityksen materiaalien kemian opintojen sisältö.

Maisteriopinnot ovat kaksivuotiset. Temaattisten moduulien kurssit luennoidaan useimmiten joka toinen vuosi. On hyvä suorittaa suuri osa luentokursseista ja Tutkimusprojekti I ensimmäisen opintovuoden aikana, jolloin toisena vuonna pääsee keskittymään Tutkimusprojekti II:een 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 vastuupettajien kanssa.

Kuva 2 kertoo opintojen ohjeellisen suoritusaikataulun.



Kuva 2. Kestävän kehityksen materiaalien kemian opintojen ajoitus.

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. eksaktien tieteiden tohtoriohjelma Exactus, tutkimusprojektit sekä useat säätiöt. Jatko-opintoihin tähtäävän kannattaa pyrkiä suorittamaan opintonsa mahdollisimman hyvin arvosanoin.

Lisätietoja

Kestävän kehityksen materiaalien kemiasta voi kysyä lisätietoja tutkimusryhmien johtajilta. Myös tutkimusryhmien verkkosivuilta saa lisätietoja:

Fysikaalisen kemian ryhmä: sites.utu.fi/physical-chemistry/

Materiaalikemian ryhmä (MCRG): materialschemistry.utu.fi/

Älykkäiden materiaalien kemian ryhmä (IMC): imc.utu.fi/

KEMIAN OPETTAJAKSI OPISKELEMINEN

Yliopistonlehtori Veli-Matti Vesterinen

Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto
s-posti: 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 kandivaiheesta saakka rinnakkain kemian opintojen kanssa. Tällä tavoin aineenhallinnasta muodostuu yhdessä kasvatustieteellisen tiedon ja taitojen kanssa opetuksessa vaadittava elävä kokonaisuus.

Kemian opetuksen suuntaavat opinnot LuK-vaiheessa

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

Aineenopettajan opinnot sisältävät kemian ja kemian opetuksen opintojen lisäksi myös toisen opettettavan 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.

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

- Kemian sekä kemian opetuksen opinnot (85 op)
- Toisen opettettavan aineen opinnot (60 op)
- Kieli ja viestintäopinnot (10 op)
- Muita opintoja (25 op)

Kemian opettajan maisteriopinnot

Opettajan pedagogiset opinnot suoritetaan LuK-tutkinnon jälkeen osana maisteriopinnoita neljäntenä opiskeluvuonna. Näihin opintoihin sisältyy kasvatustieteen opintoja sekä harjoittelukouluissa suoritettavat opetusharjoittelut.

Maisteriopinnot kemian opettajan tutkimusohjelmassa sisältävät tutkimusprojektin ja pro gradu -tutkielman lisäksi useita muita kemian opetukseen liittyviä kursseja. Monet näistä kursseista järjestetään yhteistyössä tiedekunnan muun laitosten kanssa. 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)

Kemian aineenopettajan ja luokanopettajan opinnot

Vuodesta 2022 kemian laitoksella on opiskellut myös opiskelijoita, jotka opiskelevat kemian, toisen opettavan aineen ja opettajan pedagogisten opintojen lisäksi perusopetuksessa opetettavien aineiden ja aihekokonaisuuksien monialaiset opintoja. Nämä opinnot antavat ohjelmasta valmistuville toimia kemian aineenopettajan tehtävien lisäksi myös luokanopettajana alakoulussa.

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.

BIO-ORGAANISEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ

BIOORGANIC GROUP



BIOMOLEKYYLIEN KEMIAA

prof. Tuomas Lönnberg ja prof. Pasi Virta

*Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, <http://bioorganic.utu.fi>**Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto**s-posti: pamavi@utu.fi*

Bio-organisen kemian tutkimus on keskittynyt biopolymeerien; peptidien, hiilihydraattien ja nukleiinihappojen kemiaan. Keskeisimpinä tutkimuksen kohteina ovat oligonukleotidit ja niiden konjugaatit. Konjugoitavina ryhminä toimivat yleensä muut funktionaaliset biopolymeerit. Tavoitteena on nukleiinihappojen manipuloiminen solubiologian, lääkekehityksen ja diagnostiikan tarpeisiin. Ryhmämme tekee tiivistä yhteistyötä myös lääkeiteollisuuden kanssa, jossa mielenkiinto suuren molekyylipainon biologisiin lääkkeisiin on kasvanut. Koronarokotteiden menestyksen ja niiden tuoman yleisen hyväksynnän ja tietoisuuden myötä mielenkiinnon voi odottaa entisestään kasvavan. Tutkimus ei keskity pelkästään uudenlaisten lääkeaihioiden ja niiden täsmälääkeominaisuuksien kehittelyyn, vaan pyrimme myös tehostamaan itse syntetiikkaa kestäväen kehityksen standardit huomioiden. Synteettisen kemian lisäksi toimintamme edellyttää monimuotoisen analytiikan hallintaa, joihin opiskelijat pääsevät ryhmässämme tutustumaan. HPLC-, massa-, NMR-, UV- ja CD-spektroskopian lisäksi rutiinianalytiikaksemme ovat vakiintuneet esimerkiksi dynaaminen valonsironta (DLS), erilaiset elektroforeesitekniikat ja kokoerottelukromatografia ja tähän yhdistetty valonsirontadetektointi (SEC-MALS). Nämä suurille makromolekyyleille soveltuvat tekniikat ovat keskeisiä työkaluja modernissa lääketutkimuksessa. Tutkimuksen ja opetuksen ohella koulutamme asiantuntijoita lääkeiteollisuuden eri sektoreille.

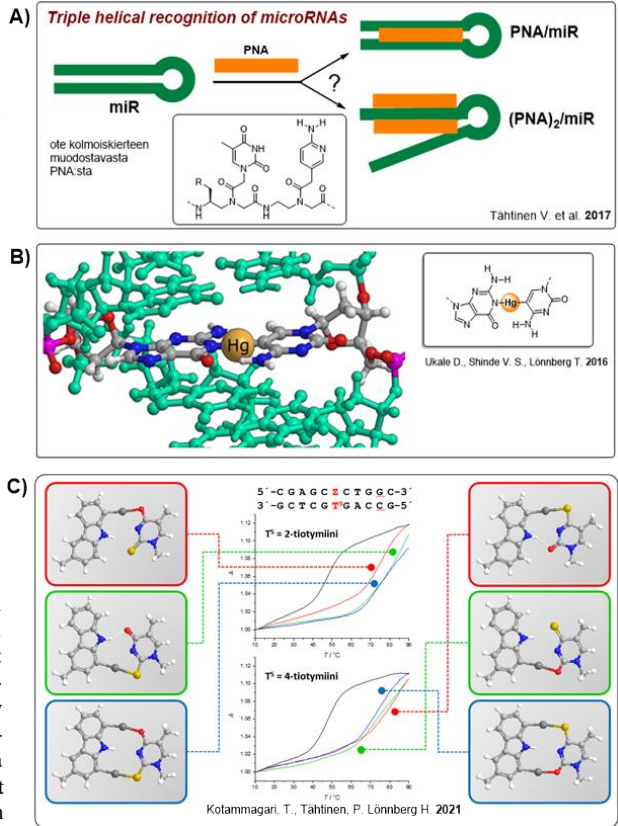
Bio-organisen kemian ryhmäkuva 11.3.2024 (ei kattava)

RNA:han sitoutuvat korkean affiniteetin hybridisaatiokoettimet

Proteiinisynteesiä ohjaavien lähetti-RNA-molekyylien ohella genomi tuottaa runsaasti ns. ei-koodaavia ribonukleinihappoja. 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 muodostumiseen perustuvalla hybridisaatiodiagnostiikalla on vaikeaa, koska oligonukleotidit eivät useinkaan pysty avaamaan kaksoiskierreistä rakennetta. Tähän ongelmaan on laboratoriossamme pureuduttu useillakin eri menetelmillä. Lyhyiden oligonukleotidien affiniteettiä voidaan tehostaa esimerkiksi sopivalla RNA:han sitoutuvalla pienmolekyyliligandilla.

Toinen tapa miRNA:n tunnistukseen on sopivasti muokatut kolmoiskierteen muodostavat PNA-juosteet (Kuva 1A). Kolmoiskierrespesifisyyttä 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 (Kuva 1B) voi lisätä muodostuvan kaksoiskierteen pysyvyyttä merkittävästi. Toisin kuin puhtaasti koordinaatiiviset kompleksit, organometalliset kompleksit eivät dissosioitu äärimmäisen laimeissakaan liuoksissa. Tällainen pysyvyys on ehdoton edellytys metalloittujen oligonukleotidien käytölle solunsisäisissä sovelluksissa. Metalloidut oligonukleotidit aavaat mahdollisuuksia myös vieraampien nukleoemästen tunnistamiseksi, jollaisia esiintyy esimerkiksi siirtäjä-RNA:ssa. Tähän tutkimukseen liittyen kirjassa esitellään yksi väitöskirjatyo (Mark Afari).

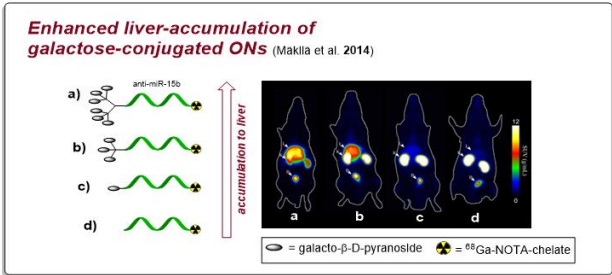


Kuva 1. A) miRNA:n tunnistus kolmoiskierteen muodostavalla PNA:lla. B) esimerkki metallivälitteisestä emäsparista ja C) 2-tio vs 4-tiotymiinin selektiivinen tunnistus.

Oligonukleotidilääkkeiden kudosspesifinen kohdentaminen

Oligonukleotideja voidaan muokata lääkkeiksi sairauksiin, joita ei kyetä hoitamaan perinteisillä pienimolekyylisillä lääkkeillä. Isokokoisina ja varauksellisina makromolekyyleinä niiden ominaisuudet ovat kuitenkin kaukana optimaalisesta lääkemolekyylistä.

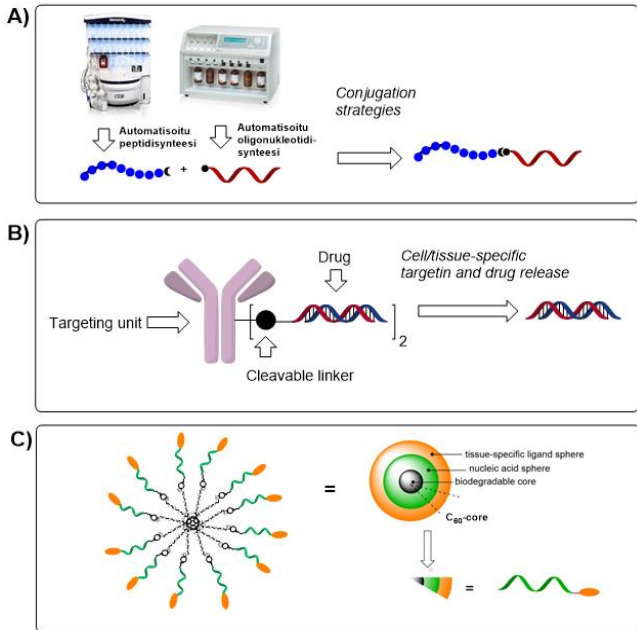
Edelleenkin suurina haasteina ovat niiden heikko tunkeutuminen soluun sekä epäedulliset in vivo-ominaisuudet. Voidaanko terapeuttien oligonukleotidien kulkua elimistössä ohjata haluttuihin soluihin tai kudoksiin liittämällä niihin solujen pintarakenteita tunnistavia molekyyliä ja tätä kautta tehostaa ja laajentaa niiden sovellettavuutta lääkemolekyyleinä? Tätä pyritään selvittämään konjugoimalla oligonukleotideja



Kuva 2. Oligonukleotidien in vivo-ominaisuuksien tarkastelua

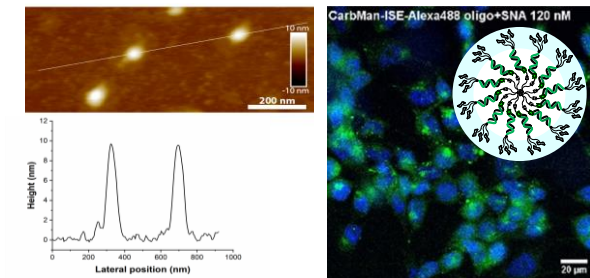
erilaisilla biologisesti aktiivisilla hiilihydraateilla (Kuva 2) ja peptideillä (Kuva 3A), sekä myös vasta-ainepohjaisilla proteiinirakenteilla (Kuva 3B).

Tämän lisäksi ryhmässämme kehitetään myös uusia konjugointikemoita näiden useammasta biomolekyylistä koostuvien rakenteiden valmistamiseksi (Kuva 3A). Yhteistyössä Turun PET-keskuksen kanssa näiden konjugaattien kulkua pystytään seuraamaan eläinmalleissa (Kuva 2). Lisäksi oma preliiminaari-



solulaboratoriomme tukee ymmärrystämme oligonukleotidien solun läpäisevyyteen ja lääkinnälliseen tehoon vaikuttavista tekijöistä.

Enenevässä määrin mielenkiintomme on DNA-pohjaisissa nanorakenteissa ja näiden mahdollisissa 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-

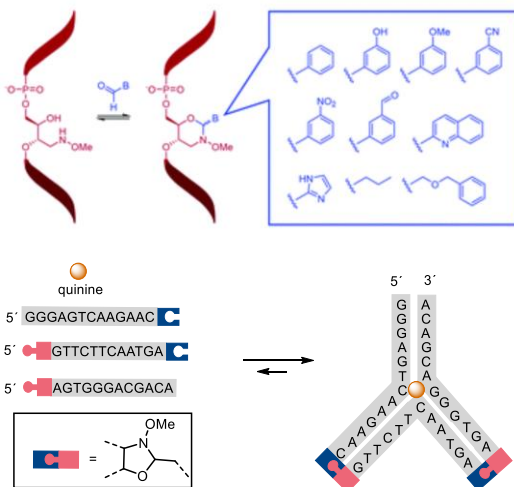


Kuva 4. Soluspesifisin ligandien muokatut pallonukleiinihapot ovat yksi tutkimuskohteemme. Ohessa AFM-kuva eräästä pallonukleiinihaposta sekä mikroskooppikuva niiden kulkeutumisesta syöpäsoluihin.

rakenteisiin soveltuvia uudenlaisia biohajoavia ydinrakenteita sekä parantaa niiden soluspesifisyyttä sopivin ligandien (Kuva 4). Kaksi ryhmämme väitöskirjaprojektia sivuaa näitä tutkimuksia (Toni Laine ja Hanni Haapsaari).

DNA:han perustuvan dynaamisen kombinatorisen kemian ja supramolekyylikemian sovellutukset

Dynaamisesti itsejärjestäytyviä molekyyliä voidaan hyödyntää supramolekulaaristen rakenteiden ja molekulaaristen koneiden valmistuksessa, mutta myös reseptori-ligandi-vuorovaikutusten kartoituksessa sekä perimän toimintaan mielletävän autoreplikaation mallintamisessa. Yksinkertaisimmillaan kontrolloidusti polymeroituva systeemi voidaan saada aikaan sopivalla tasapainoreaktiolla, jossa molekyylien välinen tunnistus tapahtuu nukleoemästen kautta. Tähän liittyen ryhmämme tutkimuksen kohteena on DNA-templatoitu ligaatio, dynaamisesti muodostuvat emäsparit ja niihin soveltuvat reaktiot. Sovellusmahdollisuuksina ovat esimerkiksi yksittäisen emäspoikkeavuuden detektoiminen DNA-juosteessa (SNP = single



Kuva 5. Kaaviokuva dynaamisten emäsparien muodostumisesta sekä paloiksi pilkotun aptameerin ligaatiosta.

nucleotide polymorphism) dynaamisen kombinatorisen kemian (DCC) keinoin, sekä dynaamiset itsejärjestäytyvät nanorakenteet. Kuvassa 5 on esitelty tutkimustuloksiamme, joissa pH-herkkää reaktiota on hyödynnetty dynaamisten emäsparien muodostumisessa sekä kininiä tunnistavan paloiksi pilkotun aptameerin ligaatioissa. Näihin tutkimuksiin liittyen kirjassa esitellään neljä

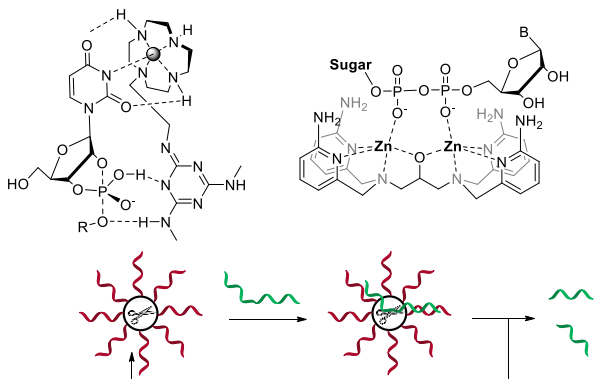
väitöskirjaprojektia (Aapo Aho, Tommi Österlund, Mark Afari ja Heidi Kähkölä) sekä kolme FM-projektia (Muditha Herath, Ksenia Petrova-Szczasiuk ja Ossi Tanhuanpää)

Biomolekyylien 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 biomolekyyliä kohti. Soveltamalla erilaisia

fysikaalisen orgaanisen kemian ”työkaluja”, kuten isotooppieffektejä tai lähtevän ryhmän vaikutuksia, saadaan yksityiskohtaista tietoa reaktiomekanismista. Saatu informaatio mahdollistaa reaktioreittien yksityiskohtaisemman ymmärtämisen ja reaktioiden hyväksikäytön erilaisten hoito- ja diagnostiikkamenetelmien kehitystyössä. (Kuva 6). Tähän liittyen olemme nyt yhdistämässä keinotekoisia nukleaaseja osaksi nanopartikkelirakenteita. Tavoitteena on kohde-RNA:ta spesifisesti pilkkua keinotekoinen nukleaasi, jolla on nanopartikkelin tuomat soluspesifiset kuljetinominaisuudet. Näitä tutkimuksia sivuaa tällä hetkellä kaksi väitöskirjatyötä (Lange Saleh ja Hanni Haapsaari) sekä kolme FM-esitelmää (Kai Yan, Mikael Viitakoski ja Eero Sillanpää)

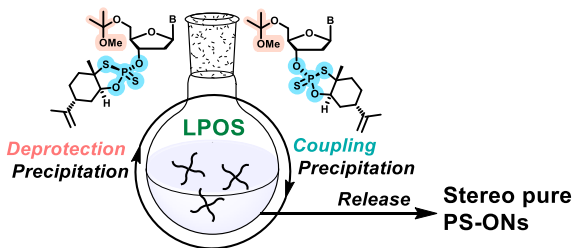


Kuva 6. Fosfodiesterisidoksen reaktiomekanismeja voidaan tutkia sopivien malliyhdisteiden avulla. Tätä tietoa hyödynnetään esimerkiksi keintotekoisien nukleaasien suunnittelussa.

Oligonukleotidien synteesi liukoisella kantajalla

Oligonukleotidien käytön yleistymisen lääkekehityksessä ja nanoteknologiassa on luonut tarpeen valmistaa niitä entistä suuremmissa mittakaavassa. Tämänhetkinen tuotanto perustuu kiinteän kantajan syntetiikkaan, joka ei täytä kestäväen kehityksen standardeja hyvin. Lisäksi sen soveltuvuus ison skaalan prosessiin on rajallinen. Tällä hetkellä mielenkiinto on kokonaan

liuoksessa tapahtuvassa oligonukleotidisynteesissä (LPOS, Liquid Phase Oligonucleotide Synthesis). Menetelmässä kiinteä kantaja korvataan liukoisella kantajalla, joka mahdollista



Kuva 7. Kaaviokuva oligonukleotidin stereospesifisestä liuossynteesistä.

kasvavan oligonukelotidijuosteen saostamisen jokaisen kytKentäsyklin jälkeen siten, että monomeeriset reagenssit jäävät liuokseen, tai ne voidaan erottaa kantajasta nanosuodatuksella orgaanisessa liuottimessa. Menetelmä keskittyy ryhmän aikaisemmin kehittämän liukoisen kantajan käyttöön, joka voidaan saostaa kvantitatiivisesti isopropanolista. Tällä hetkellä tutkitaan saostusvaiheiden minimoimista sekä menetelmän tehostamista uudenaikaisilla oligonukleotidien suojarühmästrategioilla. Lisäksi tutkimme menetelmän soveltuvuutta enantiopuhtaiden oligonukleotidien synteisiin. Tähän tutkimukseen liittyen kirjassa esitellään yksi väitöskirjatyo (Verner Saari) ja yksi FM-projekti (Julia Tuominen).

Tutkimusprojektien tekeminen yhteistyössä toisen organisaation kanssa. Oman Aurumissa tapahtuvan tutkimustoimintamme lisäksi opiskelijoilla ja myös tohtorikouluuttavilla on mahdollisuus tehdä projektinsa tai osan siitä muussa tutkimusorganisaatiossa tai teollisuudessa. Viime vuonna meiltä valmistui ensimmäinen teollisuusyhteistyössä tehty tohtori, iPhD Antti Äärelä. Antti teki suurimman osan tutkimuksestaan Orionilla. Vastaavia teollisuudessa tapahtuvia väitöskirjaprojekteja on tällä hetkellä kaksi muutakin (Seqens). Tämän vuoden kemian kevät tapahtuman FM-esityksistä Kia Koskisen projekti tehtiin Jyväskylän yliopistossa ja Janni Ollikaisen projekti Turun yliopiston ja Åbo Akademin yhteisessä Biotiedekeskuksessa. Mujgan Ustbas ja Alessandra Rafkin esittelevät Seqensillä tekemänsä FM-projektit. Nämä muussa organisaatiossa tehdyt tutkimusprojektit tarjoavat oivan mahdollisuuden poikkitieteelliseen tutkimukseen sekä tärkeän kokemuksen opiskelijan valmistumisen jälkeisille työmarkkinoille.

Tutkimuksemme mahdollistajat

Suomen Akademia

BUSINESS FINLAND

mm BI
EU Research Training network 2017-2021

JUSELIUS STIFTELSE

FINNISH NATIONAL AGENCY FOR EDUCATION

Doctoral Programme in Exact Sciences (EXACTUS)

Drug Research Doctoral Programme (DRDP)

ACS Green Chemistry Institute
Chemistry for Life®

Mission

The mission of the ACS Green Chemistry Institute® (ACS GCI) is to catalyze and enable the implementation of green and sustainable chemistry and engineering throughout the global chemical enterprise and across the Society.

Sapala

ORION

SEQENS

Lisätietoja saatavissa Bio-organisen kemian tutkimusryhmän nettisivujen kautta:
<http://bioorganic.utu.fi>

MODIFIOIDUT NUKLEAASIRESENTIT OLIGONUKLEOTIDIT

Onni Jussila

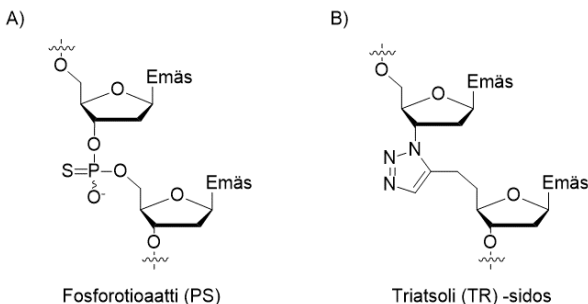
Bio-organaisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



ojjuss@utu.fi

Fosfodiesterisidosten modifiointilla saadaan aikaan merkittäviä muutoksia oligonukleotidien fysikaaliskemiallisissa ominaisuuksissa. Rakenteelliset tekijät voivat vaikuttaa merkittävästi muun muassa oligonukleotidien plasmastabiilisuuteen, sitoutumisominaisuuksiin, liukoisuuteen, soluun tunkeutuvuuteen ja viime kädessä myös biologiseen aktiivisuuteen. [1]

Terapeuttisen oligonukleotidilääkkeen rakenteen pitää olla muunneltu siten, että nukleaasit eivät hyväksy sitä substraatikseen. Eräs käyttökelpoinen modifiointi nukleasirestenssin lisäämiseksi on nukleosidien välisen fosfodiesterisidoksen silloittamaton happiatomin korvaaminen rikillä (Kuva 1A). Fosforotioaatteja on tutkittu jo 1960-luvulta lähtien, Ecksteinin syntetisoidessa tymidiini-5'-tiomonofosfaatin. [2] Huomionarvoista on, että nukleosidit voidaan liittää toisiinsa myös fosforia sisältämättömiä rakenteita käyttäen. Kuvassa 1B on esitetty esimerkkinä oligonukleotidin triatsolijohdannainen.



Kuva 1. Oligonukleotidin A) fosforotioaati- ja B) triatsoli-johdannainen.

Viitteet

- [1] Clavé, G., Reverte, M., Vasseur, J. J. ja Smietana, M., *RSC Chem. Biol.* **2021**, *2*, 94–150.
 [2] Eckstein, F., *J Am Chem Soc.* **1966**, *88*, 4292–4294.

Staudingerin ligaatio ja sen sovellutukset biokonjugointimenetelmänä

Evvi Kallio

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

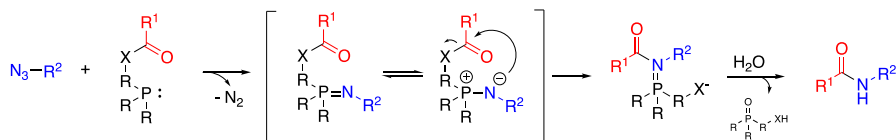


eakall@utu.fi

Staudingerin reaktio on atsidin ja fosfiinin välinen kaksivaiheinen reaktio. Reaktion ensimmäisessä vaiheessa muodostuu välituotteena iminofosoraani, joka tämän jälkeen hydrolysoituu fosfiinioksidiksi ja amiiniksi. Kun reaktiota hyödynnetään kahden molekyylin välisessä ligaatiossa, iminofosoraanivälivaihe johtaa tehostettuun amidisidoksen muodostumiseen [1] (Kaavio 1). Reaktiota alettiin tutkimaan jo vuonna 1919, mutta vasta 1990-luvulla todettiin sen potentiaalisuus biokonjugointimenetelmänä [2].

Staudingerin ligaatiosta on kehittynyt 2000-luvulla yksi tärkeimmistä ja tehokkaimmista biokonjugointimenetelmistä sen keskeisten ominaisuuksiensa ansiosta, joihin kuuluvat biologinen yhteensopivuus, selektiivisyys, sekä reaktion nopeus. Sen on todettu yhdistävän biologisesti tärkeitä komponentteja erittäin tehokkaasti. Staudinger ligaatio voidaan luokitella bio-ortogonaalisiin click-reaktioihin, jotka tapahtuvat nopeasti ja palautumattomasti ilman sivureaktioita. Tämä johtaa reaktion suureen saantoon pienissäkin pitoisuuksissa. [1]

Staudingerin ligaatiota käytetään monissa konjugointireaktioiden sovellutuksissa. Selektiivisyytensä takia reaktiota voidaan hyödyntää monimutkaisissakin biologisissa ympäristöissä ja jopa elävissä solussa. Staudingerin ligaatiota on käytetty lähivuosina kemiallisessa biologiassa erityisesti peptidi- ja proteiinisynteesissä, post-translationalaalisissa modifikaatioissa, sekä DNA:n leimauksessa. Näiden lisäksi ligaatiota voidaan hyödyntää esimerkiksi lääkeainekuljetusjärjestelmissä ja mikrosirujen kehityksessä. [1], [2]



Kaavio 1. Staudingerin ligaation peruseriaate.

Viitteet

[1] C. Bednarek, I. Wehl, N. Jung, U. Schepers, and S. Bräse, *Chemical Reviews*, **2020**, *120*, 4301–4354

[2] S. S. Van Berkel, M. B. Van Eldijk, and J. C. M. Van Hest, *Angewandte Chemie - International Edition*, **2011**, *50*, 8806–8827

DNA-pohjaiset nanojohtimet

Aleksi Leppänen

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

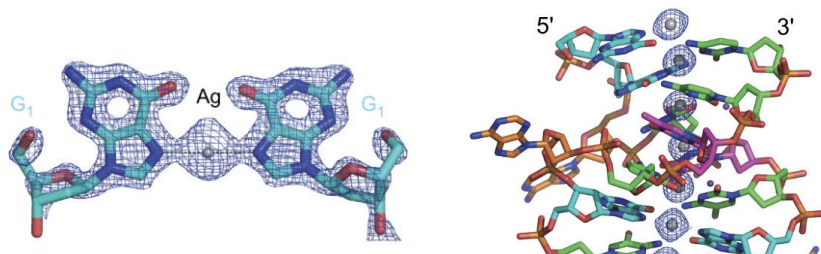


atlepp@utu.fi

DNA-pohjaiset nanojohtimet ovat merkittävä edistysaskel nanoteknologian kehityksessä, tarjoten mahdollisuuden rakentaa tulevaisuuden elektronisia laitteita pienemmässä mittakaavassa ja hyödyntää niitä biologisessa ympäristössä. DNA:n kyky muodostaa spesifisiä ja ennustettavia rakenneyksiköitä ovat ominaisuuksia, joita voidaan puolestaan käyttää nanokokoisten johtimien valmistamisessa. Näitä nanokokoisia johtimia voidaan hyödyntää signaalien välittäjinä ja tallentimina.

Näiden DNA-pohjaisten nanojohtimien valmistuksessa hyödynnetään bottom-up menetelmää, jossa rakenteet järjestäytyvät itsestään pienemmistä osista. Tällä menetelmällä saadaan valmistettua hyvin spesifisiä rakenteita haluttuihin tarkoituksiin. Bottom-up menetelmällä DNA:han liitetään metalli-ioneja, kuten hopeaioneja (kuva 1) tai nikkeli-ioneja, jotka mahdollistavat hyvän sähkönjohtavuuden DNA:ssa. Nämä metalli-ionit voivat koordinoitua DNA:n selkärankaan eli fosfodiesterisidoksiin tai muodostaa kelaatteja emäsparien väliin. Metallioneilla muokatun DNA:n sähkönjohtavuus on verrattavissa perinteisiin puolijohteisiin.

DNA-pohjaisia nanojohtimia voidaan hyödyntää muun muassa sensoriteknologiassa, jossa niitä voitaisiin käyttää esimerkiksi DNA:n mutaatioiden havainnointiin. Toinen käyttökohte näille nanojohtimille olisi nanoelektroniikassa. Nanojohtimien kanssa on kuitenkin vielä haasteita, jotka vaikeuttavat niiden hyödyntämistä laajemmin. Keskeisiä haasteita, jotka pitää ylittää ovat muokatun DNA:n valmistuskustannukset, DNA-nanojohtimien stabiilisuuden parantaminen, sekä laajempien kokonaisuuksien, DNA-origamien, muodostaminen DNA-nanojohtimista. Näiden haasteiden ylittäminen tulee olemaan avainasemassa tulevaisuuden nanoteknologian kehittämisessä. [1]



Kuva 1. Hopeaioneilla muokattu DNA [2]

Viitteet

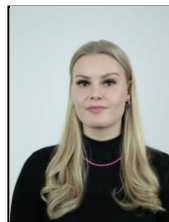
[1] Pandian, S., Yuan, C. J., Lin, C. C., Wang, W. H. ja Chang, C. C., *Adv. Phys. X* **2017**, *2*, 22–34.

[2] Kondo, J., Tada, Y., Dairaku, T., Hattori, Y., Saneyoshi, H., Ono, A. ja Tanaka, Y., *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 956–960.

Bio-ortogonaaliset ”click/napsautus”-reaktiot

Lydia Ojamo

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

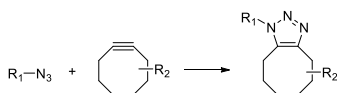


Vuoden 2022 kemian Nobel-palkinnon saivat Carolyn Bertozzi, Morten Meldad ja Barry Sharpless click-kemian ja bio-ortogonaalisen kemian kehittämisenestä. Click-kemialla tarkoitetaan reaktioita, joilla saadaan liitettyä yhteen kaksi molekyyliä nopeasti ja yksinkertaisesti [1]. Bio-ortogonaalisuus mahdollistaa synteiesien suorittamisen elävissä organismeissa ja solussa, koska reaktiot tapahtuvat selektiivisesti ja ovat bioyhteensopivia [1].

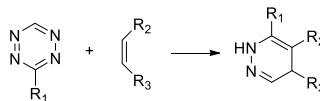
Atsidin ja triaryylifosfiinin välinen reaktio, Staudingerin ligaatio, oli ensimmäinen bio-ortogonaalinen reaktio. Se on peräisin jo 1900-luvulta, mutta hidas kineetiikka rajoitti sen käyttöä. Kuparikatalysoitu atsiidi-alkyyini sykloadditio (CuAAC) kehitettiin 2000-luvun alussa, mutta sytotoksisuuden vuoksi metallikatalyyttien käytöllä on rajoituksia. Reaktionopeuden kasvattamiseksi ilman metallikatalyyttejä Bertozzi tutki syklo-oktyyneja, jolloin kehitettiin rengasjännityksen ajama atsiidi-alkyyini sykloadditioreaktio (SPAAC) (kaavio 1). [1] Tetratsiinin ja trans-syklo-okteenin välinen käänteisesti elektronivajaa Diels-Alder sykloadditioreaktio (IEDDA) (kaavio 1) on yksi nopeimmista bio-ortogonaalisista click-reaktioista. [2]

Click-kemian kehittyminen on mahdollistanut muun muassa biomolekyylien selektiivisen leimauksen, kuvantamisen ja lääkkeiden kohdistamisen [3]. Reaktioilla on monia sovelluksia myös radiokemianssa, kuten radiofarmaseuttisten yhdisteiden valmistus [4].

A)



B)



Kaavio 1. Kuparittomat click-reaktiot: A) Rengasjännityksen ajama atsiidi-alkyyini sykloadditioreaktio (SPAAC) B) Tetratsiinin ja trans-syklo-okteenin välinen käänteisesti elektronivajaa Diels-Alder sykloadditioreaktio (IEDDA)

Viitteet

- [1] J. C. Jewett and C. R. Bertozzi, “Cu-free click cycloaddition reactions in chemical biology,” *Chem Soc Rev*, vol. 39, no. 4, pp. 1272–1279, 2010, doi: 10.1039/b901970g.
- [2] M. Handula, K. T. Chen, and Y. Seimbille, “IEDDA: An Attractive Bioorthogonal Reaction for Biomedical Applications,” *MOLECULES*, vol. 26, no. 15, 2021, doi: 10.3390/molecules26154640.
- [3] R. E. Bird, S. A. Lemmel, X. Yu, and Q. A. Zhou, “Bioorthogonal Chemistry and Its Applications,” *Bioconjug Chem*, vol. 32, no. 12, pp. 2457–2479, 2021, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.1c00461.
- [4] D. Bauer, S. M. Sarrett, J. S. Lewis, and B. M. Zeglis, “Click chemistry: a transformative technology in nuclear medicine,” *Nat Protoc*, vol. 18, no. 6, pp. 1659–1668, 2023, doi: 10.1038/s41596-023-00825-8.

Heksofuranosidinukleosidit

Pihla Peltomäki

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

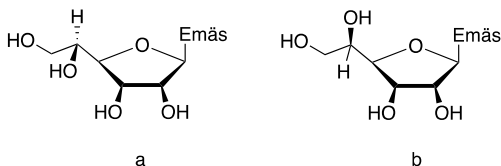


pihla.n.peltomaki@utu.fi

Heksofuranosidinukleosidit ovat sokeriosasta modifioituja biologisesti aktiivisia nukleosidianalogeja, jotka muistuttavat rakenteeltaan luonnollisia nukleosideja ja voivat osallistua solujen aineenvaihduntaan. Heksofuranosidinukleosideilla on potentiaalia lääkekehityksessä muun muassa syövän hoidossa [1] ja niillä on myös havaittu olevan vaikutusta nukleiinihappojen kaksijuosteisen rakenteen pysyvyyteen [2].

Nukleosidianalogit koostuvat emäsosasta ja sokeriosasta. Emäsosa on joko adeniini (A), guaniini (G), sytosiini (C), urasiili (U) tai tymiini (T). Sokeriosa on luonnollisissa nukleosideissa esiintyvien viisihiilisten sokerien, riboosin tai deoksiriboosin, sijasta kuusihiilinen heksofuranosiosokeri. Allo- ja talofuranoosit (kuva 1) ovat lääkekehityksen kannalta merkittäviä heksofuranooseja, sillä ne muistuttavat konfiguraatioltaan luonnollisissa RNA-nukleosideissa esiintyvää riboosia.

Lääkeainetutkimuksissa heksofuranosidinukleosidit ovat osoittaneet potentiaalia muun muassa syövän hoidossa sytotoksisen aktiivisuutensa vuoksi. Esimerkiksi puriinianalogien on osoitettu hidastavan kasvainten kasvua sekä aiheuttavan ohjelmoitua solukuolemaa. [1] Jotkut heksofuranosidianalogit ovat osoittaneet potentiaalia myös syöpälääkkeiden tehoa heikentävien entsyymien inhibiittoreina [3]. Heksofuranosidinukleosidien biologista aktiivisuutta voidaan muokata erilaisia käyttötarkoituksia varten sekä sokeri- että emäsosaan tehtävillä modifikaatioilla.



Kuva 1. Lääkekehityksen kannalta merkittävien heksofuranosidinukleosidien rakenteet: β -D-allofuranooisi (a) ja α -talofuranooisi (b)

Viitteet

- [1] A. E. A. Hassan *et al.*, *Eur J Med Chem* **2016**, *108*, 616–622
 [2] X. Wu ja S. Pitsch, *Bioconjug Chem* **1999**, *10* (6), 921–924
 [3] M. Meurillon *et al.*, *Eur J Med Chem* **2014**, *77*, 18–37

Emäsosastaan fleksiibelit nukleosidianalogit

Reetta Santahuhta

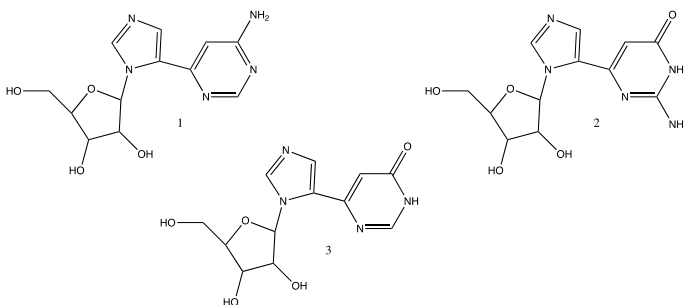
Bio-organaisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



Emäsosastaan fleksiibelit nukleosidianalogit eli fleksiimerit ovat luokka modifioituja nukleosideja. Fleksiimerit ovat puriinukleosidien eli adenosiin, guanosiin tai inosiinin johdannaisia (Kuva 1). Puriinimäs on fleksiimereissä erotettu imidatsoli- ja pyrimidiinikomponenteiksi. Imidatsolin ja pyrimidiinin välisen yksinkertaisen hiili-hiilidisidoksen vuoksi fleksiimereillä on enemmän rotationaalisia vapausasteita kuin luonnollisilla puriinukleosideilla. Toisaalta fleksiimerit kuitenkin säilyttävät vastaavalle nukleosidille molekyyliytunnistuksen kannalta ominaiset piirteet. Näiden ominaisuuksien ansiosta niitä voidaan käyttää joustavammin eri käyttötarkoituksiin kuin vastaavia nukleosideja.

Fleksiimerit suunniteltiin alun perin biokoettimiksi tutkimaan nukleosidien joustavuuden vaikutusta reseptorien ja ligandien välisessä tunnistamisessa ja toiminnassa sekä nukleosidien ja proteiinien välisissä vuorovaikutuksissa. Myöhemmin in vitro -tutkimuksissa huomattiin fleksiimereillä olevan lisäksi aktiivisuutta erilaisia viruksia, kuten korona-, filo- ja flaviviruksia vastaan.

Nukleosidianalogit on perinteisesti syntetisoitu hyödyntäen useita eri kytkentäreaktioita. Kemiallinen synteesi kuitenkin sisältää hankalia ja aikaa vieviä monivaiheisia prosesseja. Eri vaiheissa vaadittujen suojaryhmien käyttö johtaa yleensä varsin heikkoon saantoon. Lisäksi ongelmia tuottaa fleksiimerien anomeerisen hiilen stereokemian ohjaus. Sen sijaan entsyymaattiset synteetit eivät yleensä vaadi suojaryhmiä ja ovat hyvin stereospesifisiä. Nukleosidifosforylaasit ja N-deoksiribosyyli-transferaasit ovat yleisimmät nukleosidien synteesissä käytetyt entsyymiluokat.



Kuva 1. Adenosini- (1), guanosini- (2) ja inosiinijohdannaiset (3) fleksiimerit.

Kohdennettu proteiinien pilkkominen – PROTACien avulla

Iris Tuomi

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

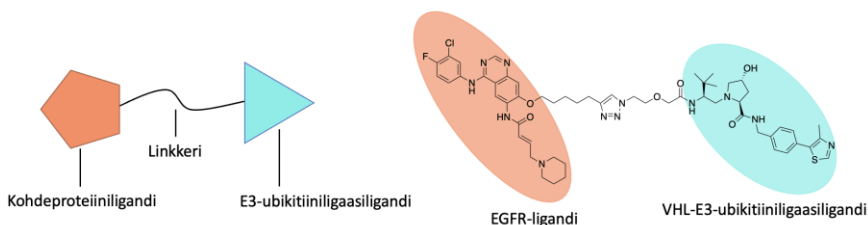


iretuo@utu.fi

Sairausten puhkeamisen syynä on usein poikkeavuudet proteiinien toiminnassa tai ilmentymisessä. Sairauksien hoitoon on vuosikymmenten ajan käytetty pienimolekyylisiä lääkkeitä, jotka toimivat patogeenisten proteiinien inhibiittoreina. Näiden käyttämisessä lääkkeitä on lukuisia haasteita, minkä vuoksi lääkekehityksessä on keskitytty enemmän proteiinien pilkkomiseen. Tähän proteiinien kohdennettu pilkkominen (engl. targeted protein degradation, TPD) on uusi potentiaalinen lähestymistapa. [1]

Kohdennettu proteiinien pilkkominen voidaan toteuttaa PROTACien (engl. proteolysis targeting chimera) avulla. PROTACit ovat pieniä bifunktionaalisia molekyyliä, jotka käyttävät hajotustoiminnassaan solun normaaliin toimintaan kuuluvaa proteolyttistä ubikitiini-proteasomijärjestelmää. PROTACit koostuvat kolmesta osasta: kohdeproteiiniligandista, E3-ubikitiiniligandista sekä linkkeristä, joka yhdistää ligandiosat (kuva 1). [1,2]

PROTACeilla on useita hyviä ominaisuuksia, minkä vuoksi niitä pidetään lupaavina lääkekehityksen kohteina. Useita PROTACeja onkin edennyt klinisiin tutkimuksiin ja niillä on saavutettu lupaavia tuloksia, mutta ne eivät kuitenkaan ole vielä edenneet lääkekäyttöön. Yksi merkittävimmistä syistä tähän on PROTACien heikko selektiivisyys. Siksi PROTACien kehityksessä keskitytään löytämään sellaisia PROTACeja, jotka olisivat mahdollisimman kudos- ja soluspesifisiä [2]



Kuva 1. Oikealla PROTACin yksinkertaistettu malli rakenteesta. Vasemmalla erään EGFR-proteiinia pilkkovan PROTACin rakenne.

Viitteet

[1] Cao, C., He, M., Wang, L., He, Y. ja Rao, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2022**, *51*, 7066–7114.

[2] Sincere, N. I., Anand, K., Ashique, S., Yang, J. ja You, C. *Molecules.* **2023**, *23*, 4014.

Functionalization of polystyrene and its use as an adsorptive material

Kia Koskinen^{1,2*}, Pasi Virta², Matti Haukka¹ and Janne Frimodig¹

¹Extended Molecular Systems Group, Department of Chemistry, University of Jyväskylä

²Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



kia.ka.koskinen@utu.fi

Abstract

This master's thesis presents a comprehensive investigation into the functionalization of polystyrene with Friedel-Crafts acylation in order to increase its adsorption capacity for emerging organic contaminants, specifically naproxen and diclofenac. Emerging organic contaminants pose a serious threat to our aquatic environments, entering the environment from various sources, primarily through insufficiently treated wastewater. Polymers inherently possess adsorption capacity for various organic contaminants, but commonly, their structures are rather simple and may have limited functionality. By increasing the functionality of a polymer material, such as polystyrene, the adsorption capacity may be improved by affecting material's physical properties. The project successfully demonstrated that functionalization of polystyrene remarkably enhances its properties as an adsorptive material for the investigated emerging organic contaminants.

Introduction

For a long time, water pollution research has primarily focused on traditional pollutants such as POPs (persistent organic pollutants), heavy metals, and bacteria. However, in recent years, the focus has been shifted more towards a diverse group of emerging organic contaminants (EOCs) to which for example pharmaceuticals, flame retardants and pesticides belong to. EOCs are often unregulated and not commonly monitored contaminants. In spite of that, EOCs have potential adverse ecological and/or human health effects even though they are often found in small quantities in the environment, with concentrations ranging from $\mu\text{g L}^{-1}$ to ng L^{-1} . [1] In recent years, the scientific community has shown a growing interest in the recycling of polymeric materials, notably plastics. The most common method of polymer recycling is the degradation of polymers back into smaller units, frequently back to monomers. [2] However, this approach is often energy-demanding and may not align with the sustainability and environmental friendliness we aspire to achieve in science nowadays. On the other hand, the functionalization of polymeric material presents a promising way to upcycle the material, circumventing the need for monomerization.

The main aim of this research project and thesis was to utilize commonly used and well-known Friedel-Crafts acylation reaction in the functionalization of polystyrene. The advantages of Friedel-Crafts acylation in the functionalization reaction are mild reaction conditions as well as simple, relatively fast and cost-efficient synthesis. Other goals in the project included utilizing the functionalization reaction in the functionalization of real recycled polymer material, extended polystyrene (EPS), as well as the possibility of scaling up the synthesis.

Materials and methods

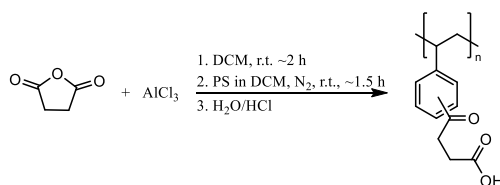
The synthesis of functionalized polystyrene by succinic anhydride in the presence of aluminium chloride is shown in Scheme 1. In a successful synthesis, the complex between succinic anhydride and aluminium chloride must form before the addition of polystyrene, and polystyrene must be dissolved in dry dichloromethane to ensure its steady dispersion in the reaction mixture. Characterization studies of the ready functionalized polymer material were performed by NMR

spectroscopy with Bruker AV 400 Ultrashield with CP/MAS solid-state probe. FTIR was measured with Bruker Alpha Platinum-ATR, and thermal properties were measured with Perkin Elmers STA 600 Simultaneous Thermal Analyser. The degree of functionalization was also confirmed with acid-base titration.

The adsorption studies were performed with 0.5 mg L⁻¹ solution of naproxen and diclofenac. Pure polystyrene filters were printed with SnowWhite SLS 3D-printer, which were used as a solid support for the functionalized polystyrene powder. PS filter and functionalized powder were fit to a 10 ml syringe through which the drug solutions were pumped with a flow rate of 1 ml min⁻¹. The collected samples and their concentrations were analyzed with Agilent 1290 Infinity UHPLC system coupled with Agilent 6460 Triple Quadrupole -mass spectrometer.

Results and conclusions

Functionalization of polystyrene was successful according to all the characterization studies performed. Figure 1 represents the adsorption capacities of the non-functionalized polystyrene material and functionalized polystyrene materials. From the figure, it can be seen that recycled expanded polystyrene is even more efficient at adsorbing naproxen and diclofenac than the functionalized polystyrene synthesized from commercial polystyrene powder. These results provide a great starting point for further research with different functional groups, EOCs, and other polymers as well.



Scheme 1. Synthesis scheme of functionalization of polystyrene with Friedel-Crafts acylation.

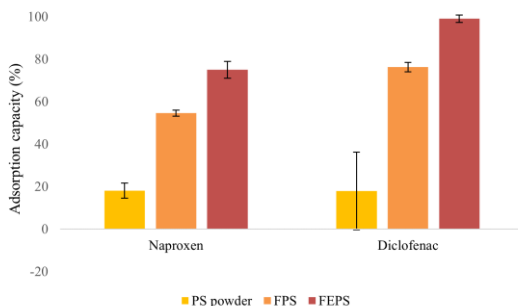


Figure 1. Adsorption capacity tests where PS powder is non-functionalized polystyrene, FPS is functionalized polystyrene synthesized from commercial PS powder, and FEPS is functionalized polystyrene from recycled EPS. Results presented in the form of mean \pm SD.

References

- [1] Robles-Molina, J., Gilbert- López, B., García-Reyes, J. F., and Molina-Díaz, A., *Sci. Total Environ.*, **2014**, 479-480, 247-257.
 [2] Chanda, M., *Adv. Ind. Eng. Polym. Res.*, **2021**, 4, 133-150.

Ruskean rasvan aktivointikoheet makrofagipuutteisilla hiirillä

Janni Ollikainen^{1,3*}, Heli Jokela^{1,2}, Pasi Virta³

¹Turun biotiedekeskus, Turun yliopisto ja Åbo Akademi

²Biolääketieteen laitos, Turun yliopisto

³Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



jataio@utu.fi

Abstrakti

Ruskea rasva on lämpöä tuottavaa ja energiaa kuluttavaa rasvakudosta, joka on potentiaalinen tekijä ylipainon ehkäisemisessä ja hoidossa. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää alkiokaudella kehittyneiden makrofagien puutteen vaikutusta ruskean rasvan toimintaan. Työssä kehitettiin kvantitatiivinen MRM-menetelmä (multiple reaction monitoring) noradrenaliinin konsentraation mittaamista varten ruskeasta rasvasta, sekä optimoitiin injektioprotokolla β 3-adrenergisten reseptorien agonistille.

Johdanto

Kaikissa kudoksissa, ruskea rasva mukaan lukien, on kokoelma eri alkuperää olevia makrofageja. Näillä kudosspesifeillä valkosoluilla on tärkeä rooli elimistön puolustusjärjestelmän lisäksi kudosten kehityksessä, elimistön sisäisen tasapainon ylläpidossa ja kudosten toiminnassa. Makrofagit kehittyvät ja siirtyvät kudoksiin alkionkehityksen aikana kahdessa eri vaiheessa. Ensimmäiset makrofagit ovat peräisin alkion ulkopuolisesta ruskauspussista ja toisessa vaiheessa alkion maksa tuottaa kudoksiin makrofageja. Makrofagien alkuperä vaikuttaa niiden toimintaan kudoksissa. Alkiokaudella kehittyneiden makrofagien puute aiheuttaa poikkeuksia kudosten kehityksessä ja toiminnassa. Syntymän jälkeen makrofagien tuotanto siirtyy luuytimeen, joka korvaa osan alkionkehityksen aikana kehittyneistä makrofageista kudoksesta riippuen. [1]

Kylmälähtöisyys aktivoi ruskean rasvakudoksen sympaattiset hermot tuottamaan noradrenaliinia. Noradrenaliini sitoutuu β 3-adrenergisiin reseptoreihin, jotka sijaitsevat ruskeiden rasvasolujen pinnalla, aktivoiden kemiallisen energian muuntumisen lämpöenergiaksi. [2] Makrofagien oletetaan säätelevän tai toimivan viestinviejinä sympaattisten hermojen ja rasvasolujen välillä. Tutkimusprojektissa käytetty agonisti CL316,243 on β -adrenergisten reseptorien aktivaattori, joka on kehitetty hoitokeinoksi ylipainoon ja diabetekseen. Kyseistä agonistia käytetään laajasti muun muassa jyrksijöillä vaihtoehtoisena ruskean rasvan aktivoijana kylmälähtöisyyden sijaan. Jyrksijöillä sen on osoitettu vaikuttavan perusaineenvaihduntaan ja lämmöntuottoon, sekä laskevan verensokeria ja stimuloivan insuliiniin erityistä. [3]

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, miten alkiokaudella kehittyneiden makrofagien puute vaikuttaa ruskean rasvan toimintaan. Työn tavoitteina oli kehittää ja optimoida noradrenaliinin mittaamenetelmä, optimoida agonisti-injektioiden protokolla ja selvittää, voiko makrofagipuutteen hiiren ruskeaa rasvaa aktivoida β 3-adrenergisten reseptorien agonistilla.

Materiaalit ja menetelmät

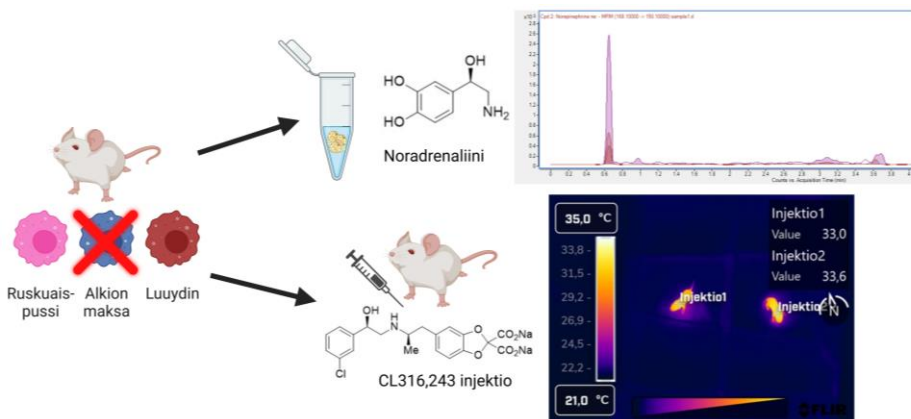
Käytetty β 3-adrenergisten reseptorien agonisti oli CL316,243 (Tocris, Bristol, Iso-Britannia). Agonistia injektioitiin 20 μ l 1mg/kg tai 0,5 mg/kg fosfaattipuskuroidussa suolaliuoksessa (PBS) intraperitoneaalisesti muutaman päivän ikäisiin hiiriin. Infrapunavalokuvat otettiin 5 min, 10 min ja 15 min injektion jälkeen FLIR T620bx (FLIR Systems AB) lämpökameralla. Kuvat analysoitiin FLIR Thermal Studio -ohjelmalla. Verensokerin mittaukseen käytettiin Contour XT verensokerimittaria (BAYER) sekä Contour next verengluukoosiliuskoja (BAYER).

Noradrenaliinin konsentraation määrittämiseen kehitettiin MRM-menetelmä Agilent 1290 Infinity nestekromatografista ja Agilent 6460 kolmoisvadrupolimassaspektrometriasta koostuvalle laitteistolle. Käytössä oli Kinetex bifenyyl-kolonne, jonka pituus oli 100 mm, Ø 2,1 mm ja partikkelikoko 1,7µm. Näytteet analysoitiin 6 min gradienttueluutiomenetelmällä, jossa eluenteina käytettiin 0,1% muurahaihapon vesi- sekä metanoliliuosta.

Tulokset ja johtopäätökset

Alkiokaudella kehittyneiden makrofagien puutteen on hiirillä osoitettu vaikuttavan ruskean rasvan lämmöntuottoon heikentävästi. Abstraktin kirjoitushetkellä agonisti-injektioiden protokollan optimoiminen on vielä kesken. Hiirten verensokeri laskee injektion jälkeen nopeasti, eikä lämpötilan nousua ruskeassa rasvassa havaita. Syy todennäköisesti on se, että intraperitonealisesti injektoidaessa agonisti ei kulkeudu ruskeaan rasvaan asti, vaan se ehtii vaikuttaa veressä laskien nopeasti verensokerin. Verensokerin laskua yritetään ehkäistä antamalla hiirille sokeriliuosta ennen agonistin injektointia.

Tutkimuksessa kehitettiin MRM-menetelmä noradrenaliinin kvantitoimiseksi ruskeasta rasvasta. Prekursori-ioni oli 168,1 m/z ja sen tuoteionit olivat 150,1 m/z ja 123 m/z . Näiden ionien avulla pystyttiin osoittamaan retentioajalla 0,645 min esiintyvän piikin olevan noradrenaliinin piikki. Kehitetyn MRM-menetelmän ionisaatioksi valittiin negatiivinen ionisaatio. Työssä kehitetyllä MRM-menetelmällä mitattiin noradrenaliinin konsentraatio ruskeasta rasvakudoksesta erilaisilta hiirimalleilta ja eri-ikäisiltä hiiriltä. Noradrenaliinin konsentraatioissa makrofagipuutteen ja tavallisen hiiren välillä ei nähty tilastollisesti merkittäviä eroja. Alkiokaudella kehittyneitä makrofageja ei pystytty täysin poistamaan kudoksesta. Jäljelle jäävät makrofagit todennäköisesti hoitavat tehtävänsä kudoksessa, joka selittää sen, ettei noradrenaliinin konsentraatioissa havaita merkittäviä eroja.



Kuva 1. Tutkimuksessa käytetyt menetelmät tiivistetysti esitettynä. Kuva on tehty Biorenderillä.

Viiitteet

- [1] Hoeffel, G. ja Ginhoux, F., *Cellular Immunology* **2018**, 330, 5-15.
- [2] Liu, X., Zhang, Z., Song, Y., Xie, H. ja Dong, M., *Front. Endocrinol* **2023**, 13.
- [3] Macpherson, R. E. K., Castellani, L., Beaudoin, M.-S. ja Wright, D., *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2014**, 307, 563-570.

TETRAHYDROTSOLIINI HCl-LÄÄKEAINEEN SYNTEESIREITIN OPTIMOINTI TEOLLISSA MITTAKAAVASSA

Alessandra Raffin^{1*}, Johannes Kakko² ja Pasi Virta¹

¹Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

²Seqens / PCAS Finland Oy, Messukentänkatu 8, 20210 Turku



airaffk@utu.fi

Abstrakti

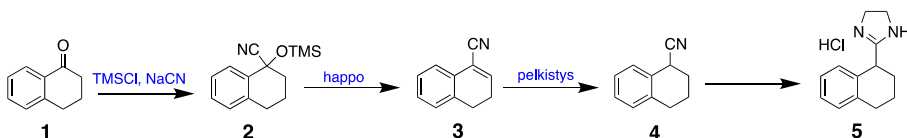
Tutkimuksessa pyrittiin kehittämään uusi menetelmä tetrahydrotsoliini hydrokloridin kriittisen lähtöaineen, 1-syanotetraliinin, valmistamiseksi käyttäen silyloitua syanotetraliinia. lähtöaineena. Kokeissa käytettiin 15 erilaista happo- ja emäsreagenssia desilylaatio- ja dehydraatioreaktioissa. Yhdessä reaktioasiassa suoritettava synteesi mahdollisti helposti eristettävän halutun tuotteen. Menetelmä voi tarjota käytännöllisen ja tehokkaan vaihtoehdon teollisen mittakaavan tuotantoon.

Johdanto

Tetrahydrotsoliinin hydrokloridi **5** on α -agonistina toimiva lääkeaine, jota löytyy monista yleisesti käytetyistä silmätipoista ja nenäsuihkeista. Ensisijaisesti se aiheuttaa sidekalvon verisuonten supistumista käyttökohdassa, ja siten tehokkaasti lievittää nenän turvotusta ja silmä-ärsytyksistä johtuvaa silmien punoitusta. [1]

1-syanotetraliini **4** on tetrahydrotsoliinin hydrokloridin **5** synteessin kriittinen lähtöaine. Kirjallisuudessa ei ole dokumentoitu vaihtoehtoisia synteettisiä menetelmiä tetrahydrotsoliinin synteeseille.

Työn tarkoituksena oli löytää tehokas menetelmä 1-syanotetraliinin valmistamiseksi käyttämällä silyloitua syanotetraliinia **2** lähtöaineena. 1-syanotetraliinin synteeseireitti sisältää α -tetralonin **1** reaktion trimetyylisilyylkloridin (TMSCl) ja natriumsyanidin kanssa, jolloin muodostuu vastaava trimetyylisuojuattu syanohydriini **2**. Silyylisuojuaryhmän poisto ja veden eliminaatio suoritetaan happamissa olosuhteissa, jotta saadaan väliuote 1-syano-3,4-dihydronaftaleeni **3**. Tämä väliuote pelkistetään, jotta saadaan haluttu 1-syanotetraliini **4**.



Kaavio 1: Tetrahydrotsoliini hydrokloridin synteeseireitti.

Monilla menetelmillä silyylisuojuaryhmän poistamiseksi on heikkoutensa, kuten alhaiset tuotesaannot, tuotteiden osittainen hajoaminen reaktio-olosuhteissa, pitkät reaktioajat ja ankarat reaktio-olosuhteet. [2] Perinteiset menetelmät silyylisuojuaryhmän poistamiseksi sisältävät vähintään stoikiometrisen määrän fluoridi-ionien luovuttajia tai vahvoja happoja. Veden läsnäolo on ratkaisevan tärkeää desilylaatioreaktion onnistumiselle. [3] Teollisuudessa reaktiot suoritetaan suuressa mittakaavassa, joten käytännön toteutuksen yksinkertaisuus, reagenssien ylimääräinen käyttö ja kustannukset vaativat erityistä huomiota.

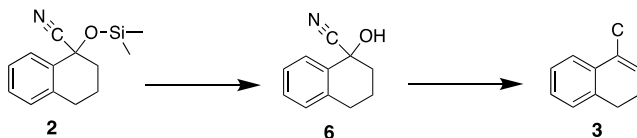
Materiaalit ja menetelmät

Synteeseissä tarvittavat kaupalliset kemikaalit käytettiin sellaisenaan synteeseissä. Astioita tai kemikaaleja ei erikseen kuivattu. Kaikki reaktiot suoritettiin vetokaapissa typpivirtauksen alla.

Typen poistovirtaus kulki NaOH-liuoksen läpi mahdollisten vapautuvien myrkyllisten kaasujen sitomiseksi. Käytössä oli henkilökohtainen syanidihälytín (Dräger Pac 7000) ja varotoimenpiteenä kaasunaamaria säilytettiin vetokaapin lähellä. pH määritettiin pH-paperilla. Reaktioseurannassa ja tuotteiden karakterisoinnissa käytettiin kaasukromatografiaa (Agilent, CG-FID) ja NMR-spektrometriaa (Bruker, 300 MHz).

Tulokset ja johtopäätökset

Työssä 1-syanotetraliinin synteesin (kaavio 1.) desilylaatio- ja dehydratointivaihe pyrittiin suorittamaan käyttämällä 15 erilaista happo- ja emäsreagenssia. Silyloidun syanohydrinín desilylaatiovaiheessa muodostuu tertiaarinen alkoholi **6**. Veden eliminaatio tapahtuu E1-reaktiomekanismilla, jolloin muodostuu väliaine 1-syano-3,4-dihydronaftaleeni **3** (kaavio 2.). Kahdeksassa reaktiossa lähtöaineena käytetty silyloitu syanohydrini **2** palautui takaisin α -tetraloniksi **1** ja kuudessa synteesissä saavutettiin haluttu reaktioväliaine **3** happamissa olosuhteissa. Synteetit olivat mahdollista tehdä yhdessä reaktioastiassa (one-pot), ja tuotteen eristäminen onnistui helposti, joten ne olivat yksinkertaisia suorittaa myös teollisuuden näkökulmasta.



Kaavio 2: Silyloidun syanohydrinín silyylisuojausjärjelmän poisto ja veden eliminaatio.

Viitteet

1. Afify O, Suleiman ARM, Mohamed HG, Saaed O. Complete atrioventricular block due to ingestion of Visine eye drops. *BMJ Case Rep.* 2021;14(5):e241905. doi:10.1136/bcr-2021-241905
2. De SK, Gibbs RA. Vanadyl triflate as an efficient and recyclable catalyst for trimethylsilyl cyanide addition to carbonyl compounds. *J Mol Catal A Chem.* 2005;232(1-2):123-125. doi:10.1016/J.MOLCATA.2005.01.034
3. DiLauro AM, Seo W, Phillips ST. Use of Catalytic Fluoride under Neutral Conditions for Cleaving Silicon–Oxygen Bonds. *Journal of organic chemistry.* 2011;76(18):7352-7358. doi:10.1021/jo200848j

HIILIHYDRAATTIFOSFODIESTEREIDEN SYNTEESI JA KEMIALLINEN REAKTIIVISUUS

Eero Sillanpää^{1*}, Satu Mikkola¹ ja Tuomas Lönnberg¹

¹Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



evsill@utu.fi

Abstrakti

Työn tarkoituksena oli syntetisoida fosforamidiittimenetelmää käyttäen malliyhdisteet: tymidiini-5'-D-glukopyranosyylimonofosfaatti ja tymidiini-5'-D-glukopyranosyylimonofosforotioaatti, sekä tutkia niiden α -anomeerien ja RNA:n malliyhdiste adenyyli-3'-5'-adenosiinin sidosten katkeamista kineettisillä mittauksilla.

Johdanto

Hiilihydraattien välisiä fosfodiesterisidoksia esiintyy luonnossa esimerkiksi bakteerien solukalvoista ja kapselista sekä tietyistä homeista ja alkueläimistä löydettyistä polysakkarideissa. [1] Nämä polysakkaridit ovat osalla bakteereita korvaamaton osa bakteerin toimintaa ja voivat toimia myös antigeneinä. [1] Bakteerin polysakkaridit eroavat ihmisen hiilihydraateista kuten glykogeenista, jossa glukopyranosimonomeerien välinen sidos on glykosidisidos. Koska katkeamisolosuhteet eri sidosten välillä voivat olla hyvinkin erilaiset, muodostaa tämä erilaisuus sidosten välillä lääkekehityksen lähtökohdan esimerkiksi hiilihydraattirokotteiden muodossa. [2]

Hiilihydraattirokotteiden yleisiä ongelmia ovat polysakkaridimolekyylien epävakaus [3] sekä mahdolliset epäpuhtaudet, jotka päätyvät rokkeisiin, kun antigeeninä käytetään luonnollisesti kehitettyjä polysakkarideja. [2] Näihin ongelmiin pyritään löytämään ratkaisu kehittämällä hiilihydraattiosiltaan täysin synteettisiä rokkeita. [2] Siksi on oleellista tutkia hiilihydraattien välisten fosfodiesterisidosten reaktiivisuutta.

Tässä tutkimusprojektissa syntetisoitiin malliyhdisteet, jotka sisältävät fosfodiesteri- ja fosforotioaattisidoksen glukosin ja tymidiinin välillä ja seurattiin niiden ja RNA:n malliyhdiste adenyyli-3'-5'-adenosiinin (APA) hajoamisreaktioita kineettisillä mittauksilla. Koska kaikkien yhdisteiden hajoamisreaktioissa tuotteena oli UV-aktiivinen nukleosidi, pystyttiin reaktioiden etenemistä seurata HPLC:lla ja saada näin dataa fosfodiesteri- ja fosforotioaattisidosten reaktiivisuudesta.

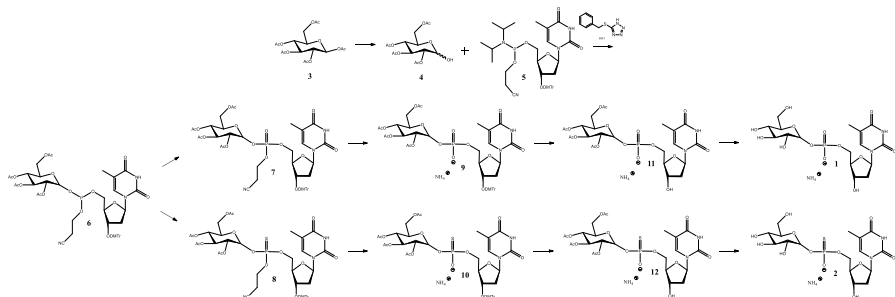
Materiaalit ja menetelmät

NMR-spektrit mitattiin Bruker Avance III 500 MHz spektrometrillä ja MS-spektrit Bruker Daltonics ESI-micrOTOF-Q massaspektrometrillä. Synteesin väliuotteet puhdistettiin pylväskromatografialla, seuraten puhdistusta ohutkerroskromatografisesti. Lopputuotteet puhdistettiin semipreparatiivista kolonnia käyttäen nestekromatografialla (RP-HPLC). Kineettiset mittaukset suoritettiin nestekromatografialla käyttäen analyttistä kolonnia ja puskuriliuoksena 50 mM asetaattipuskuria. Nopeusvakiot määritettiin kerätystä datasta Origin-ohjelmalla soveltaen ensimmäisen kertaluvun reaktioyhtälöä.

Tulokset ja johtopäätökset

Tutkimusprojektissa onnistuttiin valmistamaan ja puhdistamaan halutut malliyhdisteet ja erottamaan niiden anomeerit toisistaan saavuttaen riittävät saannot siten, että kinetiikkaa pystyi suorittamaan α -anomeereilla. Malliyhdisteiden kokonaissynteesi on esitetty **kaaviossa 1**. Tutkittaville yhdisteille saatiin määritettyä nopeusvakiot yhteensä viidestätoista reaktiosta, joissa

käytettiin katalyytteinä natriumhydroksidia, kuparibipyridiiniä (CuBiPy), kupariterpyridiiniä (CuTerPy) sekä binukleaarista sinkkikompleksia (BNZn). Emäskatalyyttisissä reaktioissa ei havaittu reaktiivisuuseroa fosfodiesterin ja fosforotioaatin välillä, mutta metallikatalyyttisissä reaktioissa fosforotioaatti reagoi huomattavasti nopeammin. Kaikkien onnistuneiden reaktioiden nopeusvakiot on esitetty **taulukossa 1**.



Kaavio 1. Malliyhdisteiden synteesi kokonaisuudessaan.

Taulukko 1. Tutkimusprojektissa määritetyt nopeusvakiot

Yhdiste	Katalyytti	c / mM	k / 10 ⁻⁵ s ⁻¹	T / °C
APA	CuTerPy	10	40,7 ± 0,80	90
Fosforotioaatti- α 2*	CuTerPy	10	35,2 ± 0,98	90
Fosforotioaatti- α 1*	CuTerPy	6	34,2 ± 1,64	90
Fosforotioaatti- α 1*	CuTerPy	10	33,2 ± 0,96	90
Fosforotioaatti- α 2*	CuTerPy	6	27,7 ± 0,40	90
Fosforotioaatti- α 2*	NaOH	100	21,4 ± 0,67	90
APA	CuTerPy	6	20,7 ± 0,66	90
Fosfaatti- α	NaOH	100	15,8 ± 0,33	90
Fosforotioaatti- α 1*	NaOH	100	14,5 ± 0,26	90
APA	CuBiPy	10	9,31 ± 0,46	90
APA	BNZn	2	2,34 ± 0,08	25
Fosforotioaatti- α 2*	CuBiPy	10	0,62 ± 0,07	90
Fosforotioaatti- α 1*	CuBiPy	10	0,60 ± 0,09	90
Fosfaatti- α	CuTerPy	10	0,48 ± 0,02	90
Fosfaatti- α	CuBiPy	10	0,16 ± 0,01	90

*Lyhenteet α 1 ja α 2 tarkoittavat fosforotioaatin kahta diastereomeeriä, joista α 1 ilmenee HPLC:ssa lyhyemmällä retentioajalla ja α 2 pidemmällä.

Viitteet

- [1] Nikolaev, A. V; Botvinko, I. V; Ross, A. J. *Carbohydr. Res.* **2007**, 342, 297–344.
 [2] Nikolaev, A. V; Sizova, O. V. *Biochem.* **2011**, 76, 761–773.
 [3] Cintra, F. D. O; Takagi, M. *Carbohydr. Polym.* **2015**, 116, 167–172.

N,N-dimetoksi-2,2-bis(aminometyyli)propani-1,3-diolien synteesi

Ossi Tanhuanpää* ja Pasi Virta

Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



okjtan@utu.fi

Abstrakti

Tutkimuksen tarkoituksena oli syntetisoida *N,N*-dimetoksi-2,2-bis(aminometyyli)propani-1,3-diolianalogi, jota voitaisiin käyttää rakennusikkönä automatisoidussa oligonukleotidisyntheseissä, sekä tämän jälkeen oligonukleotidin terminaaliseen ja ketjunsisäiseen konjugointiin erilaisilla aldehydeillä.

Johdanto

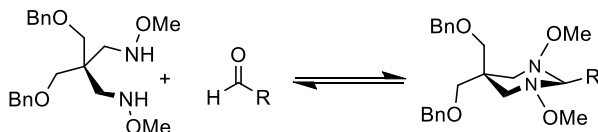
Oligonukleotidien konjugointiin ja sekvenssien väliseen ligaatioon soveltuvista reaktioista neoglykosylaatiota (1) sekä *N*-metoksioksolidiin- (2,3) ja oksatsinaanin (4) muodostumista tutkitaan aktiivisesti Bio-organisen kemian tutkimusryhmässä. Nämä reaktiot ovat tasapainoreaktioita, pH-riippuvaisia ja bio-ortogonaalisia ja ne sopivat erinomaisesti DNA-templatoituun dynaamiseen synteisiin. Työn tavoitteena on syntetisoida rakennusiköt **12** ja **17** (Kaavio 1) ja tutkia niiden soveltuvuutta automatisoituu oligonukleotidisyntheseiin. Lisäksi itse konjugointireaktion nopeutta ja tasapainosaantoa on tarkoitus tutkia yhdisteellä **7** sopivien mallialdehydien kanssa (Kaavio 1).

Materiaalit ja menetelmät

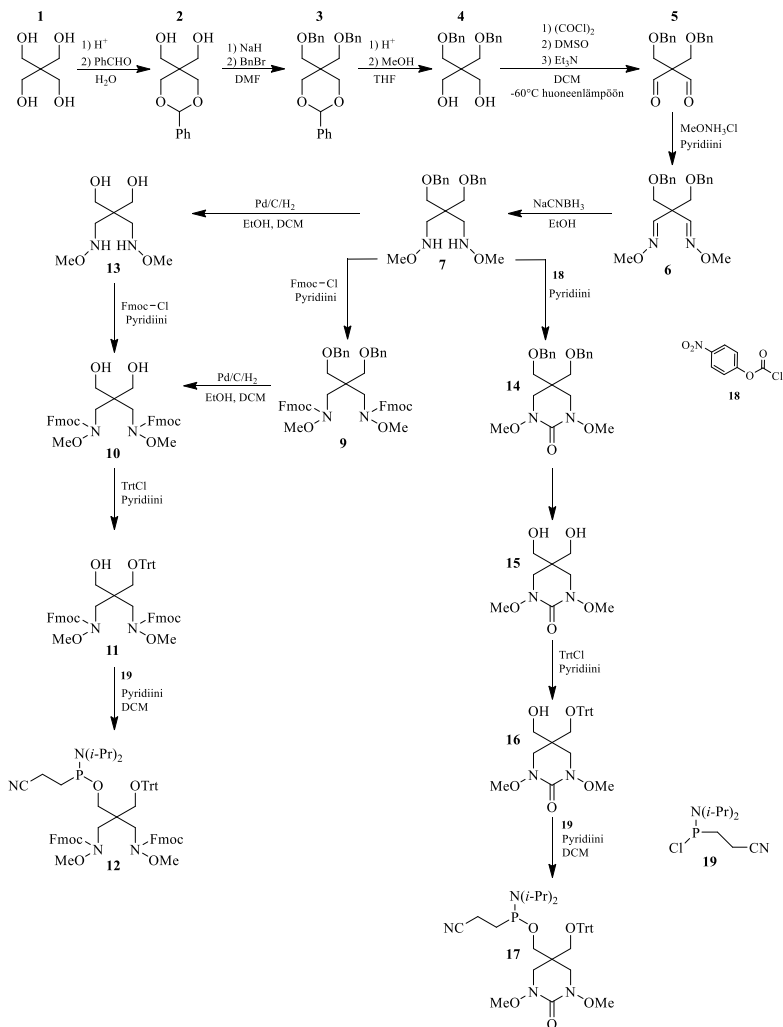
Työssä käytettiin yleisiä orgaanisen kemian synteisimenetelmiä ja käytänteitä. Syntetisoidut yhdisteet (Kaavio 2) karakterisoiitiin NMR- ja massaspektroskopialla.

Tulokset ja johtopäätökset

Rakennusiköiden synteisit on esitetty kaaviossa 1. Tällä hetkellä on valmistettu onnistuneesti yhdisteet **9** ja **14**. Yhdisteen **10** valmistaminen katalyyttisellä vedytyksellä yhdisteestä **9**, osoittautui hankalaksi useiden sivureaktioiden takia. Vaihtoehtoisia menetelmiä bentsyyლისuojuksen poistamiselle, kuten väkevä happokäsittelyä, yritetään seuraavaksi. Yhdiste **10** voitaisiin vaihtoehtoisesti valmistaa yhdisteen **13** kautta. Kirjallisuuden perusteella trityylisuojuus ja syanoetyylidi-isopropyylifosfiiniin liittäminen hydroksyyliiryhmiin ei pitäisi tuottaa vaikeuksia. Tarkoituksena on jatkaa synteisiä yhdisteiden **12** ja **17** syntetisoimiseksi.



Kaavio 1. Yhdisteen **7** konjugaatioreaktio mallialdehydin kanssa.



Kaavio 2. Kahden *N,N*-dimetoksi-2,2-bis(aminometyyli)propani-1,3-diolianalogin, **12** ja **17**, kokonaissynteesi.

Viitteet

1. Österlund, T., Korhonen, H. & Virta, P., DNA-Templated *N*(Me)-Alkoxyamine Glycosylation, *Org. Lett.* **2018**, *20*, 1469-1499.
2. Aho, A., Österlund, T., Rahkila, J. & Virta, P., DNA-Templated Formation and N,O-Transacetalization of N-Methoxyoxazolidines, *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, *31*, 1-7.
3. Aho, A. & Virta, Assembly of split aptamers by dynamic pH-responsive covalent ligation, *Chem. Commun.*, **2023**, *59*, 5689-5692.
4. Afari, M.N.K, Virta, P., Lönnberg, T., *N*-Methoxy-1,3-oxazinane nucleic acids (MOANAs) – a configurationally flexible backbone modification allows post-synthetic incorporation of base moieties, *Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20*, 3480-3485.

DINUKLEOSIDIFOSFOTRIESTERIEN FOSFORAMIDIITTI-JOHDANNAISTEN SYNTEESI LIUKSESSA

Juulia Tuominen*, Mikko Ora¹, ja Pasi Virta¹

¹Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



jetuom@utu.fi

Abstrakti

Projektissa tutkittiin Oxyma-aktiivoinnin toimivuutta syntetisoitaessa liuoksessa fosfotriesterimenetelmällä dinukleosidifosfotriesterien fosforamidiitti-johdannaiset **1-4**. Fosforyloinnin ja kytkennän kokonaissaanto vaihteli 51-76 % välillä. Kytchentäreaktio Oxyma-aktiivoinnilla dioksaanin ja pyridiinin seoksessa 1-metyyli-imidatsolin läsnäollessa tapahtui 12-kertaa hitaammin kuin vastaavissa olosuhteissa suoritettu kytchentä HOBt-aktiivoinnilla.

Johdanto

Perinteisesti oligonukleotideja syntetisoidaan automatisoidusti kiinteällä kantajalla fosforamidiittimenetelmällä, joka vaatii suuren ylijäämän liuottimia ja reagensseja.[1] Terapeuttisten oligonukleotidien kysynnän kasvaessa kasvaa samalla tarve kestävämmille synteesimenetelmille sekä suuremman mittakaavan synteeseille. Eräs mahdollinen vaihtoehto näiden kysymysten ratkaisemiseksi on liuosfaasisynteesi.

Fosfotriesterimenetelmää on käytetty esimerkiksi liukoisella kantajalla kytkettäessä kasvavaan oligonukleotidiketjuun 5'-O-dimetoksitrietyyli-suojattuja nukleosidi-3'-O-bentsotriatsolyyli)-2-kloorifenyylifosfaatteja. Menetelmässä aktiivointi suoritetaan 1-hydroksibentsotriatsolilla (HOBt) N-metyyli-imidatsolin (NMI) läsnä ollessa.[2]

Nyt tehdyssä tutkimuksessa räjähdysherkän HOBt:n asemasta aktiivoinnissa käytetään vihreämpää etyyli-2-syano-2-(hydroksi-imino)asetaatia (Oxyma) [3] valmistettaessa fosforamidiitti-johdannaiset **1-4** liuoksessa. Huomionarvoista on, että Oxymaa on käytetty aikaisemmin peptidisyntetiikassa [3], mutta ei nukleotidien kytkennöissä. Esiteltävän synteesimenetelmän eräs mahdollinen sovellus on lyhyiden oligomeeristen sekvenssien/blokmeerien valmistaminen ligaatiolla liuoksessa.

Materiaalit ja menetelmät

Tuotteiden NMR-spektrit mitattiin Bruker 500 MHz NMR-spektrometrillä ja massaspektrit QExact mass spectrometer (Orbitrab/ESI), Waters RDa HRMS, Bruker Daltonics ESI-micrOTOF-Q tai LC-MS Agilent 6120 massaspektrometrillä. Kytchentäreaktiota seurattiin HPLC:llä.

Tulokset ja johtopäätökset

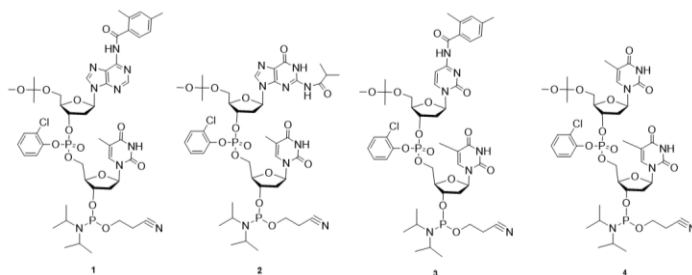
Diastereomeeriset adenylyyli-3',5'-tymidiinin (dAT; **1**), guanylyyli-3',5'-tymidiinin (dGT; **2**), sytidilyyli-3',5'-tymidiinin (dCT; **3**) ja tymidilyyli-3',5'-tymidiinin (dT; **4**) 2-kloorifenyylifosfotriesterien fosforamidiitti-johdannaiset **1-4** (Kuva 1) valmistettiin liuoksessa P(V)-kemialla ja Oxyma-aktiivointia käyttäen.

5'-O-(2-Metoksiopropan-2-yyli)nukleosidin (**6**) 3'-hydroksyyli-ryhmä fosforyloitiin bis[(1-syano-2-etoksi-2-oksoetylideeni)amino]-2-kloorifenyylifosfaatilla (**5**) (kaavio 1). Kytchentäreaktiossa Oxyma-ligandi korvattiin 3-O-(levulinoyyli)tymidiinillä (**7a**) tai 3-O-(tert-

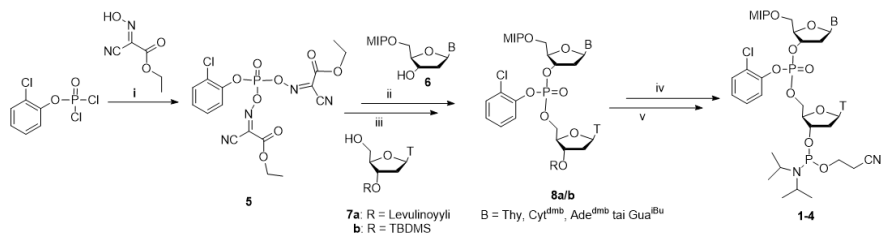
butyyliidimetyylisilyyli)tymidiinillä (**7b**) pyridiin ja dioksaanin seoksessa 1-metyyli-imidatsolin läsnäollessa. Tuotteena muodostui fosfotriesteri **8a/b**.

3'-*O*-Levulinoyyli irrotettiin hydratsiini-käsittelyllä pyridiin ja etikkahapon liuoksessa, ja saatu tuote fosfityloitiin 2-syanoetoksi-*N,N*-di-isopropyylikloorifosforamidiitilla DCM:ssä TEA:n läsnä ollessa.

Kineettisissä mittauksissa Oxyma-aktivoidun kytKentäreaktion havaittiin olevan 12 kertaa hitaampi kuin vastaavan HOBt-aktivoidun reaktion. Oxyma-fosforyloitireagenssin todettiin olevan kuitenkin huomattavasti vastaavaa HOBt-reagenssia pysyvämpi. Tulevaisuudessa menetelmää on tarkoitus soveltaa pidempien oligodeoksiribonukleotidi-blockmeerien synteesissä.



Kuva 1. Dinukleosidifosfotriesterien fosforamidiitti-johdannaiset **1-4**.



Kaavio 1. Dinukleosidifosfotriesterien fosforamidiitti-johdannaisten **1-4** synteesi. Reagenssit ja olosuhteet: i) Oxyma, 1,4-dioksaani, pyridiini, N₂, 25°C, 2 h, ii) **6**, 1,4-dioksaani, pyridiini, N₂, 25°C, 50 min, iii) **7a** tai **7b**, 1,4-dioksaani, pyridiini, NMI, N₂, 25°C, 3 h, iv) hydratsiini monohydraatti, pyridiini/etikkahappo (4:1, v:v), 3h, v) 2-syanoetoksi-*N,N*-di-isopropyylikloorifosforamidiitti, TEA, DCM, N₂, 3h.

Viitteet

[1] Virta P., *Science* **2021**, 373, 1196-1197

[2] Kungurtsev, V., Virta, P. ja Lönnberg, H., *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 35, 7886-7890.

[3] Subirós-Funosas, R., Prohens, R., Barbas, R., El-Faham, A. ja Albericio, F., *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 9394–9403.

Atsakuunuklusterit keinotekoisina nukleaseina

Mikael Viitakoski¹, Hanni Haapsaari¹, Pasi Virta¹

¹Bio-organisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



mnviit@utu.fi

Abstrakti

Työn tarkoituksena oli syntetisoida atsakuunuklustereihin perustuvia keinotekoisia nukleasikandidaatteja. Atsakuunujen haaroitusrakenteena käytettiin 8-haaraista polyamidoamiinidendrimeeriä (PAMAM). Lopullisena tavoitteena on tutkia valmistettujen rakenteiden kykyä pilkkoa kohde RNA:n fosfodiesterisidoksia.

Johdanto

Nukleasit ovat nukleiinihappojen fosfodiesterisidoksia pilkkovia entsyymejä.¹ Lääkekehityksen kannalta vastaavien keinotekoisien rakenteiden kehittäminen synteettisesti on hyvin kiinnostava tutkimuskohde siitä syystä, että tällaiset synteettisesti valmistetut fosfodiesterisidoksia selektiivisesti ja katalyyttisesti pilkkovat molekyylit voivat soveltua terapeuttisesti aktiiviseksi lääkeaineeksi tai diagnostiseksi työkaluksi.²

Metalli-ionien ja niiden kompleksien tiedetään edistävän RNA:n fosfodiesterisidosten pilkkoutumista. Pilkkoutumisen sekvenssiselektiivisyyteen voidaan vaikuttaa liittämällä metalli-ionikompleksi halutun sekvenssin tunnistavaan oligomeeriin, joka voi olla oligonukleotidi tai peptidinukleiinihappo (PNA). Selektiivisyys emäsosaa kohtaan voidaan saavuttaa myös di- tai trinuklearisilla komplekseilla, joissa ei ole ylimääräistä konjugaattiryhmää tunnistusta varten.³ Tässä työssä käytettiin metalli-ionien kelaatteina 1,4,7-triatsasyklononaani- ja 1,5,9-triatsasykolodekaaniatsakuunurakenteita, jotka liitettiin PAMAM rakenteen haaroihin joko suoraan tai käyttäen välissä N⁶-diatso-L-lysiiniä. Atsidolysiiniä käytetään myöhemmin rakenteiden konjugointiin sekvenssin tunnistavaan oligomeeriin.

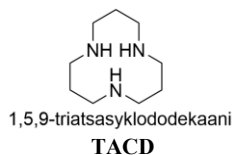
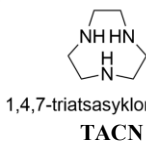
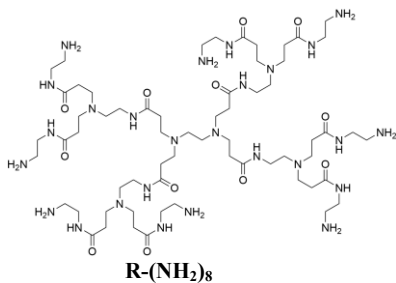
Materiaalit ja menetelmät

Atsakuunuklusterit syntetisoitiin kaavion 1 mukaisesti. Reaktioiden edistymistä seurattiin ohutlevykromatografisesti (TLC) ja tarvittavat tuotteiden puhdistukset suoritettiin silikageelikromatografisesti. Väli- ja lopputuotteet karakterisoitiin NMR- ja massaspektrometrisesti.

Tulokset ja johtopäätökset

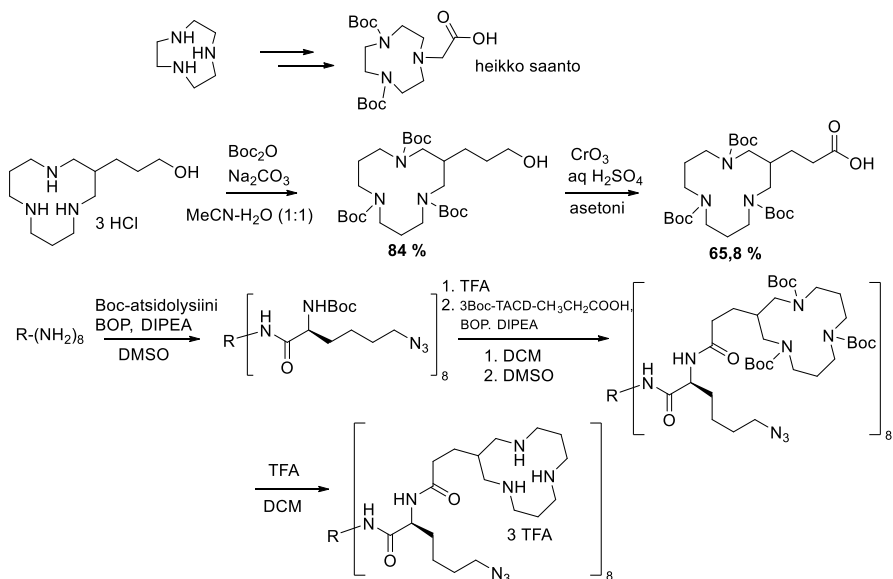
Synteesivaiheet ovat toistaiseksi onnistuneet vaihtelevasti. Alkuperäisen suunnitelman mukaan käytettävän 1,4,7-triatsasyklononaanin (TACN) käyttö jouduttiin hylkäämään selektiivisen suojauksen hankaluuden ja sen myötä alhaisen saannon vuoksi. Tämä ongelma ratkaistiin vaihtamalla atsakuunurakenteeksi 1,5,9-triatsasyklododekaani (TACD), jossa vastaavaa selektiivisyysvaatimusta ei ole. Boc-suojattu TACD-propanoli onnistuttiin hapettamaan karboksyylihapoksi hyvällä saannolla.

PAMAM-ytimen haaroihin liitettiin onnistuneesti Boc-suojatut ja N⁶-diatso-L-lysiinivarret, joihin TACD-propionihappo on tarkoitus kiinnittää. Rakenteiden kykyä pilkkoa kohde-RNA:n fosfodiesterisidoksia tutkitaan myöhemmin.



Kuva 1. PAMAM ydinrakenne.

Kuva 2. Työssä käytetyt atsakuunurakenteet.



Kaavio 1. Yksinkertaistettu 3Boc-TACD-propionihapon ja 1,5,9-triatsasyklododekaaniklusterin synteesikaavio

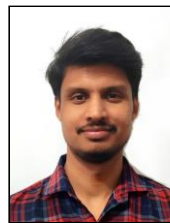
Viitteet

1. Diez-Castellnou M, Mancin F, Scrimin P. Efficient phosphodiester cleaving nanozymes resulting from multivalency and local medium polarity control. *J Am Chem Soc.* 2014;136(4):1158-1161. doi:10.1021/ja411969e
2. Niittymäki T. *ARTIFICIAL RIBONUCLEASES : OLIGONUCLEOTIDES CONJUGATED WITH METAL ION CHELATES OF AZACROWNS.*; 2014.
3. Laine M, Ketomäki K, Poijärvi-Virta P, Lönnberg H. Base moiety selectivity in cleavage of short oligoribonucleotides by di- and tri-nuclear Zn(II) complexes of azacrown-derived ligands. *Org Biomol Chem.* 2009;7(13):2780-2787. doi:10.1039/b904828f

POST-SELEX MODIFICATION OF APTAMERS THROUGH REVERSIBLE FORMATION OF N-METHOXY-1,3-OXAZINANE (MOANA) NUCLEOSIDE ANALOGUES

Muditha Herath^{1*}, Heidi Kähkölä¹, Tuomas Lönnberg¹

¹Bio-organic Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



hmhera@utu.fi

Abstract

Off-target binding of the cocaine binding aptamer (MN4) has been studied intensively in recent years. In this work, the effect of modifications at the binding site on the binding affinity of MN4 was examined. By replacing three pre-determined nucleotides of the aptamer by benzylidene protected (2R,3S)-4-(methoxyamino)butane-1,2,3-triol phosphoramidite (a MOANA residue), three different oligonucleotides (T19, C20, A21) were synthesized. Further elaboration was carried out by reacting the aptamers with mixtures of aldehydes in the presence and absence of quinine. UHPLC/MS analysis showed promising results for the C20 oligonucleotide. For a quantitative analysis of the binding, isothermal titration calorimetry (ITC) will be performed.

Introduction

Aptamers are short, single stranded DNA or RNA molecules, which have the ability to bind with a wide range of different ligands with a higher selectivity and specificity. Due to this specific binding affinity, aptamers have been used for pharmaceutical, nanotechnological and bio-sensor applications. [1] Among these aptamers, the cocaine binding aptamer has been utilized significantly in the recent past.

Several studies have been carried out to demonstrate the binding affinity of the cocaine aptamer with alternate targets such as alkaloids and steroids. Surprisingly, the cocaine aptamer has demonstrated a 30-fold higher binding affinity to an off-target, namely quinine. [2] Due to this off-target binding, it is logical to examine the affinity of other possible candidates to bind with cocaine aptamer.

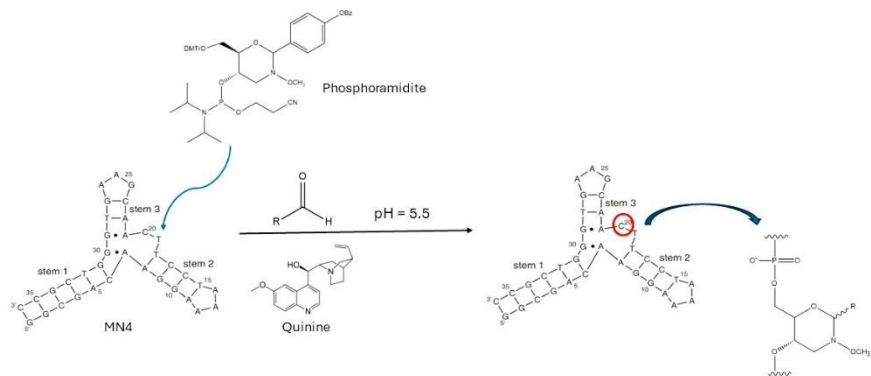
In this work, we are presenting a dynamic combinatorial method to screen for modified aptamers by derivatization with different aldehydes in the presence and absence of quinine. Incorporation of a MOANA residue at certain selected sites of the MN4 aptamer will generate modified oligonucleotide scaffolds which can be further derivatized with aldehydes. Binding of the introduced aldehydes can be characterized by UHPLC and then followed by a quantitative analysis with isothermal titration calorimetry. The aim was to identify the scaffold—aldehyde combinations with the highest binding affinity for quinine.

Materials and methods

Oligonucleotides (ONs) were synthesized by an ÄKTA oligopilot plus 10 DNA/RNA automated oligonucleotide synthesizer by replacing 3 nucleotides by a MOANA residue one at a time. After purifying by HPLC the 3 ONs were incubated separately with selected aldehydes at pH 5.5 at room temperature in the absence and presence of quinine. The reaction progression was analyzed by Waters Acquity RDa mass spectrometer. Finally, the binding affinity analysis will be carried out by performing isothermal titration calorimetry with iTC₂₀₀ Microcalorimeter.

Results and conclusions

Scheme 1 outlines the incorporation of the modified phosphoramidite building block at pre-determined sites of the MN4 aptamer as the first step, and then the reaction of the aldehydes at those sites of the resulting aptamer scaffolds. Out of the 6 different aldehydes used, methyl-4-formylbenzoate and 3-nitrobenzaldehyde showed promising results in the presence and absence of quinine with the modified oligonucleotide C20.



Scheme 1. Incorporation of aldehydes to MN4 aptamer via modification at selected sites.

The UHPLC/MS analysis showed that in the presence of quinine, incorporation of methyl-4-formylbenzoate is higher than 3-nitrobenzaldehyde. Moreover, the naked aptamer was also observed at a considerable intensity. However, in the absence of quinine, the incorporation of 3-nitrobenzaldehyde was increased drastically while no prominent increase was observed for methyl-4-formalbenzaldehyde. The intensity of unbound C20 aptamer was decreased significantly in the absence of quinine, concluding that the conjugation of the two aldehydes was more efficient. The binding affinity of these two aldehyde-modified aptamers for quinine will be further quantified by ITC.

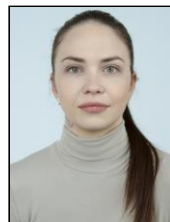
References

1. Reinstein, O., Yoo, M., Han, C., Palmo, T., Beckham, S. A., Wilce, M. C. J., and Johnson, P. E., *Biochemistry*, **2013**, 52, 8652–8662.
2. Slavkovic, S., Altunisik, M., Reinstein, O., and Johnson, P. E., *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, 23, 2593–2597.

Synthesis of modified D-allohexafuranosyl nucleoside analogues

Kseniia Petrova-Szczasiuk^{1*} and Pasi Virta¹

¹Bioorganic Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



Abstract

Optimized synthetic routes for creating D-allohexafuranosyl uracil nucleoside analogues with appropriate modifications at 6'-site have been studied. The synthesis utilizing 1,2;5,6-di-O-isopropylidene-D-allofuranose, a commercially available starting material, as a starting point resulted in successful incorporation of the uracil base moiety as well as separation of the α/β -anomers. The introduction of the desired 6'-OH modification is still ongoing at the time of writing this abstract. The resultant compounds, including several novel structures, were characterized by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.

Introduction

Modified oligonucleotides and nucleosides are recognized for their therapeutic and research utility, serving as pharmaceutical agents^[1,2] and molecular probes^[3]. While natural nucleosides are readily sourced, certain desired modifications necessitate synthetic approaches^[4]. Depending on the application, modifications can include alterations to the sugar, nucleobase, or phosphate moiety, each of which can significantly impact the stability, affinity, specificity and overall efficacy of the oligonucleotide or nucleoside-based drug^[5]. Consequently, the development of effective synthetic methodologies is of great interest.

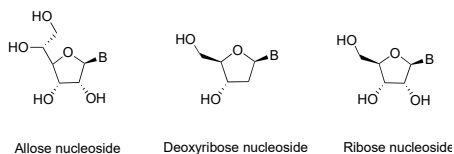
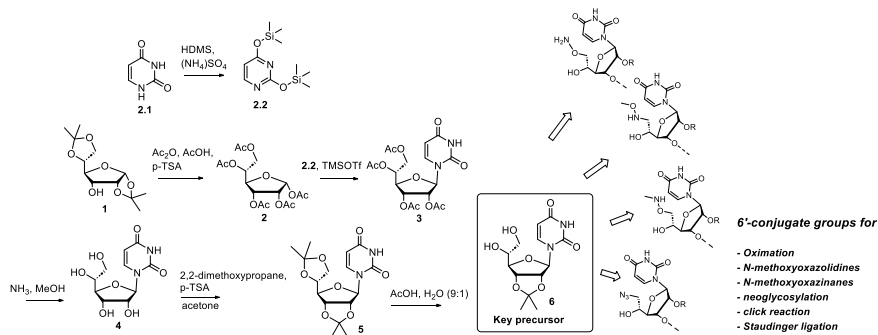


Figure 1. Structures of allose, deoxyribose and ribose nucleosides.

In this context, the utilization of atypical sugar configurations, such as allofuranose, is particularly noteworthy. D-allofuranose has an additional hydroxymethyl group (at the 5' site) compared to the natural furanose sugars in RNA and DNA and offers a versatile scaffold for chemical modifications (Figure 1). The diverse applications of allofuranose-modified nucleosides include potential antiviral, antibacterial and even an anticancer drug development^[5,6], leveraging structural changes

to increase affinity or circumvent resistance mechanisms. The modification can also be applied for oligonucleotide ligation processes. This research aims to synthesize D-allofuranose uracil analogues, initiating with two distinct starting materials and examining the subsequent synthetic stages with special focus on 6'-OH modifications.



Scheme 1. The synthetic route for the preparation of allofuranosyl nucleoside analogues

Results and conclusions

After the initial exploration of allohexafuranosyl preparation **2**, the nucleoside analog **3** has been synthesized and its α/β - anomers were successfully separated from each other allowing for the introduction of further modifications in the β -anomer only **6**. A few different routes have been evaluated in order to introduce e.g. azide and aminoxy groups to the 6'OH position (Scheme 1). The tritylation of the 6'OH followed by peracetylation and consequent azidation did not bring successful results. The introduction of *N*-hydroxyphthalimide to the 6'-site using the Mitsunobu reaction is currently ongoing.

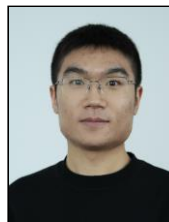
References

1. Mounné L, Marie AC, Crouvezier N. Oligonucleotide Therapeutics: From Discovery and Development to Patentability. *Pharmaceutics*. 2022 Jan 22;14(2).
2. Seley-Radtke KL, Yates MK. The evolution of nucleoside analogue antivirals: A review for chemists and non-chemists. Part 1: Early structural modifications to the nucleoside scaffold. *Antiviral Res*. 2018 Jun;154:66–86.
3. Baranowski MR, Warminski M, Jemielity J, Kowalska J. 5'-fluoro(di)phosphate-labeled oligonucleotides are versatile molecular probes for studying nucleic acid secondary structure and interactions by 19F NMR. *Nucleic Acids Res*. 2020 Sep 4;48(15):8209–24.
4. Väre VYP, Eruysal ER, Narendran A, Sarachan KL, Agris PF. Chemical and Conformational Diversity of Modified Nucleosides Affects tRNA Structure and Function. *Biomolecules*. 2017 Mar 16;7(1).
5. Chang J. 4'-Modified Nucleosides for Antiviral Drug Discovery: Achievements and Perspectives. *Acc Chem Res*. 2022 Feb 15;55(4):565–78.
6. Besada P, Costas T, Teixeira M, Terán C. Synthesis and cytostatic activity of purine nucleosides derivatives of allofuranose. *Eur J Med Chem*. 2010 Dec;45(12):6114–9.

IMPROVING THE STRUCTURE OF ORGANOMERCURY OLIGONUCLEOTIDE CONJUGATIONS FOR RIBONUCLEASE ACTIVITY

Kai Yan^{1*} and Tuomas Lönnberg¹

¹Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



Abstract

Four artificial ribonucleases with different sequences, each having an organomercury group conjugated in the middle were synthesised and their catalytic activities in target oligonucleotide cleavage were evaluated. These organomercury-conjugated artificial ribonucleases exhibited superior catalytic performance compared with artificial ribonucleases without mercury as well as previously reported artificial ribonucleases with catalytic groups introduced at the chain termini. The experimental results showed that the introduction of the organomercury conjugate in the middle significantly improved the cleavage efficiency.

Introduction

Ribonucleic acid (RNA) is a molecule found in most organisms and viruses. RNA viruses use RNA rather than DNA as their genetic material and can cause many human diseases. Specific RNA molecules can regulate gene expression and have the potential to act as therapeutic agents for human disease [1]. RNA has become an interesting subject for various studies. One of them is the study of artificial ribonucleases, which are oligonucleotide conjugates designed to be used as restriction endonucleases.

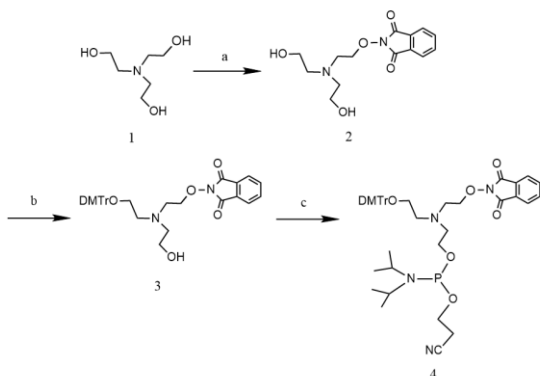
Two organomercury oligonucleotide complexes [2] were recently reported and tested for their potential as artificial ribonucleases. The catalytic activity of both organomercury oligonucleotides was much better than that of the metal-free as well as previously reported small-molecule organomercury RNA cleavage agents [3]. However, the observed activities were modest compared to advanced metal-dependent artificial ribonucleases. However, the sensitivity to the length and stiffness of the linker suggests that considerable improvements can be achieved through structural optimisation. This paper describes the synthesis of improved organomercury oligonucleotide complexes with higher activity.

Materials and methods

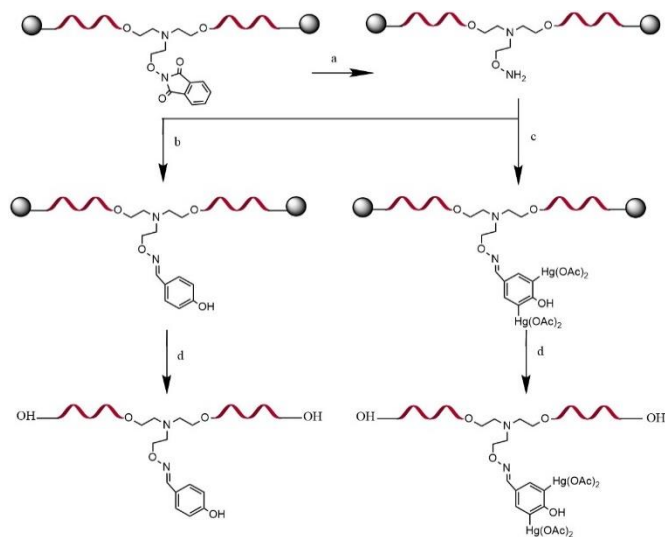
Small molecule products and intermediates (Scheme 1) were identified by Bruker NMR (500 MHz) and Waters MS. All oligonucleotides were synthesised by an ÄKTA Oligopilot Plus 10 DNA/RNA synthesizer following the phosphoramidite strategy (Scheme 2). Crude oligonucleotides were characterised by Waters MS and purified by RP-HPLC.

Results and conclusions

Four organomercury-conjugated artificial ribonucleases with different sequences and corresponding metal-free artificial ribonucleases have been synthesised. The crude products have been analysed by mass spectrometry and are being purified at this stage using RP-HPLC.



Scheme 1. Synthesis of phosphoramidite building block. Reagents and conditions: a) N-hydroxyphthalimide, DIAD, Ph₃P, dry DMF, N₂ atmosphere, 25 °C, overnight; b) DMTrCl, CH₂Cl₂, dry pyridine, N₂ atmosphere 25 °C, overnight; c) 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite, Et₃N, CH₂Cl₂, N₂ atmosphere, 25 °C, 1 h.



Scheme 2. Synthesis of oligonucleotide conjugates. Reagents and conditions: a) hydrazine acetate, pyridine, acetic acid, 25 °C, 45 min; b) 4-hydroxybenzaldehyde, pyridine, 25 °C, 2 h; c) 3,5-bis(acetoxymercury)-4-hydroxybenzaldehyde, pyridine, 25 °C, 2 h; d) NH₃, H₂O, 25 °C, overnight.

References

1. Wang, D., & Farhana, A., *Biochemistry, RNA Structure*, StatPearls Publishing, Treasure Island, FL, USA, 2023.
2. Saleh, L.Y., M. Ora, and T. Lönnberg, *J. Inorg. Biochem.* **2023**, *247*, 112331.
3. Saleh, L.Y., M. Ora, and T. Lönnberg, *ChemBioChem*, **2021**, *22*, 1761-1764.

Environmentally Friendly Process for Racemization of Benzofuroquinolizines and Recovery of T1143 from Production Waste-stream

Müjgan G. Üstbas^{1*}, Pasi Virta¹, Pasi Nieminen² and Sakari Tuokko²

¹Biorganic Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku

²Seqens / PCAS Finland Oy, Messukentäkatu 8, 20210 Turku



Abstract

Control over chirality and racemization is of great importance in chemistry. In cases where *de novo* enantiomerically pure compound synthesis cannot be achieved, a feasible method must be developed for racemization. Herein a sustainable method for enantiomerization of a commercial small molecule veterinary active pharmaceutical ingredient (VAPI) via retro-Michael/Michael equilibrium in the presence of water is introduced. This process enables the conversion of (*R*)-T1143.HCl to (*S*)-T1143, and the recovery of the undesired enantiomer from the waste-stream. Kinetic analysis was conducted considering variables such as concentration, temperature, and duration of the reaction, with outcomes presented as percent areas by normal phase HPLC.

Introduction

Small molecules have been used and developed for more than a century where they have been used to treat pain, infections, viral diseases, cancer, and as contraceptive pills [1]. The molecule T1143, containing a benzofuroquinolizine, is a commercial small molecule veterinary active pharmaceutical ingredient (VAPI) which possesses a stereocenter beta to its ketone functionality.

The production method yields a mixture of enantiomers, thus a method to recover the undesired (*R*)-T1143 from the waste by switching its chirality to (*S*)-enantiomer is needed; and the method also must possess properties such as being easily integrable to the production pipeline, financial feasibility and environmentally friendliness.

(*R*)-T1143 is collected from the waste-stream through precipitation via hydrochloric acid treatment and contained 90-95% of (*R*)-enantiomer, depending on the batch. This 90-95% enantiomeric excess (ee) was the starting point of the experiments and various methods known for racemization such as thermal racemization or photochemical racemization were applied [2].

The aim of this work was to develop a feasible method to convert the undesired enantiomer into the desired (*S*)-T1143. The reaction progress was monitored by normal phase HPLC, and the structural integrity of the molecules upon methods applied were monitored by ¹H and ¹³C NMR.

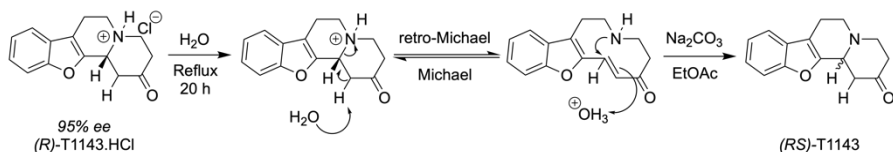
Materials and methods

(*R*)-T1143.HCl is subjected to heat in the presence of water as the solvent. Heating (*R*)-T1143 in H₂O results formation of (*S*)-T1143 at various amounts, depending on the concentration, reaction time, and temperature, which leads to formation of retro-Michael/Michael equilibrium; and via this pathway, it leads to eventual enantiomerization. Kinetics of the reaction with concentrations 0.12, 0.18, 0.36, 0.48 and 0.72 mol/L, at 2-, 4-, 9-, 20-, 24-, and 25-hour reaction time, and at temperatures 80, and 100°C were studied. The reaction progress was monitored by normal phase HPLC where the peak areas of the (*S*)-enantiomer are represented as S% area depending on the kinetic conditions.

Results and conclusions

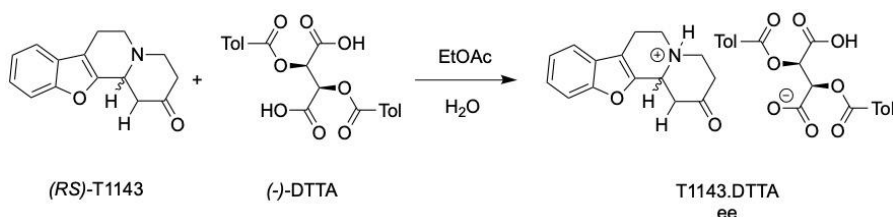
Conversion of (*R*)-T1143 to (*S*)-T1143 can be achieved through retro-Michael/Michael equilibrium upon refluxing in H₂O. The resulting yields of (*S*)-enantiomer is 50±1 % at 0.36 mol/L concentration at varying reaction times from 9 to 25 hours. When the reaction time was kept

constant at 20 hours while changing the initial concentration of (*R*)-T1143.HCl, the resulting S% areas were changing without any direct correlation e.g. S% area was detected 50.85 at 0.36 mol/L upon 20 hours of refluxing but the percentages were 38.92 and 46.11, with respect to 0.18 and 0.12 mol/L concentration. However, longer reaction time improved the S%-yield, even though the change was relatively small such as 50.88 S% at 24 hours and 51.18 at 25 hours at 0.36 mol/L.



Scheme 1. Formation of (*RS*)-T1143 from (*R*)-T1143.HCl through retro-Michael/Michael reaction intermediate in the presence of water as a solvent and the final product in the base form.

The enantiomeric base form was obtained through basification step by sodium carbonate (Na_2CO_3) treatment in the presence of ethyl acetate (EtOAc) and phase separation, which is then followed by resolution of enantiomers by crystallization of (*S*)-T1143 with (-)-*O,O'*-*Di-p*-toluoyl-L-tartaric acid in EtOAc and H_2O , then filtered and collected.



Scheme 2. Formation of enantiomerically enriched T1143.DTTA from (*RS*)-T1143 through resolution by crystallization with (-)-*O,O'*-*Di-p*-toluoyl-L-tartaric acid.

Table 1. The S% area observed in HPLC for 0.36 mol/L concentration refluxed with respect to various reaction time (h) in H_2O .^a

Experiment #	[C] mol/L	Time (h)	S% Area
40	0.36	9	49.68
40	0.36	15	49.75
36	0.36	20	50.85
39	0.36	24	50.88
38	0.36	25	51.18

References

1. Beck, H.; Härter, M.; Haß, B.; Schmeck, C., and Baerfacker, L., *Drug Discovery Today*. **2022**, 27 (6), 1560-1574.
2. Ebbers, E.J, Ariaans, G.J.A., Houbiers, J.P.M., Bruggink, A., and Zwanenburg, B., *Tetrahedron*. **1997**, 53, 28, 9417-9476.

SCREENING FOR HIGH-AFFINITY NUCLEOBASE SURROGATES BY DYNAMIC COMBINATORIAL CHEMISTRY

Mark Nana Kwame Afari

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



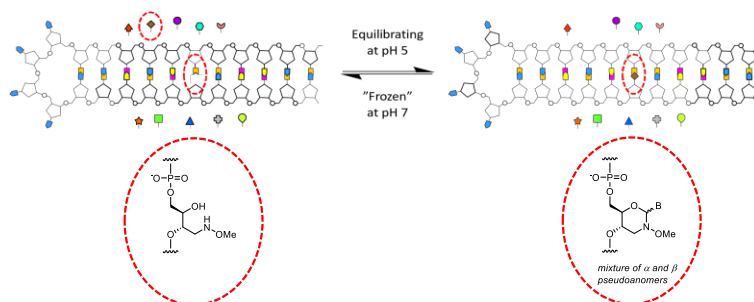
nana.m.afari@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta
Supervisor(s): Prof. Tuomas Lönnberg, Prof. Pasi Virta
Funding: No funding at the moment
Estimated time of PhD dissertation: 2024

Main aims of the PhD research

Over the last decades, there have been attempts to substitute hydrogen bonded base pairing of DNA with other modes of base pairing. This has led to the expansion of the genetic alphabet as well as novel structures and functions of DNA. For one particularly interesting example, replacement of hydrogen-bonded base pairs with metal complexes has received tremendous attention.

The aim of this study is to develop an assay for rapid screening of nucleobase surrogates based on dynamic combinatorial chemistry, application of this assay to identify high-affinity organometallic base-pairing partners for each canonical nucleobase and structural analysis of these organometallic nucleobase analogues to better understand the principles of metal-mediated base pairing, ultimately leading to rational design of organometallic oligonucleotides of superior hybridization affinity for any given sequence. pH-responsive formation and hydrolysis of N-methoxy-1,3-oxazinanones (MOANA) (Scheme 1) is employed as the key reaction in the assay.



Scheme 1. A hairpin oligonucleotide assay for screening for nucleobase surrogates by dynamic combinatorial chemistry.

Main results so far

We have successfully synthesized 4-(methoxyamino)butane-1,2,3-triol, its phosphoramidite building block and corresponding modified oligonucleotides and demonstrated reversible incorporation of various aldehydes into these oligonucleotides (Scheme 2) [1]. In our previous studies, we determined the equilibrium constants by incorporating three modified aldehydes (**Figure 1**) into the 4-(methoxyamino)butane-1,2,3-triol scaffold. The obtained results indicated that the adenine analogue **FA** showed the highest affinity to the hairpin pairing it with thymine, in line with the rules of Watson—Crick base pairing. Overall, the stability constants of the **FA**

conjugates were higher than those of the **FU** or **FI** conjugates due to the facts that it has more hydrogen bonding donor and acceptor and a large base stacking surface. This result allows for the exploration dynamic combinatorial chemistry for the screening of modified nucleobase aldehydes facilitating the identification of molecules that mimic the binding properties of natural nucleobases while offering potential advantages in terms of affinity, stability, specificity, or other desired features.

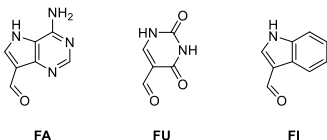


Figure 1. Aldehyde-functionalized nucleobase analogues used in the equilibrium study.

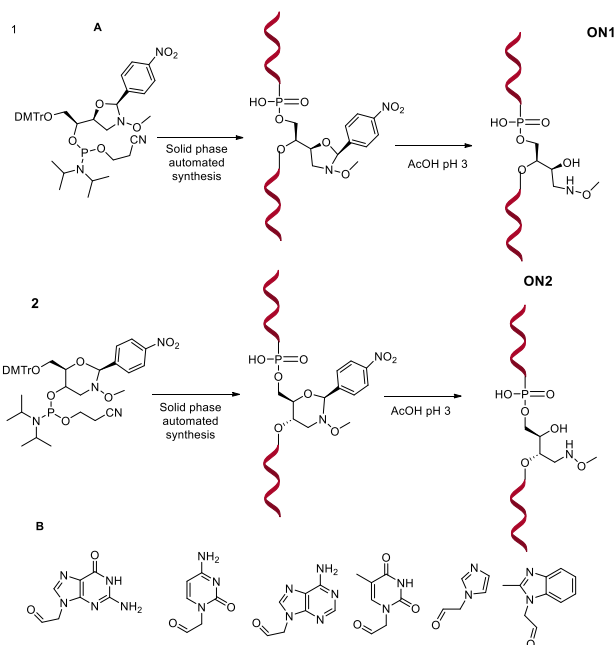


Figure 2: The building blocks for DCC experiment. A) Modified oligonucleotides B) Modified nucleobase aldehydes

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

One of the main interests of Bioorganic group is modification of oligonucleotides, especially in the context of oligonucleotide therapeutics. The proposed project focuses on facilitating the synthesis and screening of modified oligonucleotides including organometallic ones.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Afari, M. N. K., Virta, P., Lönnberg, T., *Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20*, 3480—3485.
2. Afari, M. N. K., Nurmi, K., Virta, P., Lönnberg, T., *ChemistryOpen* **2023**, *12*, e202300085

N-methoxyoxazolidine ligation in oligonucleotides

Aapo Aho

Bioorganic Group, Chemistry of Drug Development, 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: Academy of Finland, Business Finland, Exactus, Finnish Cultural Foundation

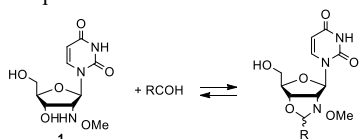
Estimated time of PhD dissertation: 2024

Main aims of the PhD research

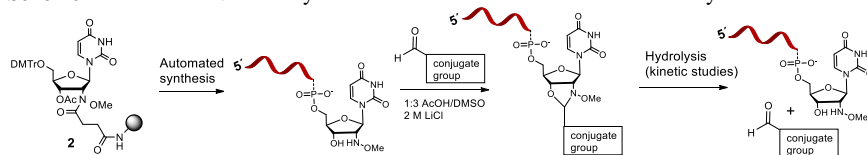
Main aim of the thesis is to study *N*-methoxyoxazolidine in oligonucleotide ligation. Basically, this means attaching various molecules to oligonucleotides. The reversibility and pH-sensitivity of the ligation is studied for therapeutic oligonucleotide delivery (acid-labile oligonucleotide conjugates) and target-directed dynamic combinatorial chemistry (tdDCC) experiments (DNA-templated ligation, substrate-induced self-assembly of split-aptamer, K⁺-induced self-assembly of and human telomeric G-quadruplex fragment). Specific studies are highlighted in this abstract.

Main results so far

2'-deoxy-2'-*N*-methoxyuridine (**1**) forms *N*-methoxyoxazolidines with aldehydes (**Scheme 1**). The coupling reaction is reversible and pH-sensitive; the reaction is dynamic under slightly acidic conditions (pH 4–6) but may be halted by adjusting the pH above 7. Therapeutically relevant oligonucleotides were modified to bear 3'-terminal **1** (U^{NOMe}-ONs), and were conjugated with various therapeutically relevant delivery-assisting molecules (e.g. cell-penetrating peptides) via aldehyde handle (**Scheme 2**). The conjugates were practically stable under physiological conditions (pH 7.4), but the U^{NOMe}-ONs were released under slightly acidic conditions perceived to endosomes (pH 4–6) (**Figure 1**). U^{NOMe}-ONs were next studied in various tdDCC models. As a highlight, an aptamer was split into three parts, including U^{NOMe}-ONs, 5'-aldehyde bearing ON, and bifunctional ON bearing both U^{NOMe}- and 5'-aldehyde functionalities (**Scheme 3**). The three oligonucleotides self-assembled into the full aptamer by *N*-methoxyoxazolidine ligation. The self-assembly of this split aptamer occurred only in the presence of quinine, which is the small-molecular substrate of the aptamer.



Scheme 1. Reversible *N*-methoxyoxazolidine formation between **1** and aldehyde.



Scheme 2. Synthesis and hydrolysis of U^{NOMe}-oligonucleotide conjugates.

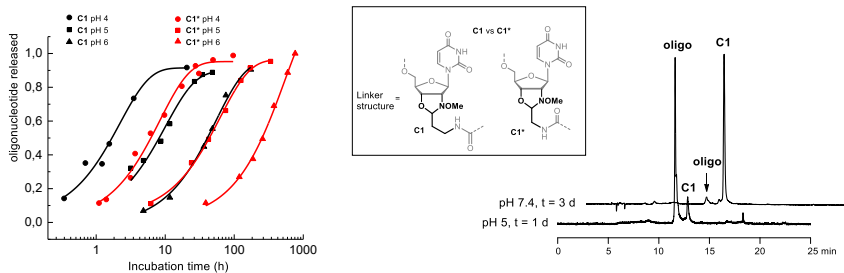
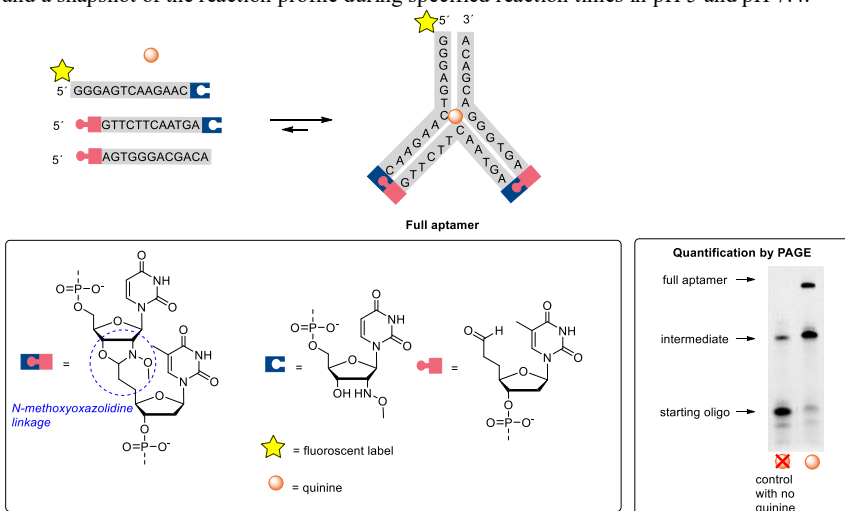


Figure 1. A selected example for U^{NOMe}-oligonucleotide conjugate (**C1** and **C1***) hydrolysis rates and a snapshot of the reaction profile during specified reaction times in pH 5 and pH 7.4.



Scheme 3. Reversible *N*-methoxyoxazolidine formation between **1** and aldehyde.

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

First aspect of the *N*-methoxyoxazolidine conjugation in this thesis is therapeutic oligonucleotides, which have been intensely studied as a treatment for genetic diseases. The major obstacle in usage of oligonucleotide therapeutics is their delivery to the target organs and cells. It has been shown that antibodies, aptamers, and various small molecules can be used to induce uptake of oligonucleotides. Acid-labile linkers may be utilized to improve the uptake even more by enhancing the endosomal escape.

Second aspect of the thesis is *N*-methoxyoxazolidine in tdDCC of the oligonucleotides. Dynamic and pH-controlled ligation of oligonucleotides driven by a molecular template could be used as a tool for sensing, synthesis of DNA-encoded polymers, or synthesis of long modified aptamers.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Aho, A.; Sulkanen, M.; Korhonen, H.; Virta, P.; Org. Lett. **2020**, *22*, 6715.
2. Aho, A.; Äärelä, A.; Korhonen, H.; Virta, P., Molecules **2021**, *26*, 490.
3. Aho, A.; Österlund, T.; Rahkila, J.; Virta, P.; Eur. J. Org. Chem., **2022**, *31*, 8.
4. Aho, A., Virta, P., ChemComm, **2023**, *59*, 5689.

SNases as next-generation therapeutics

Hanni Haapsaari

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



haehaa@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta

Supervisor(s): Prof. Pasi Virta and Prof. Anu Airaksinen

Funding: Doctoral Programme in Exact Sciences

Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

This project aims to synthesise SNases (i.e., spherical nucleic acids acting as artificial nucleases) and study their catalytic activity in cleaving target RNA (Figure 1). This project will find new readily available core units that allow appropriate metal ion complexation (the cleaving agent moiety) or introduction of organic cleaving agents and efficient multivalent conjugation with oligonucleotides (=assembly of SNases). The catalytic activity of the cores will first be studied with small molecule models (i.e., without oligonucleotides that could provide a hybridization-driven proximity effect and thus enhance activity). The stability and capability of the best core units for the assembly of SNases will be carefully evaluated, and then the activity of SNases to cleave target RNAs, including biologically relevant ones, will be studied. The increase in catalytic activity compared to small molecule models is expected to be marked. Once a good activity is achieved, cellular uptake of the SNases and their potential to downregulate target RNAs will be studied *in vitro*. When a good cellular activity is found, the project will also evaluate the biodistribution properties of the best SNases *in vivo*. SNases will be specifically labelled with a ^{18}F -agent and injected into mice models, and the biodistribution will be monitored by PET imaging.

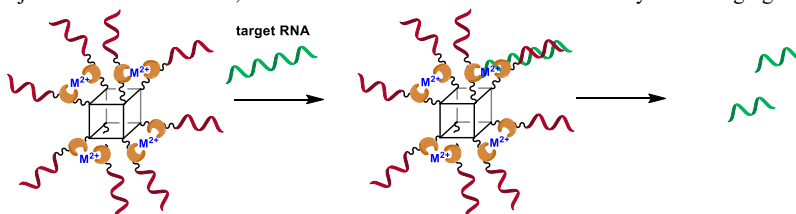


Figure 1. Overview of the project.

Main results so far

Cubic octameric silsesquioxane (COSS) structures **1**, **2**, and **3** with metal-chelating agents have successfully been synthesised and characterised (Figure 2). Three different water-soluble metal-chelating catalytic moieties were introduced to the COSS-core: a glycol-modified salen ligand, a 1,5,9-triazacyclododecane ligand, and a guanidine ligand. The structures were exposed to complexation with Zn^{2+} and Cu^{2+} . All of the structures contain an azide functionality, allowing future conjugation with oligonucleotides. Catalytic activity studies will be commenced very soon.

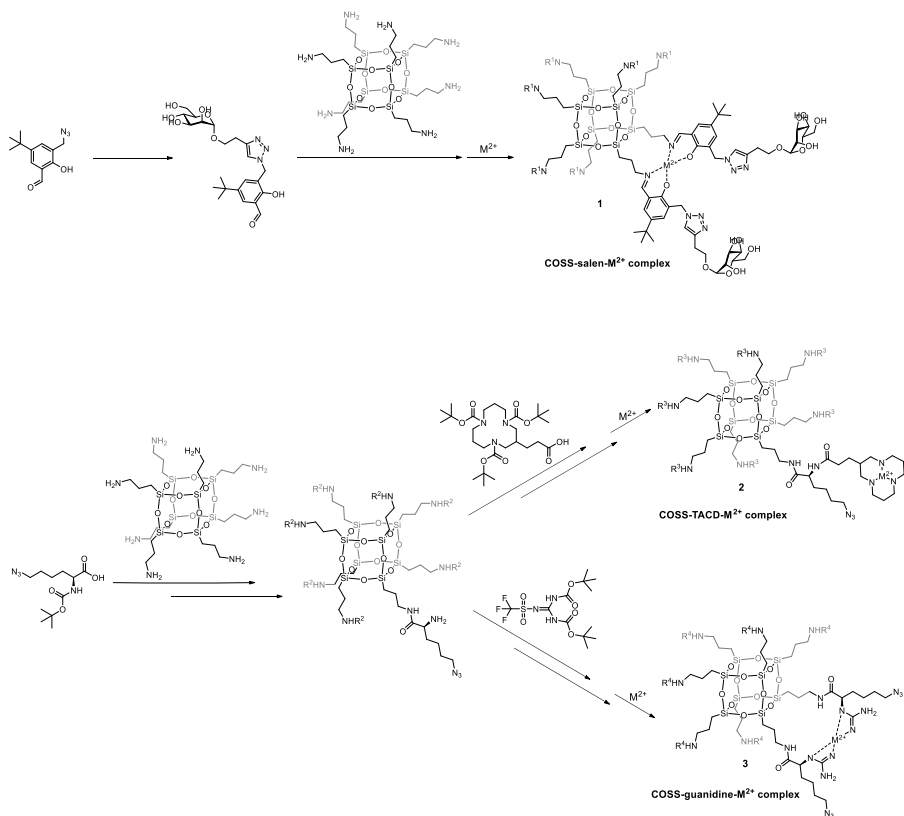


Figure 2. Current stage of doctoral research.

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

Oligonucleotides are nowadays an effective drug modality for human diseases but their wider applicability as drugs is currently limited by their unfavourable biodistribution, modest cellular uptake, and endosomal trapping. Formulation of oligonucleotides covalently to a dendritic form, resulting in molecular spherical nucleic acids (MSNAs), is an attractive option to improve the delivery and *in vivo* applicability of oligonucleotides. MSNAs undergo enhanced cellular uptake, are more stable against nucleases, and can avoid renal clearance. MSNAs with various core structures have extensively been studied in our group. One obstacle of MSNAs, however, is that they cannot be universally applied to therapeutically active oligonucleotides as some antisense oligonucleotides, for instance, may not work in SNA formulation. This project aims to solve this issue and provide a new application for MSNAs by combining the beneficial properties of MSNAs with artificial nucleases. An entirely new concept of potential therapeutic agents, SNases, will be developed.

Papers to be included in the PhD thesis

No publications yet.

Chimeric DNA-MOANA Aptamers

Heidi Kähkölä

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



hemakah@utu.fi

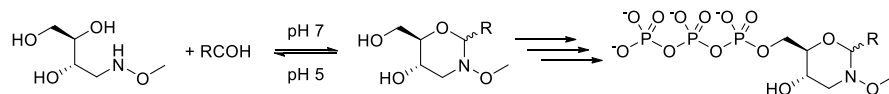
Research Director: Prof. Pasi Virta
Supervisor(s): Prof. Tuomas Lönnberg, Prof. Pasi Virta
Funding: Finnish Cultural Foundation
Estimated time of PhD dissertation: 2027

Main aims of the PhD research

Aptamers are DNA or RNA oligonucleotides with high affinity and selectivity for a given molecular target. Aptamers offer significant advantages over antibodies in both therapeutic and diagnostic applications due to their smaller size and easier accessibility. However, they are inherently limited by the low chemical diversity of their constituent monomers and could thus benefit from modification with a wider range of functional groups. For therapeutic applications, modifications would also be needed to increase stability against nucleases and improve cellular uptake.

Aptamers can be found for nearly any desired target through a process called Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX). In SELEX, the target molecule is immobilized, and aptamers are selected from a library of nucleic acids. Repeated cycles of enrichment and amplification are used, with increasingly stringent selection conditions, to ensure that high-affinity aptamers are selected and nucleic acids with nonspecific target binding properties are excluded. Although the SELEX method for the identification of aptamers is powerful, it is severely limiting in terms of modifications that can be introduced. Especially, modifications on the Watson–Crick face of the nucleoside triphosphates are seldom tolerated by the polymerase enzymes used in the amplification step of SELEX.

This project aims to prepare chimeric DNA—MOANA aptamers by combining SELEX and dynamic combinatorial chemistry (DCC). Our research group has recently developed an unnatural *N*-methoxy-1,3-oxazinanone nucleic acid (MOANA) backbone that allows incorporation of modifications as aldehydes. The freezing of the dynamic combinatorial library (DCL) is achieved through a simple change in pH since the reaction is reversible at pH 5 but essentially irreversible at pH 7 (Scheme 1). In the resulting 2-substituted *N*-methoxy-1,3-oxazinanone residue, the aldehyde formally replaces the nucleobase and the oxazinanone ring the sugar moiety.



Scheme 1. Synthesis of a MOANA nucleoside triphosphate.

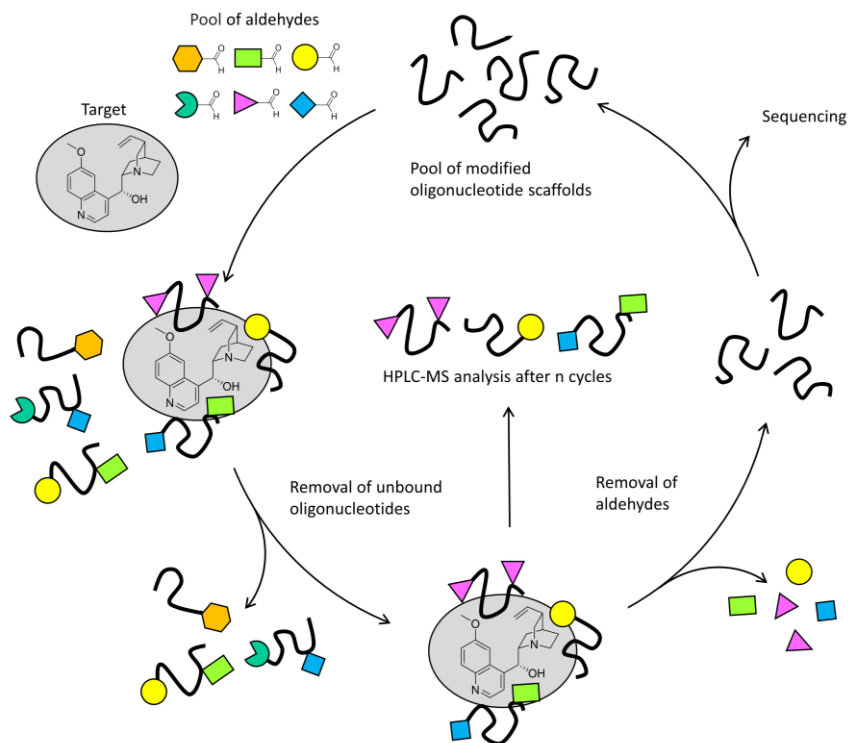


Figure 1. Outline of the SELEX/DCC cycle for selection of chimeric DNA—MOANA oligonucleotides.

Main results so far

No publishable results yet.

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

One of the main research areas of the Bioorganic Group is modified oligonucleotides. This project aims to develop a robust strategy for finding and optimization of chemically modified aptamers for virtually any given target. The MOANA scaffold allows introduction of a wide range of modifications to aptamers, including coordinative or organometallic transition metal complexes, but compatibility with polymerase enzymes has to be tested first. The proposed process combines the power of directed evolution, which is a hallmark of the SELEX approach, with the ability to select modifications that would be impossible to incorporate through enzymatic polymerization, such as transition metal complexes. This increased chemical diversity is expected to result in aptamers with higher affinities than those currently available, making them ideal for developing highly sensitive sensors for various analytes.

Papers to be included in the PhD thesis

No publications yet.

SPHERICAL NUCLEIC ACIDS AS DELIVERY VEHICLES FOR THERAPEUTIC OLIGONUCLEOTIDES

Toni Laine

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



tejlai@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta

Supervisor(s): Prof. Pasi Virta, Prof. Tapani Viitala, Prof. Marjo Yliperttula

Funding: Doctoral Programme in Exact Sciences, Finnish Cultural Foundation

Estimated time of PhD dissertation: 2025

Main aims of the PhD research

The aim of the research is to improve and study the tissue-specific delivery of molecular spherical nucleic acids (MSNAs) and to find new biocompatible cores for MSNAs. The effect of various ligands (carbohydrates, cholesterol, aptamers) on the biodistribution, cellular uptake and intracellular activity of SNAs will be evaluated. A major factor affecting the biodistribution of MSNAs is their affinity to proteins and the resulting formation of a protein corona. The impact of the ligands on the structure of the protein corona will be evaluated using SPR (surface plasmon resonance). Novel core structures based on readily available biocompatible materials will be synthesized. The role of the core structure, and the alignment and density of oligonucleotides, in the cellular uptake and biodistribution will be evaluated.

Main results so far

RNA- and DNA-based MSNAs were synthesized and used as carriers for an antisense oligonucleotide designed to reduce tau-protein expression. The antisense oligonucleotide was conjugated with chondroitin sulfates and hybridized with the MSNAs resulting in chondroitin sulfate decorated heteroduplex MSNAs. The MSNAs have been characterized with SEC-MALS (size-exclusion chromatography equipped with a multi-angle light scattering detector), DLS (dynamic light scattering), PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) and melting temperature analysis. The structures are relatively homogenous and stable at physiological conditions. The cellular uptake and intracellular activity of these structures have been studied *in vitro*. The MSNAs are taken up by cells more efficiently than linear oligonucleotides.

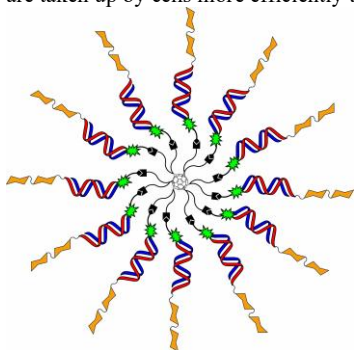


Figure 1. General structure of the chondroitin sulfate decorated heteroduplex MSNAs

Novel biocompatible core structures based on PAMAM-dendrimers (Poly(amidoamine), **1**, **2**) and silsesquioxane (**3**) have been synthesized and used in MSNA syntheses. The core structures are well suited for MSNA synthesis and result in homogenous MSNAs with high yields. The MSNAs have been characterized with the usual characterization methods for MSNAs. Additionally, transmission electron microscopy was used to evaluate the size of the structures.

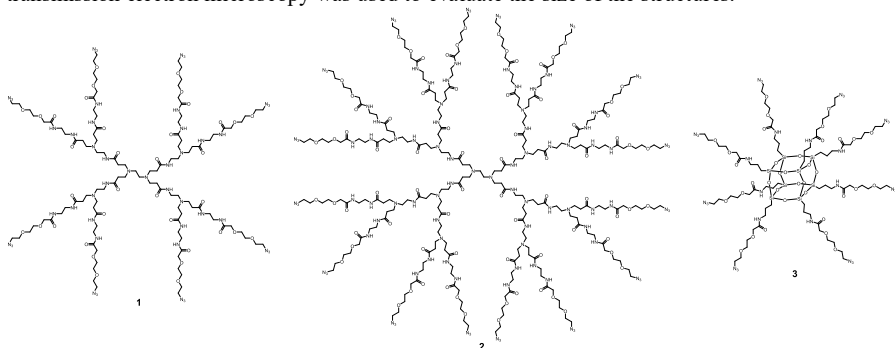


Figure 2. New biocompatible core structures

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

Oligonucleotides are effective therapeutic agents that have gained new interest in recent years. However, their wider use is limited by their poor cellular uptake and biodistribution. MSNAs are oligonucleotide-based constructs that have advantages in delivery compared to linear oligonucleotides, including improved extrahepatic delivery *in vivo* and improved cellular uptake. In spite of this, systemic delivery of therapeutic oligonucleotides to extrahepatic targets remains elusive. This research aims to improve the tissue-specific delivery of oligonucleotides by appropriate surface decoration of MSNAs. The biodistribution and cellular uptake of SNAs could also be affected by the core structure or factors dependent on it. Many of the established core structures for SNAs are toxic or their toxicity is unknown. Thus, this research also aims to find novel biocompatible core structures for MSNAs and studies their effect on the biodistribution and cellular uptake of MSNAs.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Laine, T., Tähtinen, V., Deshpande, P., Coffey, E. T., Virta, P., Synthesis and cellular activity of heteroduplex anti-Tau-SNAs and their chondroitin sulfate conjugates, *manuscript to be submitted*

LIQUID-PHASE SYNTHESIS OF OLIGONUCLEOTIDE DENDRONS AIMING TO GREENER GENE-BASED THERAPEUTICS

Verner Saari

Bioorganic Group, Department of Chemistry, University of Turku



veosaa@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta

Supervisor(s): Prof. Pasi Virta and Dr. Mikko Ora

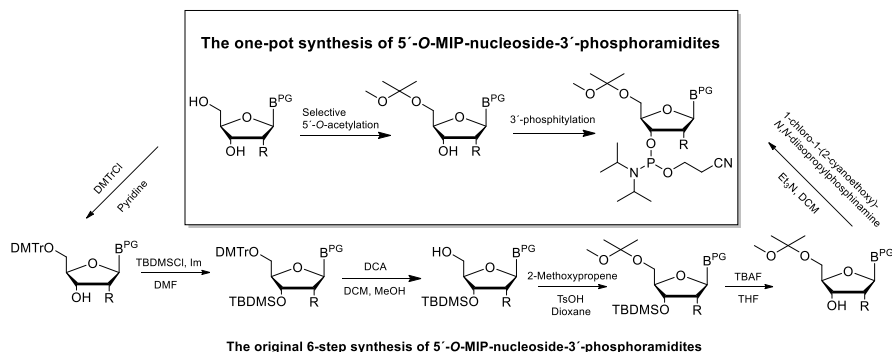
Funding: Turku University Foundation, Doctoral Programme in Exact Sciences

Estimated time of PhD dissertation: 2027

Main aims of the PhD research

The aim of this research is to develop Liquid-Phase Oligonucleotide Synthesis (LPOS) to a more sustainable and scalable method to synthesize therapeutic oligonucleotides. The idea is to study LPOS together with alternative coupling chemistries, blockmers, and protecting group schemes of lower process mass intensity (PMI).

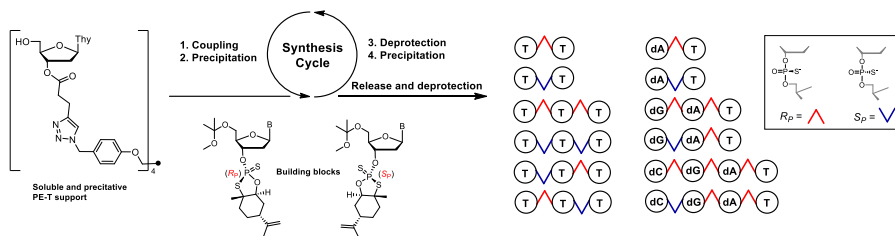
The standard protecting scheme in Solid-Phase Oligonucleotide Synthesis (SPOS) relies on the acid labile 5'-*O*-dimethoxytrityl (DMTr) protection. Due to the reversibility of the detritylation (S_N1) and its poor reproducibility, being dependent on the scale, concentration, and oligonucleotide sequence, we are studying 2-methoxyprop-2-yl (MIP) as an alternative 5'-*O*-protecting group in solution. The acid-catalyzed removal of MIP yields volatile byproducts (acetone and methanol) which together with a faster reaction rate i.e. reduces depurination. The goal is to develop a one-pot procedure for the synthesis of 5'-*O*-MIP-nucleoside-3'-phosphoramidites. The route begins with selective 5'-*O*-acetylation in the selected solvent system and continues with 3'-*O*-phosphitylation. This synthesis route yields the building block faster and more environmentally way than the original 6-step procedure (**Scheme 1**).



Scheme 1. Synthesis of 5'-*O*-MIP-nucleoside-3'-*O*-phosphoramidite building blocks.

Main results so far

The simple limonene-based P(V)-coupling chemistry together with 5'-O-MIP protecting groups has been proven to be efficient in LPOS. 3'-O- Ψ -activated and 5'-O-MIP-protected 2'-deoxynucleosides building blocks were synthesized for the stereo-controlled liquid-phase synthesis of phosphorothioates. Di-, tri- and tetranucleotide phosphorothioates were synthesized on tetrapodal pentaerythritol-derived soluble support using prepared building blocks. The synthesis cycle consists of coupling and 5'-deprotection reactions and two isopropanol precipitations. The coupling reaction takes place in basic conditions and is followed by neutralization and first isopropanol precipitation. 5'-Deprotection is carried out in acidic conditions and the second isopropanol precipitation is done immediately after. Nearly homogeneous R_p or S_p phosphorothioate diastereomers were released in ammonolysis with ca. 80% yield/synthesis cycle (**Scheme 2**).¹



Scheme 2. Stereo-controlled liquid-phase synthesis of phosphorothioate oligonucleotides on a soluble support.

The solubility of the soluble support is a significant parameter in LPOS. For example, it affects the coupling efficiency and defines reaction and precipitation conditions. A significant mass portion of the protected oligonucleotides comes from the protecting groups contributing hence markedly to the solubility.

We have synthesized a bunch of short oligonucleotides on a precipitative soluble support using 5'-O-MIP protected 2'-deoxyribonucleotide phosphoramidite building blocks with different nucleobase protection groups. We measured the solubility of anchored and protected (nucleobase and phosphate protections) oligonucleotides in various solvents. Results indicate that only slight modifications in the nucleobase protections keep the precipitation efficiency (tetrapodal core in isopropanol) intact, but vary markedly the solubility in organic media.

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

LPOS is one of the research interests of The Bioorganic Group, and it has been actively studied during the last years. Although automated SPOS has been the dominating technology to synthesize oligonucleotides for over 30 years and it has many indisputable operational benefits, solid-phase technology has limits. For example, the solid-phase synthesis needs an excess of reagents and extensive solvent washing. Real-time monitoring of the individual reactions is limited, which hampers “batch-like” optimization and processing of the reactions. LPOS has the potential to solve these problems and to be a more efficient, sustainable, and scalable method for oligonucleotide synthesis.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Rosenqvist, P., Saari, V., Pajuniemi, E., Gimenez Molina, A., Ora, M., Hovarth, A. and Virta, P., *J. Org. Chem.* **2023**, *88*, 14, 10156–10163.

ORGANOMERCURY OLIGONUCLEOTIDES AS ARTIFICIAL RIBONUCLEASES

Lange Yakubu Saleh

Bioorganic Chemistry Research Group, Laboratory of Organic Chemistry and Chemical Biology, Department of Chemistry, University of Turku



lysale@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta

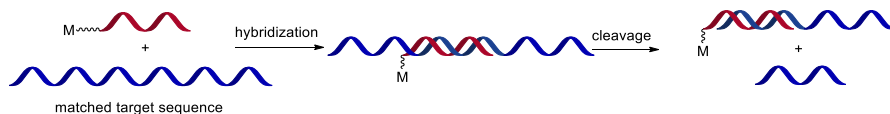
Supervisor(s): Prof. Tuomas Lönnberg and Dr. Mikko Ora

Funding: CIMO, Academy of Finland, Department of Chemistry, Turku University Foundation, UTUGS, and Otto A. Malm foundation

Estimated time of PhD dissertation: 10.05.2024

Main aims of the PhD research

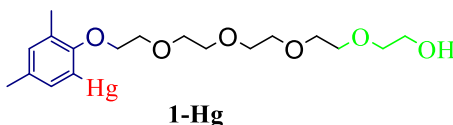
This research aims on demonstrating the potential of organometallic oligonucleotides as a new class of artificial ribonucleases. These ribonucleases combine the stability of metal-free cleaving agents with the catalytic efficiency of metal-dependent ones, and have potential uses in biotechnology and as therapeutic agents. The project commenced with kinetic studies on Hg(II)-catalyzed hydrolysis, depurination, and desulfurization of dinucleoside phosphodiester and phosphorothioate model RNA compounds. An arylmercury complex was subsequently studied to confirm the feasibility of this approach. Organometallic scaffolds were also investigated to enhance 1) the solubility of the catalytic metal ion, 2) cluster several metal ions together, and 3) provide additional catalytic functionalities. Finally, oligonucleotides with 5'-terminal organometallic conjugate groups were synthesized and evaluated for their potential as artificial nucleases using matched target sequences, allowing the assessment of both their selectivity and catalytic efficiency (Scheme 1).



Scheme 1. Cleavage of oligonucleotide targets by organometallic artificial ribonucleases and the possible cleaved products

Main results so far

Although previously underestimated in the realm of artificial nucleases development, Hg(II) has emerged as a remarkably potent catalyst for cleaving the phosphodiester linkage in an RNA model compound. It has also demonstrated efficacy in depurination and phosphorothioate desulfurization, particularly with a phosphoromonothioate analogue. Furthermore, the arylmercury complex **1-Hg** has exhibited cleaving capabilities on the same RNA model compound. These significant findings lay a robust groundwork for advancing research in the field of oligonucleotide-based artificial ribonucleases.



Two pathways were employed for the synthesis of oligonucleotide-based cleaving agents. The first involved the incorporation of a metal-free “hot spot” through phosphoramidite coupling, followed by post-synthetic mercuriation of the modified oligonucleotide in solution. The second route utilized on-support oxime coupling of a pre-metallated catalytic moiety. Subsequently, all oligonucleotide products underwent purification via RP-HPLC and were characterized using LC-MS. To explore the cleavage of longer RNA targets, oligonucleotides featuring a single reactive RNA phosphodiester linkage were paired with organomercury oligonucleotide cleaving agents or their metal-free counterparts served as negative controls. The remaining residues of the target sequences were 2'-O-methylated to prevent hydrolysis. This method produced uncomplicated product mixtures, facilitating a clear interpretation of the data. Throughout the investigation (as outlined in Scheme 1), the reactions were continuously monitored, and the resulting product mixtures were analyzed using IE-HPLC and identity of the products confirmed by LC-MS.

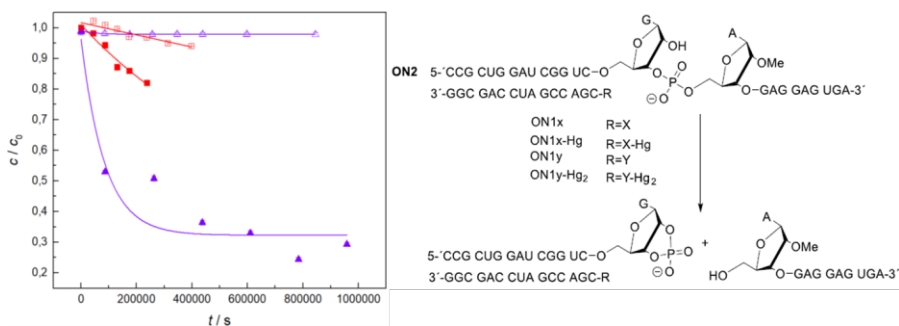


Figure 1. The cleavage of the target **ON2** catalyzed by the organomercury oligonucleotide cleaving agents, **ON1x** (Δ), **ON1x-Hg** (\blacktriangle), **ON1y** (\square), **ON1y-Hg₂** (\blacksquare); $T = 55\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{pH} = 7.4$ (20 mM cacodylate buffer); $I(\text{NaClO}_4) = 0.10\text{ M}$.

When comparing the two organomercury oligonucleotide conjugates, both demonstrated superior catalytic efficacy compared to their non-mercurated counterparts. The findings imply that optimizing the length and rigidity of the linker could significantly improve the efficiency of the cleaving agent, as illustrated in Figure 1. Specifically, a longer linker resulted in nearly a six-fold increase in maximum conversion rates compared to a shorter one.

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

The research is a continuation of two areas explored in our group: covalently metallated oligonucleotides and mechanisms of biologically relevant phosphate-transfer reactions. The project aims to develop a new class of artificial ribonucleases with potential applications in therapeutics and biotechnology.

Papers to be included in the PhD thesis

1. L. Y. Saleh, M. Ora and T. Lönnberg *Catalysts* **2020**, *10*, 219.
2. L. Y. Saleh, M. Ora and T. Lönnberg *ChemBioChem* **2021**, *22*, 1761-1764.
3. L. Y. Saleh, M. Ora and T. Lönnberg *J. Inorg. Biochem.* **2023**, *247*, 112331

DYNAMIC DNA-TEMPLATED LIGATIONS

Tommi Österlund

Bio-organic Group, Laboratory of Organic Chemistry and Chemical Biology, Department of Chemistry, University of Turku



tojuos@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta

Supervisor(s): Prof. Pasi Virta and Dr. Heidi Korhonen

Funding: The Vilho, Yrjö and Kalle Väisälä Foundation of the Finnish Academy of Science and Letters, Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences

Estimated time of PhD dissertation: 2025

Main aims of the PhD research

The core idea behind nucleic acid templated organic synthesis is that the hybridization between two complementary oligonucleotides brings the reactant groups attached to these oligonucleotides to closer proximity, which increases the effective molarity and allows reactions to proceed even at very low concentrations in aqueous solutions.

The main goal of my research is to study the applicability of non-enzymatic DNA-templated synthesis to different ligation reactions and to further study the effect of different reactant groups and templates to their kinetics. I am focusing on dynamic reactions in particular due to their potentially interesting applications in fields such as dynamic combinatorial chemistry or supramolecular chemistry.

Main results so far

We have demonstrated that neoglycosylation (i.e. *N*(Me)-alkoxyamine glycosylation) can be performed on a DNA template improving the reaction rate and yield in pH 5 aqueous solution at concentrations as low as 10 μ M (Figure 1). The reaction requires slightly acidic conditions and entirely halts at pH 7. We will be examining the kinetics of this reaction more closely and studying its possible applications in e.g. dynamic combinatorial chemistry in the future.

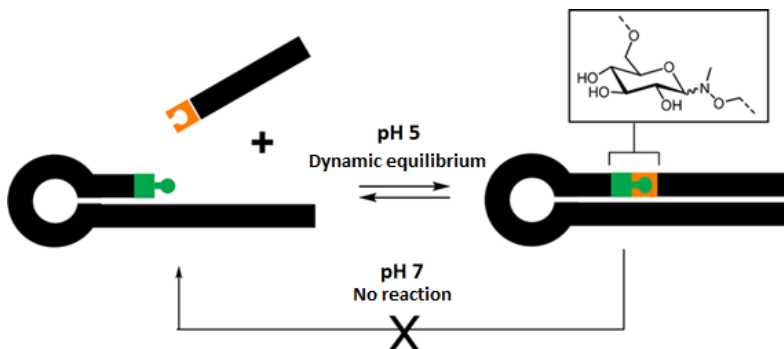


Figure 1. DNA-templated *N*(Me)-alkoxyamine glycosylation

Another dynamic reaction that we have demonstrated to work on a DNA template is the formation of *N*-methoxyoxazolidines between 2'-*N*-methoxymodified oligonucleotides and 5'-aldehyde modified oligonucleotides (Figure 2). We have used this reaction previously in our research group to synthesize peptide-oligonucleotide conjugates. Again we can see faster reaction rates and improved yields at low concentrations due to DNA templating. The reactions are done at 5 μ M concentrations. Like neoglycosylation, this reaction is pH responsive. It works best on a DNA template in pH 5 aqueous solution and can be stopped by a mild pH change to pH 7. To make following the reaction easier, we are also following the reaction utilizing protected aldehyde oligonucleotide with a 2'-*N*-(methoxy)aminouridine cap on the aldehyde end that is removed in low pH as the reaction moves forward.

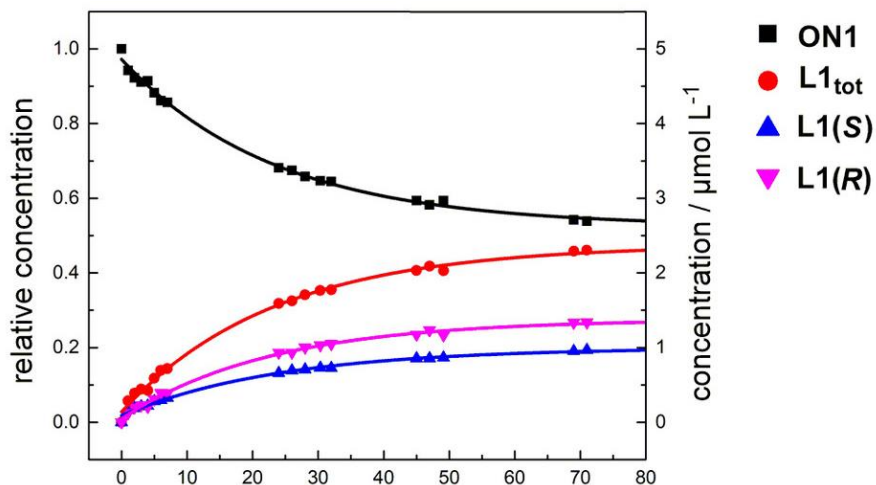


Figure 2. Reaction profile of DNA-templated ligation between a 5'-aldehyde modified DNA-oligonucleotide and a 2'-*N*-(methoxy)amino (ON1) modified DNA-oligonucleotide

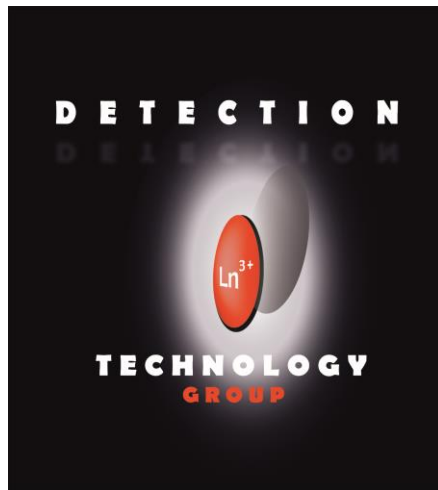
The significance of my research for the research group and the whole research field

Non-enzymatic DNA-templated ligations are one of the main research interests of the Bioorganic Group. These reactions produce backbone-modified oligonucleotides that could have interesting applications in nucleic acid based diagnosis, therapeutics, drug discovery and study of biological systems. For example, dynamically self-organizing bifunctional building blocks could be used in dynamic combinatorial chemistry to detect single nucleotide polymorphism. In addition, these types of reactions could be used in modeling and studying self-replicating biological systems especially 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.
2. Aho, A., Österlund, T., Rahkila, J., Virta, P. *Eur. J. Org. Chem.*, **2022**, e202200583.

DETEKTIOTEKNOLOGIAN TUTKIMUSRYHMÄ



UUDET MENETELMÄT BIOANALYTIikkaAN JA LÄÄKEAINETUTKIMUKSEEN

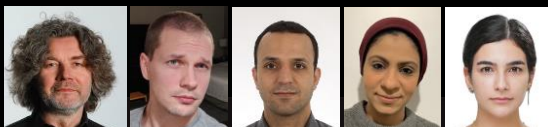
Dos. Harri Härmä

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

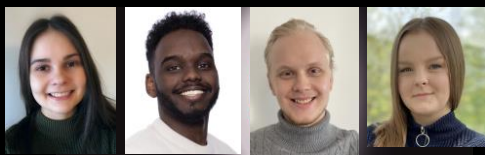
Detektioteknologian tutkimusryhmä (Detection Technology Research Group) kehittää uudenlaisia pääosin erotusvapaita analyysimenetelmiä mm. lääkeainetutkimukseen, tehoseulontaan ja diagnostiikkaan. Tutkimuksemme lähtökohtana on menetelmien uutuusarvo, käyttäjälähtöinen tarve, yksinkertaisuus ja edullisuus. Nämä ns. mix-and-measure tyyppiset määrittämissuorat ovat usein huomattavasti vaikeampia kehittää kuin erotukseen perustuvat menetelmät, koska kaikki näytekomponentit ovat mittaushetkellä läsnä. Ryhmän tarkoituksena on kehittää uniikkeja ja käytännönläheisiä sovelluksia, joilla on todellista teollista ja tutkimuksellista käyttöä. Tämän vuoksi teemme tiivistä yhteistyötä alan ammattilaisten ja yritysten kanssa niin ideointivaiheessa kuin menetelmän kehityksen ja toiminnallisuuden testaamisen aikana.

Tutkimusryhmä:

Dos. Harri Härmä
FT Kari Kopra
FT Morteza Malakoutikha
FM Randa Mahran
FM Negin Gooran
LuK Riia Vihavainen
LuK Eemeli Kujala
LuK Jenni Vuorio
LuK Dahir Mohamed
Niklas Vello
Jake Lammi
Delia Halminen
Sara Lahti
Mei Pham
Anu Kultalahti
Ilona Nieminen
Olivia Kuivala
Emma Aho
Kalle Mäntylä



D E T E C T I O N



T E C H N O L O G Y
G R O U P



Kehittämämme menetelmät perustuvat pääosin erittäin herkkään luminesenssin havainnointiin ja erityisesti lantanidi-kelaatteihin pohjautuvaan aikaerotteiseen luminesenssiin (TRF/TRL). Menetelmiä kehitetään tärkeille biokemiallisille lääkekohteille, kuten syöpään liittyville proteiineille ja entsyymeille, sekä proteiinilääkkeiden karakterisointiin ja seulontaan. Kohteina ovat myös esim. virukset, bakteerit ja solut sekä diagnostiikassa virtsarakkosityöpä. Tyypillinen määrityskehitys jakautuu eri työvaiheisiin, joissa hyödynnetään laajasti eri tekniikoita ja menetelmiä. Useimmiten prosessi alkaa synteessillä ja leimamolekyylin konjugoinnilla kohde- tai sitojamolekyylin (1), jonka jälkeen leima-konjugaatit erotellaan kromatografisia erotusmenetelmiä käyttäen lähtöaineistaan (2). Tämän jälkeen konjugoinnin onnistuminen ja molekyylin toiminnallisuus varmennetaan käyttäen olemassa olevia analyttisiä tekniikoita (3). Vasta näiden vaiheiden jälkeen alkaa varsinaisten luminesenssimenetelmien kehitys, hyödyntäen näitä aiemmissa vaiheissa luotuja ja varmennettuja leimakonjugaatteja (4). Tämän kehitystyön aikana uuden menetelmän haluttu toiminta varmistetaan ja sitä verrataan olemassa oleviin standardimenetelmiin (5).

Kehitystyössämme on kaksi päälinjaa:

1. Bioaffiniteettiin perustuvat spesifiset analyysitekniikat biokemiallisille lääkekohteille ja lääkemolekyylin seulontaan
2. Epäspesifiset analyttiset menetelmät biomolekyylin mittaamiseen ja niiden fyysikaalisten ominaisuuksien havainnointiin sekä syöpädiagnostiikkaan

(Bio)analyttisten menetelmien taitava käyttö ja kehitystyö ovat selkeästi talousalueemme kantavia voimavaroja ja yritysten suurin yksittäinen osaamisalue kemian näkökulmasta. Ryhmämme teknologiat ja kehitysohjelmaan liittyvä osaaminen antavat analytiikan perusasioiden sekä menetelmien laajan osaamisen kautta hyvät taidot ja lähtökohdan talousalueellamme oleville työnantajille kuten Revvity (Wallac), Bayer, Orion, Radiometer, Eurofins, Biovian, Uniogen ja DelsiTech.

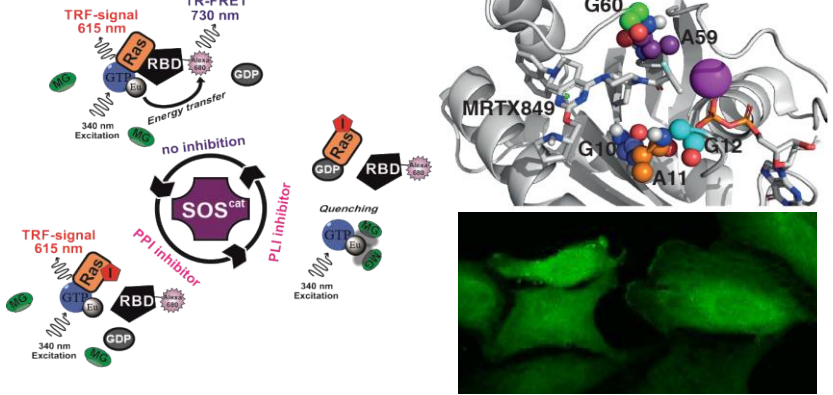
Bioaffiniteettiin perustuvat tekniikat lääkemolekyyleille ja niiden seulontaan

Luminesenssimääritykset ovat ensisijaisia lääkeaineiden tehoseulonnassa käytettäviä menetelmiä. Valon optinen luenta on yksinkertaista, edullista ja nopeaa soveltuen hyvin satojen tuhansien tai jopa miljoonien kirjastomolekyylin seulontaan. Kaksi leimausta vaativa TR-FRET on yksittäinen yleisimmin käytetty menetelmä seulonnassa. Kehittämämme erotusvapaa mTR-FRET yksileimateknologia perustuu sitoutumattoman leimakonjugaatin luminesenssin sammutukseen liuoksessa, kun kohteeseen sitoutunut leimakonjugaatti yhä tuottaa luminesenssia. Teknologia kykenee erottamaan sitoutuneet ja vaikuttavat lääkeainekandidaatit ilman molekyylin erottelua tai pesuvaiheita. Teknologiaa hyödynnetään käynnissä olevissa projekteissa sekä potentiaalisten pienten ja biologisten lääkeaineiden seulontaan että ominaisuuksien määrittämiseen.

Biologiset lääkeaineet (biologics) ovat tuotteita, jotka on tuotettu elävissä organismeissa tai sisältävät elävien organismien komponentteja. Immuunijärjestelmän vasta-aineet ovat tyypillisiä biologisia lääkeaineita ja niitä käytetään myös yleisesti sitojamolekyyleinä bioanalytiikassa. Detektioteknologian tutkimusryhmä käyttää ja kehittää biologisia lääke- ja sitojamolekyylejä ja hyödyntää niitä mm. uusien määritysmenetelmien luomisessa. Tällä hetkellä työtä projekteissa tehdään liittyen vasta-aineisiin, toistoproteiineihin ja DNA-aptameereihin.

Spesifinen syöpäanalytiikka

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. Erityisesti biologiset lääkkeet ja kovalenttisesti sitoutuvat molekyylit ovat yksi suuri syy tämän positiivisen kehityksen takana. Lääkkeiden kehitys puolestaan luo painetta uusien määrittyskonseptien, kohdemolekyylien ja toisaalta diagnostisten menetelmien kehitykseen.

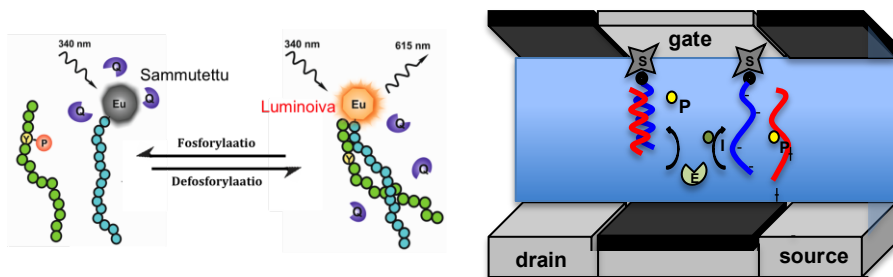


KRAS on yksi uudelleen henkiin herätetyistä lääkinnällisesti tärkeistä kohdeproteiineista, koska sen mutatoituneet muodot ilmenevät noin 30% kaikista syövästä. Biologiset sitojat ja etenkin kovalenttiset inhibiittorit ovat lähiaikoina osoittaneen KRAS lääkinnällisen haavoittuvuuden. Ryhmämme onkin kehittänyt lukuisia menetelmiä KRAS aktiivisuuden, interaktioiden ja signaalointiin liittyvien reaktioiden havainnointiin yhteistyössä instituuttien (Leidos/NIH) ja yliopistojen (Luxemburg, Zürich, Kalifornia ja Texas) kanssa. Menetelmäkehitys on yhä aktiivista ja sen pohjalta parhaillaan kehitetään menetelmiä laaja-alaisempaan solun signaloinnin analyysiin. Mittaamalla solun sisäisiä metaboliitteja esimerkiksi kuvantamiseen pohjautuen, pyrimme yhteistyöyliopistojemme (Houston, Cincinnati, Keio ja Osaka) kanssa tutkimaan mm. tärkeiden signaalireittien varrella olevien reseptorien lääkinnällistä potentiaalia.

Proteiinien jälkitranslaationaaliset modifikaatiot

Entsymaattiset proteiinien jälkitranslaationaaliset modifikaatiot ovat elintärkeitä säätelymekanismeja soluissa. Tärkeimpiä näistä modifikaatioista ovat fosforylaatio, asetylaatio, glykosylaatio ja ubiquitinaatio, jotka ohjaavat mm. solun kasvua ja kehitystä, sekä proteiinien aktiivisuutta tai hajotusta. Nykyisin modifikaatiot tai modifikaatioryhmät määritetään spesifisesti eri menetelmillä, usein hyödyntäen vasta-aineita ja luminesenssia. Näistä menetelmistä poiketen, ryhmämme on kehittänyt universaalien ja vasta-aineista riippumattoman menetelmän, joka soveltuu useiden erilaisten modifikaatioiden määrittämiseen samalla konseptilla. Menetelmässä peptidien väliset vuorovaikutukset muuttuvat modifikaatioiden ilmenemisestä johtuen, aiheuttaen luminesenssisignaalin muutoksen riippuen siitä ovatko peptidit sitoutuneena vai erillisinä liuoksessa. Teknologiaa on sovellettu usean eri modifioivan entsyymin inhibition ja aktivoinnin mittaamiseen, perustuen erilaisiin peptidien välisiin vuorovaikutuksiin. Modifikaatioiden mittaamiseen on myös kehitetty yhteen peptidiin pohjautuvia muunnoksia tietyille

modifikaatioryhmille. Kehitystyö jatkuu myös uusien täysin erilaisten lähestymistapojen parissa, joista yksi perustuu sähköiseen luentaan.



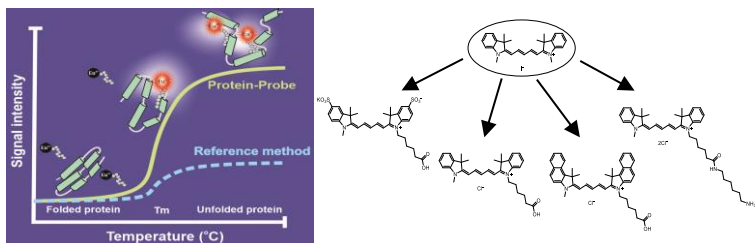
Yleisesti määrittämenetelmien absoluuttisena herkkyysrajana voidaan pitää yksittäistä molekyyliä, mutta tämän saavuttaminen liuoksessa on erittäin hankalaa ilman kalliita erikoislaitteita. Yhteistyössä Åbo Akademin ja Barin yliopiston kanssa olemme vieneet peptideihin pohjautuvan jälkitranslaatiomenetelmän yksittäismolekyylin tasolle. Mittaus perustuu transistorilla (FET) tehtävään sähköiseen luentaan liuoksesta, jolla olemme kyenneet havainnoimaan yhden peptidiparin sitoutumisen, saavuttaen siis absoluuttisen herkkyysrajan. Kehitetty menetelmä minimoi tarvittavan entsyymin määrän ja se ei käytä lainkaan leimamolekyyliä. Näin määrittäksen soveltuvuus lääkeainekehitykseen on erittäin hyvä, ja sähköisen luennan luomat mahdollisuudet sen absoluuttisesta herkkyydestä johtuen ovat huomattavat myös tulevaisuudessa.

Epäspesifiset analyttiset menetelmät biomolekyylien mittaamiseen ja niiden fysikaalisten ominaisuuksien havainnointiin sekä syöpädiagnostiikkaan

Makromolekyylien toiminta ja aktiivisuus riippuvat niiden rakenteesta ja stabiiliudesta, johon puolestaan vaikuttaa monet biologiset ja kemialliset olosuhteet. Rakenteellisesti stabiilit makromolekyylit ovat erittäin tärkeitä teollisten tuotteiden säilyvyyden ja aktiivisuuden maksimoimiseksi, ja erityisesti käytettäessä niitä korkealaatuisina biologisina lääkeaineina. Olosuhteista riippuen makromolekyylit voivat esimerkiksi laskostua väärin, aggregoitua tai hajota osiin joko spontaanisti tai proteolyttisesti. Kaikki nämä prosessit tuhoavat makromolekyylien aktiivisuuden ja voivat lääkeaineiden kohdalla aiheuttaa jopa toksisuutta. Tämän vuoksi lääkeainekehityksessä yhtenä tärkeänä trendinä on kehittää uusia parempia menetelmiä makromolekyylien rakenteen ja stabiiliuden mittaamiseen, seuraamiseen ja parantamiseen. Tällä hetkellä analytiikka perustuu pitkälti kalorimetrian (ITC, DSC), valon absorptioon (CD, UV) tai sironnan (DLS, SLS, MALS), sekä fluoresenssin (DSF) hyödyntämiseen. Valitettavasti kaikkien näiden teknikoiden ongelmana on niiden huonosta herkkyydestä johtuvat korkeat kustannukset. Lisäksi suuri materiaalien kulutus voi aiheuttaa ongelmia liittyen esimerkiksi spontaaniin aggregaatioon tai jopa kokonaan estää mittausten tekemisen herkimmillä molekyyliillä.

Tutkimusryhmämme on kehittänyt lantanidikemiaan ja aikaerotteiseen luminesenssiin perustuvan leimavapaan menetelmän (Protein-Probe) makromolekyylien stabiiliuden ja ominaisuuksien tutkimiseen. Menetelmän herkkyys on noin 100-kertaa parempi kuin parhaiden olemassa olevien teknikoiden, joka mahdollistaa tehokkaan biologisiin makromolekyyliin perustuvien lääkeaineiden stabiiliuden tutkimuksen. Menetelmän suuren herkkyyden vuoksi pystymme seuraamaan proteiinien denaturaatiota, hajoamista ja aggregaatiota paremmin kuin referensseinä käytetyt kaupalliset menetelmät. Lisäksi lääkemolekyylien sitoutumisvoimakkuuden arviointi

myös nanomolaarisella alueella on mahdollista. Menetelmän toimivuus on jo todistettu mm. proteiini-ligandi (PLI) ja proteiini-proteiini (PPI) –vuorovaikutusten havainnoinnissa yhdessä yhteistyöinstituuttiemme NIH, MRC ja Beatson Institute kanssa. Parhaillaan menetelmiämme sovelletaan uusille tutkimusalueille, kuten virtsasta tehtävään syöpädiagnostiikkaan, johon liittyen sekä peptidien että käytettävien leimamolekyyliden synteettinen ja systemaattinen kehitystyö on käynnissä.



Työskentely Detektioteknologian tutkimusryhmässä

Tutkimusryhmässä toimimme aina tiiviisti yhdessä, jolloin kukin tutkimusryhmän jäsen osallistuu uusien määrittämenetelmien kehittelyyn ja eri työvaiheisiin. Ryhmämme opiskelijat pääsevät myös heti alusta alkaen todellisten tutkimusprojektien pariin. Tarkoituksena on, että kaikki ryhmän jäsenet tuntevat niin itse kehitetyt kuin referenssimenetelmät laajasti ja oppivat ymmärtämään menetelmien kehitystyön vaiheet ja menetelmien puutteet/mahdollisuudet. Työmme alkaa usein määrittämiseen liittyvien peruskomponenttien rakentamisella, kuten pienmolekyyliden synteesit ja leimakonjugaattien valmistus. Siitä johtuen eri analytiikan perusmenetelmät kuten erotus- ja karakterisointitekniikat tulevat jokaiselle ryhmän jäsenelle tutuiksi. Suunnittelemme ja rakennamme usein myös itse sitojamolekyylejä olemassa olevilla tekniikoilla kuten peptidi/DNA-synteesillä tai seulomalla molekyylikirjastoista esimerkiksi vasta-aineita tai DNA-aptameerejä. Detektiolla on määrittämenetelmässä aina keskeinen rooli ja siinä hyödynnämme laajasti luminesenssin eri muotoja sekä sähköistä luentaa. Lisäksi menetelmän kehitys vaatii aina referenssimenetelmien käyttöä, joita voivat olla esimerkiksi DLS, DSC, SEC, CD, PCR, SPR, sekä mikroskopiaan, absorptioon ja luminesenssiin perustuvat olemassa olevat menetelmät.

Tervetuloa lääketutkimuksen pariin.

RNA:n partikkelipohjainen eristäminen nisäkässoluista

Emma Aho

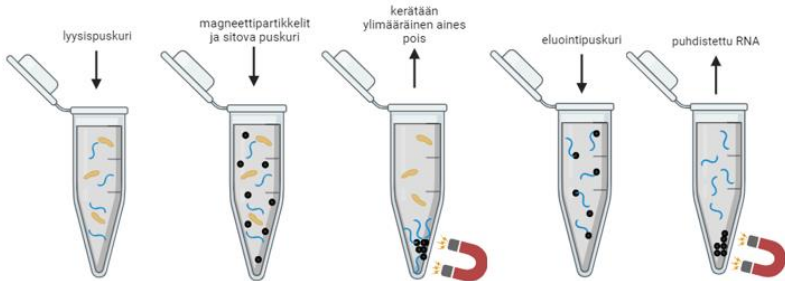
Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



emmata@utu.fi

Ribonukleiinihappoa (RNA) voidaan eristää nisäkässoluista tehokkaasti esimerkiksi hyödyntäen paramagneettisia nanopartikkeleita, ja RNA:n eristys on tärkeä esivaihe ennen molekyylibiologisia kokeita. Nisäkässoluista eristettyä RNA:ta hyödynnetään niin geenitutkimuksessa, lääkekehityksessä taudinaiheuttajien havainnointiin kuin solubiologian perustutkimuksessa. Perinteiset kemialliset eristysmenetelmät perustuvat nestefaasierotukseen, jossa RNA sitoutuu vesifaasiin [1]. Nämä menetelmät ovat kuitenkin työläitä ja aikaa vieviä niiden monien työvaiheiden sekä pienten saantojen takia [2]. Partikkelipohjainen eristys on uudempi eristysmenetelmä, ja se on noussut erittäin potentiaaliseksi menetelmäksi filtertipohjaisten eristysmenetelmien rinnalle. Yhdessä nämä menetelmät ovat syrjäyttäneet perinteisiä kemiallisia eristysmenetelmiä. Partikkelipohjaisen eristyksen edut tulevat esiin sen käyttökustannuksissa, nopeudessa ja helppokäyttöisyydessä [3].

Partikkeleiden paramagneettisuus mahdollistaa niiden dispergoitumisen liuoksessa, mikä lisää RNA-molekyylien sitoutumiskapasiteettia. Partikkeleita on kaupallisesti saatavilla paljon erilaisia, ja valinta käytettävistä partikkeleista tehdään sen perusteella, halutaanko eristää esimerkiksi totaali-RNA:ta vai lähetti-RNA:ta (mRNA). Partikkelit sisältävät metallioksidityimen, jonka pintaan on sidottu kovalenttisesti silaanipinnoite. Pintaan lisätään vielä funktionaalisia ryhmiä esimerkiksi oligonukleotidiketjuja, piidioksidia tai karboksyyliyhmiä, jotta sitoutuminen RNA-molekyylin kanssa on mahdollisimman vahva. [4] Käytettävät partikkelit vaikuttavat myös erisyksityksen valintaan, joiden peruseriaatteet ovat kuitenkin samat (kuva 1).



Kuva 1. RNA:n eristys käyttäen magneettipartikkeleita. Prosessin ensimmäisessä vaiheessa solut hajotetaan lyytispuskurin avulla, jonka jälkeen joukkoon lisätään magneettipartikkelit ja sitova puskuri. Seuraavaksi RNA:n sisältävät partikkelit kerätään ulkoisen magneettikentän avulla reunaan ja pipetoidaan ylimääräinen aines pois. Lisätään eluintipuskuri, jolloin RNA-molekyylit irtoavat partikkeleista. Lopuksi hyödynnetään ulkoista magneettikentää partikkelien keräämiseen, ja pipetoidaan puhdistettu RNA pois.

Viitteet

- [1] Shen, C., *Diagnostic Molecular Biology*, **2019**, 143-166
- [2] Berensmeier, S., *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2006**, 73, 495-504
- [3] Oberacker, P. ja muut., *PLoS Biology*, **2019**, 17
- [4] Hawkins, T., U.S. Patent No. 5,705,628. **1998**

Kaspaasien aktiivisuuden havainnointi fluoresenssiin perustuvilla in vitro -menetelmillä

Olivia Kuivala

Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

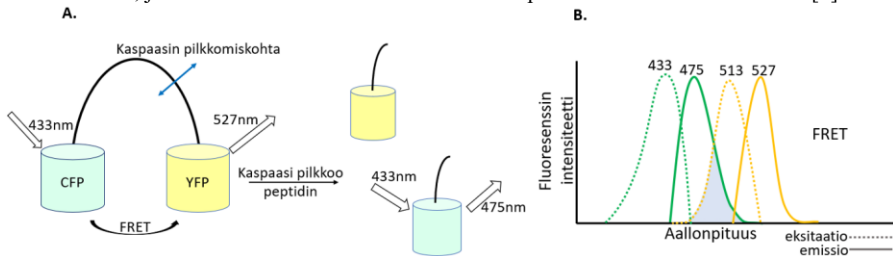


ojkuiv@utu.fi

Kaspaasit ovat ryhmä proteaaseja, jotka pilkkovat kohdeproteiinejaan tietyn aminohapon kohdalta. Niillä on aktiivisessa keskuksessaan kysteiniä sisältävä sivuketju, joka toimii nukleoofiinina peptidisidoksen hydrolyysissä. Kaspaasit osallistuvat muun muassa solujen tasapainon ylläpitoon, ja niitä pidetäänkin apoptoosin biomarkkereina. Apoptoottisten kaspaasien lisäksi on olemassa myös tulehduksellisia kaspaaseja. Monet sairaudet liittyvät kaspaasien ja apoptoosin epänormaaliin toimintaan.[1] Siksi kaspaasit ovatkin potentiaalinen lääkekohde, ja niille on kehitetty erilaisia peptidi-, pienmolekyyl- ja allosteerisia inhibiittoreita [2].

Monet fluoresenssiin perustuvat kaspaasien aktiivisuuden havainnointiin käytettävät menetelmät hyödyntävät Försterin resonanssienergiansiirtoa (FRET), jossa energiaa siirtyy säteilemättömästi virittyneeltä donorilta akseptorille. Energiansiirto tapahtuu dipoli-dipolivuorovaikutusten avulla, kun donori ja akseptori ovat riittävän lähellä toisiaan, ja kun donorin emissiospektri on osittain päällekkäinen akseptorin absorptiospektrin kanssa. Kaspaasien havainnointiin käytettävät FRET-koettimet sisältävät tietylle kaspaasille spesifin peptidisekvenssin, johon on konjugoitu donori- ja akseptorimolekyylit vastakkaisiin päihin. Kaspaasin pilkkoessa peptidin donorin ja akseptorin välinen etäisyys kasvaa, mikä voidaan havainta joko donorin fluoresenssin kasvuna tai akseptorin fluoresenssin laskuna (Kuva 1).

Kaspaasien havainnointiin voidaan soveltaa myös aggregaation aiheuttamaa emissiota (AIE), jossa fluoresoivan molekyylin kasautuminen aiheuttaa fluoresenssin kasvua. AIE-koettimessa on peptidi, jonka proteaasi voi tunnistaa ja pilkkoa, mikä johtaa lopulta AIE-molekyylien aggregaatioon ja siten fluoresenssiin.[1] Lisäksi kaspaaseja voidaan havainnoida fluorokromeilla leimatuilla inhibiittoreilla, jotka sitoutuvat suoraan aktivoituneen kaspaasin aktiiviseen keskukseseen. [3]



Kuva 1. FRET-koettimen toimintaperiaate. **A)** Koettimessa sinivihreä fluoresoiva proteiini (CFP) toimii donorina ja keltainen (YFP) akseptorina. **B)** CFP:n absorptiomaksimi on 433 nm (vihreä, katkoviiva), ja sen emissiospektri (vihreä, kiinteä) on osittain päällekkäinen YFP:n eksitaatiospektrin (keltainen, katkoviiva) kanssa. YFP virittyy FRETin kautta. Fluoresenssin intensiteetin muutosta mitataan YFP:n emission aallonpituusalueella (keltainen, kiinteä). Kaspaasin pilkkoessa peptidin energiansiirtoa ei tapahdu ja akseptori ei virity.

Viitteet

- [1] Hu, B. et al. *TrAC, Trends in Anal. Chem.* 2023, 168, 117337.
- [2] Dhani, S. et al. *Cell Death Dis.* 2021, 12, 949.
- [3] Poreba, M. et al. *Chem. Rev.* 2015, 115, 12546.

Pikatestit virtsarakon syövän diagnosoinnissa

Anu Kultalahti

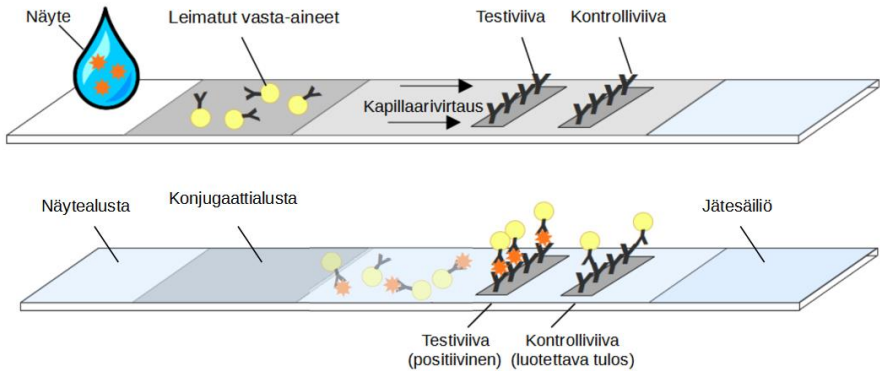
Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



akakul@utu.fi

Virtsatutkimuksissa yleisesti käytetty kehon erite, josta voidaan tunnistaa erilaisia sairauksia. Virtsapikatestit ovat non-invasiivisia eli kehoon kajoamattomia mittauksia, jotka vaativat vain muutaman pisaran näytettä. Virtsarakon syövässä rakon limakalvossa tai seinämässä oleva kasvain erittää erilaisia proteiineja virtsaan, joita voidaan käyttää diagnostisina markkereina. Pikatestit ovat vieritestauksia (engl. point-of-care) (POC), jotka mittaavat näitä markkereita. Vieritestaus tehdään laboratorion ulkopuolella, joko itse tai nopeasti lääkärissä odottaessa. Immunokromatografiset määritykset ovat usein käytettyjä POC-analytiikassa (kuva 1).

Immunokromatografiseen menetelmään perustuvia pikatestejä virtsarakonsyöväälle ovat muun muassa UBC Rapid test, BTA stat, sekä NMP22 BladderChek. UBC Rapid test mittaa virtsasta sytokeratiini 8 ja 18 -fragmenteja. NMP22 BladderChek ja BTA stat mittaavat kvalitatiivisesti tiettyjen proteiinien ennalta määrätty kynnyspitoisuudet. NMP22 mittaa tuman matriisiproteiinia 22 ja BTA stat mittaa komplementitekiänsä H liittynyttä proteiinia (CFH). [1] Testit ovat nopeita ja antavat tulokset jopa minuuteissa, mutta niiden herkkyys ja spesifisyys vaihtelee merkittävästi.



Kuva 1. Immunokromatografisessa lateraalivirtaustestissä nestemäistä näytettä ajetaan kapillaarivirtauksella huokosen alustan läpi. Neste kulkeutuu konjugaattialustalle, jossa on kerrostettuna tutkittavaa antigeeniä sitovaa vasta-ainetta. Antigeeni-vasta-aine -kompleksi kulkeutuu ensimmäiselle sieppausvyöhykkeelle muodostaen testiviivan, joka vahvistaa toivotun antigeenin läsnäolon. Toisella sieppausvyöhykkeellä reagoimatta jääneet vasta-aineet muodostavat kontrolliviivan, joka kertoo testin toimivuudesta. [2]

Viitteet

[1] T. H. Ecke ja muut, Urol Oncol, vol 41, no. 12, s. 16-26,484, 2023

[2] H. H. Sunwoo ja muut, The Immunoassay Handbook, s. 833-856, 2013

IN VITRO -YHTEENSOPIVAT MENETELMÄT MOLEKYYLIHAJOTTAJIEN SEULONTAAN

Sara Lahti

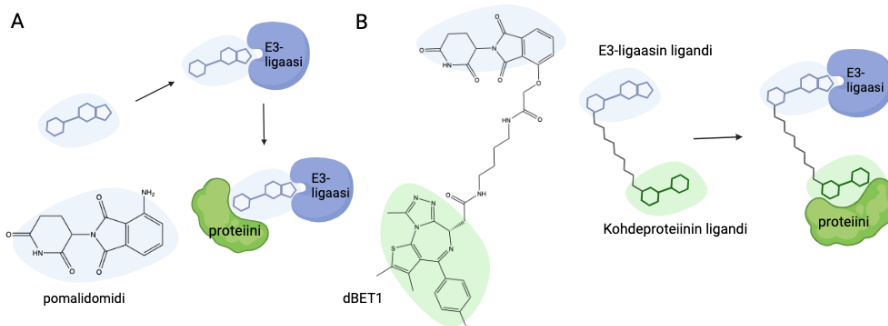
Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



sarkla@utu.fi

Kohdennettu proteiinien hajoaminen (engl. targeted protein degradation, TPD) on kehittymässä uudeksi lähestymistavaksi syöpäsairauksien, tulehdus- ja immuunisairauksien sekä infektioiden hoitoon. TPD:ssä tutkittavat proteiinit hajotetaan ubikinaation ja proteasomivälitteisen hajoamisen avulla. Tämän lähestymistavan keskiössä on kolmiosainen kompleksi, joka muodostuu E3-ubikitiiniligaasista, kohdeproteiinista sekä hajottajamolekyylistä. Hajottajamolekyylit voivat olla joko yhden- tai kahdenarvoisia (kuva 1), riippuen molekyylin sisältämien eroteltavissa olevien kohdistusosien määrästä. Tällä hetkellä eniten käytetyt molekyylihajottajaluokat TPD:ssä ovat yhdenarvoiset molekyyliimahajottajat sekä kahdenarvoiset PROTACit. [1]

TPD:ssä muodostuvan kolmiosaisen kompleksin karakterisoimiseksi on kehitetty erilaisia kokeellisia tekniikoita ja määrittäksiä. Yleisimmin käytetyt määrittäykset voidaan jakaa karkeasti kahteen luokkaan: kohteen sitoutumiseen liittyviin ja kolmiosaisen kompleksin muodostumiseen liittyviin määrittäksiin. Kohteen sitoutumista koskevissa määrittäyksissä mitataan molekyylihajottajan kykyä sitoutua kohdeproteiiniin tai E3-ubikitiiniligaasiin. Näitä menetelmiä ovat esimerkiksi isoterminen titrauskalorimetria ja fluoresenssipolarisaatio. Kolmiosaisen kompleksin muodostumiseen kohdistuvia menetelmiä ovat aikaerotteinen Försterin resonanssienergiansiirto ja ALPHA-menetelmät. Määrittäksiä käytetään hajottajien karakterisointiin, niiden spesifisyyden arviointiin sekä mahdollisten terapeuttisten hyötyjen määrittämiseen. [2]



Kuva 1. Kolmiosaisen kompleksin muodostuminen sekä malliyhdisteet. (A) Yhdenarvoiset hajottajat edellyttävät E3-ligaasin tunnistamisen ennen kohdeproteiiniin sitoutumista. (B) Kahdenarvoiset hajottajat voivat sitoutua E3-ligaasin ja kohdeproteiiniin kanssa samanaikaisesti. Tehty lähteessä [3] olevaa kuvaa mukailen.

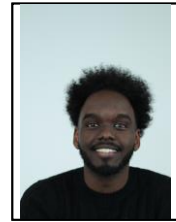
Viitteet

- [1] Toriki, E. S. ja muut, ACS Cent Sci, 9(5), 915-926, 2023
- [2] Barmak, M. ja muut, J. Chem. Inf. Model., 63(17), 5408-5432, 2023
- [3] Zhi L., ja muut, Chemical Society Reviews, 2022

Proteiinipitoisuuden määrittäminen

Dahir Mohamed
damoha@utu.fi

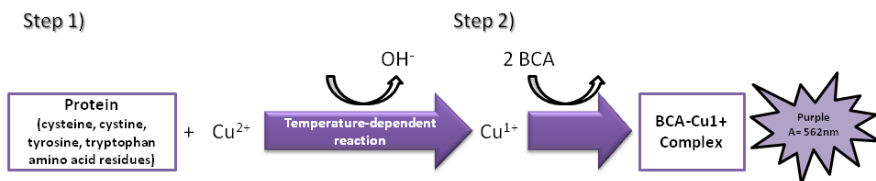
Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



damoha@utu.fi

Proteiinien mittaaminen on keskeistä monilla tieteen ja teknologian aloilla, mukaan lukien lääkekehitys, elintarviketeollisuus ja bioteknologia. Mittausmenetelmiä proteiinipitoisuuden määrittämiseen on useita, kuten historiallisena vertausmenetelmänä toimiva Kjeldahl-menetelmä, sekä absorbanssiin ja luminesenssiin perustuvat uudemmat menetelmät [1].

Kjeldahl-menetelmä on kehitetty jo 150 vuotta sitten ja tarjoaa luotettavan elintarviketeollisuudessa käytetyn tavan määrittää näytteiden typpi/massa suhdetta kolmen kemiallisten reaktion avulla, jossa näyte hajotetaan vahvalla hapolla ja typpi eristetään ammoniakkikaasuna [2]. Menetelmän suorittamiseen tarvitaan kuitenkin erikoistislaitteistoa ja määrittämiseen kuluu aikaa noin 2 h. Absorbanssiin perustuvista menetelmistä, näyte voidaan mitata suoraan (280 nm) tai hyödyntäen proteiinin värjääviä reagensseja mitata värinmuutoksen intensiteetti. Biuretin menetelmässä, jonka pohjalta Lowry ja BCA menetelmät ovat kehitetty, käytetään kuparikationia reaktiossa, jolloin muodostuu sinertävä kompleksi. Lowryn menetelmässä 2.vaiheessa lisätään FCR-reagenssia, kun taas BCA menetelmässä käytetään bikonihappoa (BCA) kuparikationiin lisäksi näytteen värjäämiseen (Kuva 1). Bradford menetelmä perustuu G250-väriaineen reaktioon aminohappojen kanssa muodostaen sinertävän kompleksin. Luminesenssiin perustuva NanoOrange menetelmä edustaa nykyaikaista lähestymistapaa proteiinianalyysiin. Menetelmä perustuu fluorisoivaan väriaineeseen (merosyanidi), joka reagoi spesifisti proteiinien tyrosiini -ja tryptofaani aminohappojen kanssa [4]. Menetelmän herkkyys on hyvä (~10 ng/ml) ja inkubaatioaika noin 30 min. Mittauksia voidaan tehdä rinnakkain mikrotitterilevyllä, jolloin fluoresenssi voidaan mitata samanaikaisesti useista näytteistä.



Kuva 1 Havainnollistava kuva BCA-menetelmästä. Ensimmäisessä vaiheessa proteiini reagoi kuparikationin kanssa, jonka jälkeen lisätään BCA-reagenssi [3].

Viitteet:

[1] Creighton, T. E. "Proteins: Structures and Molecular Properties (2nd ed.)." W. H. Freeman and Company, 1993.

[2] Hsu, C.-L., Chen, H.-Y., Yeh, C.-H. Food, 21(4):472–479, 2013. Journal of Food and Drug Analysis, 21 (4), 472–479.

[3] <https://www.labome.com/method/Protein-Quantitation.html>

[4] Pihlasalo, S ja muut (2011), Quantification of proteins and cells, Univeristy of Turku (s.14-23)

Peptidilääkkeiden aggregaation mittaamenetelmät

Kalle Mäntylä

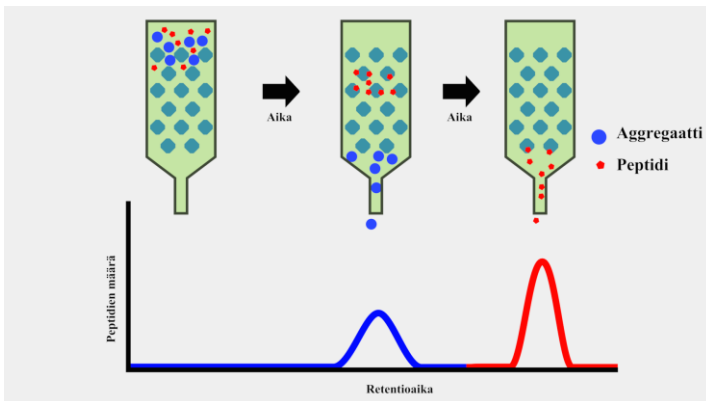
Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



kalle.m.mantyla@utu.fi

Peptidilääkkeiden suosio on kasvanut muutaman viime vuosikymmenen aikana huomattavasti ja se on lupaava tulevaisuuden alue lääkekehityksessä. Peptideillä ja proteiineilla on taipumus aggregoitua, mikä on yhdistetty lukuisiin sairauksiin, ja lisäksi peptidilääkkeiden kohdalla aggregoituminen voi uhata niiden tehoa ja turvallisuutta. Siksi peptidilääkkeiden kohdalla on oleellista ymmärtää niiden aggregoitumistaipumus ja miten siihen voidaan vaikuttaa, sillä nämä ovat olennaisia asioita peptidilääkkeiden kehityksessä.

Vuosien varrella on kehitetty useita menetelmiä, joita voidaan käyttää peptidilääkkeiden aggregaation mittaamiseen. Spektroskooppiset menetelmät, kuten UV-vis- ja fluoresenssispektroskopia, ovat helppoja ja nopeita tapoja tunnistaa aggregaatteja. Kromatografiset menetelmät, kuten epäsymmetrisen virtauskentän virtausfraktiointi ja geelisuodatus (SEC, Kuva 1), mahdollistavat aggregaattien kvantitatiivisen analyysin ja erottelun monimutkaisissa seoksissa. Dynaamisen valon sironta (DLS), kiinteä-tila ydinmagneettinen resonanssi (ssNMR) ja transmissioelektronimikroskopia (TEM) puolestaan voivat tarjota tietoa aggregaatin koosta ja rakenteesta. Kussakin menetelmässä on etuja ja haittoja, ja oikean menetelmän valinta riippuu esimerkiksi näytteiden määrästä ja konsentraatiosta.



Kuva 1. Peptidilääkkeiden aggregaation havaitseminen käyttäen geelisuodatusta eli kokoeksklusiokromatografiaa, missä molekyylien erottelu perustuu niiden kokoon. Suurimmat yhdisteet eluotuvat ensimmäisenä ja pienimmät viimeisenä. Peptidien liikettä hidastaa erottelumatriisin sisältämät huokoiset partikkelit, jotka sallivat suurempien aggregaattien liikkua partikkelien ohi.

IMPDH 1 ja 2 rakenteelliset eroavaisuudet syöpälääkekehityksen näkökulmasta

Ilona Nieminen

Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

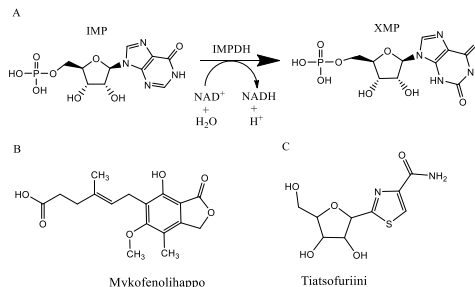


ilanie@utu.fi

Inosiini-5'-monofosfaatti dehydrogenaasi (IMPDH) on välttämätön entsyymi puriinukleotidien biosynteesissä, missä se katalysoi solulle tärkeän energia- ja signaalintimolekyylin guanosiinitrifosfaatin (GTP) muodostumista.¹ Biosynteesin ensimmäisessä vaiheessa inosiinimonofosfaatti (IMP) muuttuu oksidatiivisessa reaktiossa ksantosiinimonofosfaatiksi ja samalla nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi (NAD^+) pelkistyy NADH:ksi (kuva 1A).¹

Ihmisellä IMPDH:sta esiintyy kaksi muotoa, joiden sekvenssien samankaltaisuus on noin 84%. IMPDH 1:ta esiintyy useimmissa soluissa pieniä pitoisuuksia, kun taas IMPDH 2 esiintyy erityisesti nopeasti jakautuvissa soluissa. IMPDH on tetrameerinen proteiini, jonka monomeerit sisältävät katalyyttisen alayksikön ja säätelevän alayksikön. Nukleotidien sitoutuminen säätelevän alayksikön nukleotidien sitoutumiskohtiin aiheuttaa entsyymin multimerisoitumisen ja erityisesti GTP:n sitoutuminen estää nukleotidibiosynteesiä.¹ IMPDH 1 multimerisoituminen johtaa oktameerisen rakenteen pakkautumiseen ja kaartumiseen, josta seuraa täydellinen nukleotidibiosynteesin estyminen. IMPDH 2 pysyy multimerisoituneenakin osittain aktiivisena. Yleisimpiä allosterisia sääteleytekijöitä solussa ovat adenosinitrifosfaatti (ATP), GTP, IMP ja NAD^+ .

Allosteriseen säätelyyn osallistuvat tekijät ja IMPDH:n toimintaa inhihoivat yhdisteet ovat osoittautuneet lupaaviksi lääkekandidaateiksi syövän hoitoon. Ensimmäinen tunnettu IMPDH:n inhibiittori on mykofenolihappo (kuva 1B), joka sitoutuu NAD^+ :n paikalle estäen biosynteesin etenemisen. Myös tiatsofuriini (kuva 1C) vuorovaikuttaa NAD^+ :n sitoutumiskohdan kanssa toimien ei-kilpailevana inhibiittorina NAD^+ :lle. Monet kehitetyistä IMPDH:n inhibiitoreista ovat parhaillaan kliinisissä kokeissa, mutta yhtään hyväksyttyä IMPDH:n inhibiittoria ei ole vielä lääkinnällisessä käytössä syövän hoidossa. IMPDH:n aktiivisuuteen vaikuttavia lääkaineita on kehitetty myös muiden sairauksien hoitoon.



Kuva 1. IMPDH:n katalysoiman reaktion mekanismi puriinibiosynteesissä ja IMPDH:n inhibiittorit. A) Inosiinimonofosfaatti (IMP) muuttuu oksidatiivisessa reaktiossa ksantosiinimonofosfaatiksi ja samalla nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi (NAD^+) pelkistyy NADH:ksi. B) Mykofenolihapon kemiallinen rakenne. C) Tiatsofuriinin kemiallinen rakenne.

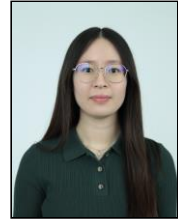
Viitteet

[1] Buey, R. M. ja muut. Nat Commun 6:8923, 2015.

Yhden nukleotidin polymorfismin havainnointimenetelmät

Mei Ling Pham

Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

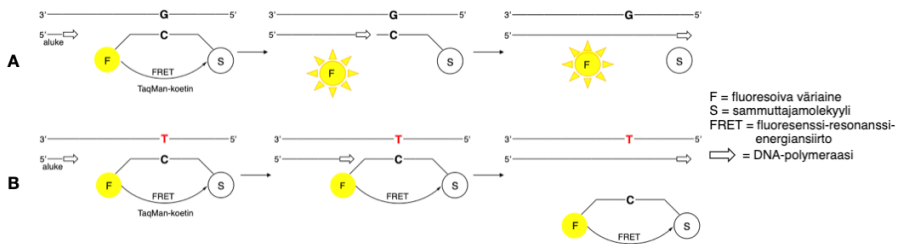


mipham@utu.fi

Yhden nukleotidin polymorfismit (engl. single nucleotide polymorphism, SNP) ovat yhden emäsparin muutoksia DNA-ketjussa. DNA:ssa esiintyvät emäsparin muutokset aiheuttavat suurimman osan ihmisen genomien muunteluista ja periytyessään nämä pistemutaatiot voivat muuttaa ihmisen lääkevastetta tietyille lääkeaineille. Ne voivat myös altistaa tietyille sairauksille, kuten syöville, autoimmuunisairauksille, Parkinsonin taudille ja Alzheimerin taudille. [1]

Yleisimmät käytetyt menetelmät SNP:iden tutkimiseen ovat fluoresenssiin perustuvia. Fluoresenssiin perustuvissa havainnointimenetelmissä käytetyt fluoresenssikoettimet ovat leimattu fluoresoivalla väriaineella ja ne ovat yleensä alleelispesifisiä. Tästä esimerkkinä voidaan käyttää TaqMan-koettimen pohjautuvaa menetelmää, jossa SNP voidaan havaita estyneenä DNA-polymeraasin toimintana epätäydellisen koettimen sitoutumisen vuoksi (Kuva 1). [2]

Muita havainnointimenetelmiä ovat muun muassa microarray ja DNA-sulamislämpötilaan perustuvat menetelmät. Microarrayssä fluoresoivalla väriaineella leimatut nukleotidisekvenssit toimivat koettimina, mihin SNP:tä sisältävä DNA-sekvenssi voi kiinnittyä sen löydettyä komplementaarisen nukleotidisekvenssin. Tuotetun fluoresenssi-signaalin avulla tarkastellaan tukittavaa DNA-sekvenssiä ja yhdellä microarraylla voidaan tutkia tuhansia sekvenssimuutoksia samanaikaisesti. Lämpökäyriin perustuvissa menetelmissä tutkittavaan DNA-näytteeseen lisätään fluoresoiva väriaine, joka sitoutuu kaksijuosteiseen DNA:han. Tämän jälkeen näytettä lämmitetään, kunnes kaksijuosteinen DNA aukeaa erilleen yksijuosteisiksi vapauttaen leiman. Sulamislämpötilassa tapahtuvien muutosten perusteella voidaan havaita muutokset sekvensseissä.



Kuva 1. TaqMan-menetelmän toimintaperiaate. A) Menetelmässä DNA-sekvenssiin spesifisesti sitoutunut TaqMan-koetin korvataan pidentyvällä alukkeella ja DNA-polymeraasin eksonukleasiaktiivisuus pilkkoo koettimen tuottaen korkean fluoresenssi-signaalin. B) DNA-sekvenssissä olevan SNP pysäyttää DNA-polymeraasin ja estää koettimen pilkkoutumisen. Tällöin fluoresenssi-signaali pysyy matalana, koska sammuttajamolekyylin ja fluoresoivan väriaineen etäisyys säilyy lyhyenä ja fluoresenssi-signaali sammuu. [2]

Viitteet

- [1] Y. Sun et al., Biosens Bioelectron. 2015, 74, 705–710
[2] K. Nakatani, Chembiochem. 2004, 5(12) 1623–1633

Eu-peptidikonjugaattiin perustuvan detektiomenetelmän optimointi ja analysointi virtsarakon syövälle

Eemeli Kujala*, Harri Härmä ja Kari Kopra

Detektioteknologian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



emkuja@utu.fi

Abstrakti

Virtsarakon syöpä on edelleen merkittävä haaste onkologiassa, mikä korostaa ei-invasiivisten ja luotettavien diagnostisten menetelmien kriittistä tarvetta. Nykyiset menetelmät ovat erittäin kalliita ja vaativat erityistä lääketieteen tuntemista, tai perustuvat kotikäyttöisiin pikatesteihin. Virtsarakon syövän havaitsemiseen tarkoitettujen kotitestien diagnostinen tarkkuus on osoittautunut riittämättömäksi, mikä heijastaa niiden rajoitettua sensitiivisyyttä ja spesifisyyttä verrattuna kliinisessä ympäristössä suoritettaviin standardoituihin diagnostisiin menetelmiin. Tämä tutkimus esittelee uudenlaisen lähestymistavan, jossa käytetään europium (Eu^{3+})-peptidikonjugaattia spesifisen proteiini biomarkkerin havaitsemiseen virtsanäytteestä. Työn tavoitteena on parantaa virtsarakon syövän varhaista diagnosointia.

Johdanto

Virtsarakon syöpä on yksi yleisimmistä pahanlaatuisista kasvaimista. Vuonna 2020 diagnosoitiin arviolta noin 573 000 uutta tautitapausta sekä noin 213 000 kuolemantapausta maailmanlaajuisesti [1]. Hoitomenetelmien edistymisestä huolimatta virtsarakon syövän ennuste on edelleen huono, erityisesti tapauksissa, jotka diagnosoidaan pitkälle edenneissä vaiheissa. Nykyiset virtsarakon syövän diagnostiset menetelmät perustuvat pääasiassa invasiivisiin menetelmiin, kuten kystoskopiaan ja biopsiaan. Ne ovat potilaille epämukavia ja voivat aiheuttaa komplikaatioita sekä ovat terveydenhuollolle suuri kuluera [2]. Tästä syystä tarve ei-invasiiviselle ja luotettavalle menetelmälle virtsarakon syövän varhaiseen havaitsemiseen ja seurantaan on suuri.

Viime vuosina virtsanäytteissä olevat molekyylibiomarkkerit ovat tulleet lupaaviksi ehdokkaiksi ei-invasiiviseen virtsarakon syövän havaitsemiseen [3]. Biomarkkereilla, kuten proteiineilla, nukleiinihapoilla ja eksosomeilla, on havaittu olevan yhteys virtsarakon syövän kehittymiseen ja etenemiseen [4].

Europium (Eu^{3+})-peptidikonjugaatit edustavat uutta lähestymistapaa molekyyli diagnostiikassa, ja ne tarjoavat korkean herkkyuden sekä spesifisyyden kohdeproteiinin havaitsemiseen. Aikaisemmissa tutkimuksissa on havaittu, että Eu-peptidikonjugaatit kykenevät tunnistamaan spesifisiä proteiini biomarkkereita, jotka ovat yhteydessä virtsarakon syövän kehittymiseen ja etenemiseen. Tämä viittaa siihen, että Eu-peptidikonjugaatit voivat toimia lupaavana diagnostisena työkaluna virtsarakon syövän varhaiseen havaitsemiseen. [5]

Tässä tutkimuksessa tutkittiin Eu-peptidikonjugaatti pohjaisen menetelmän käyttökelpoisuutta virtsarakon syöpään liittyvien proteiini merkkiaineiden havaitsemiseen virtsanäytteissä. Analysoimalla virtsanäytteitä virtsarakon syöpää sairastavilta potilailta ja terveiltä kontrollihenkilöiltä tutkimus pyrkii arvioimaan Eu-peptidikonjugaattien diagnostista suorituskykyä erottamaan pahanlaatuiset ja hyvänlaatuiset urologiset tilat toisistaan. Lisäksi tavoitteena on löytää kohdeproteiini, johon Eu-peptidikonjugaatti sitoutuu sairaassa näytteessä.

Materiaalit ja menetelmä

Proteiinikoetin mittaukset suoritettiin proteiinikoetin menetelmällä, jossa detektioliuos sisälsi 1 nM Eu^{3+} -kelaattiin (QRET Technologies, Turku, Suomi) konjugoituneena peptidisekvenssi N-terminaaliseen päähän, sammuttajana toimivaa MT1 molekyyliä 3 μM , 0,001 % Tritonia sekä sitraatti-fosfaatti-puskuriliuosta (10 %, pH 5). Validointitutkimuksissa 5 μl 1:10 veteen laimennettu virtsanäyte lisättiin 20 μl :aan detektioliuosta 384-kuoppaisella PCR mikrotiitterilevyllä (4titide, Wotton, UK). Tämän jälkeen levy kuumennettiin PCR laitteella +80°C 3 minuuttia, jonka jälkeen lämpötila stabiloitiin +25°C ennen mittausta Tecan Spark -levylukijalla, jossa virtsasaallonpituus oli 340 nm ja emissioaallonpituus 620 nm. Viiveenä käytettiin 800 μs ja integraatioaika vastaavasti 400 μs .

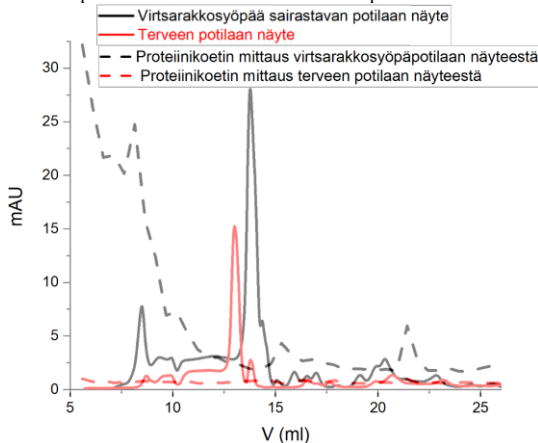
Kohdeproteiinin identifiointia tehtiin fraktioimalla virtsaa SEC kolonnin (Superdex S200 increase) avulla. Näytteet puhdistettiin ennen SEC fraktiointia sentrifuugifilterillä (100 kDa ja 50 kDa). Tämän jälkeen näytteet

ajettiin SEC-kolonnin läpi, jossa liikkuvana faasina oli vesi. Kokooerotteisen kromatografian jälkeen kiinnostaville fraktioille tehtiin proteiiniprofilointi.

Tulokset ja johtopäätökset

Tällä hetkellä Eu-peptidikonjugaatti pohjaisella menetelmällä pystytään todentamaan noin 70 % virtsarakon syöpä tapauksista. Vääriä positiivisia tuloksia on saatu vähennettyä erotusmenetelmällä käyttäen 100 kDa sentrifuugifiltteriä, jolloin prosenttiosuutta on saatu nostettu noin 76 %:iin. Tulokset indikoivat, että väävät positiiviset tulokset ovat peräisin suurista proteiineista tai aggregaateista, mutta tauti tapauksissa havaitseminen tapahtuu 50 kDa – 100 kDa olevan proteiinin kautta.

Erilaiset proteiiniprofiilit sairaan ja terveen potilaan näytteiden välillä nähdään myös SEC kromatogrammissa (kuva 1). Kuvassa 1 on kuvattu SEC puhdistuksen kromatogrammit yhtenäisellä viivalla. Katkoviivalla on kuvattuna SEC fraktioita vastaavat proteiinkoetin mittaukset. Virtsarakkosityöpää sairastavan potilaan fraktioista löytyi neljä fraktiota, joissa havaittiin proteiinkoetin mittaussissa TRL-signaalin nousu. Terveen potilaan näytteissä ei havaittu TRL-signaalin nousua. Tämä indikoi, että sairaan potilaan näytteessä on virtsarakkosityöväälle spesifinen proteiini biomarkeri, johon Eu-peptidikonjugaatti sitoutuu. Mikäli signaalin nousua olisi havaittu myös terveen potilaan näytteessä, olisi kyse ollut todennäköisesti terveen potilaan virtsasta löytyvästä tekijästä, joka vaimentaa proteiinkoettimen TRL-signaalia. SEC puhdistuksesta huolimatta näytteet sisältävät edelleen hyvin paljon erilaisia proteiineja, joten tässä vaiheessa on vielä vaikeaa arvioida mihin spesifiseen proteiini biomarkeriin Eu-peptidikonjugaatti sitoutuu virtsarakkosityövän omaavan potilaan näytteessä. Tämän vuoksi SEC puhdistuksia tullaan tekemään lisää proteiini biomarkerin löytämiseksi.



Kuva 1. SEC puhdistuksen kromatogrammi verrattuna fraktioista saatuihin proteiinkoetin mittausten tuloksiin. Osissa virtsarakkosityöpää sairastavan potilaan SEC puhdistuksesta saaduissa näytteissä havaitaan proteiinkoetin mittaussessa signaalin nousu. Tämä indikoi, että näissä fraktioissa on proteiini biomarkeri johon Eu-peptidikonjugaatti sitoutuu. Terveen potilaan näytteessä ei havaittu signaalin nousua.

Viitteet

- [1] Y. Zhang, H. Rungay, M. Li, H. Yu, H. Pan, ja J. Ni, "The global landscape of bladder cancer incidence and mortality in 2020 and projections to 2040", *J Glob Health*, vsk. 13, s. 4109, 2023, doi: 10.7189/JOGH.13.04109.
- [2] M. Babjuk *ym.*, "European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and Carcinoma In Situ) - 2019 Update", *Eur Urol*, vsk. 76, nro 5, ss. 639–657, marras 2019, doi: 10.1016/J.EURURO.2019.08.016.
- [3] S. Goodison, C. J. Rosser, ja V. Urquidí, "Bladder Cancer Detection and Monitoring: Assessment of Urine- and Blood-Based Marker Tests", *Mol Diagn Ther*, vsk. 17, nro 2, s. 71, huhti 2013, doi: 10.1007/S40291-013-0023-X.
- [4] A. Mbeutcha, I. Lucca, R. Mathieu, Y. Lotan, ja S. F. Shariat, "Current Status of Urinary Biomarkers for Detection and Surveillance of Bladder Cancer", *Urologic Clinics of North America*, vsk. 43, nro 1, ss. 47–62, helmi 2016, doi: 10.1016/J.UCL.2015.08.005.
- [5] T. H. Ecke *ym.*, "Luminophore Chemistry for Detection of Urinary Bladder Cancer - Comparison to Cytology and Urinary Rapid Tests (BTA stat®, NMP22® BladderChek® and UBC® Rapid Test)", *Anticancer Res*, vsk. 42, nro 11, ss. 5249–5256, marras 2022, doi: 10.21873/ANTICANRES.16031.

EXTERNAL DYE METHOD FOR DNA DETECTION – SEQUENCE-INDEPENDENT APPROACH

Riia Vihavainen^{1*}, Harri Härmä¹, Kari Kopra¹

¹Detection Technology Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



Abstract

Accurate detection and quantification of oligonucleotides is a fundamental procedure in molecular biology, medicine, and diagnostics. There is a need for a highly sensitive, quick, and straightforward method that can detect short oligonucleotide sequences without labeling. The work aimed to devise a technique suitable for oligonucleotide quantification and nuclease activity determination. We successfully developed a functional method for detecting oligonucleotides and nuclease activity at low nanomolar concentrations.

Introduction

Oligonucleotides are short (5-60 nt) fragments of DNA or RNA made up of nucleotide units. Their detection is essential for diagnostics, medicine, and environmental analysis. However, traditional methods for oligonucleotide detection, such as gel electrophoresis, fluorescent labeling, and the use of intercalating dyes (e.g. PicoGreen) face challenges. These methods can be time-consuming, lack the desired sensitivity, and often require the complex and costly process of labeling the oligonucleotides before analysis. They also might have special requirements for oligonucleotide length.

Nucleases are a group of enzymes that cleave nucleic acids by hydrolyzing the phosphodiester bonds between the nucleotides. Because of their essential nature in living organisms, nucleases are interesting drug targets, promising biomarkers for cancer and bacterial infections, and often used in biotechnology applications [1].

I was able to develop a method suitable for detecting oligonucleotides over 12 nt in length without sequences preferences, and accurately determining nuclease activity. The detection relied on the interaction between the Eu^{3+} -labeled peptide and a Cy5-labeled peptide molecule (P14). The developed method was based on the long-lived emission of lanthanide chelate, enabling the measurement of time-resolved luminescence [2].

Materials and methods

Different single- or double-stranded oligonucleotides (12-60 nt, 0-500 nM) were used as targets in oligonucleotide detection. Two different model nucleases were used to study the nuclease activity: one endonuclease (DNase I, 0-100 mU) and one exonuclease (Exonuclease III, 0.01 U). The detection was carried out in a high-throughput 384-well format, and the Eu-signal was monitored (excitation 340 nm and emission 612 nm) using a Tecan Spark 20M. Both oligonucleotide detection and nuclease activity assays used the same detection solution (10 nM P14 and 1 nM Eu^{3+} -probe) and buffer (10 mM HEPES pH 7.5, 1 mM MgCl_2 , 1mM CaCl_2 , 0.01% Triton X-100). The kinetic measurements were performed using 1 min measurement interval. All assays were performed in a 20 μl total volume.

Results and conclusions

The method was first developed for the oligonucleotide detection. The detection was based on the interaction between negatively charged Eu^{3+} -peptide and positively charged P14. When introduced

to the solution, negatively charged DNA electrostatically interacts with P14, separating it from the Eu³⁺-peptide, which leads to an increased Eu-signal (Fig. 1A.). The Eu-signal increases when the concentrations of the oligonucleotides increase. We could efficiently monitor oligonucleotides at low nanomolar level in a length-dependent manner with lengths over 12 nt (Fig. 1B.). The sequence of oligonucleotides did not affect this detection process.

To prove the functionality of the method for monitoring DNA processing, we studied its use in detecting nuclease activity. With oligonucleotides present, there is a separation between Eu³⁺-peptide and P14, resulting in a high Eu-signal. The introduction of nucleases causes the Eu-signal to decrease due to the cleavage of the oligonucleotides (Fig. 2A.). Shorter sequences are cleaved quicker than longer ones, leading to a faster signal decrease (Fig. 2B.). The method worked for both DNase I and Exonuclease III.

The developed method effectively quantifies oligonucleotides of different lengths and concentrations while also determining nuclease activity for both endo- and exonucleases. It operates efficiently at nanomolar concentrations and with short sequences, without the need for DNA labelling or separation steps.

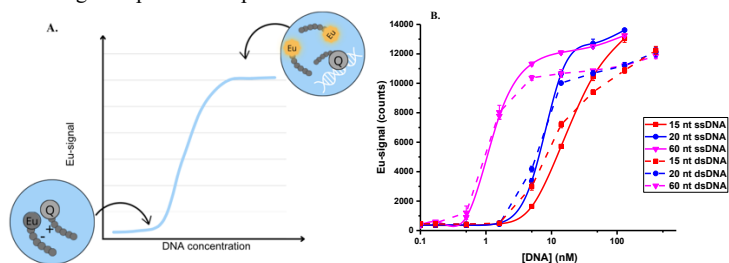


Figure 1. Principle of the developed method for oligonucleotide quantification. **A.** The Eu-signal is low until the introduction of oligonucleotides. **B.** Oligonucleotide detection assay with single- and double-stranded oligonucleotides of different lengths and concentrations. ssDNA with a solid line and dsDNA with a dashed line.

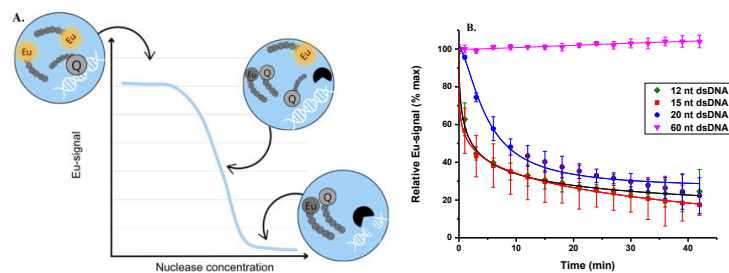


Figure 2. Principle of the developed method for nuclease activity determination. **A.** The increase in nuclease concentration causes efficient oligonucleotide cleavage detected from decrease in Eu-signal. **B.** Kinetic nuclease activity assay with Exonuclease III (0.01U) and oligonucleotides (20 nM) of different lengths.

References

1. Yang, W. *Q. Rev. Biophys.* **2011**, *44*, 1–93.
2. Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3. ed., Springer, New York, 2006, p. 14–15.

Analytical method development for protein concentration and aggregation: Release study from a silica-based drug carrier

Jenni Vuorio^{1*}, Harri Härmä¹ and Jari Mikkola²

¹ Detection Technology Group, Department of Chemistry, University of Turku

² DelSiTech Ltd., PharmaCity, Itäinen Pitkätie 4 B, 20520 Turku, Finland



jvuorio@utu.fi

Abstract

Many potential medical substances are chemically unstable. Because of the drug instability, oral administration is not feasible. However, non-orally administering techniques are developed and as an example, mesoporous silica microparticles are used for controlled in-body drug release. [1]

The main aim of this research is to develop a rapid and accurate method for determining the protein concentration and aggregation rate from dissolution solution samples. Assays utilize lanthanide chemistry, time-resolved luminescence (TRL) and Förster resonance energy transfer (FRET) detection.

Introduction

Proteins are increasingly used as medicinal substances. Protein size and chemical nature may, cause problems in dosing and transport to the correct destination in the body. Proteins are susceptible to denaturation which can occur during storage, handling or administration. Maintaining the stability of protein drugs is critical for ensuring efficiency and safety. [2]

Accurate drug administration is important for effective treatment, patient safety and cost-efficient healthcare to ensure reaching the biological target at proper doses, maximizing medical benefits while minimizing risks of adverse effects. Right dosing prevents complications and drug resistance.

Silica is a naturally biologically compatible compound, as its dissolution in the body does not cause chemical changes in the surrounding tissues e.g. pH changes. Due to this, the risk of inflammation is very low and therefore silica is the optimal material as a drug delivery component. [3]

The release of the drugs such as proteins from drug carriers can be studied from dissolution solutions. The dissolution solutions contain a known amount of carrier e.g. silica microparticles and released drug protein.

The concentration of the released protein has been traditionally determined from the samples e.g. using high-performance liquid chromatography (HPLC). [4] HPLC is a relatively slow and inaccurate method compared to TRL methods.

Materials and methods

Total protein concentration was determined using a competitive binding assay. (Figure 1.) Fluoro-Max -particles (ThermoScientific, USA) and Alexa Fluor 680 (ThermoScientific, USA) -labeled gammaglobulin as a competitor was used in the measurement. Fluoro-Max -particles are carboxylate-modified polystyrene particles (\varnothing 0.1 μ) that contain chelated europium (Eu^{3+}). Alexa Fluor -labels can be excited with the Eu^{3+} chelate emission wavelength to obtain Förster resonance energy transfer (FRET) signal at the Fluor -label emission wavelength. The protein concentration assay is performed in 5 mM glycine buffer (pH 3) and using black 384 microtiter plates. Time-

resolved signal is measured with the Spark -microplate reader (TECAN, USA). Signals were compared to the standard curve made with known concentrations.

The aggregation state of released proteins was determined using the Protein-Probe -method.

Results and discussion

The determination of the protein concentration was first studied without the presence of dissolution matrices to optimize the concentration of FluoroMax -particles and Alexa Fluor 680 -labeled gammaglobulin. In the studies so far, the sensitivity has been $< 1\text{ nM}$ without dissolution matrices. This sensitivity is relatively good if considering that the minimum goal was to reach a $< 1\ \mu\text{M}$ level. Studies continue regarding concentration measurements in the presence of dissolution matrices.

In addition, aggregation studies will be started after that. It will be interesting to see if the aggregation measurements can be performed with the same method maybe with a little variation or do we need to develop own method for that.

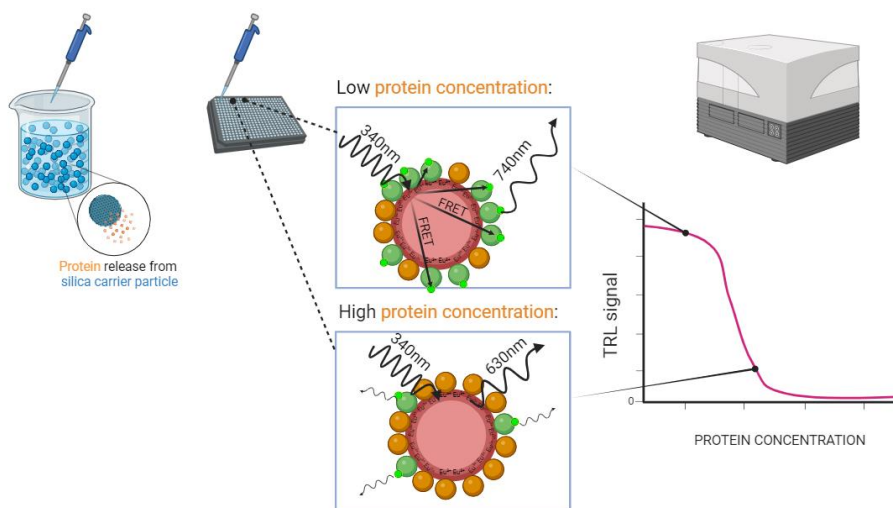


Figure 1. Description of the protein concentration determination. Silica-based carriers release protein to the dissolution solution. The protein sample is collected from the dissolution solution over a certain time. Then the concentration of protein is determined using a competitive binding assay and TRL is measured.

References

- [1] V. Mamaeva *et al.*, “Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Systems for Targeted Inhibition of Notch Signaling in Cancer,” *Mol. Ther.*, vol. 19, 2011
- [2] W. Wang and C. J. Roberts, *Aggregation of therapeutic proteins*. Hoboken, NJ: Wiley, 2010
- [3] R. Ciriminna, A. Fidalgo, V. Pandarus, F. Béland, L. M. Ilharco, and M. Pagliaro, “The Sol-Gel Route to Advanced Silica-Based Materials and Recent Applications,” *Chem. Rev.*, 2013
- [4] A.-P. Forsback *et al.*, “Sustained in-vivo release of triptorelin acetate from a biodegradable silica depot: Comparison to pamorelin® la,” *Nanomater. (Basel, Switzerland)*, 2009

Analytical and functional tools for monitoring oligonucleotides (DNA/RNA) and their processing

Negin Gooran

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



negin.gooran@utu.fi

Research Director: Dr. Harri Härmä

Supervisor(s): Dr. Kari Kopra

Funding: Academy of Finland

Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

In my PhD project, I will develop assays needed for oligonucleotide related research. The main focus of this project is on nucleotide-related enzymes and their activity monitoring. The project can be divided in three parts; 1. monitoring of oligonucleotide processing enzymes and their use as a diagnostic and drug targets, 2. DNA-aptamers for protein detection, and 3. techniques for mRNA extraction and quantification. The main focus will be on the part 1, in which I am focusing especially on nucleases, a group of phosphodiester bond cleaving enzymes. Nucleases has a potential as a specific drug target, but also their activity can be utilized for drug release. In addition, their presence can be detected as a diagnostic marker for example in case of bacterial infection. My aim is to study these reactions by using the Protein-Probe technique and its variants, which has been this far used only for protein related studies.

Main results so far

My Ph.D. project started in June 2023 and some fundamental data has been already created related to the first part of the project which also leads the second part. The Protein-Probe was originally developed for protein detection and it is based on Eu-probe and a soluble quencher used in a low pH modulation solution. The principle as such doesn't allow DNA detection, and thus, the principle of the method must be changed to enable oligonucleotide analysis (Figure 1A). To this end, a variant of the method has been set up, by introducing a positive modulator for the system, enabling DNA detection. With this system, we were able to prove oligonucleotides in a sequence length-dependent manner has been proven (Figure 1B). We have proved the correct functionality of the assay by e.g. using micrococcal nuclease (MNase) (Figure 1C). MNase is dependent on ions such as Mg^{2+} and Ca^{2+} for activity. In the presence of the ions, MNase is active and when the ions are not present or blocked by EDTA, the activity of MNase is highly reduced, or it is not active at all, respectively. In the second article, another label-free method, peptide-probe, will be used. In this assay includes a quencher with high affinity with Eu-probe, synthesized by our group, which highly quenches the TRL-signal. This assay can be performed at neutral pH which is a great advantage over other methods and makes the assay highly promising.

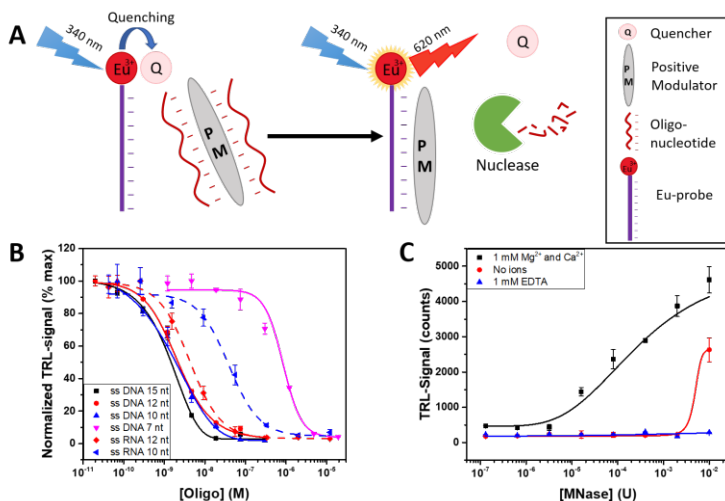


Figure 1. DNA and nuclease activity detection using the Protein-Probe. (A) Protein-Probe detects oligonucleotides as both Eu-probe and oligonucleotide have negative charge and can interact with the positive modulator. In the presence of DNA, Eu-probe signal is quenched as no interaction between the probe and PM occurs, as upon DNA cleavage high signal is monitored due to the protective effect of PM from the quenching (B) Different concentrations of DNA and RNA with different lengths were tested with the Protein-Probe method shows that ssDNA length over 10 nt and ssRNA over 12 nt can give the maximal low nanomolar detection sensitivity. (C) MNase activity is determined by Protein-Probe in the presence of ions, no ions, and EDTA. MNase activity is ion dependent and thus significantly reduced activity is monitored in the presence of no additional ion as no activity is monitored in the presence of EDTA.

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

This project consists of at least four scientific articles, answering the unmet needs, mainly to study oligonucleotide interactions, concentration, and enzymatic processing. The findings of this project will provide extensive knowledge and tools for DNA/RNA related research, quality control, and processing. For example, at the moment, there are no simple method available for both endo- and exonuclease activity monitoring. Our group has been developing assays to detect proteins or protein containing elements as viruses and this project will optimize the assays to widen the range of their application. Moreover, we have built a collaborative network to support the method development and will bring the developed methods for use in both basic research and drug discovery. This project will further widen the scope of our research efforts in new areas of oligonucleotide research and also position us more towards diagnostics

Papers to be included in the PhD thesis

1. Gooran, N., Härmä, H., Hernandez, F., Kopra, K. Universal label-free technique for nuclease activity monitoring. Manuscript under preparation
2. Gooran, N., Vihavainen, R., Härmä, H., Kopra, K. Label-free real-time detection of DNA processing enzymes. Manuscript under preparation

RADIOFARMASEUTTISEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ



Turku PET
Centre

RADIOFARMASEUTTINEN KEMIA: PET RADIOLÄÄKKEIDEN TUTKIMUS JA KEHITYS

Prof. Anu Airaksinen, Apulaisprof. Xiang-Guo Li ja Prof. emer. Olof Solin

Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Lääkekehityksen kemia, Kemian laitos,

Valtakunnallinen PET-keskus, 20014 Turun yliopisto

s-posti: anu.airaksinen@utu.fi, xiali@utu.fi ja olof.solin@utu.fi

Kotisivut: <https://turkupetcentre.fi/research-strategy/pet-radiochemistry-research/>

Positroniemissiotomografia (PET) on tärkeä diagnostinen kuvantamismenetelmä, jota hyödynnetään paljon myös lääketutkimuksessa ja -kehityksessä. PET kuvantaminen perustuu potilaalle annostellun kohteeseensa kertyvän radiolääkkeen havaitsemiseen kehon ulkopuolelta PET kameralla. PET kuvauksessa käytettävät radiolääkkeet on leimattu radionuklidilla, joka hajotessaan emittoi positronin. Kun positroni kohtaa kehossa elektronin, tapahtuu annihilaatio. Tällöin syntyy kaksi saman energistä ja vastakkaisiin suuntiin kulkevaa gammakvanttia, jotka voidaan rekisteröidä potilaan ympäröivällä PET kameralla. PET kuvauksen käyttötarkoituksen määrää annosteltava radiolääkemolekyylit; sen jakauma ja sitoutuminen kohdeproteiiniinsa. Tämän vuoksi menetelmää kutsutaan myös molekyylikuvantamiseksi. Radiolääkeainemolekyylin radiokemialliset ominaisuudet, sitoutumisen spesifisyys ja muut farmakokineettiset ominaisuudet puolestaan vaikuttavat merkittävästi siihen, mikä PET kameralla rekisteröidyn kuvan diagnostinen arvo on. Radiofarmaseuttisella kemialla on siten hyvin keskeinen rooli PET kuvantamisessa.



Kuva 1: Radiolääkkeen valmistus potilaan kuvausta varten

Radiofarmaseuttisen kemian tehtävät ja tavoitteet Turun yliopistossa:

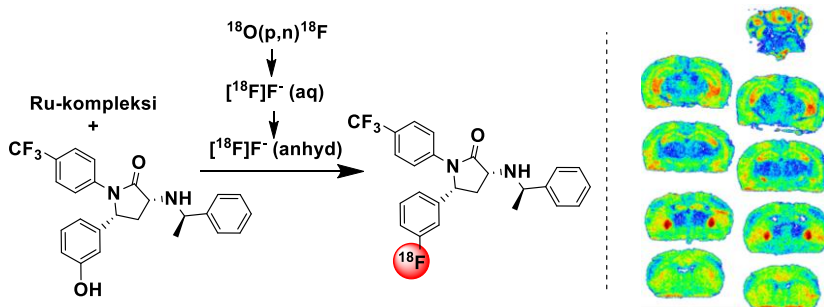
- tehdä korkeatasoista PET radiolääkkeiden ja uusien radiolääkekandidaattien tutkimus- ja kehitystyötä
- kehittää uusia radiosynteesi- ja analyysimenetelmiä käyttäen lyhytikäisiä positronisäteileviä radionuklideja
- kehittää uusia ja tehokkaampia PET radiolääkkeiden tuotantomenetelmiä
- tuottaa hyvien valmistustapojen mukaisesti PET radiolääkkeitä kliiniseen ja tutkimuskäyttöön
- antaa radiokemian ja radiofarmaseuttisen kemian opetusta sekä perus- että jatkotutkintotasolla
- toimia yhteistyössä elinkeinoelämän kanssa ja edistää PET-menetelmän käyttöä lääkekehityksessä ja –tutkimuksessa

PET kuvantamisessa käytettävät radionuklidit ovat lyhytikäisiä ja niistä useimmat tuotetaan hiukkaskiihdyttimellä eli syklotronilla lähellä radiosynteesilaboratoriota. Yleisimmin käytettyjä radionuklideja ovat: ^{15}O ($T_{1/2} = 2.0$ min), ^{13}N ($T_{1/2} = 10.0$ min), ^{11}C ($T_{1/2} = 20.4$ min), ^{68}Ga ($T_{1/2} = 67.7$ min).

min) ja ^{18}F ($T_{1/2} = 109.8$ min). Radiolääkkeiden kliinisessä tuotannossa syklotronilla tuotettu radionuklidi kuljetetaan automatisoidusti puhdistilassa sijaitsevaan lyijykaappiin, jossa radiolääkeaineen synteesi, puhdistus ja radiolääkkeen formulointi tapahtuvat automatisoidusti hyvien valmistustapojen (Good Manufacturing Practices, GMP) mukaisesti. Lopputuotteesta otetaan näyte, josta tehdään laadunvarmistus ennalta määrättyjen kriteerien mukaisesti. Jos laatuvaatimukset täyttyvät, radiolääke vapautetaan käyttöön ja se voidaan annostella potilaalle (Kuva 1). PET keskuksen radiolääkkeiden kliinisestä tuotannosta vastaavat dosentit Sarita Forsback ja Anna Kirjavainen.

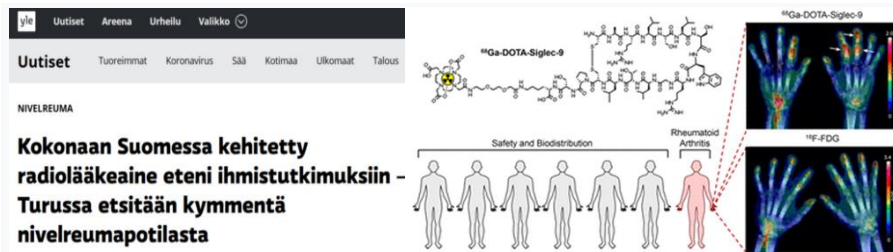
PET kuvantaminen perustuu potilaalle annostellun kohteeseensa kertyvän radiolääkkeen havaitsemiseen, ja PET kuvan diagnostinen hyöty riippuu radiolääkemolekyylin radiokemiallisista ja farmakologisista ominaisuuksista. Radiolääkeainemolekyylin rakenteen tai synteesisen menetelmän optimoinnilla voidaan PET kuvan laatua parantaa. Radiolääkeaineiden rakenteen ja synteesisen menetelmien optimointi ovatkin merkittäviä tutkimuskohteitamme. Tutkimusryhmässämme radiolääkekandidaatteja kehitetään myös uusiin sitoutumiskohteisiin mahdollistaen täysin uusien diagnostisten PET menetelmien kehitystyön.

Erinomainen esimerkki uusien merkkiaineiden kehitystyöstä on kannabinoidei-1 (CB1) reseptoriin sitoutuva ^{18}F FPATPP. ^{18}F FPATPP merkkiaineen synteessissä elektronirikkaan aromaattisen aseman leimaus saatiin toteutettua nukleofiilisellä ^{18}F -fluoridilla rutenium-välitteisesti. Merkkiaineella voidaan kuvantaa CB1-reseptorien jakaumaa elimistössä. Kyseinen merkkiaine on kehitetty ryhmässämme (PI Kirjavainen) ja olemme tutkineet sen sitoutumista ja jakautumista prekliinisesti (Kuva 2).



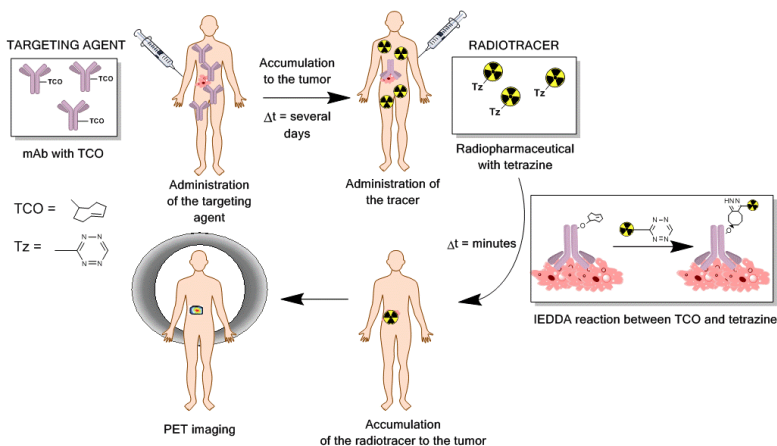
Kuva 2. Vasemmallalla kuvassa ^{18}F FPATPP merkkiaineen synteesi rutenium-välitteisesti. Oikealla merkkiaineen jakautuminen terveen hiiren aivoleikkeissä. Lahdenpohja et al. ACS Chem Neurosci (2020) 11, 2009.

^{68}Ga [Ga-DOTA-Siglec-9 on PET radiolääke, joka on kokonaan kehitetty Suomessa ja jonka kehitystyössä ryhmämme osaamisella on myös ollut merkittävä rooli (PI Li) (Kuva 3). Olemme kehittäneet merkkiaineen ^{68}Ga -leimausmenetelmän sekä GMP-tuotantomenetelmän radiolääkkeen prekliinisiä ja kliinisiä tutkimuksia varten. Radiokemistimme ovat siten osallistuneet jokaiseen vaiheeseen tämän radiolääkkeen kehitysprosessissa ^{68}Ga [Ga-DOTA-Siglec-9:n kohde on verisuonen adheesioproteiini 1 (VAP-1), joka on inflammaation indusoima tartuntamolekyyli. Koska inflammaatiota esiintyy monissa taudeissa, ^{68}Ga [Ga-DOTA-Siglec-9:lla on laajaa potentiaalista käyttöä kliinisessä PET diagnostiikassa. Merkkiaineen kehitystyö on tehty osana InFLAMES lippulaivan tutkimusohjelmaa (<https://inflammes.utu.fi/fi/>).



Kuva 3. Radiolääke $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-Siglec-9}$ kehitetty Turun PET-keskuksessa. Käckelä et al., ACS Adv. (2018), 8, 8051; Viitanen et al., J. Nucl. Med. (2021), 62, 577.

PET kuvantamisessa käytettävät radionuklidit ovat tyypillisesti hyvin lyhytikäisiä. 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 molekyyllille koko sen jakautumisen ajan. Ryhmässämme kehitetäänkin menetelmiä, joiden avulla hitaasti kohdentuva molekyyli voidaan leimata lyhytikäistä positronisäteilevää radionuklidia kantavalla pienmolekyyllillä kehon sisällä vasta sen jälkeen, kun jakautuminen ja kohdentuminen ovat jo tapahtuneet (PI Airaksinen). Tämä on mahdollista hyödyntämällä nopeita bio-ortogonaalisia reaktioita, kuten käänteisesti elektronivajaata Diels-Alder reaktiota (IEDDA). Tällaista kaksivaiheista kuvantamista kutsutaan esikohdennetuksi PET-kuvantamiseksi (Kuva 4).

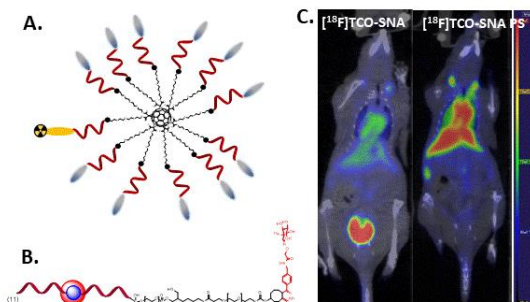


Kuva 4. Esikohdennetun PET kuvantamisen periaate. Kohteeseensa kertynyt vasta-aine leimataan kehon sisällä hyödyntäen bio-ortogonaalista click-kemialla. Tämä mahdollistaa lyhytikäisten positronisäteilijöiden käytön hitaasti kohteeseen kertyvien makromolekyylien, kuten vasta-aineiden ja nanomateriaalien PET kuvantamisessa.

Bio-ortogonaalisia reaktioita voidaan hyödyntää myös erityisen herkkien rakenteiden radioleimauksessa. IEDDA-reaktio tetraziiniin ja *trans*-syklo-okteenin välillä etenee nopeasti vesiliuoksessa, fysiologisessa pH:ssa ja hyvin alhaisissa konsentraatioissa. Yhteistyössä Prof. Pasi Virran kanssa olemme bio-ortogonaalisen radiokemian menetelmin tutkineet, kuinka pallomaisten oligonukleotidien rakenteelliset muutokset vaikuttavat oligonukleotidirakenteiden käyttäytymiseen ja jakautumiseen elimistössä (PI Airaksinen, Kuva 5).

Uusien radiosynteesimenetelmien kehityksessä olemme jo vuosien ajan tutkineet elektrofiilistä radiofluorausta. Radiofarmaseuttisessa kemiassa nukleofiilinen ^{18}F -radiofluorauksen yleisesti vallitseva menetelmä johtuen radionuklidituotannon tehokkuudesta, nukleofiilisten radiofluorauksen menetelmien hyvästä regioselektiivisyydestä sekä lopputuotteiden korkeammasta molaarisesta radioaktiivisuudesta (A_m). Lääkeainesyntetiikassa elektrofiilinen fluorikemia on sen sijaan ylivoimaisesti yleisempää ja elektrofiilisiä fluorauksia reagenssejä onkin kaupallisesti erinomaisesti saatavilla. Tästä johtuen fluoratuissa lääkekandidaateissa fluori on usein liitetty juuri molekyylin elektronirikkaaseen asemaan. Olemme yhteistyössä Oxfordin yliopiston kemian laitoksen kanssa kehittäneet ^{18}F -leimatun Selectfluor-reagenssin, jonka radiokemialliset ominaisuudet elektrofiilisessä fluorauksessa ovat erinomaiset. Käyttäen ^{18}F -Selectfluor-reagenssia olemme onnistuneet leimaamaan mm. di- ja trifluoriareeneja, mikä on hankalaa muilla leimausmenetelmillä (PI Solin).

Radiofarmaseuttinen kemia on tutkimusala, jossa hyödynnetään monipuoleisesti kemian eri osaluokkia, kuten radiokemiallisen, orgaanista synteetikemiallisen sekä analyttistä kemiallisen. Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusta tehdään monitieteellisessä ympäristössä yhdessä lääkärien, biotieteilijöiden ja fyysikkojen kanssa. Tutkimustulosten sovellukset ovat hyvin lähellä tutkijaa ja tutkimuksen merkitys sairauksien diagnosoinnissa näkyvää, joka tekee tutkimustyöstämme poikkeuksellisen palkitsevaa.



Kuva 5. Pallomaisten oligonukleotidien bio-ortogonaalinen radioleimaus biologista evaluaatiota varten. **A)** Paikkaselektiivinen bio-ortogonaalinen radioleimaus **B)** Radioleimaus ^{18}F -FDG-tetraziinillä **C)** PET kuvauksella voidaan tutkia kuinka eri rakenteelliset muutokset vaikuttavat pallomaisten oligonukleotidien jakautumismomaisuuksiin elimistössä. Äärelä et al. *Molecular Pharmaceutics* (2023). Auchynnikava et al. *ACS Omega* (2023)

Karbonylaatioreaktiot ¹¹C-radiokemiassa

Matti Kortelainen^{1,*}, Edla Kerminen^{1,2}, Thomas Keller^{1,2} ja Anna K. Kirjavainen^{1,2}



mjkor@utu.fi

¹Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

²Valtakunnallinen PET-keskus

Abstrakti

Hiili-11 karbonylaatiot ovat hyödyllisiä reaktioita biologisesti aktiivisten yhdisteiden leimaamisessa. Yleisesti ¹¹C-karbonylaatioreaktioissa käytettyjä leimauslähtöaineita, kuten [¹¹C]CO₂:n, [¹¹C]CO:n ja [¹¹C]COCl₂:n on tutkittu laajasti, mutta niiden käytössä on haasteita, minkä vuoksi uusia leimauslähtöaineita kehitetään jatkuvasti. Tutkimusryhmässämme on valmistettu [¹¹C]COCl₂:ia onnistuneesti aiemmin. [¹¹C]COF₂ on suhteellisen uusi ja vähän tutkittu leimauslähtöaine. Tutkimuksen tarkoituksena on valmistaa [¹¹C]COF₂:ia ja tutkia sen sopivuutta hiili-11 karbonylaatioreaktioihin.

Johdanto

Hiili-11 on yksi PET-kuvantamisessa käytetyistä radionuklideista. Koska kyseessä on hiilen radioaktiivinen isotooppi voi sillä leimata orgaanisia molekyylejä muuttamatta niiden kemiallisia tai biologisia ominaisuuksia. Radionuklidien lyhyiden puoliintumisaikojen vuoksi tulee leimausreaktioiden olla suhteellisen nopeita. Tämä painottuu erityisesti hiili-11:ta kohdalla, sillä sen puoliintumisaika on vain 20,4 minuuttia.[1]

Yleisimpiä ¹¹C-leimausreaktioita ovat ¹¹C-metylaatiot, jossa molekyyliin liitetään [¹¹C]metyyliiryhmä, esimerkiksi [¹¹C]CH₃:n avulla.[2] Tämän leimauksen selkeänä heikkoutena on kuitenkin sen alttius metaboliselle hajoamiselle biologisissa olosuhteissa, jolloin radioleima irtoaa merkkiaineesta ennen kohteen saavuttamista.

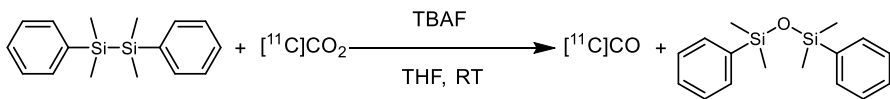
Karbonylaatiossa kaksi heteroatomia liitetään yhteen karbonyyliiryhmällä muodostaen esimerkiksi karbamaatteja, ureoita, tai sykliisiä yhdisteitä, joissa on karbonyyliiryhmä.[3] PET-radiokemiassa tätä reaktiota voidaan hyödyntää sellaisten merkkiaineiden leimaamisessa, joissa hiili-11 leimattu ryhmä on osana rakennetta. Yleisesti ¹¹C-karbonylaatioreaktioissa käytettyjä leimauslähtöaineita, kuten [¹¹C]CO₂:a, [¹¹C]CO:a ja [¹¹C]COCl₂:a on tutkittu laajasti, mutta niiden käytössä on haasteita, minkä vuoksi uusia leimauslähtöaineita kehitetään jatkuvasti.

Karbonyyliiryhmä voidaan esimerkiksi leimata käyttämällä [¹¹C]COCl₂:ia, joka voidaan valmistaa [¹¹C]CO:sta ja kloorikaasusta.[4] [¹¹C]CO tuotetaan pelkistämällä syklotronissa valmistettua [¹¹C]CO₂:ia sinkin tai molybdeenin avulla korkeissa lämpötiloissa[5], tai huoneenlämmössä disilaanivälitteisesti.[6] [¹¹C]COCl₂ on hyvä lähtöaine sen korkean reaktiivisuuden vuoksi, mutta kloorikaasun käyttäminen reaktiossa voi olla haastavaa. Tutkimusryhmässämme on valmistettu [¹¹C]COCl₂:ia onnistuneesti. Tästä syystä myös vaihtoehtoisia karbonylaatioreagensseja kuten [¹¹C]COF₂:ia on ryhdytty tutkimaan.

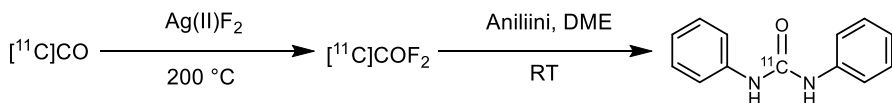
[¹¹C]COF₂ on valmistettu hopea(II)difluoridin avulla onnistuneesti aiemmin.[7] Vaikka [¹¹C]COF₂ on reaktiivisuudeltaan [¹¹C]COCl₂:ia heikompi, sen valmistus on yksinkertaisempaa. Tehdyssä tutkimuksessa valmistettiin [¹¹C]COF₂:ia [¹¹C]CO:sta sekä hopea(II)difluoridista läpivirtauslaitteistolla ja sen ominaisuuksia tutkittiin käyttämällä [¹¹C]difenyyliureaa mallimolekyylinä.

Materiaalit ja menetelmät

[¹¹C]CO valmistettiin syklotronilla tuotetusta [¹¹C]CO₂:sta disilaanivälitteisesti pelkistämällä (kaavio 1). [¹¹C]CO ohjattiin lämmitetyn teräsputken läpi, joka oli täytetty hopea(II)difluoridijauheella ja lasihelmillä [7], jonka jälkeen valmistettu [¹¹C]COF₂ kuplitettiin reaktioastiaan, jossa oli lähtöaineena aniliinia liuotettuna dimetoksisetaaniin (DME) (kaavio 2). Reaktion onnistuminen tutkittiin radioHPLC-analysillä.



Kaavio 1. [¹¹C]Hiilidioksidin disilaanivälitteinen pelkistäminen [¹¹C]hiilimonoksidiksi.



Kaavio 2. [¹¹C]difenyyliurean valmistus [¹¹C]COF₂:sta

Tulokset ja johtopäätökset

[¹¹C]COF₂:ia valmistettiin onnistuneesti. Kyseistä synteisiä ei olla vielä optimoitu molaarisen aktiivisuuden suhteen, josta syystä kyseiset arvot ovat vielä kehoja (taulukko 1), vaikka muuten tulokset ovat lupaavia. Aiemmassa tutkimuksessa [7] [¹¹C]CO:n reaktio hopea(II)difluoridin kanssa tehtiin huoneenlämmössä, mutta tehdyssä työssä kyseinen reaktio onnistui paremmin, kun putkea lämmitettiin 200 °C. Tämä saattoi johtua siitä, että artikkelin [¹¹C]CO valmistettiin korkeassa lämpötilassa, jolloin kaasu itsessään on kuumaa, vaikkei putkea lämmitetä. Seuraavaksi työssä yritetään käyttää [¹¹C]COF₂:ia [¹¹C]DMO:n (syklinen karbamaatti) ja [¹¹C]sorafenibin (epäsymmetrinen urea) leimaamiseen.

Taulukko 1. Synteiesien lopussa mitatut aktiivisuudet, radiokemialliset saannot (RCY), [¹¹C]difenyyliurean radiokemiallinen konversiot (RCC) ja molaariset aktiivisuudet (A_m). Kaikki aktiivisuudet ovat aikakorjattu synteiesien alkuun (SOS).

Synteiesi	Asos (GBq)	Saalis (MBq)	RCY (%)	RCC (%)	A _m (GBq/μmol)
1.	3	999	33	78	0,2
2.	3	1400	47	75	0,3
3.	3	1129	38	89	0,6

Viitteet

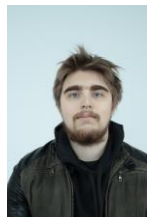
- [1] Rong, J., Haider, A., Jeppesen, T.E. *et al. Nat Commun* **2023**, *14*, 3257-3280
- [2] Scott P.J. *Angew Chem Int Ed Engl.* **2009**, *48*(33), 6001-6004.
- [3] Roeda D. ja Dollé F. *Curr Top Med Chem.* **2010**, *10*(16), 1680-1700.
- [4] Diksic M., Jolly D. ja Farrokhzad S. *Int. J. Nucl. Med. Biol.* **1982**, *9*(4), 283-285
- [5] Dahl, K., Itsenko, O., Rahman, O., Ulin, J., Sjöberg, C., Sandblom, P., Larsson, L., Schou, M., ja Halldin, C. *J. Label Compd. Radiopharm.* **2015**, *58*, 220–225.
- [6] C. Taddei, S. Bongarzone ja A. D. Gee, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 7682.
- [7] Jakobsson JE., Lu S., Telu S. ja Pike VW. *Angew Chem Int Ed Engl.* **2020**, *59*(18), 7256-7260.

Zirconium-89:llä leimatun di-scFv1F4 – vasta-ainefragmentin synteesi aivoissa sijaitsevien GABA-A reseptorien PET-kuvantamiseen

Leo Nissilä¹, Luciana Kovacs dos Santos¹, Risto Savela¹, Angel Garcia de Lucas², Francisco Lopez-Picon², Anu Airaksinen¹

1 Radiofarmaseuttisen kemian tutkimusryhmä, Kemian Laitos, Turun PET keskus, Turun Yliopisto

2 Turun PET keskus, Kiinanmyllykatu 4–8, 20520 Turku



Abstrakti

leniss@utu.fi

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli testata kahta eri lähestymistapaa bi-spesifisen vasta-ainefragmentti di-scFv1F4:n leimaamiseksi radionuklidi zirkonium-89:lla. Radioleimaus menetelmän kehittäminen oli mielenkiinnon kohteena koska saatu radiolääkekandidaatti mahdollistaisi aivojen GABA-A reseptoreiden kuvantamisen pitkällä aikavälillä. Tutkimus koostui radioleimaus olosuhteiden optimoinnista ja tuotteiden analysoinnista sekä lopuksi radioleimattujen tuotteiden stabiilisuustesteistä. Lopputuloksena $[Zr^{89}]Zr\text{-DFO}^*\text{-NCS-di-scFv1F4}$ vaikutti hyvältä koska radiokemiallinen saanto oli hyvä ja testit onnistuivat, kun taas $[Zr^{89}]Zr\text{-DFO-PEG}_5\text{-Tz-TCO-di-scFv1F4}$ kanssa tulokset eivät olleet yhtä hyviä.

Johdanto

Di-scFv1F4 on bi-spesifinen vasta-ainefragmentti, joka aikaisempien tutkimusten mukaan kykenee pääsemään veri-aivoesteen ohi, sillä se pystytään kuljettamaan aivoihin veri-aivoesteen transferrini-kuljettajaproteiinin avulla.[1] Tämän ominaisuuden vuoksi sen avulla voidaan saada radionuklidi kuljetettua haluttuun kohteeseen aivoissa. Tässä tapauksessa kohteena on GABA-A reseptorit. Näiden reseptorien kuvantamisen onnistuminen on tärkeää koska niiden uskotaan antavan tietoa Alzheimerin taudin tai skitsofrenian aiheuttamista muutoksista aivoissa.[4] Zirkonium-89 on radionuklidi, jonka pitkä puoliintumisaika, 78,91 tuntia, on hyvä kun halutaan tehdä pitkiä koe-eläinkuvauksia ja selvittää kuinka nopeasti radiolääkeaine liikkuu, imeytyy ja poistuu kehosta.

Tutkimuksen tarkoituksena oli tarkoitus leimata vasta-aine-fragmentti di-scFv1F4 kahdella eri menetelmällä ja vertailla näiden kahden yhdisteen stabiilisuutta. Yhdisteiden suuri ero oli käytetty kelaatti, joka toisessa yhdisteessä oli desferrioksamiini B (DFO) ja toisessa desferrioksamiinin analogi DFO*. Molemmat molekyylit perustuivat aiempiin artikkeleihin [3][2]. Tarkoitus oli suorittaa ensin prekursorin leimaaminen radionuklidilla, jonka jälkeen leimatun prekursorin ja vasta-ainefragmentin annettiin reagoida. Lopuksi oli tarkoitus vertailla näiden kahden yhdisteen ominaisuuksia, saantoja ja puhtautta. Koko prosessin tarkoituksena oli samalla myös optimoida synteesi ja laadunvarmistus jatkoa varten. Hypoteesi oli, että tuote jossa käytettiin DFO*:ä olisi stabiilimpi. Työn onnistuessa olisi jatkotutkimuksiin tiedetty kumpi kandidaatti olisi parempi ja olisi tiedossa tarkalleen mitkä synteesi- ja analysointimetodit olisivat parhaat.

Materiaalit ja menetelmät

Tutkimuksessa ensin testattiin vasta-ainefragmenttien konsentraatio ja puhtaus Nanodrop-spektrofotometrillä ja HPLC:llä käyttämällä Superdex 75 increase 10/300 GL-SEC kolonnia. Mobiiliifaasina HPLC:ssä käytettiin isokraattista eluutiota siivöidyn PBS:än kanssa, virtausnopeus oli 0.3 mL/min 80 minuutin mittauksessa. Tämän jälkeen vasta-ainefragmentti konjugoitiin toisessa menetelmässä DFO*-NCS:llä ja toisessa TCO-PEG5-NHS:llä. Lopuksi konjugoinnin tuotteet tarkistettiin samoilla menetelmillä. Seuraavaksi prekursori leimattiin Zr-89-oksalaatilla. Käytetyt Zr-89-oksalaatin aktiivisuus vaihteli tutkimuksen aikana välillä 2–20 MBq. Tuote tarkastettiin mittaamalla pH ja radiokemiallinen puhtaus varmistettiin RadioTLC:llä ja HPLC:llä. RadioTLC:n

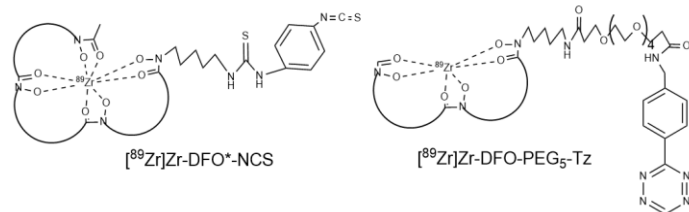
kanssa valmistettiin RP-TLC-levy ja ajoliuoksena toimi 50:50 EDTA:ACN. HPLC:n kanssa käytettiin Jupiter 4 μm Proteo 90 Å- kolonnia. Mittaus kesti 20 minuttia 2 mL/min virtausnopeudella ja ajoliuokset olivat trifluorietikkahappo (TFA) vedessä ja TFA asetonitrilissä. Eluutio toteutettiin gradienttisesti. Viimeiseksi leimatun prekursorin ja vasta-aine fragmentin annettiin inkuboitua, minkä jälkeen suoritettiin laadunvarmistus sekä vertailua varten stabiilisuuskokeet.

Tulokset ja johtopäätökset

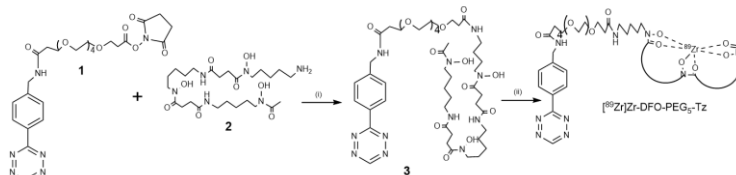
Eröt tuloksissa menetelmien välillä olivat suuret. $[\text{Zr}^{89}]\text{Zr-DFO}^*\text{-NCS-di-scFv1F4}$ radiokemiallinen saanto oli 50.23 % ja radiokemiallinen puhtaus 95 % $[\text{Zr}^{89}]\text{Zr-DFO-PEG}_5\text{-Tz-TCO-di-scFv1F4}$ radiokemiallinen saanto vaihteli välillä 4,3–54,9 % ja radiokemiallinen puhtaus 20–78 %. Reaktio-olosuhteita yritettiin optimoida muuttamalla kokonaistilavuutta ja puhdistuksessa käytetyn veden ja etanoli-suolavesi-seoksen määrää siinä kuitenkaan onnistumatta. Tästä syystä $[\text{Zr}^{89}]\text{Zr-DFO-PEG}_5\text{-Tz-TCO-di-scFv1F4}$ ei saatu eristettyä tarpeeksi puhtaana ja suurella aktiivisuudella stabiilisuuden testausta varten.

Tuotteen $[\text{Zr}^{89}]\text{Zr-DFO}^*\text{-NCS-di-scFv1F4}$ stabiilisuus testattiin pH:ssa 5,5–7,4 useassa eri aikapisteessä 24 tunnin ajan. Näin selvitettiin, kuinka kestävä molekyyli on kyseisissä ympäristöissä. Tässä tutkimuksessa tärkeimpänä kokeena pidettiin metallihaastetta, joka kertoi 0 h kohdassa kuinka paljon näytteessä, on ollut vapaa Zr-89:ää, toisin sanoen se kertoi radiokemiallisen puhtauden. Myöhemmissä aikapisteissä testi osoitti miten stabiili kyseinen yhdiste on, kun toinen metalli, tässä tapauksessa rauta, kilpailee zirkoniumin-89:n kanssa.

Tulosten perusteella voidaan sanoa että $[\text{Zr}^{89}]\text{Zr-DFO}^*\text{-NCS-di-scFv1F4}$ on hyvä kandidaattijatkotutkimuksille.



Kuva 1. Työssä käytetyt Zirkonium-89:llä radioleimatut prekursorit



Kuva 2. $[\text{Zr}^{89}]\text{Zr-DFO-PEG}_5\text{-Tz}$ synteesi; (i) Dimetyyliformamidi (DMF), Et_3N , HATU, 24h, RT, pimeässä; (ii) Zr-89-oksalaatti, Na_2CO_3 , oksaalihappo, HEPES-puskuriliuos (ph 7), 23 min, RT

Viitteet

1. de Lucas, Á. G., Lamminmäki, U. & López-Picón, F. R. *Biomolecules* vol. 13
2. Wuensche, T. E. *et al.* *Theranostics* **12**, 7067–7079 (2022).
3. Lumen, D. *et al.* *Bioconjug Chem* **33**, 956–968 (2022).
4. Ghit A. *et al* *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 19 (1) (2021)

Electrophilic synthesis of [^{18}F]UCB-J and evaluation of metabolic profile in rats

Joonas Pohja^{1*}, Richard Aarnio^{2,3}, Thomas Keller^{1,3} and Anna Kirjavainen^{1,3}



jompoh@utu.fi

¹Radiopharmaceutical Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku

²MediCity Research Laboratory, University of Turku

³Turku PET Center, University of Turku

Abstract

[^{18}F]Fluoro-benziodoxole is a fluorinating agent that has potential to be useful for radiolabeling in PET-chemistry. [^{18}F]UCB-J is a radiotracer that can be used for imaging of synaptic vesicle glycoprotein 2A in the brain. The aim of this work was to produce [^{18}F]UCB-J by electrophilic ^{18}F -fluorination using [^{18}F]fluoro-benziodoxole or [^{18}F]Selectfluor *bis*(triflate) and to evaluate the metabolism of [^{18}F]UCB-J in rats.

Introduction

^{18}F -Fluorination can be performed either nucleophilically or electrophilically and both methods have their benefits. In electrophilic fluorination [^{18}F]F⁺ is produced in the form of F₂ gas where one fluorine is an added carrier ^{19}F , which results in decreased starting molar activity (A_m). Nucleophilic fluorine-18 does not need to have non-radioactive fluorine as carrier and thus has higher starting A_m s. To improve the A_m of produced electrophilic fluorine-18, a post-target method of using an electrical discharge has been developed, resulting in increased A_m [1]. [^{18}F]F₂ is extremely reactive which results in poor regioselectivity when using it for radiolabeling and thus different fluorinating agents have been developed to increase the regioselectivity of electrophilic fluorine-18. One such widely used fluorinating agent is SelectfluorTM that reduces reactivity but improves regioselectivity. Other fluorinating agents used in electrophilic ^{18}F -fluorination include [^{18}F]NFSI and [^{18}F]XeF₂. Electrophilic ^{18}F -fluorination has been traditionally used for the production of [^{18}F]F-DOPA and [^{18}F]EF5 radiotracers[2][3].

As fluorine-18 is a useful radionuclide due to its half-life of 109.8 minutes, finding new ways to use it in radiolabeling is of interest. [^{18}F]fluoro-benziodoxole is a fluorinating agent that is capable of performing an umpolung of fluorine-18 from [^{18}F]F⁻ to [^{18}F]F⁺ and thus combine the benefit of higher starting molar activity when producing fluorine-18 nucleophilically with the reactivity of electrophilic fluorine-18.[4]

[^{11}C]UCB-J is radiotracer that has been used for imaging of synaptic vesicle glycoprotein 2A in the brain[5][6]. It has predominantly been used as a carbon-11 labeled radiotracer, but a fluorine-18 labeled analogue, [^{18}F]UCB-J, has previously been developed using [^{18}F]Selectfluor *bis*(triflate) as a ^{18}F -fluorinating agent[7]. Nucleophilic ^{18}F -fluorination of UCB-J results in low radiochemical yields or does not work at all[8] (Figure 1). An attempt to radiolabel [^{18}F]UCB-J using [^{18}F]fluoro-benziodoxole was tried in this project. As the radionuclides are in different positions of the UCB-J structure in the carbon-11 labeled and the fluorine-18 labeled versions, this will affect which radiometabolites can be detected after the metabolism of the [^{18}F]UCB-J. For this reason metabolism study of the [^{18}F]UCB-J was also performed using rats as test animals.

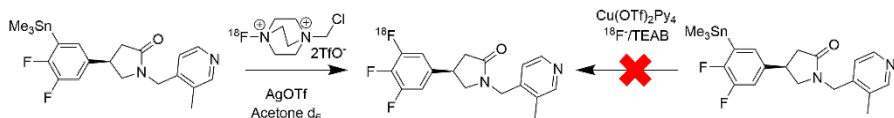


Figure 1. Electrophilic synthesis of $[^{18}\text{F}]$ UCB-J using Selectfluor™ and AgOTf[7], alongside a nonworking nucleophilic route utilizing a copper mediated method[8].

Materials and methods

Tosylate, triflate and acetate substituted precursors of $[^{18}\text{F}]$ fluoro-benzodioxole were synthesized according to a previously developed method[9]. $[^{18}\text{F}]$ fluoro-benzodioxole was synthesized using a previously published method with some modifications[4]. Synthesis of the $[^{18}\text{F}]$ UCB-J for the metabolite studies was done using a previously reported method[7]. Analysis of radiometabolites was done using reverse and normal phase radioTLC and radioHPLC.

Results and conclusions

Synthesizing $[^{18}\text{F}]$ UCB-J using $[^{18}\text{F}]$ fluoro-benzodioxole as a fluorinating agent has thus far not been successful. $[^{18}\text{F}]$ fluoro-benzodioxole is a difficult to characterize compound due to its labile nature in solvent and affinity for HPLC columns. Further tests using different $[^{18}\text{F}]$ fluoro-benzodioxole precursors are ongoing to determine the validity of producing $[^{18}\text{F}]$ UCB-J via this method. The metabolism of $[^{18}\text{F}]$ UCB-J synthesized using $[^{18}\text{F}]$ Selectfluor *bis*(triflate) was successfully studied in rat plasma (Figure 2) as well as brain, liver and urine samples.

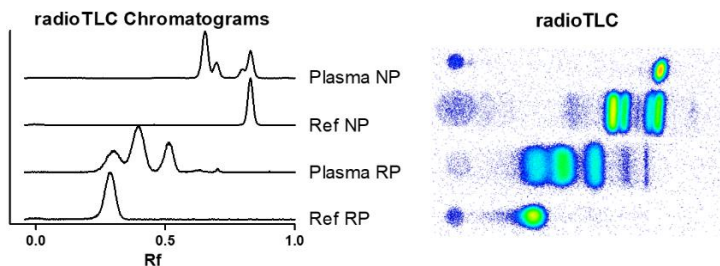


Figure 2. RadioTLC and associated chromatograms of both reference $[^{18}\text{F}]$ UCB-J and rat plasma in normal phase and reverse phase thin layer chromatography.

References

- Bergman, J., Solin, O., *Nucl. Med. Biol.* **1997**, *24*, 7, 677-683.
- Luxen, A., Guillaume, M., Melega, W.P., Pike, V.W., Solin, O., Wagner, R., *Nucl. Med. Biol.*, **1992**, *19*, 2, 149-158.
- Dolbier, W.R., Li, A., Koch, C.J., Et al., *Appl. Radiat. Isot.*, **2001**, *54*, 1, 73-80.
- Cortés González, M.A., Nordeman, P., Bermejo Gómez, A., Meyer, D.N., Antoni, G., Schou, M., Szabó, K.J., *Chem Commun (Camb)*. **2018**, *54*, 34,4286-4289.
- Nabulsi, N.B., Mercier, J., Holden, D., Et al., *J. Nucl. Med.* **2016** *57*, 5, 777-784.
- Holland, N., Jones, P.S., Savulich, G., Et al., *Mov Disord*, **2020**, *35*, 1834-1842.
- Keller, T., Kerminen, E., Forsback, S., Kirjavainen, A., Solin, O., *Nucl. Med. Biol.* **2022**, 108–109, S82.
- Li, S., Cai, Z., Zhang, W., Et al., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. **2019**, *46*, 9, 1952-1965.
- Rabah, G., Koser, G., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 36, 6453-6456.

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF NOVEL RADIOPHARMACEUTICALS FOR PRETARGETED PET IMAGING

Tatsiana Auchynnikava

Radiopharmaceutical Chemistry, Turku PET Centre and
Department of Chemistry, University of Turku



tatauc@utu.fi

Research Director: Prof. Anu Airaksinen

Supervisor(s): Prof. Anu Airaksinen and Asst.Prof. Xiang-Guo Li

Funding: Drug Research Doctoral Programme (DRDP), Turku University Foundation.

Estimated time of PhD dissertation: 10/2024.

Main aims of the PhD research

My work focuses on utilizing tetrazine-glycoconjugate to radiolabel molecular spherical nucleic acids (MSNAs) in targeting and pretargeting settings for preclinical positron emission tomography (PET). The methods are based on click and bioorthogonal chemistry.

Here I utilize 2- ^{18}F fluoro-2-deoxy-D-glucose (^{18}F FDG) conjugated tetrazine oxime ether (^{18}F FDG-Tz) to radiolabel and study different structures of MSNA with PET imaging in tumor-bearing mice. As well as characterize and test ^{18}F FDG-Tz as an imaging agent for pretargeted PET.

Main results so far

In study [1] to synthesize ^{18}F FDG-Tz was successfully obtained via two-step synthesis with a radiochemical yield of $6.5 \pm 3.6\%$ ($n = 5$), and radiochemical purity (RCP) $98.0 \pm 1.4\%$ ($n = 5$). ^{18}F FDG-Tz showed favorable pharmacokinetics for the pretargeting imaging agent with quick elimination from blood, mainly urinary excretion, and only moderate liver uptake (SUV 2.00 ± 0.57 60 min post-injection). It was further successfully tested in pretargeted settings (Figure 1) with two TCO-functionalized MSNA structures (400% or 140% TCO load/SNA, ^{18}F FDG-Tz injected 20 min after the MSNA). The pretargeted PET imaging revealed five times higher tumor uptake, and lower liver and bone marrow uptake.

In study [2] two different MSNA structures were radiolabeled with ^{18}F FDG-Tz to investigate the structural effect on the MSNA biodistribution in (sc) tumor-bearing mice and compare it with linear oligonucleotide. Modification with PS (phosphorothioate) backbone has shown higher blood stability and blood circulation time compared to the native PO (phosphodiester) backbone, which consecutively increases the tumor uptake. However, the POS backbone also increased the liver uptake.

Study [3] continued with investigating the effect of folate moiety on MSNA. Two folate structures (Folate-MSNA-PO and Folate-MSNA-PS) were radiolabeled with high RCY ($82.6 \pm 15.7\%$, $n = 3$) and RCP $> 99\%$. In vitro blocking studies showed the ability of ^{18}F Folate-MSNAs to bind to folate receptor. The addition of the folate moiety affected the biodistribution by increasing tumor/muscle ratio and uptake in the liver, spleen, and bone marrow.

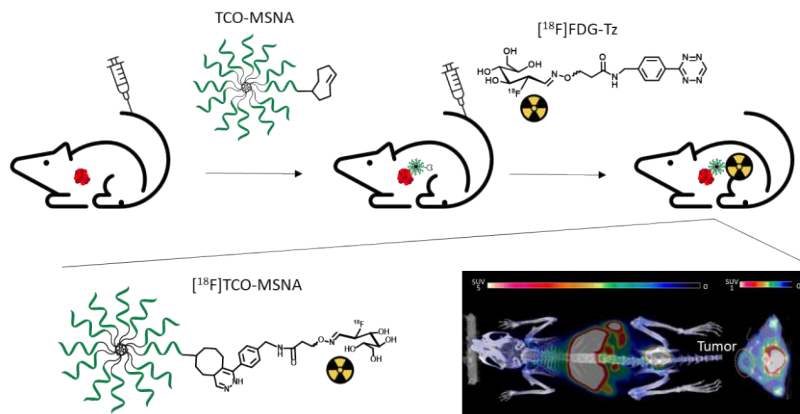


Figure 1. Pretargeted setup for *in vivo* radiolabeling of TCO-MSNA with [^{18}F]FDG-Tz.

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

PET is a widely used and essential tool not only in diagnostics but in drug development as well by helping to investigate the pharmacokinetics of new drugs. The use of pretargeted PET imaging offers a distinct advantage by employing short-lived radionuclides to study processes with slow pharmacokinetics, e.g. antibodies and nanomedicines. Click chemistry and specifically the inverse electron demand Diels–Alder (IEDDA) reaction between tetrazine and *trans*-cyclooctene gained excessive popularity over the last decade due to its versatility, chemoselectivity, and instantaneous reaction rates. Such reaction characteristics are essential for radiopharmaceutical chemistry, as well as bringing us to bioorthogonal chemistry and pretargeted PET.

MSNAs are nanostructures composed of densely packed nucleic acids attached to a nanoparticle core. They possess tremendous potential as theranostics agents for combined drug delivery and diagnostics due to their increased resistance to nuclease degradation, lower immune response, and efficient cellular uptake compared to linear oligonucleotides. However, the structures require a thorough examination of their behavior in living organisms.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Auchynnikava, T., Äärelä, A., Liljenbäck, H., Järvinen, J., Andriana, P., Kovacs, L., Rautio, J., Rajander, J., Virta, P., Roivainen, A., Li, X. G., & Airaksinen, A. J., *Omega* **2023**, 8(48), 45326–45336.
2. Äärelä, A. A., Auchynnikava, T., Moisio, O., Liljenbäck, H., Andriana, P., Iqbal, I., Lehtimäki, J., Rajander, J., Salo, H., Roivainen, A., Airaksinen, A. J., & Virta, P., *Molecular Pharmaceutics* **2023**, 20(10), 5043–5051.
3. Auchynnikava, T., Äärelä, A., Moisio, O., Liljenbäck, H., Andriana, P., Iqbal, I., Lehtimäki, J., Rajander, J., Salo, H., Airaksinen, A. J., Virta, P., & Roivainen, A., Biological evaluation of molecular spherical nucleic acids: targeted to tumors by hybridization based folate decoration, *manuscript to be submitted*.

Radiopharmaceuticals targeting fatty acid binding protein 3 for glioblastoma imaging with positron emission tomography

Pyy Dilemuth

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



Research Director: Professor Anu Airaksinen

Supervisor(s): Assistant Professor Xiang-Guo Li and Professor Anu Airaksinen

Funding: Drug Research Doctoral Programme (DRDP), InFLAMES Flagship Programme, the Finnish Cultural Foundation, Turku University Foundation, Orion Foundation

Estimated time of PhD dissertation: 2025

Main aims of the PhD research

The aim of this project is to develop novel peptide-based fluorine-18 labeled radiopharmaceuticals for diagnostic glioblastoma imaging using positron emission tomography (PET). The peptides are radiolabeled with prosthetic compound [¹⁸F]fluoronicotinic acid ([¹⁸F]FNA) 4-nitrophenyl ester. Specifically, the investigated tracer candidates are [¹⁸F]FNA-*N*-CooP and [¹⁸F]FNA-*S*-ACooP (Fig. 1) for PET imaging of glioblastomas, utilizing the brain tumor-homing peptides CooP (H-CGLSGLGVA-NH₂) and ACooP (H-ACGLSGLGVA-NH₂) targeting fatty acid binding protein 3 (FABP3). Radiopharmaceuticals will be evaluated for the target binding specificity, in vivo imaging performance, pharmacokinetics and biodistribution.

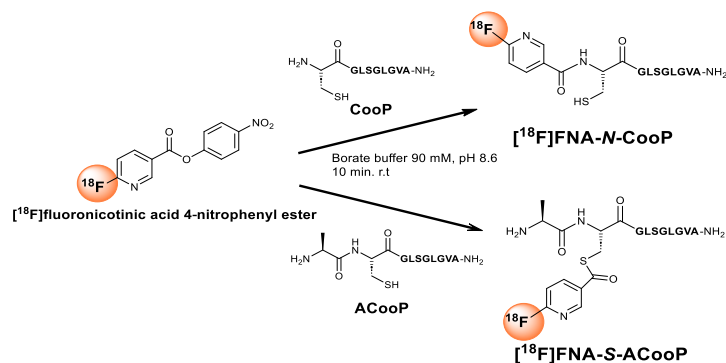


Figure 1: Synthesis routes of [¹⁸F]FNA-*N*-CooP and [¹⁸F]FNA-*S*-ACooP

Main results so far

The synthesis methods for [¹⁸F]FNA-*S*-ACooP and [¹⁸F]FNA-*N*-CooP were developed and the tracers were produced with good decay-corrected radiochemical yields of $29.1 \pm 2.0\%$ ($n = 4$) and $15.2 \pm 1.9\%$ ($n = 4$), and high radiochemical purity of $96.6 \pm 0.7\%$ ($n = 3$) and $94.8 \pm 2.6\%$ ($n = 3$), respectively. Molar activity was 36.2 ± 19.0 GBq/ μ mol ($n = 4$) and 129.1 ± 52 GBq/ μ mol ($n = 3$) and total synthesis time was 182.5 ± 5.9 min ($n = 4$) and 175 ± 5.8 min ($n = 3$), respectively. Interestingly, we observed a highly chemoselective *S*-acylation instead of the expected *N*-acylation when using peptide ACooP.¹ In contrast, a highly chemoselective *N*-acylation was observed when using peptide CooP (Fig. 1).²

PET imaging performance of [^{18}F]FNA-S-ACooP and [^{18}F]FNA-N-CooP was evaluated in glioblastoma bearing mice and control mice. The mice were placed under anesthesia and the tracers were administered via the tail vein. PET images were co-registered with computed tomography (CT) images for anatomical reference. In the PET/CT images with both [^{18}F]FNA-S-ACooP and [^{18}F]FNA-N-CooP, a clear accumulation of radioactivity was observed in the glioblastomas in mice (Fig. 2). Standardized uptake values around the tumor were 0.60 for [^{18}F]FNA-S-ACooP at 25 min and 0.25 for [^{18}F]FNA-N-CooP at 40 min. In control mice, only basal brain uptake was observed.

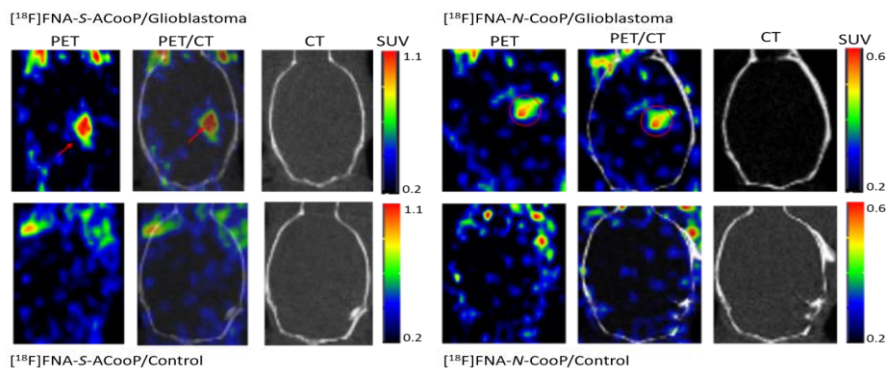


Figure 2: PET/CT imaging using [^{18}F]FNA-S-ACooP and [^{18}F]FNA-N-CooP in mice with glioblastoma and healthy control mice. Radioactivity uptake was clearly visualized in the tumors marked with red arrow and circle.

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

PET is a non-invasive, highly sensitive imaging technique (fM to pM) which can be used to measure the functional activity of various organs including brain. This has led to PET imaging becoming a clinical routine especially in oncology. Despite the recent advances in cancer therapies, malignant glioblastoma often leads to swift terminal outcome. The gold standard for most cancer imaging, including glioblastomas, is 2-deoxy-2- ^{18}F fluoroglucose (^{18}F FDG), a fluorine-18 labeled glucose analogue. However, ^{18}F FDG suffers from low specificity due to the physiological high uptake in the brain. CooP and ACooP target FABP3 in the glioblastoma cells and their vascular sites, which is a novel, highly specific targeting mechanism for glioblastoma imaging using PET. Targeted imaging-based diagnosis of the tumor can guide the planning for personalized treatment and lead to better outcome for patients. Additionally, [^{18}F]FNA-N-CooP and [^{18}F]FNA-S-ACooP could be used to monitor treatment response and the tumor-homing properties of the peptides could be utilized for therapeutical applications. The discovery of highly S-selective acylation with [^{18}F]FNA opens new perspectives in radiolabeling chemistry of biomolecules.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Dillemath P. et al., Radiosynthesis, structural identification and in vitro tissue binding study of [^{18}F]FNA-S-ACooP, a novel radiopeptide for targeted PET imaging of fatty acid binding protein *EJNMMI Radiopharm. Chem.* **2024**, 9:16.
2. Dillemath P. et al., Switching the chemoselectivity for the preparation of [^{18}F]FNA-N-CooP, a free thiol containing peptide for PET imaging of fatty acid binding protein 3. (Manuscript under preparation).
3. Dillemath P. et al. Biological evaluation of [^{18}F]FNA-S-ACooP: a brain-homing peptide for glioblastomas imaging with positron emission tomography. (Manuscript under preparation).

Advanced ^{18}F -radiolabelling of small molecules

Noora Rajala

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



naraja@utu.fi

Research Director: Prof. Olof Solin

Supervisor(s): Adj. prof. Anna Kirjavainen and Prof. Olof Solin

Funding: Turku PET Centre and Academy of Finland (project 334310)

Estimated time of PhD dissertation: 2025

Main aims of the PhD research

My work focuses on labelling of the central nervous system (CNS) bound radiopharmaceuticals using various advanced synthesis methods such as nucleophilic and transition metal-mediated ^{18}F -labelling and translating them to devices appropriate for pharmaceutical production according to good manufacturing practice (GMP).

Nucleophilic ^{18}F -fluorination is the most used method to produce ^{18}F -radiopharmaceuticals, mainly due to the ease production of $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ and the relatively high molar activities of the products. Molar activity (A_m) represents the amount of radioactivity per mole of compound. Transition metal-mediated ^{18}F -fluorination is a fairly new radiosynthesis method, which has been developed to facilitate the production of tracers that are otherwise hard to produce with traditional nucleophilic methods.

In my initial research, I focus on developing labelling methods for a novel tracer $[^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$ for imaging the cannabinoid receptor 1 (CB1R). CB1R is associated with various pathophysiological states in the brain and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. Currently used CB1R tracers $[^{18}\text{F}]\text{FMPEP-}d_2$ suffer from defluorination and slow kinetics. The novel tracer $[^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$ has the same binding structure as $[^{18}\text{F}]\text{FMPEP-}d_2$, but the labelling position is in the aromatic ring instead of being in the end of a methoxy tail. To succeed in the labelling of the aromatic ring, I focused on ruthenium-mediated labelling methods, which allow the ^{18}F -radiolabelling to phenol precursors.

Radiopharmaceutical research aims for the preclinical or clinical production of the developed method and tracers, where the used initial radioactivity can be higher and the interventions to the process are minimized. This means that the labelling methods needs to be automated. The second part of my research focuses more on automation of the novel CB1R tracer $[^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$ synthesis method and continues the preclinical evaluation of $[^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$ in different rat strains.

In the final part of my research, I modify and developed further the synthesis method for norepinephrine transporter tracer $[^{18}\text{F}]\text{NS12137}$ (López-Picón F. R, Theranostics 2019) to allow the translation to two automated synthesis devices suitable for clinical production. Norepinephrine transporter has an important role in neuropsychiatric disorders such as ADHD and schizophrenia. $[^{18}\text{F}]\text{NS12137}$ is a promising novel tracer yet to be produced for clinical studies.

Main results so far

In paper [1] we set up a labelling method for $[^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$ with 16.7 ± 5.7 % decay-corrected radiochemical yield and > 95 GBq/ μmol molar activity. The formulated radiotracer has a long self-life (6 h), low defluorination, and it showed high specific binding to CB1 receptors in the preclinical evaluation in mouse brain.

HIGH MOLAR ACTIVITY ^{11}C -RADIOLABELLING

Saara Wahlroos

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



saara.wahlroos@utu.fi

Research Director: Prof. Olof Solin

Supervisor(s): Dr. Anna K. Kirjavainen

Funding: Turku PET Centre

Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

One of my goals is to find facile radiolabeling methods suitable for GMP and automation. Production of, and advanced automation for ^{11}C -labelled radiotracers with high molar activity are developed in this work.

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.

Main results so far

The radiotracer [^{11}C]UCB-J provides the opportunity to visualize synaptic density *in vivo*, by targeting the synaptic vesicle protein 2A (SV2A). [^{11}C]UCB-J has been shown to have excellent *in vitro* and *in vivo* properties for imaging SV2A. PET imaging of SV2A is used to measure brain expression of SV2A in various neurologic, neurodegenerative or psychiatric conditions in which SV2A may play a role. The radiotracer can also be used to measure drug binding to its target, and PET imaging of SV2A could be used to characterize binding of e.g. levetiracetam or other SV2A-targeting drugs.

Radiosynthesis of [^{11}C]UCB-J (figure 1) involves the Suzuki–Miyaura cross-coupling of the 3-pyridyl trifluoroborate precursor with [^{11}C]methyl iodide, which produces [^{11}C]UCB-J in good yield and high chemical and radiochemical purity. The automated synthesis involves [^{11}C]MeI production in the Synthra MeIplus Research -device and the labelling reaction and purification using an in-house built device. Precursor activation with HCl is a step carried out prior to the synthesis and precedes the oxidative insertion of Pd to the carbon-halide bond. The produced [^{11}C]MeI is bubbled into the reaction solution containing a Pd catalyst ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$), $\text{P}(\text{o-tol})_3$ and K_2CO_3 in DMF. Subsequently the precursor solution is added for the reaction. [^{11}C]UCB-J is purified with preparative HPLC and a SPE cartridge, and formulated for injection. Quality control is performed before releasing the product for clinical use.

During clinical production of [^{11}C]UCB-J for over three years, several problems have been encountered. The addition of the precursor to the reaction vessel is occasionally observed to cause a loss of activity. While a small loss is observed in almost all the syntheses, for some of them the activity loss was up to 25 % of initial [^{11}C]MeI activity. Next, because of the broadness of the product peak eluting from the radio-HPLC, and splitting into two distinct peaks the HPLC purification method did not allow for the collection of the whole product. Finally, it was noticed in

occasional synthesis that if the product peak was collected for longer than 2 min, the concentration of the organic solvent was too high for loading onto a SPE cartridge and a portion of activity passed through the cartridge.

After these problems were identified, extensive work was done to find proper solutions for the preparation of both catalyst and precursor solutions and upgrading the purification protocol and SPE formulation. Also, a new HPLC purification method was developed. A reproducible automated radiosynthesis of [^{11}C]UCB-J has been achieved with high radiochemical yield and quality at end of synthesis, in compliance with GMP regulations.

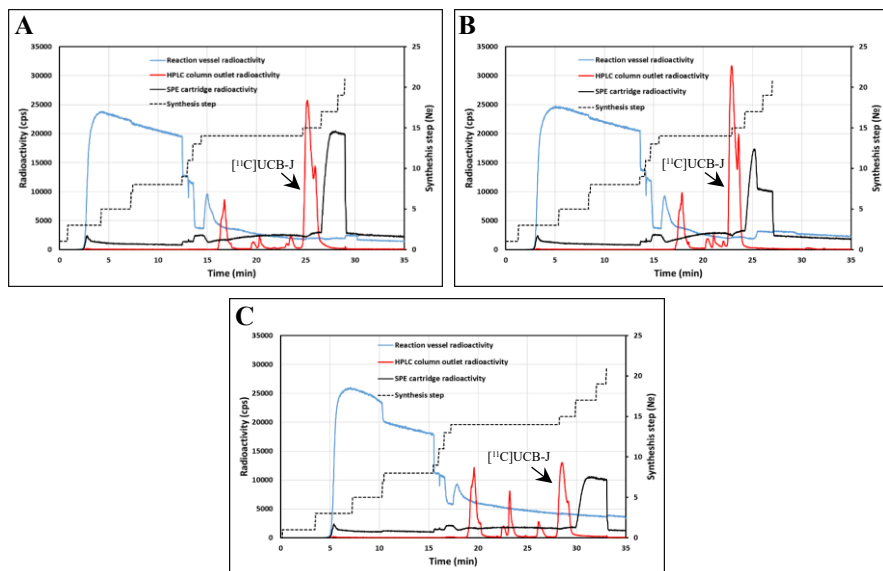


Figure 1. The data collected from GM tubes interfaced to the synthesis device. (A) Typical synthesis trends. (B) Trends from synthesis with activity loss from the SPE cartridge. (C) Trends from the synthesis with activity loss at the precursor addition step.

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 e.g. 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.

Papers to be included in the PhD thesis

I. Krzyczmonik, A.*, Wahlroos, S.*, Helin, S., Rajander, J., Solin, O. #, Kirjavainen, A. K. # EJMNM Radiopharm. Chem. (*: #Authors contributed equally) submitted manuscript

FYSIKAALISEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ

FYSIKAALINEN KEMIA – KEMIAN TEOREETTINEN PERUSTA JA YHDYSSIDE LÄHITIETEISIIN

Prof. Jukka Lukkari, FT Henri Kivellä

Fysikaalinen kemia, Materiaalikemian ja kemiallisen analyysin laboratorio, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto
s-posti: jukka.lukkari@utu.fi, hemiki@utu.fi
<https://sites.utu.fi/physical-chemistry/>

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 fyysiikkaan*, niin kuin itse asiassa koko kemiakin. Se käyttää termodynamiikkaa, statistista fyysiikkaa, 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.

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. Opetuksessa korostetaan mahdollisuuksien mukaan myös voimakkaasti poikkitieteellisiä yhteyksiä lähitieteisiin, erityisesti juuri biologian suuntaan, mutta myös esim. geotieteisiin ja astrokemiaan. Tarkemmat tiedot fysikaalisen kemian opetuksesta löytyvät internetsivuilta, joiden osoite on yllä.

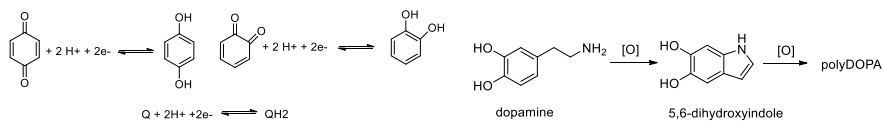
Yleisesti ottaen fysikaalisen kemian *tutkimus* maailmalla kattaa laajan monitieteisen alueen sisältäen mm. kvanttikemiaa, reaktiodynamiikkaa, rajapintaprosesseja, ja materiaalien sekä biologisten systeemien tutkimusta. Turun yliopistossa fysikaalinen kemia keskittyy lähinnä pariin suurempaan temaattiseen alueeseen ja muutamaaan niitä tukevaan tutkimuskohteeseen, ja sitä tehdään tiiviissä yhteistyössä materiaalikemian kanssa. Päättämiskohteina ovat *biohajoavan elektronikan materiaalit* sekä *syvätehtiset 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 (mikä ei tietenkään merkitse sitä, etteikö tutkimus voi myös johtaa sovellutuksiin).

Biohajoava elektronikka

Moderni elektronikka 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 kuluttajatuotteissa, ympäristöanalytiikassa ja kehonsisäisissä lääketieteellisissä tutkimuksissa tarvittaisiin kuitenkin vain *lyhytikäistä elektronikkaa*. Kestävän kehityksen mukaisen ratkaisun näihin sovellutuksiin voisi tarjota **biohajoava elektronikka**. Se valmistetaan käyttäen biologisia tai bioinnoitettuja materiaaleja, jotka aikanaan hajoavat vaarattomiksi tuotteiksi joko elimistössä tai mikrobin vaikutuksesta luonnossa. Biohajoavilla laitteilla olisi laaja sovellutusalue esimerkiksi lääketieteellisessä diagnostiikassa väliaikaisesti kehon sisälle sijoitettavissa mittalaitteissa (esim. ruuansulatuskanavan tutkimus, ”*syötävä elektronikka*”), laajamittaisessa ympäristöanalytiikassa, kuten esim. ilmasta levitettävien laitteiden

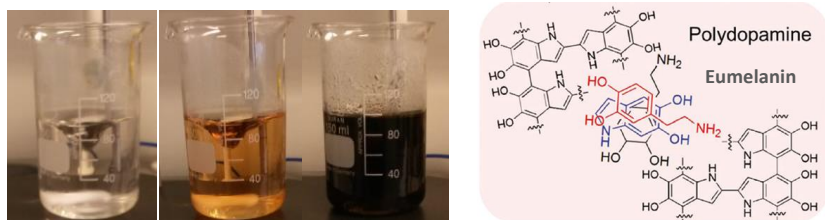
parvi, joita ei tarvitsisi kerätä pois, mukaanlukien *nanopölyksi* (nanodust) kutsuttu seuraava kehitysvaihe, sekä kuluttajapakkauksiin liittyvissä sensoreissa (esim. suoraan ruokatarvikkeisiin lisätyt sensorit).

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 yhdisteihin, kuten esimerkiksi *melaniinipigmenttiin ja sen johdoksiin*. 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 kuvassa 1.

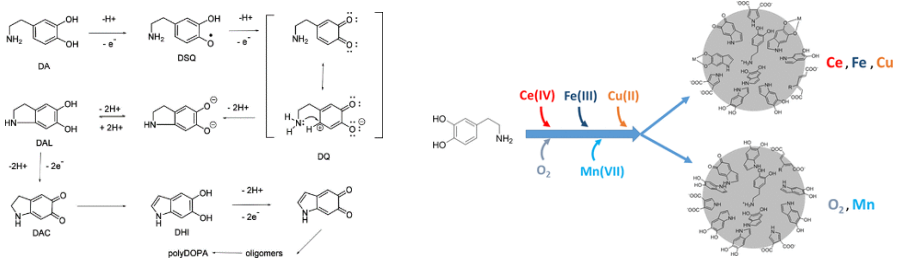


Kuva 1. Kinonien redox-reaktiot ja dopamiinin hapettuminen

Melaniinit ovat kinoidisia biologisia pigmenttejä, joiden tarkkaa rakennetta ei tunneta (kuva 2). Tunnetuin on tumma eumelaniini, jota esiintyy mm. ihossa ja hiuksissa. Melaniinien tärkeimpänä rakenneosana on 5,6-dihydroksi-indoli ja sen johdannaiset, ja synteettistä melaniinia voidaan valmistaa hapettamalla kemiallisesti dihydroksi-indolia tai hermoston välittäjäaine dopamiinia (kuvat 1&2). Tällöin tuotteena on luonnon melaniinin kanssa käytännössä identtinen *polydopamiini* (PDA). 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. Olemme selvittäneet pH:n ja eri hapettimien vaikutusta dopamiinin hapetuksen mekanismiin ja kinetiikkaan, ja jatkotutkimuksissa tullaan keskittymään kinoni- ja melaniinikalvojen valmistusta ja sähkökemiallisia ominaisuuksia, lopullisena päämääränä niiden käyttö biohajoavassa elektroniikassa.

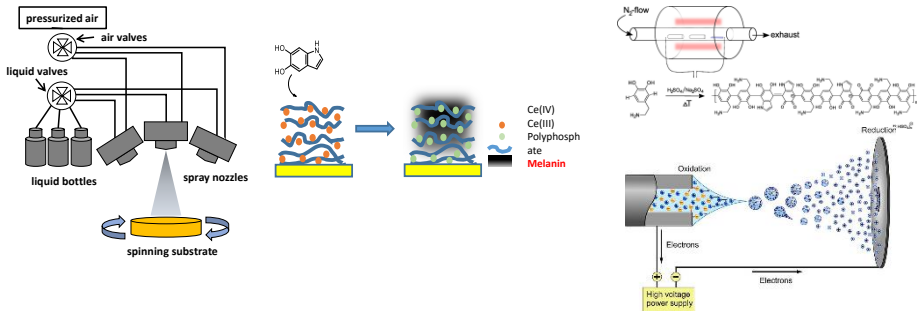


Kuva 2. Polydopamiinin muodostuminen autoksidatioreaktiossa ja sen sekä melaniinin kaavamainen rakenne.



Kuva 3. Dopamiinin hapetus polydopamiiniksi

Kuten edellä on annettu jo ymmärtää, biohajoavissa paristoissa ja superkondensaattoreissa aktiivinen ainesosa on ohuena kalvona, ja **funktionaalisten ohutkalvojen valmistus ja tutkimus** liittyykin oleellisesti tähän tutkimuskohteeseen. Ohutkalvoilla tarkoitetaan tässä yhteydessä kalvoja, joiden paksuus on ~100 nm mittaluokassa. Olemme käyttäneet paljon erittäin monipuolista **vaiheittaisen kerrostuksen menetelmää** (sequential layer-by-layer deposition) yhdistettynä mm. pyöritys-ruiskutus –tekniikkaan (kuva 4). Tällä hetkellä tutkimme **höyryfaasikasvatusta** (organic CVD) ja erityisesti **sähköruiskutusta** (electrospraying) (Kuva 4). Sähköruiskutuksen etuna on sen skaalattavuus teknologiseen mittakaavaan saakka, mikä onkin tavoitteena käynnissä olevassa EU:n projektissa ([InsBIOration](http://www.insbioration.de))¹. Projektin myötä on kehitetty myös uusi, ”kemikaaliton” polydopamiinin valmistusmenetelmä, joka perustuu kuparipinnan katalyyttisiin ominaisuuksiin.

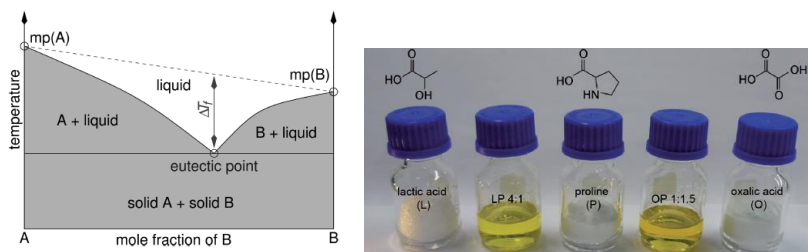


Kuva 4. Polydopamiiniohutkalvojen valmistusmenetelmiä

Syväeutectiset liuottimet

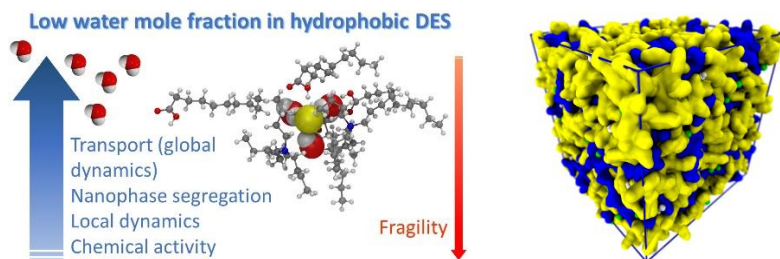
Toisena pääasiallisena tutkimuskohteena ovat **syväeutectisten liuottimien** (deep eutectic solvents, DESs) rakenne ja ominaisuudet. Kahden (mahd. kiinteän) komponentin A ja B eutektisella seoksella tarkoitetaan tietyn moolisuhteen omaavaa koostumusta, jossa seos kokonaisuudessaan sulaa selvästi alemmassa lämpötilassa kuin yksittäiset komponentit tai niiden muut seokset (kuva 5). Komponentit ovat usein biomolekyylejä; itse asiassa eläiden selviytyminen ääriolosuhteissa näyttäisi perustuvan niiden soluissa syntyviin syväeutectisiin liuottimiin. Tämä liuotintyyppi tunnistettiin vasta 2000-luvun alussa ja nyt tunnetaan suuri määrä erilaisia eutektisia seoksia, joista monet ovat nestemäisiä huoneenlämpötilassa (vaikka komponentit olisivatkin kiinteitä aineita).

¹ <http://www.insbioration.de/project-description/>



Kuva 5. Eutektisen seoksen periaate ja muodostuminen kiinteistä komponenteista.

Eutektiset liuottimet muistuttavat osittain ionisia nesteitä, mutta niistä poiketen ne eivät ole suoloja, vaan molekulaarisia seoksia, joihin verrattuina niillä on useita. Ne ovat useimmiten *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, syntetikassa, katalyyttisissa ja erotusmenetelmissä, biosovelluksissa sekä yleensä ns. *kestävässä kemiassa*. Erityisen kiintoisaa on niiden käyttö biohajoavien voimanlähteiden yhteydessä mahdollisina elektrolyyttiliuoksina tai energian varastoinnissa.

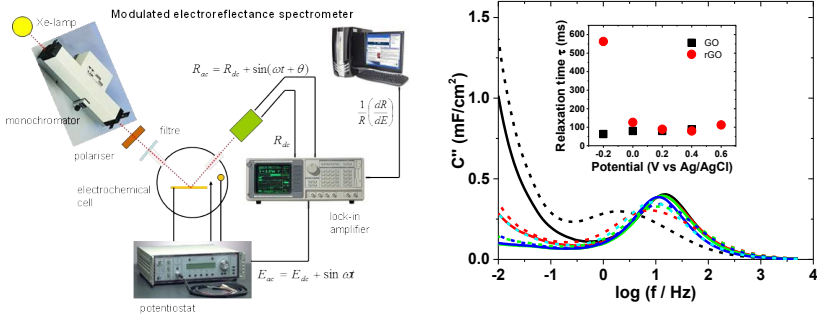


Kuva 6. Tetrabutyyliammoniumkloridi-dekaanihappo –pohjainen DES (TBAC:DecA 1:2) ja veden vaikutus sen ominaisuuksiin ja mikrorakenteeseen (DecA keltainen, TBAC sininen kuvassa oikealla).

Syväeutektisia liuottimia on useita eri lajeja, joista olemme erityisesti tutkineet vetysidosdonorista ja –akseptorista muodostuneita tyypin III liuottimia. Olemme selvittäneet liuenteen veden vaikutuksia DESin ominaisuuksiin sekä mikrotason rakenteeseen; vesi on komponentti, josta ei käytännön sovelluksissa koskaan pääse eroon, joten sen vaikutusten tunteminen on oleellisen tärkeää. Tällöin osoittautuu, että vesi aikaansaa liuotimessa dynaamisen jakautumisen nanofaaseihin muiden merkittävien muutosten ohella (kuva 6). Molekyyylimallinnuksella on ollut tässä työssä aivan keskeinen asema. Nykyinen tutkimus keskittyy tyypin IV liuottimiin (metallihalidi + orgaaninen vetysidosdonori) ja erityisesti niiden käyttöön sähkökemiassa. Tarkoituksena on selvittää niiden mahdollisuuksia ionijohtavina faaseina bioinnoitetuissa energiasovelluksissa.

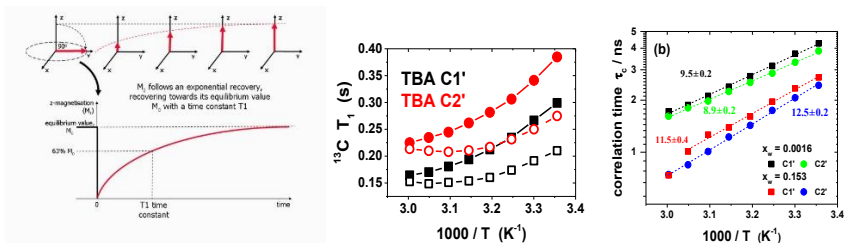
Spektroskooppiset ja sähkökemialliset menetelmät – mukana aina

Ohutkalvojen, materiaalien ja yhdisteiden tutkimiseen käytetään ja kehitetään spektroskooppisia menetelmiä, erityisesti spektrosähkökemiallisia menetelmiä. Elektrodi/liuos –rajapintaa voidaan tutkia mm. *pintaherkistetyllä Ramanspektroskopialla* (SERS). Sähkökemiallisesti aktiivisten kalvojen tutkimiseen UV-vis –alueella soveltuu esimerkiksi *moduloitu reflektanssispektroskopia* (kuva 7). 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 monikerroksia elektrodin pinnalla. Erilaiset sähkökemialliset *immittanssispektroskopian* muodot, erityisesti *kapasitanssispektroskopia*, taas mahdollistavat mm. erilaisten superkondensaattorien ominaisuuksiin vaikuttavien dynaamisten prosessien tunnistamisen (kuva 7).



Kuva 7. Moduloidun reflektanssispektroskopian laitteisto (vas.) ja kapasitanssispektroskooppinen analyysi PEDOT-pohjaisesta superkondensaattorimallista (oik.).

Ydinmagneettisen resonanssispektroskopian (NMR) avulla voidaan toisaalta tutkia monia orgaanisten, epäorgaanisten ja metallo-orgaanisten yhdisteiden, sekä seosten, polymeerien ja nano-materiaalien ominaisuuksia (kaasu-), neste- ja kiinteässä faasissa. Sovelluksia ovat mm. yhdisteen rakenteen varmistus ja/tai määritys, liuostilaisen yhdisteen kolmiulotteisen avarusrakenteen selvittäminen, polymeerien ja makromolekyylien koon arviointi, diffuusion tutkiminen, kemiallinen kinetiikka ja termodynamiikka, sekä molekyyli-tason dynamiikan tutkiminen. Näissä tutkimuksissa sovelletaan monia moderneja pulssitettuja FT-NMR-tekniikoita, kuten kaksikulotteista korrelaatio-spektroskopiaa (2D NMR), NOE-mittauksia (1D ja 2D NOESY), diffuusioeroitteista gradienttavusteista spektroskopiaa (DOSY), T_1/T_2 -relaksaatio-aikeittauksia ja kiinteän tilan NMR-tekniikoita (SSNMR). Tulosten analysoinnissa käytetään apuna mm. iteratiivista spektrisimulaatiota, spektri-piikkien dekonvoluutiota, ja molekyyli-mallinnusta. NMR-spektroskopialla voidaan saada keskimääräistä molekyyli-tason informaatiota mm. syväeutektisten liuottimien rakenteesta ja yhdistää tämä mallinnustuloksiin täydellisemmän kuvan saamiseksi (kuva 8).



Kuva 8. T₁-relaksaation periaate NMR:ssa (vas.), TBAC:DecA –DESin mitattuja ¹³C T₁-relaksaatioaikoja (kesk.) ja niiden avulla laskettuja molekyylin pyörimistä (lokaalista dynamiikkaa) kuvaavia rotationaalisia korrelaatioaikoja ja niihin liittyviä aktivaatioparametreja (oik.; yksiköissä kJ/mol, x_w kertoo veden mooliosuuden DESissa).

Lopuksi...

Jos edellä esitetty on herättänyt kysymyksiä tai muuten tuntuu kiinnostavalta, niin ota reippaasti yhteyttä (sähköpostiosoitte etusivulla). Fysikaalinen kemia on erittäin monipuolinen ala, pohjimmiltaan teoreettinen, mutta projektityövaiheessa työskentely ei oleellisesti mitenkään eroa muista kemian aloista (paitsi, että teet todennäköisesti enemmän mittauksia eri laitteilla kuin monet muut). Fysikaalinen kemia on aina lähellä luontoa, meillä nimenomaan elävää luontoa!

Mustalipeän viskositeetti ja sen määrittämisen ongelmat

Juuso Kuusisto^{1*}, Jukka Lukkari¹ ja Outi Kari²

¹Fysikaalisen kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

²Eurofins Nab Labs Oy, Titaanitie, 28840, Pori



juukuu@utu.fi

Abstrakti

Mustalipeä on paperi- ja selluteollisuudessa syntyvä sivutuote, jota käytetään energian tuotannossa uusituvana polttoaineena. Mustalipeän energian tuotannon kannalta siitä saatavaa lämpöarvoa pyritään kasvattamaan, mutta samalla sen käsittely vaikeutuu ja käyttäytyminen muuttuu. Tämän takia mustalipeän reologisten ominaisuuksien tutkiminen on tärkeää. Tässä työssä tutkittiin mitkä ominaisuudet vaikuttavat mustalipeän viskositeettisiin ominaisuuksiin ja mitä ongelmia esiintyy näiden ominaisuuksien määrittämiseen.

Johdanto

Paperi- ja selluteollisuus käyttää massanvalmistusprosessissa valkolipeää, johon liukenee keitossa puussa olevia orgaanisia yhdisteitä kuten ligniiniä, jolloin syntyy mustalipeää. Mustalipeä on hyödyllinen sivutuote, koska voidaan käyttää uusiutuvana polttoaineena talteenotokattilassa. Mustalipeän polttaminen talteenotokattilassa mahdollistaa kemikaalien talteenoton ja energiantuotannon [1]. Mustalipeästä halutaan mahdollisimman hyvä hyötysuhde, jolloin sen lämpöarvoa pyritään parantamaan poistamalla mustalipeästä vettä. Tämä kuitenkin samalla lisää mustalipeän viskositeettia, mikä vaikuttaa mustalipeän virtaukseen, pisaroitumiseen, kuivumiseen ja laajenemiseen kattilassa [2]. Tämän takia mustalipeän reologisten ominaisuuksien ymmärtäminen on tärkeää, jotta voidaan tasapainottaa energiantuotannon tehokkuus ja prosessin käytännön toteutettavuus.

Työn tavoitteena oli tutkia mustalipeän reologisia ominaisuuksia ja selvittää tekijöiden kuten, lämpötilan, leikkausnopeuden ja kuiva-aineen vaikutusta mustalipeän viskositeettiin. Toisena tavoitteena tutkittiin menetelmässä esiintyneitä ongelmia, kun määritettiin viskositeettia korkeissa kuiva-aine pitoisuuksissa, ja pohdittiin näihin sopivia ratkaisuja. Viimeisenä tavoitteena työllä oli valmistella uuden viskositeetti laitteiston hankintaa.

Materiaalit ja menetelmät

Tässä työssä mustalipeän viskositeettia tutkittiin Eurofins Nab Labs Oyn omistamalla laitteella, joka on varta vasten rakennettu mustalipeän viskositeetin määrittämiseen. Laitteella määritettiin viskositeettia koaksiaalissa reometrilla, johon on liitetty näytteen syöttäjä. Tällä mahdollistettiin näytteen lisääminen avaamatta reometrin näytekammiota, mikä mahdollisti nopeamman näytteiden analysoinnin.

Mustalipeän viskositeettia määritettiin eri kuiva-ainepitoisuuksilla, eri lämpötiloissa ja eri leikkausnopeuksilla. Mittauksissa esiintyi ongelmia määrittää viskositeettia korkeissa kuiva-aine pitoisuuksissa, jolloin viskositeetti on suuri. Näitä ongelmia pohdittiin laitevalmistajan ja kemistien kanssa. Samalla mietittiin tärkeimpiä ominaisuuksia ja ongelmia uuden laitteen hankinnan kannalta.

Tulokset ja johtopäätökset

Työssä havaittiin mustalipeän viskositeetille taulukossa 1 esitetyt korrelaatiot kuiva-aineen, lämpötilan ja leikkausnopeuden suhteen näiden ominaisuuksien kasvaessa. Nämä tulokset ovat hyvin linjassa hypoteesien ja kirjallisuuden kanssa. Kuiva-aineen suhteen viskositeetti on logaritmisesti korreloitava. Lämpötila suhteen viskositeetti on suoraan korreloitava. Leikkausnopeudelle havaittiin ei-newtonilainen ja pseudoplastinen käyttäytyminen, eli leikkausnopeuden kasvaessa viskositeetti pienenee.

Taulukko 1. Eri ominaisuuksien vaikutus mustalipeän viskositeettiin.

Ominaisuus	Vaikutus viskositeettiin
Kuiva-aine ↑	↑
Lämpötila ↑	↓
Leikkausnopeus ↑	↓

Työllä saatiin hyvä käsitys nykyisestä laitteistosta ja sen ongelma kohdista, joita ei kuitenkaan onnistuttu ratkaisemaan kovin hyvin. Laitteistolla tulee edelleen ongelmia, kun määritetään viskositeettia korkeissa kuiva-aineissa ja tätä selvitystyötä tullaan jatkamaan tulevaisuudessa. Uuden laitteiston hankinnassa on päästy eteenpäin ja sen vaatimat ominaisuudet on saatu selville. Tärkeimmät ominaisuudet ovat emäksen kestävyys, tarkka lämpötilan seuranta ja mahdollisuus kammion muokkaukseen näytteensyötintä varten. Vaikka menetelmän ongelmia ei saatu ratkaistua, työ oli kuitenkin onnistunut ja siinä saatiin arvokasta tietoa mustalipeän ominaisuuksista.

Viitteet

[1] Vakkilainen, E. Kraft recovery boilers principles and practice Esa K. Vakkilainen 2nd pr. Helsinki University of Technology, Energy Engineering and Environmental Protection, 2007.

[2] Karami, R., Kankkunen, A., Ashgriz, N., ja Tran, H. Effects of flashing on spray characteristics of splashplate nozzles. TAPPI Journal, 2013.

LUONNONYHDISTEKEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ

BIOANALYTIKKAA LUONNONYHDISTEILLÄ: ASIANTUNTIJUUTTA, AMMATTITAITOA JA TYÖELÄMÄVALMIUKSIA

Prof. Juha-Pekka Salminen

*Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä,
Lääkekehityksen kemian linja, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto
s-posti: j-p.salminen@utu.fi*

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä toimii kolmella toisiaan saumattomasti tukevalla rintamalla: (1) *tutkimukseen perustuva opetus*, (2) *kilpailun rahoituksen tukema huippututkimus*, ja (3) *aktiivinen yhteiskunnallinen vuorovaikutus*. Näitä tehtäviä ei ole syytä laittaa arvojärjestykseen, mutta tietenkin tutkimus on yliopistossa kaiken keskiössä. Ilman ajankohtaista huippututkimusta ei voi olla tutkimukseen perustuvaa, nykyaikaisia työelämävaatimuksia tukevaa opetusta. Yhteiskunta tarvitsee myös enenevässä määrin tuekseen tutkittua tietoa, jota opiskelijoiden tuleekin oppia opintojensa aikana viestimään, korkeatasoisen tutkimuksen teon ohella. Yllä mainittu kolmirintama on hyvin kiinteä kokonaisuus, jossa kaikki osa-alueet tukevat saumattomasti toisiaan, antaen samalla opiskelijoille hyvän mahdollisuuden akateemisen asiantuntijuuden ja monialaisen osaamistaustan vankistamiseen.



Kuva 1. Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmän (NCRG, [Natural Chemistry Research Group](#)) tutkimuksen, opetuksen, yhteiskunnallisen vaikuttamisen ja miksei vapaa-ajankin käännteitä voi parhaiten seurata ryhmän [Instagram-tilin](#) kautta (yllä joitakin otteita). Ryhmässämme on nyt 24 LuK- ja FM-opiskelijaa, kahdeksan väitöskirjatutkijaa ja kolme väitellyttä tutkijaa/opettajaa.

TUTKIMUKSEEN PERUSTUVAN OPETUKSEMME TAVOITTEET

On toivottavaa, että opiskelija oppii yliopisto-opintojensa aikana sellaisia taitoja, joista on hänelle merkittävää hyötyä työelämään siirryttyä. Taitojen olisi hyvä kertyä sellaisella alalla, jolla *opiskelijan oma mielenkiinto ja motivaatio on huipussaan*. Tällöin jokaiselle opiskelijalle on mahdollista rakentaa sellainen teoriaopintojen ja käytännön laboratoriotöiden yhdistelmä, jonka kautta opiskelija voi *saavuttaa parhaan mahdollisen asiantuntemuksen*, josta on hyötyä myös opintojen jälkeen. Me luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä tuemme opiskelijan

asiantuntijuuden kehittymistä seuraavilla toisiaan täydentävillä tasoilla: (1) *akateeminen asiantuntijuus*, (2) *analytiikan asiantuntijuus* ja (3) *monialaisuuden asiantuntijuus*.

Akateeminen asiantuntijuus. Tämän tulee olla yksi kaikkein tärkeimpiä yliopisto-opiskelijan opintojen aikana saavuttamista asiantuntijuuden tasoista. *Maailma tarvitsee kipeästi viheliäisten ongelmien ratkaisuja ja niihin ratkaisijoita.* Luonnonyhdistekemian opetuksen näkökulmista tämä tarkoittaa, että isossa kuvassa seuraavien komponenttien on oltava osa kokonaisuutena tarjoamaamme luento- ja laboratoriotyökokonaisuutta: *relevantin tiedon etsiminen, oikean tiedon erottaminen vääristyneestä totuudesta, analyytinen ja looginen tiedon prosessointi, uuden luotettavan tiedon tuottaminen ja siitä ymmärrettävästi tiedottaminen.* Opiskelija pitää mielestämme altistaa tälle ilmapiirille toistuvasti. Opintojen loppua kohden oma-aloitteisesta ongelmanratkaisusta tulee toivottavasti onnistumisia tuottava, ja myös ruokkiva, tapa toimia. Tämä antaa myös mahdollisuuden työllistyä hyvin laajalla rintamalla erilaisiin asiantuntijatehtäviin.

Analytiikan asiantuntijuus. Lähes kaikki opetus- ja tutkimustoimintamme käsittelee analytiikkaa, sen eri tasoilla. *Analyytinen ajattelutapa ja analyytinen tapa toimia laboratoriossa* ovat oma maailmansa, joka luonnonyhdistekemian opiskelijan on hyvä omaksua opintojen kuluessa. Esimerkiksi *tarkka ja toistettava, kvantitatiivinen analyysi herkillä analyysilaitteilla* on tavoite, johon ei ole edes mahdollisuutta pyrkiä, ellei kaikki laboratoriossa tapahtuva toiminta ole hyvin tarkkaan määriteltyjen pelisääntöjen mukaista. Voi sanoa, että puhtaus on puoli ruokaa ja

”Puhtaus on puoli ruokaa ja tarkkuudesta tulee tehdä tavoite. Laadukkaan analytiikan aateliin pääsee vain pitävien protokollien ja pelisääntöjen puristuksessa.”

tarkkuudesta tulee tehdä tavoite. Kemiassa on kiva kokeilla ja kikkailla, mutta analytiikan aateliin pääsee vain pitävien protokollien puristuksessa.

Monialaisuus on nykypäivää. Yhden asian osaaminen ei ole nykyaikana se juttu. Mutta toisaalta: edes *yhden asian todellinen ja syvälinen hallinta* on kuitenkin paljon kunnioitettavampi tavoite, kuin *kaiken osaaminen pintapuolisesti*. Isojen globaalien haasteiden kuten *ilmastonmuutoksen ja luontokadon hillitseminen* ja tutkitun tiedon tuottaminen yhteiskunnallisen päätöksenteon tueksi vaatii todellisten, oman

alansa asiantuntijoiden muodostaman monialaisen verkoston työpanosta. Luonnontieteet ovat tässä työssä keskiössä, yhteistyössä muiden tieteenalojen kanssa. Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä opiskelijalle tarjotaan mahdollisuus altistaa, huippuanalytiikkaan perehtymisen ja syventymisen ohella, erilaisiin *biologiaa, biodiversiteettiä, biolääketeidettä, eläinlääketeidettä, markkinointia ja kaupallista hyödynnettävyyttä* lähellä oleviin hankkeisiin. Monialainen toiminta vaatii oman asenneilmaston, johon voi olla hyvä päästä tutustumaan jo ennen työelämään siirtymistä.

Tavoiteltavia ja tyypillisiä työtehtäviä luonnonyhdistekemistille. Luonnonyhdistekemisteille on olemassa tiettyjä analytiikan herkkutehtäviä. Tällaisia tehtäviä ovat esimerkiksi rikoskemisti, tullikemisti, tutkimus- ja kehitystehtävät lääketieteellisyydessä, tai laitevalmistajien asiantuntijatehtävät, joissa ratkotaan asiakkaan analytiikan ongelmat! *Muita tyypillisiä tehtäviä ovat laadunvarmistuskemisti, LC-MS/MS asiantuntija tai yleisemmin ottaen analytiikan asiantuntija.*

”Analytiikan herkkutehtäviä ovat mm. rikoskemisti, tullikemisti, tutkimus- ja kehitystehtävät lääketieteellisyydessä, tai laitevalmistajien asiantuntijatehtävät, joissa ratkotaan asiakkaan analytiikan ongelmat!”

Viime aikoina opiskelijoita ovat työllistäneet mm. Keskusrikospoliisi, Tulli, Bayer, Orion, Wallac, Radiometer, Neste, Kemira, Fortum ja Algol (Kuva 2).

Koska opiskelijamme voivat altistua myös monialaiseen tutkimusympäristöömme, on **luonnon ja ympäristön tutkimukseen keskittyneet tutkimuslaitokset**, kuten esimerkiksi Luonnonvarakeskus, yksi hyvin mielenkiintoinen ja merkittävä luonnonyhdistekemistien työllistäjätaho. Luonnollisesti **osa lahjakkaimmista opiskelijoistamme jatkaa aina väitöskirjaprojektin asti** ja siihen pyrimme tarjoamaan mahdollisuuden 1-2 opiskelijalle vuosittain.



Kuva 2. Luonnonyhdistekemialta valmistuvat kemistit työllistyvät tyypillisesti erilaisiin analytiikan asiantuntijatehtäviin (esim. Bayer, Orion, Wallac, Radiometer, Neste, Kemira, Fortum, Algol, Tulli ja Luonnonvarakeskus). Osa valmistuneista jatkaa väitöskirjatutkijana joko ryhmässämme, tai muissa analytiikan osaamista arvostavissa tutkimusyksiköissä. Myös ulkomaille työllistyminen on nykyään todella hyvä vaihtoehto.

HUIPPUTUTKIMUS TUKEE OPISKELIJAN TYÖLLISTYMISTAVOITTEITA

Luonnonyhdistekemian tutkimusprojektikonaisuuksissa uppoudutaan tyypillisesti seuraavan kaltaisiin tutkimushaasteisiin: (1) **analyttisten menetelmien kehittäminen, käyttö ja jatkokehittäminen**, (2) **harvinaisten biomolekyylien puhdistaminen, karakterisointi, bioaktiivisuus ja vuorovaikutustutkimukset**, (3) **laboratorioautomaation kehittäminen näytteenkäsittelyssä, kvantitatiivisessa analytiikassa ja datan käsittelyssä**.

”Analytiikan kehittämistarpeet lähitulevaisuudessa: (1) Kasvikunnan tuntemattoman kemiallisen monimuotoisuuden tehokkaampi detektointi. (2) Harvinaisten biomolekyylien uudet kromatografiset ja detektioon käytettävät menetelmät. (3) Potentiaalisten uusien antibioottien kartoitus, valmistaminen ja aktiivisuuden parantaminen.”

Analyttiset menetelmät keskiössä. Voi varmasti sanoa, että luonnonyhdistekemiassa kaikki ajatellaan analytiikan kautta. Analytiikan tasoja on sitten tarpeen mukaan runsaasti erilaisia ja mahdolliset puuttuvat tasot on tehty täydennettäviksi. Mikään ei ole nautinnollisempaa, kuin uusien, aiemmin näkymättömien yhdisteiden detektointi itsekehitettyillä menetelmillä! Tutkimuspuolellamme löytyy **aina uutta analyttistä**

kehitettävää, etenkin erilaisiin kromatografisiin, massaspektrometrisiin ja kuoppalevytekniisiin menetelmiin liittyen. Laajempien hankekokonaisuuksien rinnalla kulkee luonnollisesti myös pienempiä, kokonaisuutta tukevia rinnakkaislinjoja, joihin on mahdollista räätälöidä projektikonaisuuksia analytiikasta kiinnostuneille opiskelijoille (Kuva 3).



Kuva 3. Tänä lukuvuonna luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä kandi- ja maisteritöitä on tehnyt labrassa 22 opiskelijaa, joista kahdeksan esiintyy Kemian kevät '24 -tapahtumassa: Justus Hakamäki, Saku Halonen, Hanna Lammassaari, Tiina Seppänen, Siiri Suuronen, Amanda Teh, Tiia Myllymäki ja Tuuli Väisänen (kuvassa vain osa opiskelijoista, kaikki ovat [täällä](#)).

Harvinaisten biomolekyylien tutkiminen ja laaja hyödyntäminen. Tarkan analytiikan avulla voimme löytää kasvukunnasta jatkuvasti uusia, kiinnostavia yhdisteitä, jotka voivat olla muiden saavuttamattomissa. Yhdisteitä, joita kemisti ei pysty valmistamaan, mutta joita kemisti haluaisi pystyä tutkimaan ja käyttämään.

Harvinaisten biomolekyylien tutkiminen ja hyödyntäminen ovat aivan ryhmämme tutkimuskeskiössä. Tässä tutkimuslinjassa on elintärkeää pystyä puhdistamaan ja tunnistamaan kymmeniä toisiaan rakenteellisesti muistuttavia yhdisteitä. Vain siten on mahdollista saavuttaa yleistettäviä ja tarkkoja rakenne/aktiivisuustuloksia.

Kemistiähän ei sinällään kiinnosta se, että jokin yhdiste on aktiivinen. Kemisti haluaa tietää, miten aktiivisesta yhdisteestä saadaan se kaikkein aktiivisin, eli siis paras teho irti!

Aktiivisuuden perusteet pitäisi pystyä mallintamaan ja mallien pitäisi olla mahdollisimman yksinkertaisia. Vain siten arvokkaita aktiivisuustuloksia voidaan hyödyntää laajasti!

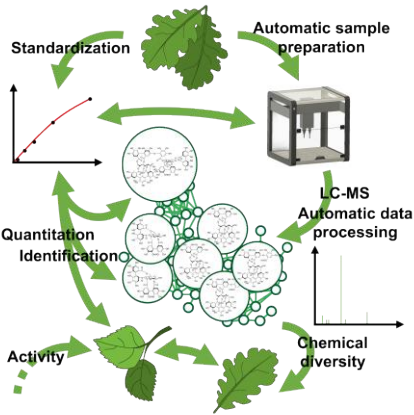
Kaikki nämä vuorovaikutustutkimukset puskevat toinen toistaan eteenpäin, kunhan akateeminen ja analyttinen tarkkuus ja tulosten yleistettävyys ovat aina kaiken tekemisen keskiössä. *Aktiivisuustulosten saumaton linkittäminen tarkan analytiikan tuella saataviin kvantitatiivisiin tuloksiin kasvukunnan biomolekyyleistä, voi siivittää tutkimusta kohti yhä parempien ja tehokkaammin hyödynnettävien yhdisteiden löytämistä*, jopa aiemmin kemiallisesti tuntemattomista kasvilajeista ja –suvuista.

Laboratorioautomaation kehittäminen on nykypäivää. Luonnonyhdistekemistin DNA:ssa hyvin syvällä on näytteenvalmistusmenetelmien, yhdisteiden puhdistusmenetelmien, analyysimenetelmien ja datankäsittelymenetelmien kehittäminen ja mahdollisimman pitkälle viety automatisointi. *Pipetointirobottien, automaattisten näytteenkäsittelijöiden ja ohjelmoitavien fraktiokeräimien tehokas käyttö on omiaan myös parantamaan tutkimuksen toistettavuutta, mikä ei ole ollenkaan vähäpätöinen asia.*

”On palkitsevaa huomata, miten harvinaisten, luonnosta peräisin olevien biomolekyylien avulla voidaan hillitä MRSA-bakteerin kasvua, parantaa antibioottien tehoa, ja jonain päivänä ehkä jopa korvata osa tehottomista antibiooteista.”

Tällä hetkellä ja lähitulevaisuudessa laboratorioautomaation kehityslinjat vankistavat ja etenkin tehostavat seuraavia tutkimuslinjoja: (1) *yhdisteryhmäspesifisten detektiomenetelmien jatkokehittäminen*, (2) *yhdistekirjaston kokoaminen harvinaisille biomolekyyleille*, (3) *kvantitatiivisten kalibraatiosuorien luominen kymmenille yhdisteryhmille ja useille sadoille yhdisteille*, (4) *yhdisteiden tunnistusmenetelmien kehittäminen*, (5) *datankäsittelyn automatisointi*, sekä (6) *kasvikemiallista dataa ja yhdisteiden kemiallisia ominaisuuksia esittelevän open-access tietokannan luominen*.

”Automatisointi ja digitalisaatio ovat kiinteä osa modernia kemiallista tutkimusta, etenkin luonnonyhdistekemian analytiikka-alueella. Kukapa ei haluaisi tehdä korkealuokkaista analytiikkaa entistä nopeammin, helpommin, pienemmillä ainemäärillä ja vieläpä halvemmalla?”



Kuva 4. Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmässä laboratorioautomaatioon panostaminen on hyvin oleellinen osa niin kvalitatiivista kuin kvantitatiivista tutkimusta. Automaation avulla on mahdollista nopeuttaa ja helpottaa monia analytiikan työvaiheita, mutta siitä ei saa tulla itse tarkoitus eli se on hyvä renki, mutta huono isäntä!

TUTKITULLA TIEDOLLA VAIKUTTAMINEN ON OSA AKATEEMISTA VASTUUTA

Tutkimusryhmien kolmas perustoiminto opetuksen ja tutkimuksen rinnalla jää usein vieraaksi niin opiskelijoille kuin suurimmalle osaa tutkimusryhmiäkin. Aika ja energia eivät ehkä enää tahdo riittää omien tutkimustulosten ymmärrettäväksi tekemiseen, vaikka se olisi nimenomaan kemian alalla todella tärkeää. *Liian usein kemia ja kemianteollisuus on nähty monien merkittävien ympäristöongelmien syynä*, puhutaan sitten ravintoketjussa akkumuloituvista pestisideistä, stratosfäärin otsonikadosta tai vesistöekologiaan vaikuttavista lääkeainejäämistä. *Kemian on korkea aika alkaa tarjota vastauksia* nykyisiin globaaleihin haasteisiin ja nämä vastaukset pitää pystyä artikuloimaan ymmärrettävästi, jotta niitä voitaisiin jatkossa käyttää päätöksenteon tukena. *Tässä työssä tulevaisuuden kemistit ja muut monitieteisyyttä tukevat luonnontieteilijät, ovat avainasemassa.* On muutoksen aika.

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä aloitti kesäkuussa 2021 *tiedetiedotushankkeen nimeltä Luonnollista kemiaa* ja sai sille 2023 Varsinais-Suomen kulttuurirahaston *kärkihankerahoituksen*. Hanke pyrkii maksimoimaan erilaisten kohderyhmien (lapset, nuoret, aikuiset) tietoisuuden ja kiinnostuksen kasvien kemiasta, bioanalytiikasta ja yleisesti luonnontieteistä. Sen vuoksi *hanke tuottaa runsaasti erilaista sisältöä niin nuoremmille kuin vartuneemmillekin tieteen ystäville* (Kuva 5).

Hankkeen tuottama materiaali on kaikkien saatavilla etenkin [YouTuben](#), mutta myös Instagramin ([@ncrg_utu](#) ja [#luonnollistakemiaa](#)), X:n ([#luonnollistakemiaa](#)), TikTokin ([@ncrg_utu](#)) tai [SoundCloudin](#) kautta.

Tiedevideoiden ja podcast-jaksojen julkaisemisen lisäksi hanke on jalkautunut voimakkaasti Turun yliopiston kasvitieteelliselle puutarhalle *kansainvälisesti täysin uuden konseptin avulla*. Puutarhalla vuosittain käyvät yli 100 000 vierailijaa saavat mahdollisuuden tutustua kasvilajien kemiaan uusien kasvikiemiakylttien ja niihin linkitettyjen lajivideoiden avulla. Samalla kun jatkamme paikallista tiedeyhteistyötämme, vahvistamme sitä edelleen myös muiden *kansainvälisesti arvostettujen kasvitieteellisten puutarhojen kanssa*. Tämän lisäksi olemme osana kärkihanketta aloittaneet laajat tutkimukset *suomalaisten ja trooppisten kasvilajien tuottamien yhdisteiden MRSA-aktiivisuudesta*. Tätäkin kautta voimme tehdä opiskelijoiden harjoitustöistä ja tutkimusprojekteista entistä kiinnostavampia ja kemiallisesti monipuolisempia! Hyvin harkitusta tiedeyhteistyöstä hyötyvät kaikki, eikä siitä ole pelkkää vaivaa!

”Tutkimuksella voi olla enemmän vaikuttavuutta, kun se linkittyy antibioottiresistenssin, ilmastonmuutoksen, luontokadon tai ympäristön kemikalisoitumisen kaltaisiin globaaleihin ilmiöihin. Nämä kaikki ovat tutkimuksemme kannalta hyvin relevantteja lyhyen ja pitkän aikavälin linkityksiä.”



Kuva 5. Luonnollista kemiaa tiede- ja tiedetiedotushanke on julkaissut yli 150 [tiedevideota](#) tai [podcast-jaksoa](#). Videot on jaettu hanketta esitteleviin (1), kasvikiemiaan keskittyviin (2), kasvitieteellisen puutarhan lajeista kertoviin (3,6), suomalaisista lajeista kertoviin (4,7) ja laboratoriotyövaiheista kertoviin videoihin (8). Lisäksi podcast-jaksoissa (5) on käyty läpi laajasti erilaisia kiinnostavia kasvikiemiateemoja. Väribändäys kertoo katsojalle kunkin jakson tematiikan.

Seuraa tutkimus-, opetus- ja vuorovaikutustoimintamme kehittymistä alla näkyvien kanavien kautta. *Tervetuloa keskustelemaan koska tahansa näistä aiheista kanssamme!*



Polyfenolien synteettiset polymerisaatio- ja stabilointimenetelmät

Justus Hakamäki

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

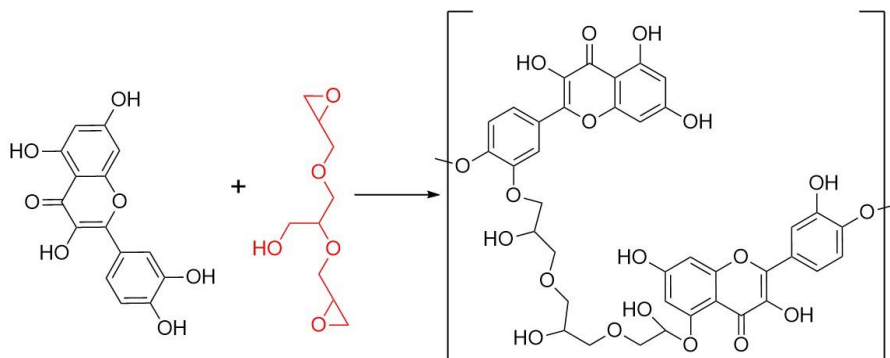


jojhak@utu.fi

Polyfenolit ovat kaikissa kasvilajeissa ja niiden kaikissa osissa esiintyvä laaja ryhmä yhdisteitä, joita on tunnistettu tuhansia erilaisia. Viimeisen vuosikymmenen aikana polyfenolit ovat olleet tutkimuksen mielenkiinnon kohteena, sillä niillä on paljon terveyttä edistäviä ominaisuuksia. Polyfenoleilla on havaittu esimerkiksi syöpää, Alzheimeria ja diabetesta ehkäiseviä sekä hoitavia vaikutuksia. [1]

Polyfenolien hyötykäytölle on ilmaantunut myös haasteita, joista suurin on niiden osittainen epästabiiliisuus. Rakenteesta riippuen, ne voivat haptettua tai hajota altistuessaan esimerkiksi valolle, lämmölle, hapelle tai metalli-ioneille. Polyfenoleja voidaan stabiloida polymerisoimalla niitä joko itsensä tai jonkin toisen linkkeriyksikön kanssa. Tällöin niistä voi tulla paitsi pysyvämpiä niin myös lääketieteellisesti aktiivisempia. Tässä tutkielmassa esitetään erilaisia synteettisiä polymerisaatiomenetelmiä polyfenoleille ja arvioidaan niiden hyötyjä ja haittoja polyfenolien erilaisissa sovelluksissa terveyden edistämiseksi. [1]

Erlaisia synteettisiä polyfenolien polymerisaatiotekniikoita ovat esimerkiksi vaiheittaiskasvupolymerisaatiot, joissa polyfenolimonomerejä kiinnitetään yksitellen toisiinsa kondensaatioreaktiolla käyttäen esimerkiksi aldehydiä linkkerinä ja entsyymikatalysoidut polymerisaatiot, joissa esimerkiksi hapetus-pelkistysreaktioita katalysoiva entsyymi helpottaa fenoksidiradikaalien muodostumista, mikä johtaa polyfenolien polymerisaatioon. [2]



Kaavio 1. Esimerkki vaiheittaiskasvupolymerisaatiosta.

Viitteet

[1] Kanti Bhooshan Pandey and Syed Ibrahim Rizvi, “Plant polyphenols as dietary antioxidants in human,” *Landes Bioscience*, vol. 2, no. 5, pp. 270–278, 2009.

[2] Susan Oliver et al., “Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules,” *Polymer Chemistry*, vol. 7, no. 8. Royal Society of Chemistry, pp. 1529–1544, Feb. 28, 2016.

Merellisten organismien tuottamien meroterpenoidien monimuotoisuus ja antibakteerinen aktiivisuus

Saku Halonen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

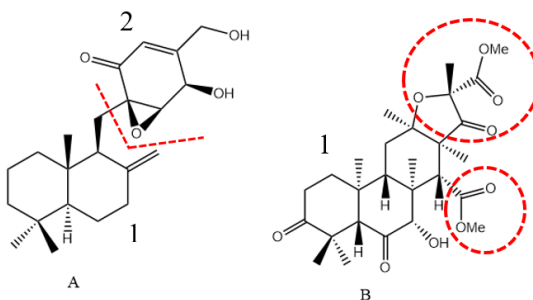


sakhal@utu.fi

Meroterpenoidit kuuluvat erikoistuneisiin metabolitteihin ja niitä löytyy monista eliöistä sekä maalla että meressä. Kasvit, bakteerit, eläimet, levät sekä sienet ovat meroterpenoidien tärkeimpiä tuottajia. Niitä valmistetaan erityisesti organismien kemiallisen puolustuksen tarpeisiin erilaisia terpenien ja muiden erikoistuneiden metaboliittien biosynteettisiä reittejä yhdistelemällä. [1]

Meroterpenoidien rakenne on kaksiosainen. Toinen osa koostuu terpenoidista ja toinen osa voi olla johonkin toiseen yhdisteluokkaan kuuluva yhdiste, kuten polyketidi. Kuvassa 1 on esitetty meroterpenoideja, joista makroforiini A:n (Kuva 1A) osa 1 on bisyklinen seskviterpeeni ja osa 2 sykloheksanonijohdannainen yhdiste. Nämä eri osat sitoutuvat toisiinsa metyleenisillalla. Terreusterpeeni A (Kuva 1B) koostuu diterpeenistä (osa 1) ja polyketidistä 3,5-dimetyyliorselliinihaposta (DMOA), jonka funktionaaliset ryhmät ovat ympyröitynä. [2] Meroterpenoidien rakenteella on suuri vaikutus niiden ominaisuuksiin. Suurin vaikutus on terpenoidiosaan sitoutuneella rakenteella, joka vaikuttaa eniten millaisia antibakteerisia ominaisuuksia yhdisteellä on. [3]

Meroterpenoideilla on ominaisuuksia, jotka tekevät niistä potentiaalisia lääkeaineita. Niitä ovat antioksidanttiset, antimikrobialiset, sytotoksiset ja anti-inflammatorialiset aktiivisuudet [1]. Näiden myötä meroterpenoideilla on todettu olevan aktiivisuuksia erilaisia syöpäsairauksia, viruksia sekä muita sairauksia, kuten Alzheimerin tautia vastaan [2]. Esimerkiksi makroforiini A on osoittautunut aktiiviseksi rintasyöpää, eturauhassyöpää ja myeloonista leukemiaa vastaan, kun taas terreusterpeeni A on ollut aktiivinen Alzheimerin tautia vastaan [2].



Kuva 1. Kahden meroterpenoidin rakenteet: makroforiini A (A) ja terreusterpeeni A (B).

Viitteet

- [1] Nazir M., Saleem M., Tousif M., Anwar M., Surup F., Ali I., Wang D., Mamadalieva N., Alshammari E., Ashour M., Ashour A., Ahmed I., Elizbit ja Hussain H., *Biomolecules*, **2021**, 11, 957.
 [2] El-Demerdash A., Kumla D. ja Kijjoo A., *Mar. Drugs*, **2020**, 18, 317.
 [3] Zhao M., Tang Y., Xie J., Zhao Z. ja Cui H., *EJMECH*, **2021**, 209, 112860.

Indoli- ja karbatsolialkaloidien MRSA-aktiivisuus: mekanismit ja rakenneaktiivisuusvuorovaikutukset

Hanna Lammassaari

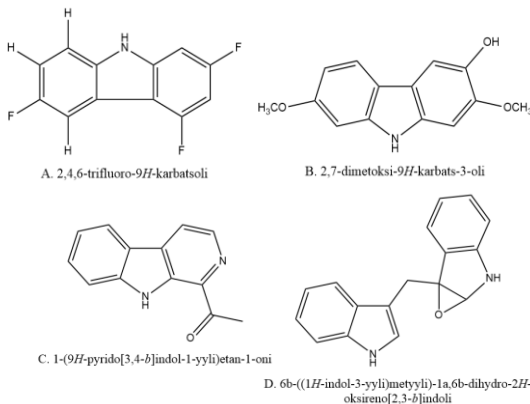
Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



helamm@utu.fi

Antibioottien liallinen käyttö ja väärinkäyttö ovat edesauttaneet resistenttien bakteerikantojen syntyä. MRSA eli metisilliinille resistentti *Staphylococcus aureus* on bakteerikanta, joka on vastustuskykyinen useille yleisesti käytössä oleville keskeisille antibiooteille. Luonnonyhdisteistä voidaan tulevaisuudessa saada yksi osaratkaisu antibioottiongelman ja alkaloidit ovat siihen potentiaalinen vaihtoehto. [1] Alkaloidit ovat tyypeä sisältävä, erikoistuneiden metaboliittien ryhmä, joita löytyy kasvi- ja eläinkunnasta jopa tuhansia erilaisia rakenteita. Tässä tutkielmassa keskitytään tarkemmin indoli- ja karbatsolialkaloideihin ja niiden MRSA-aktiivisuuteen. Indoli- ja karbatsolialkaloidit jakautuvat useaan eri alaluokkaan niiden kemiallisen rakenteen perusteella (kuva 1). [2]

Indoli- ja karbatsolialkaloideilla on useita mekanismeja, joilla ne vaikuttavat MRSA:han. Ne pyrkivät häiritsemään bakteerin ja sen solukalvon normaalia toimintaa inhiboimalla esimerkiksi sen proteiineja, entsyymejä ja reseptoreja sekä DNA-synteesiä. [3] Yhdisteiden rakenneaktiivisuutta voidaan parantaa huomattavasti modifioimalla rakennetta esimerkiksi oskygenaation, halogenoinnin tai dimerisoinnin kautta. Substituenttien lisäksi niiden asema yhdisteessä vaikuttaa antibakteriaaliseen aktiivisuuteen. [2]



Kuva 1. Halogenoitu karbatsolialkaloidi (A), oksygenoitu karbatsolialkaloidi (B), monoindolialkaloidi (C) sekä bisindolialkaloidi (D) ovat esimerkkejä indoli- ja karbatsolialkaloidien alaluokista ja kuvan rakenteet näihin luokkiin kuuluvista yhdisteistä, joilla on havaittu antibakteriaalista aktiivisuutta MRSA:ta vastaan.

Viiitteet:

- [1] Khan, N. A., Kaur, N., Owens, P., Thomas, O. P., & Boyd, A. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23, 1991.
 [2] Ding, Y. Y., Zhou, H., Zhang, B. Q., Zhang, Z. J., Wang, G. H., Zhang, S. Y., ... & Liu, Y. Q. *J. Med. Chem.* **259 (2023)** 115627
 [3] Liu, Y., Cui, Y., Lu, L., Gong, Y., Han, W., & Piao, G. *Arch Pharm.* **2020**;353:e2000120.

Flavonoidien antimikrobiaktiivisuuden parantaminen prenyloimalla

Tiina Seppänen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

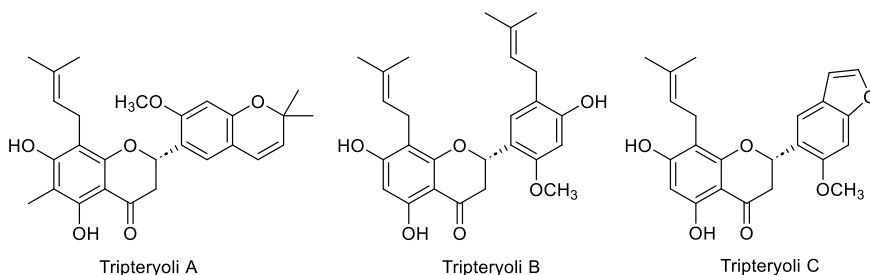


tksepp@utu.fi

Flavonoidit ovat tärkeitä kasveissa esiintyviä fenolisia yhdisteitä. Niillä on erilaisia biologisia aktiivisuuksia, joista lääkekehityksen kannalta yksi mielenkiintoisimmista on antimikrobiaktiivisuus. Antimikrobiaktiivisuuden ansioista flavonoideja voidaan hyödyntää mikrobilääkkeissä. Flavonoidien antimikrobiaktiivisuus riippuu pitkälti niiden rakenteesta, jolloin aktiivisuutta voidaan parantaa muokkaamalla yhdistettä kemiallisesti. Yksi tapa muokata flavonoideja on prenylointi. [1]

Prenyloidut flavonoidit rakentuvat flavonoidirungosta ja prenyylisivuketjusta. Näitä yhdisteitä löytyy useista kasveista, kuten *Tripterygium wilfordii* -lajista (kuva 1) [2]. Luonnossa näitä on kuitenkin saatavilla vain rajallisissa määrin ja tutkimuskäyttöä varten niitä onkin hyvä pystyä syntetisoimaan helposti saatavilla olevista yhdisteistä. Reaktioissa voidaan hyödyntää luonnosta saatavia prenyylitransferaasientsyymejä tai kemiallisia katalyyttejä. Kemiallisia katalyyttejä hyödynnettäessä tarvitaan usein kuitenkin useita reaktiovaiheita ja erilaisia suojayhdisteitä ei-toivottujen sivureaktioiden estämiseksi. [3]

Prenyloitujen flavonoidien parantunut antimikrobiaktiivisuus runkorakenteeseen verrattuna perustuu prenyylisivuketjun poolittomuuteen. Poolittomuus lisää yhdisteen lipofiilisuutta, jonka myötä yhdisteellä on mikrobeissa korkeampi affiniteetti kohdeproteiineihin ja toisaalta se pystyy vuorovaikuttamaan paremmin solukalvon kanssa. [3]



Kuva 1. Esimerkkejä luonnollisten prenyloitujen flavonoidien rakenteista *Tripterygium wilfordii*-lajista [2].

Viitteet

[1] Shi, S., Li, J., Zhao, X., Liu, Q., ja Song, S. J. *Phytochemistry*, **2021**, 191

[2] Chen, Y., Zhao, J., Qiu, Y., Yuan, H., Khan, S. I., Hussain, N., Iqbal Choudhary, M., Zeng, F., Guo, D. A., Khan, I. A., ja Wang, W. *Fitoterapia*, **2017**, 119, 64-68.

[3] Yang, X., Jiang, Y., Yang, J., He, J., Sun, J., Chen, F., Zhang, M., ja Yang, B. *Trends in Food Science and Technology*, **2015**, 1, 93-104.

Artemisiinin kvantitatiivinen LC-MS/MS-analytiikka

Siiri Suuronen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

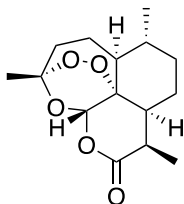


simsuu@utu.fi

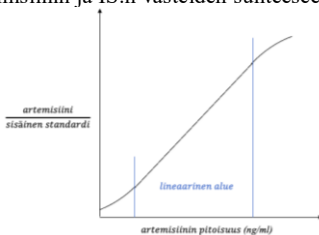
Artemisiini on kesämarunasta (*Artemisia annua*) alun perin löydetty seskviterpeenilaktoni. Erityisen kemiallisen rakenteensa (kuva 1) vuoksi artemisiini on merkittävä ja tehokas lääkeaine malarian hoidossa. Sen pitoisuus kasvilla voi kuitenkin olla alhainen ja vaihteleva etenkin erilaisissa marunasukuisissa kasvilajeissa. [1] Näiden syiden vuoksi on tärkeää pystyä määrittämään missä marunalajissa tai kasvinosissa artemisiinipitoisuus on korkeimmillaan, jotta artemisiinia voitaisiin hyödyntää tehokkaasti [2, 3].

Kasveissa esiintyvän alhaisen artemisiinipitoisuuden vuoksi näytteiden esikäsittely- ja analyysivaiheet pitää suunnitella huolellisesti. Esikäsittelyvaiheet pitävät usein sisällään uuton ja uutteen puhdistamisen, joiden avulla voidaan erottaa ja puhdistaa artemisiini muista komponenteista [4]. Analyysivaiheessa artemisiinille suosittu menetelmäkokonaisuus on ollut nestekromatografia (LC) yhdistettynä tandemmassaspektrometriaan (MS/MS). LC-menetelmistä erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografia (UHPLC) on osoittautunut varteenotettavaksi vaihtoehdoksi perinteisimmille menetelmille. Massaspektrometriassa kolmois kvadrupoli-massaspektrometria (QqQ-MS) usean reaktion seurantalassa (MRM-tila) on mahdollistanut artemisiinin selektiivisen kvantitoinnin. [3]

Luotettavan kvantitatiivisen tuloksen saamiseksi käytetään isotooppileimattua sisäistä standardia (IS) ja sen avulla muodostettua kalibrointikäyrää. IS:n avulla voidaan korjata näytteenvalmistuksessa syntyneet häviöt, ja kalibrointikäyrältä voidaan määrittää artemisiinin pitoisuus, joka on suoraan verrannollinen artemisiinin ja IS:n vasteiden suhteeseen (kuva 2). [5]



Kuva 1. Artemisiinin rakennekaava.



Kuva 2. Kalibrointikäyrä artemisiinin pitoisuuden määrittämiseen.

Viitteet

- [1] Numonov, S., Sharopov, F., Salimov, A., Sukhrovov, P., Atolikshoeva, S., Safarzoda, R., Habasi, M. ja Aisa, H. A., *Medicines*. **2019**, 6, 23.
- [2] Qiu, F., Wu, S., Lu, X., Zhang, C., Li, J., Gong, M. ja Wang, M., *Ind. Crops Prod.* **2018**, 118, 131–141.
- [3] Singh, P., Bajpai, V., Khandelwal, N., Varshney, S., Gaikwad, A. N., Srivastava, M., Singh, B. ja Kumar, B., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2021**, 193, 113707.
- [4] Liu, N. Q., Schuehly, W., von Freyhold, M. ja van der Kooy, F., *Ind. Crops Prod.* **2011**, 34, 1084–1088.
- [5] Pitt, J. J., *Clin. Biochem. Rev.* **2009**, 30, 19–34.

Antimikrobiaaliset metallifenoliset verkostot

Amanda Teh

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

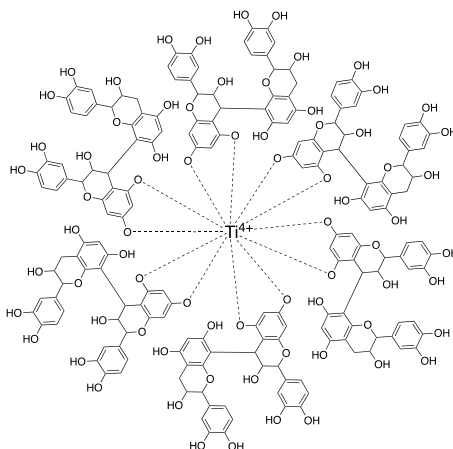


ammteh@utu.fi

Metallifenoliset verkostot (MPN) ovat orgaanisten polyfenolien ja epäorgaanisten metalli-ionien muodostamia hybridiyhdisteitä. Ne ovat rakenteeltaan supramolekulaarisia ja muodostuvat koordinaatioreaktiolla, jossa polyfenoliligandin hydroksyyli-ryhmät kelatoituvat metalli-ionin kanssa (kuva 1). Niillä on havaittu olevan monia lääketieteelliseen käyttöön sopivia ominaisuuksia, kuten antibakteeriset, antimikrobiaaliset, anti-inflammatoriset, antioksidanttiset ja bioyhteesopivat ominaisuudet. [1–3]

MPN:ssä esiintyvä antimikrobiaalinen ominaisuus perustuu polyfenolien ja metalli-ionien väliseen synergistiseen vuorovaikutukseen ja eri lähtöaineiden yhdistelmät vaikuttavat sekä kompleksien rakenteeseen että niissä esiintyviin ominaisuuksiin. [1] Esimerkiksi polyetyleeniglykolin (PEG) avulla valmistetuilla metallifenolisilla verkostoilla ja rauta ionin (Fe^{2+} tai Fe^{3+}) muodostamalla MPN-pinnoitteilla on havaittu olevan vaikutusta *E. coli* ja *S. epidermidis* –bakteereita vastaan. [2]

Kasvavan antibiootiresistenssin myötä tarve löytää uusia antimikrobiaalisia lääkkeitä on kasvussa. Metallifenolisten verkostojen hyvä antimikrobiaalinen ominaisuus tekee niistä monipuolisen biomateriaalin erilaisille lääketieteen käyttötarkoituksille. Verkostoja voidaan muokata useisiin eri käyttötarkoituksiin ja muotoihin, kuten nanopartikkeleiksi, hydrogeeleiksi, kapsleiksi sekä pinnoitteiksi. [1]



Kuva 1. Esimerkki titaanin ja proantocyanidiinien koordinoitumisesta [1].

Viitteet

- [1] Li, Y., Miao, Y., Yang, L., Wu, K., Lu, Z., Hu, Z., Guo, J., *Adv. Sci.* **2022**, 9, 2202684
 [2] Zheng, H., Bui, H., Chakraborty, S., Wang, Y., Huang, C., *Langmuir* **2019**, 35, 8829–8839
 [3] Wang, H., Wang, D., Yu, J., Zhang, Y., Zhou, Y., *Biomater. Sci.*, **2022**, 10, 5786–5808

Ionilähteessä syntyvien ionisuhteiden hyödyntäminen flavonoliglykosidien karakterisoinnissa ja kvantitoinnissa

Tiia Myllymäki*, Marianna Manninen, Suvi Vanhakylä ja Juha-Pekka Salminen

Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



tmamyl@utu.fi

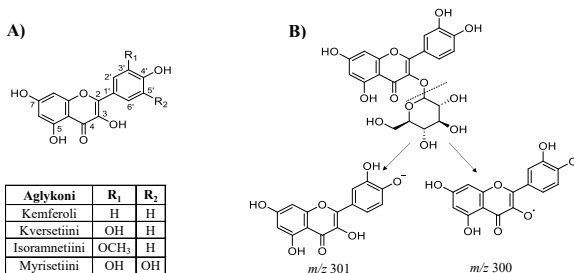
Abstrakti

Flavonolit ovat kasvien erikoistuneita metaboliitteja, joiden on esimerkiksi antioksidantiaktiivisuutensa vuoksi todettu olevan ihmisen terveydelle hyödyllinen luonnonyhdisteiden ryhmä. Analyysimenetelmistä erityisesti nestekromatografi-massaspektrometriset (LC-MS) menetelmät ovat osoittautuneet tehokkaiksi välineiksi näiden yhdisteiden tutkimisessa. On huomattu, että flavonolit tuottavat massaspektrometrin ionilähteessä fragmentoituttuaan aglykoni-ioneja sekä aglykoniradikaali-ioneja, kun käytetään negatiivista ionisaatiota. Tutkimuksessa pyritään selvittämään yhdisteiden rakenteesta johtuvat syyt aglykonionien ja aglykoniradikaali-ionien muodostumiseen sekä tutkia, voidaanko ionisuhteiden mallintamisesta saattaa tietoa hyödyntää myös kasviuutteissa esiintyvien flavonoliglykosidiseosten nopeaan karakterisointiin yhdisteryhmittäasolla.

Johdanto

Flavonolit ovat luonnossa esiintyviä polyfenoleja, jotka kuuluvat flavonoidien pääryhmään. Niitä on runsaasti esimerkiksi marjoissa, hedelmissä, vihanneksissa ja teessä. Flavonolit koostuvat C6-C3-C6 hiilirungosta, jossa kaksi benteenirengasta on yhdistetty toisiinsa heterosyklisellä pyraanirenkaalla. Flavonolien perusrakenteeseen on kiinnittynyt useita fenolisia hydroksyyliiryhmiä. Niiden vaihteleva määrä, liittymiskohta ja mahdollinen lisäsubstituutio aikaansaa laajan joukon rakenteellisesti erilaisia biologisesti aktiivisia yhdisteitä. [1]

Flavonoleja esiintyy kahdessa muodossa: aglykoneina ja glykosideina. Yleisimpiä flavonoliaglykoneja ovat kemferoli, kversetiini, isorammetiini ja myrisetiini (kuva 1A). Glykosideissa aglykonin on liittynyt yksi tai useampi sokeri, joista yleisimpiä ovat glukoosi, galaktoosi ja ramnoosi. [1] Aiemmat massaspektrometriset tutkimukset ovat osoittaneet, että glykosidit voidaan fragmentoida massaspektrometrin ionilähteessä niin, että aglykoniosat näkyvät vaihtelevasti joko aglykoni-ioneina ja/tai aglykoniradikaali-ioneina (kuva 1B) [2,3]. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, miten näiden ionien suhteelliset osuudet riippuvat tutkittavan flavonoliglykosidin rakenteesta.



Kuva 1. Työssä käytettyjen yli 100 erilaisen flavonoliglykosidin aglykonirakenteet (A) ja kversetiini-3-*O*-glukosidin fragmentoituminen aglykoni-ioniksi (*m/z* 301) ja aglykoniradikaali-ioniksi (*m/z* 300, B).

Materiaalit ja menetelmät

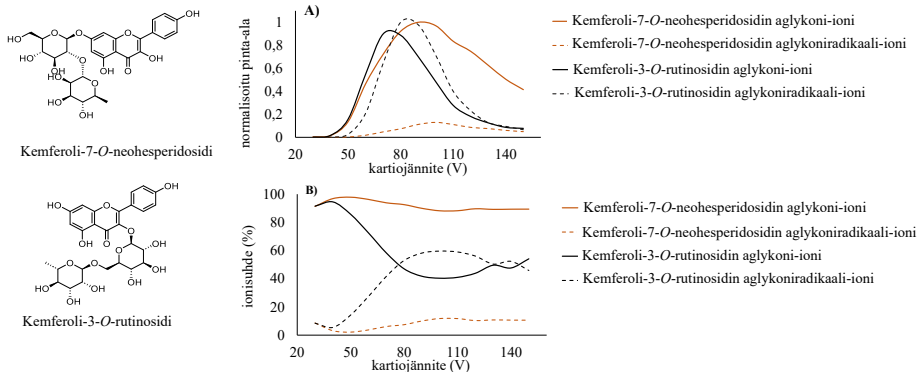
Työssä käytettiin näytteinä kaupallisia puhdasaineita sekä flavonolirikkaita kasviuutteita. Näytteet analysoitiin laitteistolla, joka koostui Watersin Acquity -erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografista (UPLC) ja Xevo TQ -kolmoiskvadrupolimassaspektrometrilla (Waters Corp., Milford, MA, USA). MS-laitteistossa käytettiin sähkösumutusionisaatiolähdettä (ESI).

Mittauksessa keskityttiin negatiiviseen ionisaatioon ja käytettiin kartiojännitteitä (CV) välillä 30–150 V. Näytteistä mitattiin täysskannausmassaspektrit, joista saatiin jokaiselle yhdisteelle aglykoni-ionien ja aglykoniradikaali-ionien kromatogrammit. Datasta integroitiin kyseisten ionien massapiikkien pinta-alat, joiden avulla voitiin tarkastella syntyneitä ionisuhteita.

Tulokset ja johtopäätökset

Tutkimuksessa huomattiin kolmoiskvadrupolimassaspektrometrin ionilähteen ja ioninohjaimen välisten asetusten vaikuttavan merkittävästi ensimmäiselle kvadrupolille ohjautuvien ionien suhteeseen. Näyte- ja uutokartioiden välisen jännite-eron (ns. kartiojännite) kasvaessa varsinkin flavonoliaglykonien ja 3-*O*-glykosidien ionisuhte muuttui selvästi dominoivasta aglykoni-ionista aglykoniradikaali-ionivoittoiseksi. Esimerkiksi kemferoli-3-*O*-rutinosidilla aglykoni-ionin osuus laski 90 %:sta 40 %:iin kartiojännitteen muuttuessa 40 V:sta 100 V:iin (kuva 2). 7-*O*-glykosideissa ionisuhte pysyi aglykoni-ionivoittoisena kartiojännitteestä riippumatta. 3,4'-diglykosideissa ionisuhteet vaihtelivat kartiojännitteen funktiona tavalla, joka muistutti 3-*O*- ja 7-*O*-glykosidien yhdistelmää. B-renkaan OH- ja OCH₃-ryhmien lukumäärän huomattiin myös vaikuttavan aglykoneista syntyneisiin ionisuhteisiin. Lisäksi osassa malliyhdisteistä nähtiin, että niiden rakenteiden aglykoniosat paitsi deprotonoituvat, niin myös hapettuivat, mikä havaittiin kaksi massayksikköä kevyemmästä aglykoni-ionista.

Työssä tullaan vielä selvittämään seitsemän malliaineen avulla ionisuhteiden riippuvuus yhdisteiden pitoisuudesta sekä erilaisten ionisuhteiden vaikutus glykosidien aglykoniosien fragmentaatioon. Lopuksi testataan, miten kaikkien malliaineiden avulla saavutettua ionisuhtetietoutta voidaan hyödyntää flavonoliglykosidiseosten nopeaan karakterisointiin suoraan yhdisteryhmäkohtaisilla UHPLC-MS/MS-menetelmillä saadusta kasvilajikohtaisesta datasta [4].



Kuva 2. Kahdesta erilaisesta ionisuhteesta kemferolijohdannaisesta fragmentoituneet aglykoni-ioni ja aglykoniradikaali-ioni kartiojännitteen funktiona (A) sekä ionisuhteiden kuvaaja (B).

Viitteet

- [1] Chagas, M., Behrens, M., Moragas-Tellis, C., Penedo, G., Silva, A. *Oxid Med Cell Longev.* **2022**.
- [2] Hvattum, E., Ekeberg, D. *J. Mass Spectrom.* **2003**, *38*, 43–49.
- [3] Engström, M., Päljälä, M., Salminen, J.-P. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (16), 4068–4079.
- [4] Vanhakylä, S., Salminen, J.-P. *Molecules* **2023**, *28* (17), 6388.

FLAVONIEN YHDISTERYHMÄSPESIFINEN UPLC-MS/MS-ANALYTIikka: NÄPPÄRÄN TYÖKALUN LUOMINEN FLAVONIRYHMIEN TUNNISTAMISEEN

Tuuli Väisänen¹, Marianna Manninen¹ ja Juha-Pekka Salminen¹

¹Luonnonyhdistekemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



atvais@utu.fi

Abstrakti

Flavonit ovat yleinen kasvien yhdisteryhmä, jolle ei vielä ole tehokasta ryhmäspesifistä analytiikkaa. Tässä työssä kehitettiin menetelmiä erilaisten flavoniryhmien havaitsemiseen nopeasti ja spesifisesti erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografian ja kolmoiskvadrupolimassaspektrometrian avulla. Flavonien alaryhmiä oli viisi, ja näille kehitettiin ryhmäspesifiset MS/MS-menetelmät 49:n malliyhdisteen avulla. Lopuksi menetelmien toimivuus testattiin yhdisteseoksilla ja kasviuutteilla, jotta saatiin käsitys luotujen menetelmien tarkkuudesta.

Johdanto

Flavonit ovat yleisiä kasveista löytyviä flavonoideihin kuuluvia yhdisteitä, jotka voidaan erottaa muista flavonoideista C-renkaan rakenteellisten erojen perusteella (Kuva 1). Flavonit yhdessä muiden flavonoidien kanssa suojaavat kasveja niin eläviltä kuin elottomiltakin tekijöiltä, ja lisäksi niillä on terveydelle hyödyllisiä ominaisuuksia. Näitä ovat esimerkiksi kyky toimia antioksidantteina ja ehkäistä tulehduksia. [1]

Yhdisteryhmäspesifisiä usean reaktion seurantaan (engl. multiple reaction monitoring, MRM) perustuvia menetelmiä on jo luotu useammalle muulle yhdisteryhmälle, kuten ellagitanniineille, gallushappojohdannaisille sekä kemferoli- ja myrisetiini johdannaisille. [2] Tässä menetelmätavassa yhdisteet fragmentoidaan hallitusti ionilähteessä, jotta niiden rakenteelle spesifinen funktionaalinen ryhmä voidaan edelleen tunnistaa tarkasti sille luodulla MRM-menetelmällä.

Flavoneille ei vielä ole tällaista menetelmää. Työn tavoitteena oli luoda niille ryhmäspesifinen MRM-menetelmä, joka kykenee spesifisesti detektoimaan, sisältääkö kasviuute flavoniglykosideja ja mihin alaryhmään nämä flavonit kuuluvat.

Materiaalit ja menetelmät

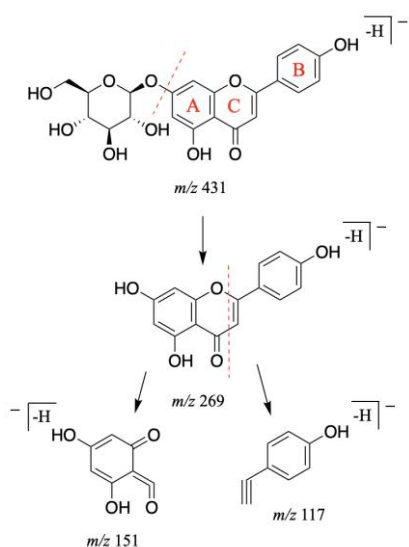
Menetelmän kehitykseen käytettiin Acquity UPLC-DAD-laitteistoa, joka oli liitetty sähkösumutusionisaatiolähteen (ESI) välityksellä Xevo kolmoiskvadrupoli -massaspektrometriin (Waters Corp., Milford, MA, USA). Kolonne oli Acquity UPLC BEH -fenyylkolonne (Waters Corp., Irlanti) ja gradienttina käytettiin 9,5 minuutin polyfenoleille optimoitua gradienttia.

Optimointi suoritettiin 26 kaupallisella puhdasaineella sekä 23 kasviuutteista löytyvillä flavoniglykosideilla. Kartiojännitteen (CV) optimoinnissa jännitteet olivat positiivisella ionisaatiolla 10–140 V ja negatiivisella 20–150 V. Seuraavaksi valittiin flavoniaglykoneja vastaavat prekursori-ionit, joita fragmentoitiin 5–50 eV:n suuruisilla törmäysenergioilla (CE). CE-tulosten perusteella jokaiselle aglykonille valittiin useampi fragmentti MRM-testeihin. Tavoitteena oli, että lopullisen MRM-menetelmän kvantitatiivisen ja kvalitatiivisen siirtymän yhdistelmä olisi mahdollisimman luotettava eikä havaitsisi esimerkiksi tiettyjä flavonoleja, joiden aglykoniosalla on sama massa kuin luteoliinilla. Kaikille yhdisteille optimoitiin myös vastaava yhdistespesifinen MRM-menetelmä. Menetelmät validointiin eli määritettiin herkkyys, toistettavuus, havaitsemis- ja määrittäysraja (LOD ja LOQ) sekä lineaarisuusalue.

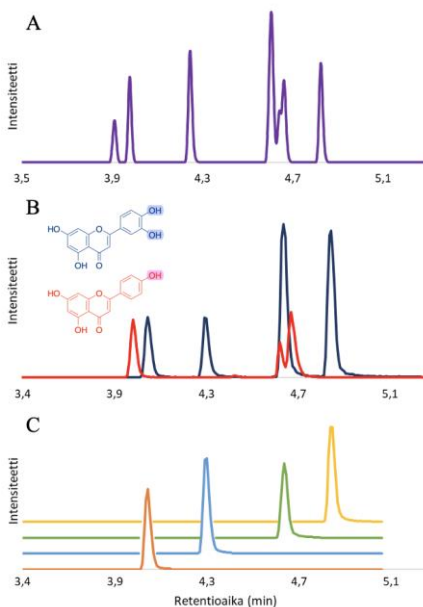
Tulokset ja johtopäätökset

Flavoniglykosidien yhdisteryhmäkohtaisiin CV-optimointeihin sopi parhaiten niiden aglykonionit. Mono- ja diglykosidien kohdalla sokerosiat irtosivat aglykonista pienemmillä kartiojännitteillä kuin näitä suurempien oligoglykosidien kohdalla. Ionien intensiteetit olivat pääsääntöisesti korkeampia positiivisella kuin negatiivisella ionisaatiolla. CE-tulosten perusteella valittiin kullekin aglykonille sopivat fragmentit ja näille CE, jolla saatiin intensiivisin fragmenttioni. Aglykoniosien fragmentaatiosta oli samankaltaisuutta. Esimerkiksi apigeniinin fragmenttioni m/z 117 ja vastaavasti luteoliinin m/z 133 ovat peräisin retro-Diels-Alder-fragmentaatiosta (RDA) (Kuva 1) [3]. Toinen yleinen fragmentti oli m/z 151, joka tulee myös RDA-fragmentaatiosta.

Luotuja menetelmiä testattiin erilaisilla yhdisteseoksilla ja kasviuutteilla. Yhdisteseoksen eri flavonijohdannaiset onnistuttiin erottamaan uudella ryhmäspesifisellä MRM-metodilla ja yksittäiset yhdisteet yhdistespesifisillä MRM-metodeilla (esimerkki Kuvassa 2). Näin ollen yhdellä ryhmäspesifisellä menetelmällä voidaan detektoida monta erilaista flavoniglykosidia, kun taas yhdistespesifinen menetelmä havaitsee vain yhden yhdisteen.



Kuva 1. Apigeniini-7-*O*-glukosidin fragmentaatio tuottaa aglykonispesifisen ionin (m/z 269) ja sille kaksi tuoteionia (m/z 151 ja 117). [3]



Kuva 2. Kahdeksan flavoniglykosidin UPLC-kromatogrammit kolmella detektiotavalla: UV (280 nm, A), apigeniini- (punainen) ja luteoliini johdannaisien (sininen) MRM-menetelmä (B) sekä yhdistespesifiset MRM-menetelmät neljälle luteoliini johdannaiselle (C).

Viitteet

- [1] Jiang, N., Doseff, A.I. ja Grotewold, E., *Plants*. **2016**, 5, 27.
- [2] Engström, M.T., Päljijärvi, M. ja Salminen, J.-P., *J Agric Food Chem*. **2015**, 63, 4068–4079.
- [3] Fabre N., Rustan, I., De Hoffmann, E. ja Quetin-Leclercq, J., *J Am Soc Mass Spectrom*. **2001**, 12, 707-715.

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF NOVEL GROUP-SPECIFIC ANALYTICAL TOOLS FOR BIOACTIVE NATURAL COMPOUNDS

Ville Fock

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



vafock@utu.fi

Research Director: Prof. Juha-Pekka Salminen

Supervisor(s): Prof. Juha-Pekka Salminen and Dr. Marica Engström

Funding: Silvateam, Department of Chemistry, Magnus Ehrnrooth

Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

The doctoral thesis aims to develop sensitive and selective compound and group-specific tandem mass spectrometric analysis methods (Figure 1) for bioactive compounds in plants and insects. The methods enable rapid and accurate screening of compound groups, providing more information about the compounds in the plant kingdom and their distribution across various plant species and families. The acquired information can be utilized for plant protection and harnessing plants for numerous purposes.

In addition to the above-stated objectives, the aim is to screen the plant kingdom as widely as possible with the created methods to quantitatively and qualitatively analyze plant species in the hope of finding new compounds unknown to science or finding known compounds from new plant species or even new plant families. Furthermore, a critical part of the method development involves the meticulous determination of limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) where multiple different techniques and formulas will be used to calculate the LODs and LOQs as precisely as possible. Simultaneously, a comparison of the novel group-specific MS/MS methods against corresponding compound-specific tools will be used to verify all the positives and possible negatives of the new methods created.

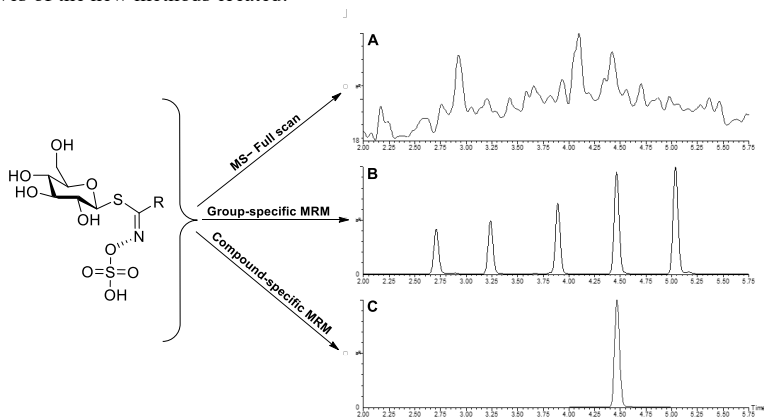


Figure 1. Illustration of the LC-MS detection for glucosinolates in negative ionization mode: full scan chromatogram (A), group-specific MRM chromatogram (B), and compound-specific MRM chromatogram (C).

Main results so far

So far, a substantial portion of the requisite materials essential for the doctoral research has been procured. These include plant species, commercially acquired and purified standards, as well as insects. Qualitative analyses have been conducted on over 20 plant species belonging to four distinct plant families, comprising various plant parts (i.e., flower, berry, leaf, stem, seed, root). This scrutiny has yielded the identification of more than 150 compounds and over 30 different genins (Figure 2). Furthermore, the acquisition and analysis of more than 70 standards have facilitated the generation of validated data and the elucidation of fragmentation patterns specific to cardiac glycosides. Also, a comprehensive solid-phase-extraction (SPE) procedure has been systematically executed on all plant samples to eliminate impurities and purify the cardiac glycosides present within them.

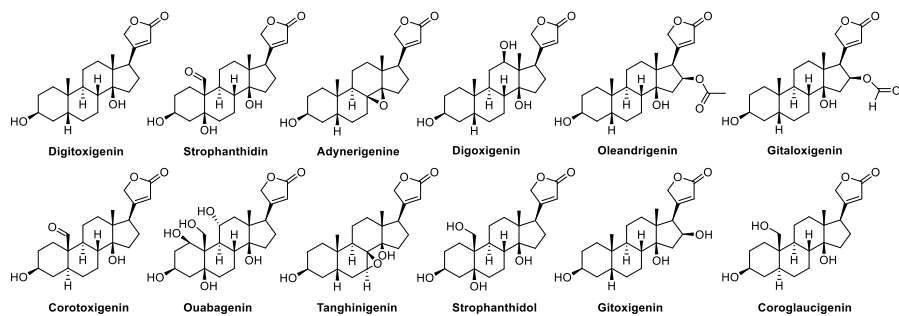


Figure 2. Common cardiac glycoside genins (cardenolides) found in different plant species.

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

The advancement of novel analytical techniques for the study of plant metabolites has opened up new avenues for screening compound groups in both known and unknown plant species, potentially influencing the preservation of endangered plants. The widespread deforestation of entire ecosystems is driving many plants to the brink of extinction, especially those with completely uncharted compound profiles, which could be lost forever to science. Conversely, the complex polymeric compounds found in mass-produced polyphenol extracts remain incompletely understood. Grasping the intricacies and recognizing these industrial extracts is paramount, particularly in the extraction of polyphenols, where vast quantities of waste streams are generated due to the presence of unknown compounds.

The developed tandem mass spectrometric methods will prove beneficial to our research group and other research groups, enabling the identification and quantification of compound groups and individual compounds for bioactivity assessments and compound screening. Also, the diversity and abundance of the studied bioactive compounds provide insights for other researchers about the appearance of cardiac glycosides and glucosinolates in the plant kingdom. Moreover, the precise high-resolution mass spectrometry (HR-MS) data obtained from all the studied bioactive compounds and their characteristic fragment ions contribute to a comprehensive understanding of these compounds.

Papers to be included in the PhD thesis

There are no publications yet to be included in the PhD thesis.

FAST AND SENSITIVE UHPLC-MS/MS-BASED TECHNIQUES FOR EARLY DIAGNOSTICS OF LYME BORRELIOSIS AND NEUROBORRELIOSIS

Ilari Kuukkanen

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



ilari.j.kuukkanen@utu.fi

Research Director: Prof. Juha-Pekka Salminen

Supervisor(s): Doc. Maarit Karonen and Assoc. Prof. Jukka Hytönen

Funding: Sakari Alhopuro Foundation (2022-2023), Turku University Foundation

Estimated time of PhD dissertation: 2025

Main aims of the PhD research

Lyme borreliosis (LB) is an infectious disease caused by members of the spirochete bacterial group *Borrelia burgdorferi* sensu lato and is transmitted by ticks from the genus *Ixodes*, making it the most significant tick-borne infectious disease globally. Lyme neuroborreliosis (LNB) is a manifestation of disseminated LB infection that has reached the central nervous system. Due to the high incidence and severe nature of the infection, there is an urgent need for a faster, more straightforward, and sensitive diagnostic methods. Currently, diagnosing early LB infection relies solely on a clinical examination because the infection-specific antibodies take several weeks to develop. Disseminated LB can be diagnosed from the patient's blood sample, but diagnosing LNB requires a sample of cerebrospinal fluid (CSF) obtained via invasive lumbar puncture. My PhD research aims to design a sophisticated metabolomics-based analytical approach by utilizing ultrahigh-performance liquid chromatography integrated with tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). This method specifically targets low molecular weight metabolites (<1500 Da), which serve as distinctive biomarkers and are indicative of the metabolic pathways affected by the infection. By leveraging this analytical method, we aim to develop a routine diagnostic platform for LB/LNB infection. This platform also seeks to differentiate between treated and ongoing infections and to diagnose LNB patients directly from blood serum samples, eliminating the need for CSF analysis.

Main results so far

Metabolite profiling using MS-based techniques has shown promise in distinguishing between early LB patients and healthy controls. However, there remains a notable research gap in utilizing metabolomics for diagnosing disseminated LBs. Our in-depth serum *in silico* metabolomic analysis for LNB, revealed a vast array of 26,798 low molecular weight metabolites, i.e. molecular features (MFs). Employing a dual-tiered biostatistical strategy, we comprehensively compared metabolomic changes within individual patients as well as across different individuals. This approach revealed 1,746 MFs with very high statistical significance ($p < 0.001$), emphasizing the need for a systematic biostatistical approach to handle the inherent sensitivity of metabolomic data to technical and individual variations. Further manual inspection delved into identifying 91 MFs demonstrating the most significant alterations between acute and post-treatment LNB samples [1]. These findings not only illuminate the intricate dynamics of LNB infection but also offer invaluable insights into the metabolic shifts associated with the disseminated disease. Moreover, we will be comparing the LNB serum metabolomic data with forthcoming CSF data that will be analyzed during the spring of 2024. Excitingly, our serum data analysis has laid the groundwork also for the development of a robust machine learning model, currently in its preparatory stages. This cutting-edge approach

holds promise for enhancing diagnostic accuracy in LNB. The overall project cycle is presented in Figure 1.

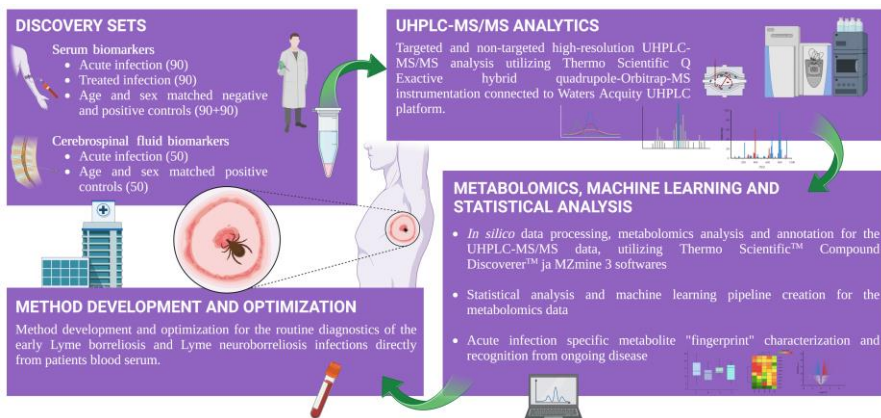


Figure 1. Planned project life cycle.

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

My research, deeply rooted in metabolomics and leveraging advanced UHPLC-MS/MS analytics and methodology, constitutes a cornerstone of the robust analytical expertise for which the Natural Chemistry Research Group is renowned. Moreover, this study is conducted in close collaboration with the Institute of Biomedicine at the University of Turku, exemplifying a true interdisciplinary approach. The ultimate goal of this research is to rethink LB and LNB diagnostics, making the process more efficient and enabling a prompt initiation of patient treatment. By achieving this objective, we anticipate a twofold impact: reducing healthcare costs associated with LB infections and establishing a foundation for the development of a commercial kit for LB and LNB infection testing. With our innovative approach, we aim to streamline the diagnostic process, ensuring that patients receive timely and accurate treatment. Moreover, in paving the way for a commercial testing kit, we seek to facilitate widespread access to reliable diagnostic tools. Another crucial aspect is that the methodology has the potential to be applied to a wide range of inquiries involving various infections and diseases in the future.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Kuukkanen, I., Pietikäinen A., Rissanen T., Hurme, S., Kortela, E., Kanerva, M., Oksi, J., Hytönen, J., Karonen, M., **2024**, manuscript under preparation.

QUANTITATIVE PROFILING OF THE CHEMICAL DIVERSITY IN THE PLANT KINGDOM

Niko Luntamo

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



nitalu@utu.fi

Research Director: Prof. Juha-Pekka Salminen

Supervisor(s): Dr. Marica Engström, Prof. Juha-Pekka Salminen

Funding: Department of Chemistry, Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences,
Doctoral Programme in Exact Sciences, Finnish Cultural Foundation

Estimated time of PhD dissertation: 2025

Main aims of the PhD research

There are at least thousands of specialized metabolites in the plant kingdom. The most widely distributed group of metabolites are the polyphenols. These can be found in every plant species, often at high levels and they play key roles in plant defense. It has been shown that these compounds have many types of relevant bioactivities that can be used to benefit human and animal health, and the environment as well. Plants also produce for instance alkaloids, glucosinolates, cyanogenic glycosides and terpenoids but the actual chemical diversity of the plant kingdom is still uncharted, not to mention quantitative knowledge of individual metabolites. We have already created a fast and accurate analytical platform that utilizes ultra-high performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS) (Thermo Orbitrap QExactive). The platform can be used for qualitative and quantitative analysis of hundreds or even thousands of individual specialized metabolites when it is combined with automatic data processing tools. Eventually, qualitative and quantitative compound-specific or compound group-specific chemical diversity of different species can be defined and decisions can be done how the incidence of metabolite groups and more specifically individual metabolites are linked to the plant tree of life.

Main results so far

UHPLC-HRMS analysis platform for accurate quantitation and method for determination of the chemical diversity count have already been developed. Also, fast and simple metabolite purification protocol was created to be able to purify hundreds of individual compounds from selected plant species. The gathering and analyzing of standard compounds is in good progress. Thus, we can create our own calibration curves for all purified compounds from various metabolite groups and perform as accurate mass spectrometric quantitation as possible. The pool of standard compounds is further increased with chromatographically pure compounds in plant extracts and fractions by adjusting their calibration curves using structurally similar model compounds.

Currently, we are studying the compound-specific composition of the oak species (*Quercus*). We reveal quantitative trends of individual compounds during the growing season, but also, structural differences in the compounds produced by different oak species. It is assumed that the chemical defense has specialized along with the phylogenetic development. The other way around, it might be possible to predict the evolutionary development of the plants based on their chemical composition or at least give us knowledge on how and in which kind of environment plant species have developed from the chemical point of view. Another interesting sight would be if the chemical defense of plants is based on diversity of different compounds instead of bioactively excellent structural properties.

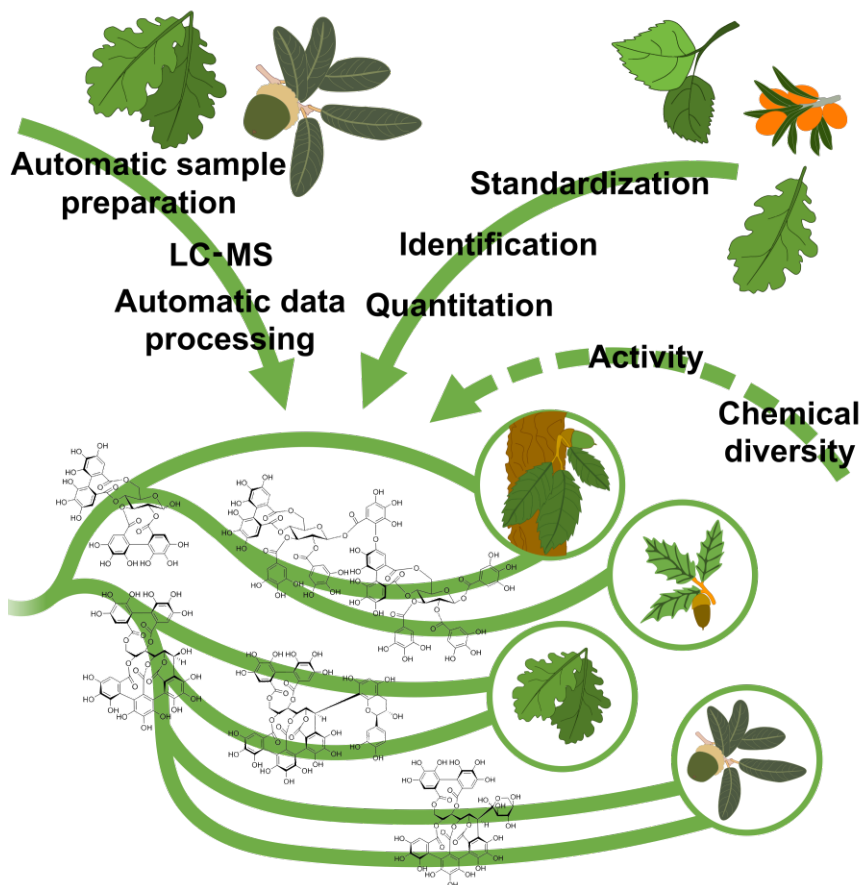


Figure 1. Qualitative information is combined with absolute quantitation data produced with compound specific standards giving possibility to find chemical linkages in the plant tree of life.

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

My PhD research is strongly linked to Natural Chemistry Research Group's effort to understand chemistry behind the evolution of plants and how certain metabolites or metabolite groups are linked to it. On the other hand, loss of biodiversity also causes loss of chemical diversity, which can be charted with quantitative data to be produced in this study. Fundamental quantitative compound specific data have not earlier been available, since most past studies have focused on a few species and many compounds, or many species, but only a few compounds.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Luntamo, N., Vanhakylä, S., Kuukkanen, I., Pearce, I. S., Salminen, J.-P., 2024, Seasonal variation of tannins and other polyphenols in leaves of 55 oak species. Manuscript in preparation.

INTERACTIONS BETWEEN TANNINS AND ANTHELMINTICS – MOLECULAR ASPECTS AND MECHANISMS

Mimosa Sillanpää

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



mamsil@utu.fi

Research Director: Prof. Juha-Pekka Salminen

Supervisor(s): Doc. Maarit Karonen, Doc. Petri Tähtinen and Dr. Marica Engström

Funding: LipidET project funded by the Academy of Finland (2017–2021, decision 310549), Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences (PCS), Doctoral Programme in Exact Sciences (EXACTUS), University of Turku Joint Research Grant Fund, and the Finnish Concordia Fund

Estimated time of PhD dissertation: 12/2024

Main aims of the PhD research

Tannins are a large group of specialized plant metabolites that are known to have many benefits in the ruminant forage, such as improved milk production, reduced methane emissions and anthelmintic effects. The correct utilization of tannins would therefore be a sustainable way to improve both the economy of ruminant production and the health of the animals. The anthelmintic effects of tannins could be especially powerful against multiresistant nematode strains, and the current research target is to use them as complementary nutraceuticals combined with commercial anthelmintics. However, there are only few studies on tannin-anthelmintic interactions, and the results from these indicate that combining anthelmintics and a tannin-rich diet could have either positive or negative short- and long-term consequences on animal health. Therefore, a deeper understanding of this interaction is critical when a tannin-rich diet and oral commercial anthelmintics are combined. In my PhD work, I study the interactions between tannins and anthelmintics to expand our knowledge on this topic. The work consists of chemical analyses using purified tannins to examine how the structural features and physico-chemical properties of tannins affect the strength and mechanisms of the interaction.

Main results so far

My research methods consist primarily of isothermal titration calorimetry (ITC) analyses, by which we are able to measure the heat released or absorbed by the direct interactions between the two components under inspection. ITC is a powerful technique to study the thermodynamics of different interactions, and thereby, to determine the corresponding binding constant (K_a), the enthalpy of binding (ΔH) and the stoichiometry or the number of binding sites (n) (Figure 1). In a typical ITC measurement, a ligand solution is titrated into a macromolecule solution in the sample cell. The instrument detects the reaction heat caused by the ligand-macromolecule interaction by measuring the temperature difference between the sample cell and the reference cell. The temperature difference is then compensated by cooling or heating the sample cell to match the temperature of the reference cell, depending on if the reaction in question is exothermic or endothermic.

So far, we have been able to prove direct interactions between a commercial anthelmintic, thiabendazole (TBZ), and various selected hydrolysable tannins (HTs) [1]. We used a series of HTs with different structural characteristics and were able to systematically link the structural variables to the observed ΔH s revealing the strengths of the interaction. By these investigations, we were able to determine that the most beneficial structural characteristics of HTs were the increasing

number of freely rotating galloyl groups and overall molecular flexibility (Figure 1). Interestingly, while the molecular weight had an increasing effect on the interaction strength, the degree of galloylation took clear precedence. Currently, we are investigating the interactions of TBZ with another group of tannins, proanthocyanidins (PAs) [2]. As suspected, also PAs interact with the chosen anthelmintic and similar structural characteristics of tannins play major roles in these interactions. However, slight differences between the two datasets can be observed, indicating different binding mechanisms.

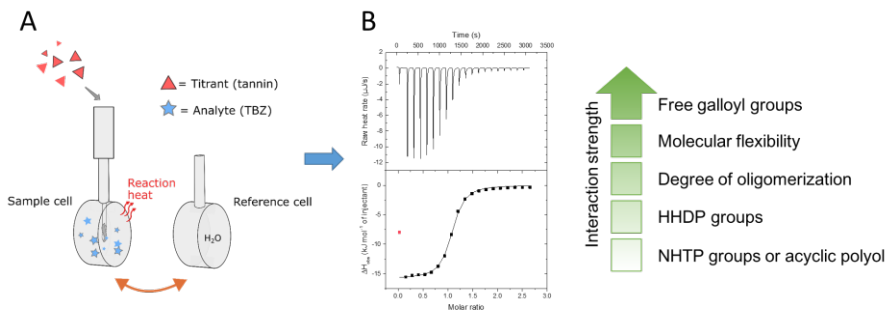


Figure 1. The basic principle of isothermal titration calorimetry (A) and the data obtained from a single measurement (B). The thermogram (B, upper panel) is first integrated, and a molar heat of injection vs. the molar ratio graph (B, lower panel) is obtained. From this plot, the thermodynamic parameters of the interaction such as molar enthalpy (ΔH), binding affinity (K_a), and binding stoichiometry (n) can be determined. On the right is shown the order of how different structural characteristics of hydrolysable tannins affect the interaction with thiabendazole (TBZ). HHDP = hexahydroxydiphenoyl, NHTP = nonhydroxytriphenoyl.

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

Our research group has previously demonstrated many types of structure-activity patterns linked with tannins and their interactions with various species and stages of ruminant nematodes. These positive effects of tannins to ruminants have also been confirmed *in vivo* by other research groups. This research is a continuation for these previous studies and the knowledge gained from my PhD work is a step towards either partially replacing the use of commercial anthelmintics with tannin-rich plants, or to use these complementarily in a safe and economically feasible manner. As the research area is still relatively unknown with only few published studies, this work will expand our knowledge on the subject and have an effect on the agricultural and veterinary fields, along with its scientific impact. The use of purified and well-characterized tannins will result in novel insights on the molecular aspects of the interaction in question and will pave the way for more efficient and safe use of anthelmintics and tannin-containing plants.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Sillanpää, M.; Engström, M.T.; Tähtinen, P.; Green, R.J.; Käpylä, J.; Näreaho, A.; Karonen, M., *Molecules* **2023**, *28*, 5261.
2. Sillanpää, M.; Engström, M.T.; Tähtinen, P.; Green, R.J.; Käpylä, J.; Näreaho, A.; Karonen, M., **2024**, manuscript under preparation.

ELLAGITANNINS AND PROANTHOCYANIDINS: STUDIES ON CULTIVATION, BIOSYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Jussi Suvanto

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



josuva@utu.fi

Research Director: Prof. Juha-Pekka Salminen

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

Funding: NCRG Research Services, Kemian Päivien Säätiö

Estimated time of PhD dissertation: 12/2024

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 how the ellagitannins (ETs) present in these species could be used as antimicrobial agents, and (3) study the biosynthesis of proanthocyanidins (PAs) in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in both the berry during its development and other plant parts.

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.

The manuscript for Goal 2 is nearing completion and will provide details on how the structural features of ETs affect their antimicrobial activity against the Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Pseudomonas aeruginosa*. While the two bacteria acted very differently compared to one another, significant correlations between the structural features and measured activities were found for both. Based on these results, models were created to predict the antimicrobial activity of any ET against *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

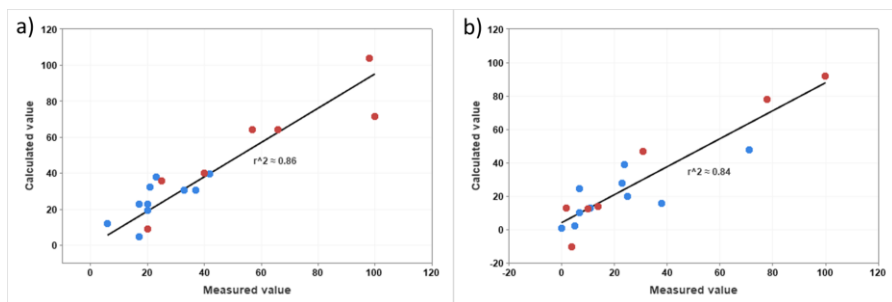


Figure 1. Comparing the measured and calculated antimicrobial activities of ETs against *S. aureus* (a) and *P. aeruginosa* (b).

The article studying the PA biosynthesis in *V. myrtillus* (Goal 3) was published in 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, ie. the sum total 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.

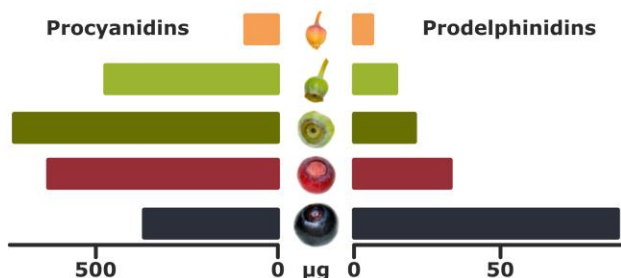


Figure 2. The accumulation of soluble procyanidins and prodelphinidins in *V. myrtillus*.

The 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. The second paper will provide to predict the antimicrobial activities of any given ET, easing the work of assessing which ETs to include in future studies and which to focus on in growing in cell cultures.

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

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., Rischer, H., Puupponen-Pimiä, R., Salminen, J.-P., Nohynek, L. Structure-Activity Patterns in Antimicrobial Activity of Ellagitannins Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Manuscript to be submitted to *Phytochemistry*.
3. Suvanto, J., Karppinen, K., Riihinen, K., Jaakola, L., Salminen, J.-P. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 7378–7386.

DISTRIBUTION 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, Doc. Maarit Karonen, Prof. Ilari Sääksjärvi and Dr. Simon Segar

Funding: Finnish Cultural Foundation, Department of Chemistry, Väisälä Fund

Estimated time of PhD dissertation: 12/2024

Main aims of the PhD research

Currently there is a limited understanding of the distribution of polyphenol-based defensive chemistry within the plant kingdom, even though polyphenols 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 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, (3) draw conclusions about where in the plant phylogeny the crucial steps of different biosynthetic pathways of defense chemistry evolved and (4) study the diversity of main polyphenol groups within plant populations and their seasonal variation. This can be accomplished by linking the cutting-edge methods in chemistry with the latest knowledge of plant phylogeny and targeted experiments with selected plant species.

Main results so far

The main dataset contains over 10000 samples from 4000 plant species from over 300 plant families, which covers the main branches of the vascular plant phylogeny. All the collected species have been screened with UPLC-MS/MS for their composition of eight major groups of polyphenols. Each plant sample has also been measured for two bioactivities; protein precipitation capacity and oxidative activity, which are the two key defense properties of phenolics against insect herbivores.

First, a new multidimensional fingerprint visualization method was published [1, 2] to illustrate the relative quantities and proportions of significant polyphenol groups and their linkage to the bioactivities (Figure 1.). These visual fingerprint maps make it possible to easily search essential similarities and differences between plant species, genera, families and e.g. biological treatments and seasonal measurements.

To build a better understanding of the patterns of variation of different chemical fingerprints I studied seasonal variation and differences between individuals in plant populations. The results reveal, that some of the species show considerable variation in specific compound groups or activities and most of the species had relatively constant fingerprint maps even across seasons [1, 2]. This knowledge of the variation forms a crucial basis for the interpretation of the entire dataset encompassing thousands of species.

We have now achieved a profound comprehension of the distribution of the polyphenol-based defenses in the plant kingdom and the results will be published soon [3] (Figure 2.).

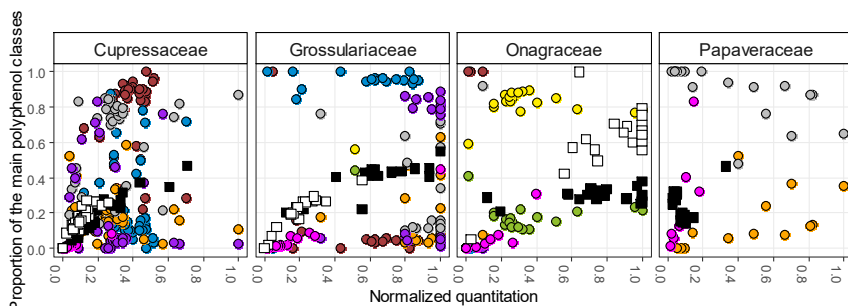


Figure 1. Examples of visual fingerprint maps of distinct plant families with unique polyphenol profiles reveal the linkage between the main polyphenol groups (circles) and biological activities (squares).



Figure 2. Distribution of eight polyphenol groups unveils the focal points of polyphenol-based defenses in the phylogenetic tree of 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. This multidisciplinary approach will significantly increase the knowledge of the distribution, variation and significance of different types of chemical defenses in the plant kingdom. 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.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Vanhakylä, S., Salminen, J.-P., *Molecules* **2023**, 28(17), 6388.
2. Vanhakylä, S., Salminen, J.-P., *Molecules* **2023**, 28(16), 6093.
3. Vanhakylä, S., Salminen, J.-P. et al., **2024**, Distribution of polyphenol-based defenses in the plant kingdom. Manuscript in preparation.

MATERIAALIKEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ



Materials Chemistry Research Group

MATERIAALIKEMIA – MODERNIN TEKNOLOGIAN PERUSTA

Prof. Carita Kvarnström, yliopisto-opettajat Dos. Pia Damlin ja Dos. Mikko Salomäki

Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto

<https://materialschemistry.utu.fi/>

s-posti: carita.kvarnstrom@utu.fi



Kuva 1. Osa materiaalikemian tutkimusryhmästä.

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) 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.

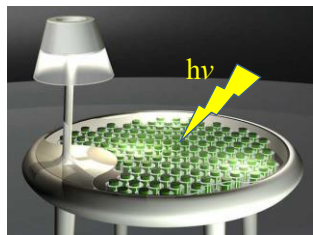


Aurinkokennot ja energian varastointi

Aurinkokenno on laite, joka pystyy muuttamaan auringon säteilyn sähköenergiaksi. Arjesta tutut siniset aurinkokennot ovat ensimmäisen sukupolven aurinkokennoja ja niiden toiminta perustuu

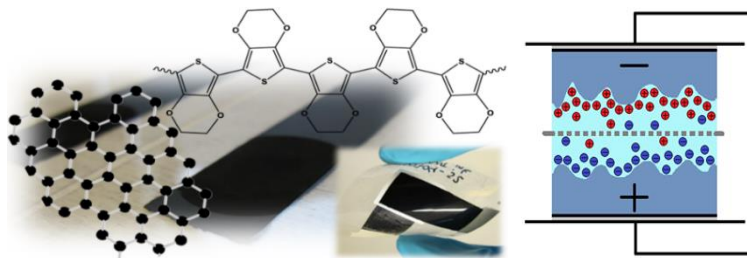
epäorgaaniseen piihin. Toisen ja kolmannen sukupolven aurinkokennot perustuvat orgaanisiin tai orgaanis-epäorgaanisiin hybridimateriaaleihin ja ne voivat olla ohuita ja taipuisia. Materiaaliekemian tutkimusryhmällä on pitkät perinteet toisen ja kolmannen sukupolven aurinkokennoihin soveltuviin materiaalien tutkimuksessa. Tutkimuksemme on keskittynyt lähinnä johdepolymeereihin sekä fullereenien johdannaisiin. Johdepolymeerit koostuvat konjugoituneesta hiilivetyketjusta. Konjugoitunut rakenne tarkoittaa, että ketjussa yksinkertaiset ja kaksinkertaiset sidokset vuorottelevat (Kuva 3). Konjugoituneen rakenteensa ansiosta johdepolymeerien sähköjohtavuutta voidaan muuttaa ulkoisen sähköpotentiaalın avulla eli lisäämällä tai riistämällä rakenteesta elektroneja. Aurinkokennoissa johdepolymeerit toimivat elektronin luovuttajina. Fullereenien tutkimus keskittyy C₆₀-fullereenin johdannaisiin. Nämä johdannaiset sisältävät kompleksoivia ja itsejärjestymistä edesauttavia toiminnallisia ryhmiä. Fullereenijohdokset toimivat aurinkokennoissa elektroninvastaanottajina.

Bioaurinkokennot ovat energiatuotantoteknologia jossa käytetään hapettuvia fotoautotrofisia organismeja, kuten levää tai syanobakteereja, vihreän sähkön tuottamiseen. Kun vesi hajoaa yhteytymisreaktiossa, muodostuu hyvin energettisiä elektroneja, jotka on mahdollista siirtää ulkoiseen virtapiiriin. Bioaurinkokennon toiminnalle välttämätöntä on bioyhteensopiva ja läpinäkyvä elektronisiirtomateriaali kuten esimerkiksi orgaaninen johdepolymeeri poly(3,4-etylenidioksitefeeni) (PEDOT) (Kuva 3). Tämä teknologia tuo mukanaan kustannustehokkaan vaihtoehdon synteettisille valoenergiansiirtotekniikoille, kuten piipohjaiselle aurinkosähkölle. Tutkimustyö tehdään yhteistyössä Turun yliopiston molekulaarisen kasvibiologian ryhmän kanssa.



Kuva 2. Biopohjainen aurinkokenno tuottaa sähköä fotosynteesillä.

Ryhmässämme tutkitaan paitsi energian muuttamista valosta sähköenergiaksi myös sähköenergian varastoimista. 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 johdepolymeerien ja grafeenin komposiitteja aktiivisina komponentteina kevyissä ja taipuisissa superkondensaattoreissa (Kuva 3).

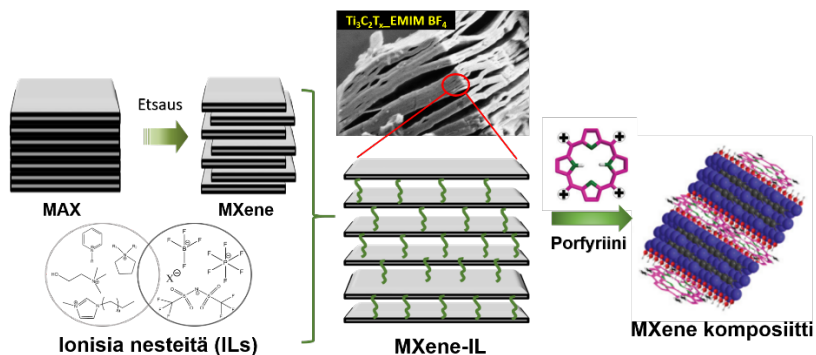


Kuva 3. Johdepolymeeri-grafeenikomposiitista (PEDOT-rGO) valmistettu joustava superkondensaattori ja sen toimintaperiaate.

Grafeeni on saavuttanut merkittävän aseman materiaalitutkimuksessa, koska se on erinomainen sähkön- ja lämmönjohde sekä mekaanisesti kestävin tällä hetkellä tunnettu materiaali. Tuiki tavallinen grafiitti koostuu löyhästi toisissaan kiinni olevista yhden hiiliatomin paksuisista

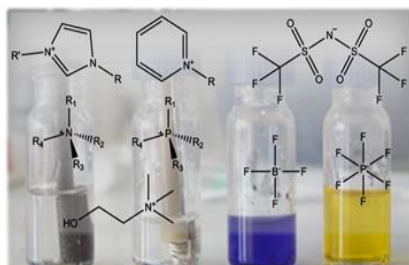
grafeenilevyistä. Grafeenia voidaan valmistaa grafiitista erottelemalla siitä yksittäisiä levyjä tai hapettamalla grafiitti grafeenioksidiksi, joka muodostuu irrallisista hapettuneista grafeenilevyistä. Grafeenioksidi on eriste, joten useimpia sovelluksia varten se on pelkistettävä takaisin grafeeninkaltaiseksi. Tutkimme erityisesti grafeenin valmistusta suoraan grafiitista mekano-kemiallisin menetelmin, grafeenioksidin kemiallista ja sähkökemiallista pelkistystä sekä grafeenilevyjen muokkaamista ionisilla nesteillä.

MXene-materiaalit ovat uusi kaksi-ulotteisten materiaalien ryhmä, joka löydettiin 2011. Verrattuna muihin kaksi-ulotteisiin materiaaleihin, kuten grafeeniin, MXene-materiaaleilla on hyviä ominaisuuksia, kuten erinomainen sähköjohtavuus, hydrofobisuus, helposti muokattava pintakemia sekä yksinkertainen prosessointi. Kerroksellisen rakenteensa ansiosta MXene-materiaaliin voidaan sijoittaa erilaisia ioneja, orgaanisia molekyyliä ja jopa johtavia polymeeriketjuja kerrosten väliin, mikä lisää käytettävissä olevaa pinta-alaa. Esimerkiksi sijoittamalla litium-ioneja MXene-levyjen väliin tekee niistä hyviä ehdokkaita litium-ioni-akkujen anodi käyttöön. Jos taas funktionalisoidaan MXene-materiaali porfyriineillä, saadaan parannettua materiaalin fototermisiä ominaisuuksia (Kuva 4).



Kuva 4. Kaaviokuva MXene synteisistä käyttäen ionista nestettä ja materiaalin funktionalisoitti porfyriinillä.

Ionisilla nesteillä on osoitettu olevan suuri vaikutus johdepolymeerien rakenteeseen ja sähkökemialliseen aktiivisuuteen. Ioniset nesteet ovat suurikokoisista ja epäsymmetrisistä orgaanisista ja epäorgaanisista kationeista ja anioneista koostuvia suolasulia, jotka ovat huoneenlämmössä nestemäisiä (Kuva 5). 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 elektrolyytinä itse sovelluksissa kuten superkondensaattoreissa.



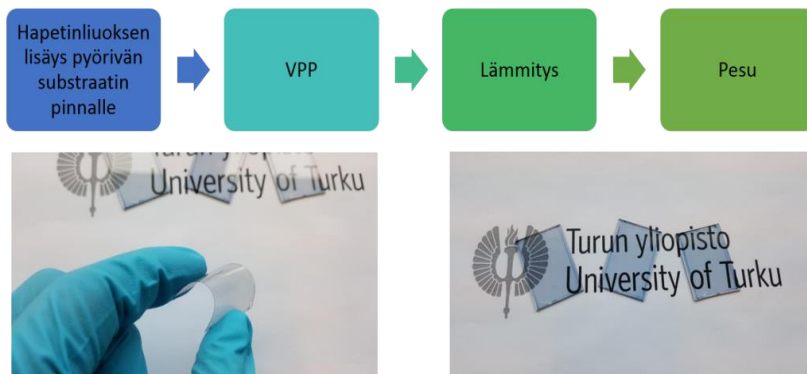
Kuva 5. Ionisia nesteitä

Sovellutuksia varten on usein tarkoituksenmukaista valmistaa ohuita kalvoja. Ohutkalvoilla tarkoitetaan tässä yhteydessä kalvoja, joiden paksuus vaihtelee 1 nm – 1 µm. Ohutkalvoja valmistetaan ryhmässä usealla eri menetelmällä: itsejärjestäytyminen, vaiheittainen kerrostaminen, sähkökemiallinen polymerisaatio, höyryfaasipolymerisaatio sekä aerosoli- tai

nebulisaatiopinnoitus. Sähkökemiallista polymerisaatiota käytetään erityisesti johdepolymeerikalvojen 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 mille tahansa alustalle. Menetelmä voidaan käytännössä toteuttaa eri tavoin, mutta kaikissa peruseräteenä 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 ultraääniavusteisessa pinnoitusmenetelmässä pinnoitemateriaalista muodostetaan hyvin hienojakoinen, silmälle näkymätön sumuvirtaus kohti pinnoitettavaa materiaalia. Kyseisellä menetelmällä voidaan minimoida arvokkaiden pinnoitemateriaalien kulutus jopa mikrolitrasolle.

Höyryfaasipolymerointi (vapour phase polymerization, VPP) on innovatiivinen menetelmä, jossa höyrystetty monomeeri on kontaktissa sopivalla hapettimella pinnoitetun substraatin kanssa (Kuva 6). 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.

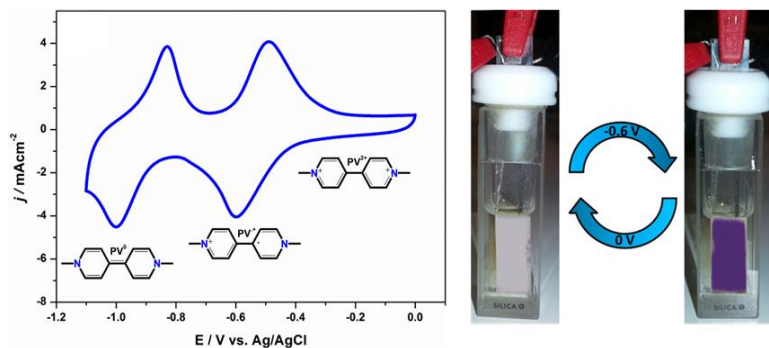


Kuva 6. Höyryfaasipolymerisaation vaiheet, reaktiokenno ja valmistettuja polymeerikalvoja lasi/PET substraateilla.

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 materiaalit vaihtavat väriään, kun niille asetetaan tietty potentiaali tai kun niissä tapahtuu hapetus-pelkistysreaktio. Sähkökromisia materiaaleja ovat erilaiset metallien oksidit, johdepolymeerit, metallikompleksit ja viologeenit. Materiaaliekemian tutkimusryhmässä tutkitaan viologeenien ja niiden erilaisten grafeeni- ja johdepolymeeriyhdistelmien sähkökromisia ominaisuuksia.

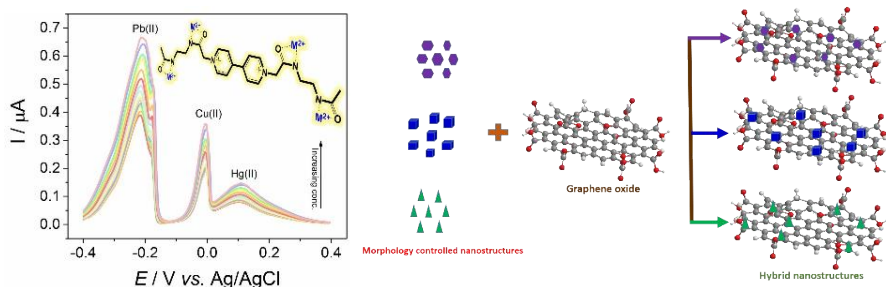
Viologeenit muodostetaan syanopyridiinimonomeereista sähkökemiallisella polymerisaatiolla suoraan johtavalle, läpinäkyvälle lasialustalle (Kuva 7). Viologeenikalvojen pysyvyyttä sekä värin vaihtumisen nopeutta on pystytty parantamaan muodostamalla komposiitteja grafeenin kanssa.



Kuva 7. Viologeenikalvot muuttavat väriään, kun niihin kohdistetaan negatiivinen jännite.

Sensorit ja katalyyysi

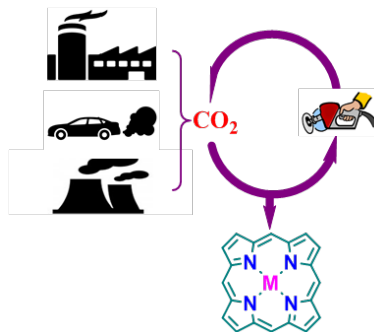
Paitsi että johdepolymeerejä ja grafeenia voidaan käyttää energian muuttamiseen ja varastointiin liittyvissä sovelluksissa, niitä voidaan hyödyntää myös erilaisissa antureissa. Ryhmässä on mm. valmistettu pelkistetyistä grafeenioksidista paperin pinnalle kertakäyttöinen kaasuanturi, joka pystyy havaitsemaan 60 miljardisosan tyypidioksidipitoisuuden. Myös viologeenikalvot voivat toimia antureina mm. erilaisille raskasmetalleille (Kuva 8). 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.



Kuva 8. Viologeenikalvot soveltuvat raskasmetallien tunnistamiseen liuoksesta ja grafeenioksidi voi toimia edullisena kantajamateriaalina Pd- ja Pt-nanopartikkeleille.

Hiilidioksidin hyödyntäminen uusiutuvien polttoaineiden valmistuksessa

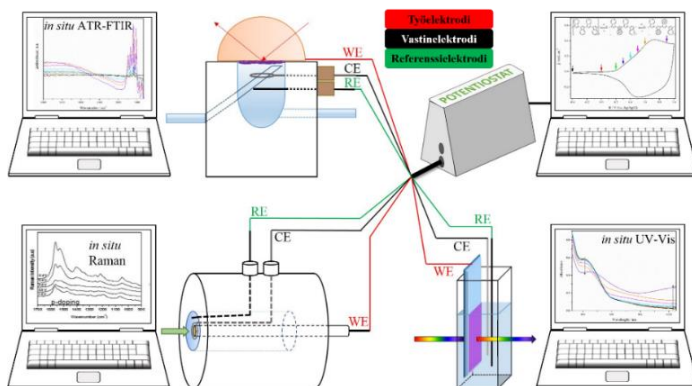
Uutena tutkimuskohteenamme ovat makrosykliset metallikompleksit, porfyriinit, joita voidaan soveltaa hiilidioksidipäästöjen vähentämiseen. Porfyriineillä on monipuolinen molekyyli rakenne, jota voidaan räätälöidä selektiivisyyden parantamiseksi ja sähkökatalyyttisen tehokkuuden lisäämiseksi (Kuva 9). Tutkimuksemme pyrkii sekä uusien materiaalien valmistamiseen, että sähkö-katalyyttisen reaktion kulun ymmärtämiseen yhdistämällä kehittyneitä karakterisointi-menetelmiä. Hiilidioksidin pelkistämiseen *in-situ* menetelmät sopivat erityisen hyvin, koska syntyviä tuotteita ja reaktioreittejä pystytään näin karakterisoimaan. Tutkimuksen tulokset auttavat kehittämään lupaavia katalyyttimateriaaleja, joiden avulla hiilidioksidi voidaan muuntaa hyötypolttoaineiksi tai polttoaineen esiasteiksi. Sitomalla ilmastolle haitallista kasvihuonekaasua voidaan lieventää ilmaston lämpenemistä.



Kuva 9. Hiilidioksidin sähkökatalyyttinen pelkistys ja hyödyntäminen uusiutuvien polttoaineiden valmistuksessa.

Analyysitekniikat: *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 10).



Kuva 10. Kaaviokuva ryhmässä käytetyistä *in situ* –spektrosähkökemiallisista tekniikoista.

Power-to-X – ympäristöystävällistä kemiaa uusiutuvalla energialla

Sofia Karivieri

Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

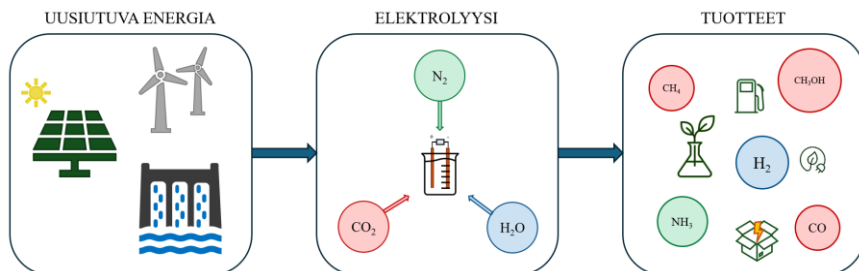


soekar@utu.fi

Ympäristökriisit, kuten ilmastonmuutos sekä luontokato, huolestuttavat yhteiskuntaa. Monille sektoreille etsitään ympäristöystävällisempiä ratkaisuja ja tavoitteena on muun muassa puhdas energiantuotanto, energian tehokas varastointi sekä päästöttömät teollisuusprosessit. Power-to-X -konseptilla tarkoitetaan uusiutuvan energian hyödyntämistä kemiallisten yhdisteiden tuottamisessa. [1] Konseptin peruseriaate on esitelty kaaviossa 1.

Näillä vihreillä kemiallisilla yhdisteillä, kuten vedyllä, ammoniakilla ja synteettisillä polttoaineilla, onnistuttaisiin vähentämään useiden teollisuusalojen päästöjä. Uusiutuvan energian avulla toteutetaan sähkökemiallinen elektrolyysireaktio. Elektrolyysillä voidaan tuottaa esimerkiksi vedestä vetyä, hiilidioksidista metanolia tai synteetikaasua ja typestä ammoniakkaa. Uusiutuvalla energialla toteutettu elektrolyysireaktio on päästötön, minkä vuoksi Power-to-X -konseptilla olisi mahdollista syrjäyttää fossiiliset polttoaineet. [2]

Power-to-X -konseptin leviämistä kuitenkin rajoittaa sen alhainen kustannustehokkuus. Yksi hintaa nostavista tekijöistä on esimerkiksi suuri sähkön tarve. Lisäksi elektrolyysissä käytettyjen materiaalien kustannukset voivat olla hintavia menetelmästä riippuen. Osa menetelmistä vaatii myös korkean paineen tai lämpötilan reaktion toteutumiseksi. Katalyyttimateriaalien ja reaktioolosuhteiden kehittäminen turvallisemmiksi, kustannustehokkaammiksi ja ympäristöystävällisemmiksi ovat jatkuvan tutkimuksen kohteena. [1]



Kaavio 1. Power-to-X konseptin peruseriaate.

Viitteet

- [1] R. Daiyan, I. Macgill, and R. Amal, *ACS Energy Lett* **2020**, 5 (12), 3843–3847
 [2] B. R. de Vasconcelos and J. M. Lavoie, *Frontiers in Chemistry* **2019**, 7

Hyödyllisiä kemikaaleja hiilidioksidista sähkökemiallisesti

Akseli Korkeamäki

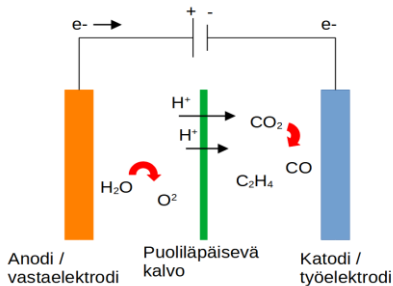
Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



avkork@utu.fi

Hiilidioksidin sähkökemialliseen hyödyntämiseen on kasvavaa kiinnostusta uusiutuvan energian osuuden noustessa ja sen hinnan laskiessa. Suuri idea taustalla on ottaa hiilidioksidi talteen isoista päästölähteistä tai myös suoraan ilmasta, ja konvertoida se sitten useiksi hyödyllisiksi yhdisteiksi käyttäen uusiutuvaa energiaa. Jos hiilidioksidi konvertoidaan esimerkiksi etanoliksi ja poltetaan tuottamaan energiaa, voidaan hiilidioksidi ottaa jälleen talteen. Näin ylimääräistä hiilidioksidia ei pääse ilmakehään vaan se kiertää, mistä käytetään termiä syklinen hiilitalous (CCE, cyclic carbon economy).

Yhdisteitä, joihin hiilidioksidin sähkökemiallisella pelkistyksellä päästään, on useita. Grim et al. esittävät artikkelissaan yhteensä 20 eri yhdistettä [1]. Tässä tutkielmassa otetaan muutamia tärkeimpiä yhdisteitä suurennuslasin alle, kuten esimerkiksi hiilimonoksidi ja etyleeni, ja tarkastellaan tutkimuksen etenemistä ja uusia havaintoja. Muuttujia on paljon, kuten esimerkiksi elektrolyytti, elektrodin materiaalit, elektrodin pinnan muokkaus ja kennon suunnittelu. Näitä prosesseja voidaan arvioida kolmella eri parametrilla, joita ovat faradinen tehokkuus (FE, Faradaic efficiency), virrantiheys ja ylipotentiaali. Nämä käytännössä kuvaavat selektiivisyyttä, nopeutta ja energiatehokkuutta.



Kuva 1. Yksinkertaistettu kuva havainnollistamaan sähkökemiallista prosessia

Viitteet

[1] R. G. Grim, Z. Huang, M. T. Guarnieri, *Energy Environ Sci*, 2020, *13*, 472-494.

Viologeenit ja johtavat polymeerit sähkökromisina materiaaleina

Nicola Nurmi

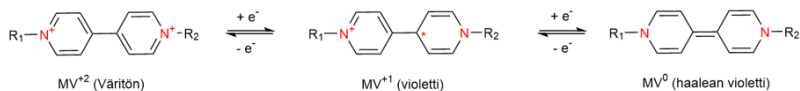
Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



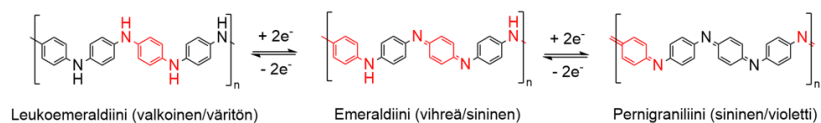
nrnurm@utu.fi

Sähkökromismi-ilmiössä materiaali vaihtaa väriä, kun sen altistetaan sähkövirralle. [1] Ilmiö pohjautuu yhden tai useamman elektronin reversiibleihin eli palautuviin hapetus-pelkistysreaktioihin. Molekyylirakenteen sähköinen muokkaus vaikuttaa materiaalin kemiallisten ominaisuuksien muuttumiseen, minkä seurauksena viologeenit ja johtavat polymeerit vaihtavat väriä joko yhden, kahden tai jopa kolmen värin välillä. Tämän kaltaiset sähkökromiset materiaalit voivat olla olomuodoltaan joko kiinteitä tai nestemäisiä eli toisin sanoen joko ohuita filmejä tai sähköä johtavia elektrolyyttiliuoksia. [1]

Viologeenien ja johtavien polymeerien sovelluskohteita ovat muun muassa tummentuvat peilit ja ikkunat, joihin viitataan myös älyikkunoina. [2] Näiden lisäksi materiaaleja on käytetty myös muun muassa tietokoneiden ja kännyköiden näyttöihin. Niiden tarkoituksena on tuoda markkinoille uusia, että käyttökelpoisia kestäväen kehityksen mukaisia vaihtoehtoja jo olemassa oleville materiaaleille. [2] Orgaanisten sähkökromisten materiaalien potentiaali perustuu niiden energiatehokkuuteen ja turvallisuuden lisäämiseen, minkä takia ne ovat varteenotettavia vaihtoehtoja kriittisten materiaalien korvaamiseksi elektroniikassa.



Kuva 1. Metyyliviologeeni reversiibeli hapetus-pelkistysreaktio [2]



Kuva 2. Polyaniliini (PANI) reversiibeli hapetus-pelkistysreaktio [3]

Viitteet

- [1] Shakhnov V, Vlasov A ja Tokarev S, "Electrochromic thin-film components for information representation systems" *IOP Conference series: Material science and engineering* **2016**
- [2] Gu C, Jia A, Zhang Y et al. "Emerging electrochromic materials and devices for future displays" *Chemical reviews* **2022**, 14679-14721, 122(18)
- [3] Rasmussen S "The Early History of polyaniline: Discovery and origins" **2017** *Substantia* 1(2) 99-109

Metalliyhdisteet sähkökemiallisissa superkondensaattoreissa

Paavo Suominen

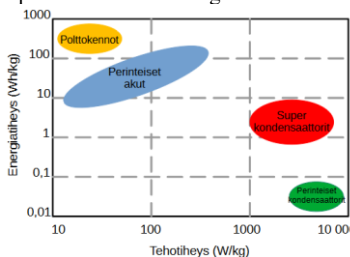
Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



Yhteiskuntamme teknologiariippuvuuden kasvaessa lisääntyy myös tarve tehokkaille, helposti valmistettaville ja luontoystävällisille energianvarastointitavoille. Superkondensaattorit ovat nousseet haastamaan akut sekä muut perinteiset energianvarastointitekniologiat.

Vahvuksina superkondensaattoreilla on suuri tehoiheys, niiden suuri energia purku- ja latausnopeus sekä akkuja pidempi käyttöikä. Heikkoutena perinteisiin teknologioihin verrattaessa on pienempi energiatiheys eli superkondensaattori ei tavallisesti kykene varastoimaan suurta määrää energiaa. Parhaiten ne soveltuvatkin käytettäviksi sovelluksissa, jotka vaativat tietyn energiamäärän käyttöönsä sekuntien sisällä. [1] Superkondensaattorit hyödyntävät usein akkuja ekologisempia materiaaleja, kuten siirtymämetalleja rauta ja nikkeli.

Sähkökemialliset superkondensaattorit rakentuvat sähkökemiallisen kennon ympärille ja ovat superkondensaattorityypeistä yleisimpiä. Ne hyödyntävät monia materiaaleja, joista eniten käytettyjä ovat metalliyhdisteet. Metalliyhdisteitä tunnetaan lukuisia ja niistä monet omaavat superkondensaattoreissa haluttuja ominaisuuksia, kuten korkean pseudokapasitanssin eli kyvyn varastoida energiaa kondensaattorien kaltaisesti. Metalliyhdisteiden suuri määrä tarjoaa myös mahdollisuuden rakentaa superkondensaattoreita, joiden parametrit ovat muokattavissa halutun kaltaiseksi metalliyhdisteitä vaihtamalla. Lisäksi metalliyhdisteet voivat muodostaa hybridimateriaaleja, jolloin niiden heikkouksia, kuten lämpötilanvaihtelun kestävyttä voidaan kompensoida. Metalliyhdisteet ovatkin tutkituimpia superkondensaattorimateriaaleja ja tarjoavat lupaavan suunnan energianvarastoinnin tulevaisuudelle. [2]



Kuva 1. Superkondensaattorin energia- sekä tehoiheys verrattuna perinteisiin energianvarastointitekniologioihin. Mukailtu lähteestä [3]

Viitteet

[1] Dong, W., *et al.*, *Mater. Sci. Eng. R.* **2023**, 152.

[2] Khrizanforov, M. N., *et al.* *Comments Inorganic Chem.* **2024**, 44, 42–198.

[3] Wikimedia commons: Supercapacitors chart. Stan Zurek

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Supercapacitors_chart.svg (viitattu 3.3.2024)

Superkondensaattorit – kestävän kehityksen energianvarastointilaitteina

Katariina Varpio

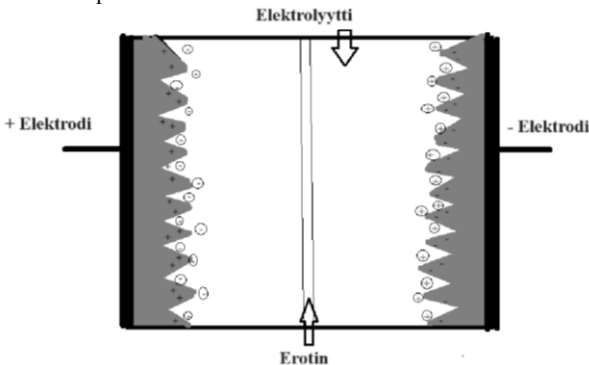
Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



kaavar@utu.fi

Superkondensaattorit ovat energianvarastointilaitteistoja (kuva 1), joilla on nopea latautumisen ja purkautumiskyky, pitkä käyttöikä sekä korkea tehoteho, eli ne pystyvät säilömään suuren määrän energiaa yhtä massayksikköä kohden [1]. Niiden ominaisuuksiin voidaan vaikuttaa muun muassa toimintaperiaatteen, elektrodimateriaalin sekä elektrolyytin avulla. Nykyään tutkitaan laajasti vihreitä elektrodimateriaaleja, kuten biomassapohjaisia hiilimateriaaleja, joilla voitaisiin vähentää nykyvalmistusprosessien negatiivisia ympäristövaikutuksia [2]. Vaikka vihreiden materiaalien kaupallistamisessa on vielä haasteita, superkondensaattorit ovat kestävän kehityksen näkökulmasta hyvin lupaavia energianvarastointilaitteistoja sekä niiden kestävien materiaalien, että niiden sovelluskohteiden ansiosta.

Superkondensaattorit ovat lupaava sovellus nykyinfrastruktuurimme epäkohtiin erityisesti energiatuotannossa ja liikenteessä. Niillä on esimerkiksi suuri potentiaali edistää uusiutuvien energialähteiden integraatiota nyky maailmaan sekä kyky toimia pääenergiavarastona erilaisissa julkisen liikenteen kulkuvälineissä [1]. Tällä tavoin ne voivat vähentää energiateknologiamme nykyistä riippuvuutta perinteisistä fossiilisista polttoaineista, ja tukea siirtymää kohti kestävämpiä energianmuotoja. Kaiken kaikkiaan superkondensaattorit mahdollistavat erilaisten energijärjestelmien tehokkaamman sekä luotettavamman käytön [1], ja jatkuvan tutkimuksen avulla niiden optimointi taloudellisesti ja kestävän kehityksen kannalta on entistäkin realistisempää.



Kuva 1. Yleinen superkondensaattorin rakenne

Viitteet

- [1] Olabi, A., Abbas, Q., Al Makky, A. ja Abdelkareem, M. A. *Supercapacitors as next Generation Energy Storage Devices: Properties and Applications. Energy* **2022**, 248.
- [2] Khedulkar, A. P., Pandit, B., Dang, V. D. ja Doong, R. an. *Agricultural waste to real worth Biochar as a Sustainable Material for Supercapacitor. Science of the Total Environment* **2023**.

Lääkeaineiden poistaminen vedestä MXene hybridimateriaalien avulla

Roni Hentula^{1*}, Ashwini Jadhav¹ ja Carita Kvarnström¹

¹Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



rihent@utu.fi

Abstrakti

Erilaiset lääkeaineet päätyvät usein käyttämisen jälkeen jäteveeteen. Lääkeaineet ovat yleisesti hyvin veteen liukenevia pieniä molekyyliä, joita on hankala poistaa vedestä. Yksi menetelmä lääkeaineiden poistamiseen on MXene pohjaiset hybridimateriaalit. Tässä työssä tavoitteena on poistaa vedestä lääkeaineita (parasetamoli ja diklofenaakki) MXene hybridimateriaalien avulla. Lääkeaineen konsentraatiota vedessä voidaan mitata UV-vis spektroskopian avulla, mistä nähdään lääkeaineen määrä vedessä sekä mahdolliset hajoamistuotteet.

Johdanto

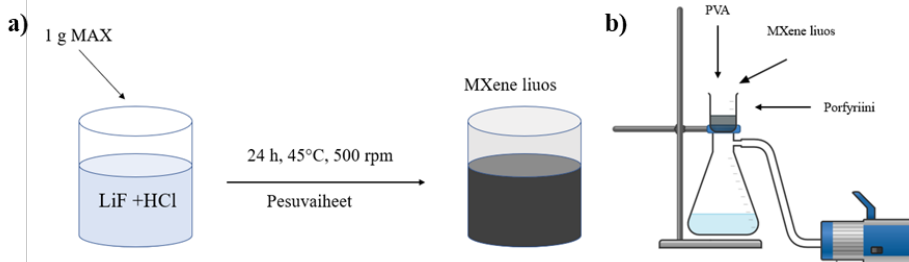
Vesi on elintärkeä elämiselle ja on yksi tärkeimmistä resursseista. Maailman väestöstä 10 %:lle ei ole puhdasta juomavettä tarjolla. Erilaiset taudit ovat yksi suurimmista ongelmista, mikä seuraa puhtaan veden puutteesta.[1] Vedessä on erilaisia epäpuhtauksia, jotka voidaan jakaa erilaisiin alakategorioihin kuten orgaaniset-, epäorgaaniset- ja biologiset epäpuhtaudet. Tässä työssä pyrittiin poistamaan lääkeaineita vedestä. Lääkeaineiden pienen koon vuoksi ne ovat myös hankala poistaa vedestä. Yksi ihminen käyttää keskimäärin diklofenaakkia jopa 940 mg vuodessa. [2] Parasetamolia voi olla vesistöissä 0,134 mg/ml, riippuen vesistön sijainnista kontaminaation lähteeseen. [3]

MXenet ovat 2D-materiaaleja, joiden rakenne on $M_n+X_nT_x$ ($n=1,2,3$), missä M on siirtymämetalli, X on hiili tai typpi, ja T on funktionaalinen ryhmä (-F, -OH, -O tai -Cl). MXeneillä on useita hyviä ominaisuuksia kuten suuri aktiivinen pinta-ala, hydrofiilisyytensä ja sähkönjohtavuus. MXenen sovelluksia ovat esimerkiksi sensorit, energian varastointi ja veden puhdistusmenetelmät. Yksi yleisimmistä MXeneistä on titaanikarbidi $Ti_3C_2T_x$. MXenet ovat yksi hyvä vaihtoehto veden puhdistukseen. Niiden edut muihin menetelmiin ovat morfologia ja ympäristöstäväällinen puhdistusmenetelmä.

Tässä työssä valmistettiin erilaisia MXene hybridimateriaaleja ja tarkasteltiin UV-vis:n avulla niiden soveltuvuutta lääkeaineiden poistamiseen vedestä. Valmistettujen materiaalien ominaisuuksia karakterisoitiin erilaisilla menetelmillä esimerkiksi röntgendiffraktiolla ja Raman-spektroskopiolla.

Materiaalit ja menetelmät

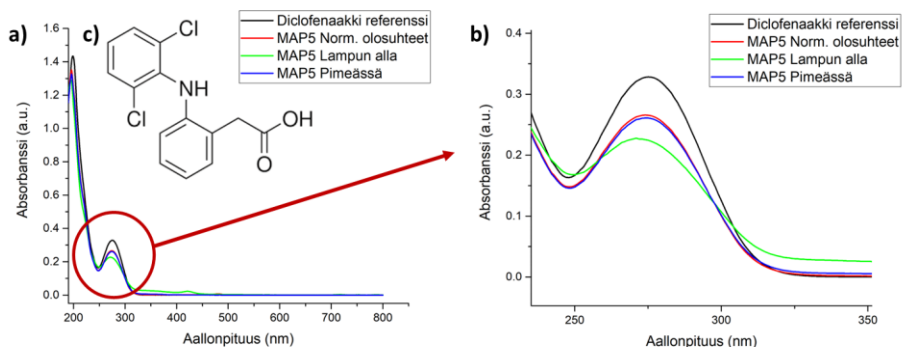
Titaanikarbidiä valmistetaan lähtöaineesta (MAXene), joka sisältää alumiinia titaanin ja hiilen lisäksi. Alumiini poistetaan etsaamalla LiF :n ja 12 M HCl :n avulla, kuten kuvassa 1 esitetään. Tämän jälkeen tuotetta pestään vedellä ja $LiCl$:n vesiliuoksella. Saatu MXene liuos sisältää pieniä partikkeleja, jotka liukenevat veteen. MXenen vesiliuos kaadetaan imusuodatuslaitteistoon kuvan 1 mukaisesti, jolloin saadaan MXene kalvo. Hybridikalvon muodostamiseksi MXene vesiliuokseen lisätään polyvinyylialkoholia (PVA) ja porfyriiniä (TMPyP), jolloin saadaan MAP hybridikalvo. Suodatuksen jälkeen kalvo jätetään kuivumaan 24 tunniksi normaaliin huoneilmaan. Tämän jälkeen voidaan karakterisoida kalvoa ja tutkia kalvon adsorptiokykyä.



Kuva 1. a) Työssä käytetty synteesisen menetelmä MXene liuoksen valmistamiseen. b) Imusuodatuslaitteisto MXene hybridimateriaalien valmistamiseen.

Tulokset ja johtopäätökset

Työssä kehitettiin menetelmä MXene hybridikalvojen muodostamiseen. Sen lisäksi viisi erilaista kalvoa valmistettiin ja testattiin niiden adsorptiokykyä. Parhaan hybridikalvon suhteita optimoitiin, jolloin saatiin esille kuvan 2 mukainen MXene/PVA/porfyriini hybridimateriaalin adsorptiokyky kolmessa erilaisessa olosuhteessa. Kuvasta 2 nähdään lääkeaineen adsorboituvan enemmän kuin muissa olosuhteissa. Tämä johtuu todennäköisesti porfyriinin fotokatalyyttisestä vaikutuksesta. Valmistetussa materiaalissa oli ominaisuuksia, joita lähtökohtaisesti lähdettiin tutkimaan. MXene kalvot itsessään hajoavat veteen, mutta tässä työssä onnistuttiin valmistamaan kalvo, joka on vedenkestävä. Sen lisäksi lääkeainetta pystyttiin poistamaan vesiliuoksesta.



Kuva 2. a) UV-vis spektri diklofenaakin vesiliuoksesta kolmessa erilaisessa olosuhteessa ja lääkeaineen adsorptio MXene hybridimateriaalin avulla. b) Suurennos kuvasta a) aallonpituuksilla 250–350 nm. c) Diklofenaakin rakennekaava.

Viitteet

- [1] R. Islam, *Sustainable water purification*. United States of America: John Wiley & Sons, Incorporated, 2020
- [2] J. Jang, A. Shahzad, S. H. Woo, and D. S. Lee, “Magnetic Ti3C2Tx (Mxene) for diclofenac degradation via the ultraviolet/chlorine advanced oxidation process,” *Environ Res*, vol. 182, pp. 108990–108990, 2020
- [3] W.-C. Yun, K.-Y. A. Lin, W.-C. Tong, Y.-F. Lin, and Y. Du, “Enhanced degradation of paracetamol in water using sulfate radical-based advanced oxidation processes catalyzed by 3-dimensional Co3O4 nanoflower,” *Chem Eng J*, vol. 373, pp. 1329–1337, 2019

PEDOT-polymeerin käyttö bioaurinkokennossa

Kalle Katavisto^{1*}, Pia Damlin¹ ja Carita Kvarnström¹

¹Materiaalikemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



kokata@utu.fi

Abstrakti

Työn tavoitteena oli tutkia poly(3,4-etyleenidioksitiofeenin) eli PEDOT:in soveltuvuutta bioaurinkokennon elektrodimateriaaliksi. Bioaurinkokennot ovat aurinkokennoja, jotka tuottavat sähkövirtaa fotosynteettisten eliöiden, kuten syanobakteerien avulla. Elektroneja saadaan hyödynnettyä sekä fotosynteesin aikana että soluhengityksessä. Tämä tarkoittaa sitä, että bioaurinkokenno tuottaa sähköä myös silloin kun Aurinko ei paista. Lisäksi bioaurinkokennon toiminta on usein hiilinegatiivista, eli se kuluttaa hiilidioksidia ilmasta tuottaessaan sähköä. PEDOT:ista valmistetuilla elektrodeilla on esimerkiksi indiumtinaoksidiin (ITO) verrattuna monia hyviä puolia, kuten hyvä bioyhteensopivuus, myrkyttömyys ja edullisuus.

Johdanto

Fotosynteettisille eliöille kuten tässä työssä käytetyille syanobakteereille ominaisessa fotosynteesissä syntyy hapen ja glukoosin lisäksi myös elektroneja, joista osa saadaan ulos syanobakteerisolusta. Kun nämä eksoelektrogeenisissä vapautuneet elektronit saadaan kuljetettua elektrodille, niin bioaurinkokenno tuottaa sähköä. Myös pimeässä tapahtuvassa soluhengityksessä saadaan pieni määrä elektroneita hyötykäyttöön. Ympäristöystävällisyyden ja pimeässä toimimisen lisäksi bioaurinkokennon hyviä puolia on erityisesti sen kyky korjata itse itseään ja uusiutua. Syanobakteerisolut jakautuvat jatkuvasti, joten uusia soluja syntyy vanhojen tilalle, kunhan solut saavat tarpeeksi valoa ja ravinteita. [1]

Tässä työssä käytetty PEDOT valmistettiin normaalipaine-höyryfaasipolymerisaatiolla (AP-PPP) -menetelmällä, jolla elektrodimateriaalista saatiin erittäin ohut, tasainen ja hyvin sähköä johtava. Myrkyllisen ja haitallisen indiumtinaoksidin korvaaminen ympäristöystävällisemmällä PEDOT:illa parantaa koko bioaurinkokennon tarkoituksenmukaisuutta ja käyttökelpoisuutta. Tällä menetelmällä PEDOT-kerroksen paksuutta voidaan säätää erittäin helposti, jolloin joko läpinäkyvyyttä tai sähkönjohtavuutta voidaan painottaa tarpeen mukaan. [2]

Tällä työllä oli tarkoitus saavuttaa tietoa PEDOT-johdepolymeerin soveltuvuudesta bioaurinkokennojen elektrodimateriaaliksi. Tavoitteena oli myös löytää paras mahdollinen elektrolyytti sekä syanobakteerien että sähkönjohtavuuden kannalta. Lopullisena tavoitteena oli saavuttaa mahdollisimman hyvä virtavaste bioaurinkokennolla.



Kuva 1. Sähkökemiallinen kolmielektrodikkenno, jossa PEDOT toimii työelektrodina (kuperiteippikontakti). Elektrodin päällä on kerros syanobakteereita ja elektrolyyttiä, joka toimii samalla syanobakteerien ravinneliuoksena.

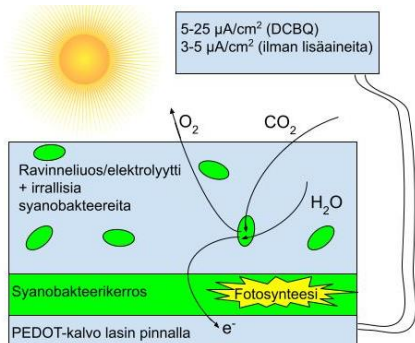
Materiaalit ja menetelmät

Sähkökemiallisissa mittauksissa työelektrodina eli anodina toimi lasisubstraatin pinnalle valmistettu ohut PEDOT-kalvo, vastaelektrodina käytössä oli platinalanka ja referenssielektrodina Ag/AgCl-lanka. Elektrolyytinä käytössä oli sekä ravinneliuos BG11 että johtavuudeltaan paranneltu terästetty BG11. BG11 on vesipohjainen syanobakteereita varten valmistettu ravinneliuos, joka sisältää lukuisia ioniyhdisteitä. Terästetty BG11 sisältää 1:1 suhteella BG11-liuosta ja 0,1 M NaNO₃. Mittauksissa käytössä olevien syanobakteerien (*Synechocystis* sp. PCC 6803) klorofyllikonsentraatio asetettiin arvoon 150 nmol/l ja yhteen mittaukseen käytettiin 150 µl tätä syanobakteeriliuosta ja 1,35 ml elektrolyyttiä.

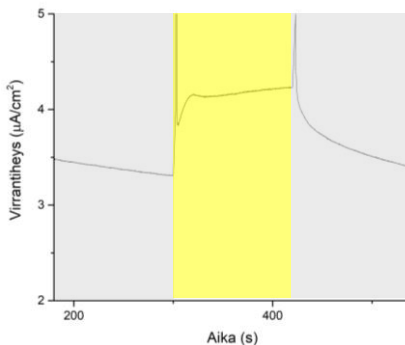
Työssä käytettiin montaa eri mittausten menetelmää PEDOT:in, elektrolyytin ja bioaurinkokennon toiminnan tutkimiseen. Pintaresistanssimittauksella selvitettiin valmistetun PEDOT-kalvon tasalaatuisuutta ja UV-VIS-spektrit puolestaan antoivat tietoa kalvon paksuudesta ja läpinäkyvyydestä. Syklisellä voltammetrialla (CV) mitattiin PEDOT:in ja elektrolyytin toimivuutta sekä havaittiin mahdolliset epäpuhtaudet. Sähkökemiallinen impedanssispektroskopia on hyvä työkalu virtapiiriin toimivuuden sekä elektrolyytin resistanssin mittaamiseen. Valomittaus eli kronoamperometriaan yhdistetty LED-valo kertoi kennon tuottaman sähkövirran suuruudesta.

Tulokset ja johtopäätökset

Sekä yksi- että kaksikerroksinen PEDOT-kerros toimii sähkökemiallisissa kennossa hyvin. Materiaalin sähkönjohtavuus ja läpinäkyvyys olivat erinomaisella tasolla. Alkuperäinen BG11-ravinneliuos oli hyvä elektrolyytti bioaurinkokennoon, mutta sen sähkönjohtavuudeltaan paranneltu versio toimi vielä paremmin. Valomittauksissa kaksikerroksinen PEDOT tuotti yksikerroksista kalvoa suurempia virrantiheyksiä. Kennoon lisättävillä välittäjäaineilla kuten 2,6-dikloori-1,4-bentsokinoni (DCBQ) saatiin huomattavan suuria virrantiheysarvoja, mutta näiden lisäaineiden myrkyllisyydestä johtuen bioaurinkokennot olisi hyvä saada tuottamaan sähköä ilman välittäjäaineita. PEDOT siis toimii bioaurinkokennon elektrodimateriaalina erittäin hyvin ja jo ilman lisäaineita saatavat virrantiheysarvot olivat lupaavia.



Kuva 2. Kaaviokuva bioaurinkokennosta.



Kuva 3. Virrantiheys jännitteellä 0,5 V. Käytössä sininen 460 nm LED-valo, terästetty BG11 elektrolyytinä ja ilman välittäjäaineita.

Viitteet

- [1] Huawei Z., Haowei W., Yanping Z. ja Yin L., *Biotechnology Adv.* **2023**, vol 64.
 [2] Wey L., Yewale R., Hautala E., Hannonen J., Katavisto K., Kvarnström C., Allahverdiyeva Y., Damlin P., *Electrochimica Acta.* **2024**, vol 475.

HYDROTHERMAL SYNTHESIS OF REDUCED GRAPHENE OXIDE-CELLULOSE COMPOSITES FOR SUPERCAPACITOR APPLICATION

Salla-Sofia Mäkinen^{1*}, Lokesh Kesavan¹, and Carita Kvarnström¹

¹Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku



sasmak@utu.fi

Abstract

Reduced graphene oxide (rGO) is a promising candidate for supercapacitor application due to its high surface area and electrical conductivity. rGO by itself is however brittle, and has the tendency to aggregate which negatively affects its' properties. This can be prevented using cellulose nanofibers (CNFs) while also enhancing the mechanical properties of the resulting composite. In this project composites were prepared via hydrothermal method.

Introduction

Graphene oxide (GO) sheets are a single atom thick carbon layers consisting of sp^2 hybridized carbon atoms in a honeycomb lattice. GO is a non-stoichiometric compound consisting of the forementioned graphene-base with variable amounts of oxygen and hydrogen in the form of functional group semi-randomly distributed in its framework. These functional groups make GO electrically insulating, but through reduction these groups can be removed to produce reduced graphene oxide (rGO) with high conductivity. It is worth noting that not all functional groups are removed in this process. [1] Theoretical structures of GO and rGO are presented in figure 1. Reduction of GO can be done via a plethora of methods, but in this work chemical reduction is used.

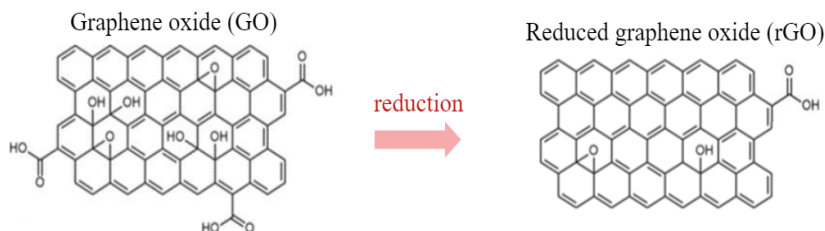


Figure 1. Structural representation of GO and rGO.

Much like with many nanomaterials, a challenge with synthesis and processing is aggregation. While graphene sheets have high specific surface area, unless they are well separated from each other they tend to make irreversible agglomerates due to van der Waals interactions. This is an issue as many of the unique properties of graphene sheets are associated with specifically individual sheets. Aggregation however can be reduced by the attachment of some molecules or polymers onto the sheets. [2]

Cellulose is a natural polymer, and it can be derived from a plethora of sources, such as wood, different plants, algae and bacteria. Cellulose nanofibers (CNFs) are long and flexible interconnected fibrils. The length and diameter of CNFs vary depending on the source material, but generally range 5-50 nm in diameter and a few μm in length. [3] This combination of rGO and CNF is studied as rGO has interesting properties as mentioned before, like conductivity, light weight and

high specific surface area. Cellulose on the other hand is an abundant material and environmentally friendly. In addition to adding flexibility to the composite, cellulose is beneficial as it could prevent the agglomeration of the rGO.

Materials and methods

GO suspension (5mg/ml) and highly charged TEMPO-oxidized cellulose nanofiber hydrogel (0.93%) were used as the main components of the composite. GO solution was first sonicated and then the reduction of GO was done using 0.1M NaBH₄ solution, combined with heating at 80°C for 1h. The resulting rGO was then washed to remove residue from the reduction process using de-ionized water until pH 7 was reached. Cellulose was added by first sonicating the hydrogel separately before combining it with the rGO. Different weight ratios of rGO:CNF were prepared (50:50, 70:30, 90:10)

Films were prepared via suction filtration on PC membranes and then drying them in room temperature overnight. Electrodes were done on graphite foils via drop casting, followed by Nafion (5%). CV and GCD measurements were done using H₂SO₄ as electrolyte.

Results and conclusions

GO has been successfully reduced using NaBH₄ as evident from spectroscopic studies as well as electrochemical measurements (figure 2). At the time of writing the project is still in its early stages, so there are no further results to report.

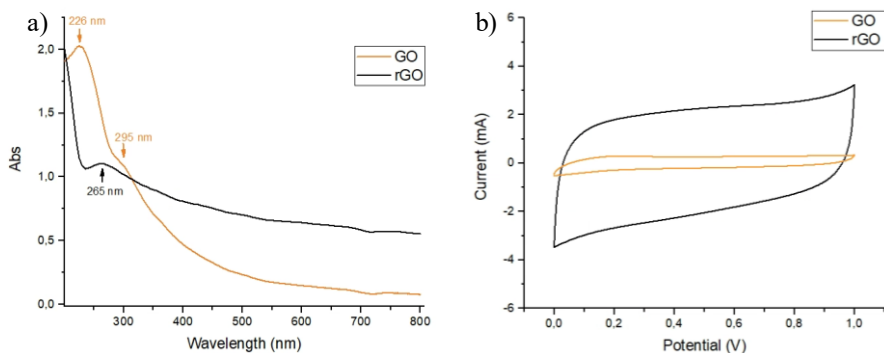


Figure 2. a) UV-Vis spectra of GO and rGO. b) CV of GO and rGO.

References

- [1] A. Razaq, F. Bibi, X. Zheng, R. Papadakis, S. H. Jafri, and H. Li, “Review on Graphene-, Graphene Oxide-, Reduced Graphene Oxide-Based Flexible Composites: From Fabrication to Applications,” *Materials*, vol. 15, no. 3. 2022
- [2] D. Li, M. B. Müller, S. Gilje, R. B. Kaner, and G. G. Wallace, “Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets,” *Nat. Nanotechnol.*, vol. 3, no. 2, pp. 101–105, 2008
- [3] W. Chen, H. Yu, S.-Y. Lee, T. Wei, J. Li, and Z. Fan, “Nanocellulose: a promising nanomaterial for advanced electrochemical energy storage,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 47, no. 8, pp. 2837–2872, 2018

Revolutionising the future of EVA interlayers: A comprehensive analysis of interlayer properties



Ciara O’Gorman^{1*}, Dr. Pia Damlin¹, Dirk Nagle² Dónal Ó Ghórmáin² and Prof. Carita Kvarnström¹

¹Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku

²Precision Quality Glass Ltd Ringport Business Park, Co. Cork, Ireland

Abstract

The use of interlayers as performance enhancing materials in the glass industry is standard practice. The introduction of the central layer between glass panes is used to substitute and/or dispense with the need for gases such as argon. Polyvinyl (PVB), Ethylene Vinyl Acetate (EVA) and SentryGlas Plus (SGP) are the three most common interlayers used worldwide. They each boast numerous advantages such as increased strength, water resistance and good UV resistance, respectively. The most popular type of interlayer used in glass production is PVB. This is due to properties such as transparency, strength, good sound insulation and it is considered cost effective. This research looks at one of the other alternatives, EVA. It investigates the possibility of manufacturing altered EVA to change its properties, with the aim of comparing the enhanced EVA with PVB on a competitive scale. Numerous tests were carried out to examine the properties of the new EVA samples, these included the crosslinking percentage, the adhesion strength and UV properties. The results of these tests were directly compared with previous studies and products manufactured in the industry. The results achieved from performing the tests on the samples yielded a promising outcome for the suitability of possible future use in the industry.

Introduction

In an ever-changing world, the need to advance and create higher quality products is essential. This challenge has been accepted in all forms of industry, including the glass sector. The ability to manufacture interlayers in glass has become of vital importance for use in many constructions on a global scale [1][2].

The research performed in this thesis is aimed at producing samples of EVA with the intention of altering each sample by adding a specific component to allow a change in the original EVA design. The purpose of changing each sample is to attempt to create a material that targets a specific property of EVA. This includes properties such as adhesion and transparency.

Each tailored sample will undergo numerous tests so that comparisons can be made between the samples and current materials available in the industry. This will include both EVA interlayers and PVB interlayers.

Materials and methods

Materials: Due to the nature of the research conducted the products that were added to the main component may not be disclosed and are to be referred to as product 1, product 2, etc.

For this project 10 interlayers were fabricated, so products 1-10 were used in conjunction with EVA, xylene, H₂O (de-ionised) and sample sized glass panes.

Methods: To create the sample, they were first melted at a maximum temperature of 90°C and then poured. To create the final products, they were placed in an industrial glass oven that underwent a temperature cycle with pressure applied that allowed the interlayers to form. There were a number of tests performed to determine the characteristics and examine the properties of each sample separately. The first test looked at the adhesion strength of each foil in relation to the glass. The next test focused on the determination of the cross-linking of each sample created. UV-vis tests were also conducted on the samples and finally FTIR was performed for each interlayer to look at each structure and to directly compare the findings.

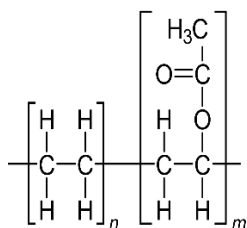


Figure 1. Scheme of the EVA structure and an example of an interlayer fabricated for the research.

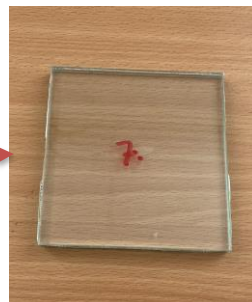
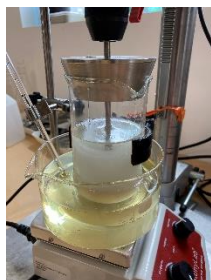


Figure 2. The process needed to create the EVA glass sample seen in the final picture.

Results and conclusions

Satisfactory results were obtained and are the subject of continuing review and research. Owing to the confidential nature of the data, the results cannot be disclosed at this time, however, an approved release will be included in my thesis submission.

References

- [1] M. Martín et al. Construction and Building Materials 230 (2020) 116897. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.116897>
- [2] X. C. Soler, Structural glass in buildings: study of the deflection, durability, and breakage of laminated glass elements and polymeric interlayers (2020). <http://hdl.handle.net/10803/671405>

Chemically synthesized PEDOT-RGO nanocomposite for supercapacitor applications

Siyuan Peng^{1*}, Dr. Plawan Kumar Jha¹, Prof. Carita Kvarnström¹

¹Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, Turku University Centre for Materials and Surfaces (MatSurf), University of Turku, Henrikinkatu 2, 20500 Turku, Finland



sipeng@utu.fi

Abstract

Supercapacitors are widely used energy storage devices due to their high energy density, high power density, and superior stability cycles. The electrode material is one of the critical parameters for the high electrochemical performance of supercapacitors. In this project, we have chemically synthesized poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-reduced graphene oxide (PEDOT-RGO) nanocomposite via an in-situ oxidation-reduction methodology. The symmetric supercapacitor of PEDOT-RGO nanocomposite was tested in 1 M H₂SO₄ electrolyte solution. The specific capacitance of our PEDOT-RGO is as high as 158 F/g at a current density of 0.25 A/g, with more than 70% capacitance retention over 10000 continuous Galvanic charge–discharge (GCD) cycles.

Introduction

Supercapacitors, also known as ultracapacitors, are a type of energy storage device that has high energy density, high power density, and long life cycles. Supercapacitors garnered considerable attention in recent years due to their excellent performance in terms of low cost, environmentally friendly nature, high energy storage, and extremely long stability cycle. Compared to electrolytic capacitors, supercapacitor generally retains 10 to 100 times more energy per unit volume or mass. These benefits make supercapacitors suitable for applications that require frequent energy cycling [1]. The development and use of efficient electrode materials is one of the keys to improve the performance of supercapacitors, and one of the promising candidates for supercapacitor electrodes is PEDOT, which has the advantage of excellent chemical stability, good cost-effectiveness, easy synthesis process and so on. Nevertheless, it also has drawbacks, such as material breakdown after several cycles. Therefore, researchers are trying to include fillers to produce a nanocomposite that exhibits better stability, conductivity, and capacitance [2]. Graphene possesses a significant specific surface area, superior conductivity, and thermal conductivity, making it suitable for usage as a filler to improve stability and conductivity [3].

This thesis work aims to modify PEDOT (synthesis of PEDOT-RGO nanocomposite) to solve its problems of relatively small specific capacitance, relatively low conductivity, and poor cycle stability.

Materials and methods

Materials: 3,4-Ethylenedioxythiophene (EDOT), Graphene Oxide (GO), de-ionized water, Iron(III) p-toluenesulfonate hexahydrate (Fe(III)PTS), Nafion (5%, Sigma-Aldrich), N-Methyl-2-pyrrolidone (NMP, 99.5%, Sigma-Aldrich), Graphite sheet, Sulfuric acid (H₂SO₄, 1 mol/L), Conductive Carbon Black.

Methods: The chemical synthesis method consists of the following steps: (1) About 4.12 gm Fe(III)PTS and 25 mL of de-ionized water were added into a 100 mL round bottom flask, which was then sonicated and stirred at 94 °C for 15 mins, (2) About 0.688 mL of EDOT was injected into the mixture, and stirred at 94 °C for 15 mins, and finally (3) 10 mL GO (~5 mg/mL) was injected into the above mixture solution and stirred for next 24 hours at 94 °C. Finally, the purified powder was heated at 175 °C for 24 hours before further characterization.

Results and conclusions

Raman spectroscopy and X-ray diffraction (XRD) were used to check the functionality and formation of the synthesized nanomaterial. In XRD, the characteristic peak at $2\theta = 6.4^\circ$, which is sharp and strong, indicated the presence of PEDOT in PEDOT-RGO nanocomposite. A sharp XRD peak (001) of GO (at $2\theta = 11.7^\circ$) shifted to $2\theta = 26.4^\circ$ in the nanocomposite, suggested the reduction of GO to RGO (Fig. 1a). In Raman spectra, the D band at 1335 cm^{-1} and G band at 1577 cm^{-1} were appeared both in GO in PEDOT-RGO nanocomposite. The broadened and decreased D-band and G-band ratio (I_D/I_G) suggested the presence of RGO in PEDOT-RGO nanocomposite (Fig. 1b).

The capacitance of the PEDOT-RGO supercapacitor in 1 M sulfuric acid (H_2SO_4) can be calculated from the GCD curves, which was found to be 158 F/g at a current density of 0.25 A/g (Fig. 1c), with more than 70% capacitance retention and 100% coulombic efficiency even after 10,000 continuous GCD cycles (Fig. 1d).

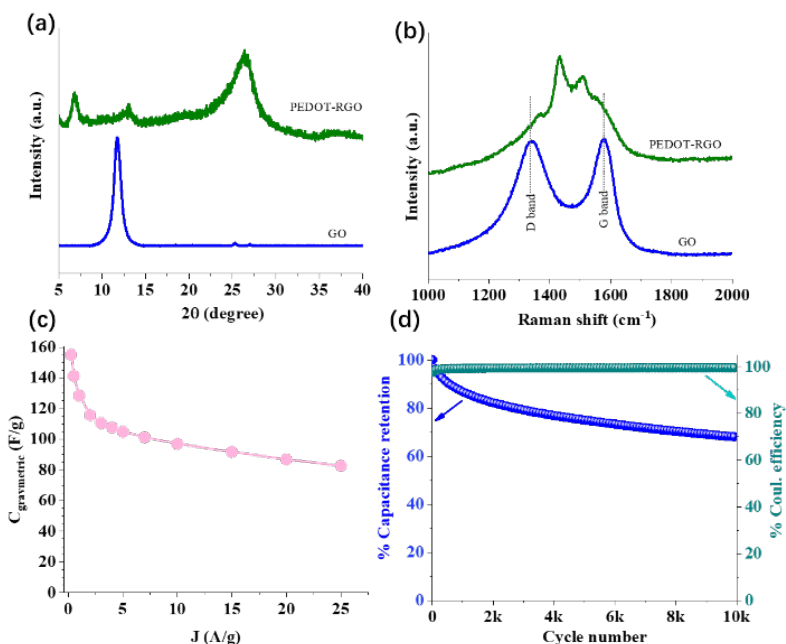


Figure 1. (a) XRD patterns of GO and PEDOT-RGO nanocomposite. (b) Raman spectra of GO and PEDOT-RGO nanocomposite. (c) Specific capacitance versus current density plot PEDOT-RGO supercapacitor. and (d) Durability cycles of PEDOT-RGO supercapacitor.

References

1. Conway, B.E., *Electrochemical Supercapacitors: Scientific Fundamentals and Technological Applications*, Kluwer Academic/Plenum, 1999.
2. Zhao, Z., Richardson, G. F., Meng, Q., Zhu, S., Kuan, H. C., and Ma, J., *Nanotechnology* **2015**, *27*, 042001.
3. Shao, Y., El-Kady, M.F., Wang, L.J., Zhang, Q., Li, Y., Wang, H., Mousavi, M.F., and Kaner, R.B., *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 3639–3665.

Fabrication of electroactive polydopamine films

Majid Al-waeel

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



Majid.al-waeel@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

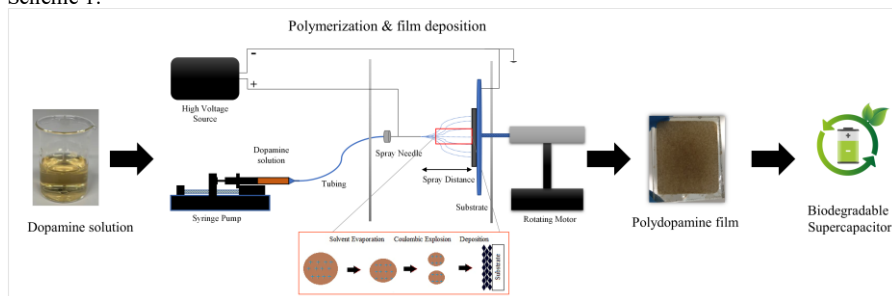
Supervisor(s): Dr. Mikko Salomäki and Prof. Jukka Lukkari

Funding: M-ERA.NET, Academy of Finland.

Estimated time of PhD dissertation: 2027.

Main aims of the PhD research

Polydopamine (PDA) incorporates molecules like 5,6-dihydroxindole within its structure. These molecules have the capability to engage in reversible redox reactions, transitioning between hydroquinone, semiquinone, and quinone states giving rise to PDA's electroactivity. Making use of this electroactivity, our objective is to establish the potential utility of electrospray deposition as a method to fabricate thin films PDA films with desirable electrochemical properties, for application in biodegradable energy storage devices, specifically focusing on supercapacitors Scheme 1.



Scheme 1.: Electro spray deposition process.

Main results so far

The conventional methods for dopamine oxidation involve the incorporation of the buffering agent tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS) to elevate the pH of the dopamine solution to approximately 8.5. Alternatively, other chemical oxidation techniques necessitate the introduction of oxidizing agents such as NaIO_4 or CuSO_4 . However, these widely adopted methods present significant challenges when applied to electrospray deposition, resulting in the formation of films containing larger salt crystals Fig. 1a. In our quest for an improved methodology to achieve salt-free films, our investigations led us to a novel approach to dopamine oxidation utilizing copper metal.

Currently, our research is directed towards understanding the mechanism of copper-mediated dopamine oxidation. The current working hypothesis is that copper metal in dopamine solutions reacts with dissolved oxygen, yielding radicals. These radicals serve as the primary oxidizing agents in the reaction.

To identify the radicals, present in the oxidation process, analytical techniques such as electron paramagnetic resonance and coumarin-based fluorescence emission spectroscopy were used. Our findings revealed the involvement of hydroxyl radicals ($\cdot\text{HO}$) generated through the reaction of copper metal with O_2 , as well as via the Fenton-like reaction cycle between copper (I), copper (II), and hydrogen peroxide.

Furthermore, our investigation highlighted a correlation between the dissolution of copper metal into the dopamine solution and the initial concentration of dopamine. The resultant product is in an almost equimolar ratio of copper to dopamine. Importantly, copper within the deposited films is easily rinsed away and does not leave any cavities in the film structure Fig. 1b.

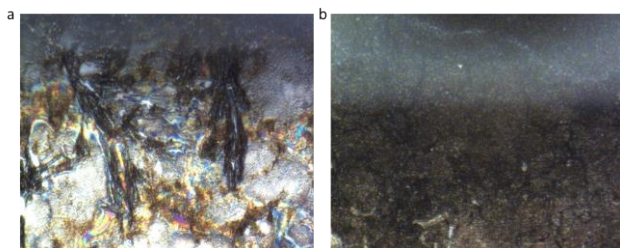


Figure 1: Electrospray deposited polydopamine films a) using NaIO_4 b) using copper metal as the oxidant.

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

As a member of the Materials Chemistry research group, focused on energy storage materials, this research is dedicated to developing sustainable energy storage solutions by synthesizing biodegradable materials. The significance of this research stems from the unique adhesion properties of PDA, which can be tuned by adjusting the oxidant and deposition parameters, enabling it to be coated onto various substrates such as metals, ceramics, and polymers. As a result, PDA films hold the potential for integration with other materials, such as MXenes, which the research group is also exploring.

This research is also, a part of the M-ERA.NET sponsored project InsBIOration, which focuses on transferring theoretical knowledge about sustainable and recyclable materials to practical industrial applications.

Papers to be included in the PhD thesis

There are no publications to be included in the PhD thesis yet. The first paper related to this research will be published soon.

ENGINEERING HIERARCHICALLY STRUCTURED ELECTRODES OF HYBRID MATERIALS FOR BIOPHOTOVOLTAIC APPLICATIONS

Pulmu Eloranta

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



pheor@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

Supervisor(s): Dr. Pia Damlin, Prof. Yagut Allahverdiyeva-Rinne and Dr. Laura Wey

Funding: Research Council of Finland (Photo-*e*-mat)

Estimated time of PhD dissertation: 2027

Main aims of the PhD research

Conquering climate change is one of the greatest challenges of the modern world. For this goal, more sustainable, environmentally friendly and accessible solutions are needed across different research fields. Biological electrochemical systems called biophotovoltaic devices (BPVs) use oxygenic photoautotrophic organisms, such as cyanobacteria or algae as biocatalyst, to convert sunlight into electricity. The driving biochemical reaction in the biocatalyst of BPVs is photosynthesis, whereby light catalyses Photosystem II protein complex to perform water oxidation that releases electrons and oxygen as a by-product. The electrons from photosynthesis can exit the cells by exoelectrogenesis (also known as extracellular electron transfer) as a by-product of photosynthesis (“photocurrent”). BPVs are a promising green bio inspired technology, however they require anode materials (electrode interfaced with the biocatalyst) that are renewable and biocompatible. Currently, most BPVs use indium tin oxide (ITO) electrodes, which are highly conductive but costly and not a sustainable solution. Thus, alternative and competitive electrode materials are needed for these applications.

Atmospheric pressure vapor phase polymerisation (AP-VPP) method can be used to polymerise organic conducting polymers (CPs) such as poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT), on any substrate. These CP electrodes can compete with commercial ITO and be used as a more sustainable electrode material in BPV setup, since they are highly conductive, flexible and transparent. To enhance the performance of CP electrodes and to surpass the capabilities of ITO, different strategies can be considered, such as nanoscale modification of anode surfaces. For this objective, complex electrode materials are fabricated by AP-VPP method. Hierarchical inverse opal (IO) PEDOT structures are created via sacrificial polystyrene (PS) bead template (3D structure) in addition to co-polymerising metal alkoxide precursor tetraethyl orthosilica (TEOS) with organic monomer (EDOT) (2D nanoroughness). These electrodes will be further used in BPV system and evaluated with and without the model cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803 under different dark and light cycles. More advanced bioelectrochemical methods, such as electrochemical impedance spectroscopy (EIS) rotating ring disk electrode (RRDE) and spectroelectrochemical (SEC) *in situ* methods can be used to study the cell-electrode interface and in this way to understand the mechanism of electron transfer.

Main results so far

For fabrication of IO PEDOT structures there are multiple options. In this phase of the research the aim is to concentrate on the material side and optimize a method for fabricating hybrid anode materials with enhanced electroactive surface area. Things to consider are process parameters like temperature, polymerization time, and reactant concentrations for co-vaporising TEOS/EDOT. Optimising the deposition conditions for PS bead template is also important in order to successfully

create a stable and conductive electrode surface. Multiple parameters affecting the fabrication should be optimised carefully.

PEDOT is polymerized (Figure 1) on top of a PS template using AP-VPP method, which provides thin and highly conductive polymer coating for any surface. The templated substrate is spin coated with oxidant solution (iron(III) *p*-toluenesulfonate (tosylate) = FTS) and placed into the AP-VPP chamber, where the polymerisation of EDOT alone, or together with TEOS will occur. After polymerisation, the template is dissolved with solvents like toluene or dichloromethane and the electrode can be interfaced with cyanobacteria (Figure 2).

As of now in my research work, I have introduced TEOS into the AP-VPP method. This addition has led to the creation of a more stable and durable thin film. Additionally, I have studied the possible pathways for 3D IO PEDOT formation by incorporating PS beads into the electrode fabrication process. Moving forward, my next objective is to optimize the fabrication methods to align with our specific material requirements.

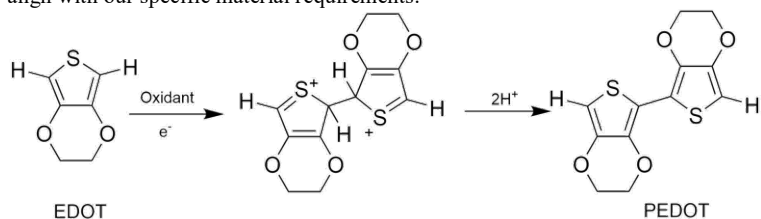


Figure 1. Mechanism for chemical polymerization of PEDOT.

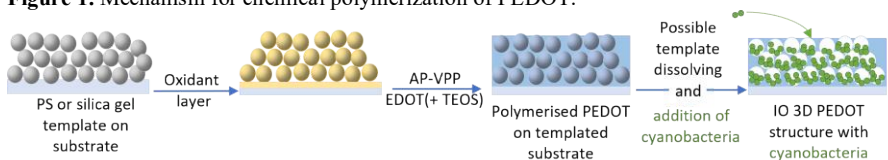


Figure 2. Schematic representation of a possible hierarchical electrode structuring method.

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

Because of the current energy crisis and ongoing climate change, various biohybrid techniques and their popularity have been on the rise in recent years. The growing demand for sustainable energy solutions and applications has gathered a lot of interest. Studying BPVs to make them more biocompatible and renewable is an important interdisciplinary research field for advancing cleaner energy systems. Our research group has already achieved success with our patented AP-VPP method by interfacing CPs with cyanobacteria. My ongoing research will open new developments and applications for the CP material by linking biology and materials chemistry, further enhancing the collaborative framework that also expands the expertise of the Materials Chemistry Research Group.

Papers to be included in the PhD thesis

No publications yet included in the PhD thesis.

Recyclable MXene composites for removing pharmaceuticals from wastewater by photochemical degradation

Joona Huopalainen

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



jhuop@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

Supervisor(s): Prof. Carita Kvarnström and Doc. Pia Damlin

Funding: Department of Chemistry UTU, Doctoral Programme in Exact Sciences (EXACTUS)

Estimated time of PhD dissertation: 2027

Main aims of the PhD research

In this research we focus on finding solutions to the global problem of pharmaceutical pollutants. Wastewater remains one of the biggest emission pathways for the pharmaceuticals, since the current wastewater treatment methods are insufficient to remove the small pharmaceutical molecules. A class of 2D materials, called MXenes, have shown great potential to be used in water treatment. They have high surface area with tunable termination groups, which enables the efficient adsorption of pharmaceuticals. Due to the high mobility of charge carriers in MXene-based composites, the adsorbed pharmaceuticals can be degraded either photo- or electrochemically. Furthermore, the most used MXene, $Ti_3C_2T_x$, has been described as “practically nontoxic” and its precursors are abundantly available.

The main goal of the research is to develop a method, in which the pharmaceutical pollutants could be photodegraded by using MXene composites as a part of the wastewater treatment in a way, that the MXene composites could be recycled. For this purpose, different MXene composites will be studied to obtain the most convenient, durable, and photochemically active material.

Main results so far

MXene ($Ti_3C_2T_x$) dispersion has been obtained by first etching the Al layers of MAX (Ti_3AlC_2) with LiF/HCl solution, and then washing the MXenes with LiCl and distilled water to delaminate the multi-layered structures. (Figure 1)

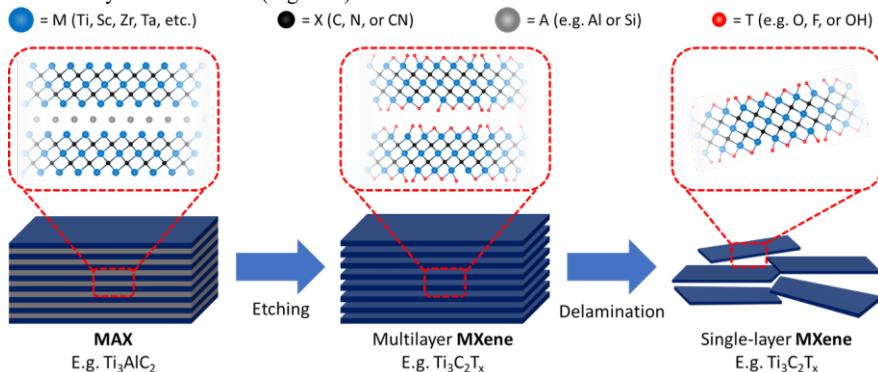


Figure 1. Illustration of how the single-layer MXene flakes are synthesized

By vacuum filtrating the MXene dispersion on to a small pore size membrane, a free-standing MXene membrane is formed. (Figure 2. A) The single-layer MXene sheets are ordered in a way, that the water can pass through the membrane, but the bigger pharmaceutical molecules will be adsorbed. (Figure 2. B) Photosensitizers (e.g. porphyrins) and binding agents (e.g. cellulose) can be added to the MXene dispersion prior the filtration to obtain MXene composites with improved mechanical properties and higher light-harvesting efficiencies. The high conductivity of these flexible membranes makes them promising candidates for the electrochemical or photochemical degradation of pharmaceuticals. We plan to investigate this further in our upcoming experiments.

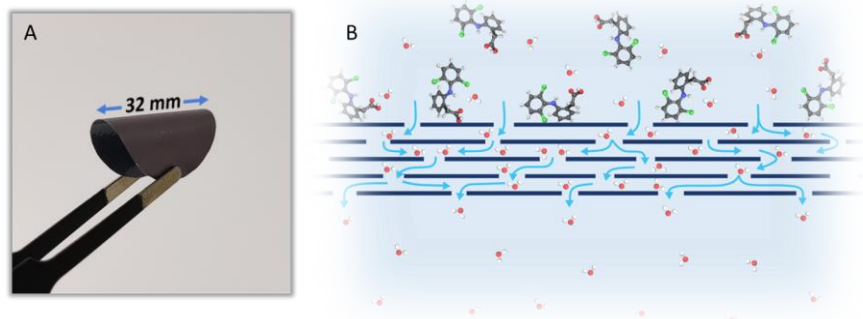


Figure 2. MXene-based membrane bended between tweezers (A) and illustration of how the membrane traps the pharmaceuticals from the water (B).

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

Composite materials, porphyrins, and 2D materials have been among the most studied materials in our group. A major part of the research has consisted of how the materials can be used in different applications. So far, the focus has been more on applications such as solar cells, supercapacitors, electrochromics, and CO₂ reduction. However, the above-mentioned materials have shown great properties towards use also in water purification. Due to my research project and the recent research work done in our group, we are widening our expertise in different applications. Furthermore, it should provide more comprehensive understanding of the materials, which we are studying.

Even though the problem of pharmaceutical pollutants has been known for a long time, there has not been widely applicable solutions. With the expertise in Materials Chemistry Research Group and in the whole University of Turku, we will provide high-quality research work to fight against this problem.

Papers to be included in the PhD thesis

The PhD work has recently started so there are no publications yet, to be included in the PhD thesis.

MXene Based 2-Dimensional Materials for Supercapacitor Applications

Ashwini Jadhav

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



aajadhi@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

Supervisor(s): Prof. Carita Kvarnström, Dr. Pia Damlin and Dr. Mikko Salomäki

Funding: Kiinteistösaatiö.

Estimated time of PhD dissertation: Spring 2025

Main aims of the PhD research

This work is focused on the synthesis of different morphologies of MXenes and their applications in energy storage using a variety of modified electrolytes. MXenes are an important class of 2-dimensional materials with excellent physical and chemical properties. However, multilayer MXenes have poor capacitance owing to restacking of the sheets. In my work thus far, we have aimed to address this problem by intercalating different materials such as ionic liquids, conducting polymers, etc., between the MXene layers. This leads to an increased interlayer spacing resulting in a larger accessible surface area for the electrolyte ions. Furthermore we have incorporated the use of modified electrolytes in order to enhance the capacitance and the energy density of the supercapacitors - an important parameter for practical applications of energy storage devices.

Main results so far

MXenes are synthesized from the MAX phase by etching of Al layers using LiF/HCl solution. Intercalation of two different ionic liquids, namely, 1-ethyl-3-methylimidazolium BF₄ (EMIM BF₄) and 1-butyl-3-methylimidazolium BF₄ (BMIM BF₄) was studied for this work. Synthesis of MXene and its intercalation by ionic liquid was confirmed by PXRD, SEM, TGA, and XPS. (Figure 1).

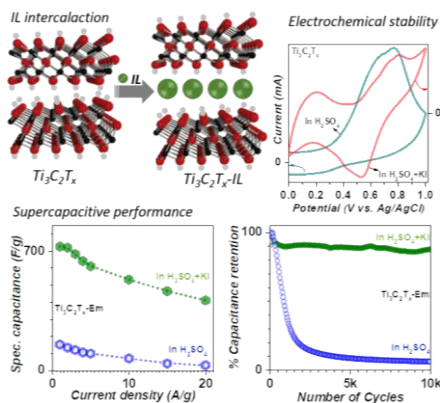


Figure 1. Capacitance of MXene-Ionic Liquid composites using modified redox electrolyte

Electrochemical measurements were performed in a symmetric 2-electrode setup using the conventional 1 M H₂SO₄ (SA) and redox-active electrolytes consisting of H₂SO₄ and potassium iodide (SA+KI). It is observed that pristine MXenes tend to oxidize and break down in SA, thus exhibiting poor capacitance and poor cycling stability. On the other hand, the addition of potassium iodide to the electrolyte renders both the MXene and MXene-IL composites electrochemically stable. The resulting capacitance values were two times higher than SA. Additionally, all the materials exhibited excellent cycling stability for 10000 cycles.

We have also achieved a different flower shaped morphology of MXenes that is not the conventional layered 2D structure and anchored ionic liquid molecules on it. We have used a novel type of electrolyte known as Water-in-Salt electrolyte (WISE), which are stable in a larger potential window than conventional aqueous electrolytes i.e. their stability window is > 1.23 V. This leads to an enhancement of energy density of the supercapacitors. Our work is based on the use of an inexpensive sodium based salt (NaClO₄), which allows us to utilize a potential window of around 2V. Our 2-electrode supercapacitor studies have shown promising results using this new electrolyte.

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

From its production, distribution, and storage there has been a considerable shift in our outlook toward the energy ecosystem. The development of new materials and electrolytes forms the main backbone for supercapacitor applications. This work addresses both these aspects to not only achieve high capacitance but also excellent stability and high energy density. Ionic liquids are considered green solvents so their use in the intercalation process of MXenes is moving one step closer to the development of sustainable materials for energy storage.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Ashwini Jadhav, Plawan Jha*, Pia Damiln, Sari Granroth, Mikko Salomäki and Carita Kvarnström*. Supercapacitive performance of ionic-liquid-intercalated twodimensional Ti₃C₂T_x in redox electrolyte. Cell Reports Physical Science. 2024, 5, 101788 20.

Ashwini Jadhav, Plawan Jha and Carita Kvarnström. Achieving High Energy-Density Supercapacitors via Ti₃C₂T_x Based Materials in a Water in Salt Electrolyte. Manuscript under preparation (2024)

DEVELOPMENT OF CATALYST FOR ELECTROREDUCTION OF CO₂

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: Business Finalnd (COMPOL Project), Fortum and Neste Foundation, Magnus Ehrnrooth foundation, Real Estate Foundation and Department of Chemistry (UTU).

Estimated time of PhD dissertation: 8/2024

Main aims of the PhD research

Renewable macrocyclic metal complexes with versatile molecular structure can be tailored to enhance their selectivity and electrocatalytic efficiency towards the generation of renewable chemical feedstocks. This project emphasizes on using porphyrin as a homogeneous as well as heterogeneous catalyst. Composite materials consisting of porphyrins will also be synthesized. These materials will be evaluated for the catalytic properties towards CO₂ reduction and electrochromic properties. In situ, spectroelectrochemistry and theoretical studies will be used to establish a better understanding of this process. The objective can be accomplished by a successful synergy between advanced characterization tools, electrochemistry and theoretical studies.

Main results so far

Porphyrins have shown very promising catalytic activity towards electro and photoelectrochemical reduction of CO₂ due to their unique electronic and structural properties. Metalloporphyrins absorb visible light and have well defined electrochemical response. It also provides a wide opportunity to improve catalytic efficiency and selectivity by ligand modification and introduction of functionality.

This work focusses on homogeneous as well as heterogeneous catalysis. For heterogeneous experiments, metalloporphyrins are either absorbed or covalently bonded to the electrode surface. Defining the reactive routes of the metalloporphyrin in a homogeneous medium and at the surface of the electrode will develop a comprehensive understanding of the catalytic activity. Theoretical studies performed gave a better insight into the formation of the catalyst on the electrode surface [1]. Porphyrin based composite materials are under investigation for their photoelectrochemical properties [2].

The porphyrin copolymers also exhibit significant optical and electronic properties. The integration of porphyrin in the polymer network induces multielectron properties giving deep coloration with good stability and fast switching response [3].

In situ spectroscopic studies performed provide in-depth real-time information about the reaction mechanisms and nature of active sites under the reaction environment. The goal is also to understand catalytic behaviour and identify the reaction intermediates. In situ ATR-FTIR, UV-Vis and Raman spectroelectrochemical methods are used to study the catalytic behaviour developed on the porphyrin-based system for CO₂ reduction. To capture more detailed information efforts have been directed in designing highly reproducible electrochemical cells with enhanced signal quality.

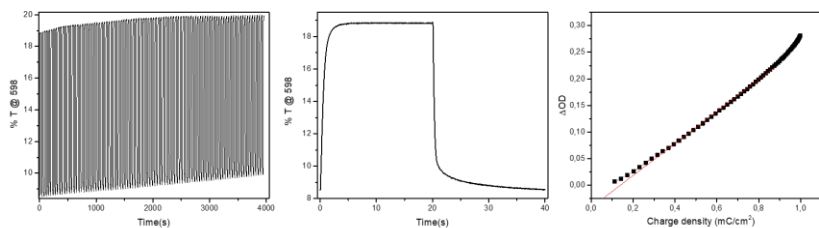
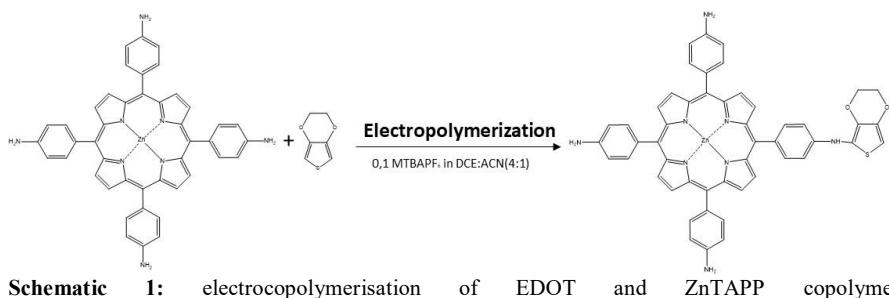


Figure 1. Electrochromic switching data of copolymer.

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

The goal of this dissertation is to develop porphyrin based electrocatalyst of high chemical stability, selectivity and efficiency towards the electroreduction of CO_2 . This research plan covers a wide spectrum of topics ranging from materials design and synthesis, detailed physical and chemical characterization followed by application as a catalyst for electroreduction of CO_2 and getting insight on their electrochromic properties. Theoretical studies give a better understanding into the polymerization process and mechanism. In-situ Spectroelectrochemistry plays an important role in elucidating peculiarities in the mechanism of polymerization and electrochromic switching process. The realization of the proposed objectives should lead to major steps in establishing the understanding about catalyst for CO_2 reduction and electrochromic properties of copolymer films.

Papers to be included in the PhD thesis

1. Kochrekar, S., Kalekar, A., Mehta, S., Damlin, P., Salomäki, M., Granroth, S., Meltola, N., Joshi, K. and Kvarnström, C., 2021. *RSC advances*, **2021** 11(32), 19844 -19855.
2. Kochrekar, S., Damlin, P., Salomäki, M., and Kvarnström, C (Submitted)
3. Kochrekar, S., Damlin, P., Salomäki, M., and Kvarnström, C. (under preparation)

MATERIALS FOR ELECTROCATALYSIS

Adefunke O. 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 Adj. Prof. Pia Damlin

Funding: Real Estate Foundation, Department of Chemistry UTU, (COMPOL) Business Finland Doctoral Programme in Physical and Chemical Sciences, Magnus Ehrnrooth foundation.

Estimated time of PhD dissertation: 4/2024.

Main aims of the PhD research

This research focuses on environmental mitigation through electrocatalysis. Environmentally friendly hybrid materials are synthesized for electrocatalytic applications such as carbon dioxide (CO₂) and paranitrophenol (4-NP) conversion, with the aim to produce value added chemicals and fuels. To achieve this, parameters that play a vital role in catalysts performance (e.g. particle size and metal-support interaction) are optimized for long-term stability, selectivity, and efficiency. This research explores catalyst materials consisting of metal nanoparticles (Au, Pd, Cu), metal oxides (TiO₂), nanoalloys, layered double hydroxides (LDH) and reduced graphene oxide. The structure and properties of the materials are studied with state-of-the-art analytical techniques (e.g. Raman, TEM, UV, FTIR). This research paves a way for a better understanding of the effect of metal loading, electrode material, synthesis medium and nanostructure on the development of catalysts for electrocatalytic applications. In addition, this research provides an opportunity for quick material screening for electrocatalytic applications.

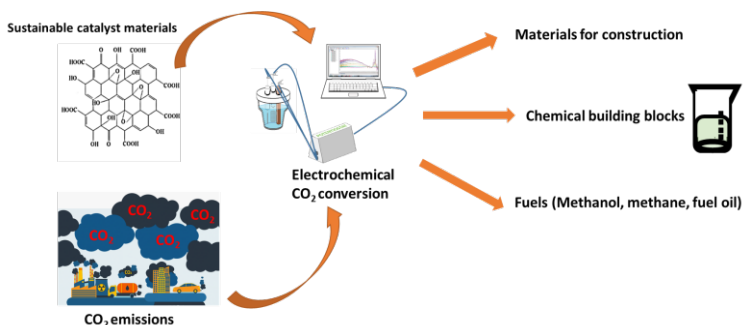


Figure 1. Graphical illustration of the main process used in this PhD work.

Main results so far

Electrocatalysis is a promising pathway to achieving a low carbon future. The focus of this research is on two electrochemical applications (CO₂ and 4NP). The first stage of my research focused on activating CO₂ in several solvent systems. Cellulose derived graphene oxide (nGO) and its reduced form (r-nGO) served as an anchor for Au nanoparticles. The particle size of Au ranged from 2.01 nm – 6 nm as observed using TEM. These materials have shown improved activity towards CO₂ electrocatalysis in different electrolyte conditions: [Emim][NTF₂], [Hmim][BF₄] and 0.1 M TBAPF₆ + ACN [1]. The results obtained from publication [1] form a solid foundation for the use of cellulose-based graphene oxide for CO₂ electrocatalysis.

In publication [2] semiconductor materials were synthesized with the aim of comparing the electrocatalytic activity of conventional semiconductors consisting of metals and metal oxides (Au/TiO₂ and Pd/TiO₂) with layered double hydroxides (CuFe and NiFe). The morphology of these materials was studied and their activity compared for the electrocatalytic reduction of 4NP in aprotic solvent [2]. Preliminary results for the use of these materials for CO₂ electrocatalysis have also been obtained.

In publication [3] ternary catalyst consisting of metal/metal oxide/graphene (Cu-TiO₂/rGO) was optimized for electrocatalytic CO₂ reduction in aqueous solution (0.5 M KHCO₃). The performance of the TiO₂, TiO₂/rGO and Cu-TiO₂/rGO was initially evaluated and the performance of the Cu-TiO₂/rGO catalyst was further evaluated using a rotating ring disc electrode (RRDE). The mechanism behind the RRDE tool is that CO₂ reduction takes place on the disc electrode and product detection takes place on the ring electrode. Thus, the RRDE serves as a sensitive and quick detection tool for the identification of products formed during CO₂ reduction. Composite's chemical structure (FT-IR, Raman, UV-vis, XPS), microstructure (SEM, TEM), and electrochemical properties (cyclic voltammetry, chronoamperometry, linear sweep voltammetry) were also studied extensively [3].

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

The materials chemistry research group, MCRG has several years of experience in electrochemical and spectroelectrochemical characterization with focus on different energy materials. This research is significant to the research group as it utilizes electrochemical techniques for the development and study of catalytic materials and their applications. The research is also significant to the field as it focuses on environmental mitigation through electrocatalysis. My research aims to mitigate greenhouse gas (CO₂) emissions while simultaneously providing valuable chemicals that serve as building blocks for products we use in our everyday lives.

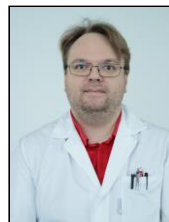
Papers to be included in the PhD thesis

1. Koyejo, A.O., Kesavan, L., Damlin, P., Salomäki, M., Yao, J.G., Hakkarainen, M., Kvarnström, C. *ChemElectroChem* **2020**, *7*, 4889-4899.
2. Koyejo, A.O., Kesavan, L., Damlin, P., Salomäki, M., Kvarnström, C., *ChemElectroChem* **2022**, *9*, 1-11
4. Koyejo, A.O., Chu, X., Kesavan, L., Damlin, P., Kvarnström, C. (*manuscript under review in ChemElectroChem*) **2024**.

NEW SUSTAINABLE IONIC PHASES FOR PERFORMANCE IMPROVEMENT OF BIODEGRADABLE SUPERCAPACITORS

Atte Kudjoi

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



atvaku@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

Supervisor(s): Dr. Mikko Salomäki, Dr. Henri Kivelä and Prof. Jukka Lukkari

Funding: Fortum and Neste Foundation, Doctoral Programme of Exact Sciences

Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

In this project we will study novel Type IV deep eutectic solvents (DES, which are eutectic mixtures of Brønsted or Lewis acids that are liquid at room temperature) to be used as sustainable and biodegradable ionic phases for biodegradable supercapacitors. The project consists of three parts: (1) preparation and physicochemical characterization of new type IV DESs. Then, (2) the electrochemical and dynamic studies of the selected systems are performed to further characterize the systems and it will help in choosing of the preferred systems to final phase. In the final phase (3), the selected systems are employed and studied as a part of a supercapacitor device.

Main results so far

First systems consisting of calcium chloride hexahydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) and ethylene glycol (eg) have been selected with molar ratios of 1:2, 1:1 and 2:1 of $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$:eg. These were subjected to basic physicochemical characterization, which includes measurements of density, viscosity, conductivity and how they behave as a function of temperature (Fig. 2). Electrochemical characterization with cyclic voltammetry (CV) was done to determine the potential window of the selected DESs. Using 1,4-benzoquinone, hydroquinone and catechol, proton coupled electron transfer reactions have been studied (Fig. 1B). The pH of the DESs has been studied as it plays a critical role in the electrochemical reactions. NMR-spectroscopy measurements are under way and will tell about molecular scale dynamics of the DESs and their overall water content.

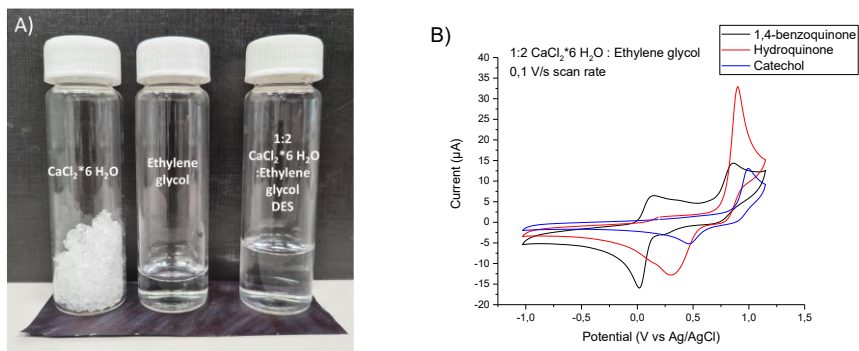


Figure 1. A) The reagents and the product; left to right: $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, ethylene glycol and the 1:2 molar ratio DES at room temperature. B) Electrochemical behavior of 10 mM 1,4-benzoquinone, hydroquinone and catechol in DES of 1:2-ratio of $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$:ethylene glycol using cyclic voltammetry with scan speed of 0,1 V/s vs Ag/AgCl-reference electrode.

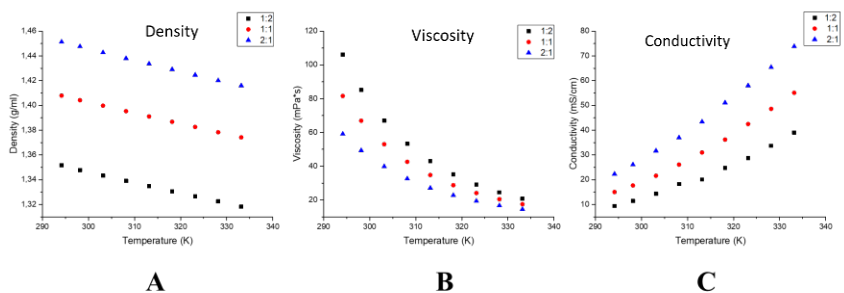


Figure 2. Behavior of A) density, B) viscosity, and C) conductivity as a function of temperature.

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

Interest in biodegradable electronics has increased in the past years the amount of electronic waste increases (~40 metric tons per year) and the impact on health for humans and the environment is severe. As such, these devices need a power source which is also biodegradable, both the electrode materials and the ionically conducting phase. As the idea of using DESs as these ionically conducting phases is quite novel, this study will help furthering the knowledge on using them as ionically conducting phases. The study also connects with other projects in our research group, where these sustainable electrode materials for supercapacitors are prepared.

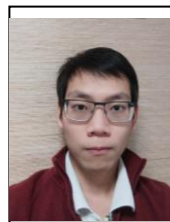
Papers to be included in the PhD thesis

Project has been just started, so no manuscripts are yet to be produced.

New Materials for Energy Application: MXene in Base Syntheses

Vinh Nguyen

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



tnguy@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

Supervisor(s): Prof. Carita Kvarnström and Dr. Pia Damlin

Funding: Doctoral Program in Exact Science, (EXACTUS)

Estimated time of PhD dissertation: 2026.

Main aims of the PhD research

The research focuses on fabricating new materials for energy applications such as supercapacitors and batteries. MXene, a promising 2D material, boasts superior characteristics such as conductivity and surface area, ideal for supercapacitor integration. While MXene synthesis has seen advancements with acid solutions and fluorine inclusion, data regarding the impact of base synthesis has been lacking until now. In this year, the work targets on exploring novel synthesis pathways for MXene, utilizing various base solutions in the production process.

The aim is to delve into MXene synthesis under gentle base conditions, unraveling the details of the processes. Through rigorous experimentation and analysis, the verification for synthesis products is by using advanced techniques to ensure both quality and quantity of elements and bonding. These findings will not only reveal the potential of these reactions but also shed light on the boundaries and emerging trends in base reaction.

Main results so far

In concept of converting MAX to MXene is to remove the aluminum layer out of the MAX, suggesting aluminum extraction strategy. Although aluminum can be etched from the MAX in any basic condition, the extraction amount is still insignificant, leading to the failure of MXene fabrication. The etching process has not been successful due to many factors, that can be either from temperature, pressure and concentration. Therefore, the sequence of reactions has been carried out to determine the impact. Following the articles, there are 3 bases were preliminary used for the study, namely sodium hydroxide (NaOH), potassium hydroxide (KOH) and Tetramethylammonium hydroxide (TMAOH).

Chemicals	Temperature (°C)	Reaction Time	XRF	AAS
Pristine MAX	-	-	24.664	0
MAX + TMAOH + NaOH	95	24 h	12.903	87.59
	7	96 h	21.931	50.55
MAX + TMAOH + KOH	95	24 h	12.478	89.83
	7	96 h	16.834	43.28
MAX + TMAOH	95	24	20.754	84.13

Table 1. Different base conditions and the efficiency of Aluminum removal. X-ray Fluorescence (XRF) measurement shows the percentage of Al in the sample. Atomic absorption spectrometry (AAS) results show the yield (in %) of Al extraction.

Table 1 reveals a clear trend of increased aluminum extraction at higher temperatures. Additionally, the presence of TMAOH appeared to impact the conversion of MXene. While the quantitative analyses yielded promising results for aluminum extraction, confirmation of the MXene structure formation requires X-Ray diffraction analysis (XRD), as depicted in **Figure 1**. The depletion of Al content in products may have been insufficient to convert MAX to MXene. Only a small quantity of MXene was detected in TMAOH. Despite the low yield, these initial findings suggest the potential feasibility of mild base synthesis for MXene. The subsequent phase in this strategy involves identifying the side reactions and challenges that impede yield and aluminum extraction, paving the way for the implementation of new solutions.

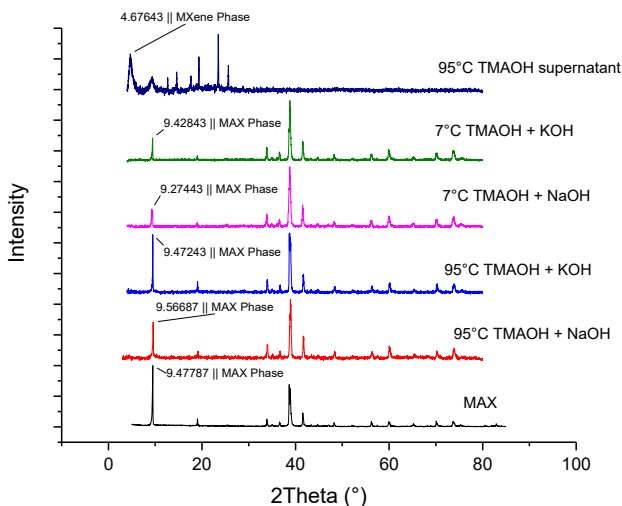


Figure 1. XRD results from different base reagents synthesis.

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

This work aims to revolutionize MXene synthesis by proposing a simpler, more affordable, and environmentally friendly method. With mild base synthesis conditions for MXene, this will offer a novel perspective on MXene production for research and provide industry with versatile options that can mitigate environmental impact and decrease waste treatment costs.

Papers to be included in the PhD thesis

Preparing manuscript: “Comparison of different MAX exfoliation under basic condition”

ÄLYKKÄIDEN MATERIAALIEN KEMIAN TUTKIMUSRYHMÄ

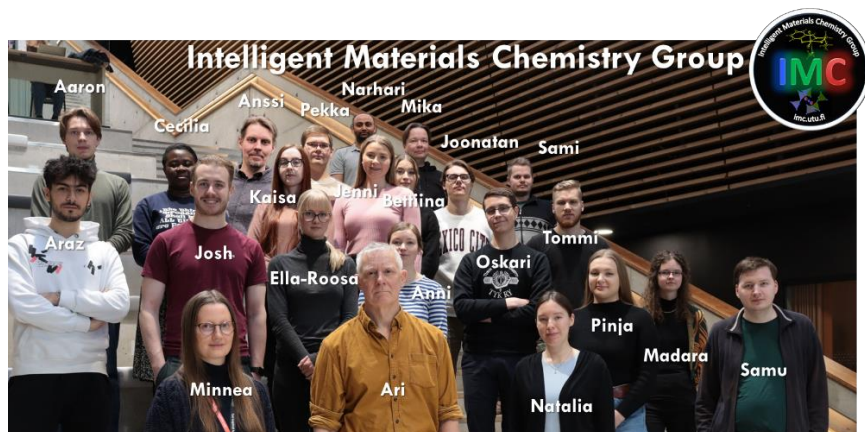


ÄLYKKÄITÄ KESTÄVÄN KEHITYKSEN MATERIAALEJA

Prof. Mika Lastusaari ja Dos. Ari Lehtonen

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto
s-posti: mika.lastusaari@utu.fi ja ari.lehtonen@utu.fi
imc.utu.fi

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmässä (**Intelligent Materials Chemistry research group, IMC**) tutkitaan ja kehitetään kestävästä kehityksen materiaaleja, joilla on kyky reagoida ulkoisiin ärsykkeisiin. Ryhmämme erikoisoaamiset ovat fotonisissa materiaaleissa sekä metalli-organaisessa kemiassa, ja niitä hyödyntämällä keskitymme pääteemoihimme: **älykkäät sensorit ja detektorit, älykäs kuvantaminen, älykäs katalyysi, älykäs valaistus, älykäs energia ja älykäs kierrätys**. Tutkimamme materiaalit ovat joko epäorganaisia, orgaanisia tai hybridejä. Ryhmämme etsii jatkuvasti ratkaisuja yhteiskunnan materiaalitärpeisiin, ja sekä perustutkimuksemme että soveltava tutkimuksemme perustuu vahvaan koti- ja ulkomaalaiseen tieteidenväliseen yhteistyöverkostoon.

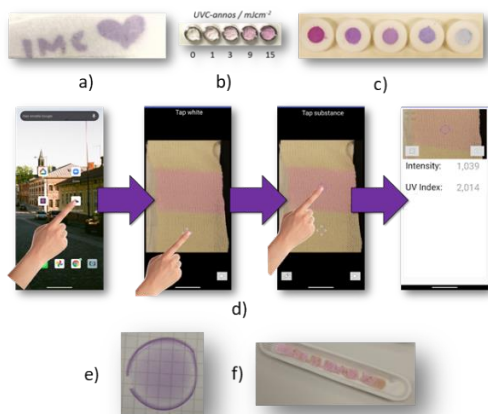


Kuva 1. Älykkäiden materiaalien kemian ryhmä. Kuvasta puuttuvat Aino, Ossi, Timo ja Miika.

ÄLYKKÄÄT SENSORIT JA DETEKTORIT

Sensorit ja detektorit ovat materiaaleja tai laitteita, jotka pystyvät havaitsemaan erilaisia asioita sekä määrittämään niiden määriä. Havaitseminen perustuu materiaalin jonkin ominaisuuden selkeään muutokseen. IMC-ryhmässä tutkitaan sensori- ja detektorimateriaaleja, jotka muuttavat väriään altistuessaan erilaisille säteilytyypeille. Nämä materiaalit ovat siis fotokromisia (Kuva 2) ja ne toimivat täysin ilman sähköä. Lisäksi materiaalit ovat kierrätettäviä ja myrkyttömiä.

IMC-ryhmässä on kehitetty SensoGlow[®]-materiaaliperhe, joka havaitsee UV-, röntgen-, alfa-, beeta- ja gammasäteilyä sekä pystyy kvantifioimaan niistä saatavat säteilyannokset. Tätä varten on kehitetty myös Android-puhelimissa toimiva sovellus, jonka avulla voidaan esim. määrittää SensoGlow[®]-materiaalin värin voimakkuuden avulla auringon UV-indeksin arvo. Kuvassa 2d on esitetty UV-indeksin arvon määrittäminen kankaasta, joka on kudottu Aalto-yliopistossa kehitetyistä Ioncell[®]-selluloosalangasta, joka sisältää IMC-ryhmän SensoGlow[®]-materiaalia.

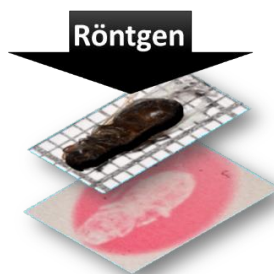


Kuva 2. (a) Fotokromismilla kuvitettu pinta, (b) fotokromisen materiaalin värin voimakkuus eri UVC-säteilyannosten vaikutuksesta, (c) erivärisistä fotokromismia ja (d) Android-sovellus auringon UV-indeksin määrittämiseen. Tässä kuvassa detektorina on kangas, joka on kudottu SensoGlow[®]-materiaaliamme sisältävästä Ioncell[®]-selluloosalangasta. e) Maisterityössä valmistettu fotokrominen kalvo. f) LuK-työssä valmistettu fotokrominen materiaali.

Vuoden 2022 lopussa IMC-ryhmällä päättyi Euroopan avaruusjärjestön (ESA) rahoittama projekti, jonka tuloksena SensoGlow[®]-materiaali on lähdössä vuonna 2024 International Space Stationille (ISS) passiiviseksi säteilymittariksi. Projektissa työskenteli postdoc Sami Vuori. Myös tohtoriopiskelija Cecilia Agamah, gradutyöntekijä Bettiina Muurinen sekä Tutkimusprojekti I:tä tekevä Araz Osmanov työskentelevät fotokromisten materiaalien parissa. Lisäksi Pekka Piivek ja Aaron Söderlund syntetisoivat ja tutkivat LuK-harjoitustyössään fotokromisia materiaaleja.

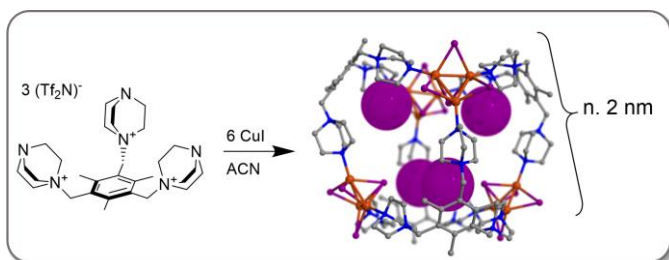
ÄLYKÄS KUVANTAMINEN

IMC-ryhmässä on myös kehitetty fotokromisiin perustuva röntgenkuvantamismenetelmä. Toisin kuin perinteisessä röntgenkuvantamisessa, tässä menetelmässä ei tarvita kalliita detektoreja. Lisäksi tämän menetelmän materiaalit ovat kierrätettäviä ja myrkyttömiä. Kehitystyössä ovat mukana tohtoriopiskelija Cecilia Agamah, projektitutkijat Pinja Santamäki ja Natalia Antonova sekä Tutkimusprojekti I:tä tekevä Anni Nyman.



Kuva 3. IMC-ryhmässä kehitetty fotokromisiin perustuva röntgenkuvantamismenetelmä.

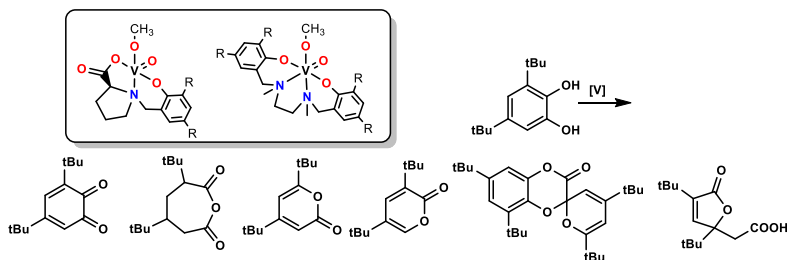
Eräs ryhmämme tutkimusaiheista metalliorganisen kemian alueella on koordinaatioisidosten avulla rakennettavat nanokokoiset kolmiulotteiset häkkirakenteet. Nämä supramolekulaariset yhdisteet muodostuvat orgaanisista ligandeista sekä metalli-ioneista nk. koordinaatiovälikkeiden itsejärjestymisprosessien avulla. Visuaalisen näytävyyden 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. Yliopisto-opettaja 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. Myös Oskari Koivisto tutki koordinaatiohäkkeitä Tutkimusprojekti I -työssään.



Kuva 4. Jodidi-ioneja sisäänsä vangitsevan koordinaatiohäkin valmistus ja yksikideröntgen-diffratiomenetelmän avulla havaittu rakenne.

ÄLYKÄS KATALYYSI

Katalyysitutkimus tähtää uusien katalyyttien löytämiseen ja luonnon katalyyttien – entsyymien – aktiivisten keskusten jäljittelemiseen. Tutkittavat yhdisteet ovat pääasiassa monihampaisten orgaanisten ligandien muodostamia vanadiini- ja molybdeenikomplekseja, ja tutkimus keskittyy pääasiassa biologisia hapetusreaktioita jäljitteleviin reaktioihin. Esimerkiksi vanadiini on yleinen alkuaine, jota on monissa eliöissä pieninä määrinä osana jotain entsyymiä, ja sen tehtävänä on katalysoida erilaisia hapetus- ja pelkistysreaktioita. IMC-ryhmässä tutkitaan sellaisia vanadiiniyhdisteitä, jotka muistuttavat rakenteeltaan (*biomimeettinen*) ja toiminnaltaan (*biovirikkeinen*) luonnossa esiintyviä entsyymejä. Kuvassa 5 esitetään *biovirikkeisten* vanadiinikompleksien katalysoima katekolon oksygenaatioreaktio. Miika Mäkipää teki LuK-työssään eräitä biomieettisiä vanadiiniyhdisteitä.

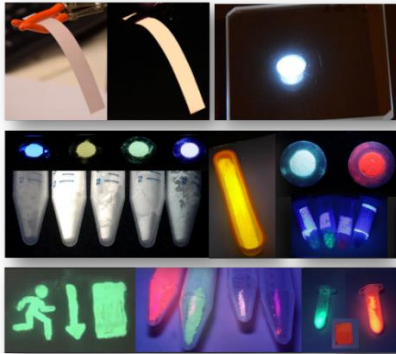


Kuva 5. Vanadiinikompleksien katalysoima katekolon oksygenaatio.

ÄLYKÄS VALAISTUS

IMC-ryhmässä kehitettyyn SensoGlow®-materiaaliperheeseen kuuluu myös valoa tuottavia materiaaleja. Nämä pystyvät tuottamaan auringon valoa jäljittelevää valkoista valoa sekä myös jopa seitsemän tunnin mittaista jälkiloistetta (Kuva 6, yläriivi). Nämä materiaalit eivät sisällä raskasmetalleja eivätkä muitakaan myrkyllisiä alkuaineita. Ryhmässämme tutkitaan myös mineraalien ja synteettisten mineraalien käyttöä valaistustarkoituksiin. Esimerkkinä lupaavasta mineraalista on hackmaniitti ($\text{Na}_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}\text{Cl}_2$), jonka tuottama valo voidaan säätää moneen eri väriin (Kuva 6, keskiriivi).

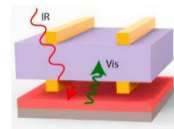
Hackmaniittien loiston kehittämistä varten IMC-ryhmällä on käynnissä Suomen Luonnonvarain Tutkimussäätiön rahoittama kolmivuotinen Soda-Lights-hanke, jossa työskentelee postdoc Sami Vuori. Tutkimusprojekti I -töissä Ella-Roosa Suni tutkii synteettisten hackmaniittien käyttöä valkoisissa LED:eissä ja Samu Raunio raskaampien sodaliittien loistia. Madara Tomele taas tutkii gradutyössään uuden Ca-sodaliitin loistetta. Josh Baggott, joka on vaihdossa Durhamin yliopistosta (UK), selvittää mahdollisuutta saada hackmaniitista valoa lantanidien avulla. Jenni Ali-Penttilä, Aino Kärämänoja, Kaisa Miller, Tommi Mäenpää, Ossi Mustonen ja Joonatan Tuoresjärvi tekivät kaikki LuK-harjoitustyönsä liittyen valoa tuottaviin materiaaleihin.



Kuva 6. Luminoivia materiaaleja toiminnassa. Yläriivi: SensoGlow®-materiaalien loistoa. Keskiriivi: Maisteritöissä valmistettuja loistavia hackmaniitteja, sodaliitteja ja silikaatteja. Alarivi: LuK-töissä valmistettuja loistavia materiaaleja.

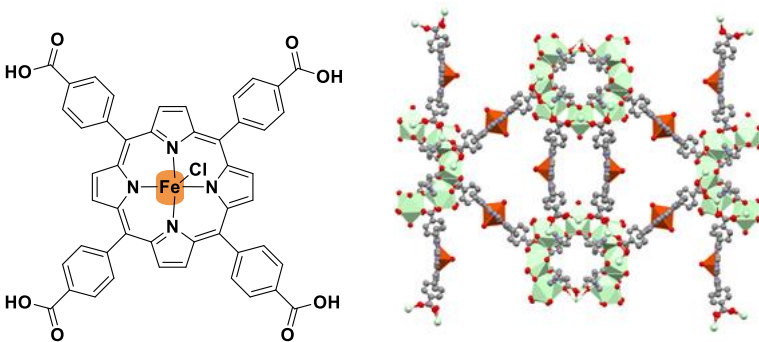
ÄLYKÄS ENERGIA

IMC-ryhmä tutkii yhdessä Aalto-yliopiston kanssa uusia ratkaisuja aurinkokennojen toiminnan tehostamiseen. Yhtenä tutkimuksen kohteena on lisätä aurinkokennoon kerros, joka pystyy muuttamaan muuten käyttämättä jäävän infrapuna-alueen säteilyn näkyväksi valoksi (Kuva 7), jonka aurinkokenno pystyy muuttamaan sähköksi. Olemme saaneet tästä tuloksena jo hyvän 3 % parannuksen piiaurinkokennon tehokkuuteen.



Kuva 7. Tehostetun aurinkokennon periaate.

Monilla siirtymämetallien kompleksiyhdisteillä esiintyy varauksensiirtoa ligandilta metallille. Tämä aiheuttaa voimakkaan absorptio näkyvän valon alueella, joten kompleksit voivat toimia aurinkokennoissa herkistiminä. IMC-ryhmässä tutkitaan siirtymämetallikompleksien soveltamista aurinkoenergian käytön tehostamiseen, jolloin metalliorganisen kemian tutkimus nivoutuu yhteen loisteainetutkimuksen kanssa. Tässä työssä ligandeina käytetään ns. non-innocent-ligandeja eli sellaisia orgaanisia yhdisteitä, joihin voi erilaisten hapetus-pelkistysprosessien seuraksensa jäädä parittomia elektroneja. Parittomat elektronit aiheuttavat yhdisteissä mielenkiintoisia magneettisia ja spektroskooppisia ominaisuuksia. Narhari Sapkota tutkii väitöskirjatyössään metalli-orgaanisia runkorakenteita (Metal-Organic Framework, MOF), joissa orgaaninen osa sisältää edellä mainittuja non-innocent-ligandeja, tässä tapauksessa rautaporfyriiniin perustuvia rakenneosia. Tavoitteena on valmistaa kiinteitä materiaaleja, joissa sähköiset ja magneettiset ominaisuudet yhdistyvät kolmiulotteiseen huokoiseen rakenteeseen. Näillä yhdisteillä odotetaan olevan sovellutuksia mm. veden valmistuksessa veden sähkökatalyyttisellä hapetuksella. Timo Laukkanen teki LuK-työssään vastaavanlaisia MOF-rakenteita.



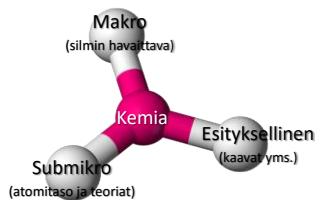
Kuva 8. Raudan porfyriinikompleksi ja siitä valmistettu MOF-rakenne.

ÄLYKÄS KIERRÄTYS

Kuten jo yllä on käynyt ilmi, IMC-ryhmässä kehitetyt materiaalit ovat kierrätettäviä. Tämän lisäksi IMC:ssä on käynnissä Teknologiateollisuuden 100-vuotissäätiön ja Jane ja Aatos Erkon säätiön rahoittama hanke ”Jätteestä seuraavan sukupolven molekylaarisiksi materiaaleiksi”, jonka tavoitteena on kehittää menetelmä, jolla voidaan kierrättää elektroniikkajäte uusiksi älykkäiksi materiaaleiksi, joiden toiminta perustuu optisiin tai magneettisiin ominaisuuksiin. Tämä hanke toteutetaan yhdessä Jyväskylän yliopiston kanssa. IMC:ssä tässä projektissa työskentelee postdoc Minnea Tuomisto.

PEDAGOGINEN TUTKIMUS

Epäorgaanisen materiaalikemian ryhmän pedagogisen tutkimuksen mielenkiinto kohdistuu kemiaa yliopistossa opiskelevien opiskelu- ja oppimisstrategioihin (Kuva 9). Tutkimuksen tarkoituksena on antaa kemian yliopistopetujalle välineitä paremmin suunnattuun opetukseen ja siten 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

Älykkäiden materiaalien kemian projektitoita voi tehdä kaikissa yllä esitellyissä aihepiireissä. Myös opiskelijan itsensä ehdottamat aiheet ovat tervetulleita. Aiheita voi kysyä Ari Lehtoselta ja Mika Lastusaareltä. LuK-töiden aiheita on koottu tänne:

<https://imc.utu.fi/courses/luk-harjoitustyot/>

LISÄTIETOJA

Instagram: @imc_utu

Internet: <https://imc.utu.fi/>

Lantanideihin perustuvat aikaerotteiset biosensorit ja biokuvantaminen

Jenni Ali-Penttilä

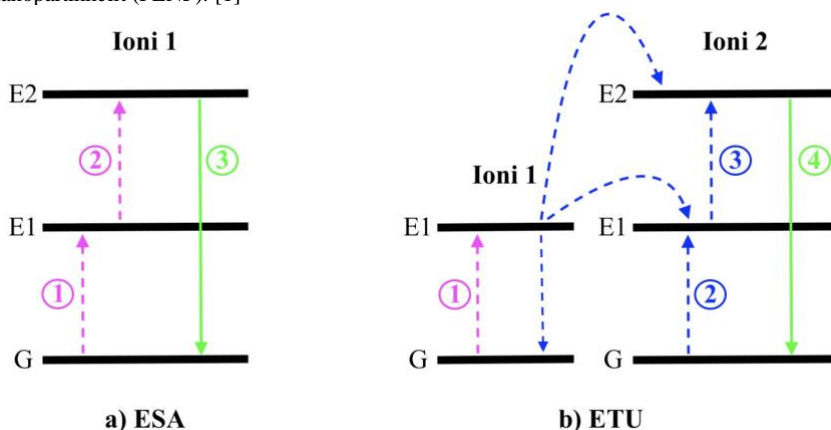
Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



Nanopartikkeleihin seostettuina lantanidit aikaansaavat useita hyödyllisiä luminesenssiominaisuuksia, jotka ovat peräisin lantanideille tyypillisestä $[\text{Xe}]4f^N$ -elektronirakenteesta ja porrasmaisista energiataasoista. Viime aikoina erityisesti upkonvertoivat nanopartikkelit (UCNP) ovat herättäneet mielenkiintoa aikaerotteisten biosensorien ja biokuvantamisen tutkimuksessa, muun muassa niiden pitkäikäisen luminesenssin ja suuren Stokesin siirtymän vuoksi. [1] Upkonversiolla tarkoitetaan luminesenssia, jossa emittoidaan korkeaan energisiin fotoneja absorboimalla matalaan energisiin fotoneja, ja sitä esiintyy lantanideilla, aktinideilla sekä siirtymämetalli-ioneilla.

Lantanideilla on useita eri upkonversiomekanismeja, joista kaksi yleisintä ovat virittyneen tilan absorptio (ESA) sekä energiansiirtoupkonversio (ETU) (Kuva 1). ESAssa perustilassa oleva elektroni virittyy saaden aikaan seuraavan elektronin virittymisen. ETUssa herkistinioni virittyy samaan tapaan kuin ESAssa, mutta luovuttaa energiansa aktivaattori-ionille. Upkonvertoivassa luminesenssissa virittymiseen vaadittu energia on siis pienempi kuin luminesenssina purkautuva energia. [2]

UCNP:ien lisäksi on kehitetty myös muita kiinnostavia lantanidiperusteisia sensori- ja kuvantamismateriaaleja, kuten NIR-II-aallonpituusalueelle soveltuvat downkonvertoivat nanopartikkelit (DCNP) ja pitkäkestoisin sovelluksiin tarkoitettujen pysyvän luminesenssin nanopartikkelit (PLNP). [1]



Kuva 1. a) Virittyneen tilan absorption eli ESAn mekanismi. b) Energiansiirtoupkonversion eli ETUn mekanismi. Kuva mukailtu artikkelista [2].

Viitteet

- [1] Ma, Q., Wang, J., Li, Z., Lv, X., Liang, L., ja Yuan, Q. *Small*. **2019**, *15*, 1804969.
 [2] Gerekhuu, Z., Lee, Y. I., ja Yoon, T. H. *Nanomaterials*. **2022**, *12*, 3470.

Luminoivat lantanidihutkalvot ja niiden käyttö sensoreissa sekä valaistusmateriaaleissa

Aino Kärämänoja

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

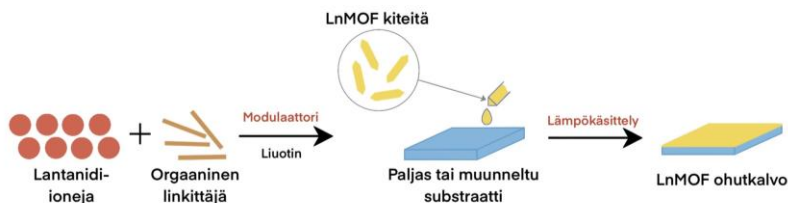


ajkars@utu.fi

Metalliorganaiset verkkorakenteet (MOF) ovat huokoisia, kiteisiä materiaaleja. Niissä metalli-ionit tai metalli-ioneja sisältävät klusterit on liitetty toisiinsa orgaanisilla linkittäjillä, luoden rakenteeltaan kaksi- ja kolmiulotteisia verkkoja. Useat ominaisuudet, kuten laaja pinta-ala, hyvä absorptiokyky sekä huokosten koon muokattavuus, mahdollistavat metalliorganisten verkkorakenteiden käytön monenlaisissa sovelluksissa. Tavallisimpiin käyttötarkoituksiin lukeutuu molekyylien tunnistus, varastointi, katalyysireaktioihin osallistuminen sekä lääkeaineiden kuljetus. [1]

Lantanidipohjaiset metalliorganaiset verkkorakenteet (LnMOF) ovat yksi MOF:ien alaluokka, jossa metallina toimii jokin lantani-ioni, yleensä muodossa Ln^{3+} . LnMOF:ien käyttöä on tutkittu erityisesti kemialliseen tunnistukseen sekä valaistusmateriaaleissa niiden luminesenssin uniikkien ominaisuuksien takia. Luminoivien lantanidien emissiot ovat pitkäikäisiä ja luminesenssin intensiivisyys vaihtelee herkästi lantanidi-ionin ympäristön perusteella. Käyttämällä näitä luminoivia lantanideja MOF:issä, saadaan sekä valmistusvaiheessa että post-synteettisesti muokattavia materiaaleja, jotka toimivat luminesenssin perusteella molekyylien ja lämpötilan havaitsemisessa sekä valonlähteinä. [1], [2]

LnMOF:iä voidaan valmistaa ohuina kalvoina käyttäen useita eri valmistusmenetelmiä, joista suoraviivaisin sekä yleisin on solvotermaalinen synteesi (kuva 1). Lantanidihutkalvoilla on samat ominaisuudet kuin perinteisemmällä, jauhemaisilla LnMOF:illä, mutta niillä on muotonsa vuoksi myös muita vahvuuksia. Ohutkalvojen muotoa sekä kokoa on mahdollista muokata tarpeiden mukaan, ja kalvoja on helppo säilyttää sekä kuljettaa. Niillä on myös hyvä kemiallinen vakaus, ja käyttäen oikeanlaista liuotinta pesemiseen, kalvoja voidaan käyttää uudelleen. [3]



Kuva 1. Ohutkalvojen yleisesti käytetty valmistusmenetelmä, solvotermaalinen suora in situ-synteesi. Substraattimateriaalin pinta päällystetään Ln^{3+} -ioneja ja orgaanista linkittäjää sisältävällä liuoksella, joka muodostuu kiinteäksi kalvoksi. Kuva on mukailtu lähteestä [1].

Viitteet

- [1] Brunckova, H., Mudra, E., Shepa, I., *Inorganics* **2023**, 11, 376
 [2] Cui, Y., Chen, B., Qian, G., *Coord. Chem. Rev.* **2014**, 273–274, 76–86
 [3] Liao, Z., Xia, T., Yu, E., Cui, Y., *Crystals* **2018**, 8, 338

Metalliorgaaniset verkkorakenteet (MOF) ja niiden synteesimenetelmät

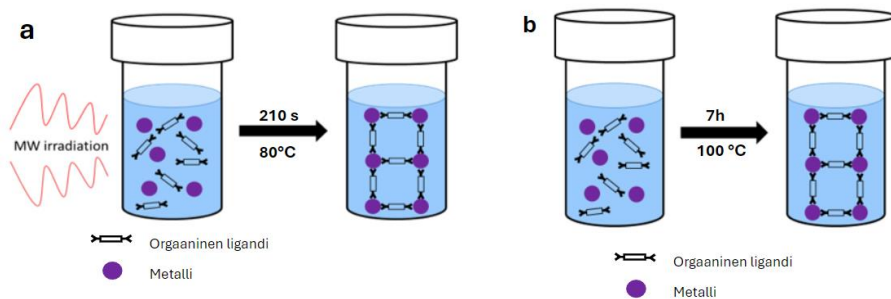
Timo Laukkanen

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



tjlauk@utu.fi

Metalliorgaaniset verkkorakenteet ovat huokoisia materiaaleja, jotka koostuvat metalli-ioneista tai -klustereista. Ne ovat liittyneet orgaanisiin ligandeihin muodostaen verkkomaisen rakenteen. Metalliorgaanisista verkkorakenteilla on suurta potentiaalia monissa käyttökohteissa ja sovellutuksissa, kuten kaasun varastoinnissa ja erotuksessa, katalyyttinä, lääkeaineiden kuljetuksessa ja ympäristön puhdistuksessa [1]. Yleisimmin käytetty synteesimenetelmä on solvotermiini synteesi, mutta tämä ei ole ympäristöystävällinen korkean lämpötilan ja pitkän keston vuoksi. Tähän ongelmaan on ratkaisuna käyttää vaihtoehtoisia synteesimenetelmiä, jotka ovat nopeampia ja tarvitsevat vähemmän energiaa (kuva 1) [2]. Tällaisia synteesejä ovat esimerkiksi sonokemiallinen synteesi ja mikroaaltoavusteinen synteesi [3]. Vaihtoehtoisten synteesimenetelmien hyötyinä on myös se, että samoista lähtöaineista voidaan saada erilaisia tuotteita vaihtamalla synteisiä. Tehtyjen tutkimusten perusteella perinteisen solvotermiini synteesin korvaaminen vaihtoehtoisilla synteesimenetelmillä on mahdollista. Tämä mahdollistaa saatujen tuotteiden ominaisuuksien paranemisen liittyen esimerkiksi kidekoon sekä huokoskoon kasvuun [3].



Kuva 1. a) Kuvituskuva mikroaaltoavusteisesta ja solvotermisistä synteeseistä. Mikroaaltoavusteinen synteesi on 120 kertaa nopeampi. Kuvassa käytetyt arvot lähteestä [2].

Viitteet

1. Stock, N. ja Biswas, S., *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 933–969.
2. Blanita, G., Ardelean, O., Lupu, D., Borodi, G., Mihet, M., Coros, M., Vlassa, M., Misan, I., Coldea, I., Popeneciu, G., *Rev. Roum. Chim.* **2011**, *56*, 583–588.
3. Yu, K., Lee, Y.-R., Seo, J. Y., Baek, K.-Y., Chung, Y.-M. ja Ahn, W.-S., *Micropor. Mesopor. Mat.* **2021**, *316*, 110985.

Loisteputkilamppujen kierrätys

Kaisa Miller

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos,
Turun yliopisto

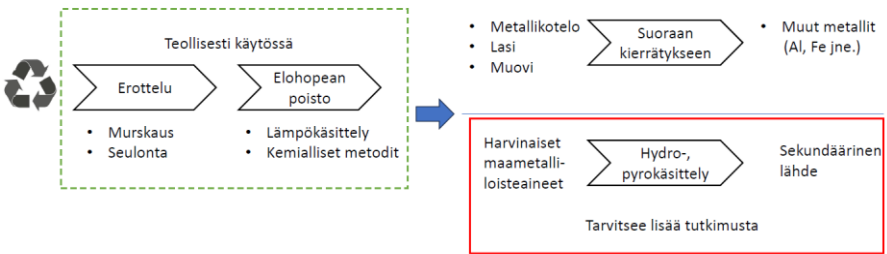


kmmill@utu.fi

Suomessa loisteputkilamppujen valmistus ja maahantuonti on lopetettu kokonaan vuoden 2023 aikana. Tämä kieltö pohjautuu Euroopan Unionin RoHS-direktiiviin (2011/65/EU), joka säätelee haitallisten aineiden käyttöä sähkö- ja elektroniikkalaitteissa. Vaikka LED-teknologia on tehokkaasti syrjäyttänyt loisteputkia, niitä on kuitenkin vielä laajalti käytössä. Loisteputkilampuista syntyy siis edelleen paljon ongelmajätettä ja siksi niiden kierrätysprosessiin sekä sen kehittämiseen on tarpeellista kiinnittää huomiota. [1][2]

Loisteputkilamppuja on alettu kierrättää niiden sisältämän myrkyllisen elohopean takia, mutta ne sisältävät myös muita myrkyllisiä tai mahdollisesti myrkyllisiä aineita. Loisteputket sisältävät harvinaisia maametalleja ja loisteaineita, joita käytetään muissakin pienelektroniikkalaitteissa. Loisteputkilamppujen kierrätyksessä nähdään potentiaalinen sekundäärilähde niissä käytettäville harvinaisille maametalleille, joiden talteenottoa kierrätysjätteestä tutkitaan. [1][2]

Loisteputkilamppujen kierrätysprosessi on monivaiheinen (kuva 1). Teollisessa mittakaavassa on jo käytössä murskaus ja selkeästi erotettavissa olevien materiaalien talteenotto sekä elohopean poisto turvallisesti. Harvinaisten maametallien erottelu ja talteenotto uudelleenkäyttöä varten vaatii kuitenkin useita erilaisia menetelmiä, joita ei ole saatu vielä täysin yleisesti käyttöön. Kierrätysprosessin toimiessa sillä on useita hyviä puolia verrattuna malminlouhintaan ja malmin käsittelyyn. Lisäksi samankaltaista prosessia voitaisiin hyödyntää myös muunlaisten lamppujen kierrätykseen ja käyttöön harvinaisten maametallien sekundäärilähteenä. [1][2]



Kuva 1. Kierrätysprosessin vaiheet tiivistettynä. Kuva on tehty lähteessä [2] olevaa kuvaa mukaillen.

Viitteet

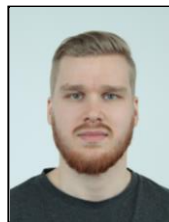
[1] Viana L., *et. al.*, Fluorescent lamps: A review on environmental concerns and current recycling perspectives highlighting Hg and rare earth elements. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **10**, (2022) 108915.

[2] Dhawan N., Tanvar H., A critical review of end-of-life fluorescent lamps recycling for recovery of rare earth values. *Sustainable Materials and Technologies* **32**, (2022) e00401.

Luminoivat materiaalit LCD-näyttöjen LED-taustavaloissa

Tommi Mäenpää

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

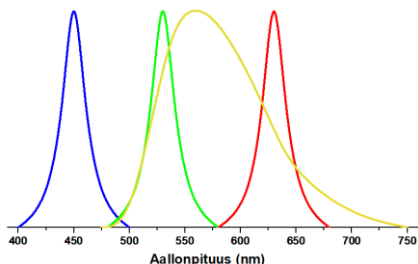


tpmaen@utu.fi

LCD (liquid-crystal display) eli nestekidenäyttö sisältää taustavalon, joka muodostuu valkoisista LED-valoista. Tyypillisesti valkoinen ledi koostuu GaInN-puolijohdeesta, joka on päällystetty $Y_3Al_5O_{12}:Ce^{3+}$ -loisteaineella (YAG:Ce). GaInN viritetään sähkövirran avulla, jonka jälkeen relaxoituaan se emittoi sinistä valoa (elektroluminesenssi). Sininen emissio taas viritää YAG:Ce:n kellertävän loisteen (fotoluminesenssi). Nämä värit yhdessä näyttävät valkoiselta.

YAG:Ce ei kuitenkaan ole paras vaihtoehto LCD-näyttöjen taustavaloihin, sillä sen leveä keltainen emissio rajoittaa näytön väriskaalaa. Korvaamalla YAG:Ce kapean emission vihreällä ja punaisella loisteaineella saadaan laajennettua väriskaalaa ja täten parannettua kuvanlaatua, sillä näytön väriskaala määräytyy punaisen, vihreän ja sinisen värin yhdistelmästä. Taustavalon valkoisten ledien loisteaineilla tulisi olla etenkin kapea ja sopivalla vihreällä tai punaisella aallonpituudella oleva emissio. Lisäksi tärkeitä ominaisuuksia ovat mm. stabiilisuus, kvanttitehokkuus sekä materiaalin myrkyttömyys. [1]

Tällä hetkellä etenkin seostetut epäorgaaniset loisteaineet, kvanttipisteet eli nanokiteiset puolijohdeet ja perovskiittimateriaalit ovat lupaavia vaihtoehtoja parantamaan LED-taustavalojen suorituskykyä. Kaikilla näistä havaitaan hyviä ominaisuuksia ja saavutetaan laaja väriskaala. Lisäksi kvanttipisteiden ja perovskiittimateriaalien emission aallonpituutta voidaan säätää muuttamalla kiteiden kokoa ja koostumusta. Haasteena monissa loisteaineissa on vielä kuitenkin stabiilisuus sekä haitallisten raskasmetallien, kuten kvanttipisteiden usein sisältämän cadmiumin korvaaminen yhtä tehokilla ja haitattomilla materiaaleilla. [2] Uusia loisteaineita tutkitaan jatkuvasti ja näitä ongelmia pyritään ratkaisemaan, jotta LCD-näytöillä saataisiin tuotettua mahdollisimman todenmukaiset värit.



Kuva 1. Havainnollistava kuva sinisen ledin, vihreän ja punaisen loisteaineen sekä keltaisen YAG:Ce:n emissiospektreistä. Mukailtu lähteen [2] kuvien mukaisesti.

Viitteet

[1] Y. Zhang, L. Luo, G. Chen, Y. Liu, R. Liu, and X. Chen, “Green and red phosphor for LED backlight in wide color gamut LCD,” *Journal of rare earths*, vol. 38, pp. 1–12, 2020, doi: 10.1016/j.jre.2019.10.005.

[2] M. Zhao, Q. Zhang, and Z. Xia, “Narrow-band emitters in LED backlights for liquid-crystal displays,” *Materials Today*, vol. 40, pp. 246–265, 2020. doi: 10.1016/j.mattod.2020.04.032.

Vanadiini ympäristössä ja lääketieteessä

Miika Mäkipää

IMC-tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



mhmaki@utu.fi

Vanadiini on runsaasti esiintyvä siirtymämetalli maankuorella, ja sillä on kaksi merkittävää ominaisuutta. Ensinnäkin sen tetraedrinen oksoanioni, vanadaatti(V), muistuttaa fosfaattianionia, mahdollistaen vuorovaikutuksen erilaisten fysiologisten substraattien kanssa, jotka normaalisti toimivat fosfaatin kanssa. Toiseksi vanadiini pystyy helposti laajentamaan koordinaatiokykyään tetraedrisen koordinaation ulkopuolelle ja vaihtelevaan hapetuslukuun +V, +IV ja +III välillä ympäristössä.

Vanadiinin redox-reaktiot vaikuttaa monien ympäristön mikro-organismien, kuten prokaryootien (bakteerit ja syanobakteerit) ja eukaryootien (levät ja sienet) entsyymitoimintoihin. Nämä eliöt hyödyntävät vanadiinipohjaisia nitrogeeneja ja haloperoksidaaseja, jotka ovat keskeisiä niiden entsyymitoiminnoissa.

Vanadiinin lääketieteellisiä vaikutuksia selitetään samankaltaisuudella vanadaatin ja fosfaatin välillä. On huomattu, että vanadiiniyhdisteet, kuten maltolaatti ja pikolinaatti, alentavat verensokeria, mikä voi olla merkityksellistä diabeteksen hoidossa. Tutkimuksissa on myös selvitetty vanadiinin vaikutusta sydän- ja hermostosairauksien hoitoon. Lisäksi on havaittu, että vanadiinikomplekseilla on muita lupaavia lääketieteellisiä sovelluksia, esimerkiksi tropiikissa esiintyvien loistautitautien hoidossa.

Vanadiinin lääketieteellisiä ominaisuuksia on tutkittu useilla eläinkokeilla, joissa on havaittu esimerkiksi sen verensokeria alentavia vaikutuksia. Näiden tutkimusten perusteella vanadiinia on alettu käyttää myös ihmisille tarkoitettujen lääkkeiden kehittämisessä. Kuitenkin vanadiiniin perustuvia lääkkeitä ei ole vielä laajemmin otettu käyttöön, sillä sen pitkäaikaisvaikutuksista on saatavilla rajallisesti tietoa.

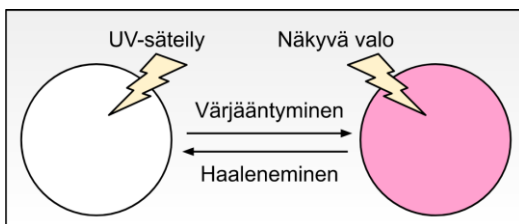
Hackmaniittien foto- ja radiokromismi

Pekka Piivek

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos,
Turun yliopisto



Hackmaniitti on mineraali, jolla on tutkimuksen kannalta kiinnostavia optisia ominaisuuksia. Yksi näistä on sen harvinainen fotokromismin muoto, tenebresenssi. Fotokromismi viittaa yleisesti valon aiheuttamaan värinmuutokseen, kun taas tenebresenssi viittaa mineraalin kykyyn muuttaa väriään reversiibelisti. Hackmaniitin tenebresenssin mahdollistaa sen sodaliittirakenne, jossa tetraedriset silikaatti- ja aluminaatti-ionit muodostavat verkkoja, joiden sisälle jäävissä aukoissa on ioneja. [1] Yleisessä sodaliitissa nämä ovat natrium- ja kloridi ioneja, kun taas hackmaniitissa pieni osa klorideista on korvattu rikillä, jolloin saadaan kaava $\text{Na}_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}(\text{Cl},\text{S})_2$. Tällöin hilassa disulfidimuodossa (S_2^{2-}) oleva rikki korvaa kloridin, ja rikki pystyy virittyessään siirtämään elektronin kloridivakan sinin kohdalle. [1] Tämä virittyminen johtaa rakenteen muuttumiseen, joka havaitaan värjäytymisenä. Viritys pystytään purkamaan näkyvän alueen valolla, ja värinmuutosta voidaan tämän jälkeen toistaa ikuisesti. Synteettisessä hackmaniitissa värinmuutos menee valkoisesta pinkiksi, mutta käyttämällä eri lähtöaineita tai lisäämällä dopantteja saadaan aikaan eri värejä. [2] Hackmaniittia pystytään syntetisoimaan kiinteän olomuodon reaktiolla, jossa natriumkloridia, natriumsulfaattia ja zeoliittia kuumennetaan $850\text{ }^\circ\text{C}$ uunissa. [2] Näin valmistettua synteettistä hackmaniittia on sovellettu mm. UV- ja röntgendosimetriaan, valokuvafilmeihin ja röntgenkuvauslevyihin. Hackmaniitista tekee erityisen kiinnostavan kestävän kehityksen kannalta sen riippumattomuus raskasmetalleista tai lantanideista, ja sen helppo ja halpa synteesi.



Kuva 1. Esitys hackmaniitin värinmuutoksesta.

Viitteet

[1] Norrbo, I., et al. (2018). Solar UV index and UV dose determination with photochromic hackmanites: From the assessment of the fundamental properties to the device. *Materials Horizons*, 5(3), 569–576. <https://doi.org/10.1039/c8mh00308d>

[2] Byron, H. et al. (2023). Highly Tuneable Photochromic Sodalites for Dosimetry, Security Marking and Imaging. *Advanced Functional Materials*, 33(42) 2303398. <https://doi.org/10.1002/adfm.202303398>

UV-alueen kestopluminesenssimateriaalit ja niiden sovellukset

Joonatan Tuoresjärvi

Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



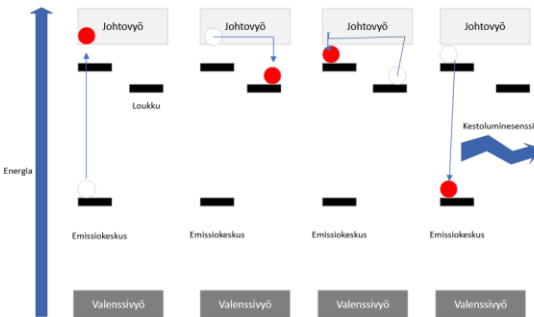
jmtuor@utu.fi

Kestoluminesenssi on ilmiö, jossa materiaali luovuttaa siihen elektronien muodossa varastoitunutta energiaa, joka havaitaan valona materiaalin virityksen jälkeen. Elektronien palatessa valenssiyölle voi samalla syntyä myös IR- ja UV-säteilyä.[2]

Kestoluminesenssi on ilmiönä tunnettu jo satoja vuosia, mutta sen toimintaperiaate on saatu selvitettyä vasta hiljattain. Ilmiön toimintaperiaate ei kuitenkaan ole yksiselitteinen.[1] Kestoluminesenssi perustuu materiaalin kykyyn kaapata johtovyölle virittyneitä elektroneja sen rakenteessa esiintyviin loukkuihin (kuva 1.). Loukut johtuvat materiaalin kiderakenteesta esiintyvistä hilavirheistä.[2] UV-kestopluminesenssi on vielä suhteellisen uusi tutkimusaihe ja sen toimintaperiaate on kiistanalainen. Uusia UV-kestopluminoivia materiaaleja kehitetään jatkuvasti ja niille keksitään uusia käyttökohteita [1].

Kestoluminoivat materiaalit voidaan virittää esimerkiksi auringon säteilyllä tai ulkoisella säteilylähteellä. Ne eivät välttämättä tarvitse ulkoista virtalähdettä ja siksi ne soveltuvat hyvin tiloihin, joissa sähköä ei ole aina saatavilla. UV-säteilyä käytetään sekä desinfioinnissa, että joidenkin ihosairauksien hoidossa. UV-kestopluminesenssimateriaalit voivat tarjota halvempia ja käytännöllisempiä ratkaisuja näihin käyttökohteisiin. Ne tarjoavat myös uusia työkaluja taide- ja tuotevääreännösten havaitsemiseen. [1]

UV-kestopluminesenssi on vielä varsin vähän tutkittu aihe ja vaikka se tarjoaa lupaavia mahdollisuuksia moniin käyttökohteisiin, ovat monet sovellukset ovat vasta teorian tasolla. Ongelmaksi muodostuu usein materiaalin viritys. Viritykseen vaaditaan korkeaenergistä säteilyä ja vain muutama ioni kykenee tuottamaan emission UV-alueella. [1]



Kuva 1. Kestoluminesenssin yksinkertaistettu toimintaperiaate

Viitteet

[1] Sharma, S. et al., 2023 UV-A, B,C Emitting Persistent Luminescent Materials. Materials. 236, 16,1.

[2] Xu, J. & Tanabe, S., 2019 Persistent luminescence instead of phosphorescence: History, mechanism, and perspective. Journal of luminescence. 205, S.581-620.

Lanthanide Doping of Photochromic Sodalites

Joshua Baggott^{1,2*} and Mika Lastusaari¹

¹Intelligent Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku

²Department of Chemistry, Durham University



Abstract

Incorporating lanthanides into the structure of sodalites would give rise to a new range of optical properties and applications for these materials. This project aims to successfully integrate highly luminescent lanthanides into these sodalites via doping the aluminosilicate precursor LiAlSiO₄. Initial structural analysis implied successful doping of the sodalites, with the emissive properties of the lanthanide ions being retained. Emission decay times of various Sm³⁺ doped sodalites revealed an optimum doping concentration of 2%, with concentration quenching occurring at higher doping levels.

Introduction

Hackmanite, and by extension, sodalites, are a class of material with a wide range of exciting optical properties. These include the phenomena of luminescence and tenebrescence. Furthermore, these properties can be tuned with relative ease by small alterations of the synthesis procedure, either by changing the nature of the starting materials or by introducing dopants.[1][2]

Typically, the luminescence seen in sodalites is caused by naturally occurring transition metal impurities within the material, such as titanium. Therefore, further doping the material with additional transition metal ions only works to exaggerate these luminescent properties.

One avenue yet to be explored is the introduction of lanthanide ions into the material; known for their highly emissive properties, they also exhibit a broad range of colours across the series. Incorporating these ions into the material would allow for much finer control over the nature of the luminescence, potentially allowing for the discovery of new and exciting applications. The work conducted in this project aims to successfully incorporate visibly emissive lanthanides, those being Sm, Eu, Tb and Dy, into the sodalite structure via doping of aluminosilicate precursors, particularly LiAlSiO₄, a procedure that has been previously documented.[3] Furthermore, investigations were conducted into how procedures could be optimised to achieve the strongest possible lanthanide emission.

Materials and methods

The lanthanide-doped sodalites were synthesised in two main solid-state synthesis steps. Firstly, the lanthanide-doped LiAlSiO₄ precursor is synthesised, followed by the sodalite. The aluminosilicate synthesis consisted of two sequential 4 h heating stages (800 and 900 °C respectively) in air of a mixture of Li₂CO₃, Al₂O₃, SiO₂ and Ln₂O₃ (where Ln = Sm, Eu, Tb or Dy).

The most successful method for synthesising sodalites with the desired characteristics comprised of sequential heating stages in air at 850 °C (5 h and 2 h, respectively) of a mixture of the previously synthesised LiAlSiO₄, NaCl and Na₂SO₄.

The materials' structure and composition were analysed using pXRD and XRF, respectively, while luminescence spectroscopy measured emission characteristics.

Results and conclusions

Using aluminosilicates doped with 1% Ln^{3+} resulted in successful sodalite formation, as with the undoped variant. The pXRD patterns of these sodalites showed a shift towards lower 2θ values, corresponding to the increased ionic radii of Ln^{3+} compared to Li^+ (Figure 1). However, the increased charge also works to decrease the size of the unit cell due to increased electrostatic attraction between these and negatively charged ions in the structure (i.e. Cl^-). Hence, the pattern shift is not very significant.

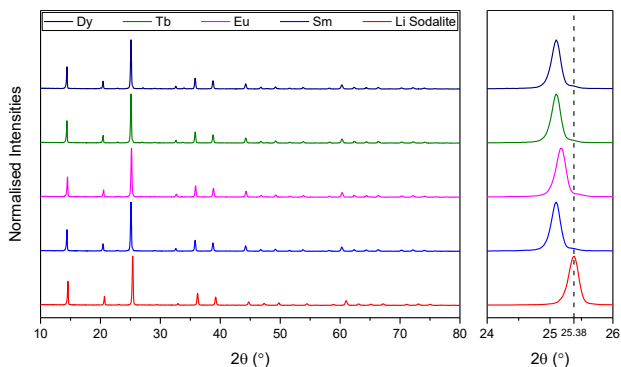


Figure 1. Normalised pXRD patterns of sodalites with formula $(\text{Li,Na})_{7.99}(\text{AlSiO}_4)_6(\text{Cl,S})_2:0.01\text{Ln}^{3+}$ compared to that of an undoped sodalite with formula $(\text{Li,Na})_8(\text{AlSiO}_4)_6(\text{Cl,S})_2$.

A series of Sm^{3+} doped sodalites was synthesised to determine an optimal doping concentration. Using the emission decay times of the Sm^{3+} within each sample, particularly looking at the ${}^4\text{G}_{5/2} \rightarrow {}^6\text{H}_{7/2}$ transition, it was determined that 2% Sm^{3+} was the optimal doping concentration, with it having the longest decay time (Figure 2). Increasing the concentration beyond this decreased decay times due to concentration quenching. This occurs due to non-radiative energy transfer between activators, such as the Sm^{3+} ions.

Due to the similar chemistry of the lanthanides, similar behaviour is theorised to be expected upon increased doping with the other visible lanthanides.

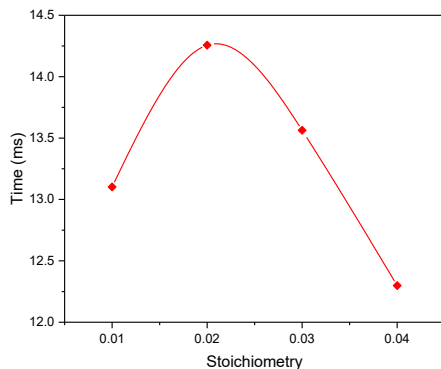


Figure 2. Emission decay times after a 0.2 ms excitation pulse (402 nm) for sodalites with formula $(\text{Li,Na})_{8-x}(\text{AlSiO}_4)_6(\text{Cl,S})_2:x\text{Sm}^{3+}$, where $x=0.01-0.04$.

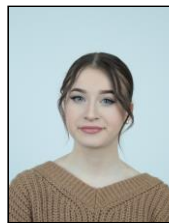
References

- [1] H. C. Byron, C. Swain, P. Paturi, P. Colinet, R. Rullan, V. Halava, T. Le Bahers and M. Lastusaari, *Advanced Functional Materials*, 2023, **33**, 2303398.
- [2] Norrbo, J. M. Carvalho, P. Laukkanen, J. Mäkelä, F. Mamedov, M. Peurla, H. Helminen, S. Pihlasalo, H. Härmä, J. Sinkkonen and M. Lastusaari, *Advanced Functional Materials*, 2017, **27**, 1606547.
- [3] U. B. Gokhe, K. A. Koparkar and S. K. Omanwar, *Journal of Alloys and Compounds*, 2016, **689**, 992–997.

FOTOKROMISTEN BROMIHACKMANIITTI-LINSSIEN VALMISTUS JA OMINAISUUDET

Bettina Muurinen^{1*}, Mika Lastusaari¹, Sami Vuori¹ ja Minnea Tuomisto¹

¹Älykkäiden materiaalien kemian tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



bamuur@utu.fi

Abstrakti

Hackmaniitti, $\text{Na}_3\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}(\text{Cl},\text{S})_2$, on sodaliitteihin kuuluva mineraali, jolla havaitaan palautuvaa fotokromismia eli tenebresenssiä. Tässä työssä kloori korvattiin bromilla, ja tätä hackmaniittia käyttäen pyrittiin valmistamaan fotokromisia linsskejä, jotka vaihtavat väriä UV-säteilyn vaikutuksesta ja palautuvat takaisin ennalleen näkyvässä valossa. Hackmaniitin pitoisuus optimoitiin, jotta sitä ei olisi liikaa, jolloin linssi olisi samea, mutta kuitenkin että sitä olisi tarpeeksi syvän värin saavuttamiseksi. Lisäksi hackmaniittia valmistettiin eri tavoin ja eri lähtöaineista, pyrkien saavuttamaan pienempi kidekoko.

Johdanto

Fotokromiset linssit ja lasit ovat yleistyneet, sillä ne ovat paitsi käteviä, mutta myös suojaavat silmiä UV-säteilyltä. Tällaisten linssien valmistus on kuitenkin kallista ja usein myös luonnolle haitallista.[1] Täten hackmaniitin loistava tenebresenssiominaisuus, yhdessä sen helpon ja halvan valmistuksen kanssa lisää kiinnostusta hackmaniitin käytöstä fotokromisissa linseissä. [2]

Väriinvaihdoksessa hackmaniitin disulfidi-ionin valenssielektroni virittyy UV-säteilyn vaikutuksesta, jääden bromivakanssiin loukkuun. Muodostunut F-keskus absorboi säteilyä, joka yhdessä elektronin virityksen kanssa aiheuttaa hackmaniitin violetin värin. Näkyvässä valossa elektronit pääsevät loukusta, ja väri haalenee pois. [2]

Tässä työssä pyrittiin ensin valmistamaan helposti värjäytyvä hackmaniitti, jolla olisi pieni kidekoko sekä syvä väri. Tehtyjen kalvojen transmittanssia ja reflektanssia mittaamalla optimoitiin tarvittava hackmaniittipitoisuus. Lisäksi eri valmistusmenetelmiä ja lähtöaineita kokeillen pyrittiin muun muassa saavuttamaan mahdollisimman pieni kidekoko.

Materiaalit ja menetelmät

Hackmaniitti valmistettiin sekä kiinteän olomuodon reaktiomenetelmällä, että saostusreaktiolla alumiinisilikaattiliuoksesta. Kiinteän olomuodon reaktiossa zeoliitti A, NaBr sekä Na_2SO_4 jauhettiin tasaiseksi seokseksi, joka siirrettiin alumiinioksidiruuheseen. Seosta lämmitettiin uunissa 5 tuntia $850\text{ }^\circ\text{C}$:ssa, jonka jälkeen se jauhettiin akaattihumareessa. Seuraavaksi tuote siirrettiin alumiinioksidiruuhessa uuniin, jossa se pelkistettiin H_2/N_2 -kehässä ($T = 850\text{ }^\circ\text{C}$, $t = 2\text{ h}$). Pelkistyksen jälkeen hackmaniitti jauhettiin kuulamyllyllä.

Saostusreaktiossa NaOH liuotettiin jäähileisiin, jonka jälkeen seokseen lisättiin vähitellen alumiinijauhe. Alumiinin liuetessa kokonaan seokseen lisättiin NaBr sekä Na_2SO_4 . Seos imusuodatettiin, ja suodatettuun liuokseen lisättiin tiputussuppilolla Na_2SiO_3 . Liuosta refluksoitettiin $105\text{ }^\circ\text{C}$:ssa 24 tuntia, jonka jälkeen muodostunut sakka suodatettiin, pestiin ja kuivattiin yön yli $80\text{ }^\circ\text{C}$:ssa. Lopuksi tuote pelkistettiin uunissa, samalla tavalla kuten kiinteän olomuodon reaktiossa.

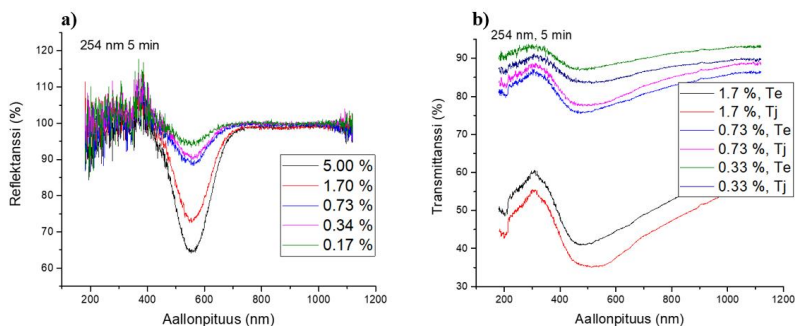
Hackmaniittilinssi valmistettiin sekoittamalla silikonielastomeerin ja kovetusaineen sekaan tietty m-% hackmaniittia. Seos tasoitettiin applikaattorilla polyesterifilmille. Ilmakuoplien poistamiseksi kalvo laitettiin vakuumiuniin alipaineeseen 10 minuutiksi, ja lopuksi $80\text{ }^\circ\text{C}$:een yön yli.

Hackmaniittien alkuainekoostumus, kidekoko ja puhtaus määritettiin jauheröntgendiffraktion (XRD) ja röntgenfluoresenssin (XRF) avulla. Hackmaniittien ja kalvojen tenebresenssiä tutkittiin

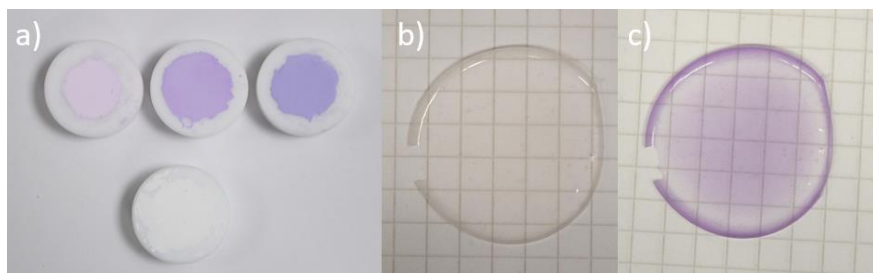
reflektanssi- ja transmittanssimittauksilla, ja niiden rakennetta tutkittiin tarkemmin myös pyyhkäiselektronimikroskoopilla (SEM). Lisäksi tuotteiden värjäytymis- ja haalentumisnopeudet mitattiin.

Tulokset ja johtopäätökset

Työssä onnistuttiin valmistamaan lähes puhdasta, violetiksi värjäytyvää hackmaniittia. Kalvoilla, joissa oli kiinteän olomuodon reaktiolla tehtyä hackmaniittia, oli yleisesti hyvät reflektanssi- ja transmittanssiarvot. Hackmaniittipitoisuuden kasvaessa kalvot olivat kuitenkin sumeita, jonka välttämiseksi pyrittiin valmistamaan saostusreaktiolla hackmaniittia pienemmällä kidekokoalla. Kidekoko oli kiinteän olomuodon reaktiossa pienimmillään 51,4 nm, kun taas saostusreaktiossa saavutettiin 32,7 nm:n kidekoko. Tulokset ovat lupaavia, mutta toimiva menetelmä hackmaniitin seostamiseksi lasiin on vielä selvittämättä.



Kuva 1. Reflektanssi- (a) sekä transmittanssikuvaajat (b) kalvoista eri hackmaniittipitoisuuksilla. Kuvaajista nähdään, että hackmaniittipitoisuuden kasvaessa sekä reflektanssi että transmittanssi pienenevät. Kuvaajissa Te ja Tj = transmittanssi ennen ja jälkeen värjäyksen.



Kuva 2. a) Kuva eri tavoin valmistetuista hackmaniiteista värjättyinä, ja alla värjäämättömtä hackmaniittia. Lisäksi kuva värjäämättömästä (b) sekä värjätystä (c) hackmaniittikalvosta.

Viitteet

- [1] Al-Qahtani, S. D., Alzahrani, S. O., Snari, R. M., Al-Ahmed, Z. A., Alkhamis, K., Alhasani, M. ja El-Metwaly, N. M., *Ceram. Int.*, **2022**, *48*, 17489–17498.
- [2] Agamah, C., Vuori, S., Colinet, P., Norrbo, I., de Carvalho, J. M., Okada Nakamura, L. K., Lindblom, J., van Goethem, L., Emmermann, A., Saarinen, T., Laihinne, T., Laakkonen, E., Lindén, J., Konu, J., Vrielinck, H., Van der Heggen, D., Smet, P., Le Bahers, T., Lastusaari, M., *Chem. Mater.*, **2020**, *32*, 8895–8905.

Luminescence and tenebrescence in aluminate sodalites and related materials

Madara Tomele^{1*}, Sami Vuori¹, Anssi Peuronen¹
and Mika Lastusaari¹



¹Intelligent Materials Chemistry Research Group, Department of Chemistry, University of Turku

Abstract

Sodalites, such as hackmanite, have shown promising results as tunable luminescent and tenebrescent (colour-changing) materials. However, there is very little information on the optical properties of aluminate sodalites. The aim of this project is to analyze the effects of different extra-framework ions on the optical properties of these materials.

Introduction

Research into inorganic luminescent and tenebrescent (colour-changing) materials with tunable properties has gained increasing attention in recent years. Some of these inorganic materials include transition metal oxides [1] and sodalites [2].

Sodalites are a group of inorganic compounds with general formula $A_8[M'M''O_4]_6X_2$, that are characterized by a symmetrical cage-like framework consisting of alternating $M'O_4$ and $M''O_4$ tetrahedra. In this formula M' and M'' represent Si and Al or other transition metals, while A and X are extra-framework cations and anions that are located in the cavities of these structures. Hackmanite $Na_8Al_6Si_6O_{24}(Cl,S)_2$ is the most well-known member of this group and possesses both luminescent and tenebrescent properties. [3]

Various studies exchanging framework and extra-framework ions have been performed in order to tune optical properties of hackmanites. It has been observed that by expanding the cage-like structure of the framework F-centers, point defects also known as colour centers which are responsible for the colour change in inorganic solids, absorb longer wavelengths of light. [4] It is also known that exchanging extra-framework cations and anions can affect the luminescent and tenebrescent properties of these materials. [2] Based on these observations it can be concluded that by synthesizing a sodalite with a larger framework by, for example, exchanging Si atoms for Al and using aluminate sodalites as the base material as well as using various dopants, new compounds with different luminescence and tenebrescence properties could be produced.

$Ca_8Al_{12}O_{24}S_2$ is the starting material that will be modified using various dopants. First S^{2-} ions will be exchanged with Cl^- ions, which are necessary for the tenebrescence mechanism, in various proportions. Next the Ca^{2+} ions will be exchanged with Li^+ , Na^+ , K^+ and Rb^+ ions. The aim of this project is to analyze the effects of different ions on the optical properties of these materials.

Sodalite is only one of the phases that can form during synthesis. Various aluminate phases are known intermediates leading to the formation of the sodalite phase and could also be the result of the structural collapse of the sodalite cage. Aluminates are known to be the base material of many important phosphors [5] and it is possible that they might affect the luminescence properties of the overall mixture.

Materials and methods

Stoichiometric amounts of $CaCl_2$, $CaSO_4$, $CaCO_3$ and Al_2O_3 were ground up and mixed in an agate mortar. The resulting mixture was transferred to an alumina crucible and heated at $1200^\circ C$ for 20 hours in air atmosphere with a heating step of $10^\circ C/min$. Then the samples were reduced under 12% H_2 and 88% N_2 atmosphere at $900^\circ C$ for 8h, heating step $10^\circ C/min$. To add other dopants

CaSO₄, CaCl₂ and CaCO₃ were exchanged with the corresponding lithium, sodium, potassium, and rubidium salts.

After synthesis elemental and phase composition of the final products were analyzed using powder X-ray diffraction (XRD) and X ray fluorescence spectroscopy (XRF). The optical properties of the samples were assessed using reflectance spectroscopy, fluorescence spectroscopy and by measuring luminance and thermoluminescence.

Results and conclusions

Eleven samples containing a mixture of the Ca₈Al₁₂O₂₄S₂ and Ca₈Al₁₂O₂₄(SO₄)₂ sodalite phases as well as various aluminates (mainly Ca₁₂Al₁₄O₃₂Cl₂ and CaAl₂O₄) were obtained. All samples containing sulfur ions showed blue luminescence when irradiated with 254 nm UV radiation.

When exchanging the Ca²⁺ ions with those of Li⁺, Na⁺, K⁺ and Rb⁺, the collapse of the sodalite structure could be seen as the content of exchanged ions increased. In samples containing alkali metal/Ca mole ratio up to 4:6, very little change in the sodalite content could be observed using XRD, while the samples with a higher alkali metal content consisted mostly of various aluminates. All samples displayed luminescence when irradiated with 254 nm UV radiation, as can be seen in Figure 1.

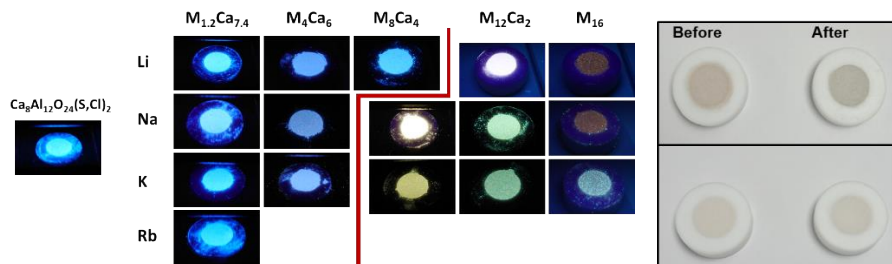


Figure 1. Luminescence of the base material Ca₈Al₁₂O₂₄(S,Cl)₂ and samples containing alkali metals of various proportions during irradiation with 254 nm UV radiation (left, the red line divides samples with high vs low sodalite content) and two different samples containing only LiAlO₂ before and 2 days after irradiation with X-rays from XRF (right).

All samples showed very little difference in reflectance after irradiation with 254 nm UV radiation for 5 minutes, however, a sample containing only the LiAlO₂ phase, showed a clear colour change 2 days after being irradiated with X-rays for 1 hour from the XRF measurement. After comparing the colour change in two samples containing only LiAlO₂ synthesized using the same precursors, a noticeable difference could be seen both before and after XRF that could potentially be attributed to the sulfur content in both samples.

References

1. Badour, Y., Jubera, V., Andron, I., Frayret, C. and Gaudon, M., *Opt. Mater.:X* **2021**, *12*, 100110.
2. Byron, H., Swain, C., Paturi, P., Colinet, P., Rullan, R., Halava, V., Le Bahers, T. and Lastusaari, M. *Adv. Funct. Mater.* **2023**, *33*, 2303398.
3. Norrbo, I., Gluchowski, P., Paturi, P., Sinkkonen, J. and Lastusaari, M. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (16), 7717-7724.
4. Williams, E. R., Simmonds, A., Armstrong, J. A. and Weller, M. T., *J. Mater. Chem.* **2010**, *20* (48), 10883–10887.
5. Revankar, S.G., Gedekar, K.A. and Moharil, S.V., *Phys. Status Solidi A* **2022**, *219*: 2200346.

NATURE-BASED PERSISTENT LUMINESCENCE MATERIALS

Cecilia Agamah

Intelligent Materials Chemistry Group, Department of Chemistry,
University of Turku



cedegb@utu.fi

Research Director: Prof. Carita Kvarnström
Supervisor(s): Prof. Mika Lastusaari
Funding: Chemistry Department- University of Turku
Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

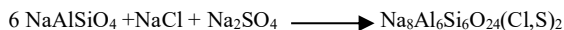
Tenebrescent materials otherwise known as photochromic materials are materials which exhibit reversible color change, when exposed to radiations of different wavelengths. They find their various use in including, filters, biomedicine to mention a few. Both organic and inorganic tenebrescent compounds or even the hybrid has been studied. Whereas most photochromic organic compounds have limitations in durability, most inorganic photochromic materials are rare-earth doped, raising its cost of production and environmental unfriendliness. Of interest though, is synthetic hackmanites, an inorganic photochromic material, synthesized based on the mineral hackmanite. This compound is durable and offers the possibility of excluding lanthanides and heavy metals, with varied synthesis routes tailored towards desired results.

Synthetic hackmanites ($\text{Na}_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}(\text{Cl,S})_2$) in recent has attracted much popularity due to its ease of synthesis, cost effectiveness, environmental friendliness and the various possible applications such as detection of X-Ray doses, UV dose determination, dosimetry, security marking and Imaging, and photochromic application film. Aside it's tenebrescent properties, hackmanites show luminescent properties, although not all natural hackmanites show persistent luminescence.

We aim to increase the efficiency of hackmanites in applications such as in-vivo and bio-detection and we are also developing new materials like tugtupite, and scapolite based on the structure of natural minerals. These materials are aimed to optimize the harvesting of excitation radiation and transferring it to use in the production of light in in-vivo imaging and bio-detection aside from their use as a natural light source. The other good side of this is the luminescent materials are cheap, easy to synthesize and safe for the environment. Then also we are working to gain deeper insight into the processes controlling the light absorption of these compounds as well as the energy transfer between the antenna compounds. This is also necessary for guiding us into a more purposeful synthesis.

Main results so far

By replacing Zeolite A (NaAlSiO_4) starting material (eq. (1)) with natural nepheline ($(\text{Na,K})\text{AlSiO}_4$) and varying the metal chlorides, under simple synthesis method, we have synthesized a highly photochromic hackmanite, $(\text{Na,K})_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}(\text{Cl,S})_2$, making the way to more ways to explore the uses of hackmanite and adding to it varied means of synthesis. These show tenebrescence under 254 and 302 and 365 UV irradiation and a persistent luminescence (Fig 1).



Also, we have investigated the quantitative characterization of the PeL (Persistent luminescence) and optical energy storage properties in natural hackmanites and published a paper concerning it [1].

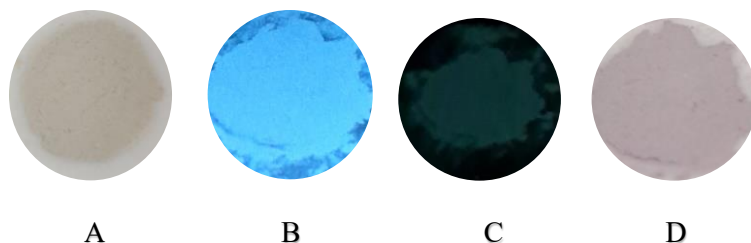


Figure 1. Pictures of $(\text{Na},\text{K})_8\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}(\text{Cl},\text{S})_2$ – A) Before 254 UV exposure, B) Under 254 UV exposure, C) 254 UV off (In dark room), D) color change (lights on).

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

This research will add and increase the group's knowledge on Hackmanite and its versatile use or possibilities as well as better understanding the processes controlling its luminescence and photochromism.

Papers to be included in the PhD thesis

I. Agamah C, Vuori S, Colinet P, Norrbo I, de Carvalho JM, Nakamura LKO, Lindblom J, van Goethem L, Emmermann A, Saarinen T, Laihinen T, Laakonen E, Linden J, Konu J, Vrielinck H, Van der Heggen D, Smet PF, Le Bahers T, Lastusaari M, -Hackmanite- The Natural Glow-in-the-Dark Material. *Chemistry of Materials*, 2020, 32(20), 8895-8905

Tuning Lanthanides-Porphyrin based Metal–Organic Framework (MOF) Topology by Regulating modulator and Secondary Building Unit (SBU) Size and potential applications.

Narhari Sapkota



nasapk@utu.fi

Intelligent Materials Chemistry Group, Department of Chemistry

Research Director: Prof. Carita Kvarnström

Supervisor(s): Dr. Ari Lehtonen and Dr. Anssi Peuronen

Estimated time of PhD dissertation: 03/2025

Main aims of the PhD research

The main aim of PhD research is to synthesize cost effective and efficient metal-organic frameworks (MOFs) and investigate their structure and find out the possible application in energy storage. MOFs are the polymeric structures of coordinated complexes where the metal ions or clusters (nodes) are coordinated with multitopic organic linkers to form long 1D, 2D, 3D coordination networks. The key structural features and properties of MOFs are their porosity, which can be incredibly high and high surface area (potentially as large as 1000m²/g). The worldwide distress demands technologies that can contribute to our society toward “negative carbon emissions”. Having large surface area, accessible internal volume and abundant active reaction sites, MOFs evolved as prominent candidate materials for energy storage, CO₂ capture and reduction, H₂ storage, photosensitizer to enhance the photo-electric conversion efficiency of solar cells as well as photocatalyst for catalytic water splitting to generate molecular hydrogen.

Main results so far

Three different types of MOFs have been synthesized using 5,10,15,20-tetrakis-(4-carboxyphenyl) porphyrin-FeCl (TCPP-FeCl) as the redox active linker and different lanthanide metal salts as nodes. The redox active linker was synthesized by refluxing methyl *p*-formylbenzoate and pyrrole in propionic acid for 12 hours followed by filtration which gave 5,10,15,20-tetrakis (4-methoxyphenyl) porphyrin (TPPCOOMe). FeCl₂·4H₂O and TPPCOOMe were refluxed in DMF for 6 hours followed by post synthetic work-up to obtain TCPP-FeCl. Solvothermal method was used to synthesize the MOFs. Here, appropriate amount of TCPP-FeCl, lanthanide salts (Nd(NO₃)₃·6H₂O, Th(NO₃)₃·6H₂O, Sm(NO₃)₃·6H₂O) and modulator (*L*-proline and benzoic acid) were ultrasonically dissolved in N, N'-dimethylformamide (DMF). The final solution was transferred to Teflon-lined autoclave and heated in an oven at 120°C for 2 days. Dark red colored crystals (needle and plate -shaped) were harvested by filtration. Single-crystal X-ray diffraction studies revealed that these two MOFs crystalizes in space groups *C*222 and *P*2/*c*, respectively. Purity of bulk material and retaining of crystallinity after activation was investigated by powder X-ray diffraction (PXRD). Thermal stability was checked by thermogravimetric analyses (TGA). Non-conductive MOFs were made conductive by oxidative polymerization of pyrrole inside MOFs pores. These MOFs showed promising supercapacitance properties.

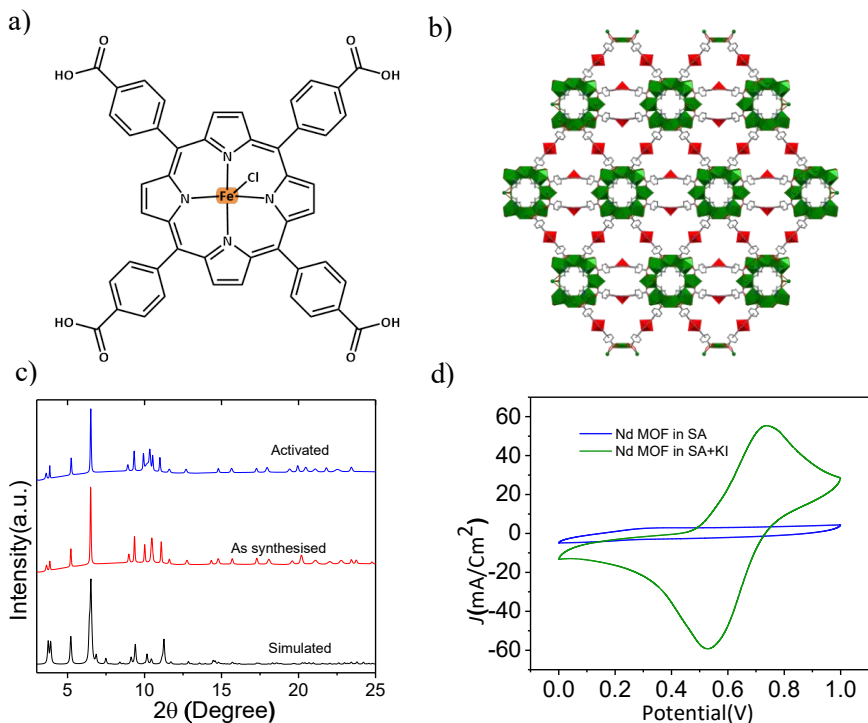


Figure 1. a) TCPP-FeCl linker, b) View of the structure of TCPP-FeCl-Nd MOF along the *c*-axis with two types of channels. c) Powder X-ray diffraction profiles for simulated and experimental TCPP-FeCl-Nd MOF, d) CV plot of Nd-TCPP-FeCl MOF.

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

Intelligent catalysts and intelligent energy are some of the research themes of our research group. Prime aim of my research work is to synthesis of MOF materials and investigation of potential applications. Due to unique properties such as high porosity, structural tunability, large surface area, these materials have high potential in various applications ranging from CO₂ absorption and reduction, H₂ storage, energy store. The MOF materials synthesized during my research work are tested for energy storage ability as supercapacitor. This could be a major achievement in this research field.

Papers to be included in the PhD thesis.

1. Sapkota, N., Peuronen, A., Lehtonen, A. (2024). Tuning Lanthanides-Porphyrin based Metal–Organic Framework (MOF) Topology by Regulating modulator and Secondary Building Unit (SBU) Size. (Manuscript in preparation)
2. Sapkota, N., Peuronen, A., Lehtonen, A. (2024). Synthesis, characterization, and potential application of porphyrin-lanthanide based metal-organic frameworks in energy storage. (Manuscript in preparation)

KEMIAN OPETUKSEN JA OPPIMISEN TUTKIMUS

KEMIAN OPETUKSEN JA OPPIMISEN TUTKIMUS

Veli-Matti Vesterinen

Kemian laitos, 20014 Turun yliopisto
s-posti: 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. Tiedekunnan tasolla tärkeä yhteistyötaho on SciPeda-keskus, joka toimii toimii yhteistyöalustana matemaattis-luonnontieteellisten aineiden oppimisesta, opettamisen tutkimuksesta ja opetuksen kehittämisestä kiinnostuneille. Kemian kouluopetuksen tutkimus puolestaan rakentuu yhteistyölle useiden peruskoulujen ja lukioiden kanssa.

Pro gradu ja LuK -tutkielmien yksi tavoite on kehittää tutkielman tekijän opettajuutta. Opettajankoulutuksen tavoitteena on 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

Kemian laitoksella tehtävä tutkimus keskittyy kemian opetuksen ja oppimisen erityispiirteisiin kuten oppimiseen laboratorioympäristössä. Tutkimuksen monialaisuus ja tutkimusyhteistyö ovat esillä tässä kirjassa esitellyissä pro gradu -tutkielmissa. Amanda Virrankosken tutkielma liittyy kemian ja muiden luonnontieteiden yliopisto-opiskelijoiden keskeyttämisaikomuksiin ja hyödyntää SciPeda-keskuksen yhteyistyönä väitöskirjatutkija Henna Pesosen keräämää aineistoa. Reetta Kyyräräisen tutkielma puolestaan käsittelee opiskelijoiden tilannekohtaista sitoutumista kemian ensimmäisen vuoden harjoitustöissä. Tutkielma toteutetaan yhteistyössä Helsingin yliopiston oppimispsykologian tutkimusryhmän kanssa.

Tässä kirjassa esitellyt LuK-tutkielmat käsittelevät kemian opetusta kahdesta eri näkökulmasta. Laura Alakiikosen tutkielma käsittelee tutkivaa oppimista kemian oppimisen ja opetuksen välineenä. Riina-Maija Hyypiän tutkielman aiheena on puolestaan yhteistoiminnallinen oppiminen lukion kemian opetuksessa.

Tutkiva oppiminen kemian oppimisen ja opetuksen välineenä

Laura Alakiikonen

Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto



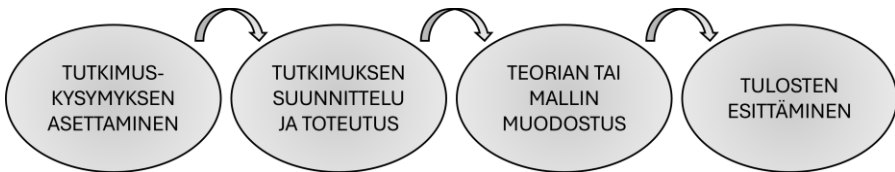
loalak@utu.fi

Kemian opetuksen tavoitteena on tukea luonnontieteellisen ajattelun ja lukutaidon kehittymistä ja samalla antaa oppilaalle valmiudet osallistua yhteiskunnalliseen keskusteluun ja globaalien ongelmien ratkaisuun tulevaisuudessa [1]. Tässä tutkielmassa tarkastellaan tutkivaa oppimista välineenä kemian opetuksen tavoitteiden saavuttamiselle. Tarkoitus on identifoida siihen liittyviä etuja ja haittoja sekä oppilaan että opettajan näkökulmasta.

Tutkiva oppiminen on opetusmenetelmä, jossa oppilaalla on aktiivinen rooli. Oppilaalta vaaditaan mm. kykyä asettaa kysymyksiä, suunnitella ja toteuttaa kokeita ja muodostaa malleja kerätyn tiedon perusteella (kuva 1) [2].

Tutkivan oppimisen on monesti todettu vaikuttavan oppimistuloksiin positiivisesti [2]. Suuresta suosiosta huolimatta tutkivaan oppimiseen voi liittyä haittoja sekä oppilaan oppimisen että opettajan opettamisen kannalta. Kirschner et al [3] on kritisoinut tutkivaa oppimista mm. oppilaan työmuistin liiallisen kuormittamisen ja opettajan vähäisen roolin takia. Tutkiva oppiminen vaatiikin sekä oppilaalta että opettajalta enemmän kuin perinteinen opettajälähtöinen opetus.

Kemian opetuksessa keskeisimmät lähtökohdat ovat havainnointi ja tutkiminen, jotka muodostavat perustan tutkimisen taitojen oppimiselle [1]. Tutkiva oppiminen tarjoaa mahdollisuuden opettaa kemiaa monipuolisesti ja oppilaan kiinnostusta herättävällä tavalla.



Kuva 1. Tutkivan oppimisen vaiheet.

Viitteet

- [1] Opetushallitus: Lukion opetussuunnitelman perusteet **2019**, s. 258, https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/lukion_opetussuunnitelman_perusteet_2019.pdf (viitattu 3.3.2024)
- [2] Jegstad, K., Inquiry-based chemistry education: a systematic review. *Studies in Science Education* **2023**, DOI: 10.1080/03057267.2023.2248436
- [3] Kirschner, P. A., Sweller, J. & Clark, R. E. Why minimal guidance during instruction does not work: An analysis of the failure of constructivist, discovery, problem-based, experiential, and inquiry-based teaching. *Educational Psychologist* **2006** vol. 41, no. 2, s. 75–86, DOI: 10.1207/s15326985ep4102_1

Yhteistoiminnallinen oppiminen – STAD- menetelmän käyttö lukion kemian opetuksessa

Riina-Maija Hyypiä

Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimusryhmä, Kemian laitos,
Turun yliopisto



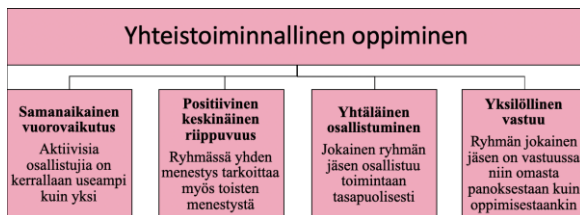
rhyyp@utu.fi

Lukion kemian opetuksessa voidaan käyttää monia erilaisia opetusmenetelmiä ja opetuksellisia keinoja. Tarkoituksena kuitenkin on, että näiden menetelmien avulla opiskelijat saavuttaisivat lukion opetussuunnitelman perusteissa määritetyt kemian sisällölliset sekä laaja-alaiset tavoitteet. Näihin laaja-alaisiin tavoitteisiin kuuluvat esimerkiksi vuorovaikutusosaamisen taidot. [1]

Yhteistoiminnallinen oppiminen sisältää monia opetusmenetelmiä, joiden avulla voitaisiin päästä sisällöllisten tavoitteiden lisäksi myös näihin vuorovaikutusosaamisen tavoitteisiin. Yhteistä näille kaikille menetelmille on niiden pohjautuminen yhteistoiminnallisen oppimisen peruseräiteisiin, jotka ovat esitettyinä kuvassa 1 [2].

Yksi mahdollinen lukio-opetukseen sovellettava yhteistoiminnallisen oppimisen menetelmä on STAD-menetelmä. Tässä menetelmässä on kyse tiimioppimisesta, jossa kaikki ryhmän jäsenet ovat vastuussa niin omasta kuin muidenkin oman ryhmänsä jäsenten oppimisesta. Oppiminen ja opiskelu tapahtuu siis näissä ryhmissä, mutta lopulta jokainen opiskelija tekee kursilla suoritettavaa kokee itsenäisesti. Ryhmän yhteistä menestystä seurataan tietynlaisen pisteytyksen avulla. [2]

STAD-menetelmän käyttöä lukion kemian opetuksessa on tutkittu vielä hyvin vähän. Kuitenkin saatavilla olevat tutkimustulokset osoittavat potentiaalia STAD-menetelmän käytöstä. Erään tutkimuksen mukaan STAD-menetelmällä opetetun luokan oppimistulokset ovat olleet keskimääräisesti vähän parempia kuin kontrolliluokkien oppimistulokset [3]. Lisäksi STAD-menetelmällä on saavutettu useita muitakin taitoja, kuten vuorovaikutusosaamisen taitoja [4].



Kuva 1. Yhteistoiminnallisen oppimisen peruseräitteet [2].

Viitteet

- [1] Opetushallitus: Lukio opetussuunnitelman perusteet 2019, s. 60-63 ja s. 258-260, https://www.oph.fi/sites/default/files/documents/lukion_opetussuunnitelman_perusteet_2019.pdf (viitattu 28.2.2024)
- [2] Sahlberg, P. & Sharan, S. (toim.), *Yhteistoiminnallisen oppimisen käsikirja*, Helsinki: WSOY, 2002, s. 39-45 ja s. 48-65
- [3] Nagib M. A. Balfakih. 2003. *The effectiveness of student team-achievement division (STAD) for teaching high school chemistry in the United Arab Emirates*, International Journal of Science Education, 25:5, 605-624, doi: 10.1080/09500690110078879
- [4] Lantajo, J. 2022. *The Use of STAD Model in Teaching Chemistry: Its Effect to Students' Academic Performance*. doi: 10.17758/URUAE.DIR0117525

TAVOITEORIENTAATIOPROFIILIENTEN YHTEYS KESKEYTTÄMISAJATUKSIIN LUONNONTIETEIDEN OPISKELIJOILLA

Amanda Virrankoski^{1*}, Henna Kevarinmäki², Veli-Matti Vesterinen¹



ahvirr@utu.fi

¹Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

²Fysiikan ja tähtitieteen laitos, Turun yliopisto

Abstrakti

Suomessa luonnontieteiden opinnot keskeyttäneiden opiskelijoiden osuus on suurempi kuin kaikkien yliopisto-opiskelijoiden. Opintojen keskeyttämiseen vaikuttavat monet asiat yhdessä ja erikseen. Osa keskeyttämisen syistä on yhteydessä opiskelijoiden oppimiseen ja opintoihin liittyviin tavoitteisiin. Tässä tutkimuksessa perehdyttiin tarkemmin opiskelijoiden tavoiteorientaatio-profiileihin ja niiden yhteyteen opiskelijoiden keskeyttämisajutuksiin. Tutkimus on tärkeää, sillä sen avulla voidaan selvittää millaiset tavoitteet voivat olla yhteydessä opiskelijoiden keskeyttämisajutuksiin.

Johdanto

Opiskelijat painottavat opinnoissaan erilaisia asioita. Heillä on toiminnalleen tavoitteita, jotka voidaan yleensä jakaa kolmeen osaan. Tehtäväkohtaisten ja yleisten tavoitteiden välimaastoon sijoittuvat tavoiteorientaatiot [1]. Erilaiset tavoiteorientaatiot ovat ikään kuin linssejä, joiden kautta opiskelijat katsovat oppimistilanteitaan. Nykyisin tarkastellaan usein viittä eri tavoiteorientaatiota. Opiskelijat voidaan jakaa tavoitteidensa ja opintoihin liittyvien ajatustensa perusteella eri tavoiteorientaatioihin. Yksi orientaatio ei kuitenkaan poissulje muita orientaatioita, vaan opiskelijoilla voi olla piirteitä useammasta eri orientaatiosta. [2][3]

Tavoiteorientaatiot jaetaan oppimisorientaatioon, saavutusorientaatioon, välttämisorientaatioon, suoritus-välttämisorientaatioon ja suoritus-lähestymisorientaatioon. Oppimisorientaatiossa opiskelijan tavoitteena on kehittyä kyseisessä asiassa tai aiheessa ja oppia uusia asioita siihen liittyen. Saavutusorientaatiossa opiskelija tavoittelee hyviä tuloksia opinnoistaan. Välttämisorientaatiossa opiskelija pyrkii selviytymään opinnoista mahdollisimman vähällä työmäärällä. Suoritus-välttämisorientaatiossa opiskelija pyrkii välttämään epäonnistumista ja suoritus-lähestymisorientaatiossa opiskelija pyrkii menestymään opinnoissaan toisia opiskelijoita paremmin. [2][3]

Tässä tutkimuksessa oli tarkoitus muodostaa luonnontieteiden opiskelijoille tavoiteorientaatioprofiilit. Lisäksi tarkoituksena oli tarkastella löydettyjen profiilien ja opiskelijoiden keskeyttämisajutusten mahdollista yhteyttä.

Materiaalit ja menetelmät

Tutkimuksen aineistona oli Henna Kevarinmäen keväällä 2023 tekemän kyselytutkimuksen tavoiteorientaatioiden osuus. Kyselyyn vastasivat Turun yliopiston Matemaattis-luonnontieteellisen tiedekunnan ensimmäisen vuoden opiskelijat. Opiskelijoiden vastauksia oli yhteensä 175 ja niistä koostettiin tavoiteorientaatioprofiilit latenttiprofiilianalyysillä.

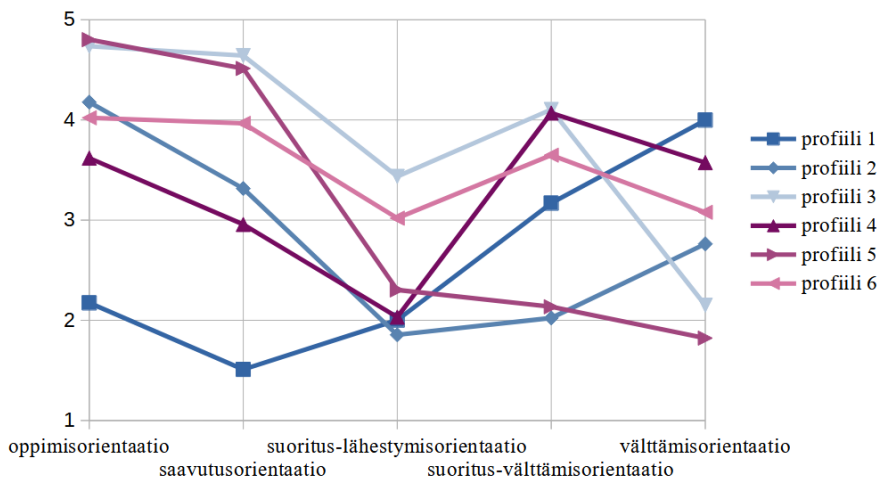
Tulokset ja johtopäätökset

Alustavien analyysien perusteella opiskelijoista olisi havaittavissa 6 eri profiilia. Eri profiilien opiskelijoilla painottuvat eri tavoiteorientaatiot. Profiilit on esitetty kuvassa 1 ja niiden koot on esitetty taulukossa 1.

Profiilin 6 opiskelijoita voidaan tarkastella keskiryhmänä. Se on profileista suurin ja siinä eri tavoiteorientaatiot ovat painottuneet tasaisesti. Profiilin 5 opiskelijat olivat selkeästi saavutus- ja

oppimisorientoituneita. Heillä välttämis-, suoritus-välttämis- ja suoritus-lähestymisorientaatioiden osuus on selkeästi matalampi kuin kuudennen profiilin opiskelijoilla. Profiilin 4 opiskelijoilla erityisesti saavutus- ja suoritus-lähestymisorientaatioiden esiintyvyys on matalampaa kuin profiilin 6 opiskelijoilla. Heillä on kuitenkin profiilin 6 opiskelijoita korkeampi esiintyvyys suoritus-välttämis- ja välttämisorientaatiolla. Profiilin 3 opiskelijoilla esiintyy enemmän lähes kaikkia tavoiteorientaatioita kuin profiilin 6 opiskelijoilla. Poikkeuksena profiilin 3 opiskelijoilla esiintyy vähemmän välttämisorientaatiota. Profiilin 2 opiskelijoiden oppimis- ja välttämisorientaatiot ovat lähes samat kuin profiilin 6 opiskelijoilla. Profiilin 2 opiskelijoilla on matalampi esiintyvyys erityisesti suoritus-lähestymis- ja suoritus-välttämisorientaatioilla. Profiilin 1 opiskelijat ovat profiilin 6 opiskelijoita huomattavasti vähemmän oppimis- ja saavutusorientoituneita. Lisäksi heillä on selvästi suurempi välttämisorientaatio profiilin 6 opiskelijoihin verrattuna.

Gradussa opiskelijoiden keskeyttämisaatuksia ja tavoiteorientaatioprofiileita verrataan toisiinsa.



Kuva 1. Luonnontieteiden opiskelijoiden tavoiteorientaatioprofiilit

	opiskelijoita	opiskelijoita (%)
profiili 1	4	2,3
profiili 2	31	17,7
profiili 3	30	17,1
profiili 4	27	15,4
profiili 5	23	13,1
profiili 6	60	34,3

Taulukko 1. Opiskelijoiden määrä tavoiteorientaatioprofiileissa.

Viitteet

- [1] P. R. Pintrich, "An Achievement Goal Theory Perspective on Issues in Motivation Terminology, Theory, and Research," *Contemp. Educ. Psychol.*, vol. 25, no. 1, pp. 92–104, 2000
- [2] M. Niemivirta, A.-T. Pulkka, A. Tapola, and H. Tuominen-Soini, "Tavoiteorientaatioprofiilit ja niiden yhteys tilannekohtaiseen motivaatioon ja päättelytehtävässä suoriutumiseen," *Kasvatus*, vol. 44, no. 5, pp. 533–547, 2013.
- [3] H. Tuominen-Soini, K. Salmela-Aro, and M. Niemivirta, "Achievement goal orientations and subjective well-being: A person-centred analysis," *Learn. Instr.*, vol. 18, no. 3, pp. 251–266, 2008

SITOUTUMINEN KEMIAN HARJOITUSTÖISSÄ

Reetta Kyyräinen^{1*}, Veli-Matti Vesterinen¹ ja Elisa Vilhunen²

¹Kemian opetuksen ja oppimisen tutkimusryhmä, Kemian laitos, Turun yliopisto

²Kasvatustieteiden laitos, Helsingin yliopisto



reijan@utu.fi

Abstrakti

Kemia on kokeellinen tiede, sanotaan, kun jokin menee pieleen. Virheiden tekeminen on keskeinen osa kaikkea oppimista, ja sitä tulisi tarkastella tästä syystä tarkemmin. Tässä tutkimuksessa perehdytään opiskelijoiden tilannekohtaiseen sitoutumiseen laboratorioympäristössä. Lisäksi tarkastellaan sitoutumisen sekä virheiden tekemisen ja erilaisten oppimistilanteiden välistä yhteyttä. Tutkimuksessa havaittiin harjoitustyövaiheen teoriataustan ja kokeellisuuden yhdistymisellä, sekä virheiden tekemisellä olevan selkeä negatiivinen vaikutus opiskelijoiden kiinnostukseen ja taitavuuden kokemukseen, sekä positiivinen vaikutus haastavuuden kokemukseen. Tästä huolimatta teorian ja kokeellisuuden yhdistämisen sekä korkean tilannekohtaisen sitoutumisen välille todettiin kuitenkin merkittävä positiivinen korrelaatio.

Johdanto

Tutkimuksessa tarkastellaan yliopisto-opiskelijoiden tilannekohtaista sitoutumista optimaalisen oppimisen hetkien teorian pohjalta. Samanaikainen korkea kiinnostus, taitavuuden kokemus sekä haastavuuden kokemus opiskelijalla indikoivat optimaaliseen oppimisen hetkeä, jolloin opiskelija on korkeasti sitoutunut oppimiseen [1]. Korkea tilannekohtainen sitoutuminen edistää oppimista ja tiedon omaksumista, sillä se saa opiskelijan paneutumaan opiskeluun ideaalisella tavalla. Aiempien tutkimusten perusteella laboratoriotyöskentelyn aikana haastavuuden kokemus saattaa jäädä alhaiseksi, ja tästä syystä optimaalisen oppimisen hetkiä esiintyy suhteellisen vähän [2].

Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään, miten taustamuuttujat, opiskelijan sukupuoli, pääaine ja osaamisen taso, sekä havaitut muuttujat, virheen tekeminen ja oppimistilanne vaikuttavat opiskelijoiden kiinnostukseen sekä taitavuuden ja haastavuuden kokemukseen, sekä optimaalisen oppimisen kokemukseen laboratorioympäristössä. Tämän lisäksi tarkasteltiin tarkemmin, miten sattuneen virheen tausta vaikuttaa optimaalisen oppimisen kokemukseen ja osatekijöihin.

Hypoteesina oli, että virheen tapahtuminen sekä teorian yhdistäminen kokeellisuuteen lisäävät kumpikin haastavuuden kokemusta ja täten myös edistävät optimaalisen oppimisen kokemusta.

Materiaalit ja menetelmät

Tutkimus on toteutettu Kemian harjoitustyöt I -opintojakson opiskelijoilta kerätyn kyselydatan pohjalta. Tutkimusdata on kerätty kokemusanalyysin menetelmällä (engl. *experience sampling method*, EMS), jonka on osoitettu toimivan tilannekohtaisen sitoutumisen mittaamiseen [1]. Menetelmällä saadaan talteen opiskelijoiden subjektiivisia kokemuksia hetkellisesti.

Opiskelijat vastasivat neljässä harjoitustyössä kolmeen tai neljään ESM-kyselyyn. Kyselyt oli integroitu työhjeeseen, ja yhteensä niitä oli 13 kappaletta. Kyselyissä mitattiin optimaalisen oppimisen hetkien osatekijöitä 5-portaisella Likert-asteikolla sekä selvitettiin, oliko opiskelija huomannut tehneensä jonkin virheen. Lisäksi mahdollisen virheen tausta selvitettiin väittämien avulla.

Kyselydatasta rakennettiin monitasoiset rakenneyhtälömallit, jotka huomioivat datan sisäkkäisen rakenteen. Yksilöt toimivat malleissa klustereina, sillä tilannekohtaiset vastaukset ovat kytketty

(”nested”) yksilöiden vastauksiin. Virheitä tarkasteltiin tämän lisäksi tarkemmin tilannekohtaisella tasolla.

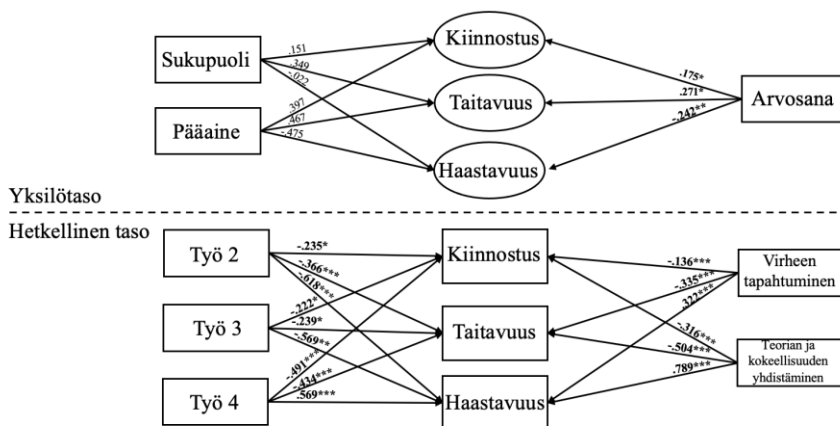
Tulokset ja johtopäätökset

Kaaviossa 1 esitetään kaksitasoinen rakenneyhtälömalli, joka kuvaa havaittujen muuttujien vaikutuksia optimaalisen oppimisen osatekijöihin. Yksilötasolla arvosanan havaittiin olevan vahva ennustava muuttuja kaikille osatekijöille, kun taas sukupuoli ja pääaine ei havaittu olevan vaikutusta. Tilannekohtaisella tasolla todettiin virheen tekemisen sekä teorian ja kokeellisuuden yhdistämisen selittävän näiden osatekijöiden raportoituja arvoja.

Virheen tekeminen sekä teorian ja kokeellisuuden yhdistäminen vaikutti vähentävän kiinnostusta ja taitavuuden kokemusta sekä lisäävän haastavuuden kokemusta. Jälkimmäisen havaittiin kuitenkin ennustavan optimaalisen oppimisen hetkiä. Tämä on selitettävissä sillä, että haastavuuden kokemus ylitti kesimääräisen arvon useammin, kuitenkin säilyttäen myös kiinnostuksen ja taitavuuden kokemuksen keskimääräistä korkeampana.

Tilannekohtaisella tasolla tarkasteltuna virheen taustalla havaittiin olevan vaikutuksia optimaalisen oppimisen osatekijöihin. Tulosten mukaan myös se, että virheen syy ei selvinnyt, vaikutti vähentävän optimaalisen oppimisen kokemuksia.

Tulokset viittaavat siihen, että laboratoriotyöskentelyn tarjotessa riittävästi haasteita, ovat opiskelijat keskimääräistä sitoutuneempia oppimiseen, ja tämä olisi ensiarvoisen tärkeää huomioida opetuksen suunnittelussa ja toteutuksessa.



Kaavio 1. Tarkasteltavien muuttujien vaikutukset optimaalisen oppimisen osatekijöihin.

Viitteet

- [1] Schneider, B., Krajcik, J., Lavonen, J., Salmela-Aro, K., Broda, M., Spicer, J., Bruner, J., Moeller, J., Linnansaari, J., Juuti, K., & Viljaranta, J. (2016). Investigating optimal learning moments in U.S. and Finnish science classes. *Journal of Research in Science Teaching*, 53(3), 400–421.
- [2] Atabek-Yigit, E., & Senoz, A. B. (2023). CRC Optimal learning moments in an undergraduate chemistry lab. *Research in Science & Technological Education*, 1–17.

TURKU CENTRE FOR CHEMICAL AND MOLECULAR ANALYTICS (CCMA)



NEUROMETABOLOMICS RESEARCH GROUP

TURKU CENTRE FOR CHEMICAL AND MOLECULAR ANALYTICS & THE NEUROMETABOLOMICS RESEARCH GROUP

Alex.Dickens@utu.fi

*Kemian laitos, 20500 University of Turku
Turku Bioscience Centre, 20540, University of Turku
email: alex.dickens@utu.fi*

Websites: <https://ccma.fi/>
<https://bioscience.fi/neurometabolomics/profile/>

Turku Centre for Chemical and Molecular Analytics:

Turku Centre for Chemical and Molecular Analytics (CCMA) serves as a shared facility for the Department of Chemistry at the University of Turku and the Faculty of Science at Åbo Akademi University. With 5 modern NMR instruments and a sophisticated mass spectrometer, the Centre is one of the best equipped educational NMR/MS facilities in Finland.

Staff in the CCMA



Alex Dickens



Tuomas Karskela



Denys Mavrynsky

Infrastructure available:

NMR:



Photo of the NMR room in Aurum

The NMR instruments were renewed in 2016 to the state of the art electronics at the time. We have 5 magnets in total and these are:

- 600 MHz inverted cryoprobe
- 500 MHz cryoprobe
- 2 x 500 MHz smart probe
- 400 MHz with CP and HR MAS

These instruments allow us to provide a broad range of NMR services to both the research community in Turku but also industry partners. The 600MHz instrument is equipped with a high-capacity temperature controlled autosampler for long runs and is optimes to show the greatest sensitivity to the protons in your sample. The 500 cryo system is optimised for sensitivity to X channel nuclei. The two non-cryo systems are very similar in specifications. This allows us to dedicate one system to an open access platform that is fully automated. Therefore, users can submit their samples using their own email and walk away whilst the queue is analysed in submission order and the results will be emailed to you removing the need to sit at the instrument. All the NMRs are now hooked up to a helium recovery system which is critical due to the dwindling global supply of helium. This significantly reduces our running costs and lowers our environmental impact.

Mass Spectrometry:



Sciex 7500 QTrap

Waters RDA



Agilent 6460 QqQ

Sciex 3200 QqQ

The CCMA has greatly expanded its mass spectrometry capacity in the past few years and now contain several unique mass spectrometers in Finland. The Sciex 7500 was purchased through a FIRI funded project in collaboration with the Turku Centre for Disease Modelling. The aim of this MS is to perform ultra-low concentration steroid analysis in animal samples. It is the most sensitive mass spectrometry available on the market currently thanks to several innovations with the ion source and increased in vacuum pump capacity. The instrument is a traditional QqQ with the final quadrupole acting as an optional linear ion trap allowing for MS3 level characterisation and better than 1 Da mass accuracy measurements. It is coupled to a UHPLC system for separation of molecules. There are actually 3 pumps in this system to allow online SPE type experiments. This was the first instruments purchased in the Nordic region.

The Waters RDA detector was the first such instrument in Finland and is our open access system. It is coupled to the Waters premier system which has a special coating to prevent the binding of bioactive molecules such as polar metabolites, proteins and oligonucleotides. This self-calibrating instrument allows users with limited mass spectrometry experience to get accurate mass data on a wide range of molecules easily with pre-defined methods. You can even upload your structure via a mol file and the software will find the correct peak for you.

The Agilent 6460 is an older but still sensitive mass spectrometer that originally came from Åbo Akademi. It has a large sample autosampler as well as a low volume system. This allows for the sensitive analysis of trace metabolites. The Sciex 3200 is also an older QqQ which is an open access system for all chemist to use to quickly look at the unit mass of their compound via direct infusion.

In the near future we will be installing 2 Waters TQD detectors which are older QqQ, one with an UHPLC allowing for method development of new MS methods on older systems that are less critical to other operations. This should be a hugely useful teaching tool.

Neurometabolomics Research Group:

Metabolomics, included is a powerful tool to understand how the underlying biological processes occur in health and disease. They also provide a rich source of potential biomarkers for the diagnostic or progression of the disease. The study of the brain is difficult due to the inability to observe changes in humans directly. Metabolomics has been shown to be a key tool in predicting the outcome of several brain injuries. Our lab develops cutting edge analytic chemistry techniques to measure a wide range of small molecules that are important in brain disease and health. We then use these tools in both human samples and models of the disease to understand the underlying mechanisms behind the observed metabolite changes in order to better understand the disease pathology. The lab consists of a mix of analytical chemistry, biologists and experts in multivariate data processing.

Group Members



Silke Jasma
Masters Student

Katja Salonen
Masters Student

Ilia Evstafev
PhD Student

Malik Mohad Azhar
PhD Student

Access to infrastructure:

The Neurometabolomics group relies heavily on the infrastructure of the Turku Metabolomics Centre (<https://bioscience.fi/services/metabolomics/services/>) which has received over €2,000,000 investments in mass spectrometry in the last 2 years from different FIRI calls. Therefore, we now have the first MALDI-2 mass spectrometry imaging system in Finland allow for the imaging of a broad range of molecules from tissue. We have also just installed the Sciex 7600 ZenoTOF which has EAD fragmentation which will allow us a far greater understanding of lipid double bond positions which is not possible in normal mass spectrometers.

Characterizing the endocannabinoid system in animal models of brain injury

Malik Azhar

Centre for Chemical and Molecular Analytics, Department of Chemistry, University of Turku



Malik.m.malik@utu.fi

Research Director: Professor Pasi Virta

Supervisor(s): Dr. Alex Dickens and Professor Matej Orešič

Funding: Research Council of Finland

Estimated time of PhD dissertation: 9/2026

Main aims of the PhD research

The endocannabinoid system (ECS) plays a crucial role in mediating communication between the brain and periphery, impacting brain health and disease. This research project, EndoBrain, aims to develop novel methodologies to study the ECS and extracellular vesicles (EVs) and utilize these methods to understand ECS involvement in brain diseases such as traumatic brain injury (TBI) and psychosis. The project integrates clinical research with experimental animal models to achieve four specific aims: (1) Develop tools for ECS and EV analysis, (2) Characterize ECS in psychosis, (3) Investigate CB1 receptor availability and ECS relationship in chronic brain injury, and (4) Explore ECS role in acute TBI. Key hypotheses include ECS mediation of brain function and lipid synthesis, and EVs acting as long-range signaling particles across the blood-brain barrier. The project incorporates comprehensive research plans, methodologies, and collaborations across various disciplines to provide insights into ECS mechanisms in brain diseases and potentially open new avenues for therapeutic interventions.

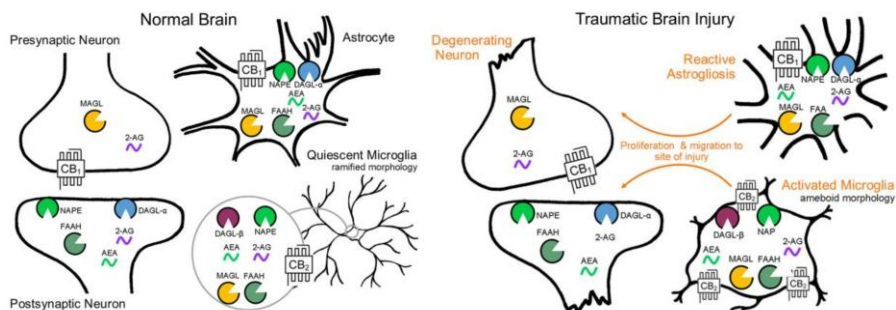


Figure 1: Mechanism of ECS in normal brain and TBI (Schurman & Lichtman, 2017).

Main results so far

The first phase of my work started with manual size exclusion chromatography (SEC) based isolation of EVs from blood plasma using commercially available qEv columns (Izon). For characterization, we used antibody nanoparticle conjugates for the detection of Ev markers in a

direct immunoassay. Though the results were promising but we were more interested in developing a high throughput isolation method based on charge and size. To accomplish this, we used high performance liquid chromatography (HPLC) based method utilizing a commercially available titanium BioTi™ biocompatible column (Biozen by Phenomenex). The experiment was run under isocratic conditions and optimized for maximum yield. Due to inconsistencies in the results and a possibility of non-reproducibility, we shifted from column based to bead-based isolation method following similar chemistry.

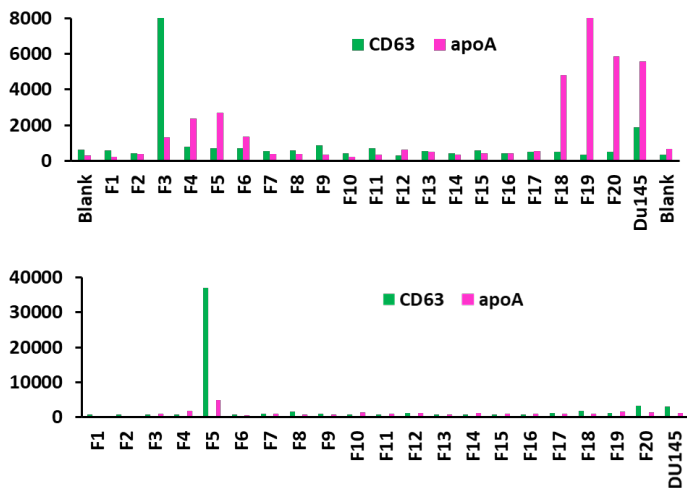


Figure 2: Results from isocratic HPLC run showing inconsistency with the CD63 signal under similar experimental conditions

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

The main objective of this project is to create extremely selective and sensitive analytical methods that will enable the ECS to be studied. Afterwards, these techniques will be applied to clarify how the ECS interacts with general lipid metabolism in both acute and chronic brain disorders. By characterizing the ECS as a crucial communication mediator between the brain and periphery, understanding of psychosis and TBI will be facilitated. Therefore, a significant reduction in the financial burden of brain disorders would result from the effective prediction and prevention of metabolic co-morbidities. This may lower the cost of long-term care incurred after a traumatic brain injury. Making use of the findings from this project will save costs in healthcare by increasing drug adherence rates and reducing hospital stays following TBI. Furthermore, it will also provide impetus to the EV research field by providing novel and high throughput isolation and detection tools.

Papers to be included in the PhD thesis

We are currently at the initial stages of our work.

References

Schurman, L. D., & Lichtman, A. H.. Front Pharmacol 17:8:69. 2017 Feb 17:8:69.

Development and optimisation of LC-MS steroids quantification and imaging assays in biological matrices

Ilia Evstafev

Centre for Chemical and Molecular Analytics, Department of Chemistry, University of Turku



iliev@utu.fi

Research Director: Prof. Pasi Virta

Supervisor(s): Dr. Matej Orešič, Dr. Alex Dickens and Dr. Matilda Kråkström

Funding: Drug research Doctoral Programme, Research Council of Finland Academy Fellowship & Sigrid Jusélius grant of Dr. Alex Dickens.

Estimated time of PhD dissertation: 2026

Main aims of the PhD research

Steroid hormones form a class of signalling molecules that is highly involved in health and disease. They regulate growth and sexual characteristics and maintain important stages of life such as pregnancy in humans. In addition to that steroid hormones are involved in the response mechanism of immune system. Due to their diverse structures, the quantification of a broad range of steroids remains difficult.

Before proceeding to examine steroids in difficult matrices with lots of possible interferences, it is important to confirm method reliability. In my PhD project an existing liquid chromatography – mass spectrometry (LC-MS) method is being optimised and subjected to validation tests. As a result of this part of my PhD project will be a reliable and sensitive method of quantitation of a broad range of steroids in different biological matrices.

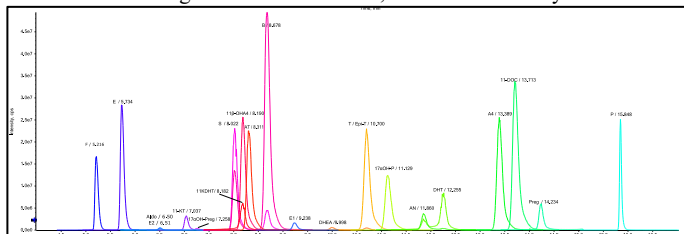
The LC-MS assay validated in faecal samples and adipose tissue reveals new possibilities of steroid profiling in existing cohorts experiencing lack of blood plasma volume. Thus, established assay could be utilised to study steroid profile changes with age in a cohort consisting of healthy children. Clearly, quantifying the steroids in homogenised tissues via LC-MS assay eliminates the factor of compound localization from consideration. However, spatial distribution information can provide important insights of steroid localisation and influence on the tissue sections. For developing a spatial steroidomics platform for mass imaging of steroids in tissues a new matrix-assisted laser desorption/ionization post ionisation (MALDI-2) technique will be applied. The mass spectrometry imaging assay will be used for profiling steroids in exposome and brain injury studies mice tissues.

Main results so far

LC-MS/MS steroids assay

For human adipose tissue a previously published method for plasma was adapted utilising more sensitive instrumentation. The panel of quantified steroids was expanded with 7 additional compounds. Resulting steroids panel is comprised of 11b-OH-Androstenedione (11b-OHA4), 11-Deoxycorticosterone (DOC), 11-Deoxycortisol (S), 11-Keto-Dihydrotestosterone (11-KDHT), 11-ketotestosterone (11-KT), 17a-OH-Pregnenolone (17a-OHP5), 17a-OH-Progesterone (17a-OHP4), Adrenosterone (11-KA4), Aldosterone (A), Androstenedione (A4), Androsterone (AN), Corticosterone (B), Cortisol (F), Cortisone (E), Dehydroepiandrosterone (DHEA), Dihydrotestosterone (DHT), Estradiol (E2), Estrone (E1), Pregnenolone (P5), Progesterone (P4), Testosterone / Epi-testosterone (T/Epi-T). Representative chromatogram is shown in Figure 1. For analysis of steroids in adipose tissue a liquid-liquid extraction (LLE) procedure was utilised. The analytes distribution between layers during extraction was studied. For further use a two-step LLE

procedure showing a drastic increase of extraction efficiencies for several analytes was employed. The method was partially validated using the main approaches of International Council on Harmonisation (ICH) guideline M10 on bioanalytical method validation. Owing to steroids endogenous nature, for analytical range of the assay a surrogate analyte approach was used. Carry over and intra-run precision and accuracy was tested as well as analysis storage stability. Tests are planned in the future are among others: matrix effect, short term stability.



HENKILÖHAKEMISTO

Nimi		Tavoitetutkinto	Tutkimusryhmä	Sivu
Afari	Mark	FT	Bio-orgaaninen kemia	53
Agamah	Cecilia	FT	Älykkäiden materiaalien kemia	208
Aho	Aapo	FT	Bio-orgaaninen kemia	55
Aho	Emma	LuK	Detektioteknologia	75
Alakiikonen	Laura	LuK	Kemian opettaja	214
Ali-Penttilä	Jenni	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	194
Al-waeel	Majid	FT	Materiaaliekemia	171
Auchynnikaava	Tatsiana	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	102
Azhar	Malik	FT	CCMA	225
Baggott	Joshua	MSc	Älykkäiden materiaalien kemia	202
Dillemuth	Pyry	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	104
Eloranta	Pulmu	FT	Materiaaliekemia	173
Evstafev	Ilia	FT	CCMA	227
Fock	Ville	FT	Luonnonyhdistekemia	136
Gooran	Negin	FT	Detektioteknologia	89
Haapsaari	Hanni	FT	Bio-orgaaninen kemia	57
Hakamäki	Justus	LuK	Luonnonyhdistekemia	126
Halonen	Saku	LuK	Luonnonyhdistekemia	127
Hentula	Roni	FM	Materiaaliekemia	161
Herath	Muditha	MSc	Bio-orgaaninen kemia	45
Huopalainen	Joona	FT	Materiaaliekemia	175
Hyypiä	Riina	LuK	Kemian opettaja	215
Jadhav	Ashwini	FT	Materiaaliekemia	177
Jussila	Onni	LuK	Bio-orgaaninen kemia	24
Kallio	Eevi	LuK	Bio-orgaaninen kemia	25
Karivieri	Sofia	LuK	Materiaaliekemia	155
Katavisto	Kalle	FM	Materiaaliekemia	163
Kochrekar	Sachin	FT	Materiaaliekemia	179
Korkeamäki	Akseli	LuK	Materiaaliekemia	156
Kortelainen	Matti	FM	Radiofarmaseuttinen kemia	96
Koskinen	Kia	FM	Bio-orgaaninen kemia	31
Kovanen	Riku	LuK	Materiaaliekemia	157
Koyejo	Adefunke	FT	Materiaaliekemia	181
Kudjoi	Atte	FT	Materiaaliekemia	183
Kuivala	Olivia	LuK	Detektioteknologia	76
Kujala	Eemeli	FM	Detektioteknologia	83
Kultalahti	Anu	LuK	Detektioteknologia	77
Kuukkanen	Ilari	FT	Luonnonyhdistekemia	138
Kuusisto	Juusoo	FM	Fysikaalinen kemia	117
Kyynäräinen	Reetta	FM	Kemian opettaja	218
Kähkölä	Heidi	FT	Bio-orgaaninen kemia	59
Kärsämänoja	Aino	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	195
Lahti	Sara	LuK	Detektioteknologia	78
Laine	Toni	FT	Bio-orgaaninen kemia	61
Lammassaari	Hanna	LuK	Luonnonyhdistekemia	128
Laukkanen	Timo	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	196
Leppänen	Aleksi	LuK	Bio-orgaaninen kemia	26
Luntamo	Niko	FT	Luonnonyhdistekemia	140
Miller	Kaisa	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	197

HENKILÖHAKEMISTO

Nimi		Tavoitetutkinto	Tutkimusryhmä	Sivu
Mohamed	Dahir	LuK	Detektioteknologia	79
Muurinen	Bettiina	FM	Älykkäiden materiaalien kemia	204
Myllymäki	Tiia	FM	Luonnonyhdistekemia	132
Mäenpää	Tommi	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	198
Mäkinen	Salla	FM	Materiaalikemia	165
Mäkipää	Miika	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	199
Mäntylä	Kalle	LuK	Detektioteknologia	80
Nguyen	Vinh	FT	Materiaalikemia	185
Nieminen	Ilona	LuK	Detektioteknologia	81
Nissilä	Leo	FM	Radiofarmaseuttinen kemia	98
Nurmi	Nicola	LuK	Materiaalikemia	158
OGorman	Ciara	MSc	Materiaalikemia	167
Ojamo	Lyydia	LuK	Bio-organeninen kemia	27
Ollikainen	Janni	FM	Bio-organeninen kemia	33
Peltonmäki	Pihla	LuK	Bio-organeninen kemia	28
Peng	Siyuan	MSc	Materiaalikemia	169
Petrova- <td>Kseniia</td> <td>MSc</td> <td>Bio-organeninen kemia</td> <td>47</td>	Kseniia	MSc	Bio-organeninen kemia	47
Pham	Mei	LuK	Detektioteknologia	82
Piivek	Pekka	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	200
Pohja	Joonas	FM	Radiofarmaseuttinen kemia	100
Rafkin	Alessandra	FM	Bio-organeninen kemia	35
Rajala	Noora	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	106
Saari	Verner	FT	Bio-organeninen kemia	63
Saleh	Lange	FT	Bio-organeninen kemia	65
Santahuhta	Reetta	LuK	Bio-organeninen kemia	29
Sapkota	Narhari	FT	Älykkäiden materiaalien kemia	210
Seppänen	Tiina	LuK	Luonnonyhdistekemia	129
Sillanpää	Eero	FM	Bio-organeninen kemia	37
Sillanpää	Mimosa	FT	Luonnonyhdistekemia	142
Suominen	Paavo	LuK	Materiaalikemia	159
Suuronen	Siiri	LuK	Luonnonyhdistekemia	130
Suvanto	Jussi	FT	Luonnonyhdistekemia	144
Tanhuanpää	Ossi	FM	Bio-organeninen kemia	39
Teh	Amanda	LuK	Luonnonyhdistekemia	131
Tomele	Madara	MSc	Älykkäiden materiaalien kemia	206
Tuomi	Iris	LuK	Bio-organeninen kemia	30
Tuominen	Juulia	FM	Bio-organeninen kemia	41
Tuoresjärvi	Joonatan	LuK	Älykkäiden materiaalien kemia	201
Wahlroos	Saara	FT	Radiofarmaseuttinen kemia	108
Vanhakylä	Suvi	FT	Luonnonyhdistekemia	146
Varpio	Katariina	LuK	Materiaalikemia	160
Vihavainen	Riia	FM	Detektioteknologia	85
Viitakoski	Mikael	FM	Bio-organeninen kemia	43
Virrankoski	Amanda	FM	Kemian opettaja	216
Vuorio	Jenni	FM	Detektioteknologia	87
Väisänen	Tuuli	FM	Luonnonyhdistekemia	134
Yan	Kai	MSc	Bio-organeninen kemia	49
Üstbas	Müjgan	MSc	Bio-organeninen kemia	51
Österlund	Tommi	FT	Bio-organeninen kemia	67