

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE MOLECOLARI

INDIRIZZO SCIENZE CHIMICHE

CICLO XXVI

Tesi di dottorato:

STUDIO DEL CLUSTERING DEL MONOSTRATO DI MOLECOLE
ORGANICHE PASSIVANTI NANOPARTICELLE D'ORO

DIRETTORE DELLA SCUOLA: PROF. ANTONINO POLIMENO

RELATORE: PROF. FABRIZIO MANCIN

DOTTORANDO: ALESSANDRO GAMBARIN

*“Tutte le cose che sono veramente grandi,
a prima vista sembrano impossibili”*

F. Nietzsche

Sommario

La costruzione di nanosistemi o cosiddette “macchine molecolari” rappresenta una grande sfida per la chimica moderna. L’intenso sforzo scientifico per il raggiungimento di questo obiettivo deriva dalla molteplicità e rilevanza dei potenziali campi applicativi, che potrebbero spaziare dal sensing di analiti, alla biomedicina, alla progettazione di “enzimi artificiali”, supramolecole progettate razionalmente in modo da possedere attività catalitica intrinseca. Un design a tavolino implica tuttavia la totale comprensione dei meccanismi che governano i processi di formazione, assemblaggio e riarrangiamento di queste supramolecole, in modo da poterli controllare e indirizzare nella direzione voluta.

I nanoclusters metallici passivati da monolayers organici (SAM, Self Assembled Monolayers) presentano peculiari caratteristiche che li individuano, nel variegato panorama dei nanomateriali, come una delle principali piattaforme sulle quali plasmare il concetto di macchina molecolare. I SAM che stabilizzano i nuclei metallici non sono altro che strutture supramolecolari costituite da molecole dotate di particolari gruppi funzionali affini alla superficie del nanocluster, che si autoassemblano raggiungendo potenzialmente un'elevata organizzazione spaziale. La possibilità di modificare a piacimento la struttura chimica degli adsorbati comporta una notevole elasticità nel modulare le proprietà fisico chimiche di questi nanomateriali: sono ad oggi state sintetizzate nanoparticelle d’oro (AuNPs) stabilizzate da tiolati alchilici e funzionalizzati, acidi nucleici, oligopeptidi, polisaccaridi. E’ stata inoltre ampiamente riportata in letteratura la sintesi di AuNPs con SAM a composizione mista, in cui le proprietà dei differenti tipi di adsorbati vengono tra loro mediate, o possiedono attività sinergica.

In questa Tesi di Dottorato vengono sviluppati diversi progetti di ricerca che riguardano specifiche proprietà e applicazioni di AuNPs stabilizzate da monostrati a composizione unitaria e mista. Numerose evidenze sperimentali riportate in letteratura inducono a supporre che in SAM a composizione mista siano possibili processi di segregazione di fase degli adsorbati. Nella prima parte sono state perciò sintetizzate e caratterizzate AuNPs stabilizzate da derivati tiolici contenenti gruppi fotoresponsivi (azobenzenico e pirenilico) in monostrati a composizione mista, nel tentativo di correlare le proprietà ottiche dei campioni con le modalità di impaccamento del monostrato.

Nella seconda parte sono state approfondite le modalità di formazione del SAM nel processo sintetico Peng-Scrimin, al fine di aumentare il livello di accuratezza nella sintesi di monostrati misti e di spiegare l’occorrenza dei fenomeni di “sorting” (distribuzione asimmetrica degli adsorbati sui nuclei metallici in fase di sintesi). Sono state inoltre investigate le proprietà di alcuni monostrati

Sommario

funzionalizzati, tramite esperimenti di scambio monitorati tramite spettroscopia di emissione di Fluorescenza e $^1\text{H-NMR}$, al fine di giustificare alcune evidenze sperimentali di segregazione di fase recentemente pubblicate dal gruppo di ricerca nel quale ho svolto il Dottorato.

Nella terza parte è stata investigata l'interazione supramolecolare che si verifica tra AuNPs a monostrato misto stabilizzate da un derivato tiolico del pirene co-adsorbito con un derivato tiolico della fosforilcolina, e nanotubi di carbonio a parete singola (SWNTs) pristini (non funzionalizzati) e PEGilati (coniugati con catene poliossietilenglicole), ed è stato messo a punto un protocollo per la loro complessazione e l'ottenimento di nanocompositi.

Abstract

The development of nanosystems or so-called "molecular machines" is a great challenge for modern chemistry. This acute scientific effort stems from the multiplicity and significance of the potential application fields, which could range from analytes sensing and biomedicine, to the design of "artificial enzymes", rationally designed supramolecules which possess intrinsic catalytic activity. A top-down approach implies the complete understanding of the mechanisms that govern the processes of formation, assembly and rearrangement of these supramolecules, in order to control and steer them in the desired direction.

Metal nanoclusters stabilized by an organic monolayer (SAM, Self-Assembled Monolayers) stand out into the varied review of nanomaterials, because of their particular features, which address them as one of the main platforms on which to shape the concept of molecular machine. The SAM which stabilize the metallic nucleus is nothing more than a supramolecular structure formed by molecules displaying special functional groups, which self-assemble upon the metallic surface, potentially reaching an high spatial organization. The possibility to change at will the chemical structure of adsorbates implies a considerable flexibility in modulating the physicochemical properties of these nanomaterials: to date gold nanoparticles (AuNPs) stabilized by alkyl and functionalized thiols, such as nucleic acids, oligopeptides, polysaccharides have been synthesized. Moreover, mixed SAM AuNPs synthesis has been reported in literature: in this case the properties of different types of adsorbates could be mediated, or possess synergistic activity.

In this Ph.D. Thesis several research projects have been developed, each one relating to specific properties and applications of omoligand and mixed monolayer AuNPs. Several experimental evidences reported in literature suggest that in mixed monolayer AuNPs, adsorbates could undergo phase segregation processes: in the first part, mixed monolayer gold nanoparticles stabilized by photoresponsive groups containing derivatives (azobenzene and pyrene) have been synthesized and characterized, in order to correlate the optical properties of the samples with the topological arrangement of adsorbates into the monolayer.

In the second part, the exposition focus upon nanoparticle gold core packing and monolayer's self-assembly mechanisms in Peng-Scrimin synthetic process, the one commonly used in our laboratory. This study has been considered useful in order to increase accuracy of mixed monolayers synthesis and to explain the occurrence of "sorting" phenomena (asymmetric distribution of adsorbates onto metallic nuclei into the sample). The properties of some

Sommario

functionalized monolayers have also been investigated through exchange experiments, initially monitored by means of fluorescence emission spectroscopy and then by $^1\text{H-NMR}$, in order to justify experimental evidences of phase segregation recently published by the research group in which I spent the Doctorate .

In the third part, supramolecular interaction between mixed monolayer AuNPs (stabilized by a pyrene derivative co-adsorbed with a phosphorylcholine one) and single-walled carbon nanotubes (SWNTs), pristine (non-functionalized) and PEG-ylated (conjugated with polyoxyethylene chains), has been investigated, and a protocol for their complexation to the obtaining of nanocomposites has been developed.

Indice

1	INTRODUZIONE	1
1.1	DESCRIZIONE GENERALE DELLA STRUTTURA DI NANOPARTICELLE D'ORO	1
1.1.1	MORFOLOGIA E PACKING DEL NUCLEO METALLICO	3
1.1.2	ANALISI DI STRUTTURE CRISTALLOGRAFICHE	5
1.1.3	APPROFONDIMENTO SULL'INTERAZIONE SUPERFICIALE ORO-ZOLFO	8
1.1.4	BIBLIOGRAFIA	12
1.2	SINTESI DI NANOPARTICELLE D'ORO STABILIZZATE DA UN MONOSTRATO ORGANICO	13
1.2.1	PRINCIPALI STRATEGIE BIFASICHE	13
1.2.2	PRINCIPALI STRATEGIE MONOFASICHE	17
1.2.3	METODICHE PER L'OTTIMIZZAZIONE DEL CONTROLLO DIMENSIONALE DEL CAMPIONE	18
1.3	ORGANIZZAZIONE DEL MONOSTRATO ORGANICO AUTOASSEMBLATO	21
1.3.1	CONSIDERAZIONI GENERALI SULL'IMPACCAMENTO DEL SAM	21
1.3.2	STRATEGIE DI AUTO SEGREGAZIONE DEL SAM IN MONOSTRATI MISTI	23
1.3.3	SEGREGAZIONE OTTENUTA CON TECNICHE DI SINTESI ASIMMETRICA	27
1.3.4	BIBLIOGRAFIA	32
1.4	REAZIONI DI SCAMBIO SU MONOSTRATI AUTO ASSEMBLATI	33
1.4.1	PROPRIETA' DEI PROCESSI DI SCAMBIO SU NANOPARTICELLE D'ORO	33
1.4.2	EVIDENZE A SUPPORTO DI MECCANISMI ASSOCIATIVI E DISSOCIATIVI	34
1.4.3	MODELLI CINETICI PER L'INDAGINE DEI PROCESSI DI SOSTITUZIONE	37
1.4.4	BIBLIOGRAFIA	40
2	SCOPO DEL PROGETTO	41
3	RISULTATI E DISCUSSIONE	43
3.1.	STUDIO DI FENOMENI SEGREGATIVI IN SAM A COMPOSIZIONE MISTA CON L'UTILIZZO DI DERIVATI TIOLICI FOTOESPONIBILI	43
3.1.1	PROPRIETA' OTTICHE DEL CROMOFORO AZOBENZENICO	43

Indice

3.1.2	SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI NANOPARTICELLE STABILIZZATE DA UN DERIVATO DELL'AZOBENZENE IN MONOSTRATI UNITARI E MISTI	45
3.1.3	PROPRIETA' SPETTROSCOPICHE DEL PIRENE	54
3.1.4	SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI NANOPARTICELLE STABILIZZATE DAI DERIVATI PIRENILICI PYR2 E PYR3 IN MONOSTRATI UNITARI E MISTI	57
3.1.5	CONCLUSIONI	69
3.1.6	PARTE SPERIMENTALE	70
3.1.7	BIBLIOGRAFIA	76
3.2.	INVESTIGAZIONE/INDAGINE SULLA PROPRIETA' DI SAMs CON L'UTILIZZO DI SONDE FLUORESCENTI	77
3.2.1.	LA PROBLEMATICHE DEI PROCESSI DI SORTING NELLA PROCEDURA SINTETICA PENG –SCRIMIN	77
3.2.2.	SVILUPPO DI UN MODELLO CINETICO PER L'ANALISI DEI PROCESSI DI CHEMISORBIMENTO DI TIOLI SU AuNPs DEBOLMENTE STABILIZZATE DA DIOTTILAMMINA	80
3.2.3.	INDAGINE SUI MECCANISMI DI SELF-ASSEMBLY DEL SAM NELLA VARIANTE SINTETICA PENG SCRIMIN	87
3.2.4.	INDAGINE SULLE PROPRIETA' DI SELF ASSEMBLED MONOLAYERS A COMPOSIZIONE UNITARIA	91
3.2.5.	CONCLUSIONI	98
3.2.6.	PARTE SPERIMENTALE	100
3.2.7.	BIBLIOGRAFIA	102
3.3.	STUDIO DELLA COMPLESSAZIONE AuNPs-SWCNs IN NANOIBRIDII IDROSOLUBILI	103
3.3.1.	CARATTERISTICHE DEI NANOIBRIDII AuNP-SWCNs	103
3.3.2.	SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI AuNPs IDROSOLUBILI A MONOSTRATO MISTO P1-ZW	106
3.3.3.	LA COSTANTE DI QUENCHING DI STERN-VOLMER NELL'ANALISI DELL'INTERAZIONE AuNPs-SWCNs	111
3.3.4.	PREPARAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DEI NANOIBRIDII AuNP-SWCNs	114
3.3.5.	CONCLUSIONI	119
3.3.6.	PARTE SPERIMENTALE	120
3.3.7.	BIBLIOGRAFIA	125

Abbreviazioni

2D-	Bi-dimensionale
3D-	Tri-dimensionale
A	Assorbanza
AFM	Atomic force microscopy
Au	Oro
AuNPs	Nanoparticelle d'oro
C12	Dodecantiolo
DOA	Diottilammina
DFT	Density Functional Theory
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamide
DMSO	Dimethylsulfoxyde
DSC	Differential scanning calorimetry
Et ₃ SiH	Trietil silano
ESR	Electron spin resonance
EtOH	Etanolo
H	Ore
HAuCl ₄	Acido Tetracloroaurico
Hz	Hertz
<i>i</i> -PrOH	<i>i</i> -propanolp
IR	Infrared
K	grado Kelvin
Kcal	kilocaloria
K _{eq}	Costante di Equilibrio
KSAc	Potassium thioacetate
LEED	Low Energy Electron Diffraction
m	Multipletto
M	Molare
MeOH	Metanolo
min	Minuti
MPA	Mercapto propionic acid
MS	Mass spectroscopy
MW	Molecular weight
NaBH ₄	Sodio Boroidruro

Abbreviazioni

nm	Nanometro
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
OT	Ottiliolo
p-MBA	para- Mercapto Benzoic Acid
PEG	Polyethylene glycol
ppm	Parts per million
q	Quartetto
r.t.	Room temperature
RSH	Monotiolo
RSR	Tioetere
RSSR	Disolfuro
s	Singoletto
sec	Secondo
S	Zolfo
SiO ₂	Biossido di silicio
SPB	Surface plasmon band
SPR	Surface Plasmon Resonance
STM	Scanning tunnelling microscopy
T	Temperatura
t	Tripletto
TEM	Transmission electron microscopy
TGA	Thermogravimetric analysis
THF	Tetrahydrofurano
TLC	Thin layer chromatography
TOABr	Tetraottilammonio bromuro
UV-Vis	Ultravioletto-visibile
V	Volume
W	Watt
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy
Θ	Frazione di ricoprimento
δ	Chemical shift
ΔG	Field separation
ε	Coefficiente di assorbanza
λ	Wavelength

1. INTRODUZIONE

1.1 DESCRIZIONE GENERALE DELLA STRUTTURA E PROPRIETA' DI AuNPs

Le nanoparticelle d'oro (AuNPs) possono essere viste come materiali ibridi organici-inorganici di dimensioni nanometriche, nei quali un nucleo inorganico d'oro metallico viene stabilizzato da un guscio esterno di molecole organiche adsorbite sulla superficie. Generalmente questo monostrato è costituito da tioli, data la peculiare stabilità del legame Au-S, ma altri gruppi funzionali (ammine, fosfine, acidi carbossilici) sono utilizzati. Questi nanooggetti, il cui range dimensionale si assesta tra quello molecolare e dei materiale massivi o "bulk" (ovvero tra 1 e 100 nm), presentano peculiari caratteristiche chimico-fisiche, dettate da una molteplicità di fattori quali l'elevata area superficiale, la disponibilità di nuvole elettroniche debolmente interagenti con i nuclei degli atomi e la possibilità di rivelare effetti di confinamento quantico. Tali proprietà vengono a loro volta modulate dalla natura, grandezza e forma del nucleo metallico e dal tipo di interazione tra superficie e adsorbati. Altre proprietà, di diversa natura, vengono determinate dalla natura chimica del monostrato, che determina in primo luogo la solubilità e la stabilità della particella, e più in generale è responsabile dei rapporti del nanooggetto con l'intorno. La robustezza dei metodi sintetici e il fine controllo delle proprietà chimico-fisiche delle AuNPs costituiscono i principali motivi del loro potenziale utilizzo in svariati campi scientifici, che spaziano dalla chimica alla nanomedicina.

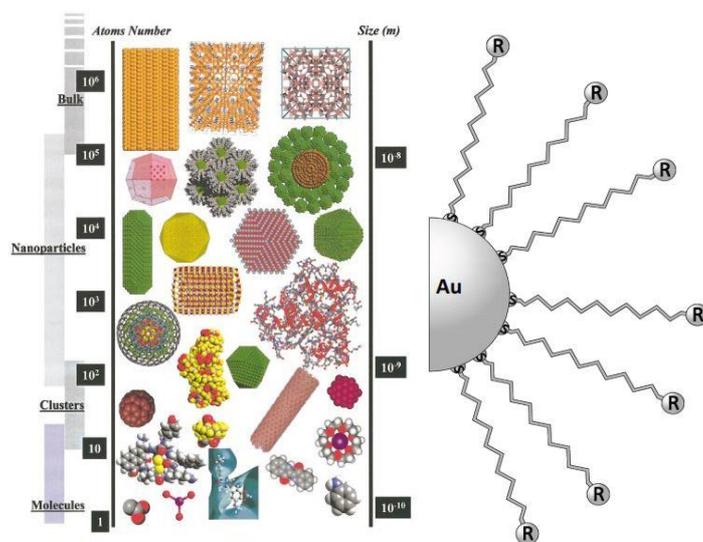


Fig. 1: diagramma del range dimensionale (sinistra) e forma semplificata (destra) di nanoparticelle d'oro

Introduzione

Più in dettaglio, caratteristica dei colloidi dell'oro è l'assorbimento della radiazione elettromagnetica nella regione dei 520 nm, cioè la cosiddetta Surface Plasmon Resonance (SPR), causa dell'ampia gamma cromatica delle sospensioni dell'oro colloidale. La natura della banda plasmonica venne per la prima volta razionalizzata da Mie nel 1908, che la attribuì all'oscillazione dipolare degli elettroni liberi nella banda di conduzione che occupano gli stati energetici sopra al livello di Fermi¹. La banda di assorbimento plasmonico è sensibile alla costante dielettrica del solvente² (uno shift di 8 nm del picco di assorbimento della banda plasmonica al variare della costante dielettrica da 1.33 a 1.55 è stato dimostrato per AuNPs passivate da dodecantiolato), alla forma del cluster (la relazione dipende, nel caso di nanorods, dal valore di aspect ratio) e alla temperatura. Peraltro, dato che queste variazioni delle proprietà ottiche vengono indotte anche da fenomeni aggregativi, è stato dimostrato come esse possano essere sfruttate per la messa a punto di saggi colorimetrici³.

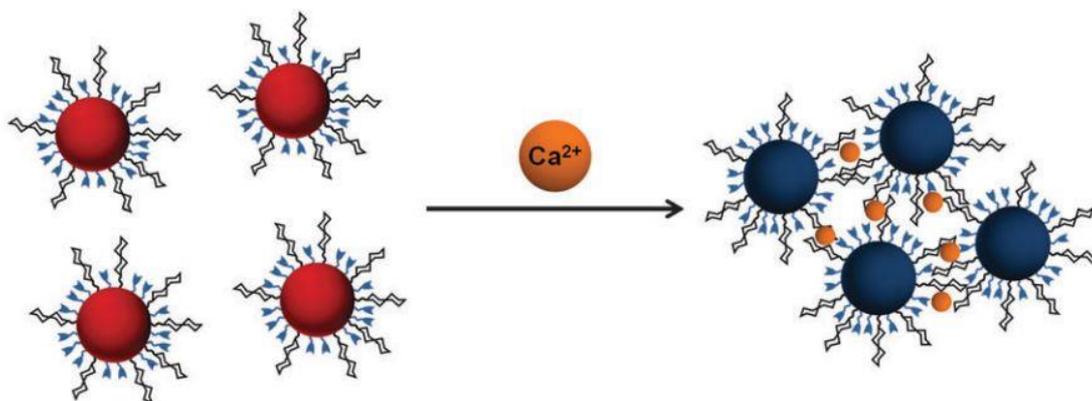


Fig. 2: aggregazione di AuNPs stabilizzate da una miscela di 1-thiohexyl carboxylic acid e 1-thiohexyl β -D-lactopyranoside in rapporto 2:1 in presenza del catione Ca^{2+}

La progressiva riduzione delle dimensioni dell'aggregato metallico comporta l'insorgenza di effetti di confinamento quantico (Quantum Size Effects); quando queste approssimano la lunghezza d'onda di De Broglie degli elettroni di conduzione (~ 1 nm di diametro), la quasicontinuità delle bande elettroniche del materiale massivo viene a discretizzarsi a tal punto che si vengono a perdere una serie di proprietà tipiche del materiale massivo e di nanocristalli di dimensioni maggiori (da 5 a 100 nm), come appunto la SPR⁴. Il nanocluster inizia a comportarsi in sostanza come un "quantum dot" e a sottostare alle regole della quanto-meccanica⁵. La differenza di energia Δ tra i livelli energetici (gap HOMO/LUMO) non è infatti costante ma è data da:

$$\Delta = 4E_F/3N$$

Introduzione

dove N è il numero di elettroni di conduzione e E_F è l'energia di Fermi⁶. Questa relazione implica che, assumendo la forma delle particelle come sferica, il valore di Ψ aumenta al diminuire del diametro, e quindi della dimensione, con dipendenza cubica

$$\Psi \sim 1/V \sim 1/d^3$$

L'insorgenza di Quantum Size Effects si ha quando $\Psi \gg k_B T$, il che significa che a T ambiente per l'oro (0.025 eV) la relazione è soddisfatta per cluster composti da un numero inferiore a circa 400 atomi, ovvero per particelle di diametro minore di 2 nm circa⁷.

La progressiva riduzione delle dimensioni implica anche la transizione da stato cristallino a cluster e fa sorgere una serie di interrogativi riguardanti il packing degli atomi di Au in AuNPs di piccole dimensioni, in cui vi è un grande numero di atomi all'interfaccia e un'elevata energia di superficie. Se si assume il nucleo metallico come sferico, una nanoparticella di 1.3 nm di diametro presenta l'88% dei suoi atomi sulla superficie, una di 2 nm il 58% e una di 5 nm il 23%. L'alto grado di insaturazione di questi atomi fa sì che essi presentino una grande reattività verso gruppi funzionali elettronricchi come quello sulfidrilico, amminico e fosfinico, il cui adsorbimento sulla superficie aurea potrebbe influire pesantemente sulla morfologia dell'interfaccia.

1.1.1 MORFOLOGIA E PACKING DEL NUCLEO METALLICO

L'analisi della morfologia del nucleo metallico viene principalmente condotta attraverso HR-TEM (High Resolution Transmission Electron Microscopy) ed ha permesso di verificare, congiuntamente a calcoli teorici, che la forma ottimale dei nuclei metallici nel range 1-5 nm è quella del cubottaedro troncato⁸. Oltre al cubottaedro troncato (otto facce 111 troncate da sei facce più piccole 100) vi possono comunque essere configurazioni alternative, tra le quali vale la pena citare il cubottaedro semplice, l'icosaedro e il decaedro regolare e di Marks, che sono tra le più stabili e regolarmente osservate in un range dimensionale tra 1 e 100 nm. Il graduale aumento delle dimensioni sembra privilegiare strutture decaedriche, e in particolare il decaedro di Marks, rispetto a quella icosaedrica e quelle fcc (fig.3).

Nonostante in un campione ci si aspetti di riscontrare una distribuzione quasi statistica delle morfologie (vi sono svariati minimi energetici ad energia comparabile delle interazioni di legame), l'affinamento della sintesi Brust Schiffrin ha permesso di identificare alcuni nanoclusters nel range 1-3 nm aventi stabilità particolarmente elevata, usualmente denominati "magic numbers", verso i quali il campione neosintetizzato tenderebbe spontaneamente a evolvere. Tra questi si ricordano

Introduzione

Au₂₅SR₁₈, Au₃₈SR₂₄ e Au₁₀₂SR₄₄, dato che ne è stata attuata con successo la cristallizzazione e determinato l'impaccamento atomico tramite cristallografia a raggi X³¹.

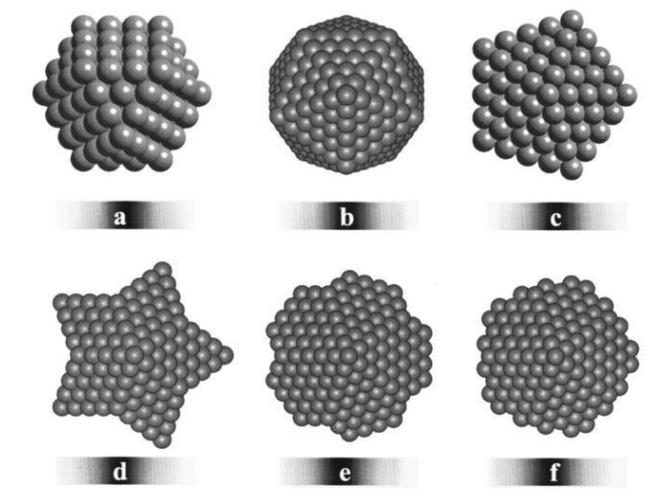


Fig. 3: principali morfologie di AuNPs osservabili su scala nanometrica, corrispondenti a: fcc cubottaedro (a), icosaedro (b), decaedro regolare (c), decaedro a stella (d), decaedro di Marks (e) e decaedro circolare (f)

Inoltre la forma non è necessariamente costante, e può essere sufficiente una minima eccitazione a determinare una transizione morfologica, dato che esistono svariati minimi energetici locali nelle interazioni di legame che si instaurano tra gli atomi del nucleo metallico. Transizioni di fase con una frequenza di 10 Hz sono state riportate ad esempio per AuNPs di 2 nm poste su supporto inerte (carbonio) o cristallino (SiO₂ o Al₂O₃) e irradiate con elettroni^{9,10}. Due linee di pensiero sono correntemente al vaglio per tentare di razionalizzare questi comportamenti; la prima prevede una fusione del nanocristallo seguita da successivo riarrangiamento, in cui l'energia richiesta viene fornita dallo scattering inelastico degli elettroni del raggio incidente, mentre la seconda teorizza che le varie configurazioni abbiano energie non molto diverse e che possano interconvertirsi in processi definiti di “quasimelting”, in cui il nucleo metallico può essere quasi assimilato a un fluido^{11,12}. Considerare la morfologia del nucleo come un qualcosa di statico e immutabile costituirebbe quindi un approccio grossolano e fuorviante.

Il principio cardine che governa l'arrangiamento atomico nei nanoclusters è la minimizzazione della tensione interfacciale, operata tramite processi di sfaccettamento (ovvero aumento del numero delle facce): a 0 K, non considerando quindi l'energia termica, l'energia totale di una nanoparticella costituita dal solo nucleo metallico è data da:

Introduzione

$$E_T(N) = E_B(N) + E_\sigma(N) + E_\gamma S$$

dove N indica il numero di atomi d'oro, E_B è l'energia degli atomi allo stato massivo, E_σ è l'energia di deformazione per atomo, E_γ è l'energia di superficie media per unità di area e S è la superficie del cluster¹³. Lo sfaccettamento comporta una riduzione dell'area di superficie e quindi del termine $E_\gamma S$, e di conseguenza la forma ottimale sarà quella che coniuga un aumento del numero delle facce con una forma il più possibile sferica.

E' importante sottolineare che tutto ciò non tiene conto dell'eventuale presenza di una componente organica, che introduce un termine energetico aggiuntivo dato dall'interazione della superficie con gli adsorbati. In generale si può comunque affermare che la componente organica tende solamente a diminuire il termine E_γ e quindi a stabilizzare la forma e la struttura cristallina del cluster, senza influenzarne significativamente l'impaccamento.

1.1.2. ANALISI DI STRUTTURE CRISTALLOGRAFICHE

Molte di queste considerazioni teoriche sono state messe in discussione da un'importante evidenza sperimentale della conformazione di una nanoparticella d'oro derivante dal lavoro di Kornberg e co. del 2007, in cui si riportava la cristallizzazione di un campione di AuNPs di diametro medio 1.4 nm stabilizzate da acido p-mercaptobenzoico e la risoluzione della struttura ai raggi X¹⁴. Queste AuNPs si rivelano essere composte di 102 atomi d'oro e 44 molecole di acido p-mercaptobenzoico: la struttura del nucleo ha una conformazione a decaedro di Marks, composto in questo caso da 49 atomi d'oro, ricoperto ai due poli da due strutture aventi simmetria C_5 composte da 20 atomi d'oro ciascuna, e da una banda equatoriale formata da 13 atomi senza alcuna apparente simmetria, che impartiscono chiralità al nanoggetto (fig.4).

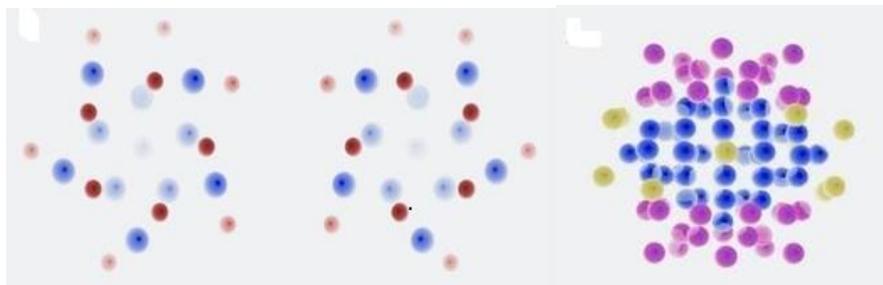


Fig. 4: determinazione della struttura di $Au_{102}(p-MBA)_{44}$ tramite cristallografia raggi-X. Visuale delle due AuNPs enantiomeriche lungo l'asse di simmetria (sinistra, atomi di oro in blu e di zolfo in rosso) e packing degli atomi d'oro (destra, decaedro di Marks (blu) con calotte ai poli (rosa) e fascia equatoriale (giallo))

Introduzione

L'interazione della superficie con le molecole organiche stabilizzanti si è riscontrata essere essenzialmente di due tipi, ovvero a "graffetta" (del tipo Au-S-Au), oppure nella modalità inversa (S-Au-S, riscontrabile nella parte più esterna del nucleo). Nello strato atomico sottostante il legame Au-S sembra invece essere biunivoco. La distanza Au-S è stata misurata nell'ordine di 0.22-0.26 nm, mentre gli angoli Au-S-Au e C-S-Au di $80^\circ/115^\circ$ e $155^\circ/175^\circ$ rispettivamente. E' stata inoltre calcolato un valore di ricoprimento della superficie pari a 0.7, molto più alto del valore di 0.25 riscontrabile nel caso di superfici piane di Au(111) ricoperte dallo stesso p-MBA.

La visione che emerge da questo lavoro è quindi diversa da quanto ipotizzato in precedenza. Solo una parte degli atomi di Au formano un vero e proprio nanocristallo con struttura poliedrica. La parte più superficiale del nucleo metallico è invece "riorganizzata" dall'interazione con gli atomi di zolfo dei tioli fino al punto che alcuni atomi ("adatom") sono letteralmente "estratti" dal nucleo per formare le strutture a graffetta.

Per quanto riguarda l'organizzazione della parte organica, sono state riscontrate interazioni π - π tra gli anelli fenilici (π -stacking), interazioni H-fenile (T-stacking) e addirittura interazioni S- π fenile. Quasi tutti gli atomi di S sono inoltre coinvolti in interazioni a coppia ionica con anelli fenilici.

Successivamente, Murray e co. hanno risolto la struttura cristallografica di $\text{Au}_{25}(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{Ph})_{18}$ e del complesso $[\text{TOA}^+][\text{Au}_{25}(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{Ph})_{18}]^{15,16}$, che ha confermato le indicazioni provenienti dal lavoro di Kronberg. In questo caso si individuano addirittura tre tipologie di atomi di Au: un atomo centrale, il cui numero di coordinazione è 12; i 12 atomi di Au che coordinano con quello centrale (formando i vertici di un icosaedro) il cui numero di coordinazione è 6 (5 atomi di Au e un atomo di S); altri 12 atomi di Au disposti a raggiera su 12 delle 20 facce individuate dall'icosaedro, che formano 6 semianelli ortogonali ($-\text{Au}_2(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{Ph})_3-$) rispetto allo stesso (fig.5).

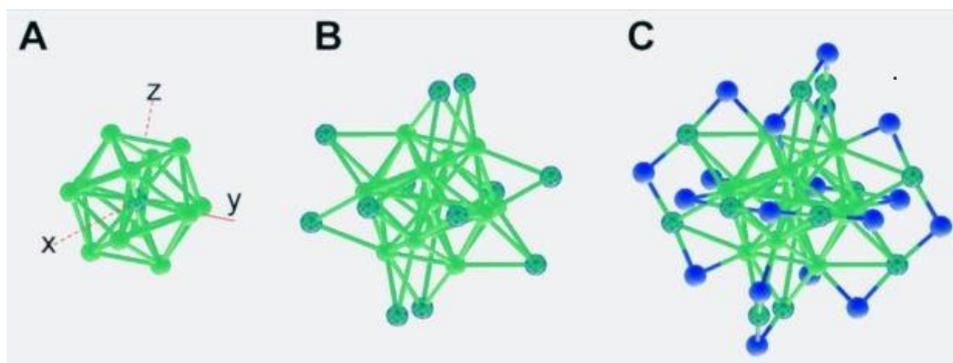


Fig. 5: struttura cristallina del cluster $\text{Au}_{25}\text{SR}_{18}$: nucleo icosaedrico (A), nucleo icosaedrico contornato dai 12 atomi di Au esterni (B) e struttura del nanocluster integrata con gli atomi di S di fenilettiltiolo

Introduzione

Anche in questo caso si individuano due tipologie di atomi di S, quelli costituenti un “ponte”(6) tra due atomi di Au costituenti la struttura a raggiera che circonda l’icosaedro centrale, con angolo di legame Au-S-Au di 101.2° , e quelli (12) legati a un atomo di Au della struttura a raggiera e a uno dell’icosaedro, con angolo di legame Au-S-Au di 86.7° . In questa struttura cristallografica i tiolati sono distribuiti simmetricamente, esplicando la loro massima potenzialità stabilizzante.

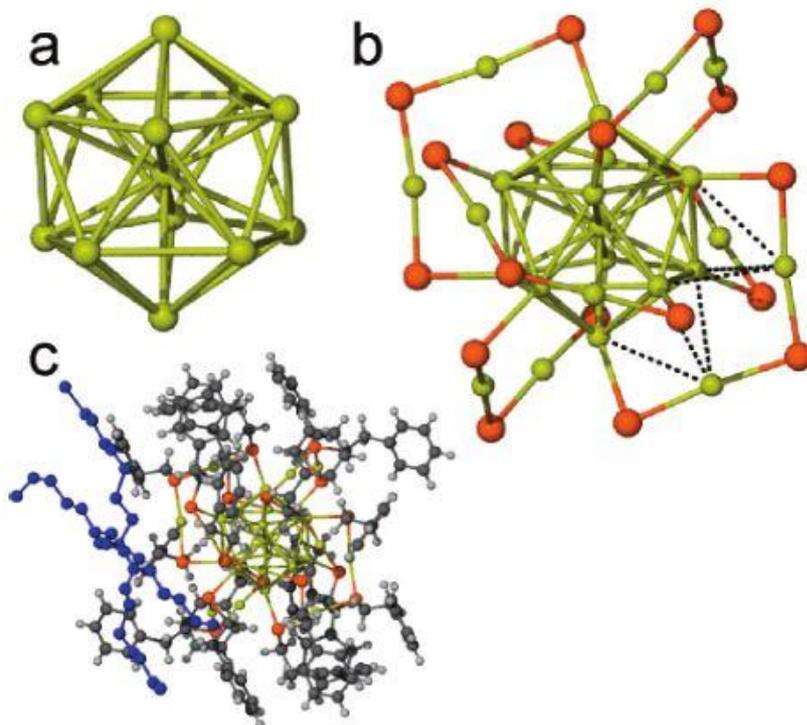


Fig. 6: arrangiamento del nucleo di Au₁₃ con i 12 atomi costituenti i vertici dell’icosaedro circondanti l’atomo centrale (a); atomi di oro e zolfo delle sei strutture a “ponte” ortogonali all’icosaedro centrale (b); struttura del complesso [TOA+][Au₂₅(SCH₂CH₂Ph)₁₈-] comprensiva di tiolati e catione TOA⁺ (blu) (c)

Il modo in cui gli atomi di S instaurano dei legami a “graffetta” tra gli atomi di oro costituisce una evidente analogia nei due esempi riportati; tuttavia nel caso di Au₂₅(SR)₁₈ si viene a costituire un sistema esteso, in cui tre atomi di S e due di Au si arrangiano in una conformazione a V. Questa struttura si collega poi all’icosaedro centrale tramite legami Au-S e Au-Au, il che differisce dalla configurazione di Au₁₀₂(SR)₄₄, in cui le configurazioni a “graffetta” si collegano direttamente con gli atomi del guscio sottostante. Sorprende inoltre che un cluster di così piccole dimensioni arrangi in una struttura così altamente simmetrica, che viola peraltro la cosiddetta teoria dei “cluster di cluster”, la quale sostiene che aggregati metallici di dimensioni nanometriche autoassemblano formando strutture complesse ma scomponibili in unità icosaedriche aventi i vertici in comune¹⁷.

1.1.3. APPROFONDIMENTO SULL'INTERAZIONE DI SUPERFICIE ORO-ZOLFO

La chimica dell'interazione zolfo-metallo è, allo stato dell'arte attuale, uno dei temi più discussi e controversi nel campo delle nanotecnologie. Viene ormai dato per assodato che sia la forma tiolata del gruppo sulfidrilico a formare con la superficie aurea l'interazione covalente, sottoforma di radical tiile. Tuttavia anche la forma protonata sarebbe in grado di instaurare una interazione debole con la superficie aurea attraverso gli elettroni di non legame dello zolfo.

Misure XPS effettuate su nanoparticelle stabilizzate da citrati e successivamente esposte a H₂S o Na₂S mostrano tre componenti 2p dello zolfo distinte (solfuro, polisolfuro e zolfo elementare), mentre il segnale Au 4f non mostra evidenze di specie ossidate²⁹. E' importante sottolineare come l'interazione Au-S (40-50 kcal/mol) sia di forza assolutamente comparabile a quella Au-Au, il che conferma le evidenze precedentemente citate, ovvero che all'interfaccia nucleo-mostrato l'evento di legame possa causare importanti variazioni di morfologia e impaccamento.

Per razionalizzare il tipo di interazione che si instaura all'interfaccia tra nucleo metallico e molecole organiche in un nanocluster, è conveniente anzitutto analizzare quello che avviene sulle analoghe superfici bidimensionali. I 2D-SAM composti da tiolati su Au vengono solitamente ottenuti tramite chemisorbimento di monotioli (RSH), tioeteri (RSR) o disolfuri (RSSR) su Au(100) o Au(111) in fase gassosa o in soluzione. L'indagine della morfologia viene condotta tramite svariate tecniche, tra le quali spiccano STM (Scanning Tunneling Microscopy), LEED (Low Energy Electron Diffraction), tecniche di spettroscopia ai raggi X sensibili alla superficie (GIXRD), cristallografia ai raggi X e investigazioni computazionali tramite DFT.

Nel processo di adsorbimento di tioli su Au(111) si può individuare una fase iniziale che implica probabilmente una disposizione degli adsorbati parallela a quella del substrato; progressivamente l'aumento della densità superficiale comporta un riarrangiamento nella disposizione delle molecole sulla superficie metallica. La configurazione finale che si realizza è una coesistenza di domini ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$)-R30° e c(4 X 2) che hanno entrambi una frazione di ricoprimento $\theta = 0.33$ e una distanza media tra tioli approssimabile a 0.5 nm^{18,19}. Questo processo sembra essere valido sia per tioli aromatici che alifatici^{20,21}, ma si osserva solamente in fase gassosa, mentre invece nella sintesi in soluzione i tioli sembrano disporsi direttamente nella configurazione inclinata. E' tuttavia possibile indurre artificialmente la prima fase tramite un desorbimento a temperatura controllata sul SAM²⁴. Le catene alchiliche degli adsorbati contribuiscono poi alla stabilizzazione del sistema con forze intermolecolari, nell'ordine di 6 kcal/mol per esantiolo e 12 kcal/mole per benziltiolo in una matrice ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$)-R30°. Misure STM hanno registrato come un aumento della frazione di ricoprimento causi

Introduzione

la formazione di fasi di transizione composte da unità tetrameriche di tiolati, e la coesistenza della fase iniziale (“striped”), con (3×4) e $(3 \times 4\sqrt{3})$ ad alte frazioni di ricoprimento^{27,28}.

Anche il substrato subisce processi di riarrangiamento atomico dettati dalla formazione dei nuovi legami, che portano alla formazione di vacanze e protuberanze di rilevanza monoatomica.

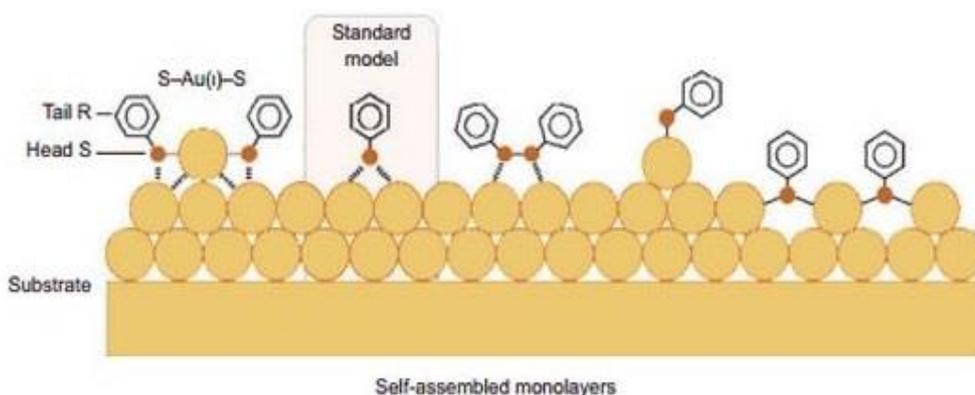


Fig. 7: varie modalità di interazione Au-S. Il modello standard in cui un atomo di zolfo si posiziona al di sopra della superficie di Au (111) è stato integrato con altre modalità quali (da destra verso sinistra): interazione tra disolfuri e superficie, interazioni singole tra un tiolato e un adatomo di Au e la formazione di un polimero tra tiolati e adatomi

Per ciò che riguarda le modalità di interazione Au-S, recenti studi effettuati su superfici bidimensionali stabilizzate da metil e feniltiolati a bassa frazione di ricoprimento hanno permesso di confermare la formazione di complessi RS-Au-SR “a graffetta”, in cui i due legami Au-S si sviluppano parallelamente al piano superficiale^{25,28}. L’atomo di Au si viene a trovarsi tra due atomi metallici dello strato sottostante, mentre l’atomo di zolfo, che si può concepire come ibridizzato sp^3 , stabilisce un’interazione covalente con il gruppo R e con i due atomi di oro non equivalenti (l’orbitale rimanente viene occupato da elettroni di non legame). Questa configurazione fa peraltro dello zolfo un centro chirale, cui può essere assegnata conformazione R e S a seconda dell’orientazione della catena alchilica. Ciascuna graffetta può quindi assumere 4 differenti conformazioni diastereomeriche. Non è stato ancora chiarito come avvenga il passaggio tra le configurazioni, ma si può presumere che concorrano la facilità nell’isomerizzazione cis-trans dei tiolati, la mobilità, le interazioni steriche e la conversione verso altre modalità di legame con gli atomi d’oro (fig.8).

Introduzione

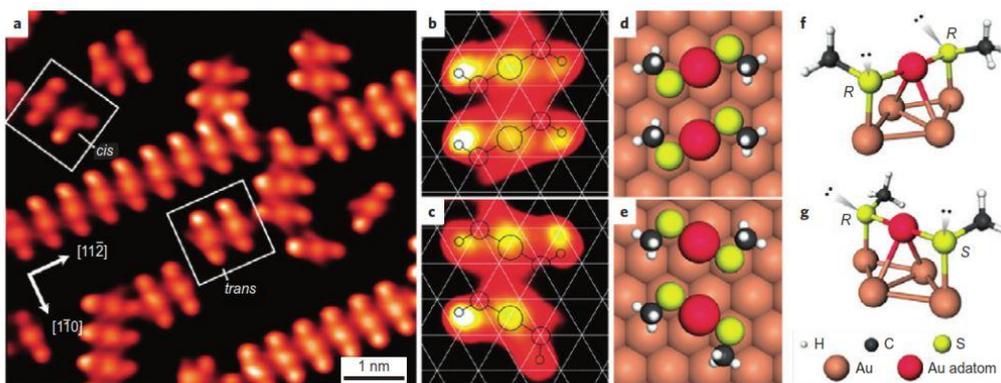


Fig. 8: immagine STM e razionalizzazione atomistica delle modalità di legame di metiltiolato su Au (111) in fase a strisce a basso indice di ricoprimento. La differenza nelle modalità di interazione rende l'atomo di S un centro chirale

La situazione per AuNPs presenta sostanziali differenze rispetto a quella considerata per superfici bidimensionali: anche per nanoparticelle, la presenza del legame Au-tiolato è stata confermata con misure XPS²³. Tuttavia, come già indicato, sembra che la diminuzione delle dimensioni del nucleo metallico permetta di raggiungere livelli di ricoprimento maggiori del valore $\theta = 0.33$ caratteristico dei 2D-SAM. L'alto raggio di curvatura comporta infatti una maggior presenza di imperfezioni superficiali rispetto ai monostrati bidimensionali, le quali sono punti di maggior stabilizzazione per l'instaurarsi di legami Au-S. Vari tentativi sono stati fatti nel tentare l'individuazione dei siti di adsorbimento dei tioli in fasi $(\sqrt{3} \times \sqrt{3})\text{-R}30^\circ$ e $c(4 \times 2)$ su nanoparticelle, ma l'eventuale ricostruzione della superficie del nanocluster determinata dalla forza del legame Au-S è un fattore molto difficile da razionalizzare.

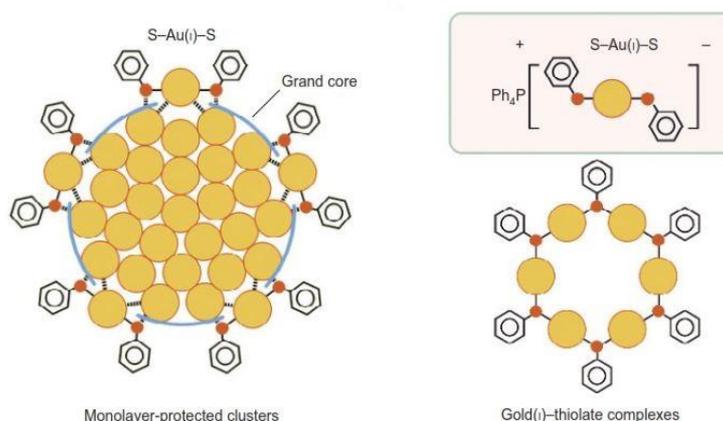


Fig. 9: modalità di interazione Au-S in AuNPs: è presumibile che, oltre a biunivoche interazioni tra S e adatomi di Au si possa creare un guscio polimerico esterno di struttura S-Au(I)-S stabilizzante il nucleo metallico interno

Introduzione

La risoluzione di strutture cristallografiche ha ad ogni modo permesso di appurare, come visto nel paragrafo precedente, che per i nanocluster d'oro vige la presenza di un "nucleo" metallico interno stabilizzato in superficie da complessi RS-Au(I)-SR. La razionalizzazione di queste peculiarità strutturali è indispensabile per la comprensione di processi di superficie come le reazioni di scambio, che rappresentano ancora uno dei principali modi per introdurre funzionalità chimiche nel monostrato, o la le proprietà catalitiche.

1.1.4. BIBLIOGRAFIA

1. Mie, G.; *Ann. Phys.* **1908**, *25*, 377.
2. Templeton, A. C., Pietron, J. J., Murray, R. W., Mulvaney, P.; *J. Phys. Chem. B.*, **2000**, *104*, 564-570.
3. Daniel, M. C., Astruc, D.; *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 293-396.
4. Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., Schatz, G. C.; *J. Phys. Chem. B*, **2003**, *107*, 668.
5. Schmid, G.; *Chem. Rev.*, **1992**, *92*, 1709.
6. Yacama, M., Ascencio, J.A., Liu H.B.; *J. Vac. Sci. Tech. B*, **2001**, *19*, 1091-1103.
7. Schaaff, M. N., Shafiqullin, J. T., Khoury, I., Vezmar, R. L., Whetten, W. G., Cullen; *J. Phys. Chem. B*, **1997**, *101*, 7885-7891.
8. Whetten, R. L., Khoury, J. T., Alvarez, M. M., Murthy, S., Vezmar, I., Wang, Z. L., Stephen, P. W., Cleveland, C. L., Luedtke, W. D., Landman, U.; *Adv. Math.*, **1996**, *8*, 428 -433.
9. Ijima, S., Ichihashi, H.; *Phys. Rev. Lett.*, **1986**, *56*, 616.
10. Bovin, J. O., Wallembert, R. L., Smith, D.; *Nature*, **1985**, *317*, 47.
11. Marks, L. D.; *Rep. Prog. Phys.*, **1994**, *57*, 603.
12. Dundurs, J., Marks, L. D., Ajayan, P. M.; *Mag. A*, **1988**, *57*, 605.
13. Cleveland, C., Landman, U.; *J. Chem. Phys.*, **1991**, *94*, 7379.
14. Jadzinsky, P. D., Calero, G., Ackerson, C. J., Bushnell, D. A., Kornberg, R. D.; *Science*, **2007**, *318*, 430-433.
15. Heaven, M.W., Dass, A., White, P.S., Holt, K. M., Murray, R. W.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 3754-3755
16. Zhu, M.; Aikens, C.M.; Hollander, F. J.; Schatz, G. C.; Jin, R.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 5883-5885
17. Teo, B. K., Zhang, H., *Coord. Chem. Rev.*, **1995**, *143*, 611.
18. Zhang, H., Teo, B. K.; *Inorganica Chimica Acta*, **1997**, *265*, 213-224.
19. Vericat, C., Vela, M. E., Salvarezza, R. C., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2005**, *7*, 3258-3268.
20. Vericat, C., Vela, M. E., Benitez, G., Carro, P., Salvarezza, R. C.; *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 1805-1834.
21. Yang, G., Liu, G.-Y.; *J. Phys. Chem. B.*, **2003**, *107*, 8746-8759.
22. Urcuyo, R., Cortes, E., Rubert, A. A., Benitez, G., Montero, M. L., Tognalli, N. G., Fainstein, A., Vela, M. E.; Salvarezza, R. C., *J. Phys. Chem. C.*, **2011**, *115*, 24707-24717
23. Jin, Q.; Rodriguez, J. A.; Li, C. Z.; Darici, Y.; Tao, N. J., *Surf. Sci.*, **1999**, *425*, 101-111.
24. Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M.; *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 1103-1170.
25. Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C.; *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 1805-1834.
26. Maksymovych, P., Sorescu, D. C., Yates, J. T.; *Phys. Rev. Lett.*, **2006**, *97*, 146103.
27. Maksymovych, P., Yates, J. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 7518-7519.
28. Voznyy, O., Dubowski, J. J.; *Langmuir*, **2009**, *25*, 7353-7358.
29. Voznyy, O., Dubowski, J. J., Yates, J. T., Maksymovych, P.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 12989-12993.
30. Pensa, E., Cortes, E., Corthey, G., Carro, P., Vericat, C., Fonticelli, M., Benitez, G., Rubert, A., Salvarezza, C.R.; *Acc. Chem Res.*, **2012**, *45*, 8, 114, 1192.
31. Chaki, N. K., Negishi, Y., Tsunoyama, H., Shichibu, Y. & Tsukuda, T.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 8608-8610

1.2. SINTESI DI NANOPARTICELLE D'ORO STABILIZZATE DA MONOLAYER ORGANICI

La preparazione del primo campione di oro colloidale, tralasciando le testimonianze dell'uso di soluzioni colloidali dell'oro in medicina e manifattura in diverse epoche storiche, venne originariamente riportata da Faraday, che descrisse nel 1857 la riduzione di una soluzione acquosa di HAuCl_4 con fosforo disciolto in C_2S , ottenendo una dispersione di intenso color rosso¹. Nel 1951 venne descritta da Turkevitch una sintesi alternativa di nanocolloidi d'oro di dimensione compreso tra 10-20 nm, ottenuti attraverso la riduzione a caldo in fase acquosa di HAuCl_4 con l'ausilio di citrati². Un maggior livello di controllo di questa metodica venne raggiunto da Frens e co. nel 1973, razionalizzando il rapporto trisodio citrato/oro per ottenere nanocluster compresi tra 16 e 147 nm¹¹⁻¹². Allo stato dell'arte attuale sono stati attuati con successo molteplici approcci, che vengono qui classificati in monofasici (un'unica fase in cui vengono disciolti il sale d'oro e il riducente) o bifasici.

1.2.1. PRINCIPALI STRATEGIE BIFASICHE

Il lavoro che viene preso come riferimento allo stato dell'arte attuale per la sintesi di AuNPs venne pubblicato nel 1994 da Brust e Schiffrin³, anche se una prima pubblicazione sulla stabilizzazione di AuNPs tramite alchiltioli era apparsa nel 1993 ad opera di Mulvaney e Giersig¹⁵. La metodica Brust e Schiffrin deve la sua popolarità al fatto che coniuga un'elevata robustezza alla possibilità di ottenere cluster di dimensioni controllate a ridotta polidispersività (in un range compreso tra i 1.5 e i 5.2 nm). Rispetto alla sintesi con citrati infatti, la presenza di uno stabilizzante in grado di interagire fortemente con la superficie e di proteggere stericamente il nanocristallo impedisce fenomeni di coalescenza e flocculazione.

La metodica Brust e Schiffrin è normalmente intesa come una sintesi bifasica (anche se può essere attuata in regime monofasico) in quanto prevede la coesistenza di una fase acquosa, in cui viene sciolto il riducente, e una fase organica, che contiene il sale aurico ed il tiolo. Più in dettaglio, essa prevede la riduzione del sale (AuCl_4^-), solubilizzato nella fase organica (solitamente toluene) con l'ausilio di tetraottilammonio bromuro, da parte di NaBH_4 disciolto in acqua. Il trasferitore di fase ha quindi anche il compito di favorire l'interazione tra il riducente ed il sale di oro. Non è ancora stato incontrovertibilmente chiarito quale sia il meccanismo di reazione: in un primo momento venne suggerita da Brust e co. la formazione di un polimero in seguito alla riduzione intermedia da Au(III) a Au(I) operata dai tioli in soluzione¹⁹ (fig.10).

Introduzione

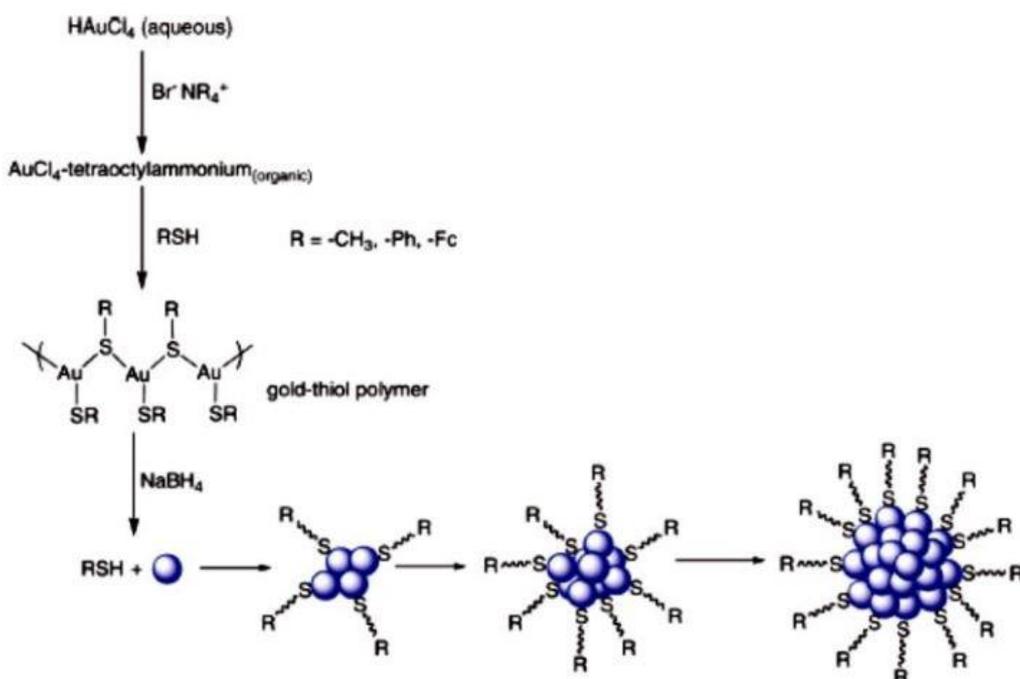


Fig. 10: meccanismo di reazione della sintesi Brust-Schiffrin ipotizzato da Brust e co.

Questa tesi venne però smentita da Lennox e co. attraverso esperimenti $^1\text{H-NMR}$: dopo il trasferimento in fase organica dell'oro ad opera del TOABr tramite la formazione di un complesso $(\text{NR}_4)(\text{AuX}_4)$, l'aggiunta dei tioli opererebbe una riduzione intermedia da Au(III) a Au(I) convertendo il complesso a $(\text{NR}_4)(\text{AuX}_2)$ e ossidando gli stessi a disolfuri²⁰ (fig.11).

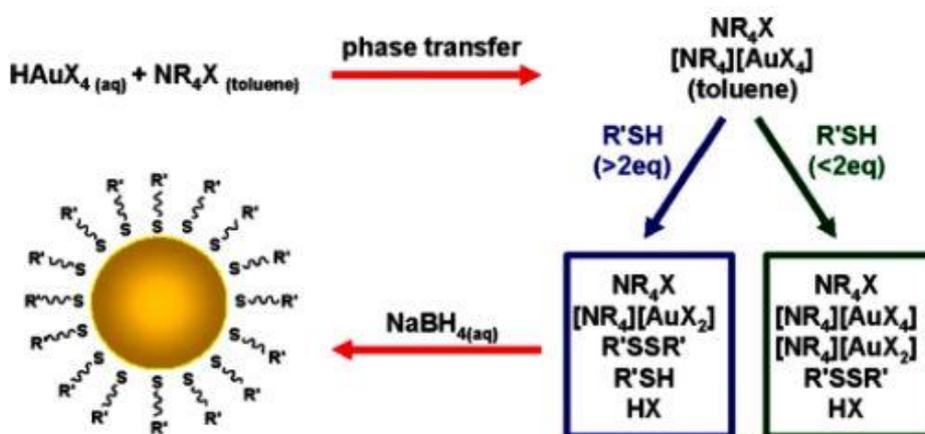


Fig. 11: meccanismo di reazione della sintesi Brust-Schiffrin ipotizzato da Lennox e co.

Introduzione

Un altro interessante lavoro di Tong e co. smentisce la formazione di legami Au-S e quindi l'ipotesi di Brust tramite spettroscopia Raman e NMR, e sostiene l'ipotesi che la nucleazione avvenga all'interno di micelle inverse stabilizzate da TOABr che si crebbero spontaneamente nel solvente organico dopo il trasferimento di fase; la formazione dei legami Au-S e quindi l'adsorbimento sarebbero quindi una conseguenza di un processo diffusivo dei tioli-disolfuri all'interno di un monostrato organico²¹. (fig.12)

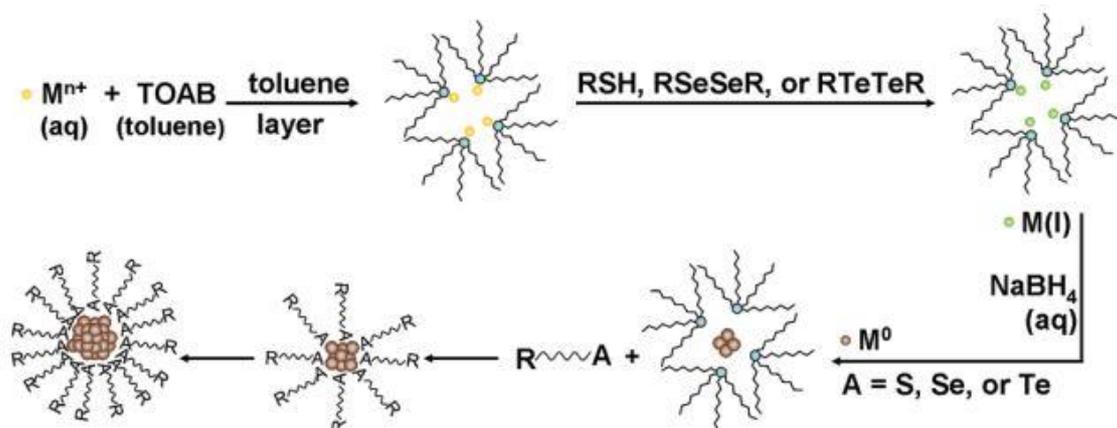


Fig. 12: meccanismo di reazione della sintesi Brust-Schiffirin ipotizzato da Tong e co.

La sintesi originaria, che venne effettuata utilizzando dodecantiolo come agente stabilizzante del monostrato con rapporti molari $AuCl_4^-:C_{12}SH$ 1:1, permise di ottenere AuNPs di diametro compreso tra 1 e 3 nm. In generale, la variazione dei parametri di sintesi, ed in particolar modo le modalità di aggiunta del riducente e la quantità di tioli presenti in soluzione al momento della riduzione, possono influire pesantemente sulle caratteristiche finali del campione. Tendenzialmente si ottengono particelle di dimensioni via via minori e con minor polidispersività all'aumento del rapporto tioli: $AuCl_4^-$, con la diminuzione della temperatura e con la diminuzione dei tempi di aggiunta del riducente⁴. Il campione può poi essere purificato dal trasferitore di fase e dalle altre impurezze presenti in soluzione sfruttando per lo più l'alto peso delle AuNPs, ovvero tramite precipitazioni in centrifuga o cromatografia a esclusione molecolare, oppure per dialisi. Dopo la purificazione, il campione può essere caratterizzato come un qualsiasi composto organico.

Un notevole miglioramento della sintesi Brust e Schiffirin è stato implementato nel gruppo di ricerca in cui ho svolto il mio percorso di dottorato, tramite uno step intermedio che permette di separare completamente la nucleazione dell'Au ridotto e la stabilizzazione operata dagli adsorbati, evitando però fenomeni di coalescenza¹⁰.

Introduzione

Questa separazione permette peraltro la sintesi di AuNPs idrosolubili, con indubbi vantaggi rispetto al metodo Turkevitch (con il quale si ottengono AuNPs di dimensioni attorno ai 20 nm), dato che spesso si tende a preferire in termini applicativi AuNPs di dimensioni ridotte per massimizzare la percentuale componente organica. In questa variante, dopo il trasferimento di fase di AuCl_4^- operato per mezzo di TOABr, viene aggiunta una ammina (diottilamina, DOA) come agente stabilizzante intermedio, che opera inoltre una riduzione parziale di Au(III) a Au(I) ossidandosi a radical ammina, con la probabile formazione di un nuovo complesso $\text{Au}(\text{NR})_2$. Il processo risulta immediatamente percepibile per mezzo di una vistosa decolorazione della soluzione da color rosso aranciato a incolore; l'Au(I) complessato può quindi essere definitivamente ridotto a Au(0) per successiva addizione di NaBH_4 , ma, a differenza dell'originaria metodologia Brust and Schiffrin, questo può avvenire anche in assenza di tioli in soluzione, che vengono addizionati in un secondo momento, sciolti in opportuno solvente, solitamente iPrOH (fig.13).

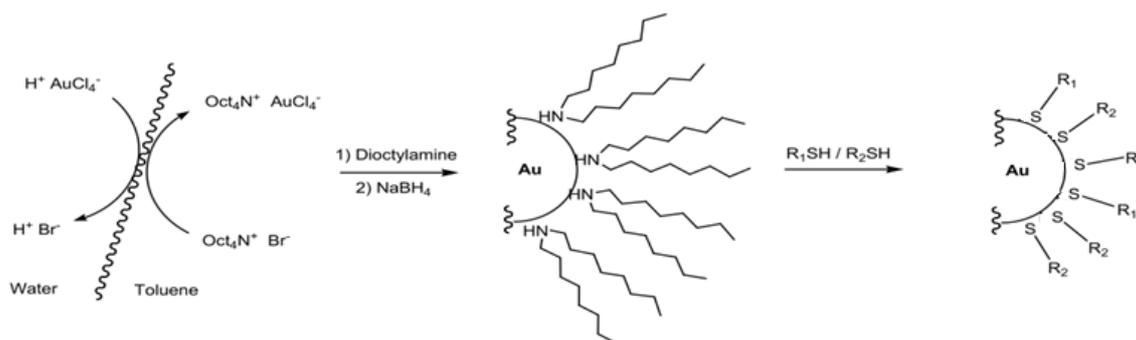


Fig. 13: meccanismo della variante sintetica Peng-Scrimin della sintesi bifasica Brust-Schiffrin

I vantaggi derivanti dall'introduzione di questo step intermedio si concretizzano innanzitutto in un miglior controllo dimensionale (esplorato nel range 1.9-8.9 nm), ma anche nella possibilità di sintetizzare monostrati misti in cui tioli con struttura chimica anche molto differente possono essere coadsorbiti nello stesso campione con le proporzioni quantitative desiderate. Nella sintesi Brust e Schiffrin originaria infatti la grande quantità di tioli richiesti non permetterebbe un buon controllo della composizione di monostrati misti perché tioli differenti possiedono diversa affinità verso il nucleo aureo, il che potrebbe portare a forti squilibri nei rapporti quantitativi desiderati tra tiolati. Al contrario, la stabilizzazione intermedia con diottilamina permette una sintesi quasi stechiometrica, utilizzando cioè solamente un piccolo eccesso dei tioli richiesti (in via puramente precauzionale), di norma del 15%-20%.

1.2.2. PRINCIPALI STRATEGIE MONOFASICHE

Come precedentemente accennato la sintesi Brust Schiffrin può essere operata anche in regime monofasico, sciogliendo HAuCl_4 direttamente in solvente polare (solitamente THF o metanolo) in presenza dei tioli; questi vanno ad operare una riduzione parziale da Au(III) a Au(I), portando alla formazione di complessi $(\text{Au(I)-SR})_n$, mentre la riduzione definitiva ad Au metallico è anche in questo caso attuata con NaBH_4 . Bisogna tuttavia considerare che l'ambiente polare stabilizza maggiormente i complessi Au(I)-tiolato, il che può portare a riduzioni incomplete di Au(I) e quindi configurazioni strutturali diverse rispetto al prodotto per sintesi bifasica¹⁷.

La presenza di un guscio polimerico di $(\text{Au(I)-SR})_n$ stabilizzante un nucleo metallico potrebbe spiegare le discrepanze in contenuto organico tra le AuNPs ottenute con i due percorsi sintetici¹⁸, o quelle di coordinazione degli atomi di Au ottenute tramite misure EXAFS (Extended X-Ray Absorption Fine Structure)¹⁹.

In letteratura si possono inoltre trovare esempi di sintesi monofasiche operate in solvente organico, in cui la riduzione viene operata per mezzo di riducenti più forti, come LiBH_4 ⁵, complessi ammino borani⁶ e superidruri (LiBHEt_3)⁷.

La ricerca di un'alternativa al processo bifasico deriva da svariate esigenze, una delle quali è senz'altro evitare la contaminazione del campione da parte del trasferitore di fase, la cui rimozione è assai laboriosa e non sempre si riesce ad attuare con successo. La contaminazione da parte del sale ammonico quaternario preclude una ampia gamma di applicazioni, in primis quelle biomediche, o quelle implicano, ad esempio, l'utilizzo delle proprietà conduttive delle AuNPs.

Peraltro, nella sintesi Brust Schiffrin, la nucleazione e l'adsorbimento avvengono inevitabilmente all'interfaccia delle due fasi, il che rende difficile raggiungere un bilanciamento dei due processi, necessario al fine di minimizzare la polidispersività del campione. Questi approcci monofasici soffrono comunque di una minor robustezza rispetto alla sintesi Brust e Schiffrin: la reazione deve essere condotta in ambiente anidro, a causa della forte reattività dei riducenti utilizzati con l'acqua, e in forte eccesso di riducente. Va inoltre sottolineata l'incompatibilità di svariate funzionalità chimiche (ad esempio esterea e ammidica) con l'azione di superidruri come il LiBHEt_3 .

Tra le più promettenti sintesi monofasiche si può evidenziare quella di Mori e co., che si avvale di organosilani come agenti riducenti, nel caso specifico di Et_3SiH , che viene aggiunto goccia a goccia a una soluzione di THF contenente AuCl_4^- . Questa metodologia sintetica ha ridotto ampiamente la quantità di riducente da impiegare (10:1 $\text{Et}_3\text{SiH}:\text{AuCl}_4^-$) e la non-reattività degli organosilani verso l'acqua rappresenta un indubbio vantaggio perché permette di evitare l'utilizzo di solventi anidri⁸.

Introduzione

Entry	Silane	Solvent	Yield/mg	Size/nm
1	Et ₃ SiH	THF	15.1	8.6 ± 0.65
2	Et ₃ SiH ^b		15.7	8.4 ± 0.64
3	HSiMe(OEt) ₂	THF	8.9	— ^c
4	HMe ₂ SiOSiMe ₃		18.0	— ^c
5	(HMe ₂ Si) ₂ O		— ^d	—
6	(HMeSiO) _n		— ^d	—
7	Et ₃ SiH	ⁿ Bu ₂ O	13.2	9.3 ± 0.91
8		CPME ^e	14.6	8.8 ± 0.58
9		^t BuOCH ₃	8.9	9.5 ± 0.84
10		Et ₂ O	— ^f	—
11		1,4-Dioxane	— ^f	—
12		DME	— ^f	—
13		PhOCH ₃	— ^f	—

Fig. 14: sintesi di AuNPs con l'ausilio di agenti silani e relativi risultati (sinistra, *c*- campione polidisperso tra 6-60 nm, *d*- precipitato insolubile, *e*- ciclopentilmetyl etere, *f*- precipitazione occorsa durante la reazione di HAuCl₄ con tiolo)

Altra strategia sintetica interessante è quella di Jansen e co., che prevede la riduzione del AuCl₄⁻ in diglyme (diethyl-glicole-metil etere) ad opera di sodio naftalenuro⁹; nonostante questo possa essere considerato un riducente piuttosto forte, la sintesi si è rivelata possibile senza l'utilizzo di alcun agente stabilizzante. La sospensione, debolmente stabilizzata ad opera del solvente, deve essere stabilizzata però entro breve tempo. Con questo approccio si è riusciti a sintetizzare campioni con un diametro medio da 1.9 a 5.2 nm e con una polidispersività del 15-20%, comparabile con quella ottenuta per sintesi Brust e Schiffrin.

1.2.3. METODICHE PER L'OTTIMIZZAZIONE DEL CONTROLLO DIMENSIONALE DEL CAMPIONE

La grande affidabilità che contraddistingue la sintesi Brust Schiffrin si scontra, come anticipato, con la mancanza di controllo fine dei fattori che influiscono sulle caratteristiche fisico chimiche del campione, in primis la polidispersività. In particolare, un punto di debolezza è l'assenza di un vero e proprio stadio di crescita controllata dei cluster, gestibile solamente tramite il rapporto tiolo:AuCl₄⁻. Come accennato, un miglior controllo dimensionale si può attuare con approcci monofasici: Stucky e co. riporta la sintesi e cristallizzazione di campioni a bassa polidispersività riducendo AuPPh₃Cl con complessi ammino-borano in presenza di alchiltioli²⁶. Jana e Peng riportano la sintesi di AuNPs utilizzando AuCl₃ e DDAB (didodecildimetil ammonio bromuro) come surfattante, e riducendo poi l'oro tramite TBAB (tetrabutylammonio boroidruro). Il controllo dimensionale è stato attuato nel range 1.5-7 nm utilizzando come agenti stabilizzanti acidi grassi (acido decanoico) o ammine alifatiche (dodecilammina) e nell'intervallo 6-15 nm variando la forza del riducente (utilizzando una combinazione di TBAB e idrazina)²⁸.

Introduzione

Oltre all'ottimizzazione dei processi di sintesi possono essere attuati sul campione trattamenti post-sintetici quali cristallizzazione²², la cromatografia a esclusione molecolare²³ e la gel elettroforesi²⁴ che, seppur permettano di raggiungere un eccellente grado di separazione, danno generalmente basse rese. Un'altra metodica molto interessante consiste nel cosiddetto "digestive ripening"²⁵, che consiste nello scaldare il campione di AuNPs già stabilizzate da tiolati vicino al punto di ebollizione del solvente, in presenza di un ulteriore eccesso di tiolo in soluzione. Si opera cioè un desorbimento controllato dei tiolati dalla superficie e si instaura un equilibrio dinamico di coalescenza dei nuclei e ristabilizzazione, che porta a ottenere AuNPs di dimensioni maggiori ma con minor polidispersività.

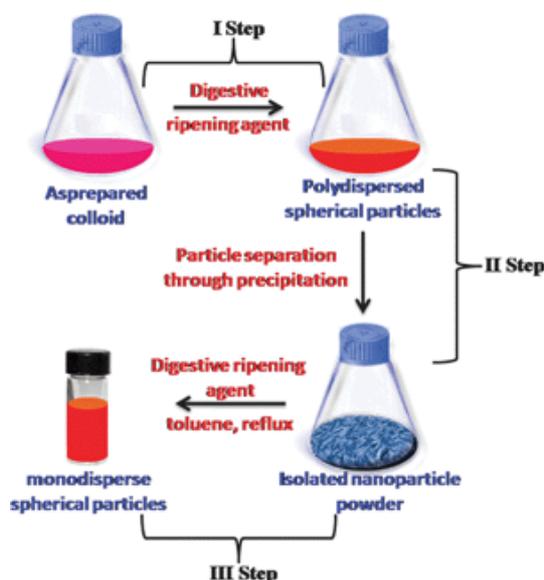


Fig. 15: schematizzazione del processo di digestive ripening

Klabunde e co. riporta la sintesi di nanocluster d'oro tramite con l'uso di DDAB e riduzione con NaBH_4 : i cluster così ottenuti, ad alta polidispersività, sono stati stabilizzati con dodecantiolo e, dopo purificazione, ridisciolti in toluene e sottoposti a un processo di digestive ripening. Dopo trattamento termico a riflusso i nuclei presentano dimensioni medie di 7 nm con una notevole diminuzione della polidispersività²⁹. La migrazione atomica interparticellare alla base del processo è peraltro funzionale anche per la sintesi di nanoparticelle di leghe metalliche: sono state sintetizzati in questo modo nuclei di oro/argento e rame/oro³⁰. Wilcoxon e co. riporta una procedura sintetica di AuNPs in cui il processo di crescita è mediato da semi e in cui il range dimensionale finale del campione è determinato dalla quantità di precursori. La procedura prevede la riduzione del sale di oro in presenza di semi di 2 nm, e permette la sintesi di AuNPs nel range compreso tra 2.6 e 5.7 nm.³¹

1.2.4. BIBLIOGRAFIA

1. Faraday, M.; Philos. Trans. R. SOC. London, 1857, 147, 145.
2. Turkevich, J.; Stevenson, P.C.; Hillier, J.; Discuss. Faraday. Soc., 1951, 11, 55-75.
3. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R.; *J. Chem. Soc.*, 1994, 801-802
4. Hostetler, M. J.; Wingate, J. E.; Zhong, C.-J.; Vachet, R. W.; Londono, J. D.; Green, S. J.; Stokes, J. J.; Wignall, G. D.; Glish, G. L.; Potter, M. D.; Evans, N. D.; Murray, R. W.; *Langmuir*, 1998, 14, 17 -30.
5. M. P. Rowe; K. E. Plass; K. Kim; C., Kurdak; E. T. Zellers; A.J. Matzger: *Chem. Mater.*, 2004, 16, 3513.
6. N. Zheng, J. Fan, G. D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 6550.
7. C. K. Yee; R. Jordan; A. Ulman; H. White; A. King; M. Rafailovich, J. Sokolov, *Langmuir*, 1999, 15, 3486.
8. Sugie, A.; Somete, T.; Kanie, K.; Muramatsu, A.; Mori, A.; *Chem. Commun.*, 2008, 3882-3884
9. Schultz-Dobrick, M.; Sarathy, K.V.; Jansen, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 12816-12817
10. F. Manea, F.; C. Bindoli, C.; S. Polizzi, S.; L. Lay, L.; P. Scrimin, *Langmuir*, 2008, 24, 4120-4124
11. Frans, G.; *Nature Phys. Sci.*, 1973, 241, 20 -22.
12. Grabar, K. C.; Freeman, R. G.; Hommer, M. B.; Natan, M. J.; *Anal. Chem.*; 1995, 67, 735 -743.
13. Carotenuto, G.; Nicolais, L. J.; *Mater. Chem.*, 2003, 13, 1038 -1041.
14. Hussain, I.; Graham, S.; Wang, Z.; Tan, B.; Sherrington, D. C.; Rannard, S. P.; Cooper, A. I.; Brust, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 16398 -16399.
15. Giersig, M.; Mulvaney, P.; *Langmuir* 1993, 9, 3408-3413.
16. Ackerson, C. J.; Jadzinsky, P. D.; Kornberg, R. D.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 6550-6551.
17. Sun, Y.; Frenkel, A. I.; White, H.; Zhang, L.; Zhu, Y.; Xu, H.; Yang, J. C.; Koga, T.; Zaitsev, V.; Rafailovich, M. H.; Sokolov, J. C.; *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110, 23022- 23030
18. Hostetler, M.J.; Wingate, J.E.; Zhong, C.-J.; Harris, J.E.; Vachet, R.W.; Clark, M.R.; Londono, J.D.; Green, S.J.; Stokes, J.J.; Wignall, G.D.; Glish, G.L.; Porter, M.D.; Evans, N. D.; Murray, R. W., *Langmuir*, 1998, 14, 17-30.
19. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R.; *J. Chem. Soc.*, 1994, 801-802
20. Goulet, P. J. G.; Lennox, R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 9582 -9584.
21. Li. Y.; Zaluzhna, O.; Xu, B.; Gao, Y.; Modest, J. M.; Tong, Y. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 2092 -2095.
22. a) Whetten, R. L.; Khoury, J. T.; Alvarez, M. M.; Murthy, S.; Vezmar, I.; Wang, Z. L.; Stephens, P. W.; Clevelan, C. L.; Luedtke, W. D.; Landman, U. *Adv. Mater.* 1996, 8, 428 -433. b) Alvarez, M. M.; Khoury, J. T.; Schaaff, T. G.; Shafiqullin, M.; Vezmar, I.; Whetten, R. L. *Chem. Phys. Lett.*, 1997, 266, 91 -98.
23. a) Wilcoxon, J. P.; Martin, J. E.; Provencio, P., *Langmuir*, 2000, 16, 9912 -9920. b) Tsunoyama, Y. N.; Tsukuda, T., *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 6036 -6036.
24. Schaaff, T. G.; Knight, G.; Shafiqullin, M. N.; Borkman, R. F.; Whetten, R. L., *J. Phys. Chem. B*, 1998, 102, 10643 -10646.
25. Maye, M. M.; Zheng, W.; Leibowitz, F. L.; Ly, N. K.; Zhong, C.-J., *Langmuir*, 2000, 16, 490-497.
26. Zheng, N.; Fan, J.; Stucky, G.D.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 6550.
27. Shimizu, T.; Teranishi, T.; Hasegawa, S.; Miyake, M.; *J. Phys. Chem. B*, 2003, 107, 2719.
28. Jana, N.R.; Peng, X.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 14 280.
29. Stoeva, S.I.; Klabunde, K.J.; Sorensen, C.M.; Dragieva, I.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 2305
30. Smetana, A.B.; Klabunde, K.J.; Sorensen, C.M.; Ponce, A.A.; Mwale, B.; *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110, 2155.
31. Wilcoxon, J.P.; Provencio, P.P.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 6402.

1.3. CARATTERISTICHE DEL MONOSTRATO ORGANICO AUTOASSEMBLATO

1.3.1. CONSIDERAZIONI GENERALI SULL'IMPACCAMENTO DI MONOSTRATI ORGANICI AUTOASSEMBLATI

I monostrati auto assemblati formati da tiolati su Au(111) sono stati ampiamente investigati nel corso di oltre due decenni di ricerca, sia nelle modalità di adsorbimento della componente organica⁶, sia per quello che concerne la presenza di irregolarità sulla superficie metallica⁷, sia infine in riferimento al coadsorbimento di adsorbati differenti in monostrati a composizione mista⁸.

Nei 2D-SAM, gli adsorbati si dispongono generalmente in modo da massimizzare le interazioni deboli di Van der Waals e eventuali legami a idrogeno, ferme restando le costrizioni geometriche imposte dalla struttura all'interfaccia. La loro disposizione può essere descritta utilizzando l'angolo di tilt (alfa) rispetto alla normale alla superficie e l'angolo di rotazione (beta) rispetto all'asse della molecola (fig.16). Nel caso di 2D-SAM il valore di alfa per alchiltiolati è di circa 30°, mentre quello di beta di circa 50°. 2D-SAM stabilizzati da dodeciltiolo hanno evidenziato una disposizione degli adsorbati "quasi-cristallina", ovvero in cui le catene alchiliche si dispongono parallelamente in una conformazione quasi tutta trans. Nelle interazioni intercatena ciascun gruppo metilenico contribuisce per circa 1kcal/mol¹¹.

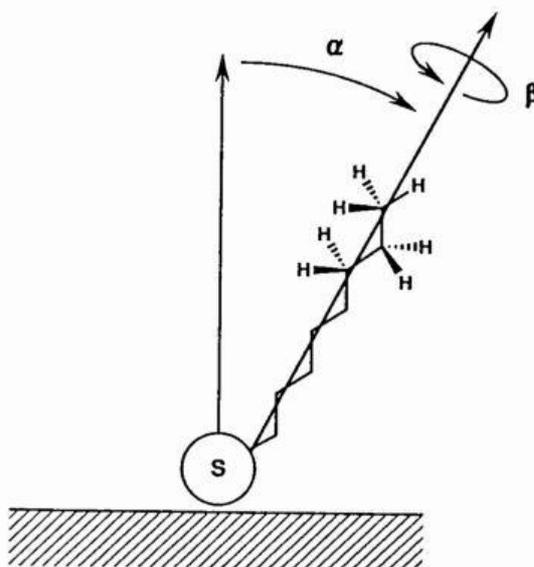


Fig. 16: raffigurazione dei parametri geometrici che descrivono l'orientazione di tiolati su 2D-SAM

Introduzione

Un valido aiuto nella comprensione della struttura ottimale del packing su AuNPs può venire da simulazioni di dinamica molecolare, che possono fornire indicazioni, per esempio, sui rapporti ottimali tra lunghezza degli adsorbati e la grandezza del nucleo. Assumendo che la configurazione tridimensionale più stabile scaturisca solo dalla competizione tra interazioni laterali (inter-adsorbato) e verticali (adsorbato-superficie aurea), trascurando quindi l'effetto del solvente, simulazioni di dinamica molecolare confermano un angolo di tilt per esiliolo di 30° rispetto alla normale alla superficie aurea e un arrangiamento esagonale, analogamente a quanto osservato su superfici bidimensionali⁵.

Studi effettuati utilizzando tecniche quali FTIR¹, NMR² e DSC³ sembrano suggerire che vi possa essere su monostrati 3D un livello di organizzazione spaziale comparabile a quelli bidimensionali. Non si può tuttavia ignorare una maggior presenza di irregolarità di superficie e quindi di diversi tipi di interazione Au-S nei 3D-SAM, oltre al gradiente di impaccamento crescente che si instaura dalla direzione periferica verso il nucleo in direzione radiale. A questo proposito, una interessante considerazione può essere fatta considerando esperimenti ESR condotti dal gruppo di Lucarini e coll.⁴, che hanno analizzato la capacità di penetrazione nel monolayer di una sonda radical nitrossido correlandola alle dimensioni particellari, esplorando un range dimensionale tra 1.6 e 5.3 nm. La costante di associazione sonda-monostrato è stata vista crescere con la diminuzione delle dimensioni del core metallico, questo perché il minor raggio di curvatura che si ha all'aumento delle dimensioni implica una maggior densità del packing e quindi un maggior costo energetico per la sonda nell'interazione con il monostrato.

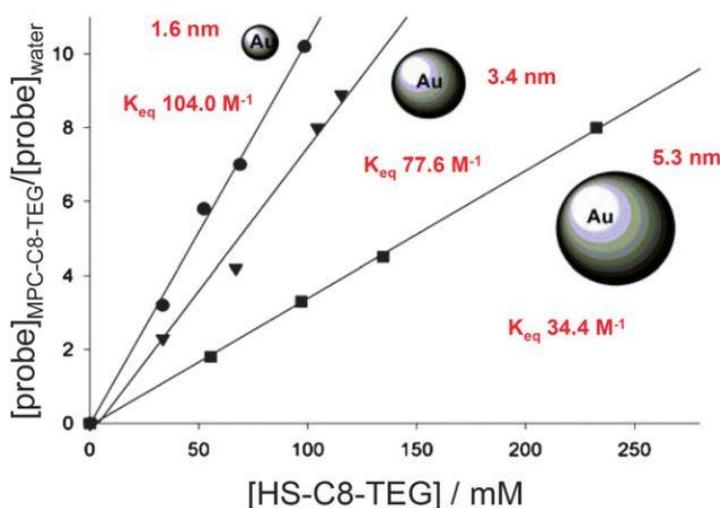


Fig. 17: raffigurazione dei rapporti di concentrazione di sonda radicalica all'interno del monostrato e libera in soluzione

1.3.2. STRATEGIE DI AUTO SEGREGAZIONE DEL SAM IN MONOSTRATI MISTI

La struttura generale di una nanoparticella stabilizzata da un monostrato a composizione mista può essere descritta grossolanamente da due parametri, ovvero i rapporti quantitativi che sussistono tra gli adsorbati e la loro disposizione spaziale relativa (oltre che ovviamente dalle dimensioni e forma del nucleo metallico).

La determinazione della composizione assoluta e relativa del monostrato può essere agevolmente effettuata con un'analisi (usualmente NMR) su parte del campione, dopo decomposizione ossidativa delle AuNPs con I₂ o CN⁻ e integrazione di segnali peculiari dei diversi tipi di adsorbati. Questo approccio è applicabile tuttavia solamente per monostrati costituiti da ligandi la cui struttura molecolare non sia eccessivamente complessa, tale che vi siano segnali inequivocabilmente attribuibili a ciascuno dei tiolati (questo limite preclude l'utilizzo per AuNPs stabilizzate, ad esempio, da macromolecole biologiche).

In alternativa, si possono sfruttare altre tecniche indirette, magari in combinazione, come spettroscopie ottiche, di massa e DSC, anche se la quantificazione con NMR rimane sicuramente la metodica più affidabile. Una valutazione dell'impaccamento supramolecolare del monostrato è più difficile: le tecniche di indagine che possono fornire la descrizione più esaustiva, tralasciando la spettroscopia ai raggi X, sono indubbiamente quelle di imaging, ovvero STM e AFM, anche se più adatte per l'indagine di 2D-SAM che non di 3D-SAM.

L'obiettivo di disporre ligandi in modo controllato sulla superficie particellare è chiaramente molto ambizioso e si avvale, allo stato dell'arte attuale, essenzialmente di strategie bottom-up, ovvero in cui si tenta di indurre l'ordinamento spaziale controllando il processo di self-assembly. Strategie che portino a una clusterizzazione spontanea implicano che l'informazione per la segregazione di fase sia codificata nella struttura degli adsorbati, analogamente a quanto accade nel mondo delle macromolecole biologiche. Una delle strategie più promettenti per indurre auto segregazione nel SAM potrebbe essere l'utilizzo del gruppo funzionale ammidico, analogamente a quanto avviene nel mondo delle proteine, che attraverso la formazione di ponti H intramolecolari tra i vari residui amminoacidici configurano la loro struttura supramolecolare secondaria e terziaria.

Weiss e co. riportano uno studio STM in cui è stata presa in considerazione su monostrati bidimensionali di Au (111) la combinazione dodeciltiolo/ CH₃(CH₂)₈NHCO(CH₂)₂SH, in cui si osserva che la segregazione di fase viene indotta anche con bassi quantitativi di tiolo ammidico¹.

Introduzione

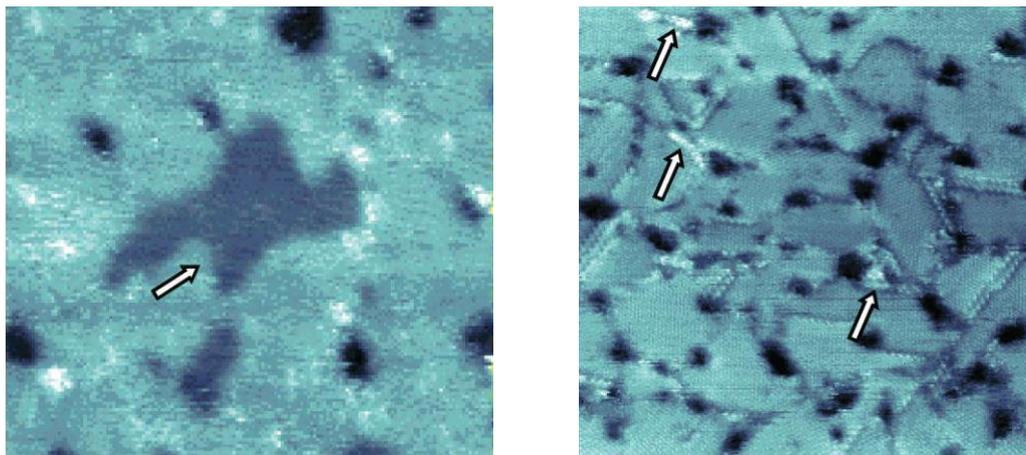


Fig. 18: immagine STM di un monostrato composto dal derivato ammidico 1ATC9 in rapporto molare 3:1 (sinistra) e 1:3 (destra). Le frecce sottolineano le zone di segregazione di fase dei tiolati alchilico (sinistra) e ammidico (destra)

Rotello e co. ha poi investigato la posizione ottimale del gruppo ammidico in adsorbati con struttura alchilica lineare su AuNPs, trovando che la maggior stabilità verso la decomposizione CN- indotta e la minore frequenza di risonanza nella spettroscopia IR (indice di maggior stabilità) si osserva con l'utilizzo dell'ammide in posizione 4 (ovvero con 4 carboni dal gruppo tiolico). Un'elegante conferma di questa teoria viene illustrata in un'altra pubblicazione, in cui si analizza la scomparsa del segnale del protone ammidico in reazioni di scambio con deuterio all'NMR. Il derivato ammidico in posizione 4 ha dimostrato possedere una stabilità fino a 10 volte superiore rispetto agli analoghi in posizione 6 o maggiore, questo a conferma dell'affezione del legame ammidico verso la natura radiale del nucleo¹¹. Questo derivato, di struttura generica $RNHCO(CH_2)_3SH$ è stato successivamente ottimizzato per quanto riguarda il gruppo periferico R, trovando che un eccessivo ingombro sterico destabilizza il packing (gruppo isobutilico), che viene invece promosso dall'utilizzo di gruppi aromatici (difenilmetilico e 2,2-difenilettilico)⁶.

Un approccio analogo è stato attuato su AuNPs di grandezza media 2 nm stabilizzate da SAM misti composti da derivati della fosforilcolina, del TEG (trietilenglicole) e alchilici, provando l'eventuale segregazione di fase sfruttando l'effetto PRE (Paramagnetic Relaxation Enhancement) indotto da lantanidi (nella fattispecie da Gd^{3+}). L'aggiunta di $CF_3COO-Gd^{3+}$ a una sospensione di AuNPs causa infatti un allargamento dei segnali nello spettro ^1H-NMR dei nuclei spettroscopicamente attivi ai quali il catione si complessa. La combinazione deciltiolo/derivato poliossoetilenglicolico ha dimostrato, tramite una serie di esperimenti di titolazione, di indurre segregazione di fase, la cui driving force potrebbe essere anche in questo caso la presenza della funzione ammidica³.

Introduzione

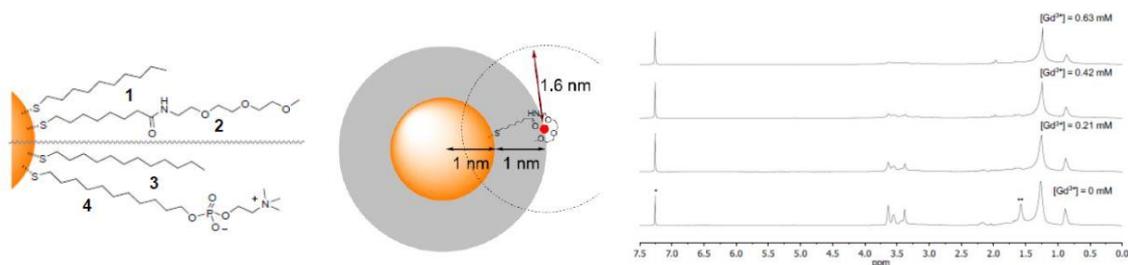


Fig. 19: allargamento selettivo dei segnali relativi al tiolo 2 nello spettro 1H-NMR in AuNPs con SAM a composizione mista 1-2 dovuto ad effetto PRE indotto dalla complessazione delle catene poliossoetileniche con Gd3+

Un'altra forte conferma delle possibilità segregative in AuNPs a composizione mista deriva da un lavoro di Stellacci e co.2 in cui si è indagata tramite STM la morfologia di un monostrato composto da ottiltiolo e acido mercapto-propionico in proporzione 2:1, osservando come i due tipi di ligandi tendano ad organizzarsi spontaneamente in formazioni simili a strisce (stripes). Questo particolare tipo di conformazione si verifica per determinate dimensioni del nucleo metallico (da 4 a 8 nm circa), poiché realizza il bilanciamento ottimale tra entalpia di separazione di fase e entropia conformazionale degli adsorbati. La disposizione Janus (ovvero a due semicalotte) è l'alternativa morfologica che si realizza quando il core ha dimensioni inferiori di 4 nm, a causa di una netta prevalenza del fattore entalpico.

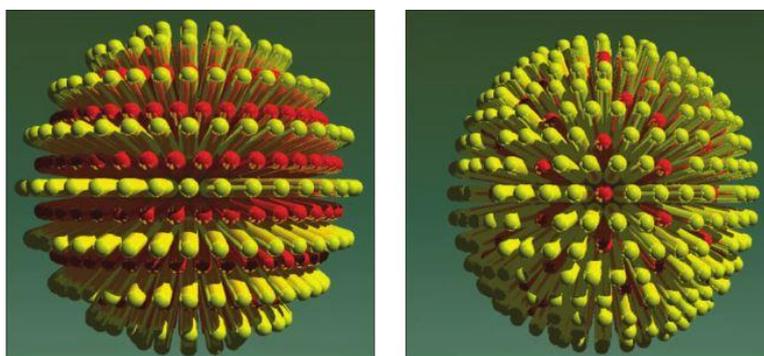


Fig. 20: possibili configurazioni topologiche di SAMs composti da una miscela di ottiltiolo/acido paramecaptobenzoico, in rapporto molare 2:1 (sinistra) e 10:1 (destra) su AuNPs di grandezza media 3.7 nm

Questa teoria è stata peraltro avvalorata con studi NMR, in cui si è individuata una dipendenza dello spostamento chimico dei protoni aromatici del DPT (difenioltiolo) in relazione al tipo di intorno creato dalle molecole adiacenti (FNN, first neighbour's shell), formalizzata poi anche matematicamente. Peraltro la conformazione assunta dagli adsorbati influenza pesantemente anche gli spettri 1H-NMR bidimensionali, in particolare gli spettri NOESY (Nuclear Overhauser Effect

Introduzione

Spectroscopy), in cui una conformazione random non darebbe luogo a crosspicchi, a differenza di eventuali clusterizzazioni o conformazioni stripy⁴.

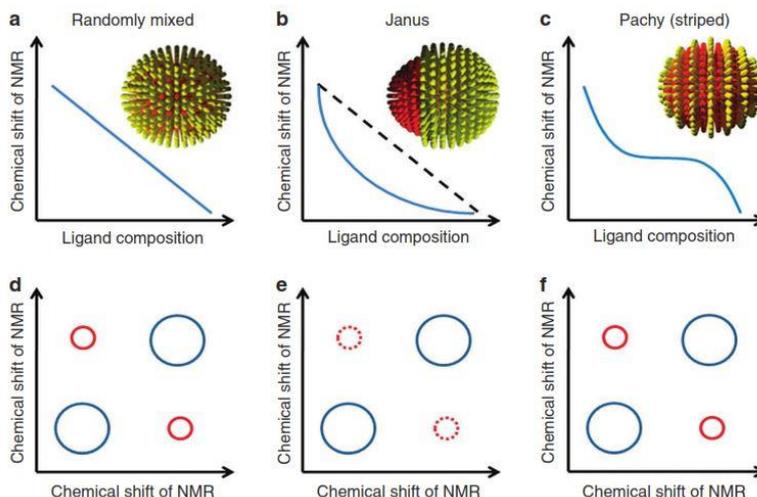


Fig. 21: diagrammi NMR idealizzati di monostrati a composizione mista a diversa configurazione topologica

Risultati differenti sono stati invece ottenuti sintetizzando AuNPs con SAM a composizione mista composti da tiolati immiscibili di tipo alchilico e perfluoroalchilico (HS-C8-TEG e HS-F8-TEG), e investigando la potenziale segregazione di fase tramite l'uso di una sonda radicalica sensibile all'idrofobicità dell'interno sfruttando la tecnica dell'ESR (Electro Spin Resonance)⁸. Questi esperimenti hanno fornito forti evidenze a conferma della segregazione di fase piuttosto che di configurazioni patchy per AuNPs di dimensioni medie comprese tra i 2.5 e i 4 nm.

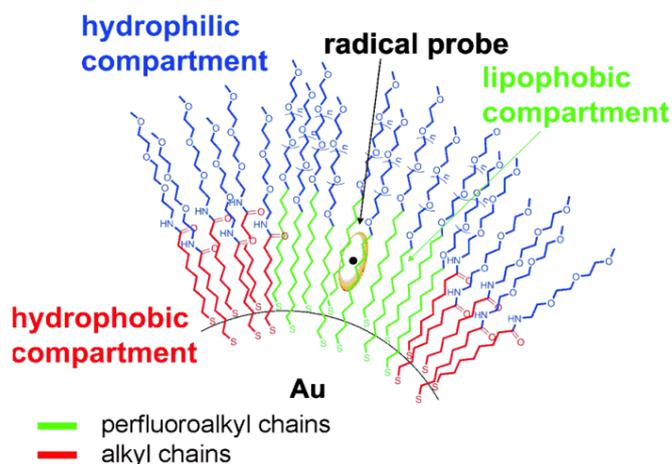


Fig. 22: schematizzazione del meccanismo di indagine EPR operato utilizzando sonde radical nitrossido su monostrati a composizione mista composti da derivati tiolici alchilici e perfluoroalchilici

Introduzione

Un altro approccio molto interessante viene proposto da Duchesne e co.⁹ e sfrutta la potenzialità di un peptide funzionale di formare un legame intramolecolare o intermolecolare a seconda della distanza che lo separa da un altro peptide, per cui il limite viene fissato a 4 nm. E' stato dimostrato come anche a bassissime concentrazioni di peptide (nell'ordine di 2 o 3 entità per monostrato), questo tenda ad inserirsi nel monostrato spazialmente vicino ad un proprio analogo; questa evidenza supporta l'ipotesi che la segregazione di fasi sulla superficie aurea possa essere dovuta a dei meccanismi cooperativi, in cui l'adsorbimento di un ligando promuova quello di un suo analogo.

Weinstock e co. ha ulteriormente rafforzato l'ipotesi cooperativa della segregazione del monostrato riportando immagini al TEM del processo di formazione di monostrati di POM (poliossometallati) complessati con tungsteno, che sembrano co-adsorbire in domini per minimizzare il contatto con la soluzione¹⁰.

1.3.3. SEGREGAZIONE OTTENUTA CON TECNICHE DI SINTESI ASIMMETRICA

Le strategie segregative per sintesi asimmetrica possono essere assimilate ad approcci top-down, in cui si mira cioè a disporre direttamente gli adsorbati nella configurazione spaziale desiderata, non concependo la segregazione di fase come la risultante del self assembly del monostrato. Queste strategie consistono solitamente in una stabilizzazione differenziata di porzioni della superficie del nucleo metallico, tramite l'utilizzo di adsorbati differenti.

Queste strategie presuppongono ovviamente che una volta adsorbiti i tiolati non manifestino una eccessiva mobilità superficiale, argomento ancora molto dibattuto e controverso. Per esempio, l'ipotesi di proprietà diffusive viene smentita in uno studio EPR riguardante la mobilità laterale a temperatura ambiente e a 90° di ligandi tiolici bis-nitrossido, in cui le due funzioni radicaliche sono separate da un ponte disolfuro⁵.

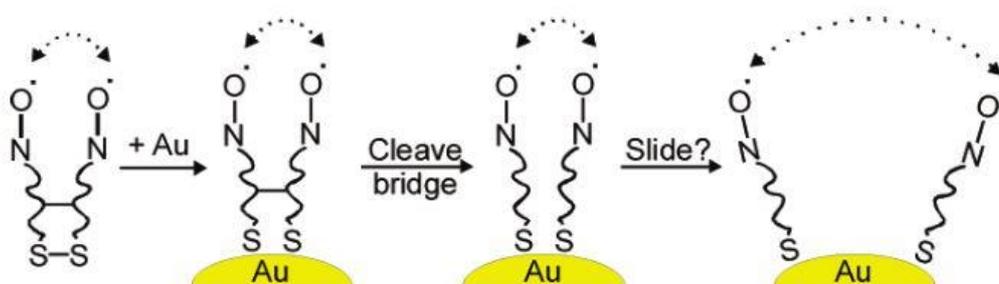


Fig. 23: studio EPR di mobilità laterale di tiolati tramite ponti interpeptidici. La vicinanza spaziale delle due entità radicaliche viene misurata nel tempo dopo scissione del legame intermolecolare

Introduzione

L'adsorbimento del ligando implica il cleavage del legame -S-S- con una conseguente separazione delle funzioni bisnitrossido, la cui vicinanza spaziale può essere rilevata nello spettro EPR. Lo studio suggerisce che la mobilità di ligandi carbossilici sia maggiore (anche se molto bassa) per il tentativo di massimizzare le interazioni ad idrogeno, al contrario degli altri, la cui mobilità è risultata essere praticamente nulla a T ambiente e con un modesto aumento proporzionale alla temperatura.

Generalmente approcci di sintesi asimmetrica consistono in una immobilizzazione delle AuNPs nude su superfici inorganiche tramite linkers debolmente complessanti, come ammine, fosfine o acidi carbossilici. La configurazione segregata (Janus) viene quindi ottenuta adsorbendo i tiolati sulla parte esposta, stabilizzando l'altra successivamente. Sagiv e co. riportano l'adsorbimento di AuNPs nude su SiO₂ tramite un linker amminico seguito dalla stabilizzazione della semicalotta esposta con 11-mercaptoundecanolo. Una successiva sonicazione in presenza di acido 16-mercaptoesadecanoico o di mercaptoetilammina causa il distacco e la stabilizzazione dell'altra semicalotta. La validità del procedimento sembra essere supportata dalla formazione di dimeri particellari in presenza di agenti di coupling⁴.

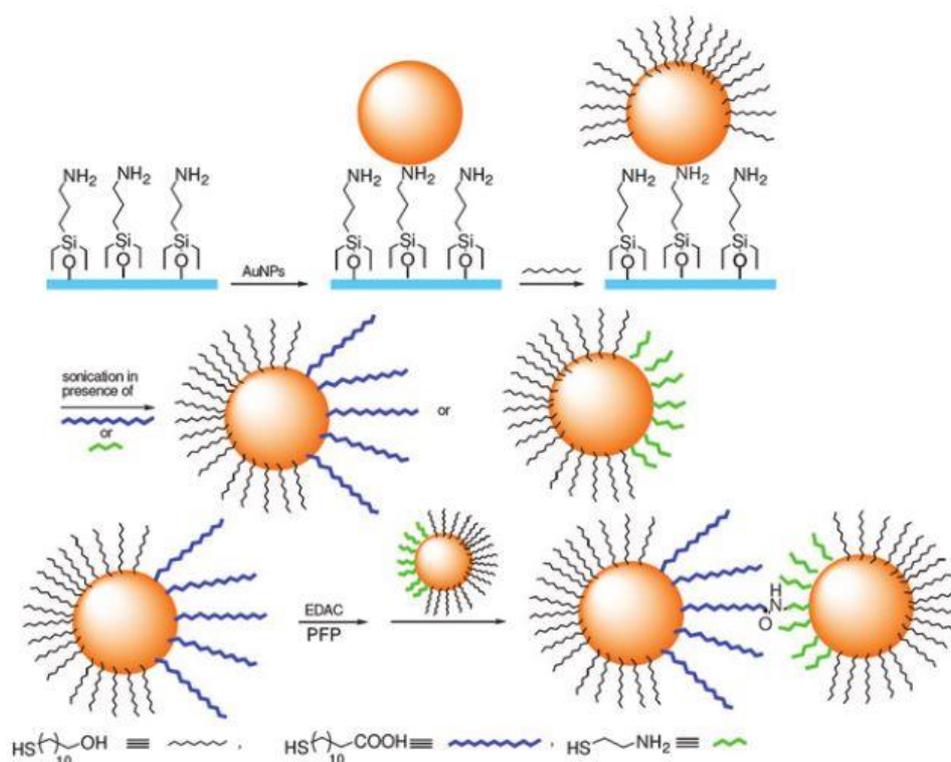


Fig. 24: funzionalizzazione asimmetrica di AuNPs descritta da Sagiv e co. usando un approccio su fase solida

Introduzione

Un approccio ibrido che coniuga, oltre alla presenza di un supporto, anche quella di un agente templante viene riportato da Mirkin e co.¹² in cui si descrive l'utilizzo combinato di nanoparticelle magnetiche stabilizzate da una sequenza nucleotidica, AuNPs stabilizzate da un oligonucleotide complementare a parte di quello presente sulle nanoparticelle magnetiche e di un oligonucleotide di estensione complementare alla parte mancante. La complessazione dei tre elementi in presenza di un tampone legante (DNAasi T4) permette la funzionalizzazione asimmetrica delle AuNPs, che presentano solo nella parte di contatto la sequenza nucleotidica completa.

Una strategia segregativa molto elegante è stata messa in pratica in un lavoro di Boal e Rotello e sfrutta l'effetto templante di un agente esterno su un monostrato trivalente costituito da ottitliolo, un derivato del pirene e da 1,6-diacyl-amminopiridina. Dopo l'aggiunta in soluzione di flavina, si è potuto osservare uno spostamento dei segnali NMR della flavina con il passare del tempo, attribuibile ad un progressivo effetto di stacking aromatico flavina-pirene dovuto a uno spostamento del tiolo pirenilico verso il complesso flavina/1,6-diacyl-amminopiridina. Questo lavoro supporterebbe fortemente l'ipotesi che i tioli siano dotati di una certa mobilità, anche se ridotta, sulla superficie metallica. Peraltro viene fortemente sottolineato l'effetto cooperativo nel binding che si può ottenere con l'utilizzo di tioli differenti (la presenza del pirenilderivato raddoppia la costante di associazione del complesso flavina/1,6-diacyl-amminopiridina).

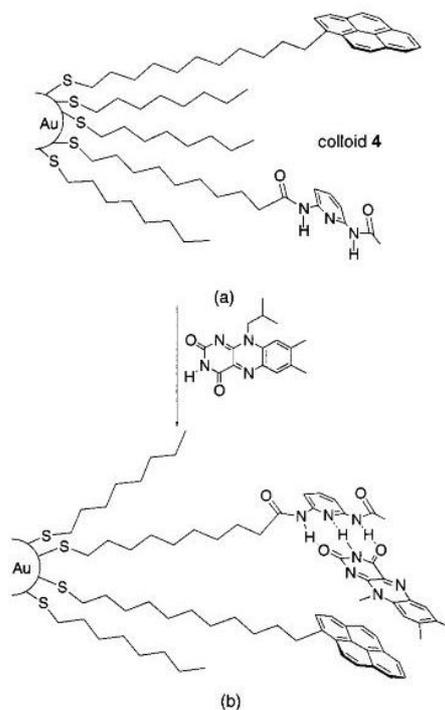


Fig. 25: illustrazione schematica del riarrangiamento del monostrato DAC/pirenilico in seguito all'aggiunta di flavina

Introduzione

La driving force della segregazione di fase può essere ricondotta esclusivamente alla presenza di un template in un'altra elegante dimostrazione di Rotello e co.¹³; la costante di binding e l'elicità di un peptide composto da 4 residui di acido aspartico nell'interazione con AuNPs cationiche di 2 nm a monostrato misto composto da un derivato ammonico e uno alcolico del TEG vengono analizzate in un periodo di 22 h, notando un incremento dei valori imputabile a una riorganizzazione mutuale (del SAM e del peptide) per la massimizzazione dell'entalpia di binding.

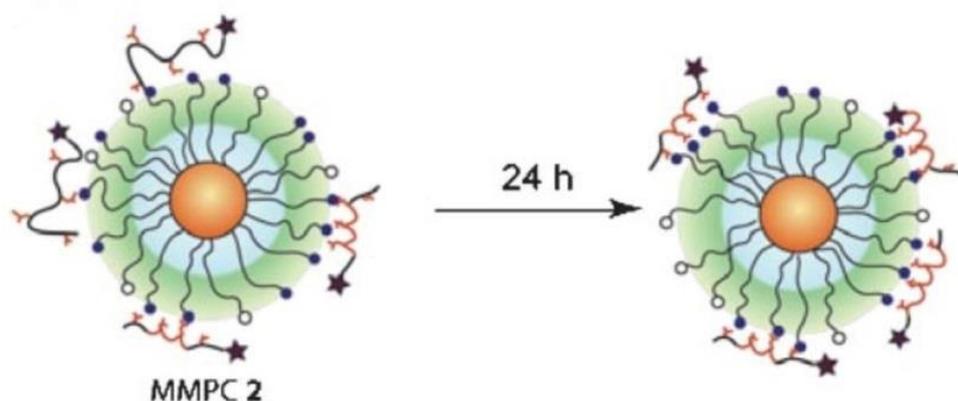


Fig. 26: aumento dell'elicità di un peptide dopo interazione con AuNPs stabilizzate da un derivato del trimetilammonio

La possibilità di funzionalizzare anisotropicamente AuNPs è stata esplorata in soluzione senza l'ausilio di alcun supporto o template su un campione stabilizzato debolmente da citrati attraverso un processo di scambio utilizzando 2-mercaptoetanololo⁹. Si è potuta riscontrare la formazione in soluzione di lunghe catene monodimensionali di AuNPs, attribuendo il fatto alla formazione di un dipolo elettrico permanente al raggiungimento di un sufficiente quantitativo di 2-mercaptoetanololo sulla superficie particellare.

L'approccio di Langmuir può efficacemente essere adattato a AuNPs per la crescita di monostrati tipo Janus, nei quali le semicalotte ottenute hanno proprietà di solubilità marcatamente differenti. Bjørnholm, Brust e co. riportano come in AuNPs stabilizzate da SAM misti composti da derivati alchilici a diversa idrofilicità si osservi una riorganizzazione del monostrato all'interfaccia aria/acqua¹⁴. Sviluppi dell'approccio precedente consistono nel realizzare le reazioni di scambio in soluzione, in modo che solo la parte del monostrato esposta in soluzione venga sostituita, o nella sintesi del monostrato in soluzione all'interfaccia di due fasi immiscibili, in ognuna delle quali diverse tipologie di tioli dissolvano selettivamente.

Introduzione

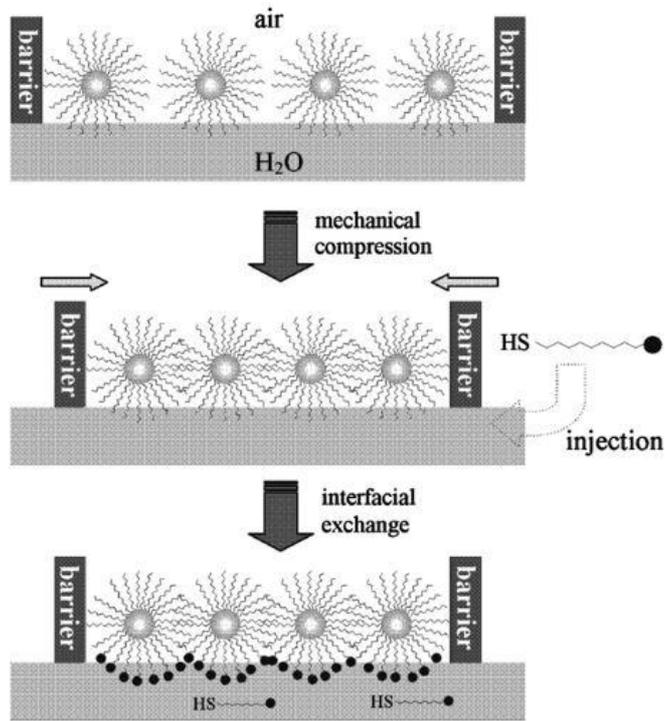


Fig. 27: sintesi di AuNPs a monostrato tipo Janus sfruttando la tecnica Langmuir

1.3.4. BIBLIOGRAFIA

1. Tao, Y. T.; Allara, D. L.; Weiss, P. S.; *J. Phys. Chem.*, 1994, 98, 7636
2. Paulini, R.; Frankamp, B.L.; Rotello, V.M.; *Langmuir*, 2002, 18, 2368–2373
3. Badia, A.; Gao, W.; Singh, S.; Demers, L.; Cuccia, L.; Reven, L.; *Langmuir*, 1996, 12, 1262–1269
4. Badia, A.; Singh, S.; Demers, L.; Cuccia, L.; Brown, G.R.; Lennox, R.B.; *Chem. Eur. J.*, 1996, 2, 359–363
5. Lucarini, M.; Franchi, P.; Pedulli, G.F.; Gentilini, C.; Polizzi, S.; Pengo, P.; Scrimin, P.; Pasquato, L.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 16384–16385
6. Cossaro, A.; Mazzarello, R.; Rousseau, R.; Casalis, L.; Verdini, A.; Kohlmeyer, A.; Floreano, L.; Scandolo, S.; Morgante, A.; Klein, M.L.; Scoles, G.; *Science*, 2008, 321, 943–946
7. Di Felice, R.; Selloni, A.; *J. Chem. Phys.*, 2004, 120, 4906–4914
8. Butt, H.J.; Seifert, K.; Bamberg, E.; *J. Phys. Chem.*, 1993, 97, 7316–7320
9. Folkers, J.P.; Laibinis, P.E.; Whitesides, G.M.; *Langmuir*, 1992, 8, 1330–1341
10. Dubois, L. H.; Nuzzo, R. G.; *Ann. Rev. Phys. Chem.* 1992, 43, 437
11. Camillone, N.; Chidsey, C. E. D.; Liu, G. Y.; Scoles, G.; *J. Chem Phys.* 1993, 98, 3503
12. Schreiber, F.; *Prog. Surf. Sci.*, 2000, 65, 151
13. Liu, S.; Maoz, R.; Schmid, G.; Sagiv, J.; *Nano Lett.*, 2002, 2, 1055–1060
14. Ionita, P.; Volkov, A.; Jeschke, G.; Chechik, V.; *Anal. Chem.*, 2008, 80, 95–106
15. Sardar, R.; Shumaker-Parry, J.S.; *Nano Lett.*, 2008, 8, 731–736
16. Lin, S.; Li, M.; Dujardin, E.; Girard, C.; Mann, S.; *Adv. Mater.*, 2005, 17, 2553
17. Xu, X.Y.; Rosi, N.L.; Wang, Y.H.; Huo, F.W.; Mirkin, C.A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 9286–9287
18. Xu, X.; Rosi, N.L.; Wang, Y.; Huo, F.; Mirkin, C.A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 9286–9287
19. Ghosh, P.S.; Verma, A.; Rotello, V.M.; *Chem. Commun.*, 2007, 2796–2798
20. Nørgaard, K.; Weygand, M.J.; Kjaer, K.; Brust, M.; Bjørnholm, T.; *Faraday Discuss.*, 2004, 125, 221–233
21. Pradhan, L.; Xu, P.; Chen, S.; *Adv. Funct. Mater.*, 2007, 17, 2385–2392
22. Glogowski, E.; He, J.; Russell, T.P.; Emrick, T.; *Chem. Commun.*, 2005, 4050–4052

1.4. REAZIONI DI SCAMBIO SU MONOSTRATI AUTO ASSEMBLATI

1.4.1. PROPRIETA' DEI PROCESSI DI SCAMBIO SU AuNPs

Le reazioni di scambio costituiscono, allo stato dell'arte attuale, la metodica principale per ottenere monostrati a composizione mista, nonostante sia possibile la sintesi diretta per via Brust Schiffrin o eventuali varianti^{1,2}. Utilizzare le reazioni di scambio per introdurre adsorbati nel monostrato risulta particolarmente indicato quando si intende utilizzare derivati tiolici scarsamente solubili in solventi organici (toluene) e per macromolecole biologiche, dato che la procedura può essere effettuata in qualsiasi solvente in cui le AuNPs siano solubili. Sono stati ad ogni modo riportati anche processi di scambio condotti in eterofase sia tra AuNPs passivate da ligandi diversi che tra AuNPs e tioli liberi in soluzione¹².

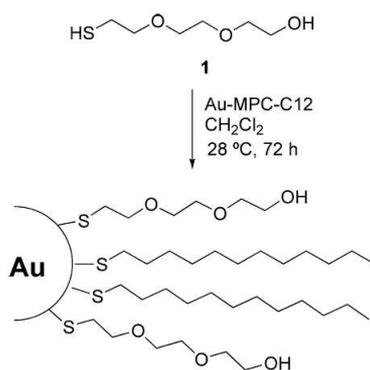


Fig. 28: condizioni sintetiche per la sintesi di AuNPs a monostrato misto 1/dodecantiolo

Un altro vantaggio di questa metodica è che la quantità di tioli richiesta è molto inferiore rispetto a quella che si usa nella sintesi Brust Schiffrin, dato che viene a mancare sia la funzione di riducente (Au(III) che viene ridotto ad Au(I) prima della riduzione a Au⁰ per aggiunta di NaBH₄) che quella competitiva dei tioli rispetto al processo di nucleazione dell'oro. Questo aspetto costituisce un notevole vantaggio, poiché sarebbe problematico utilizzare il grande quantitativo richiesto nella sintesi classica nel caso di macromolecole come peptidi o carboidrati; inoltre, tioli con struttura molecolare diversa avranno differente affinità verso i nanoclusters nucleandi, con conseguenze potenzialmente molto rilevanti in termini di polidispersività. Risulta conveniente perciò sintetizzare il campione a monostrato unitario e introdurre gli adsorbati di interesse in un secondo momento.

Introduzione

I processi di scambio necessitano di essere completamente razionalizzati per un fine controllo del grado ed della posizione di sostituzione del ligando entrante; oltre al rapporto AuNPs/tiolo entrante, altri fattori sono infatti determinanti (tempo, temperatura e solvente). Anche la purificazione del campione costituisce un passaggio estremamente delicato, in quanto condizioni troppo aggressive possono inficiare il processo, portando al distacco di ligandi dal monostrato.

Una delle più interessanti evidenze di processo di scambio è riportata in una pubblicazione di Hakkinen e Ackerson riportano un innovativo studio effettuato tramite spettroscopia a raggi-X sullo scambio di p-BBT (para-bromobenzene tiolo) su Au₁₀₂(p-MBA)₄₄ (p-MBA, para mercapto benzoic acid), monitorato dopo i primi 5 minuti del processo; il nanocluster in oggetto presenta una simmetria C₂, in cui il monostrato presenta un unico asse di simmetria con 22 elementi non equivalenti. La risoluzione della struttura ha permesso di identificare le due tipologie di siti a maggior reattività sul nanocluster, che sono state riscontrate essere, tramite calcoli DFT, anche le più esposte stericamente in soluzione nei confronti di un “attacco nucleofilo”.

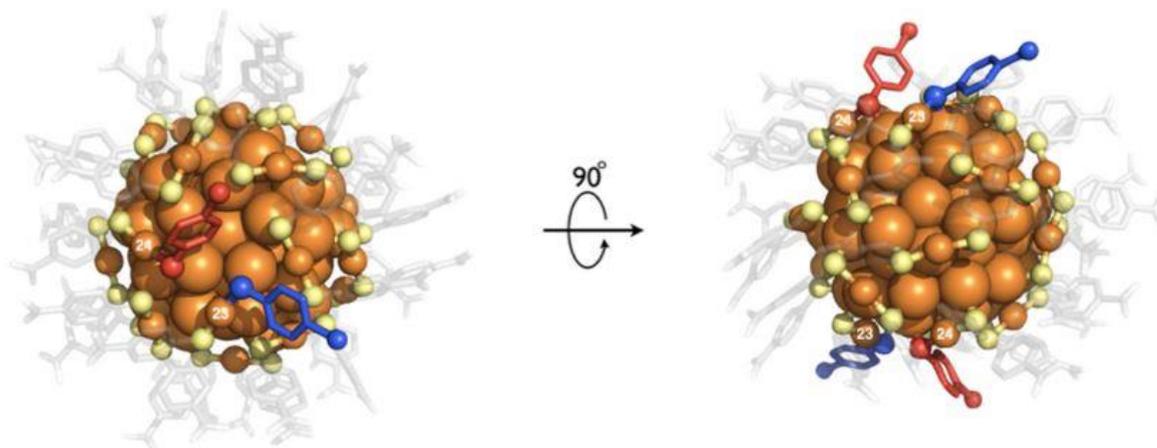


Fig. 29: visione dall'alto e frontale dei due siti di scambio menzionati e dei corrispondenti atomi di Au(I).

1.4.2. EVIDENZE A SUPPORTO DI MECCANISMI ASSOCIATIVI E DISSOCIATIVI

E' ormai generalmente accettato che i processi di scambio su monostrati autoassemblati avvengano con una stechiometria 1:1 e con un meccanismo associativo assimilabile a quello di una S_N2, anche se non mancano evidenze sperimentali che suggeriscono il contrario. Una concezione realistica della nanoparticella come nanocluster non può trascurare le differenze di reattività dei siti di binding (vertici, spigoli, facce) dettate dalla distribuzione di densità elettronica e dall'ingombro sterico dei tiolati. Peraltro la risoluzione delle strutture cristallografiche di Au₂₅(SR)₁₈,

Introduzione

Au₃₈(SR)₂₄ e Au₁₀₂(SR)₄₄ ha ulteriormente articolato questa visione, sottolineando la presenza di un nucleo metallico di Au(0) ad alta simmetria stabilizzato da un guscio polimerico esterno di struttura RS-Au(I)-SR, di minor simmetria (C₂, C₃). Il meccanismo di reazione potrebbe quindi essere più articolato e non assimilabile a quelli delle reazioni chimiche ordinarie.

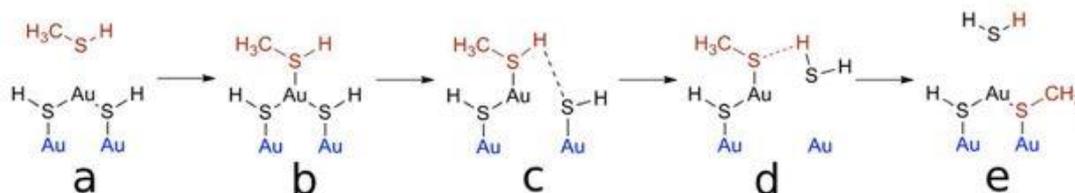


Fig. 30: meccanismo di reazione proposto per il processo di scambio di p-BBT su monostrato di p-MBA

I primi studi meccanicistici dei processi di scambio sono stati effettuati da Murray e co.³ e hanno analizzato con esperimenti NMR lo scambio di benziltiolo e ferrocenil-ottiltiolo su monostrati alchilici, trovando una dipendenza del processo cinetico rispetto alla concentrazione del tiolo entrante e uscente. Si suggerisce che il tiolo entrante penetri nel monostrato e causi la protonazione di un tiolato adsorbito sulla superficie, con la formazione di un intermedio associativo (S_N2); il tiolato uscente verrebbe a sua volta rilasciato in forma di tiolo. La velocità di scambio è stata vista diminuire con l'aumento delle dimensioni del core metallico, fenomeno riconducibile a una maggior presenza di siti altamente reattivi su nuclei di piccole dimensioni. Inoltre, è stato ipotizzato un certo dinamismo dei ligandi adsorbiti sulle facce del nanocluster, che implicherebbe fenomeni di migrazione sulla superficie aurea.

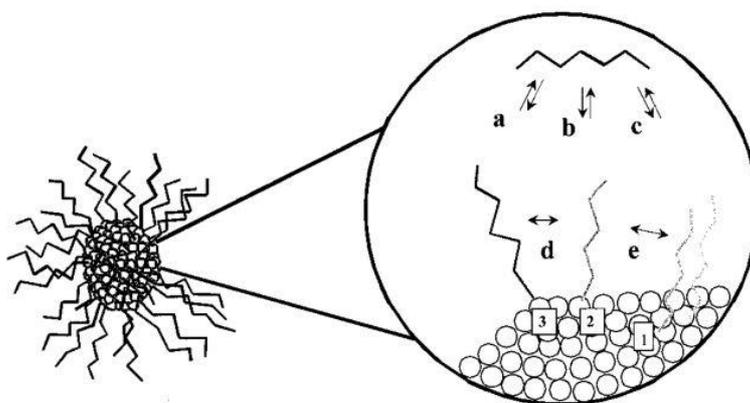


Fig. 31: raffigurazione del processo di migrazione di tiolati sulla superficie aurea e concomitanti equilibri di scambio

Introduzione

Un'altra pubblicazione riporta reazioni di scambio di ariltioli para-sostituiti su un monostrato di etilfeniltiolo⁴: è stata stabilita una correlazione Hammett tra la natura del sostituente all'anello fenilico e la velocità di scambio. Vertici e spigoli del nanocluster presenterebbero legami Au-S più polarizzati, maggiormente reattivi verso l'attacco dell'atomo di S di derivati fenilici elettronpoveri per la presenza di sostituenti elettronattrattori. Inoltre, non solo per la costante cinetica ma anche per quella di equilibrio è stata evidenziata una dipendenza inversamente proporzionale alla capacità elettronattrattiva del sostituente. Anche in questo caso si ipotizza la formazione di un intermedio di reazione del tipo SN2, in cui il tiolo entrante ed uscente sono coadsorbiti sulla superficie aurea.

La teoria del meccanismo associativo del tipo SN2 viene contrastata in uno studio EPR di adsorbimento di disolfuri su AuNPs stabilizzate da n-butantiolo¹¹. La scomparsa dei picchi caratteristici del diradiale disolfuro in seguito al chemisorbimento sulla superficie aurea può essere imputata sia ad un'alta mobilità dei tiolati in seguito alla scissione del legame -S-S-, sia a un chemisorbimento asimmetrico della specie. La seconda ipotesi è supportata dalla formazione in soluzione del disolfuro misto, catalizzata dal contatto con la superficie metallica. L'ordine della reazione di scambio è stato stabilito essere zero, supportando quindi un meccanismo dissociativo SN1.

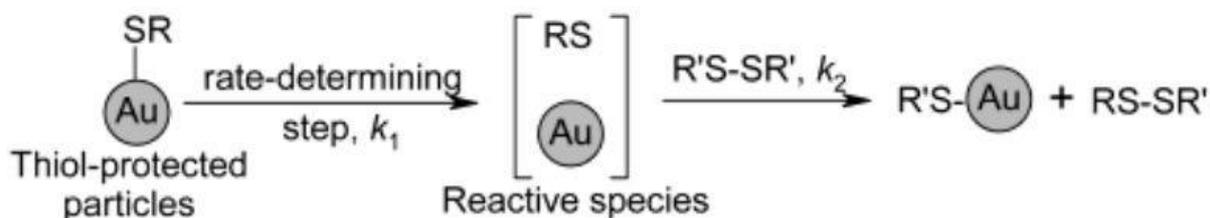


Fig. 32: meccanismo assimilabile a una SN1 desunto attraverso indagine EPR con disolfuri diradicali

La reattività dei monostrati è stata vista crescere con la diminuzione della lunghezza della catena alchilica e della forza di interazione del legame tra headgroup e superficie. Infatti, il monostrato di n-ottiltiolo non si è dimostrato reattivo, al contrario di quello costituito da n-dodecil ammina.

1.4.3. MODELLI CINETICI PER L'INDAGINE DEI PROCESSI DI SOSTITUZIONE

Gli approcci più immediati per l'analisi dei processi di scambio su monostrati autoassemblati di AuNPs si avvalgono, nella maggior parte degli studi reperibili in letteratura, della spettroscopia di fluorescenza, in quanto l'emissione di fluorofori viene in vario grado spenta nell'interazione con il nucleo metallico. Montalti e co.⁵ hanno analizzato il desorbimento di pirenil-tiolati in presenza di un eccesso di deciltiolo trovando che, in condizioni di pseudo-primo ordine, l'andamento cinetico può essere efficacemente descritto da una funzione biesponenziale del tipo:

$$I(t) = I_{f,1}(1 - e^{-k_1 t}) + I_{f,2}(1 - e^{-k_2 t})$$

dove $I(t)$, $I_{f,1}$ e $I_{f,2}$ sono le intensità di emissione al tempo t e finali dei due processi di desorbimento concomitanti, e k_1 e k_2 sono le costanti di velocità.

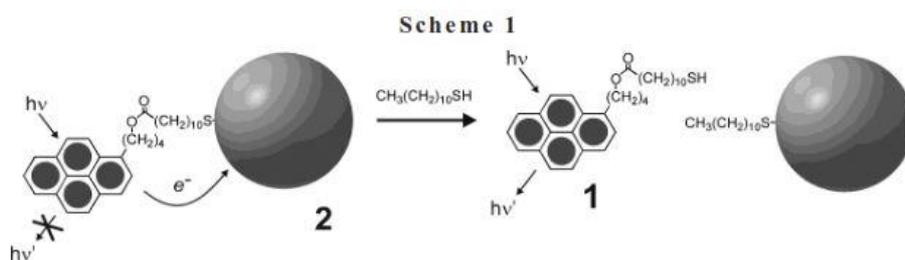


Fig. 33: rappresentazione schematica del processo di displacement di pirenilderivati in presenza di tioli competitivi

L'ordine di reazione dei due processi descritti è stato calcolato essere circa 0.3, il che implica che il desorbimento di un pirenil-tiolato causa la destabilizzazione di circa 3 unità adiacenti, risultato nuovo se comparato con gli studi precedenti nei quali l'ordine di reazione era stato stimato vicino all'unità.

Sono stati inoltre oggetto di studio fattori quali la valenza dei tioli entranti (mono, di e tri-tioli) e la dimensione delle AuNPs oggetto di scambio¹⁰, trovando che per ligandi multivalenti vi è una maggior velocità di processo rispetto a ligandi monovalenti. Questo risultato non è stato tuttavia inequivocabilmente confermato, probabilmente per l'insorgenza di altri fattori quali la stericità. È stata stabilita anche una proporzionalità diretta tra dimensioni particellari e costante di velocità, risultato inaspettato se si considera che il numero di siti ad alta reattività dovrebbe aumentare al diminuire delle dimensioni del nanocluster. L'evidenza sperimentale è stata giustificata ipotizzando

Introduzione

anche in questo caso una stabilizzazione cooperativa delle unità pireniche sulle facce piane della nanoparticella, il cui peso relativo aumenta con l'aumento delle dimensioni. La velocità di rilascio dei fluorofori tenderebbe quindi ad aumentare con le dimensioni a causa dell'aumento della destabilizzazione cooperativa sulle facce piane del nanooggetto.

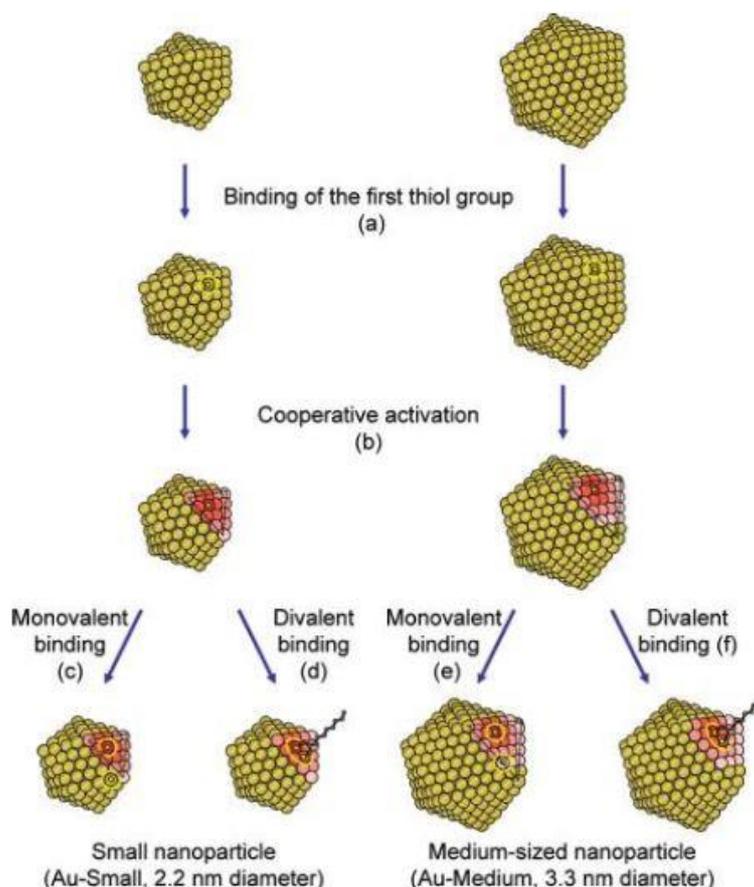


Fig. 34: schematizzazione degli effetti della multivalenza e della dimensione particellare nei processi di scambio. Il tiolo entrante (cerchio giallo) indebolisce le interazioni intercromoforiche coi tioli vicinali (rosso)

L'utilizzo di sonde fluorescenti è stato applicato anche all'analisi degli equilibri di scambio e dei valori di emissività di diversi fluorofori chemisorbiti sulla superficie aurea⁶. È stato stabilito che AuNPs di 4.5 nm di diametro inducono uno spegnimento del 100% dell'emissività del pirene, del 92% di quella del DANS (dialchilammino-nitrostilbene) e dell'83% di quella del DABP (dialchilammino fenilene). La costante di equilibrio del processo di scambio su monostrati di n-dodecantiolo del pireniltiolo utilizzato è di circa 0.2, il che indica che la presenza del fluoroforo diminuisce la capacità di penetrazione del tiolo nel monostrato. Il modello utilizzato non tiene tuttavia conto della presenza di siti a diversa reattività sulla superficie del nanocluster.

Introduzione

Appare quindi evidente che, sebbene flessibili e immediati, gli approcci basati sulla spettroscopia di fluorescenza soffrono dell'influenza sterica ed elettronica che il fluoroforo esercita nel monostrato. Un'interpretazione diversa delle dinamiche di scambio tra tiolati si può riscontrare in uno studio di scambio tra alchiltioli condotto tramite GC (Gas Chromatography)¹³, in cui si descrive il processo utilizzando un modello di tipo Langmuir del secondo ordine con limite diffusivo, la cui equazione è:

$$\delta(t) = Ak(t) / (1 + k\sqrt{t})$$

L'utilizzo di un modello cinetico di Langmuir implica che i siti di binding vengano considerati tra loro equivalenti; inoltre il modello è studiato per superfici perfettamente piane e ogni sito di binding dovrebbe teoricamente interagire con una sola molecola di adsorbato. Queste approssimazioni si rivelano molto limitanti per la morfologia di nanoclusters. Tuttavia, la buona adattabilità del limite diffusivo viene razionalizzata ipotizzando che il tiolo entrante subisca la differenza dell'intorno chimico nel passaggio tra solvente e monostrato. Sorprendentemente, la velocità della reazione di scambio non è stata riscontrata dipendere in questo caso dalla concentrazione del tiolo entrante, a differenza delle situazioni precedenti.

Appare pertanto evidente la necessità di razionalizzare le evidenze sperimentali sopracitate tramite un modello che, noti i parametri di interesse (grandezza media e polidispersività del campione, struttura del monostrato e del tiolo entrante, solvente...), permetta di controllare in modo preciso le reazioni di scambio, in modo da introdurre i tioli di interesse nella quantità e posizione desiderata.

1.4.4. BIBLIOGRAFIA

1. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 80, 1
2. Manea, F.; Bindoli, C.; Polizzi, S.; Lay, L.; Scrimin, P.; *Langmuir*, 2008, 24, 4120-4124
3. Hostetler, M.; Templeton, A.; Murray, R.; *Langmuir*, 1999, 15, 3782-3789
4. Song, Y.; Murray, R.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 7096-7102
5. Montalti, M.; Prodi, L.; Zaccheroni, N.; Baxter, R.; Teobaldi, G.; Zerbetto, F. *Langmuir*, 2003, 19, 5172
6. Nerambourg, N.; Werts, M. H. V.; Charlot, M.; Blanchard-Desce, M.; *Langmuir*, 2007, 23, 5563-5570
7. Donkers, R. L.; Song, Y.; Murray, R. W.; *Langmuir*, 2004, 20, 4703-4707
8. Guo, R.; Song, Y.; Wang, G.; Murray, R. W.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 2752-2757
9. Montalti, M.; Prodi, L.; Zaccheroni, N.; Baxter, R.; Teobaldi, G.; Zerbetto, F.; *Langmuir*, 2003, 19, 5172
10. Perumal, S.; Hofmann, A.; Scholz, N.; Ruhl, E.; Graf, C.; *Langmuir*, 2011, 27, 4456-4464
11. Ionita, P.; Carargheogheopol, A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 9049
12. Song, I.; Huang, T.; Murray, R.W.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 38
13. Kassam, A.; Bremner, G.; Clark, B.; Ulibarri, B.; Lennox, R.B.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 3476

2. SCOPO DEL PROGETTO

I progetti sviluppati in questa Tesi di Dottorato vertono sull'analisi dei fattori che influiscono sulla configurazione supramolecolare del sistema nanoparticella. La topologia dei ligandi costituenti il monostrato autoassemblato è il risultato di una molteplicità di interazioni deboli che agiscono sia in fase di sintesi che, presumibilmente, di ri-arrangiamento post-sintetico ed è quindi necessario razionalizzare i fattori per ottenere il completo controllo cinetico e termodinamico.

Nella prima parte è stata investigata l'occorrenza di fenomeni di segregazione di fase in monostrati a composizione mista utilizzando derivati dell'azobenzene e del pirene. I due cromofori sono stati pertanto co-adsorbiti sulla superficie particellare in concomitanza a tiolati i quali, sulla base di alcune recenti osservazioni del nostro gruppo di ricerca, sembrerebbero in grado di indurre la formazione di patches all'interno del monostrato. Le proprietà ottiche del campione sono state sfruttate nell'indagine di questo fenomeno: più in dettaglio, lo shift nello spettro UV-Vis per quanto riguarda il cromoforo e l'emissione eccimerica del fluoroforo pirenilico.

Nella seconda parte sono state studiate le proprietà del nucleo metallico debolmente stabilizzato da diottilammina ottenuto nella variante sintetica Peng Scrimin, adottata dal gruppo di ricerca in cui ho svolto il mio Dottorato. Questa indagine si è resa indispensabile in quanto dettata dall'osservazione, nella sintesi di monostrati misti, di fenomeni di distribuzione asimmetrica degli adsorbati, che chiaramente inficiano l'interpretazione dei dati sperimentali riguardanti la topologia del monostrato. Assunzione fondamentale è infatti che il campione a monostrato misto abbia composizione omogenea nei rapporti quantitativi tra i due tiolati. Il processo di formazione del monostrato è perciò stato indagato tramite spettroscopia di emissione di fluorescenza, sfruttando la proprietà dei nuclei metallici di spegnere l'emissione di luce di fluorofori, per capire se il nucleo metallico presenti o meno delle differenze di reattività sulla superficie. Potrebbe essere imputabile infatti a differenze di affinità dei tioli con struttura chimica diversa la distribuzione asimmetrica degli stessi. Le proprietà di alcuni monostrati funzionali sono inoltre state investigate analizzando equilibri di scambio tramite spettroscopia di fluorescenza e $^1\text{H-NMR}$, per ottenere informazioni sulle motivazioni della segregazione di fase.

Nella terza parte la proprietà di un tiolo pirenilico aromatico di stabilire interazioni deboli è stata sfruttata per la complessazione di nanoparticelle a monostrato misto idrosolubili con nanotubi di carbonio a parete singola (SWNTs). È stato sviluppato un protocollo per la complessazione di queste due tipologie di nanoggetti ed è stata analizzata la forza di interazione delle nanoparticelle e il loading di pirenilderivato adsorbito all'interno del monostrato.

Scopo del Progetto

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1. STUDIO DI FENOMENI SEGREGATIVI IN SAM A COMPOSIZIONE MISTA CON L'UTILIZZO DI DERIVATI TIOLICI FOTORESPONSIVI

3.1.1. PROPRIETA' DEL CROMOFORO AZOBENZENE

Il cromoforo azobenzene presenta diverse interessanti proprietà sia dal punto di vista fotochimico che da quello della capacità di formare interazioni intermolecolari e per questi motivi mi è sembrato un candidato adatto ad studiare l'autorganizzazione delle molecole formanti il monostrato di ricoprimento di nanoparticelle d'oro.

In effetti, in letteratura si riscontrano numerose evidenze del fatto che derivati tiolici contenenti il cromoforo azobenzene tendono ad assumere una conformazione altamente ordinata quando utilizzati per formare 2D-SAM, in modo da massimizzare le interazioni inter-adsorbato¹. La stabilizzazione aggiuntiva in questi monostrati è data dall'interazione aromatica π che si instaura tra i cromofori, e può portare a configurazioni supramolecolari anche molto diverse da quelle assunte da tiolati alchilici lineari su 2D-SAM. In particolare, l'orientazione della molecole rispetto alla superficie del substrato diventa quasi perpendicolare ($\alpha = 14^\circ$), mentre i gruppi azobenzenici si dispongono secondo un impaccamento "quasi-cristallino".

Non sono state riportate tuttavia evidenze analoghe su monostrati 3D autoassemblati su nanoparticelle; anzi, in questi casi, si cerca solitamente di massimizzare la libertà conformazionale dei tiolati al fine di ottimizzare il processo di photoswitching. Il gruppo azobenzenico è infatti probabilmente la più studiata tra le entità chimiche che manifestano questa proprietà²: l'irradiazione con luce UV (366 nm) causa l'isomerizzazione del doppio legame a favore dell'isomero cis (a patto che la reazione non sia stericamente impedita), mentre l'irradiazione con luce blu (436 nm) o il rilassamento termico riportano la molecola alla forma trans, che è più stabile in condizioni normali.

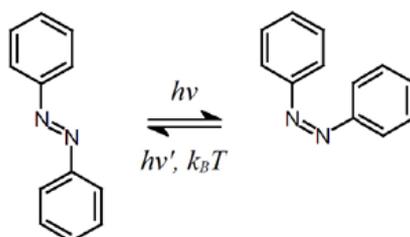


Fig. 35: schematizzazione del processo di photoswitching dei derivati azobenzenici

Risultati e discussione

Una peculiare caratteristica di questo cromoforo è la sensibilità dello stato eccitato all'interazione con molecole dello stesso tipo. Il fenomeno è particolarmente evidente in molecole anfifiliche contenenti il residuo azobenzenico, in cui la formazione di bilayers in solvente acquoso comporta un blue shift delle bande di assorbimento (l'assorbimento UV-Vis della specie monomerica si assesta tra 350 e 360 nm, mentre quello della specie aggregata, detta "stacked", è attorno ai 330 nm). Questa proprietà è stata sfruttata nello studio della segregazione di molecole anfifiliche azobenzeniche in bilayers a composizione mista³: la fusione di bilayers formati dal derivato azobenzenico con bilayers di derivati ammonici quaternari è stata monitorata in solvente acquoso a T costante, rilevando un evidente red shift dell'assorbimento UV-Vis della molecola. Questo si verifica in quanto i residui azobenzenici, densamente impaccati all'interno del doppio strato, si organizzano nella struttura "stacked"; con l'incorrere del processo di fusione avviene una diluizione dei gruppi diazobenzene all'interno del doppio strato risultante, con un conseguente spostamento del massimo di assorbimento UV-Vis verso la forma monomerica. La quantità relative di cromoforo nelle due configurazioni possono essere perciò stimate valutando il rapporto tra l'assorbimento UV-Vis a 316 nm e a 355 nm.

E' stato inoltre osservato come le caratteristiche fotochimiche del gruppo diazobenzene risentano del comportamento dinamico del doppio strato: a temperature sopra i 25° il doppio strato misto è in forma di "cristallo liquido" e l'assorbimento dell'azobenzene corrisponde alla forma monomerica.

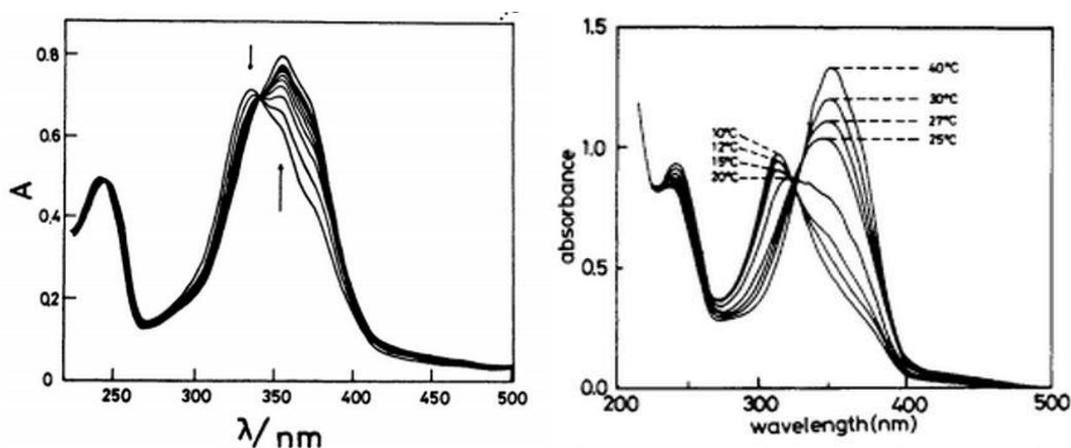


Fig. 36: variazione dello spettro di assorbimento UV-Vis durante il processo di fusione di doppi strati lipidici azobenzenici e cationici (sinistra) e durante il processo di cristallizzazione di doppi strati misti (destra)³

Con l'abbassamento di T il doppio strato passa alla forma "cristallina" e questo induce una separazione di fase: le molecole contenenti l'azobenzene si aggregano e questo porta al blue shift tipico della forma "stacked".

Risultati e Discussione

Sulla base di queste evidenze, mi sono posto l'obiettivo di investigare l'applicabilità delle proprietà del cromoforo azobenzene all'analisi dei processi segregativi del monostrato autoassemblato, indagando l'eventuale correlazione tra le proprietà di assorbimento ottico delle AuNPs e il tiolato co-adsorbito in concomitanza a quello azobenzenico in monostrati misti.

3.1.2. SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI NANOPARTICELLE STABILIZZATE DA UN DERIVATO DELL'AZOBENZENE IN MONOSTRATI UNITARI E MISTI

La sintesi delle AuNPs è stata effettuata in accordo alla procedura di Peng Scrimin utilizzata in tutta questa Tesi di Dottorato (Parte Sperimentale) e discussa nel capitolo precedente, utilizzando il derivato 11-(4-((4metossifenil) diazenil) fenossi) ottil-1-tiolo (DBZ, fig. 37).

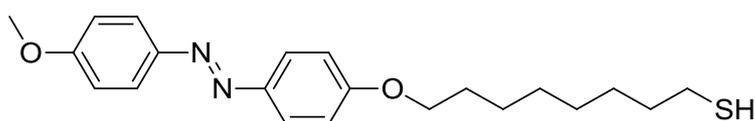


Fig. 37: struttura del derivato azobenzenico DBZ

Per le AuNPs a monostrato misto la scelta dei tioli da co-adsorbire è ricaduta sui derivati C12 e TEG (fig. 38): evidenze sperimentali ottenute in precedenza nel gruppo di ricerca presso il quale ho svolto il lavoro di tesi⁴ suggeriscono che il derivato ammidico TEG tenda a indurre segregazione di fase in monostrati a composizione mista con il derivato alchilico C12, cosa che non avverrebbe per la combinazione tra tiolato alchilico C10 e derivato fosforilcolinico ZW.

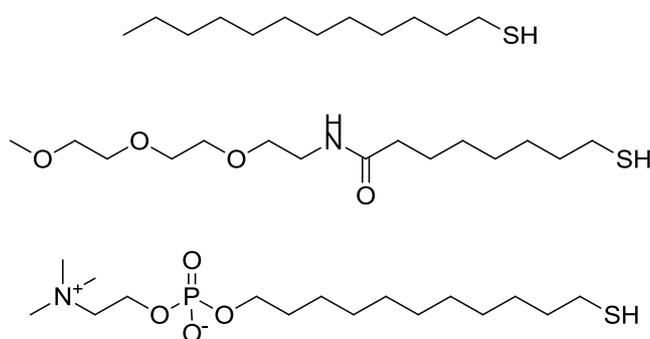


Fig. 38: struttura dei tioli utilizzati nella sintesi di monostrati misti. Dall'alto: C12, TEG e ZW

Risultati e discussione

Come discusso nell'introduzione, questo fenomeno potrebbe essere imputabile alla stabilizzazione termodinamica delle strutture aggregate dovuta dalla formazione di ponti H interadsorbato, possibili grazie alla presenza nella struttura chimica del tiolo TEG del gruppo ammidico. La sintesi del monostrati misti DBZ-C12 è stata invece attuata per verificare variazioni delle proprietà spettroscopiche del cromoforo coadsorbito con un tiolato non funzionalizzato.

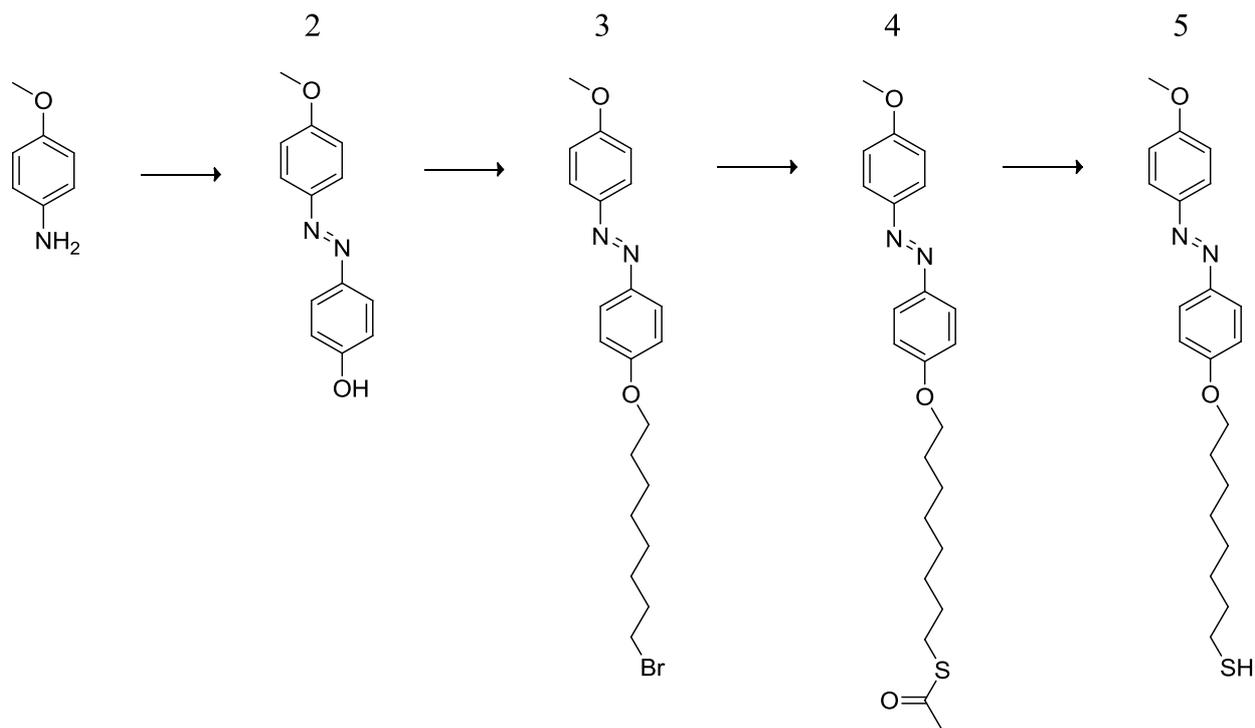


Fig. 39: percorso sintetico del derivato azobenzenico DBZ

La sintesi di DBZ (Parte Sperimentale) è stata effettuata partendo da p-anisidina che, per reazione con NaNO_2 in ambiente acido, dà origine al corrispondente sale di diazonio il quale, in presenza di fenolo, forma il corrispondente derivato azobenzenico (2). Questo viene fatto reagire poi con 1,8-dibromoottano in presenza di K_2CO_3 , ottenendo il corrispondente derivato bromoalchilico (3). Il bromoderivato ottenuto viene tioacetilato (4) per reazione con KSAc e convertito nel derivato tiolico (5) subito prima del ricoprimento delle nanoparticelle per idrolisi acida; la buona riuscita del processo sintetico è stata saggiata tramite $^1\text{H-NMR}$ e $^{13}\text{C-NMR}$ e spettroscopia di massa.

Risultati e Discussione

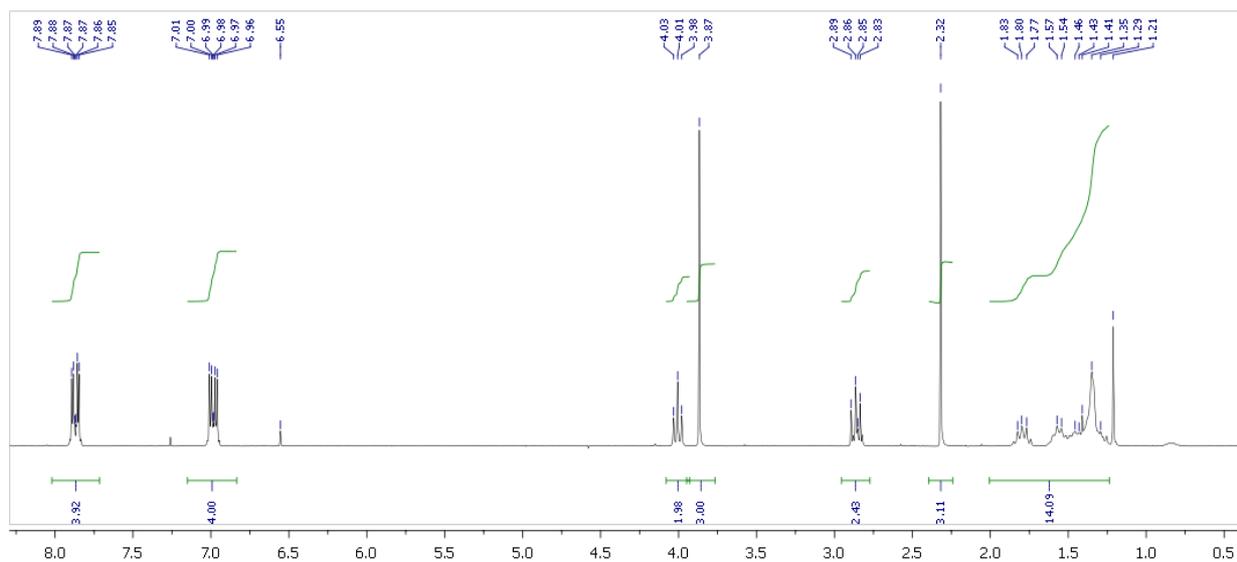


Fig. 40: spettro ^1H -NMR del derivato azobenzenico DBZ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.92 (dd, 4H, aromatic), 6.99 (dd, 4H, aromatic), 4.03 (t, 2H, CH_2O), 3.88 (s, 3H, CH_3O), 2.87 (t, 2H, CH_2S), 2.32 (s, 3H, CH_3O), 1.81 (m, 2H, aliphatic chain), 1.65-1.30 (m, 10H, aliphatic chain).

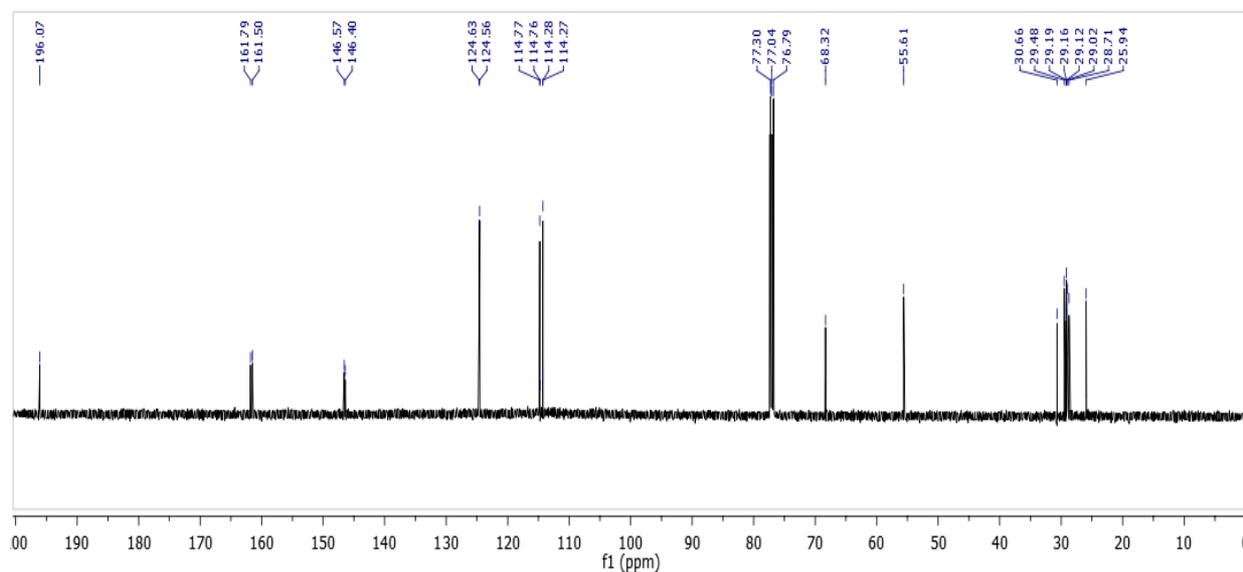


Fig. 41: spettro ^{13}C -NMR del derivato azobenzenico DBZ (CDCl_3 , 125.7 MHz, ^1H decoupled) δ : 196.1, 161.8, 161.5, 145.6, 145.4, 124.6, .124.6, 114.8, 114.8, 114.3, 114.3, 68.3, 55.6, 30.7, 29.5, 29.2, 29.2, 29.1, 29.0, 28.7, 25.9.

Risultati e discussione

Il tiolo azobenzenico DBZ è stato impiegato nella sintesi di tre campioni di AuNPs, dei quali uno a monostrato unitario e due a monostrato misto, in coadsorbimento con i tioli C12 e TEG. La sintesi di AuNPs a monostrato misto DBZ-ZW (fosforilcolinico) non è stata possibile per problemi legati alla purificazione del campione (Parte Sperimentale).

I campioni così ottenuti sono stati caratterizzati tramite spettroscopia di assorbimento UV-Vis, TGA, TEM e $^1\text{H-NMR}$.

Lo spettro UV-Vis delle AuNPs coperte con un monostrato di DBZ (fig. 42) è il risultato della superimposizione dell'assorbimento del cluster d'oro, che decade monotonicamente dalla regione dell'UV a quella del visibile, e di quello del cromoforo. La forma trans del derivato diazobenzenico presenta un debole assorbimento n,π^* a circa 430 nm e un forte assorbimento π,π^* a 358 nm, analogamente agli altri derivati del gruppo. Non si sono invece registrati spostamenti significativi della lunghezza d'onda del picco di assorbimento tra cromoforo libero e chemisorbito. L'assenza di questo effetto, come vedremo tra poco, renderà molto difficile l'interpretazione della morfologia dei monostrati misti.

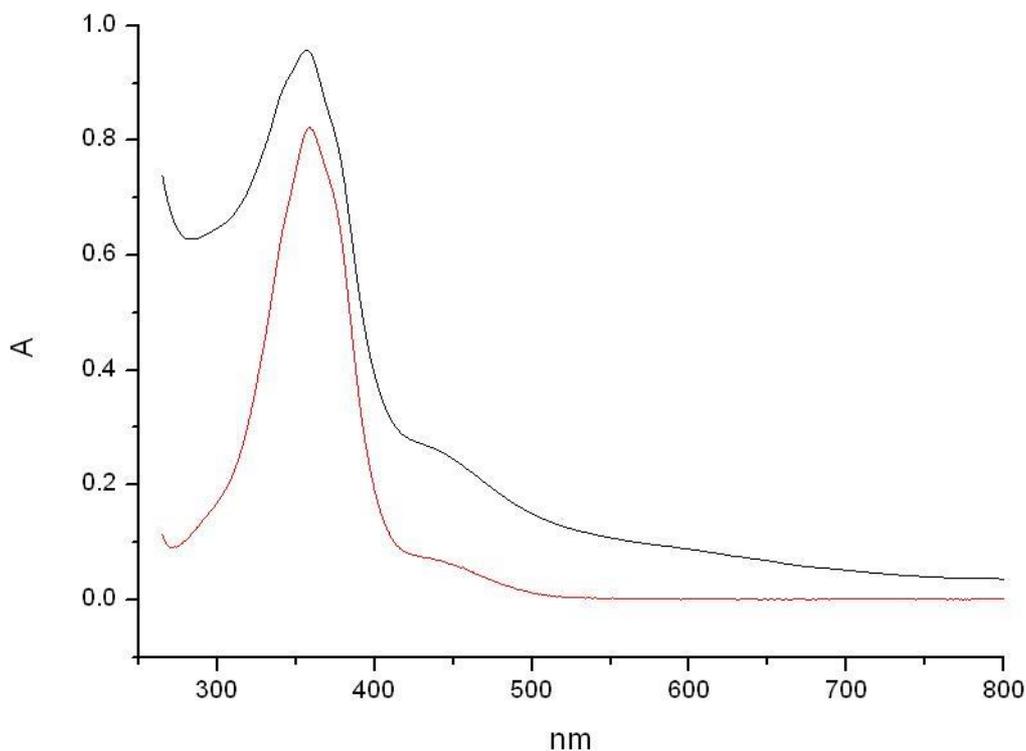


Fig. 42: spettro UV-Vis del derivato DBZ (rosso) e di AuNPs a monostrato unitario DBZ (nero) in CH_2Cl_2

Risultati e Discussione

L'analisi termogravimetrica del campione (fig. 44) ha evidenziato una percentuale di componente organica del 44.43% che, congiuntamente all'analisi dimensionale al TEM tramite la quale è stata stimata una dimensione particellare media di 1.4 ± 0.6 nm., induce a stimare la formula particellare media $\text{Au}_{85}\text{RS}_{36}$, in accordo con quella $\text{Au}_{80}\text{RS}_{38}$ calcolata da Murray e co. per nanoparticelle con un diametro di 1.3 nm con forma troncoottaedrica.

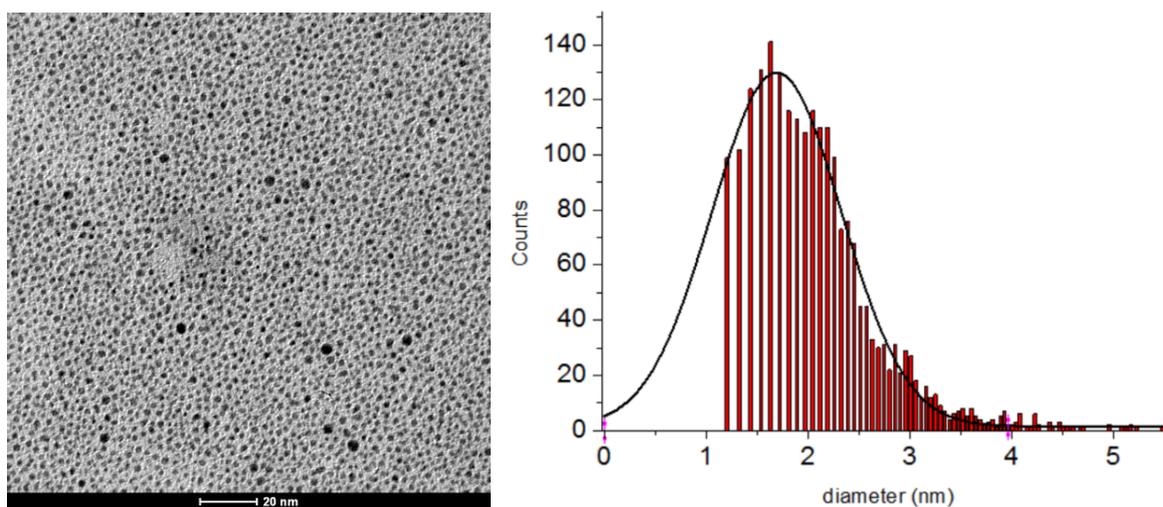


Fig. 43: analisi dimensionale di AuNPs 100% DBZ (sinistra) e distribuzione dimensionale (destra)

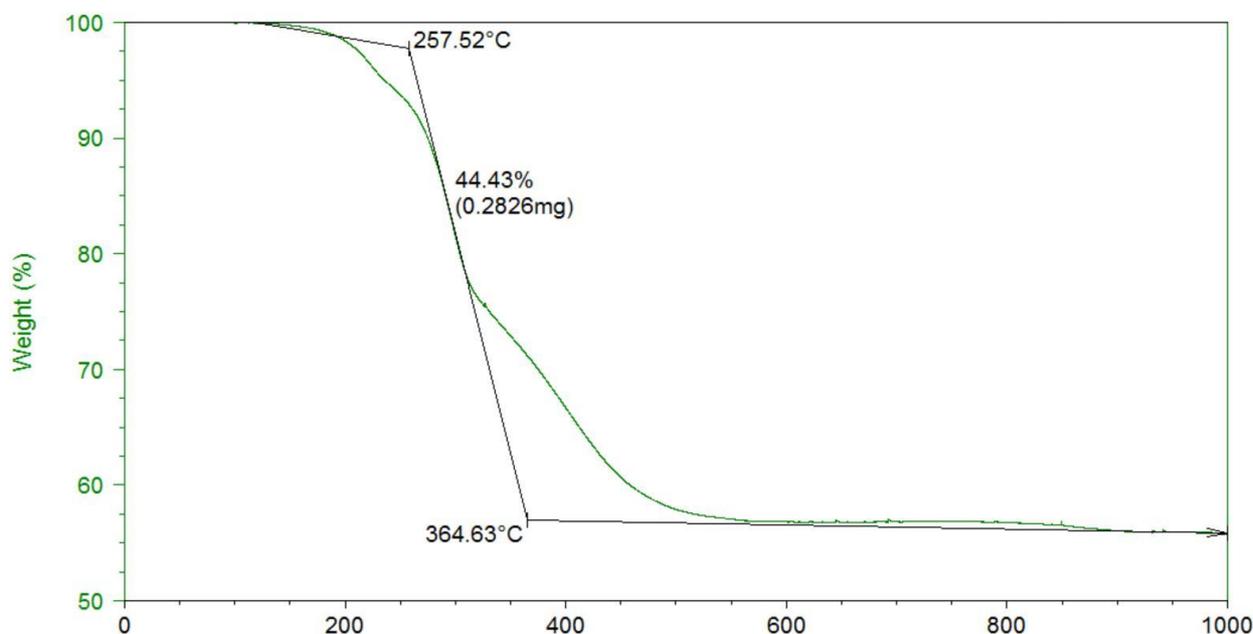


Fig. 44: analisi termogravimetrica di AuNPs a monostrato unitario DBZ

Risultati e discussione

Lo spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs stabilizzate dal derivato DBZ presenta le tipiche caratteristiche degli spettri $^1\text{H-NMR}$ di tiolati chemisorbiti su superfici metalliche; la caratteristica più evidente è l'allargamento dei segnali rispetto a quelli riferibili al tiolo in soluzione a causa dell'allungamento del tempo di correlazione dovuto alle dimensioni della nanoparticella. La caratterizzazione di campioni per NMR in soluzione è infatti possibile solo per AuNPs di dimensioni inferiori a circa 5 nm, valore al di sopra del quale l'allargamento dei picchi diventa eccessivo per una apprezzabile discriminazione degli stessi. L'allargamento è inoltre direttamente proporzionale alla vicinanza dei protoni rispetto al nucleo, per una serie di fattori: (a) i metileni situati in prossimità della superficie metallica sono i più densamente impaccati e quindi, a causa delle forti interazioni dipolari, hanno tempi di rilassamento più brevi, mentre quelli più distanti hanno tempi di rilassamento comparabili a quelli del tiolo libero; (b) i siti di binding dei tiolati sulla superficie sono differenti (vertici, spigoli, facce, oppure staples con diversa conformazione) e questo comporta una distribuzione di densità elettronica superficiale e quindi del chemical shift dei tiolati, in particolare dei $\beta\text{-CH}_2$; (c) il tempo di rilassamento spin-spin (T_2) dipende dalla mobilità delle molecole in soluzione: metileni vicini alla superficie avranno una mobilità minore e quindi maggiori tempi di rilassamento; infine (d) Au possiede un momento di quadrupolo.

Altra caratteristica rilevante dello spettro NMR è uno spostamento a chemical shift più bassi delle frequenze di risonanza nello spettro protonico relative ai protoni del sistema aromatico o prossimi ad esso, che potrebbe essere ascrivibile sia alle interazioni cromoforo-nucleo che alla densità di impaccamento e quindi alle interazioni inter cromoforiche nel monostrato.

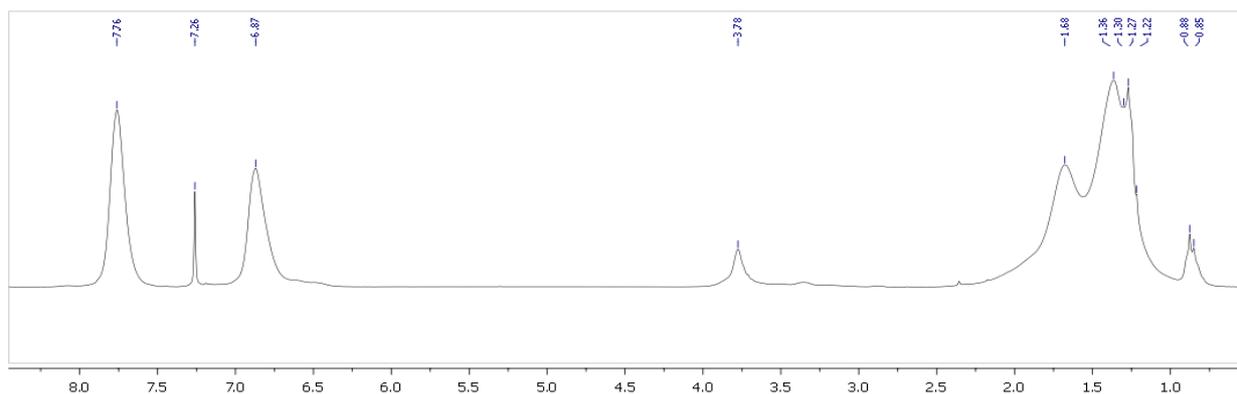


Fig. 45: spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs stabilizzate al derivato DBZ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.76 (br, 4H, aromatic), 6.87 (br, 4H, aromatic), 3.78 (br, 3H, CH_3O), 1.68-1.22 (br, 12H, aliphatic chain),

Risultati e Discussione

Anche la sintesi delle AuNPs a monostrato misto è stata effettuata utilizzando la procedura standard Peng-Scrimin (Parte Sperimentale). Anche in questo caso i campioni sono stati caratterizzati tramite spettroscopia di assorbimento UV-Vis, TGA, TEM e $^1\text{H-NMR}$.

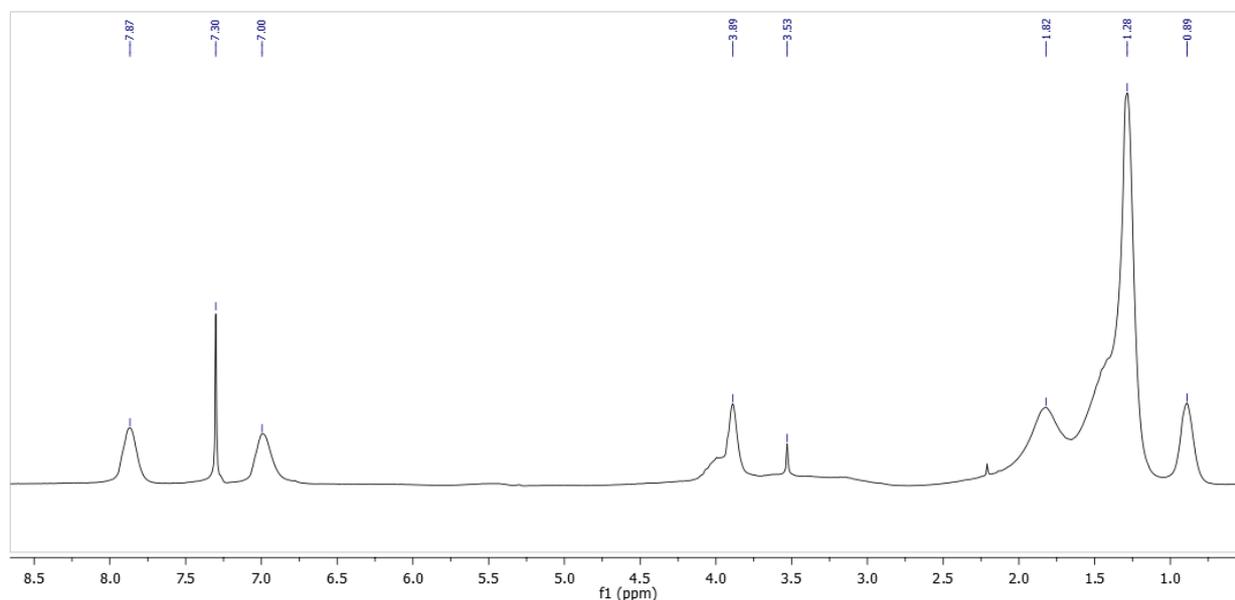


Fig. 46: spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs a monostrato misto DBZ-C12 in CDCl_3 (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.87 (br, aromatic), 7.00 (br, aromatic), 3.89 (br, CH_3O), 1.82-1.28 (br, alchilic chain), 0.89 (br, CH_3CH_2)

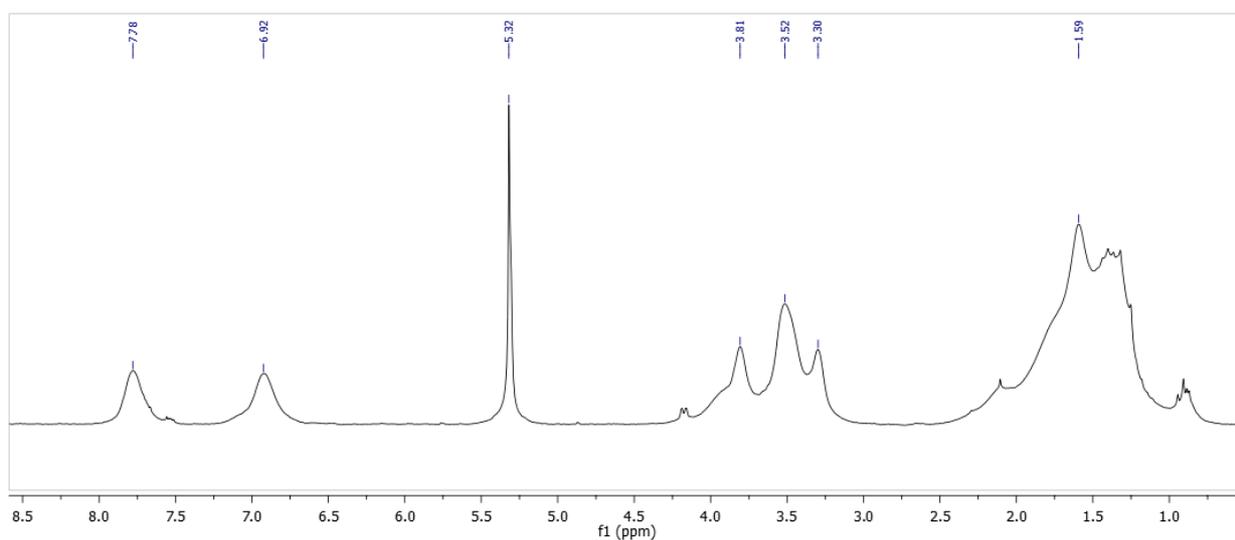


Fig. 47: spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs a monostrato misto DBZ-TEG in CD_2Cl_2 (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.78 (br, aromatic), 6.92 (br, aromatic), 3.81-3.30 (br, TEG chain), 2.21-1 (br, alchilic chain),

Gli spettri $^1\text{H-NMR}$ dei campioni a monostrato misto contengono, come previsto, i picchi relativi alle due tipologie di adsorbati costituenti il monostrato; per una determinazione più accurata dei

Risultati e discussione

rapporti quantitativi dei tiolati è stato registrato uno spettro $^1\text{H-NMR}$ di parte del campione dopo decomposizione ossidativa indotta tramite l'aggiunta di I_2 (Parte Sperimentale). Questo causa l'ossidazione dei tiolati a disolfuri e il conseguente distacco di questi dalla superficie metallica, con conseguente aumento di risoluzione dei picchi nello spettro $^1\text{H-NMR}$ ed un miglior risultato dell'integrazione. La composizione esatta del monostrato è stata perciò determinata in 62%C12-38%DBZ per il campione contenente il derivato alchilico e 56%TEG-44%DBZ per il campione contenente il derivato ammidico.

Dal confronto tra gli spettri $^1\text{H-NMR}$ delle nanoparticelle DBZ e DBZ-C12, registrati nello stesso solvente, si può notare come i chemical shift relativi ai segnali aromatici nel monostrato misto siano simili a quelli della molecola di DBZ, a differenza di quanto riscontrato in precedenza per le nanoparticelle ricoperte dal solo DBZ, dove si osserva un piccolo spostamento dei segnali a campi alti. Questa differenza esclude che questo effetto sia dovuto all'ancoraggio al nucleo d'oro e indica invece come esso sia dovuto alla prossimità tra residui aromatici ed agli effetti che questi producono sui chemical shifts delle specie circostanti. In questa ipotesi, l'osservazione che nel monostrato misto non vi è alcuna significativa alterazione della posizione dei segnali, parrebbe suggerire che in questo non vi sia alcuna segregazione dei due diversi tioli, e che la diluizione della specie azobenzenica con il tiolo alchilico ne prevenga l'aggregazione. Per quanto riguarda lo spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs a monostrato misto DBZ-TEG, considerazioni analoghe non possono essere fatte a causa dell'instabilità del campione in CDCl_3 , che ha costretto a registrarne lo spettro in CH_2Cl_2 .

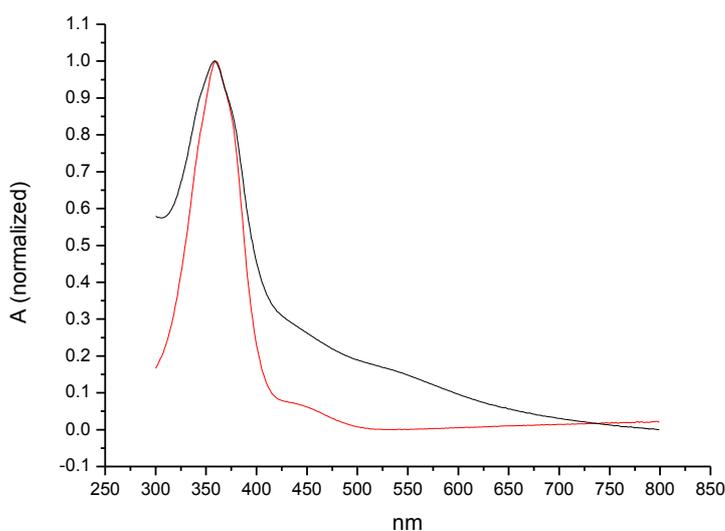


Fig. 48: spettro UV-Vis del derivato DBZ (rosso) e di AuNPs a monostrato misto DBZ-C12 (nero) in CH_2Cl_2

Risultati e Discussione

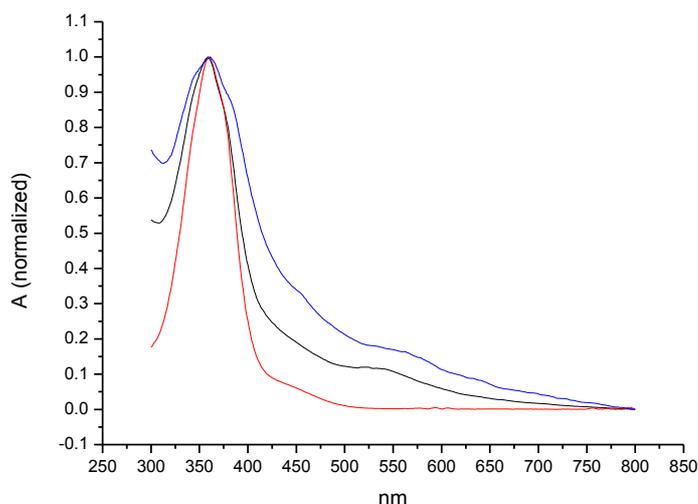


Fig. 49: spettro UV-Vis del derivato DBZ (rosso) e di AuNPs a monostrato misto DBZ-TEG (CH₂Cl₂-nero, H₂O-blu)

Gli spettri UV-Vis dei campioni non possono essere di aiuto per confermare le ipotesi sopracitate (fig.48 e fig. 49). Infatti anche nel caso delle nanoparticelle ricoperte dal monostrato costituito dal solo tiolo azobenzenico, non si registrano spostamenti del picco di assorbimento del cromoforo indicando che anche in questa situazione i residui di azobenzene si comportano come molecole isolate in soluzione. Dal momento che nel monostrato omogeneo si ha la massima densità superficiale di cromofori, questo comportamento suggerisce che vi siano altri effetti, oltre alla prossimità spaziale, responsabili del blue-shift riportato in letteratura per sistemi aggregati contenenti il cromoforo. Probabilmente, i vincoli conformazionali imposti dall'aggancio alla particella ed alla elevata curvatura del sistema sono tali da impedire alle molecole di azobenzene di assumere la corretta orientazione reciproca necessaria a produrre il blue-shift. Va inoltre sottolineato che studi successivi svolti presso il dipartimento di Scienze Chimiche "G. Ciamician" dell'Università di Bologna hanno dimostrato come i cromofori azobenzenici delle particelle DBZ, eccitate a 360 nm, subiscono isomerizzazione con grandissima efficienza. Questa osservazione dimostra che l'impaccamento ottenuto nel monostrato 3D non è tale da impedire stericamente la fotoisomerizzazione e potrebbe suggerire che la scarsa prossimità spaziale, o l'elevata flessibilità conformazionale, dei residui azobenzenici sia una causa del mancato spostamento verso il blu dello spettro di assorbimento.

In ogni caso, l'uso del cromoforo azobenzenico come sonda ottica per investigare eventuali processi segregativi nel monostrato si rivela non praticabile. Conseguentemente, ho deciso di spostare la mia attenzione sull'uso del fluoroforo pirenico il quale, come illustrato nei paragrafi successivi, dovrebbe possedere caratteristiche simili

3.1.3. PROPRIETA' SPETTROSCOPICHE DEL PIRENE

Il pirene è una delle molecole fluorescenti più investigate in letteratura poiché presenta picchi di assorbimento ed emissione strutturati e estremamente sensibili all'intorno chimico, che possono essere sfruttati per il sensing di analiti o per l'indagine di sistemi supramolecolari.

Lo spettro di emissione del pirene in forma monomericamente presenta una serie di picchi caratteristici a 379 e 397 nm, dovuti al rilassamento dello stato eccitato a diversi livelli energetici vibrazionali dello stato fondamentale ed è caratterizzato da tempo di vita molto lungo ($\tau=450$ ns, $\phi=0.6$ in cicloesano⁴). Inoltre l'intensità delle diverse bande vibrazionali dipende strettamente dall'ambiente in cui la molecola si trova ed in particolare dalla sua polarità.

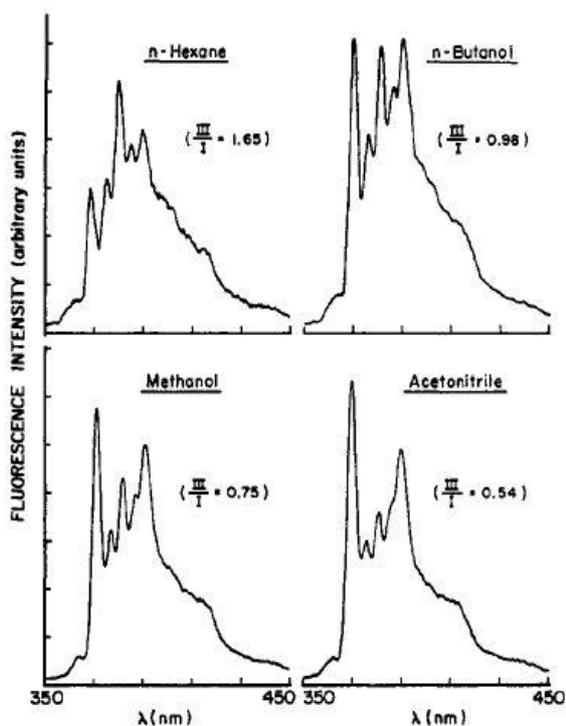


Fig. 50: influenza del solvente sull'intensità delle bande vibroniche del pirene monomero.

Il rapporto delle bande III/I è inversamente proporzionale alla polarità del solvente.

A concentrazioni elevate di pirene o in presenza di derivati contenenti più di un residuo pirenico è possibile osservare anche una banda larga e non strutturata di emissione eccimerica, centrata a 500 nm. L'emissione eccimerica si verifica quando una molecola di pirene allo stato eccitato subisce un processo di accoppiamento con un'altra specie monomericamente non eccitata, in questo modo si forma un complesso eccitato che emette con un'energia radiante inferiore. La formazione di eccimeri (o dimeri eccitati) in soluzione viene schematizzata tramite il seguente schema:

Risultati e Discussione



Dal momento che l'emissione eccimerica richiede che due molecole di pirene vengano a trovarsi in stretto contatto nel breve tempo di vita dello stato eccitato, la sua osservazione è una conferma della vicinanza spaziale di due o più molecole in soluzione. Il pirene è comunque in grado di stabilire anche interazioni anche allo stato fondamentale (ground state interactions), il cui grado è direttamente proporzionale alla polarità dell'intorno chimico, che causano uno spostamento verso il rosso delle bande di assorbimento nello spettro UV-Vis (strutturate a 344 nm circa in CH₂Cl₂).

Per queste proprietà, il pirene è una delle sonde molecolari di più largo utilizzo, in campo sia chimico (rilevamento di analiti) che biologico (studio di interazione di macromolecole biologiche in micelle, membrane...)⁵. Tra i tanti esempi di chimica supramolecolare applicata che sfrutta il pirene vi sono le sonde chimiche per la quantificazione degli anioni F⁻: in questo caso, la struttura di un calix[4]arene viene derivatizzata con due unità simmetriche di pirene: la complessazione con l'anione induce un avvicinamento spaziale dei fluorofori, influenzando sull'intensità della banda di emissione eccimerica⁶. Tuttavia, anche lo spegnimento/accensione di fluorescenza del monomero costituisce un parametro utile per la rilevazione/quantificazione di interazioni supramolecolari, applicabile, ad esempio, all'interazione tra pirene e β-ciclodestrina. Il complesso di inclusione del fluoroforo nel monomero di cicloamilosio è stato studiato valutando la variazione del rapporto tra le bande di emissione monomeriche e l'accensione della fluorescenza promosso dall'ambiente interno apolare del ciclo, che minimizza lo spegnimento operato da O₂⁷.

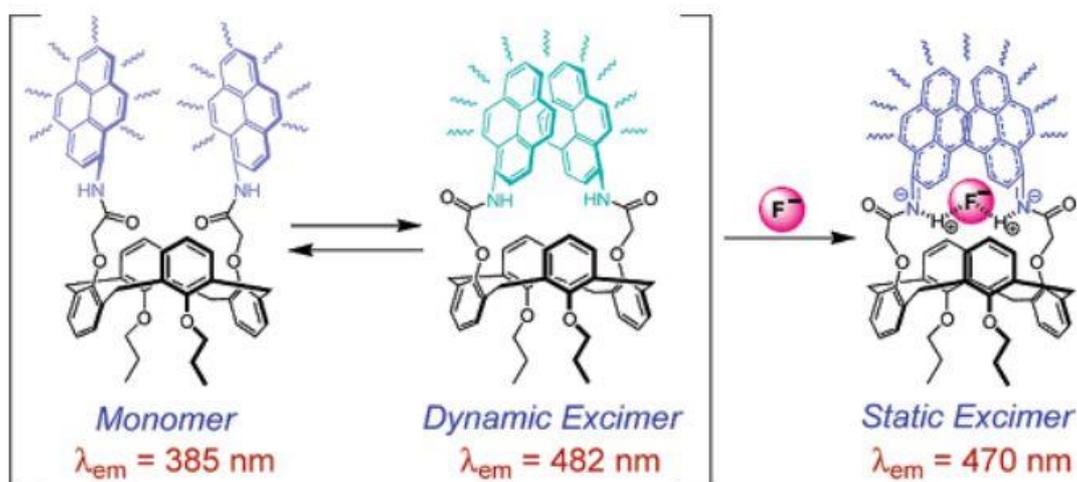


Fig. 51: meccanismo di attivazione del sensore supramolecolare per anione F⁻ basato sul pirene

Risultati e discussione

Per quanto riguarda la relazione tra pirene e AuNPs, vi sono pubblicazioni che hanno analizzato le proprietà emissive di leganti pirenilici in funzione della lunghezza dello spacer alchilico introdotto tra nucleo metallico e fluoroforo e della frazione di loading degli stessi passivanti in sistemi a composizione binaria⁸. Sono inoltre stati valutati i valori delle costanti termodinamiche in reazioni di scambio di derivati pirenilici sul SAM di dodecantiolo⁹ di AuNPs di grandezza media 4.5 nm.

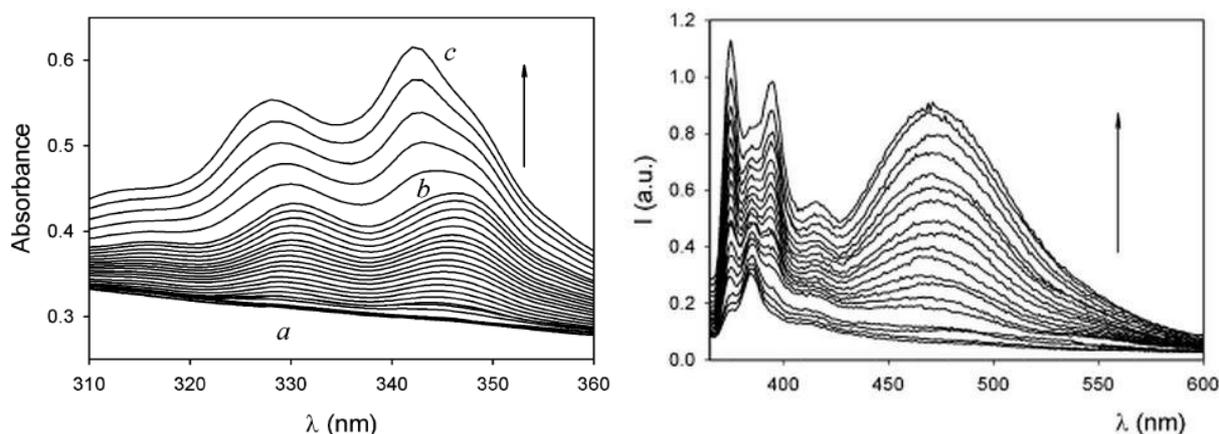


Fig. 52: l'adsorbimento di pirenilderivati su nanoclusters metallici causa un red-shift nello spettro di assorbimento UV-Vis del cromoforo (sinistra) e un aumento dell'emissione eccimerica nello spettro di emissione di fluorescenza (destra)

Si sono delineati i fattori critici che influenzano la relazione fluoroforo/nucleo metallico: se da un lato viene accettata una proporzionalità diretta tra la frazione di loading e l'emissione eccimerica, questo non è necessariamente vero, nel caso in cui ad esempio la lunghezza dello spacer alchilico non sia sufficiente (e non permetta quindi una adeguata mobilità del fluoroforo) e/o la curvatura del raggio particellare sia tale da prevenire interazioni dimeriche. La validità di queste considerazioni viene tuttavia messa in discussione da risultati contrastanti sulla stabilità delle soluzioni di AuNPs stabilizzate da pirenilderivati, e in particolare sulla possibile aggregazione che potrebbe avvenire nel campione per interazioni aromatiche interparticellari¹⁰.

Alla luce di queste considerazioni, ci si è posti come obiettivo la sintesi di AuNPs a monostato misto contenenti un derivato pirenilico ammidico/estereo in co-adsorbimento con un tiolo alchilico, e di operare un confronto delle proprietà emissive dei campioni. La ratio alla base di queste ricerche è che il gruppo ammidico possa indurre segregazione di fase in modo più pronunciato rispetto all'equivalente estereo, che dovrebbe riflettersi negli spettri di emissione di fluorescenza come un aumento dell'emissione eccimerica (480 nm) del campione.

3.1.4. SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI NANOPARTICELLE STABILIZZATE DAI DERIVATI PIRENILICI PYR2 E PYR3 IN MONOSTRATI UNITARI E MISTI

La sintesi delle AuNPs è stata effettuata in accordo alla procedura standard utilizzata in tutta questa Tesi di Dottorato (Parte Sperimentale), utilizzando derivati pirenilici omologhi piren-1-il-metil 8-mercaptotetanoato (PYR2) e 8-mercapto-N-(piren-1-il-metil)ottanammide (PYR3) (fig. 53).

L'ipotesi alla base di questa scelta era quella di utilizzare molecole dotate di un gruppo pirenilico, in grado di agire come "reporter" dello stato di aggregazione delle molecole nel monostrato, e di un gruppo in grado di stabilire un'interazione intermolecolare. In questo caso, il gruppo ammidico potrebbe agire come donatore/accettore di legami a idrogeno favorendo l'aggregazione dei tiolati sulla superficie della particella, mentre il derivato contenente la funzione esterea svolge il ruolo di specie di controllo.

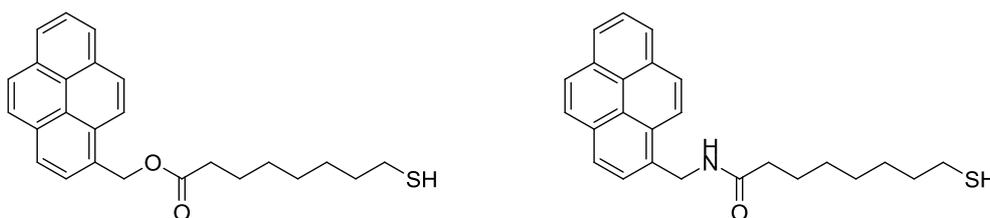


Fig. 53: struttura dei derivati pirenilici PYR2 (sinistra) e PYR3 (destra)

Il cammino sintetico attuato per la sintesi del pirenilderivato PYR3 è riportato in fig.54.

Esso prevede come primo stadio la reazione tra acido 8-bromoottanico e tioacetato di potassio, in modo da introdurre nel derivato il gruppo tiolo già protetto come tioestere; successivamente il gruppo carbossilico viene fatto reagire con pirenemetilamina per formare la corrispondente amide ed infine il gruppo acetile a protezione dello zolfo viene rimosso per idrolisi acida.

Risultati e discussione

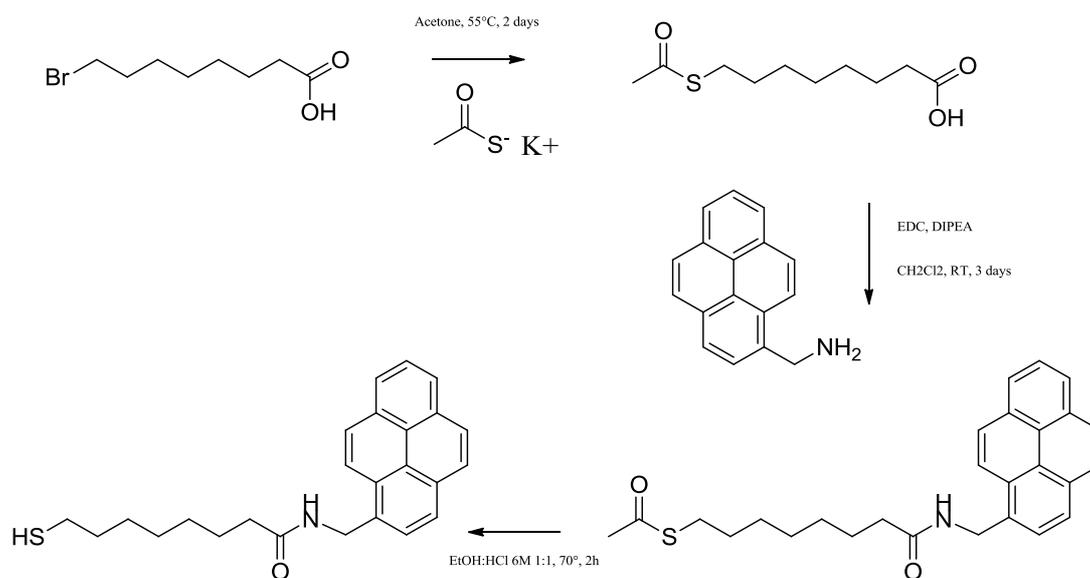


Fig. 54: percorso sintetico attuato per la sintesi del derivato pirenilico PYR3

Questo percorso sintetico si è rivelato non attuabile per il pirenilderivato PYR2, data la labilità del legame estereo nell'ambiente acido (HCl 6M) usato nella fase di deprotezione del gruppo tiolo. È stata quindi tentata la seguente variante sintetica (fig. 55):

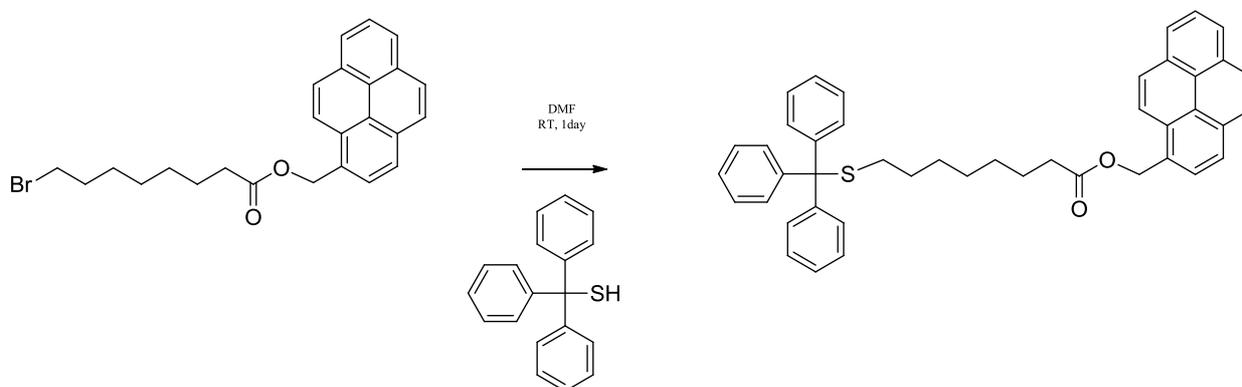


Fig. 55: primo percorso sintetico attuato per la sintesi del derivato pirenilico PYR2

Lo sblocco del gruppo trifenilmetilico è stato tentato inizialmente con acido trifluoroacetico (TFA/CH₂Cl₂, 1h, rt) con risultati insoddisfacenti, e successivamente in CH₃SNa (CH₃SNa/MeOH, RT, 1d). In ogni caso, si rivela necessaria la purificazione cromatografica del prodotto con basse rese; di conseguenza ho esplorato il seguente cammino sintetico (fig. 56):

Risultati e Discussione

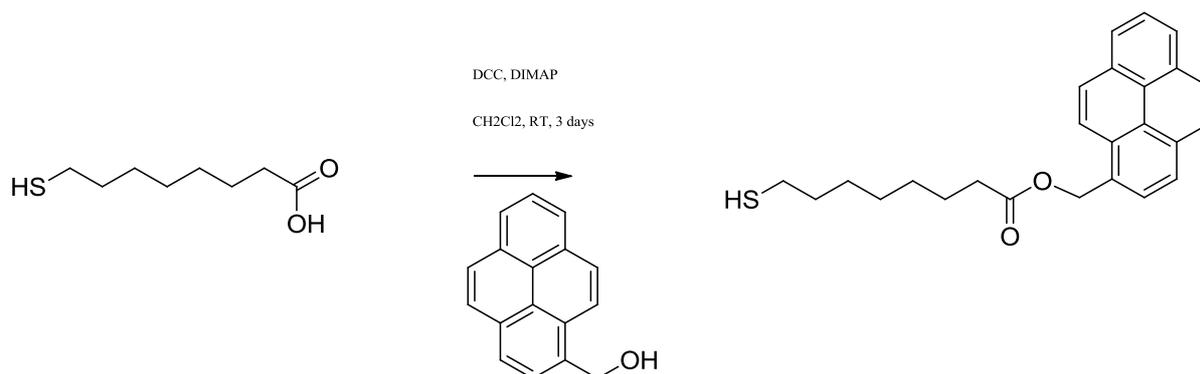


Fig. 56: percorso sintetico definitivo attuato per la sintesi del derivato pirenico PYR2

Tale metodo di preparazione, seppur più immediato, ha lo svantaggio di fornire tioli in forma non protetta e quindi maggiormente soggetta alla degradazione per ossidazione del tiolo a disolfuro. I prodotti PYR2 e PYR3 sono stati successivamente caratterizzati tramite spettroscopia ¹H-NMR e ¹³C-NMR, spettrometria di massa e spettroscopia di assorbimento UV-Vis e di emissione di fluorescenza. Si riportano qui di seguito gli spettri ¹H-NMR dei due prodotti e gli spettri UV-Vis e di fluorescenza del pirenilderivato PYR2 (gli spettri dell'omologo ammidico PYR3 non presentano significative differenze).

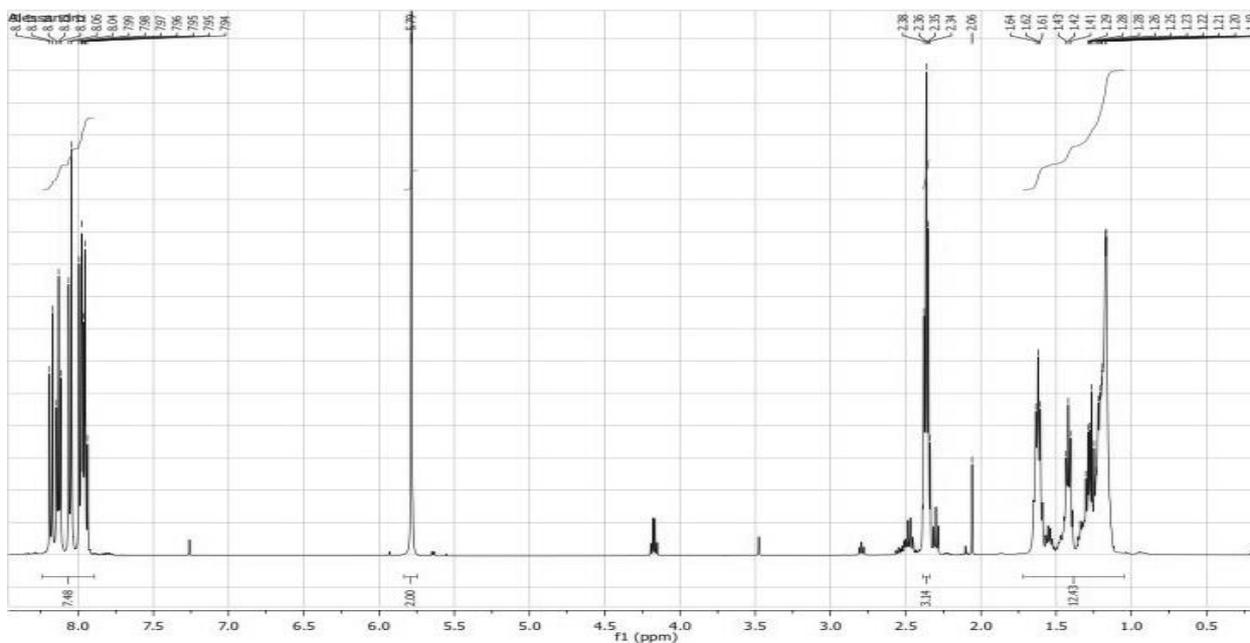


Fig. 57: spettro ¹H-NMR del derivato PYR2 (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.27-7.94 (9H, aromatic), 5.79 (s, 2H, PYRCH₂), 2.36 (t, 2H, SCH₂), 2.28 (s, 3H, CH₃CO), 1.64-1.17 (10H, aliphatic chain)

Risultati e discussione

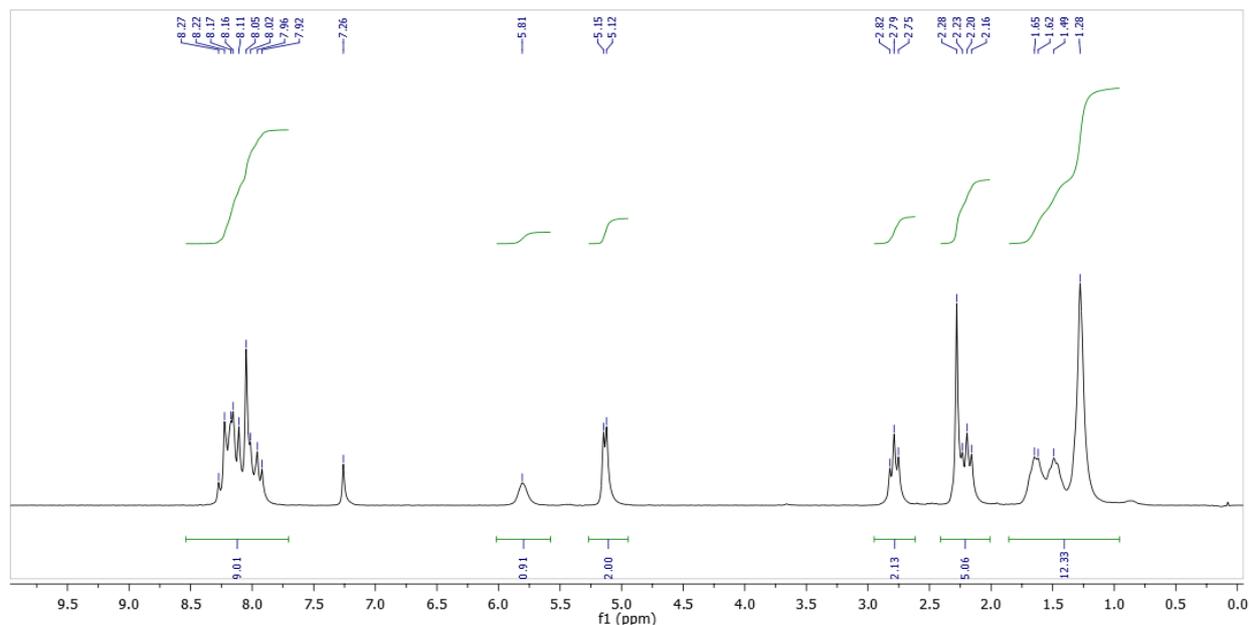


Fig. 58: spettro $^1\text{H-NMR}$ del derivato PYR3 (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.27-7.92 (9H, aromatic), 5.81 (br, 1H, NH), 5.12 (s, 2H, PYRCH_2), 2.79 (t, 2H, CH_2CO), 2.28 (s, 3H, CH_3CO), 2.20 (t, 2H, SCH_2), 1.65-1.28 (10H, aliphatic chain)

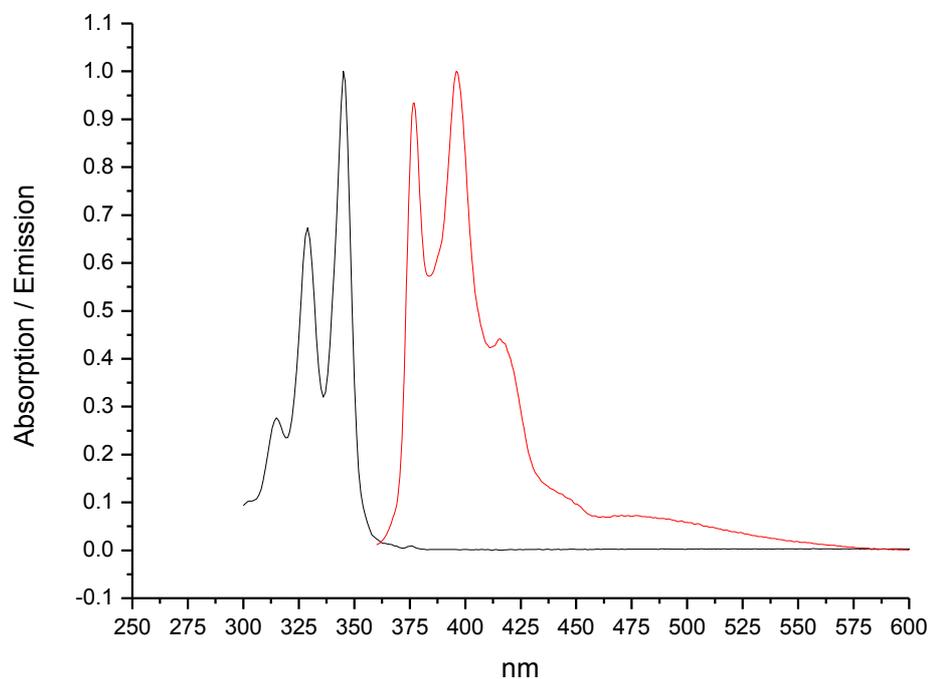


Fig. 59: spettri di assorbimento UV-Vis (nero) e di emissione di fluorescenza (rosso) normalizzati del pirenilderivato PYR2 in CH_2Cl_2 . Non si riscontrano differenze negli spettri del derivato ammidico PYR3.

Risultati e Discussione

Si è quindi proceduto alla sintesi e caratterizzazione di AuNPs stabilizzate da PYR2 e PYR3 in monostrati unitari e misti con il tiolo C12 (fig. 38), allo scopo di correlare le proprietà fotochimiche dei campioni con la frazione di pirenilderivato all'interno del monostrato. La sintesi delle AuNPs è stata effettuata seguendo la procedura Peng-Scrimin già descritta (Parte Sperimentale).

I campioni ottenuti sono stati caratterizzati tramite spettroscopia di assorbimento UV-Vis, TGA, TEM, DSC e $^1\text{H-NMR}$.

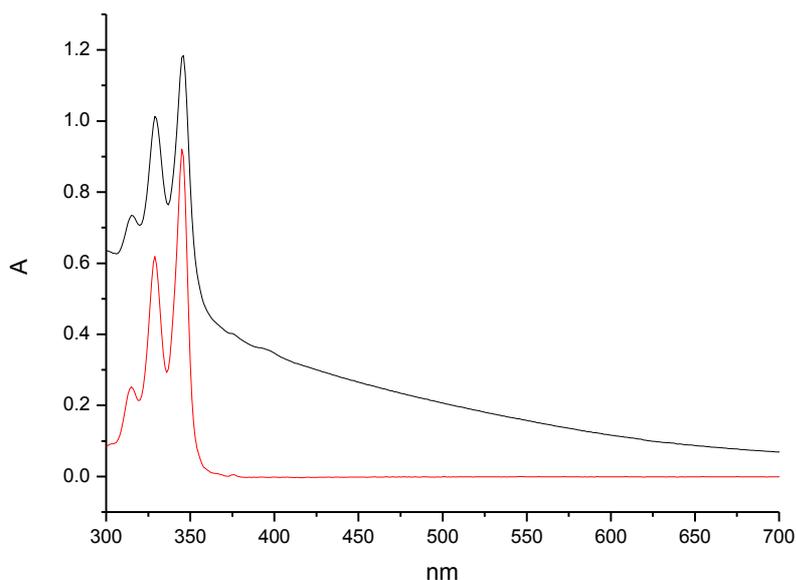


Fig 60: spettro di assorbimento UV-Vis di PYR2 (rosso) e di AuNPs stabilizzate da PYR2 (nero) in CHCl_3

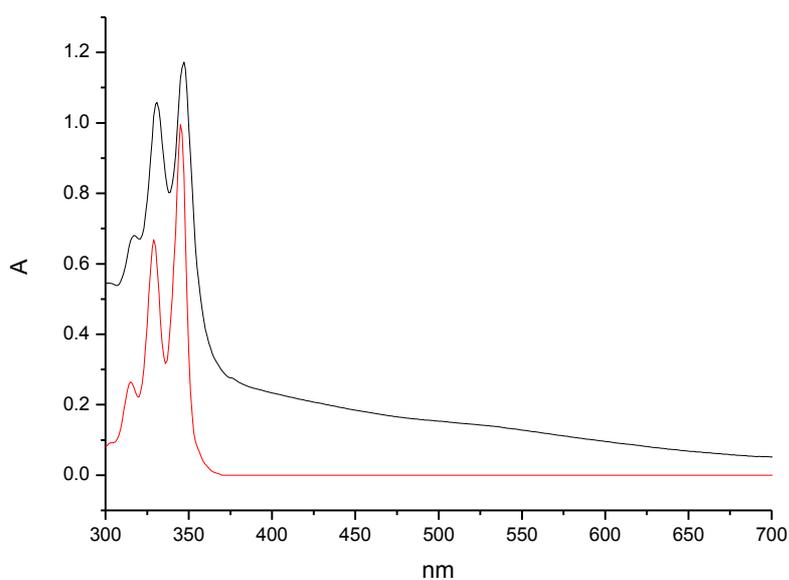


Fig. 61: spettro di assorbimento UV-Vis di PYR3 (rosso) e di AuNPs stabilizzate da PYR2 (nero) in CHCl_3

Risultati e discussione

Come si può osservare in fig. 60 e fig. 61, lo spettro di assorbimento UV-Vis delle nanoparticelle a monostrato unitario è la superimposizione degli spettri di assorbimento del cromoforo e dei nuclei metallici del campione. La mancanza della SPB (Surface Plasmon Band) a 520 nm indica che per entrambi i campioni la distribuzione dimensionale dei nuclei ha il suo massimo al di sotto dei 3 nm. Il chemisorbimento non causa destrutturazione delle bande di assorbimento dei pirenilderivati grazie alla lunghezza dello spacer alchilico, che previene l'interazione tra gli elettroni di conduzione del nanocluster e la nuvola elettronica π del policiclo aromatico¹². Non sono stati rilevati spostamenti significativi delle bande di assorbimento del fluoroforo tra la forma libera e quella chemisorbita per quanto riguarda il campione di AuNPs stabilizzate dal derivato estereo PYR2; un debole ma significativo red shift (3 nm) si riscontra invece nelle AuNPs stabilizzate dal derivato ammidico PYR3. Come discusso nel paragrafo precedente, questo spostamento dei massimi di assorbimento è indice dell'aggregazione dei gruppi pirenilici e suggerisce che nel monostrato costituito di PYR3 vi possa essere una maggior aggregazione/interazione tra i residui pirenilici come conseguenza della formazione dei legami a idrogeno intermolecolare tra i gruppi ammidici presenti nel tiolo.

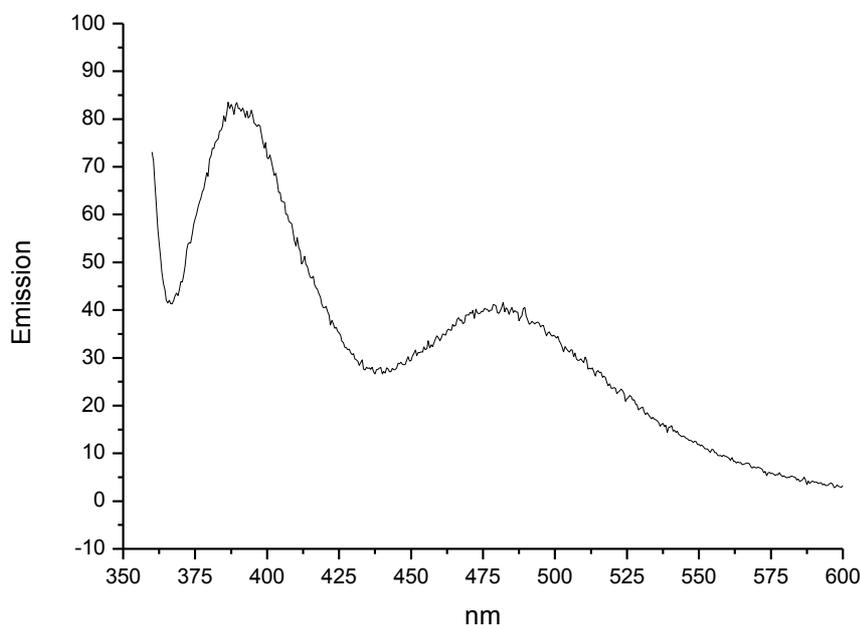


Fig. 62: spettro di emissione di fluorescenza di AuNPs stabilizzate da PYR2 in CH_2Cl_2

Risultati e Discussione

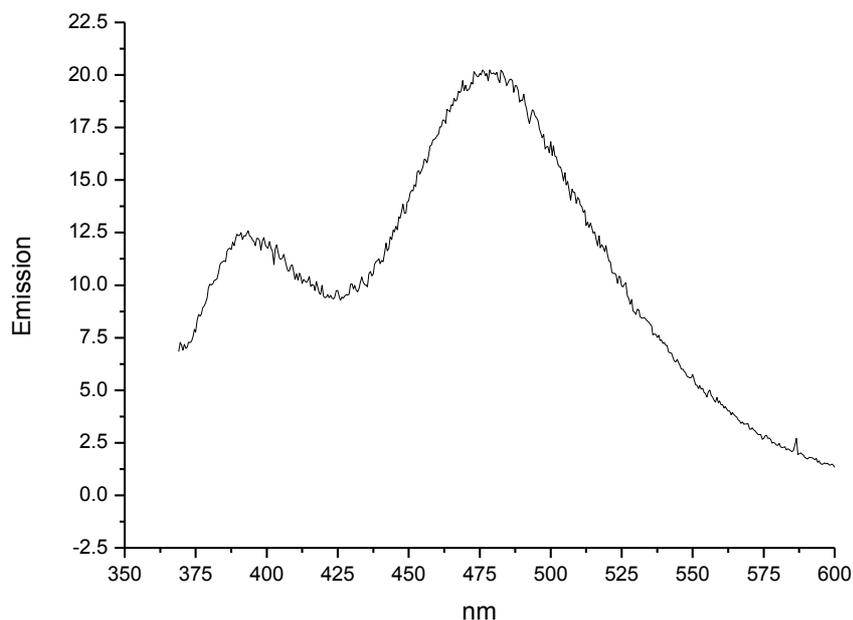


Fig. 63: spettro di emissione di fluorescenza di AuNPs stabilizzate da PYR3 in CH_2Cl_2

Anche una valutazione degli spettri di emissione di fluorescenza dei campioni (fig. 62 e 63) induce a supporre che il monostrato composto dal derivato ammidico sia maggiormente impaccato di quello estereo. Infatti le particelle ricoperte da PYR3 mostrano una prevalente emissione eccimerica a 480 nm, mentre nello spettro delle particelle ricoperte da PYR2 prevale l'emissione monomerica. Un maggior grado di impaccamento implica una maggior vicinanza delle unità fotoattive e quindi un aumento della probabilità di collisione di una specie fotoeccitata con una equivalente vicinale.

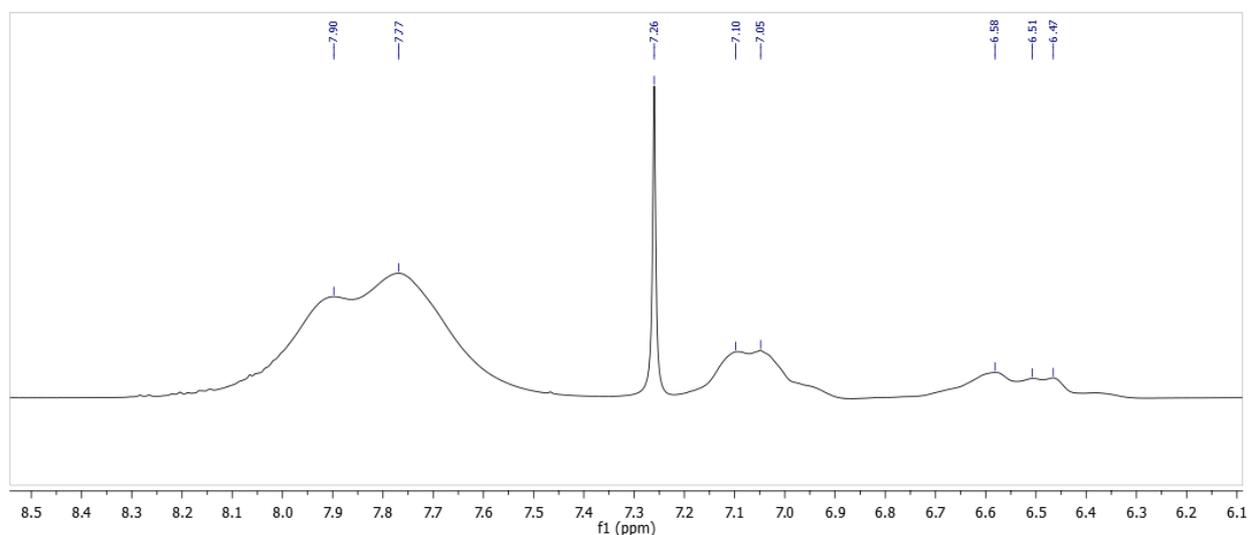


Fig. 64: porzione aromatica dello spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs stabilizzate da PYR2 in CDCl_3

Risultati e discussione

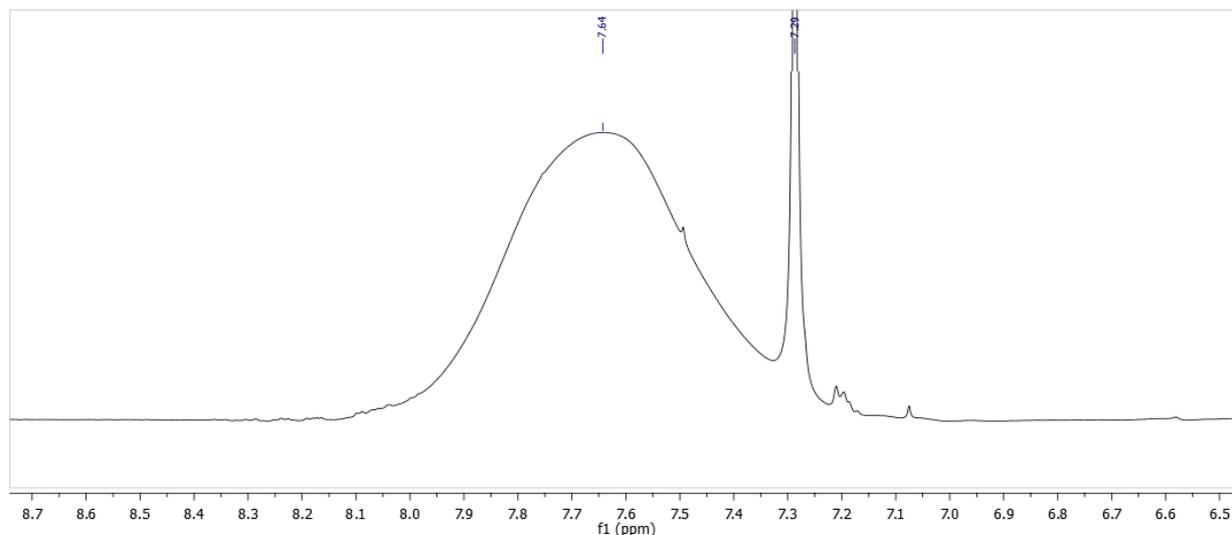


Fig. 65: porzione aromatica dello spettro $^1\text{H-NMR}$ di AuNPs stabilizzate da PYR3 in CDCl_3

Gli spettri $^1\text{H-NMR}$ dei due campioni di AuNPs presentano le tipiche caratteristiche degli spettri protonici di tiolati adsorbiti sulla superficie di nanoclusters metallici. Si può notare però come nello spettro del derivato ammidico i segnali relativi ai protoni aromatici collassino in un segnale molto allargato, e dal momento che i due campioni di nanoparticelle hanno dimensioni simili così come lo è la struttura dei due tioli, l'allargamento dei segnali NMR è molto probabilmente correlato ad una minor mobilità dei gruppi pirenilici nel monostrato di PYR3. Questa osservazione suggerisce quindi un maggior grado di impaccamento quando nel monostrato sono presenti dei gruppi ammidici.

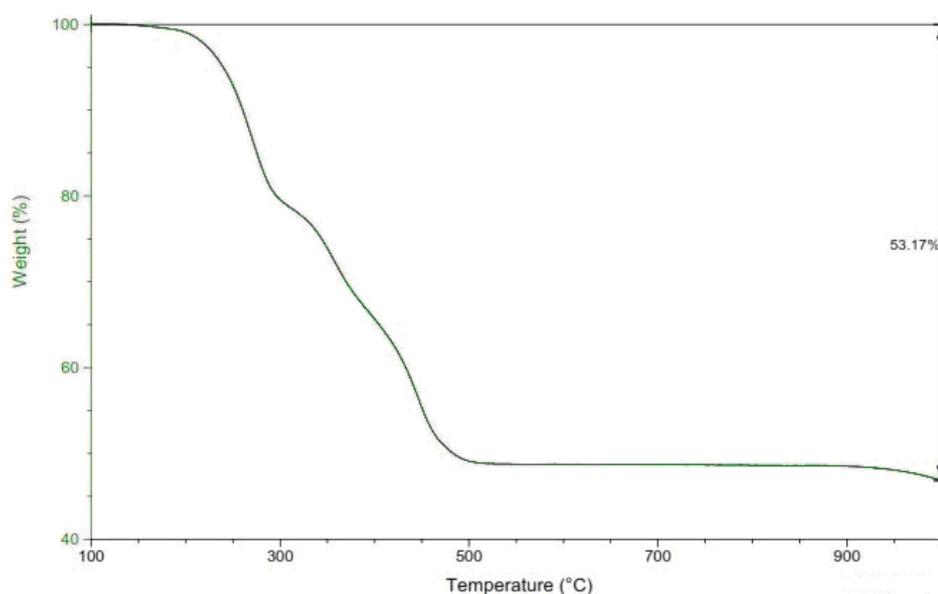


Fig. 66: analisi termogravimetrica di AuNPs stabilizzate dal derivato pirenilico PYR2

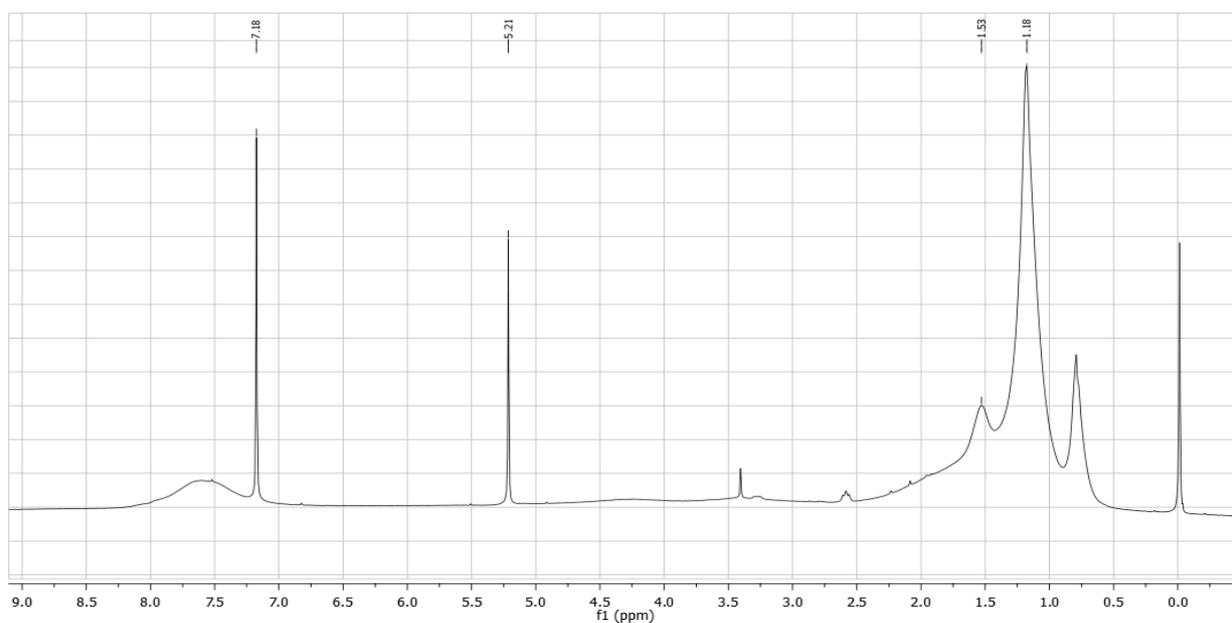
Risultati e Discussione

L'analisi termogravimetrica ha evidenziato una percentuale di componente organica del 53.17%, il che induce a stimare, assumendo che la grandezza media del nucleo aurico sia di 1.8 nm, la formula particellare minima $\text{Au}_{180}\text{RSH}_{103}$.

Un quantitativo così elevato di tiolati adsorbiti sul nanocluster metallico può essere indice di un alto livello di impaccamento del monostrato e/o, come esposto a pag. 10, della presenza di un gran numero di siti di ancoraggio per lo zolfo sulla superficie aurea. La presenza di un elevato numero di irregolarità di superficie, che favoriscono l'ancoraggio della componente organica, potrebbe essere imputabile a una diminuzione delle dimensioni del campione dovuta all'ingombro sterico del pirenil derivato, come esposto a pag.78.

Per la sintesi dei campioni a monostrato misto è stata attuata l'usuale procedura sintetica descritta nella Parte Sperimentale. La caratterizzazione operata sui campioni ha previsto anche in questo caso spettrofotometria UV-Vis e di fluorescenza, TGA e $^1\text{H-NMR}$. La spettroscopia $^1\text{H NMR}$, oltre a confermare la formazione delle particelle e a valutare la purezza (relativa a possibili inquinanti organici) dei campioni, viene anche qui utilizzata per la determinazione della composizione dei monostrati misti dall'integrazione dei segnali relativi alle diverse molecole presenti.

Si riportano a titolo esemplificativo gli spettri $^1\text{H-NMR}$ di un campione a composizione mista PYR3-C12, prima e dopo decomposizione ossidativa. La composizione relativa viene determinata valutando gli integrali relativi al metilene CH_2CO del tiolo pirenilico e quello metilico CH_3CH_2 del tiolo alchilico.



Risultati e discussione

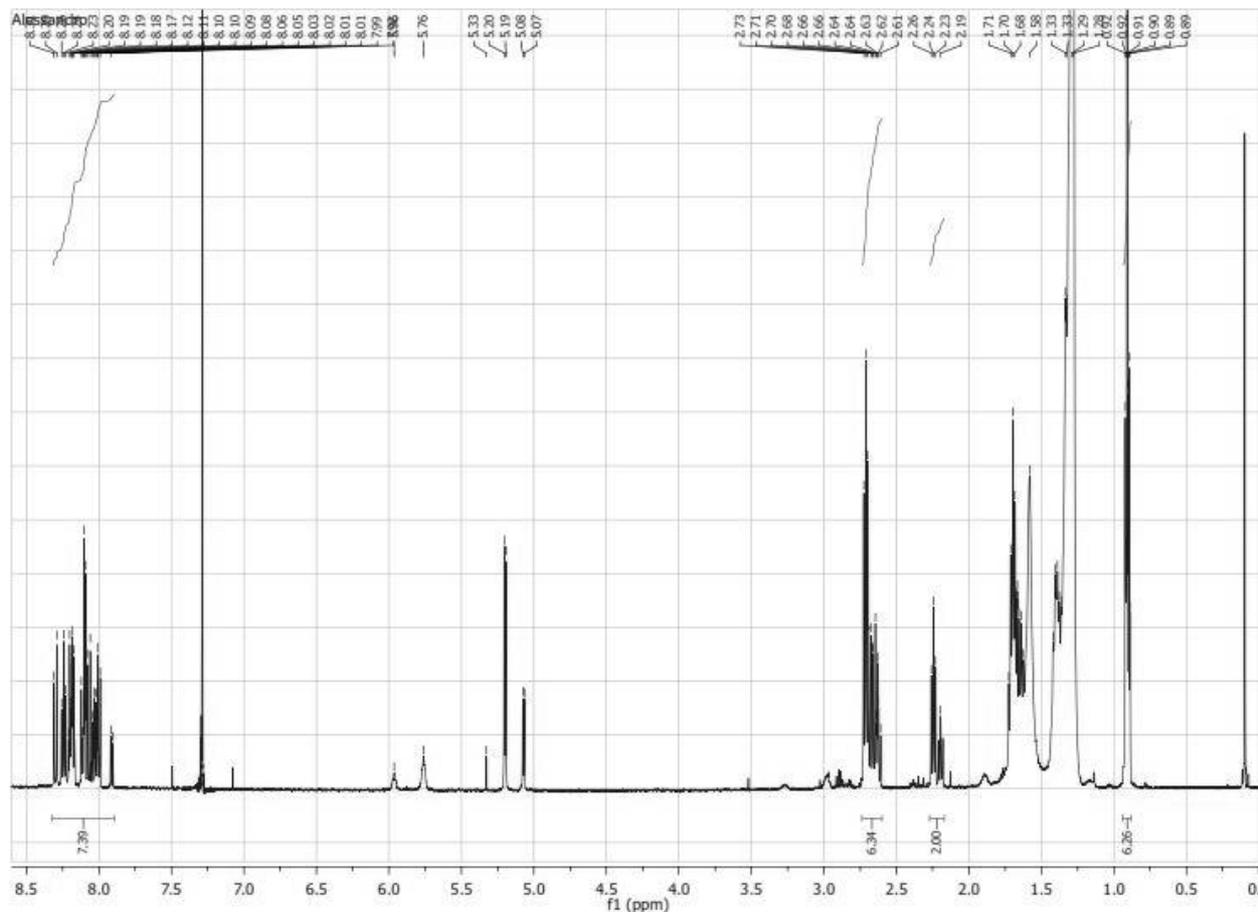


Fig. 67: spettro 1H-NMR di AuNPs a composizione mista PYR3 60% -C12 40% prima (sopra) e dopo (sotto) decomposizione ossidativa indotta dall'aggiunta di I2 in CDCl3

Si sono quindi ottenute due serie di campioni di nanoparticelle a monostato misto PYR2-C12 e PYR3-C12, di cui le composizioni vengono qui di seguito riportate:

PYRENYL DERIVATIVE LOADING			
SAM	Basso	Medio	Alto
PYR2	0.29	0.57	0.79
PYR3	0.25	0.6	0.84

Fig. 68: composizioni relative dei monostati dei campioni di AuNPs a composizione mista PYR2-C12 e PYR3-C12

Risultati e Discussione

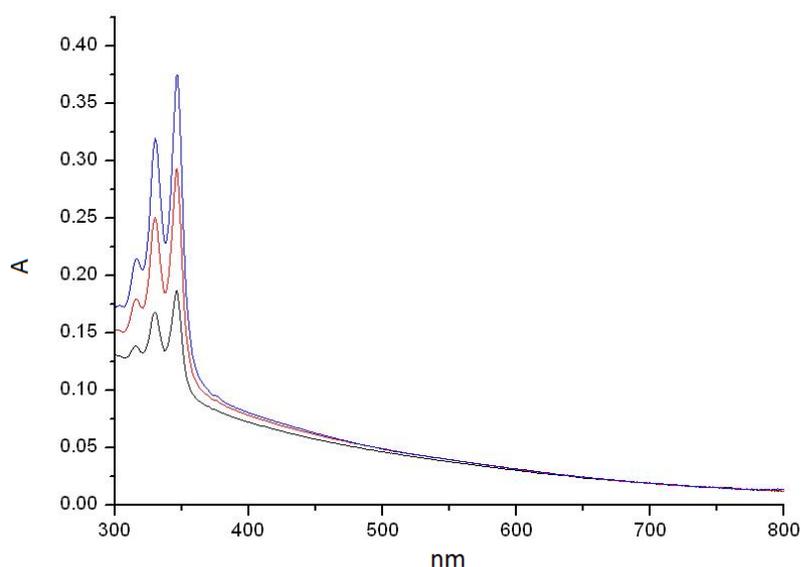


Fig. 69: spettri UV-Vis del batch di AuNPs a composizione mista PYR2-C12 in CH₂Cl₂
(loading in pirenilderivato: NERO-25%, ROSSO-60%, BLU-84%)

Si riportano in fig. 69 gli spettri di assorbimento UV-Vis dei campioni a monostato misto PYR2-C12. Come anticipato, l'assorbimento UV-Vis del campione è la risultante delle componenti del nucleo aureo e del cromoforo; il fatto che nei mostrati il loading di pirenilderivato sia differente è deducibile dal fatto che nella regione del cromoforo dello spettro l'assorbimento è differente, ciò a conferma dei dati ottenuti in precedenza tramite spettroscopia ¹H-NMR.

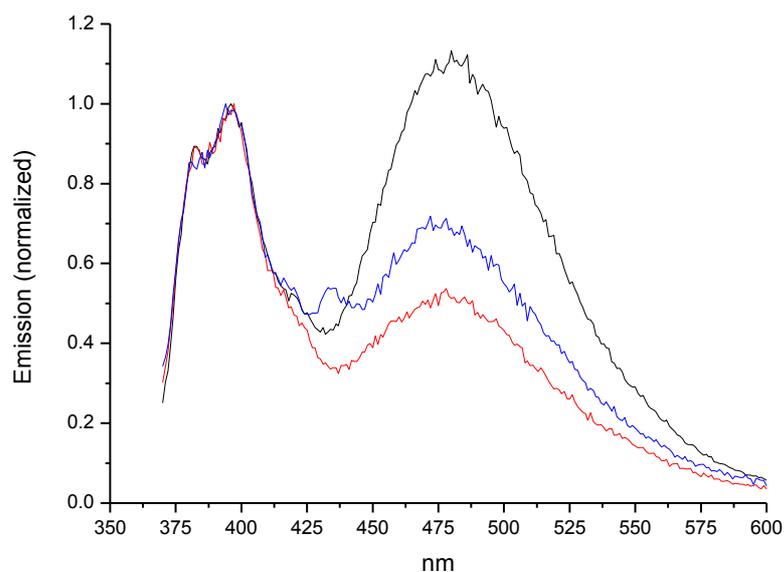


Fig. 70: spettri di emissione di fluorescenza di AuNPs a composizione mista PYR2-C12 in CH₂Cl₂
(loading in pirenilderivato: NERO-25%, ROSSO-60%, BLU-84%)

Risultati e discussione

Sfortunatamente, negli spettri di emissione di fluorescenza non si rivelano differenze significative e riproducibili correlabili alla frazione di pirenilderivato nel monostrato, poiché le bande di emissione eccimerica variano di intensità in modo apparentemente casuale in funzione del loading. Esaminando gli spettri riportati in figura x per i campioni pyr2 C12, si nota che se passando da un loading di pirene del 25% a uno del 64% si osserva l'atteso aumento di emissione eccimerica, quando il loading viene aumentato ulteriormente si osserva un calo.

L'utilizzo di questi dati viene ulteriormente complicato dal fatto che ho potuto osservare un trend riproducibile di variazione dell'intensità della banda eccimerica (480 nm) nel tempo. Più in dettaglio, è stata riscontrata la tendenza all'aumento dell'emissione eccimerica successivamente alla preparazione dei campioni. Contestualmente a tale aumento di emissione dell'eccimero ho osservato la formazione di una banda di assorbimento a circa 520-540 nm nello spettro UV-Vis, che indicherebbe la crescita/aggregazione dei nuclei metallici. Fenomeni simili sono già stati riportati in letteratura e imputati a fenomeni aggregativi del campione guidati dalle interazioni idrofobiche interparticellari tra unità pireniliche¹¹.

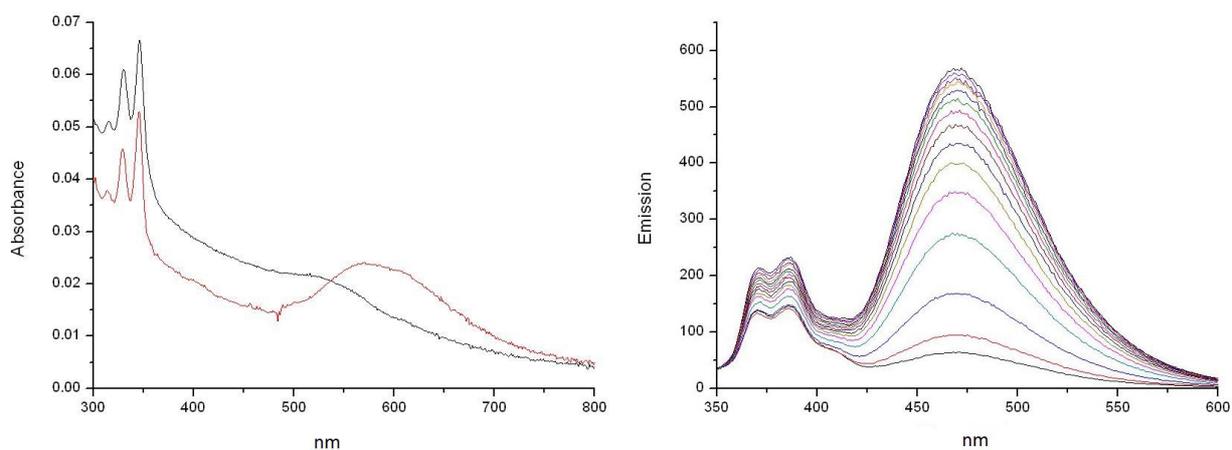


Fig. 71: sviluppo della banda a 520 nm nello spettro UV-Vis dopo 12 h di invecchiamento di AuNPs stabilizzate dal derivato PYR2 (sinistra) in CH₂Cl₂. Effetti nello spettro di emissione di fluorescenza dei fenomeni di aggregazione particellare e conseguente aumento dell'emissione monomera e eccimerica (destra)

Le evidenze da me accumulate non permettono di confermare o contestare tale ipotesi, anche se rimane sorprendente l'instaurarsi di processi aggregativi in questi campioni, che sono preparati per diluizione di una soluzione madre concentrata. Il comportamento erratico dell'intensità di emissione eccimerica in funzione del loading di pirene potrebbe essere pesantemente influenzato da questi fenomeni; le diverse intensità di emissione eccimerica osservate potrebbero essere cioè ascrivibili a differenze nelle cinetiche di aggregazione/riorganizzazione dei monostrati.

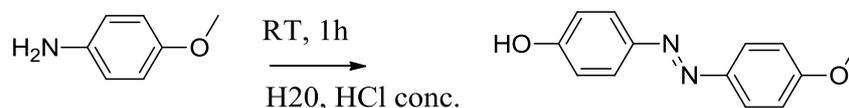
3.1.5. CONCLUSIONI

L'utilizzo del derivato azobenzenico DBZ nell'indagine dei processi segregativi non si è dimostrato proficuo, in quanto non si sono riscontrate variazioni apprezzabili delle proprietà ottiche del cromoforo in nessun campione di AuNPs sintetizzato, nemmeno in quello a monostrato unitario. Ciò potrebbe essere ascritto all'eccessiva lunghezza dello spacer alchilico, che potrebbe conferire eccessiva mobilità alle funzioni azobenzeniche, precludendone un efficace impaccamento nei monostrati costituiti esclusivamente da questo tiolo.

Anche l'utilizzo di derivati pirenilici non ha portato a risultati definitivi nell'individuare le differenze indotte dalla presenza della funzione esterea e ammidica nei due pirenilderivati sintetizzati sulla segregazione di fase dei tiolati in SAM misti. Ciò può essere ascrivibile a processi di distribuzione asimmetrica dei tioli in fase di sintesi, processo comunemente osservabile nella preparazione di monostrati misti, e/o all'instabilità dei campioni chiaramente deducibile dagli spettri di assorbimento UV-Vis (in cui si nota un progressivo aumento e red-shift della banda plasmonica a 520 nm) e di fluorescenza, in cui si osserva un aumento complessivo dell'emissione, sia monomerica che eccimerica. Questo fenomeno è già stato riportato in letteratura, ed è ascrivibile alla formazione di interazioni interparticellari mediate da stacking idrofobico tra unità pireniliche. L'emissione eccimerica si configura quindi come parametro concentrazione dipendente e quindi non utilizzabile per dedurre informazioni sulla configurazione supramolecolare del monostrato.

3.1.6. PARTE SPERIMENTALE

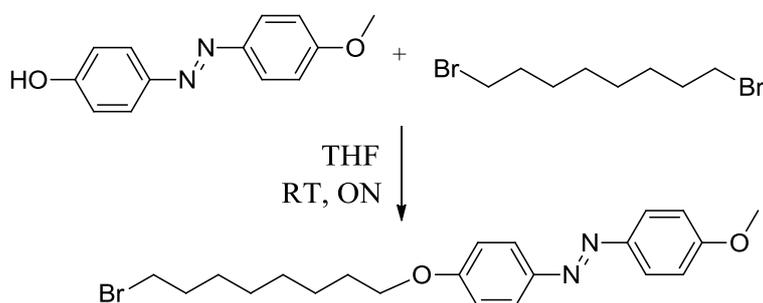
3.1.6.1. Sintesi di 4-((4-methoxyphenyl)diazenyl)phenol



In un pallone da 50 mL si sciolgono 830 mg (6.7 mmol) di p-anisidina in 15 mL di H₂O milliQ e si aggiunge goccia a goccia HCl conc. (2mL) in bagno di ghiaccio. Successivamente vengono aggiunti 465 mg di NaNO₂ (6.7 mmol) e la soluzione viene lasciata sotto agitazione per 1 h. Vengono poi aggiunti 470 mg di fenolo (5.0 mmol) sciolti in 10 mL di NaOH 2.5M. Il precipitato formatosi viene filtrato dopo 10 minuti, ottenendo 590 mg (2.6 mmol, resa 39%) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 7.89 (t, 4H, aromatici); 6.98 (dd, 4H, aromatici); 3.89 (s, 3H, CH₃O).

3.1.6.2. Sintesi di 1-(4-(8-bromottilossi)fenil)-2-(4-metossifenil) diazene

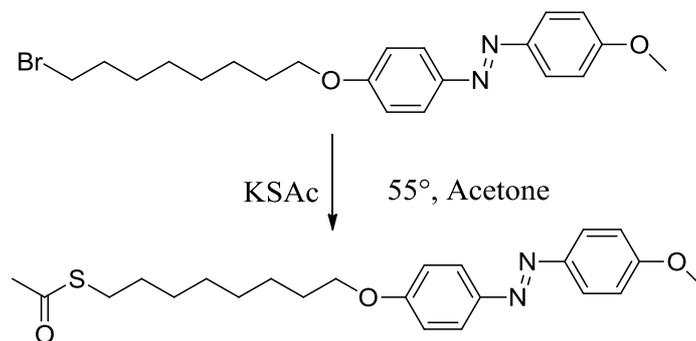


In un pallone da 200 mL si sciolgono 7.0 g di 1,8-dibromottano (25.7 mmol) in 150 mL di una miscela di THF:DMF 3:1. Viene successivamente aggiunto K₂CO₃ (3.5 g, 25.7 mmol). Vengono poi aggiunti alla soluzione 590 mg di 4-((4-methoxyphenyl)diazenyl)phenol (2.6 mmol) e si lascia la reazione sotto agitazione a RT overnight. Il solvente viene poi eliminato per evaporazione a pressione ridotta e il crudo di reazione ridisciolti in 100 mL di CH₂Cl₂; la soluzione viene poi lavata con H₂O milliQ (3X100) e successivamente il solvente evaporato per evaporazione a pressione ridotta. Il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (CH₂Cl₂:n-esano, 1:1, R_{f1}:0.4, R_{f2}:0.8), ottenendo 550 mg (1.6 mmol, 60% di resa) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 7.87 (dd, 4H, aromatici); 6.99 (m, 4H, aromatici); 4.03 (t, 2H, CH₂O); 3.89 (s, 3H, CH₃O); 3.41 (t, 2H, CH₃Br); 1.59 (m, 6H, catena alifatica).

Risultati e Discussione

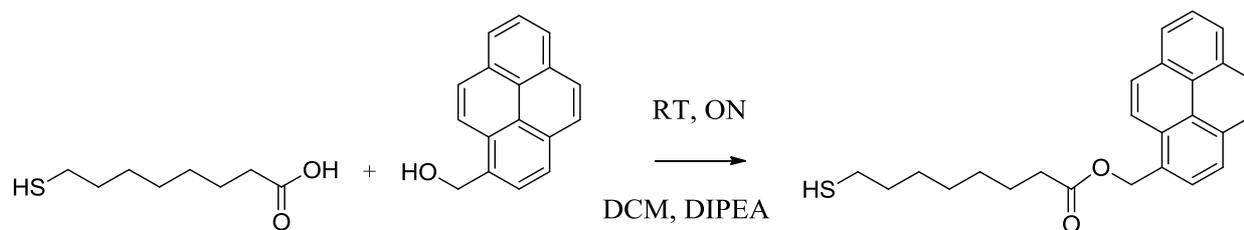
3.1.6.3. Sintesi di (8-(4-((metossifenil)diazenil)fenossi)ottil)etantioato



In un pallone da 100 mL munito di tubo CaCl₂ e refrigerante a bolle si disciolgono 550 mg di 1-(4-(8-bromottilossi)fenil)-2-(4-metossifenil) diazene (1.3 mmol) e 200 mg di KSAc (1.7 mmol) in 50 mL di acetone HPLC. La reazione viene svolta a riflusso a una T di 55° in atmosfera inerte di N₂ per 48 ore. Il solvente viene allontanato tramite evaporazione a pressione ridotta e il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (CH₂Cl₂:n-esano, 1:1, R_{f1}:0.5, R_{f2}:0.8) ottenendo 438 mg (0.9 mmol, 73% di resa) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 7.87 (m, 4H, aromatici); 6.98 (m, 4H, aromatici); 4.01 (t, 2H, CH₂O); 3.87 (s, 3H, CH₃O); 2.86 (t, 2H, CH₃Br); 2.32 (s, 3H, CH₃O); 1.5 (m, 6H, catena alifatica).

3.1.6.4. Sintesi di pyren-1-ylmethyl 8-mercaptooctanoate



In un pallone da 50 mL vengono sciolti 352 mg di 8-mercaptooctanoic acid (2.0 mmol), 495 mg di DCC (2.4 mmol) e 429 μL (2.5 mmol) di DIPEA in 20 mL di DCM. Si porta il pallone di reazione a 0°C in bagno di ghiaccio, si aggiunge goccia a goccia una soluzione di DMAP (24 mg, 0.2 mmol) in DCM (10 mL). Si lascia reagire per 2h a RT. Si aggiunge poi una soluzione di pyren-1-ylmethanol (557 mg, 2.4 mmol) in 10 mL di DCM e si lascia reagire a RT overnight.

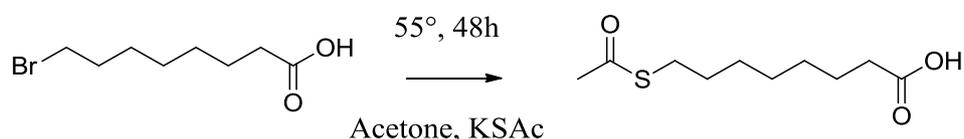
Il solvente viene allontanato tramite evaporazione a pressione ridotta e il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (CHCl₃, R_{f1}:0.3, R_{f2}:0.9).

Si ottengono così 302 mg (resa=39%) di prodotto.

Risultati e discussione

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: PYR2 (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.27-7.94 (9H, aromatic), 5.79 (s, 2H, PYRCH₂), 2.36 (t, 2H, SCH₂), 2.28 (s, 3H, CH₃CO), 1.64-1.17 (10H, aliphatic chain)

3.1.6.5. Sintesi di 8-(acetylthio)octanoic acid

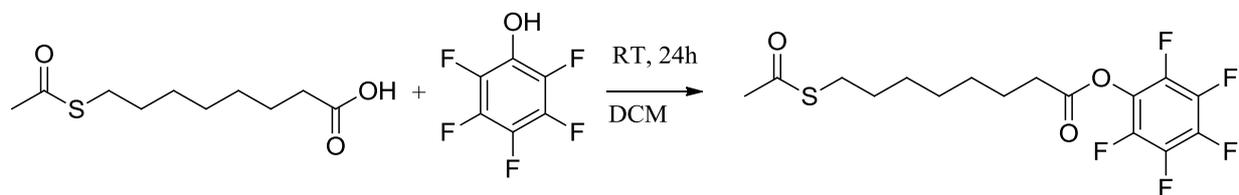


In un pallone da 100 mL munito di tubo CaCl₂ e refrigerante a bolle vengono sciolti 2.89 g (13.0 mmol) di acido 8-bromoottanoico in 60 mL di acetone HPLC. Vengono poi aggiunti 1.95 g (17.1 mmol) di KSac e si porta la reazione a 55°C a refluxo per 48h. Si monitora la reazione tramite TLC (DCM:MeOH, 9.5:0.5, R_{f1}=0.5, R_{f2}=1).

Viene successivamente evaporato il solvente e il solido ottenuto viene ripreso con DCM, lavato ripetutamente con H₂O milliQ (3x30 mL) e anidrificato con Na₂SO₄. Evaporando il solvente dalla fase organica si ottengono 1.93 g (resa=68%) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 2.85 (t, 2H, CH₂S); 2.34 (m, 5H, CH₂CO, CH₃); 1.56 (br, 10H, catena alifatica).

3.1.6.6. Sintesi di perfluorophenyl 8-(acetylthio)octanoate



In un pallone da 100 mL vengono sciolti 1.93 g (8.8 mmol) di 8-(acetylthio)octanoic acid in 50 mL di DCM e 2.20 g (11.5 mmol) di EDAC. Si aggiungono 2.0 mL di DIPEA (11.5 mmol). Si porta il pallone di reazione a 0°C in un bagno di ghiaccio, si aggiunge goccia a goccia una soluzione di pentafluorofenolo (2.11 g, 11.5 mmol) in DCM (10 mL) e si lascia reagire a RT per 24 h. La reazione viene monitorata tramite TLC (DCM:etere di petrolio, 1:1, R_{f1}=0, R_{f2}=0.3, R_{f3}=8).

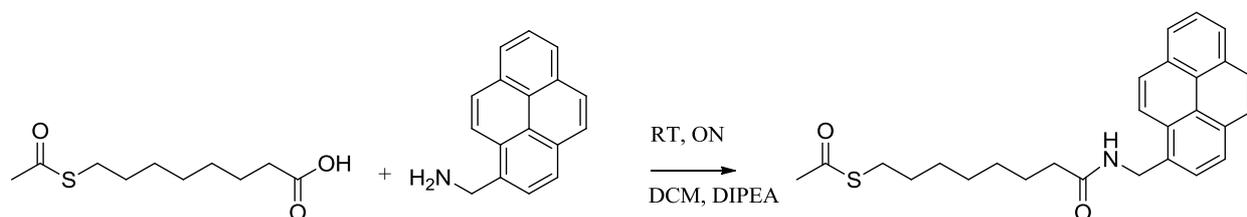
Il solvente viene allontanato tramite evaporazione a pressione ridotta e il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (DCM:etere di petrolio, 1:1). Si ottengono così 2.04 g (resa=59.9%) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 2.873 (t, 2H, CH₂S); 2.638 (t, 2H, CH₂CO); 2.295 (s, 3H, CH₃);

1.747+1.559+1.360 (br, 10H, catena alifatica).

Risultati e Discussione

3.1.6.7. Sintesi di 8-mercapto-N-(pyren-1-ylmethyl)octanamide



In un pallone da 50 mL vengono sciolti 436 mg 8-(acetylthio)octanoic acid (2.0 mmol), 495 mg di DCC (2.4 mmol) e 429 μ L (2.5 mmol) di DIPEA in 20 mL di DCM. Si aggiunge successivamente goccia a goccia una soluzione di DMAP (24 mg, 0.2 mmol) in DCM (10 mL). Si lascia reagire per 2h a RT. Si aggiunge poi una soluzione di pyren-1-ylmethanamine (554 mg, 2.4 mmol) in 10 mL di DCM e si lascia reagire a RT overnight. Il solvente viene allontanato tramite evaporazione a pressione ridotta e il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (CHCl_3 , Rf1:0.2, Rf2:0.7). Si ottengono così 404 mg (resa=46.9%) di prodotto.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.27-7.92 (9H, aromatic), 5.81 (br, 1H, NH), 5.12 (s, 2H, PYRCH_2), 2.79 (t, 2H, CH_2CO), 2.28 (s, 3H, CH_3CO), 2.20 (t, 2H, SCH_2), 1.65-1.28 (10H, aliphatic chain)

3.1.6.8. Sintesi di AuNPs di 2.0 nm

Si sciolgono 100 mg (0.25 mmol) di $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, precedentemente pesato in atmosfera inerte, in 4 mL di acqua milliQ, ottenendo una soluzione gialla. Successivamente, in una beuta da 500 mL vengono introdotti 250 mL di toluene, precedentemente degasato, e sciolti 5 g (9.14 mmol) di TOABr. Con questa soluzione si eseguono tre estrazioni della soluzione acquosa, la quale si decolora mentre la fase organica assume un colore arancio acceso. Quest'ultima viene introdotta in una pallone da 500 mL munito di agitatore magnetico, sotto flusso d'azoto. Si aggiungono poi 4.2 mL (13.94 mmol) di diottilammina e si lascia agitare per trenta minuti, fino a decolorazione della soluzione. In seguito si aggiungono 91.2 mg (2.44 mmol) di NaBH_4 , precedentemente sciolto in 4 mL di acqua milliQ, sotto vigorosa agitazione. La soluzione diventa immediatamente nera. Si lascia agitare per 2 h e poi si rimuove l'acqua con imbuto separatore. La miscela di reazione può essere conservata, in atmosfera inerte, fino a 24 ore.

Si procede alla stabilizzazione finale delle AuNPs aggiungendo una soluzione in 2-propanolo dei tioli desiderati nella stessa proporzione che si vuole sia presente nel monostrato. La quantità totale di tioli introdotta in sede di reazione viene calcolata con un fattore correttivo di 1.2 rispetto a quella stechiometricamente richiesta (calcolata sulla base della formula minima $\text{Au}_{180}\text{RSH}_{70}$).

Risultati e discussione

3.1.6.9. Reagenti e solventi

Reagenti e solventi (Sigma Aldrich, Fluka Across) sono stati di norma utilizzati senza ulteriori step purificativi, se non diversamente specificato. Nella sintesi di nanoparticelle è stata utilizzata vetreria lavata preventivamente con acqua regia. Gli spettri NMR sono stati registrati utilizzando solventi deuterati reperibili in commercio (Sigma Aldrich). Per la Spettroscopia Ottica sono stati utilizzati solventi per HPLC ad alto grado di purezza.

3.1.6.10. Materiale per cromatografia

La cromatografia su colonna è stata di norma effettuata utilizzando gel di silice Macherey-Nagel 60 con granulometria 230-400 mesh. Per la cromatografia su strato sottile (TLC) ci si è avvalsi di lastre Macherey-Nagel 40X80 mm poligram SIL G/UV254 e poligram ALOX N/UV254.

Le cromatografie a esclusione molecolare sono state effettuate utilizzando la resina Sephadex X1 per solventi organici apolari.

3.1.6.11. Spettrometria NMR

Per la registrazione degli spettri NMR sono stati utilizzati gli spettrometri Bruker AC 250 (1H:250.13 MHz, 13C: 62.9 MHz), Bruker Avance 200 () e Bruker Avance 300 (1H: 300.13 MHz). Gli spettri sono stati regolarmente registrati a 25° e i chemical shift (δ) dei segnali vengono riportati in ppm rispetto al segnale dell'impurezza isotopica del solvente deuterato. La molteplicità dei segnali è stata indicata con la seguente serie di abbreviazioni:

s: singoletto, d: doppietto, t: tripletto, q: quartetto, m: multipletto, dd: doppietto di doppietti, br: banda allargata, sa: singoletto allargato.

Usuale metodologia per la determinazione dei rapporti quantitativi dei tioli adsorbiti è stata la caratterizzazione NMR del prodotto di decomposizione particellare tramite aggiunta di I₂, solitamente in soluzione nello stesso solvente deuterato utilizzato per la misura. L'integrazione di segnali peculiari delle due molecole permette di stimarne con buona approssimazione i rapporti quantitativi.

3.1.6.12. Spettrometria di massa

Gli spettri ESI-MS sono stati effettuati con la tecnica ESI (Electrospray Ionization) lo strumento LC/MS Agilent serie 1100 operante in condizioni di infusione in flusso del campione, con ionizzazione tipo elettrospray (ESI) e analizzatore di massa a trappola ionica (XT). Il campione è

Risultati e Discussione

stato usualmente disciolto in ACN alla concentrazione di 1 mg/mL circa e analizzato in flusso di ACN, ACN+ HCOOH, MeOH.

3.1.6.13. Spettrofotometria UV-Vis e Spettrofluorimetria

Gli spettri UV/Vis sono stati registrati utilizzando gli spettrofotometri Perkin Elmer Lambda 45 e Varian Cary 50. Le misure sono state effettuate in celle di quarzo HELLMA con cammino ottico di 10 mm.

Per la registrazione degli spettri di fluorescenza sono stati usati gli spettrometri Varian Cary Eclipse Fluorescence e Perkin Elmer LS50B. Gli spettri sono stati registrati alla temperatura di 25° in celle di quarzo HELLMA con cammino ottico di 10 mm.

3.1.6.14. Analisi TEM

Le immagini TEM sono state registrate con un microscopio elettronico Jeol 300 PXTEM.

3.1.7. BIBLIOGRAFIA

1. K. Tamada, J. Nagasawa, F. Nakanishi, K. Abe; *Langmuir*, 1998, 14, 3264-3271
2. S. D. Evans, S. R. Johnson, H. Ringsdorf, L. M. Williams H. Wolf, *Langmuir* 1998, 14, 6436-644
3. Shimomura, M., Kunitake, T.; *Chemistry Letters*, 1981, pp. 1001-1004
4. Guarino G.; Rastrelli F.; Scrimin P.; Manfin F.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134, 7200-7203
5. Kalyanasundaram K.; Thomas J.K.; *J.A.C.S.*, 1977, 99, 2039-2044.
6. Yang C.J.; Jockusch S.; Vincens M.; Tutto N.J.; Tan W.; *P.N.A.S.*, 2005, 102, 48, 1278-1283
7. Kim K.S., Bok J.H., Bartsh R.A., Lee J.Y.; Kim J.S.; *Organic Letters*, 2005, 7, 4839-4842.
8. Nakajima A.; *Spectrochimica Acta*, 1983, 39, 10, 913-915
9. Binil I. I.; Thomas G. K.; *J. Phys. Chem. B.*, 2004, 108, 13265-13272
10. Nerambourg N.; Werts M.H.V.; Charlot M.; Blanchard-Desce M.; *Langmuir*, 2007, 23, 5563-5570.
11. Wang T.; Zhang T.; Xu W.; Yang J.; Han R.; Zhu D.; *Langmuir*, 2000, 18, 1840-1848
12. Battistini, G.; Cozzi, P.G.; Jalkanen, J.P.; Montalti, L.; Prodi, L.; Zaccheroni, N.; Zerbetto, L.; *Acs Nano*, 2008, 2, 77-84

3.2. INDAGINE SULLE PROPRIETA' DI SAMs CON L'UTILIZZO DI SONDE FLUORESCENTI

3.2.1. LA PROBLEMATICA DEI FENOMENI DI SORTING NELLA VARIANTE SINTETICA PENG-SCRIMIN

Un fenomeno che ho correntemente riscontrato durante la sintesi di AuNPs a monostrato misto è quello che il nostro gruppo di ricerca definisce “total sorting”, ovvero la formazione di popolazioni distinte di nanoparticelle, ciascuna ricoperta prevalentemente da uno dei due tioli. Dal punto di vista teorico, il “total sorting” dovrebbe rappresentare il destino finale di un campione di nanoparticelle che venga ricoperto con due tioli con elevata tendenza alla segregazione reciproca (cioè alla separazione in domini distinti). In pratica però tale fenomeno non è mai stato riportato in letteratura da chi studia nanoparticelle stabilizzate da con monostrati misti.

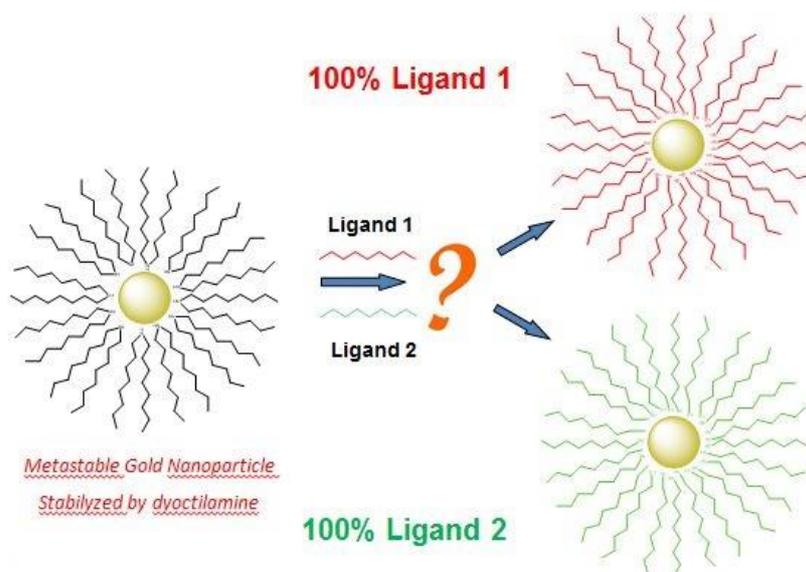


Fig. 72: schematizzazione del processo di sorting nella sintesi Peng-Scrimin

Va notato però che il processo sintetico utilizzato per la sintesi di AuNPs in questa Tesi di Dottorato è, come anticipato (pag. 15-16), differente dalla procedura Brust-Schiffrin (normalmente utilizzata dalla maggior parte dei gruppi di ricerca), poiché presenta un passaggio aggiuntivo, ovvero la stabilizzazione intermedia dei clusters per mezzo di una ammina (diottilammina), prima della definitiva aggiunta dei tioli. L'utilizzo dell'ammina stabilizza i nuclei metallici per tempi lunghi e permette di ottenere buoni livelli di monodispersità¹: essa riduce, al pari di quanto accade nella procedura Brust-Schiffrin², l' Au^{3+} in soluzione ad Au^{1+} (si osserva la decolorazione della miscela di

Risultati e discussione

reazione tipica di questo processo), ma non si sa se questo implichi la formazione di una specie polimerica oppure di complessi monomerici in soluzione. Lo stesso meccanismo di riduzione non è stato elucidato; inoltre, la seppur debole affinità del trasferitore di fase per la superficie del cluster di Au^0 non esclude che la stabilizzazione debole intermedia che si ottiene dopo riduzione con NaBH_4 sia causata da una commistione di TOABr/diottilammina sulla superficie aurea.

Va notato che questa procedura consente di ottenere campioni di nanoparticelle con una maggior monodispersione rispetto alla sintesi di Brust-Schiffrin; per giustificare questo risultato è stata invocata proprio la minor abilità stabilizzante della diottilammina, che consentirebbe un processo di riorganizzazione dei nuclei formati con conseguente focalizzazione dei diametri.

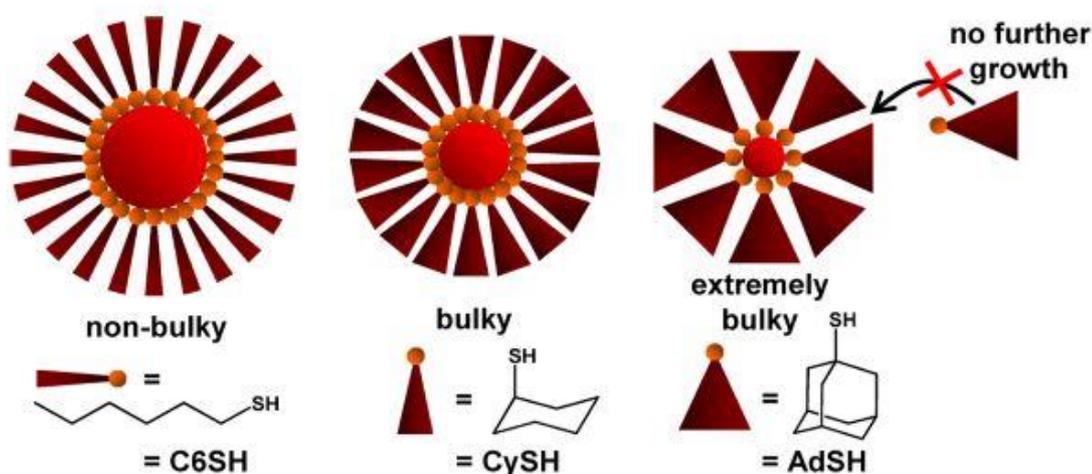


Fig. 73: rappresentazione grafica dell'effetto sterico dei tioli nel processo di crescita di nanoclusters metallici nella sintesi Brust Schiffrin (l'aumento di ingombro sterico favorisce piccole dimensioni e aumenta la monodispersività).

L'effetto sterico viene elegantemente bypassato nella procedura sintetica di Peng Scrimin¹²

Questo processo di riorganizzazione, congiuntamente alla separazione dei processi di nucleazione e stabilizzazione dati potrebbe portare a delle differenze rispetto ai risultati reperibili in letteratura, sia per quanto riguarda la morfologia del nucleo metallico che per le evidenze di segregazione nei monostrati misti. Per quanto riguarda la morfologia del core, la differente forza di interazione dell'oro con l'atomo di azoto e zolfo potrebbe indurre differenti modalità di packing del cluster, che non necessariamente tornerebbero a coincidere dopo lo spiazzamento dell'ammina ad opera dei tiolati. Inoltre la maggior monodispersività indotta dalla procedura Peng-Scrimin comporta una diversa distribuzione delle morfologie dei nuclei all'interno del campione.

Per quanto riguarda l'organizzazione del monostrato, le differenze tra i due metodi di sintesi sono ancora più rilevanti. Nel caso della sintesi di Brust e Schiffrin, la formazione del monostrato è

Risultati e Discussione

contestuale a quella della nanoparticella: i complessi Au(I)-tiolato presenti subiscono la riduzione del centro metallico ad Au(0). A questo punto gli atomi di Au cominciano ad aggregare espellendo i tiolati in eccesso. La successiva crescita delle nanoparticelle comporta ulteriori espulsioni di tiolati dalla superficie delle stesse per consentire l'adsorbimento di ulteriori atomi d'oro. Infine, terminata la crescita delle nanoparticelle (o simultaneamente ad essa) si attivano processi di scambio tra i tiolati adsorbiti sulla superficie delle particelle e quelli presenti nella miscela di reazione (utilizzati normalmente in largo eccesso rispetto alla quantità necessaria per la ricopertura della superficie delle particelle). Se da un lato quindi la formazione iniziale del monostrato è il risultato di un processo molto complesso, la sua successiva evoluzione potrebbe essere controllata dai processi di scambio.

Nel caso della sintesi Peng-Scrimin il quadro è parzialmente diverso: la formazione del monostrato avviene per veloce sostituzione delle ammine secondarie da parte dei tiolati. In questa fase la diversa velocità di reazione di tioli diversi potrebbe giocare un ruolo rilevante, inoltre potrebbero avvenire fenomeni di "self assembling cooperativo", in cui il mutuo riconoscimento dei tioli in soluzione o sulla superficie del monostrato potrebbe risultare nella formazione di strutture definite. Meccanismi cooperativi di formazione del monostrato sono stati dimostrati, ad esempio, nel caso del self-assembling su AuNPs di polissometallati derivatizzati con funzioni tioliche e complessati con tungsteno⁴, e costituiscono quindi un'altra valida ipotesi. Successivamente potrebbero attivarsi, anche in questo caso, processi di scambio di tiolati, che però potrebbero essere molto lenti per la presenza di un eccesso limitato di tioli, rispetto alla quantità necessaria per la ricopertura della superficie delle particelle.

Altri processi teoricamente possibili in entrambe le sintesi sono lo scambio interparticellare dei tioli, che però è decisamente lento in assenza di tioli liberi in soluzione, e la mobilità laterale dei tiolati. Quest'ultimo fenomeno, molto investigato negli anni novanta, sembrerebbe essere, sulla base delle più recenti evidenze sperimentali³, un processo troppo lento per essere determinante, anche se una scala dei tempi non è stata unanimemente accettata.

Si è quindi deciso di indagare il processo di sintesi e le proprietà del SAM tramite spettroscopia ottica di emissione di fluorescenza con l'ausilio di un derivato del pirene. La spettroscopia di fluorescenza infatti, pur non permettendo di operare alle stesse concentrazioni impiegate nella sintesi ordinaria (in quanto troppo elevate), ha un rapido set-up e permette di registrare il processo di chemisorbimento nella sua interezza, in particolare nelle fasi iniziali, nelle quali avviene la gran parte dello spiazzamento dell'ammina.

3.2.2. SVILUPPO DI UN MODELLO CINETICO PER L'ANALISI DEI PROCESSI DI CHEMISORBIMENTO DI TIOLI SU AuNPs DEBOLMENTE STABILIZZATE DA DIOTTILAMMINA

Al fine di individuare i fattori che controllano la formazione del SAM nel caso della sintesi di Peng-Scrimin, sono state eseguite una serie di misure della velocità di chemisorbimento del tiolo pirenilico PYR2 (fig. 74).

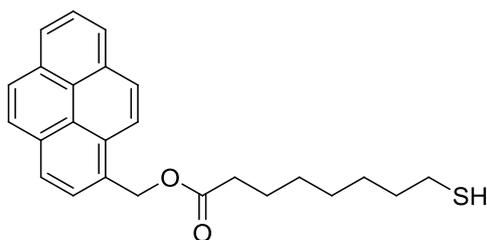


Fig. 74: struttura del derivato pirenilico PYR2

Questo derivato si presenta molto adatto allo studio del processo in quanto la sua struttura è ideale ad indurre lo spegnimento dell'emissione del pirene in seguito all'adsorbimento sulla superficie d'oro, spegnimento che può essere utilizzato come parametro indicativo per calcolare il quantitativo di fluoroforo adsorbito sulla superficie aurea.

I nanoclusters metallici possiedono infatti proprietà di quenchers di fluorescenza in quanto accettori in processi di trasferimento di energia di Forster (FRET) e di trasferimento elettronico. Numerosi studi hanno indagato i parametri che influenzano il processo di energy/electron transfer, come la lunghezza e struttura della catena spaziatrice che separa il nucleo metallico dal fluoroforo e le dimensioni del core metallico⁵. In generale, l'efficienza del quenching migliora con il crescere del diametro delle particelle e con il decrescere della distanza del fluoroforo dalla superficie della particella, fino a un valore limite, per motivazioni legate all'orientazione spaziale del fluoroforo. Infatti si è osservato come tioli pirenilici in cui lo spaziatore tra i due gruppi funzionali è molto corto (1-2 atomi di carbonio) presentano, una volta agganciati alla superficie d'oro, una resa quantica di emissione molto più elevata di molecole simili ma dotate di spaziatori più lunghi⁶. Questo fenomeno è stato giustificato notando che in questi sistemi le interazioni deboli di tipo dispersivo tra le catene alchiliche (ritenute responsabili del grande livello di organizzazione nei 2D-SAM) competono con le interazioni di π -stacking fluoroforo-fluoroforo. Nel caso di catene alchiliche corte prevalgono queste ultime e l'angolo di tilt del tiolato rispetto alla normale alla superficie è quasi nullo: la posizione perpendicolare del pirene rende inefficiente il quenching da

Risultati e Discussione

parte dell'oro e la resa quantica del fluoroforo rimane pressoché inalterata. Nel caso di catene alchiliche allungate, prevalgono le interazioni dispersive tra le catene, il monostrato assume il normale angolo di tilt di circa 30 gradi e quest'orientazione favorisce il quenching dell'emissione.

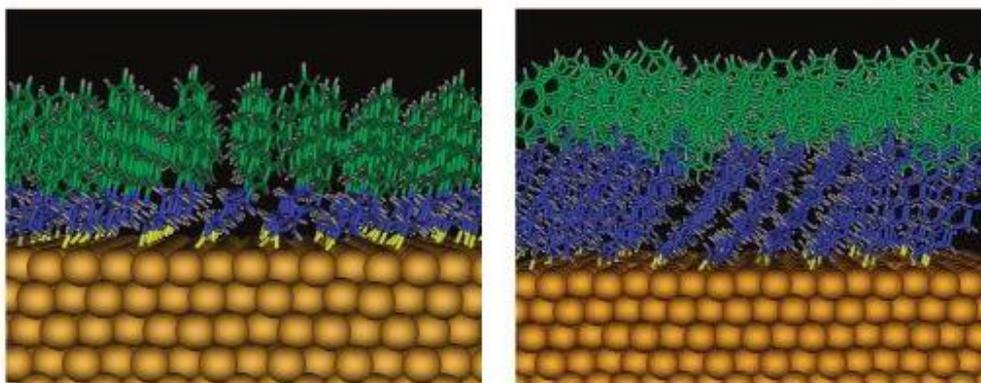


Fig. 75: vista laterale di monostrato 2D ottimizzato con pirenilderivato a catena corta (sinistra) e lunga (destra)

La molecola PYR2 quindi, con il suo spaziatore di 10 atomi, è del tutto adatta per l'analisi dei processi di chemisorbimento/scambio tra tiolati.

Come atteso, si è osservato (fig.74) come l'emissione del pirene decresce velocemente in seguito al mescolamento con le nanoparticelle. Le curve di adsorbimento vengono efficacemente interpolate da un'equazione di decadimento biesponenziale, che descrive la somma di due processi del primo ordine, così formulata:

$$I = I_1 \cdot e^{-(t/k1)} + I_2 \cdot e^{-(t/k2)} + I_0 \quad (1)$$

dove I è il valore di fluorescenza registrato al tempo t , I_1 , I_2 e I_0 sono rispettivamente l'ampiezza del primo e secondo processo e il valore residuo di fluorescenza al raggiungimento dell'equilibrio, e k_1 e k_2 sono le costanti cinetiche dei due processi. Si riportano qui di seguito i valori ottenuti: 10^{-7}

	$3.5 \cdot 10^{-8} \text{M}$	$7.1 \cdot 10^{-8} \text{M}$	$1.1 \cdot 10^{-7} \text{M}$	$1.4 \cdot 10^{-7} \text{M}$	$1.8 \cdot 10^{-7} \text{M}$	$3 \cdot 5 \cdot 10^{-7} \text{M}$
I_0 (a.u.)	14	16	39.1	43.8	78.5	134.3
I_1 (a.u.)	21.6	53.1	19.5	17.6	60.6	134.3
k_1 (sec)	252.5	501	129.3	125.8	615.6	1255.4
I_2 (a.u.)	4.7	8.9	43.6	72.9	28.9	27.5
k_2 (sec)	48.5	70.5	64.2	94.3	99.3	60.5

Risultati e discussione

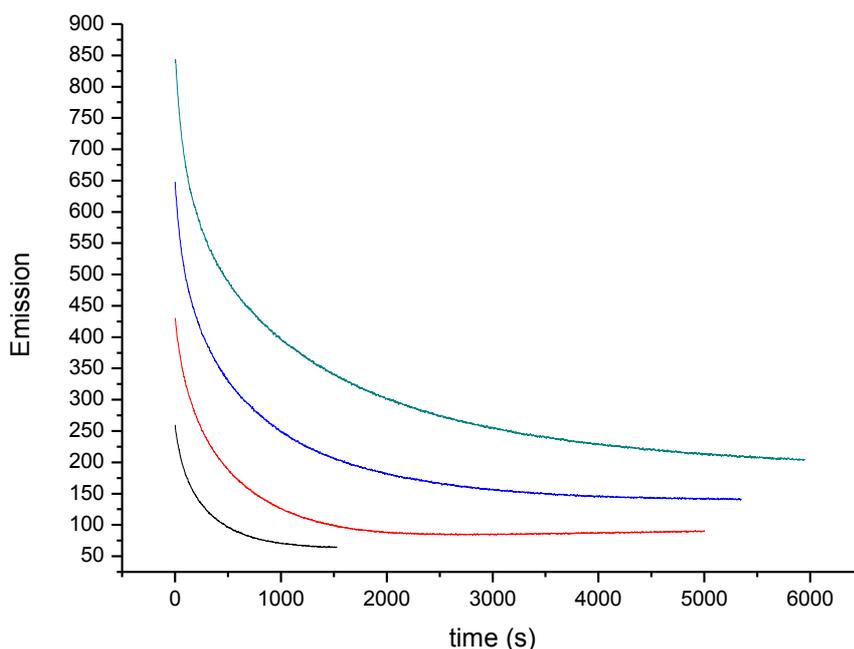


Fig. 76: sopra: valori dei parametri ottenuti con l'equazione di decadimento biesponenziale proposta (pag.81); curve di adsorbimento di PYR 2 in presenza di AuNPs debolmente stabilizzate da diottilammina ([nero]: 3.54×10^{-8} M, [rosso]: 1.24×10^{-7} M, [blu]: 2.48×10^{-7} M, [verde]: 3.54×10^{-7} M, [AuNPs]: 4.8×10^{-9} M)

Questo modello è il più utilizzato in letteratura⁷, anche se in molti altri casi i profili di adsorbimento sono risultati seguire andamenti differenti, come equazioni di decadimento esponenziale del primo ordine o modelli di Langmuir⁸, che si sono però rivelate inefficaci per i dati da me ottenuti.

Il fitting secondo un decadimento biesponenziale fa supporre che il cluster metallico debolmente stabilizzato dalla diottilammina abbia superficie anisotropa in cui i siti di binding hanno diversa reattività e si dividano in due macrocategorie con diversa disponibilità alla sostituzione. L'analisi dei risultati delle interpolazioni rivela però come essi non delineino alcun trend chiaro.

Una riflessione più approfondita ha infatti evidenziato come, alle condizioni sperimentali adottate, l'osservazione di leggi cinetiche del primo ordine sia priva di fondamento logico. Infatti i valori di concentrazione di tiolo e di quantità totale di atomi superficiali d'oro sono simili e dovrebbero portare a modelli cinetici del secondo ordine. L'assenza di un andamento dei valori numerici ottenuti dall'interpolazione conferma peraltro questa considerazione. Si è pertanto proceduto alla stesura di un sistema di equazioni in forma differenziale che consentisse di interpolare un processo di II ordine, assumendo però che tutti i siti binding delle particelle avessero la stessa reattività.

Un'operazione preliminare necessaria per l'interpolazione dei dati è stata la valutazione dei valori di emissività delle due forme del fluoroforo; questi valori, puramente arbitrari in quanto dipendenti

Risultati e Discussione

dalle impostazioni strumentali utilizzate, vengono richiesti dal modello sviluppato e sono stati calcolati normalizzando il valore di emissione del fluoroforo in forma libera e chemisorbita per la concentrazione (fig. 75).

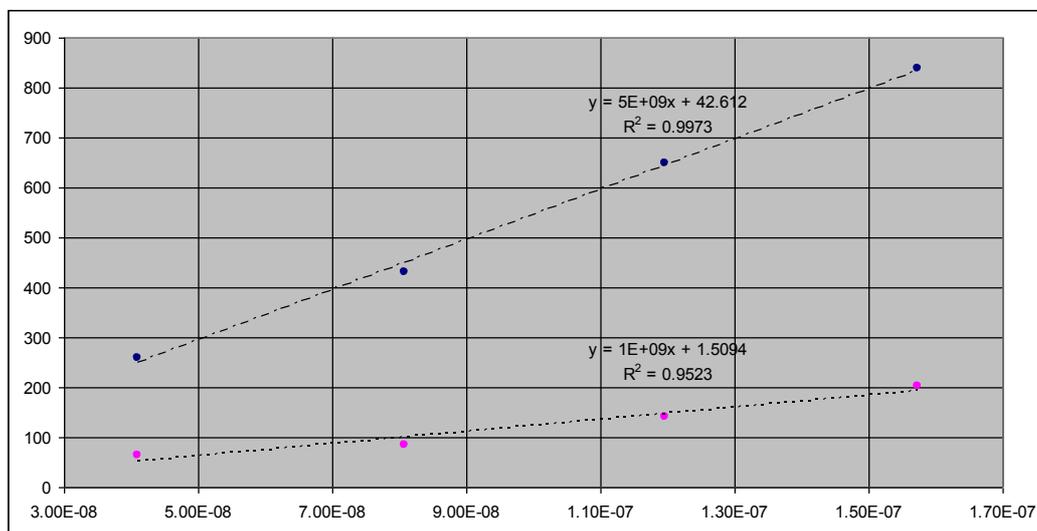


Fig. 77: valori di emissività del fluoroforo tiolico PYR2 prima (blu) e dopo (rosa) chemisorbimento sulla superficie aurea (ex slit: 10 nm, em slit: 5 nm, photomultiplier: 750)

L'analisi delle curve con questo modello ha permesso di ottenere il valore di k_{ads} (costante cinetica di adsorbimento) del tiolo sulle nanoparticelle debolmente stabilizzate da diottilammina.

[P2] (M)	k_{ads} (s ⁻¹ *L ⁻¹ *mol ⁻¹)
3.54E-08	9045
7.06E-08	5380
1.06E-07	3760
1.41E-07	2419
2.10E-07	1794
3.47E-07	1700

Fig. 78: valori di k_{ads} calcolati tramite il modello differenziale del secondo ordine sviluppato (Parte Sperimentale)

Come si può notare, i valori ottenuti alle diverse concentrazioni di fluoroforo sono tuttavia differenti ed in particolare la costante cinetica diminuisce con l'aumentare della quantità di tiolo utilizzata. Di nuovo, questo risultato suggerisce la presenza di tipologie differenti di siti presenti sulla superficie particellare. Quando il tiolo viene aggiunto in basse concentrazioni, reagiscono solo

Risultati e discussione

i siti dotati di maggior attività e la costante cinetica misurata è più elevata. Con l'aumentare della concentrazione del tiolo entrano in gioco anche i siti ad attività inferiore e la velocità complessiva misurata decresce.

Le reattività delle due tipologie di siti sono state separate utilizzando la seguente equazione:

$$k_{ads} = \frac{(k_H - k_L) * X}{T_{tot}} + k_L \quad (2)$$

dove k_H e k_L sono rispettivamente le costanti di velocità dei siti a alta e bassa affinità, x è il numero di siti a reattività maggiore (vertici, spigoli) e T_{tot} è la concentrazione di tioli totali in soluzione. In questo modo il valore di k_{ads} viene inteso come una media pesata (in base al numero di tioli coinvolti nel processo) delle due costanti cinetiche di adsorbimento.

La stima del valore di k_L può essere fatta graficamente dall'analisi dei valori di k_{ads} , poiché costituisce il limite asintotico della curva all'aumento della concentrazione di pirenil derivato. Per una valutazione del valore di k_H è invece teoricamente necessaria la conoscenza del parametro x (numero dei siti ad alta reattività presenti sul nanocluster). Non essendo possibile ottenere questo valore direttamente, si è proceduto all'interpolazione dei valori di k_{ads} secondo l'equazione sopra riportata.

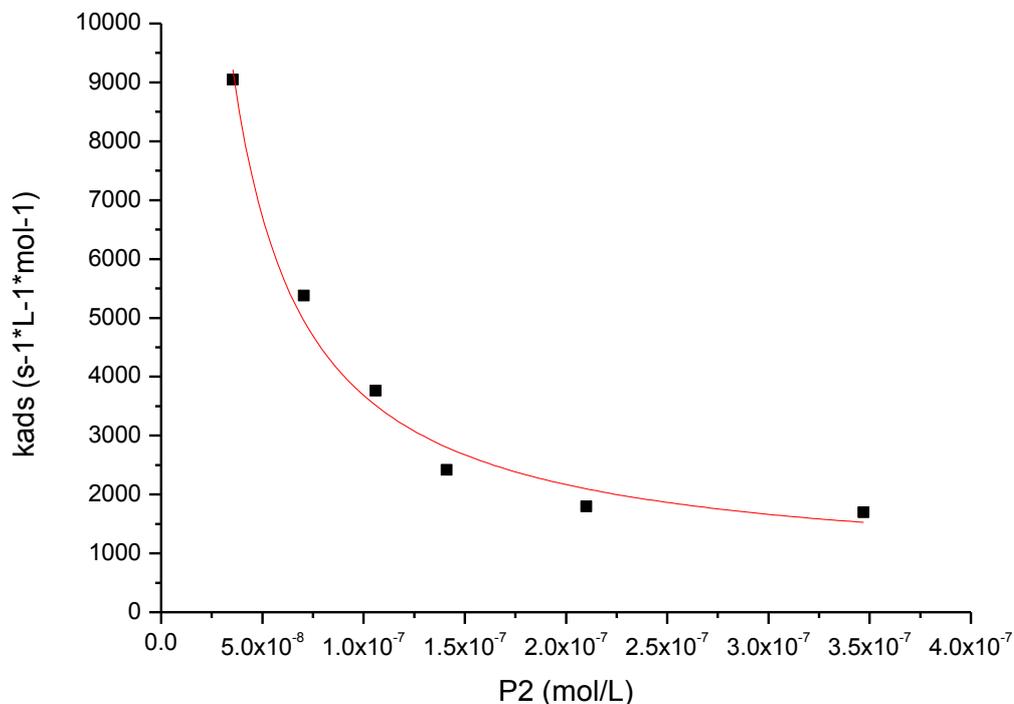


Fig. 79: interpolazione dei valori di K_{ads} ottenuti con l'equazione (2)

Risultati e Discussione

Il miglior fitting (R -Square = 0.98) si ottiene con un valore di concentrazione di x di $5.8E-8$ M, che rappresenta circa il 12% dei siti di binding ($5E-7$ M); la reattività dei siti più attivi (xxx) è circa 10 volte superiore a quella dei siti meno attivi.

E' interessante notare l'analogia con un lavoro recente di Hakkinen e Ackerson basato sulla cristallografia a raggi X in cui viene investigata la reattività verso la sostituzione su AuNPs di formula Au₁₀₂RS₄₄, utilizzando quantità sub stechiometriche del tiolo entrante, in cui vengono identificati i siti di maggior reattività della superficie (4). I dati qui riportati sono assolutamente in linea con questi risultati, sia riguardo la quantità dei siti ad alta attività (12% contro 9%), sia la differenza di reattività. Un'altra riflessione può essere effettuata valutando i valori assoluti di reattività misurati: costanti cinetiche di secondo ordine dell'ordine di 1000 - 10000 s⁻¹ M⁻¹ indicano che, nelle condizioni in cui le nanoparticelle vengono normalmente sintetizzate, con concentrazioni attorno al 10^{-3} M il processo di scambio è completo in di 1-2 secondi.

Ulteriori conferme di questi risultati sono state ottenuti dall'analisi di cinetiche di desorbimento del pirenilderivato chemisorbito in SAM a composizione unitaria in presenza di un forte eccesso di dodecantiolo (fig. 78). In questo caso l'attenzione è stata spostata dal processo di scambio amminatiolo a quello tiolo-tiolo, per valutare differenze ed analogie tra i due processi.

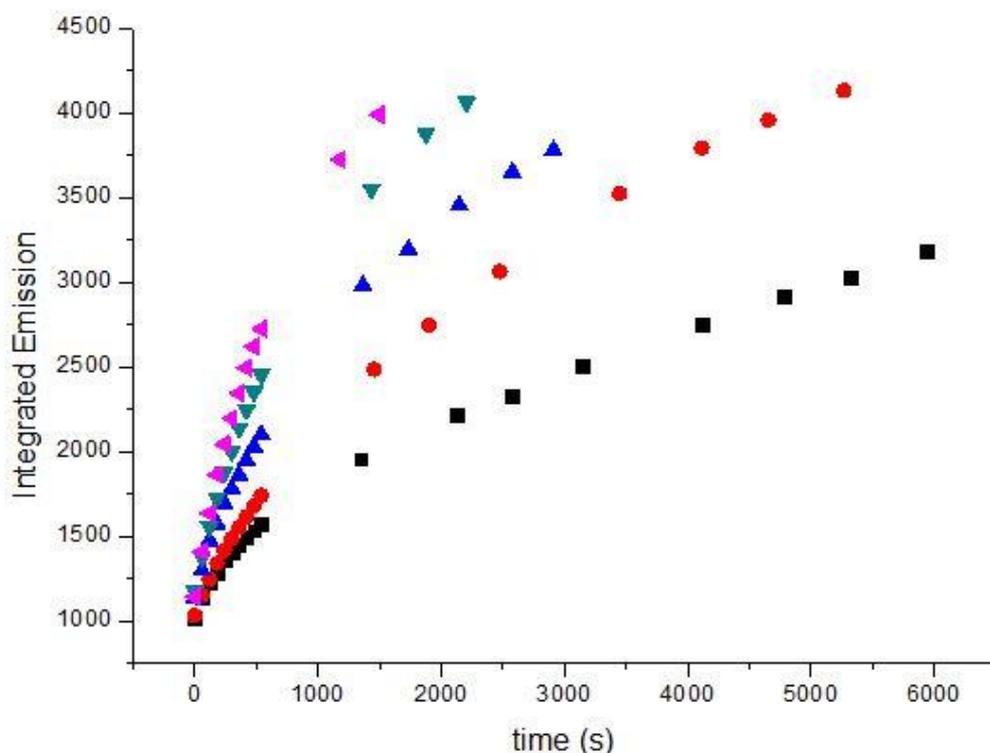


Fig. 80: cinetiche di desorbimento del pirenilderivato PYR2 dalla superficie nanoparticellare in presenza di eccesso di dodecantiolo [PYR2]: $1E-6$ M. [C12]: $2E-5$ M (nero), $4E-5$ M (rosso), $8E-5$ M (blu), $1.6E-4$ M (verde), $3.2E-4$ M (rosa)

Risultati e discussione

Dal momento che in questo caso il fenomeno investigato è il desorbimento del tiolo fluorescente, è possibile utilizzare il tiolo entrante in largo eccesso ed in questo modo semplificare l'analisi dei profili con andamenti di primo ordine.

Anche in questo caso però, le curve di desorbimento sono state efficacemente interpolate solo utilizzando un modello cinetico biesponenziale, letteratura simile a quello descritto in precedenza (pag. 79), formulato come segue:

$$I = I_1 \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t}) + I_2 \cdot (1 - e^{-k_2 \cdot t}) + I_0 \quad (3)$$

L'interpolazione delle curve permette di ottenere i valori di I_1 e I_2 (ampiezza dei due processi) ed i valori di k_1 e k_2 . E' interessante notare come il rapporto tra i primi due valori, che è equivalente a quello quantitativo dei siti a alta e bassa reattività sulla superficie aurea, sia di nuovo 0.12, in linea con il risultato ottenuto negli esperimenti precedenti.

C12 (M)	[2*10-5] (M)	[4*10-5]	[8*10-5]	[1.6*10-5]	[3.2*10-5]
I0	1.030	1.060	1.150	1.170	1.140
I1	443	443	443	443	443
k1	2.93E-03	1.51E-03	3.48E-03	4.18E-03	4.93E-03
I2	3.690	3.690	3.690	3.690	3.690
k2	1.04E-04	2.31E-04	3.21E-04	5.07E-04	7.19E-04

Fig. 81: valori ottenuti dall'interpolazione delle curve di desorbimento del pirenilderivato in presenza di un eccesso di tiolo alchilico C12 con l'equazione (3)

3.2.3. INDAGINE SUI MECCANISMI DI SELF-ASSEMBLY DEL SAM NELLA VARIANTE SINTETICA PENG SCRIMIN

La presenza di siti a reattività differente sulla superficie del nanocluster necessita di essere razionalizzata in una visione più ampia che possa giustificare non solo il processo di sorting ma anche le numerose evidenze sperimentali che suggeriscono che in monostrati misti si verifichi segregazione di fase. Non è cioè chiaro come il processo di chemisorbimento, a controllo cinetico, sia correlato con quello segregativo, che dovrebbe rispondere a una logica di minimizzazione di energia libera di separazione di fase, di tipo termodinamico.

La formazione di domini nel SAM potrebbe essere giustificata ipotizzando che i tiolati posseggano una mobilità superficiale sufficiente da portare a un riarrangiamento successivo all'adsorbimento, oppure che avvengano processi di "mutuo riconoscimento" in fase di sintesi che portano il SAM ad assemblarsi nella sua configurazione segregata, o che infine questa sia il risultato di processi di

Si è quindi operata una valutazione delle ipotesi sopracitate, ipotizzando anche in questo caso che la driving force del processo di riarrangiamento/self assembling cooperativo fosse la formazione di legami idrogeno tra le molecole costituenti il monostrato.

In una prima serie di esperimenti si è proceduto ad indagare l'ipotesi di self assembling cooperativo valutando le cinetiche di desorbimento del pirenilderivato PYR2 dalla superficie aurea, indotto da un eccesso dei tioli C12 e TEG (pag.43). Ho inoltre studiato anche AuNPs ricoperte dal tiolo C12TEG (fig. 80), che costituisce un analogo del tiolo TEG privo del gruppo ammidico, e viene perciò utilizzato come composto di riferimento per valutare gli effetti della stesso.

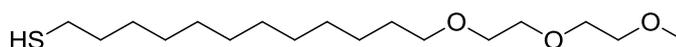


Fig. 82: struttura del tiolo C12TEG

Questi esperimenti sono stati effettuati nell'ipotesi che l'occorrenza di cooperazione nel self assembling dia luogo a profili di desorbimento di tipo sigmoideale, o che comunque la velocità di distacco del pirenilderivato sia maggiore in presenza del derivato ammidico TEG rispetto a quella del tiolo alchilico C12. L'utilizzo di un forte eccesso di tiolo entrante rende il processo di desorbimento sostanzialmente assimilabile a quello sintetico, in quanto l'equilibrio viene fortemente spinto verso i prodotti (processo di pseudo-primo ordine).

L'analisi delle curve è stata perciò operata tramite il modello esposto a pag. 79.

Risultati e discussione

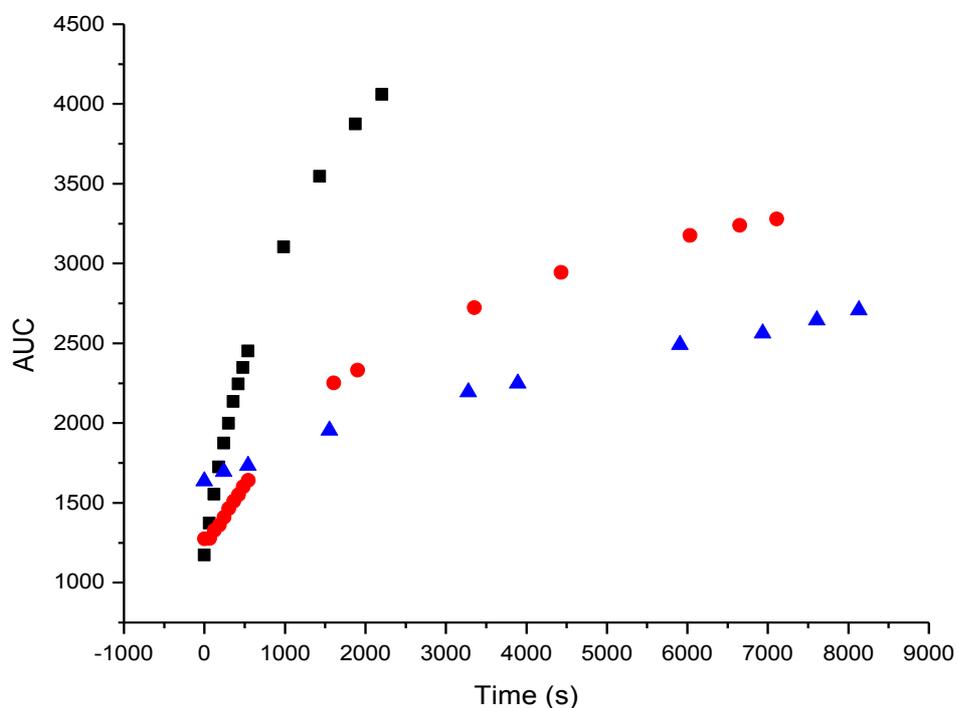
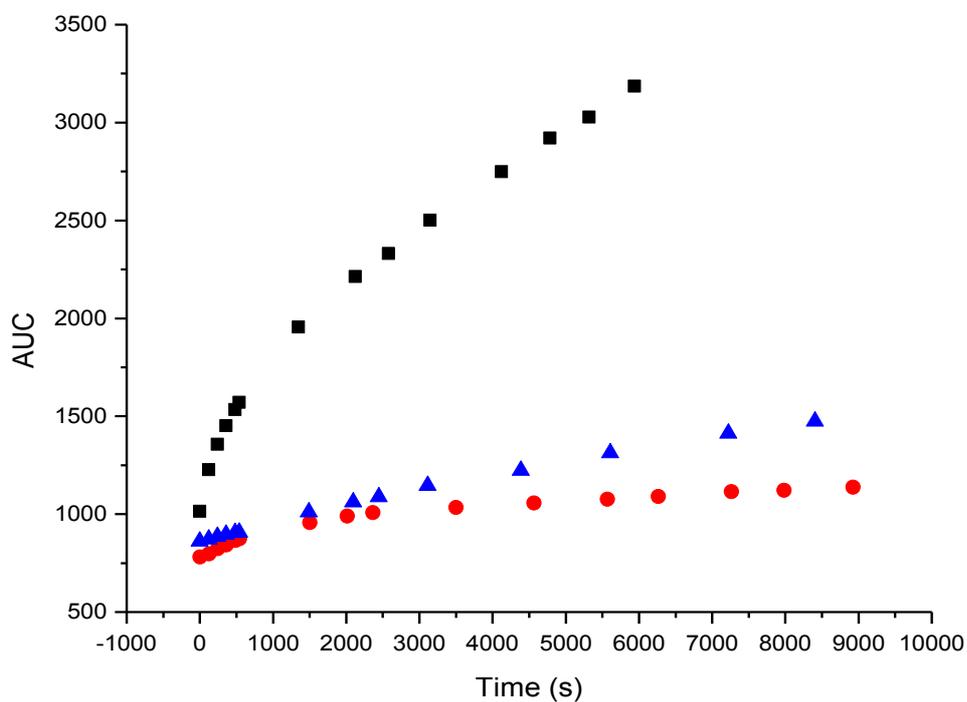


Fig. 83: profili di desorbimento del derivato pirenilico PYR2 in presenza del derivato C12 (nero), C12TEG (rosso) e TEG (blu). Le curve sono riferite a concentrazione di tiolo entrante $2 \cdot 10^{-5} \text{M}$ (alto) e $1.6 \text{E}-4 \text{M}$ (basso) per una concentrazione di siti sulla superficie particellare di $1.0 \cdot 10^{-6} \text{M}$ in DMF a $T=25^\circ$

Risultati e Discussione

Gli andamenti cinetici riportati in fig. 81 evidenziano come la catena poliossoetilenica e il gruppo ammidico causino una diminuzione della velocità del processo di desorbimento, tanto che le curve riferite al derivato TEG non possono essere interpolate soddisfacentemente con il modello cinetico proposto. La differenza tra i valori della costante di velocità del derivato ammidico TEG e quelli dell'equivalente alchilico C12, superiori di circa un ordine di grandezza, sembra escludere un coinvolgimento del gruppo ammidico in fase di self assembly del monostrato. In tab.1 si riportano i valori delle costanti cinetiche di desorbimento ottenute con il modello sottostante, che, prevedendo un solo processo, ha permesso un confronto tra tutte le curve sperimentali.

$$I = I_1 \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t}) + I_0 \quad (4)$$

[P1] (M)	C12 (a) k (sec-1)	C12TEG (b) k (sec-1)	TEG (c) k (sec-1)
2.0*10 ⁻⁵	1.5*10 ⁻⁴	1.3*10 ⁻⁵	2.0*10 ⁻⁵
4.0*10 ⁻⁵	3.6*10 ⁻⁴	2.2*10 ⁻⁵	3.2*10 ⁻⁵
8.0*10 ⁻⁵	5.3*10 ⁻⁴	7.6*10 ⁻⁵	5.5*10 ⁻⁵
1.6*10 ⁻⁴	8.8*10 ⁻⁴	1.7*10 ⁻⁴	6.6*10 ⁻⁵
3.2*10 ⁻⁴	1.2*10 ⁻³	4.7*10 ⁻⁴	1.2*10 ⁻⁴

Fig. 84: costanti cinetiche di desorbimento ottenute con l'interpolazione delle curve tramite l'equazione (4)

La possibilità di artefatti strumentali che potessero precludere un confronto tra i profili di desorbimento indotti dai tre tioli è stata verificata tramite esperimenti combinati in cui si è, in un primo momento, aggiunto il tiolo C12TEG/TEG alle concentrazioni minima (1.0E-5) e massima (3.2E-4) esplorate nel set sperimentale, e successivamente (t = 10000 s) il tiolo C12 (1.6E-4), evidenziando la riproducibilità degli andamenti e che le curve tendano a raggiungere lo stesso valore di plateau (completo scalzamento del pirenil derivato dalla superficie).

Risultati e discussione

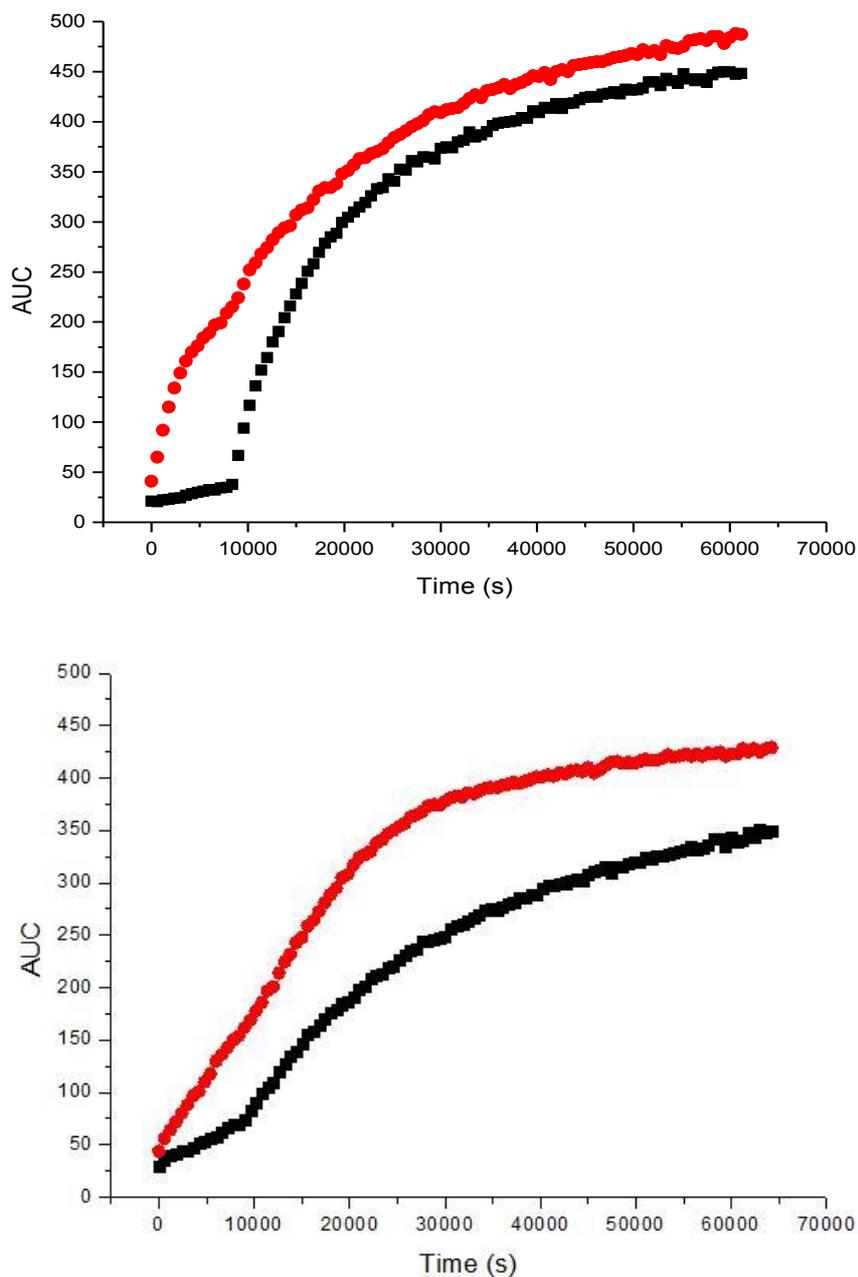


Fig. 85: profili di desorbimento del derivato pirenilico estereo 1 in presenza del derivato C12TEG (sopra) e TEG (sotto) a concentrazione $[1.0 \cdot 10^{-5}]$ (rosso) e $[3.2 \cdot 10^{-4}]$ (nero). A $t=10000$ viene operata l'aggiunta del tiolo C12 $[1.6 \cdot 10^{-4}]$

Appurato che il meccanismo segregativo non si basa sui processi di mutuo riconoscimento tra tioli omologhi, si è proceduto a verificare che vi fosse legame H tra di essi all'interno del monostrato. La presenza di interazioni deboli interadsorbato, che potrebbero costituire la "driving force" del fenomeno di riarrangiamento superficiale, è stata indagata in una seconda serie di esperimenti in cui il pirenilderivato PYR2 in soluzione è stato scambiato su monostrati a composizione unitaria formati dai tioli C12, TEG e C12TEG.

3.2.4. INDAGINE SULLE PROPRIETA' DI SELF ASSEMBLED MONOLAYERS A COMPOSIZIONE UNITARIA

Le proprietà strutturali del sistema nanoparticella sono determinate, oltre che dalla forma del nucleo metallico, anche dalla struttura molecolare degli adsorbati costituenti il monostrato. In una recente pubblicazione del nostro gruppo di ricerca⁹ si riportano evidenze sperimentali che suggeriscono che in monostrati composti dai tiolati C10 e TEG (fig. 84) si otterrebbe una configurazione segregata a semicalotte (Janus), mentre il coadsorbimento dei tiolati C12 e ZW porterebbe ad un arrangiamento casuale (random). Questo fenomeno potrebbe essere dovuto all'aumentata stabilizzazione termodinamica del sistema nella configurazione segregata dovuto alla formazione di ponti idrogeno tra i gruppi ammidici presenti nel tiolato TEG (il tiolato C12 non essendo funzionalizzato stabilisce solo deboli interazioni dispersive). Interazioni intermolecolari a coppia ionica con gli omologhi vicinali sono però possibili anche nel caso della miscela C12 e ZW (fig.) da parte del tiolato ZW, che dovrebbe anch'esso quindi indurre fenomeni segregativi, cosa che sperimentalmente non è stata verificata accadere.

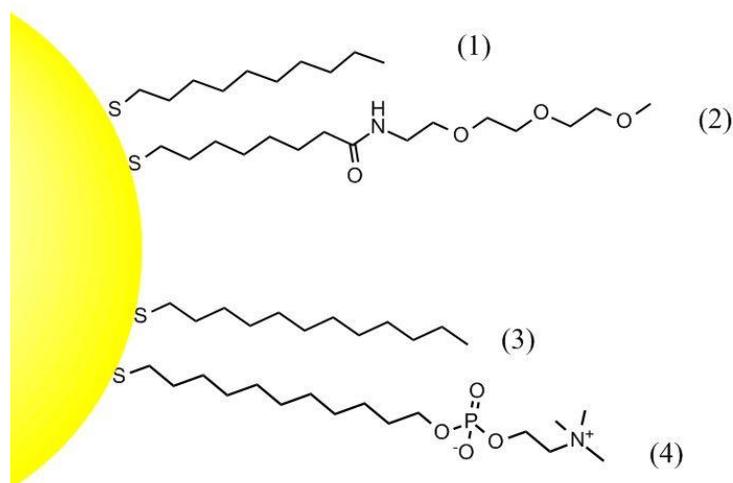


Fig. 86: struttura dei tiolati inducenti segregazione di fase, C10 (1) e TEG (2), e disposizione casuale, C12 (3) e ZW (4)

Per valutare l'entità e la natura di tali interazioni interadsorbato, ho deciso di investigare la reazione di scambio tra il pirenilderivato PYR2 e nanoparticelle di oro da 2 nm ricoperte da monostrati a composizione unitaria formati dai tioli C12TEG, TEG e ZW.

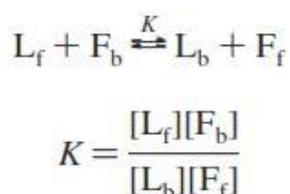
L'idea dietro questi esperimenti è che le interazioni intermolecolari dovrebbero incrementare la stabilità del monostrato, rendendolo complessivamente meno suscettibile alla sostituzione di tioli in soluzione incapaci di stabilire relazioni analoghe. Questi effetti dovrebbero riflettersi sul valore della costante di equilibrio K_{eq} del processo di scambio. Studi precedenti hanno investigato le costanti

Risultati e discussione

di equilibrio del processo di scambio di tioli sulla superficie di nanoparticelle^{5,10}: nel caso di tioli alchilici i valori ottenuti sono prossimi all'unità, come ci si potrebbe attendere data la somiglianza tra i tioli entranti ed uscenti. Nel caso di tioli stericamente ingombrati è stata notata una scarsa attitudine alla sostituzione. Sono stati invece scarsamente investigati monostrati costituiti da tioli in grado di stabilire interazioni intermolecolari (monostrati funzionalizzati): in questo caso, ci potrebbe aspettare che il valore della costante di equilibrio K_{eq} sia inversamente proporzionale alla forza delle interazioni deboli interadsorbato all'interno del monostrato.

Seguendo un protocollo riportato in letteratura¹⁰, le reazioni di scambio sono state studiate utilizzando il rapporto tra tiolo pirenilico ed i binding sites sulla particella (β) nell'intervallo di valori 0.1/0.4. Il modello utilizzato permette di correlare il rapporto I_f/I_0 (valori di emissione iniziale e finale) con la costante di equilibrio K_{eq} e la "brillanza" del fluoroforo Q (prodotto del coefficiente di estinzione molare ϵ e della resa quantica ϕ) adsorbito sulla superficie.

L'equilibrio dinamico della soluzione e la costante di equilibrio termodinamico al raggiungimento dello stato stazionario (K) possono essere descritti come:



dove L_f , L_b , F_f , F_b sono rispettivamente il tiolo scambiato (L) e il fluoroforo (F) liberi (f) e complessati (b) con la superficie aurea. Si può dimostrare che nel caso $K \neq 1$, il valore di F_f si può ricavare come segue:

$$F_f = \frac{-b - \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

$$a = 1 - K$$

$$b = \beta(K - 2) - K$$

$$c = \beta^2$$

I valori delle concentrazioni di F_f e F_b all'equilibrio sono correlati con la costante di equilibrio termodinamico K_{eq} e la "brillanza" Q del fluoroforo dalla relazione seguente:

Risultati e Discussione

$$I/I_0 = \frac{1}{\beta} (F_f + F_b Q)$$

Questo modello non tiene conto della presenza di siti a reattività differente sulla superficie particellare (la costante di equilibrio misurata è una media ponderata di tutte le costanti delle varie tipologie di siti di binding) e presume uno scambio 1:1 tra tiolo entrante e uscente (assunzione non sempre vera in quanto la struttura chimica dei tioli influisce pesantemente sulla quantità di componente organica della nanoparticella ma accettabile nel caso in esame), ma è stata utilizzata per descrivere efficacemente il comportamento di tioli-fluorofori nello scambio di monostrati ricoperti di tioli alchilici stabilizzanti AuNPs di dimensione media di 4.5 nm.

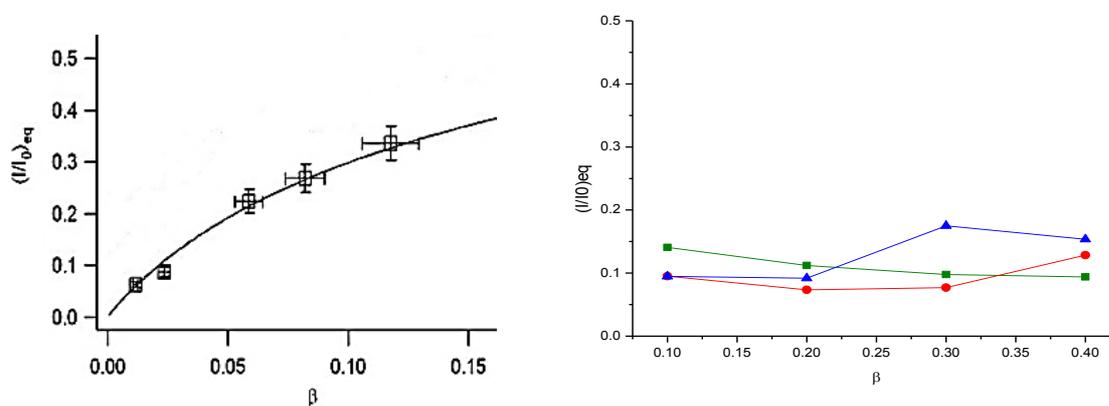


Fig. 87: valori del rapporto β (tiolo entrante/uscente) reperibili in letteratura per monostrato non funzionalizzato (dodecantio) su AuNPs di 4.5 nm (sinistra) e sperimentali per AuNPs di 2.0 nm (verde= 2, blu= 4, rosso= 5)

L'applicazione del modello ai monostrati da me investigati (fig. 85) non ha tuttavia avuto esito positivo. Come si evince dal confronto tra i grafici riportati in fig. 85 il livello di quenching del pirenilderivato è risultato molto maggiore rispetto ai dati riportati in letteratura, rendendo difficile il delinearci di un andamento del rapporto I_f/I_0 . Ciò non ha permesso l'interpolazione dei valori sperimentali con il modello proposto e non è stata quindi possibile una stima di K_{eq} e Q . Ad ogni modo, l'alto valore di quenching osservato sembrerebbe indicare che il tiolo fluorescente sostituisca in modo pressoché completo il tiolo presente sulle particelle, e farebbe quindi ipotizzare valori di K_{eq} largamente superiori a quelli reperibili in letteratura per sistemi non funzionali¹⁰. D'altro canto questa osservazione appare difficile da spiegare sulla base dei ragionamenti riportati poche righe fa: i tioli funzionali sembrano infatti destabilizzare e non stabilizzare il monostrato.

Risultati e discussione

Data la difficoltà di misurare le costanti di equilibrio della reazione di scambio tramite misure di fluorescenza, ho deciso di affrontare il problema utilizzando la spettroscopia $^1\text{H-NMR}$.

Questa tecnica presenta infatti due vantaggi. Il primo è che semplicemente integrando i segnali delle specie presenti è possibile ottenere informazioni sulle concentrazioni delle stesse. Il secondo è che consente l'utilizzo di un tiolo scambiante privo di gruppi funzionali, come un tiolo alchilico. Infatti si possono ravvisare alcune controindicazioni nel tiolo PYR2 utilizzato negli esperimenti appena descritti: esso infatti contiene un gruppo estereo ed un gruppo aromatico esteso (il pirene) che potrebbero portare a formare nuove interazioni con le molecole sostituite o con se stesso, alterando parzialmente le informazioni ottenute degli esperimenti di scambio.

Nell'utilizzare invece la spettroscopia NMR, ho potuto scegliere l'ottiliolo come tiolo entrante. Questa molecola infatti è priva di ogni capacità di interazione, se non le interazioni dispersive tipiche degli idrocarburi, e consente di isolare molto bene gli effetti dei gruppi funzionali presenti nei tioli TEG, ZW e C12TEG sull'impaccamento del monostrato.

L'unico problema derivante dall'utilizzo della tecnica NMR è la sovrapposizione dei segnali, in particolare tra quelli di una stessa molecola in soluzione o agganciata alle particella. Per superare questo problema, ho registrato gli spettri utilizzando la sequenza CPMG-Z¹¹, la quale rimuove efficacemente i segnali dei tiolati adsorbiti sulla superficie nanoparticellare (fig. 86), in particolare modo nella regione alchilica interna (più impaccata), e permette quindi di ottenere una precisa integrazione dei segnali derivanti dalle specie libere in soluzione.

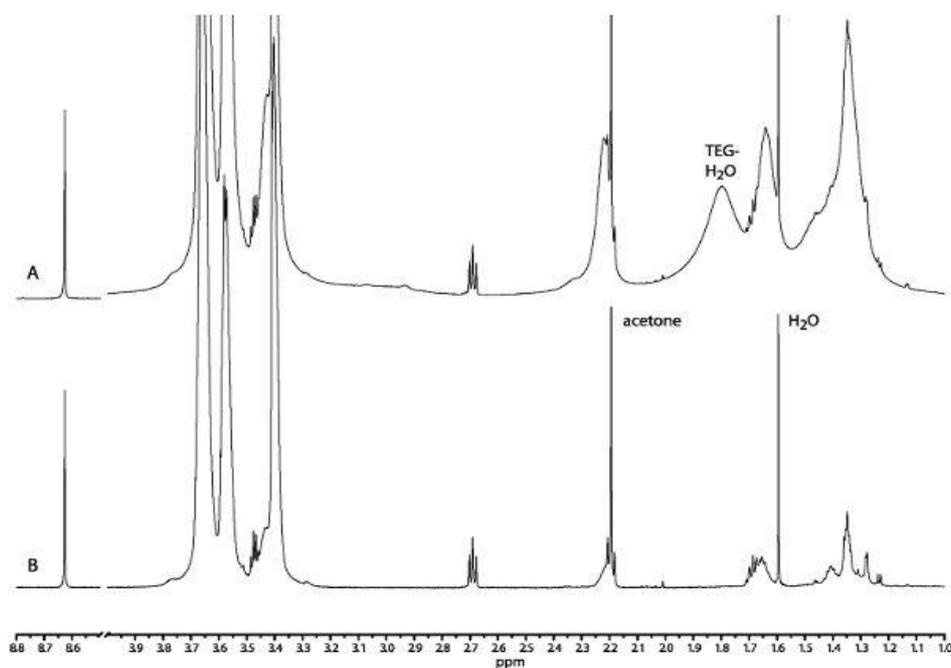


Fig. 88: effetto dell'applicazione del filtro CPMG-Z su AuNPs stabilizzate dal derivato TEG

Risultati e Discussione

Anche in questo caso si è ipotizzato uno scambio 1:1 tra tiolo entrante e uscente; la precisa determinazione della quantità di specie coinvolte (molarità dei tioli adsorbiti sulle AuNPs e di ottiltiolo libero in soluzione) permette di calcolare agevolmente il valore della K_{eq} al raggiungimento dello stato stazionario.

I valori di K_{eq} sono stati registrati per diversi valori di T e successivamente interpolati tramite l'equazione di van't Hoff. Quest'equazione, che relaziona K_{eq} e T qualora non vi sia variazione di entalpia standard di reazione (ΔH^0) con la variazione di temperatura, viene utilizzata per stimare la variazione delle funzioni di stato nei sistemi termodinamici ed ha la seguente formulazione:

$$\ln K_{eq} = \frac{-\Delta H_r}{RT} + \frac{\Delta S_r}{R}$$

dove K_{eq} è la costante di equilibrio termodinamico del sistema, H_r la variazione di entalpia associata alla formazione dei prodotti, S_r la variazione di entropia associata alla formazione dei prodotti, T la temperatura e R la costante universale dei gas.

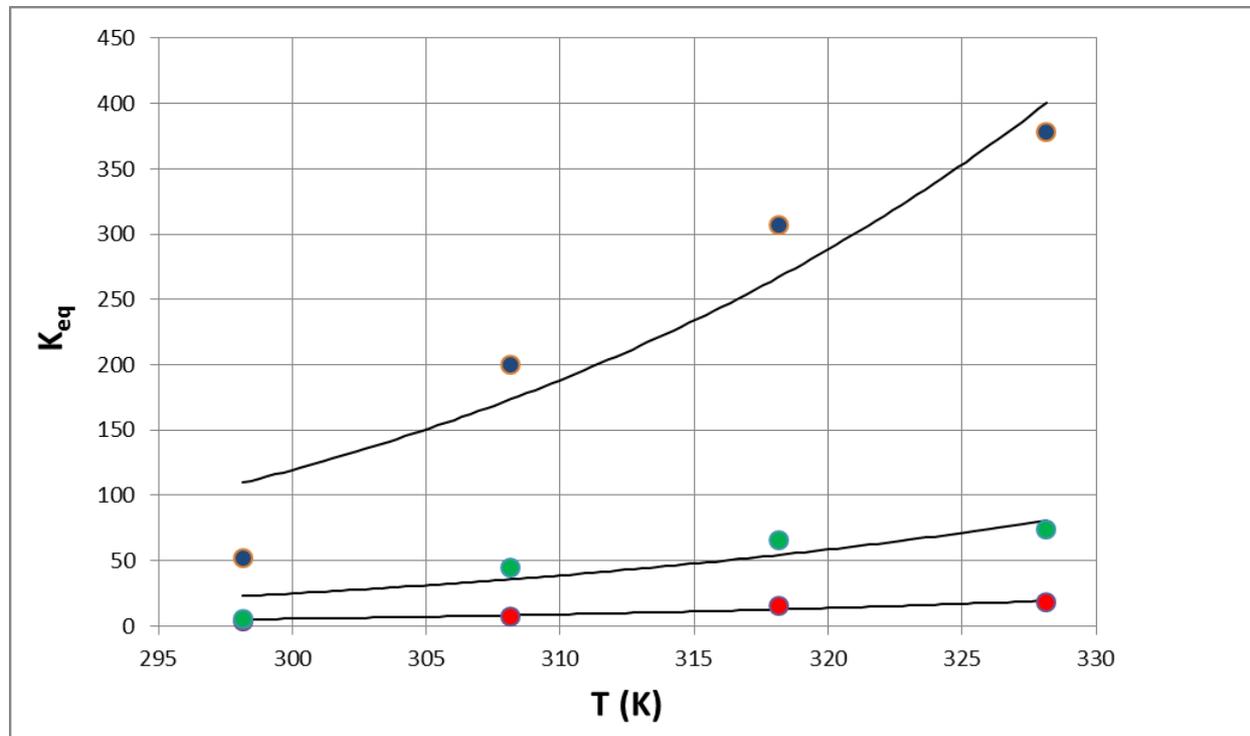


Fig. 89: variazione di K_{eq} verso T per il monostrato composto dal tiolo TEG (verde), ZW (blu) e C12TEG (rosso)

Risultati e discussione

L'interpolazione dei valori di K_{eq} ottenuti alle diverse temperature secondo la relazione di van't Hoff è riportata in fig. 87. Si nota immediatamente che, per tutti i tre monostrati funzionalizzati, il valore della K_{eq} è molto maggiore di 1, risultato sperimentale in accordo con i dati ottenuti con gli esperimenti di fluorescenza. Inoltre, la reazione di scambio sembra essere maggiormente promossa per i monostrati nei quali gli adsorbati tendono a instaurare con i tioli vicinali interazioni altamente stabilizzanti; la rimozione del gruppo ammidico al tiolo TEG (rosso) causa un decremento della sensibilità del monostrato nel processo di scambio. Il tiolo ZW, al contrario, dimostra una tendenza allo scambio molto più pronunciata.

Un'analisi dei valori di ΔH e ΔS ottenuti attraverso l'interpolazione dei risultati con l'equazione di van't Hoff spiega questo andamento: i valori delle funzioni di stato in fig. evidenziano che per i tre monostrati analizzati l'entalpia di reazione ΔH associata alla reazione di scambio, sempre positiva, non presenta significative differenze. Questo indica che i gruppi funzionali presenti sui tre tioli sono in grado di mediare interazioni intermolecolari che stabilizzano entalpicamente il monostrato in modo comparabile.

Monostrato	ΔS (J/mol)	ΔH (J/mol)
ZW	1.36E+02	3.64E+04
TEG	1.41E+02	3.42E+04
C12TEG	1.57E+02	3.52E+04

Fig. 90: valori di ΔS e ΔH relativi alla reazione di sostituzione dei monostrati da parte di ottiltiolo (C8)

Ciò che determina le differenze di suscettibilità dei tre monostrati allo scambio con il tiolo alcolico in soluzione è la variazione di entropia: in tutti e tre i casi infatti essa è positiva (con il processo di sostituzione il disordine del sistema aumenta) e il suo contributo compensa ampiamente il costo entalpico pagato per il rilascio in soluzione dei tioli funzionali.

In altre parole, il network di interazioni intermolecolari presenti nel monostrato costituito da tioli funzionali non comporta una stabilizzazione dello stesso poiché il costo entropico pagato per la perdita di libertà conformazionale dei tioli, la cui struttura viene notevolmente irrigidita dal combinarsi delle interazioni con i tioli vicini e con la superficie, è nettamente superiore al beneficio entalpico dovuto alle interazioni intermolecolari stesse.

Ciò significa che, maggiore è il grado di impaccamento e delle forze di interazione inter-tiolato, più il processo di scambio viene ad essere favorito.

Risultati e Discussione

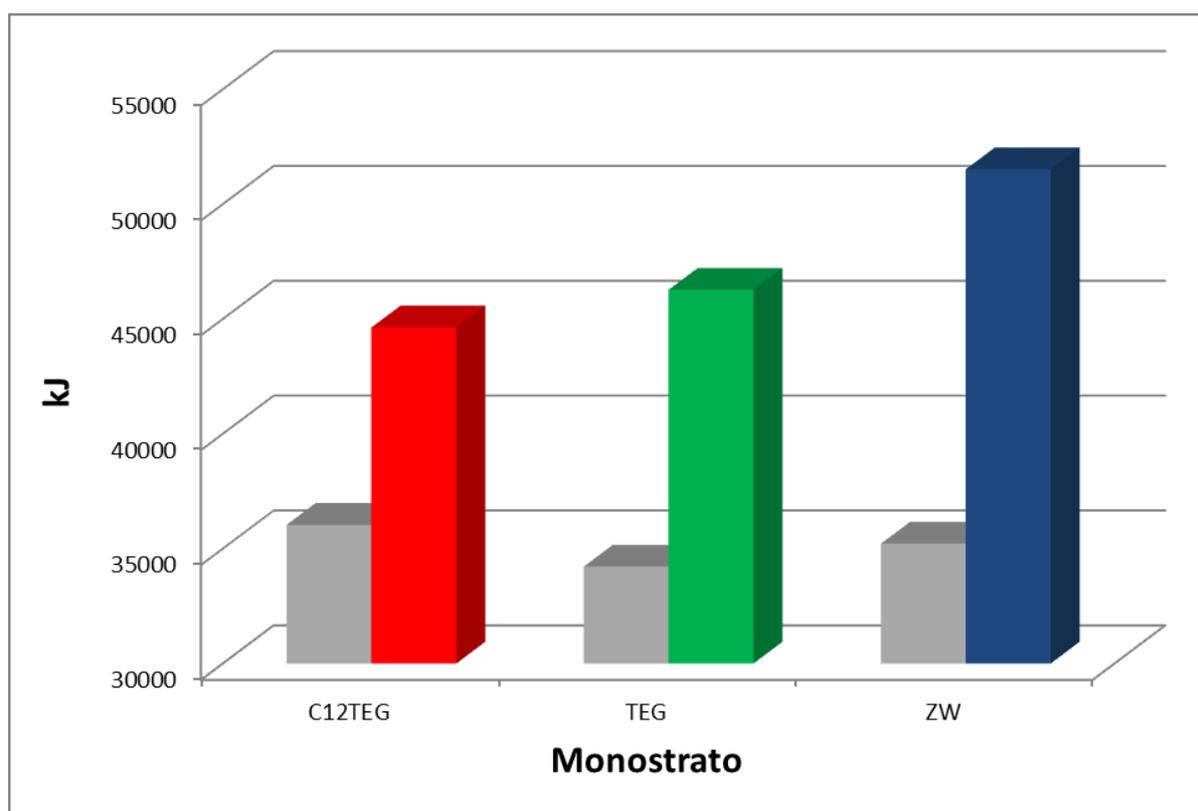


Fig. 91: valori di ΔH (grigio) e $T\Delta S$ (328.15 K) della reazione di scambio per i monostrati 3 (rosso), 2 (verde) e 4 (blu)

3.2.5. CONCLUSIONI

Il lavoro svolto si è focalizzato sull'investigazione del processo di chemisorbimento di tioli su AuNPs debolmente stabilizzate da diottilammina, come previsto dal protocollo sintetico Peng Scrimin. Un'investigazione di questo tipo si rende necessaria in quanto il passaggio aggiuntivo previsto da questa variante sintetica, ovvero la stabilizzazione intermedia dei nuclei metallici per mezzo dell'ammina, pone molteplici interrogativi, riguardo ai meccanismi di formazione del monostrato, che potrebbero essere alla base dei processi di cosiddetto "sorting".

Le cinetiche di adsorbimento del tiolo pirenilico, seguito tramite lo spegnimento dell'emissione del fluoroforo, sono state in un primo momento interpolate tramite un modello a doppio decadimento esponenziale costituito dalla somma di due processi del primo ordine; nei parametri ottenuti non è stato però evidenziato un andamento apprezzabile. Inoltre, alle condizioni sperimentali adottate per gli esperimenti l'osservazione di leggi cinetiche del primo ordine è priva di fondamento logico in quanto i valori di concentrazione di tiolo e di atomi superficiali d'oro sono comparabili e dovrebbero portare a modelli cinetici del secondo ordine. Si è quindi proceduto alla stesura di un sistema di equazioni in forma differenziale che consentisse di interpolare un processo di II ordine, assumendo che tutti i siti binding delle particelle avessero la stessa reattività.

I valori della costante cinetica ottenuti (K_{ads}) sono stati successivamente interpolati assumendo che la superficie particellare sia anisotropa, ovvero che vi siano almeno due macro categorie di siti di binding per i tiolati; il valore ottenuto da quest'interpolazione permette di stimare una percentuale di siti a reattività alta del 12% del totale. Questo valore è in linea con quello recentemente riportato da Hakkinen e Ackerson per AuNPs di formula minima $Au_{102}(p-MBA)_{44}$ e da Montalti e co., in una pubblicazione dove viene utilizzato un metodo di determinazione analogo⁷.

Si può quindi ragionevolmente concludere che l'utilizzo dell'ammina nella variante sintetica Peng Scrimin non comporta significative modificazioni sul packing degli atomi di oro, ovvero che i due percorsi sintetici, aventi meccanismi presumibilmente differenti, portano a morfologie del nucleo metallico simili.

Il processo di self assembly è stato successivamente indagato assimilandolo a quello di un processo di scambio di primo ordine tra tiolati su un substrato pirenilico costituito dal tiol PYR2; l'evidenza che per tioli alchilici le costanti cinetiche di sostituzione abbiano valori maggiori rispetto a quelle dei corrispondenti tioli funzionalizzati sembra indicare che, almeno nei sistemi considerati, non vi è nessuna cooperazione tra i tioli entranti nella reazione di scambio. Infatti il tiolo alchilico è più veloce nel sostituire le molecole del monostrato rispetto a quelli che presentano gruppi funzionali. I parametri più rilevanti in questi sistemi sembrano quindi essere l'ingombro sterico del tiolo entrante (i tioli dotati di gruppi funzionali potrebbero essere stericamente più impediti per fenomeni di

Risultati e Discussione

aggregazione o per la maggior solvatazione).

L'attenzione si è successivamente spostata sul monostrato organico, nel tentativo di razionalizzare le evidenze sperimentali di segregazione di fase registrate dal nostro gruppo di ricerca. In un primo le proprietà di monostrati omologando sono state investigate tramite un modello di scambio basato anche in questo caso sulla spettroscopia di emissione di fluorescenza, nell'ipotesi che fosse il gruppo funzionale ammidico a indurre segregazione di fase per un aumento della stabilità del monostrato dovuto a interazioni a ponte H interadsorbato. Successivamente, dopo aver provato la non applicabilità di questo modello a monostrati funzionalizzati, la determinazione della costante di equilibrio della reazione di scambio (K_{eq}) è stata effettuata attraverso la spettroscopia NMR, eseguendo esperimenti di scambio con ottitolo a temperatura controllata.

Ciò che si è evinto dai risultati ottenuti è che il valore di K_{eq} è, come inizialmente anticipato dai risultati degli esperimenti di fluorescenza, ampiamente maggiore di 1, il che significa che alle condizioni sperimentali ($T=25^\circ$), la sostituzione del tiolo funzionale è favorita. Questo dato giustifica la non-applicabilità del modello reperito in letteratura ai monostrati da me investigati. Inoltre, il valore di K_{eq} risulta direttamente proporzionale alla forza delle interazioni interadsorbato; in altre parole, tanto più i tioli funzionalizzati tendono a stabilire forti interazioni con i tioli vicini, tanto più il monostrato si destabilizza e il processo di sostituzione è favorito.

L'interpolazione dei valori di K_{eq} con l'equazione di van't Hoff fa supporre che quest'aumento destabilizzazione trovi il suo fondamento nel fattore entropico, ovvero che la stabilizzazione entalpica derivante dall'instaurarsi di nuove interazioni nel monostrato sia contrastata e superata dalla perdita di libertà conformazionale del tiolato (fattore entropico). Il tiolato funzionale sarebbe perciò "spinto" alla migrazione in soluzione dalla sostituzione da parte dell'altro tiolo non funzionale (ottitolo), in quanto in soluzione la sua libertà conformazionale è maggiore, e questo tanto più quanto il monostrato è "rigido" e impaccato.

3.2.6. PARTE SPERIMENTALE

3.2.6.1. Sintesi del tiolo pirenilico PYR2

Per la sintesi del pirenil derivato PYR2 si fa riferimento alla Parte Sperimentale del capitolo 3.1.

3.2.6.2. Sintesi di nanoparticelle d'oro debolmente stabilizzate da diottilammina

Per la sintesi dei nanoparticelle d'oro debolmente stabilizzate da diottilammina si fa riferimento alla sintesi di nanoparticelle d'oro descritta nella Parte Sperimentale del capitolo 3.1. Non viene in questo caso operata alcuna aggiunta finale di tioli stabilizzanti.

3.2.6.3. Esperimenti di chemisorbimento del tiolo pirenilico PYR2 su AuNPs debolmente stabilizzate da diottilammina

Negli esperimenti di chemisorbimento, una soluzione di nanoparticelle debolmente stabilizzate da diottilammina, ottenuta per diluizione in DMF della soluzione in toluene ottenuta nella sintesi di Peng-Scrimin, viene del mescolata con il pirenilderivato e l'emissione del fluoroforo viene monitorata a 397 nm fino alla sua stabilizzazione (Ex. Slit: 10, Em. Slit: 10, photomultiplier:750).

La concentrazione ottimale di AuNPs ($4.8E-9$ M) è stata individuata in modo che l'assorbimento UV-Vis della soluzione fosse di 0.1 a 300 nm, valore di assorbanza al di sopra del quale le correzioni attuate per calcolare l'effetto di filtro delle nanoparticelle delle AuNPs sull'emissione del fluoroforo non risultano più affidabili. Si è inoltre verificato che alle concentrazioni utilizzate ($3.54E-8$ M/ $3.54E-7$ M) l'emissione del fluoroforo risultasse direttamente proporzionale alla concentrazione stesso, che non vi fossero cioè effetti di filtro interno in cui, a causa della elevata concentrazione, parte della luce della sorgente viene assorbita degli strati esterni del campione e non raggiunge la zona di misura.

Gli esperimenti sono stati effettuati in un regime di "sub-saturazione" della superficie particellare, ovvero esplorando un rapporto di concentrazioni tiolo/particelle (ogni particelle è in media coperta completamente da 70 tioli) tale per cui allo stato stazionario tutti i tioli siano complessati con la superficie aurea, in virtù della maggior affinità del gruppo sulfidrilico rispetto a quello amminico. Per i calcoli del valore medio del numero di tiolati per particella è stata utilizzata la formula minima di Au180RS70, convenzionalmente adottata dal nostro gruppo di ricerca.

3.2.6.4. Esperimenti di scambio del tiolo pirenilico PYR2 su monostrati funzionalizzati

Nel tipico esperimento, una soluzione madre in MeOH delle AuNPs di interesse viene diluita in

Risultati e Discussione

cuvetta in MeOH in modo da ottenere una concentrazione di tioli funzionali di $1\text{E-}6$; l'assorbimento ottico della soluzione viene controllato, verificando che il valore di assorbanza non ecceda anche in questo caso 0.1. Si aggiunge successivamente il tiolo pirenilico da una soluzione madre in DMF, in modo che la concentrazione dello stesso ricada tra $1\text{E-}7\text{M}$ e $4\text{E-}7\text{M}$ ($\beta = 0.1-0.4$). L'emissione del pirenil derivato viene monitorata a intervalli di tempo regolari (1h) fino a completa stabilizzazione; il rapporto tra l'emissione integrata allo stato stazionario e quello ottenuto da una retta di calibrazione (I_f/I_0) viene utilizzato per l'interpolazione matematica descritta.

Per gli esperimenti di scambio del tiolo pirenilico su monostrati funzionalizzati è stata adottata la formula minima di struttura Au180RS70

3.2.6.5. Esperimenti di scambio del tiolo alchilico C8 (ottiltiolo) su monostrati funzionalizzati

Nel tipico esperimento, una soluzione madre in MeOD delle AuNPs di interesse viene diluita in tubo NMR in MeOD in modo da ottenere una concentrazione di tioli funzionali di $1\text{E-}5$. Si aggiunge successivamente il tiolo alchilico C8, precedentemente dissolto in MeOD, in modo che la concentrazione dello stesso nel tubo NMR sia di $1\text{E-}5\text{M}$. Dopo agitazione, il tubo viene lasciato in bagno termostato alla temperatura di interesse per 48h e successivamente si registra lo spettro $^1\text{H-NMR}$ utilizzando la sequenza CPMG-Z per la rimozione dei segnali derivanti dalle AuNPs. Le concentrazioni delle specie allo stato stazionario vengono calcolate utilizzando il segnale del tripletto del tiolo alchilico CH_3CH_2- , utilizzando uno spettro di riferimento dello stesso a $[\text{C8}] = 1\text{E-}5\text{M}$ e calcolando le concentrazioni di tiolo funzionale libero per differenza, assumendo uno scambio 1:1. Vengono calcolate in questo modo le K_{eq} a 25°C , 35°C , 45°C , 55°C .

Per gli esperimenti di scambio del tiolo pirenilico su monostrati funzionalizzati è stata adottata la formula minima di struttura Au180RS70.

3.2.6.6. Parte strumentale

Per le specifiche riguardanti la parte strumentale, si rimanda alla corrispondente sezione del paragrafo 3.1.

3.2.7. BIBLIOGRAFIA

1. Manea, F.; Bindoli, C.; Polizzi, S.; Lay, L.; Scrimin, P.; *Langmuir*, 2008, 24, 4120-4124
2. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R., *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 801-802
3. Boal, A.; Rotello, M. V.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 133, 734-735
4. Wang, Y.F.; Neyman, A.; Arkhangelsky, E.; Gitis, V.; Meshi, L.; Weinstock, I.A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 17412-17422
5. Ipe, B. I., Thomas, K. G.; *J. Phys Chem. B.*, 2004, 108, 13265-13272
6. Battistini, G., Cozzi, P.G., Jalkanen, J.P., Montalti, M., Prodi, L., Zaccheroni, N., Zerbetto, F.; *ACS Nano*, 2008, 2, 77-84
7. Montalti, M., Prodi, L., Zaccheroni, N., Baxter, R., Teobaldi, G., Zerbetto, F., 2003, 19, 5172-5174
8. Perumal, S., Hofmann, A., Scholz, N., Ruhl, E., Graf, C., *Langmuir*, 2011, 27, 4456-4464
9. Guarino G.; Rastrelli F.; Scrimin P.; Mancin F.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134, 7200-7203
10. Nerambourg N.; Werts M. H. W.; Charlot M.; Blanchard-Desce M.; *Langmuir*, 2007, 23, 5563-5570
11. Rastrelli, F.; Satadru, J.; Mancin, F.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 14222-14224
12. P. J. Krommenhoek, J. Wang., N. Hentz, A. C. Johnston-Peck, K. A. Kozek, G. Kalyuzhny, J. B. Tracy; *Acs Nano*, 2012, 4903, 6, 6, 4903

3.3. STUDIO DELLA COMPLESSAZIONE DI AuNPs E SWCNs IN NANOIBRIDI IDROSOLUBILI

3.3.1. CARATTERISTICHE DEI NANOIBRIDI AuNP-SWCNs

I nanotubi di carbonio (CNTs) sono nanooggetti composti da atomi di C ibridizzati sp² disposti con arrangiamento cilindrico, la cui l'ampiezza del diametro spazia da circa 1 nm per i Single Walled CNTs (SWCNs) a decine di nm per i Multi Walled CNTs (MWCNTs), mentre la lunghezza spazia da qualche centinaio di nm fino ad arrivare al mm (fig. 90).

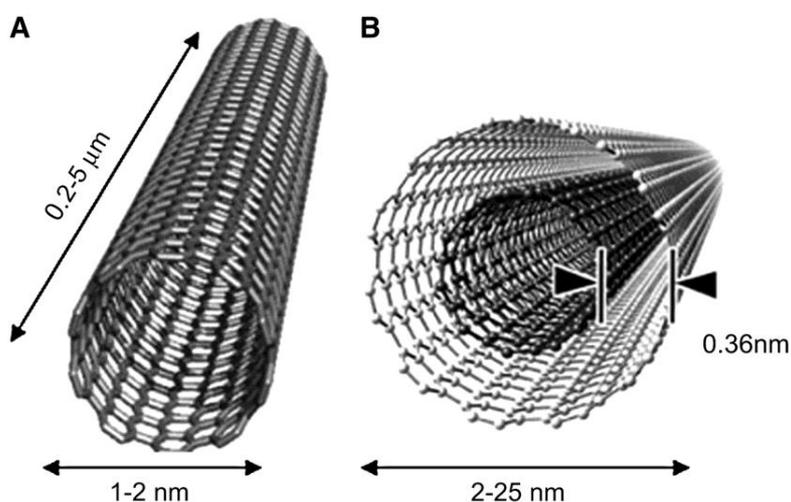


Fig. 92: struttura e range dimensionale di nanotubi di carbonio a parete singola (SWCNs, A) e multipla (MWCNs, B)

I CNTs assorbono la radiazione luminosa nell'UV, nel visibile e nel NIR (800-1400 nm), in cui inoltre emettono debolmente, e manifestano carattere metallico o di semiconduttore, con un gap tra banda di valenza e banda di conduzione dipendente dalle dimensioni (inferiore a 1 eV), e un basso potenziale di ossidazione (+0.4–0.5 V vs. Ag/AgCl). Altre proprietà quali la conduttività termica ed elettrica hanno fatto sì che i CNTs siano stati efficacemente utilizzati nel sensing¹, in ambito fotovoltaico², applicazioni biomediche³, catalisi eterogenea⁴.

Alla luce di queste caratteristiche, dei nanoibridi risultanti da un coating esterno di SWCNs con AuNPs (nanoibridi AuNP-SWCNs) potrebbero essere utilizzati come:

1. Un sensore raziometrico fluorescente con emissione nel NIR. Il fatto che il nanoibrido sia sorretto da interazioni non covalenti potrebbe comportare che i singoli costituenti preservino ognuno la propria caratteristica emissione nel NIR. L'interazione del nanoibrido con un terzo elemento (ad esempio l'interazione di AuNPs con ioni metallici) potrebbe comportare un quenching selettivo dell'emissione di uno dei due elementi.

Risultati e Discussione

hanno la duplice funzione di linker tra AuNPs e CNTs e di stabilizzanti nel processo di crescita dei colloidali. I metodi basati sulla riduzione in situ non consentono tuttavia un controllo dimensionale adeguato delle dimensioni dei nanoclusters metallici; sotto questo aspetto, strategie più efficaci si basano sulla complessazione delle componenti successivamente alla sintesi delle AuNPs, attuabile sia per via covalente che non covalente. A questo proposito si può citare, ad esempio, un approccio basato sulla reazione di ciclopropanazione tra CNTs grezzi e AuNPs di dimensione media 1.8-3.9 nm e protette con un tiolo bifunzionale diaziridinico⁷.

L'approccio attuato in questa Tesi di Dottorato si avvale di AuNPs a monostrato misto composto da un derivato del pirene e da un derivato della fosforilcolina (fig. 91) in differenti rapporti quantitativi; l'aromaticità del policiclo viene sfruttata per mediare l'interazione con le pareti di SWCNs, mentre la forte idrofilicità del derivato della fosforilcolina impartisce solubilità nei solventi acquosi, bilanciando la bassa solubilità dei SWCNs. Questa caratteristica potrebbe risultare vantaggiosa per applicazioni in ambito biologico e nello sviluppo di protocolli eco-friendly. Dato che la complessazione del pirene aumenta l'incidenza dei processi di decadimento non radiativo nel rilassamento dello stato eccitato, l'interazione tra AuNPs e SWCNs è stata investigata tramite l'analisi delle costanti di quenching (Stern-Volmer).

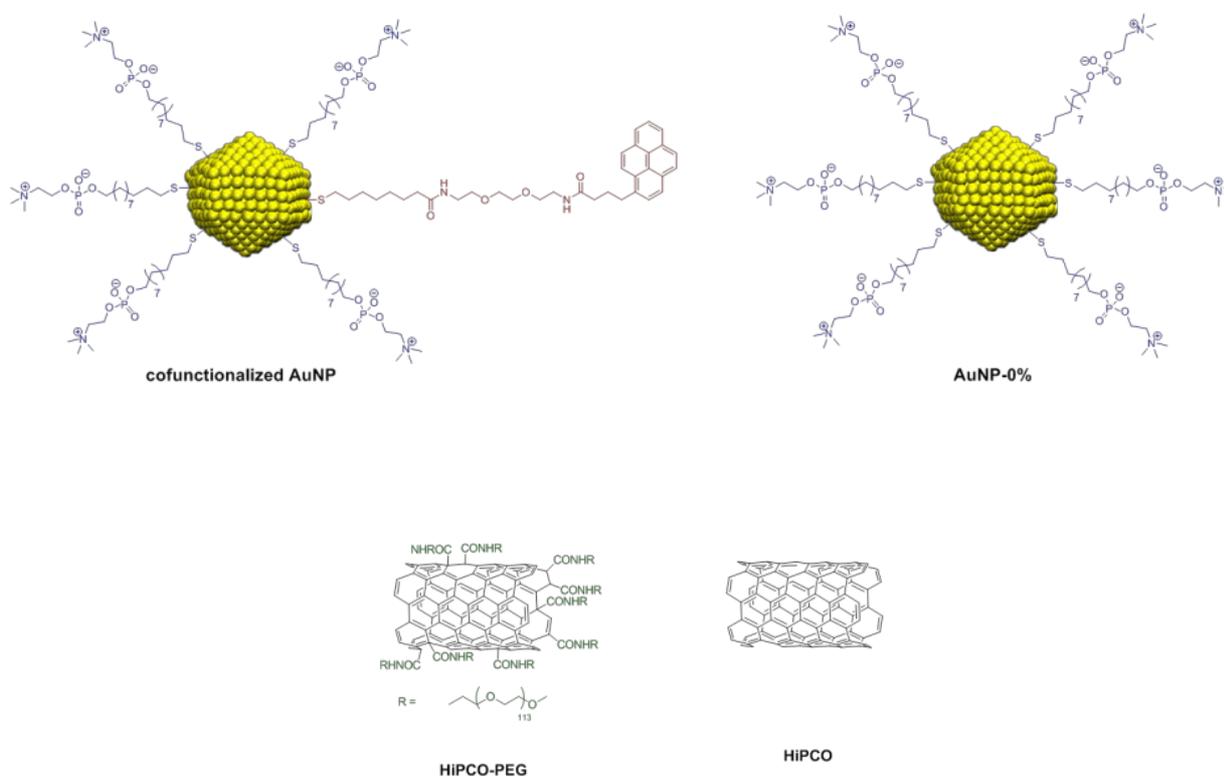


Fig. 94: rappresentazione schematica dei materiali costituenti i nanoibridi; AuNPs a monostrato misto P1-ZW e AuNPs a monostrato unitario ZW (alto), CNTs funzionalizzati con PEG e pristini (basso).

3.3.2. SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DI NANOPARTICELLE IDROSOLUBILI A MONOSTRATO MISTO P1-ZW

Il core metallico delle AuNPs è stato stabilizzato dal derivato fosforilcolinico 11-mercaptoundecyl 2-(trimethylammonio)ethyl phosphate (ZW); la funzionalità aromatica è stata implementata con il derivato 8-mercapto-N-(2-(2-(2-(4-(pyren-1-yl)butanamido)ethoxy)ethoxy)ethyl)octanamide (P1).

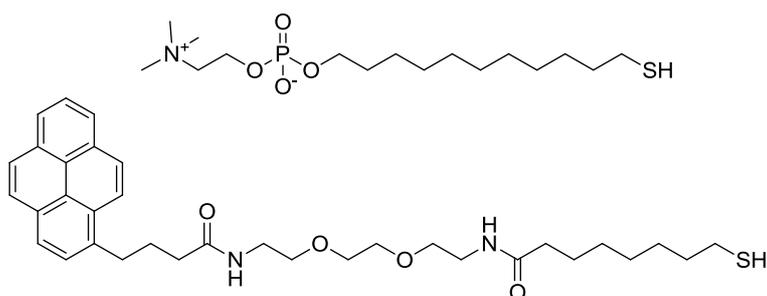


Fig. 95: struttura dei derivati ZW (alto) e P1 (basso)

La sintesi di ZW (fig. 94) è stata attuata partendo da 2-bromoetanolo, il quale è stato trattato con cloruro di fosforile (1) e successivamente con undec-10-en-1-olo, ottenendo il fosfato dialchilico 2. La sostituzione nucleofila con trietilammina sul bromuro porta ad ottenere la betaina 3, che è stata fatta reagire con acido tioacetico sotto irradiazione, ottenendo il derivato tioacetilico 4. La deprotezione in ambiente acido porta ad ottenere il derivato tiolico desiderato 5.

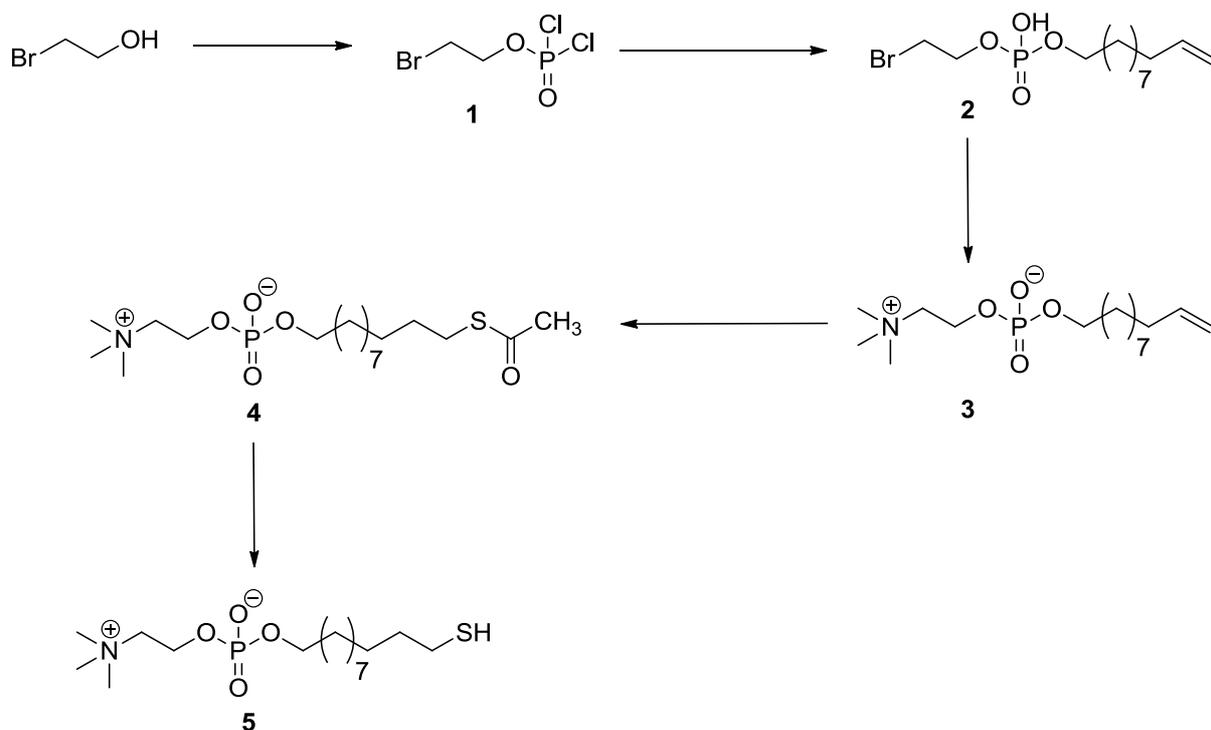
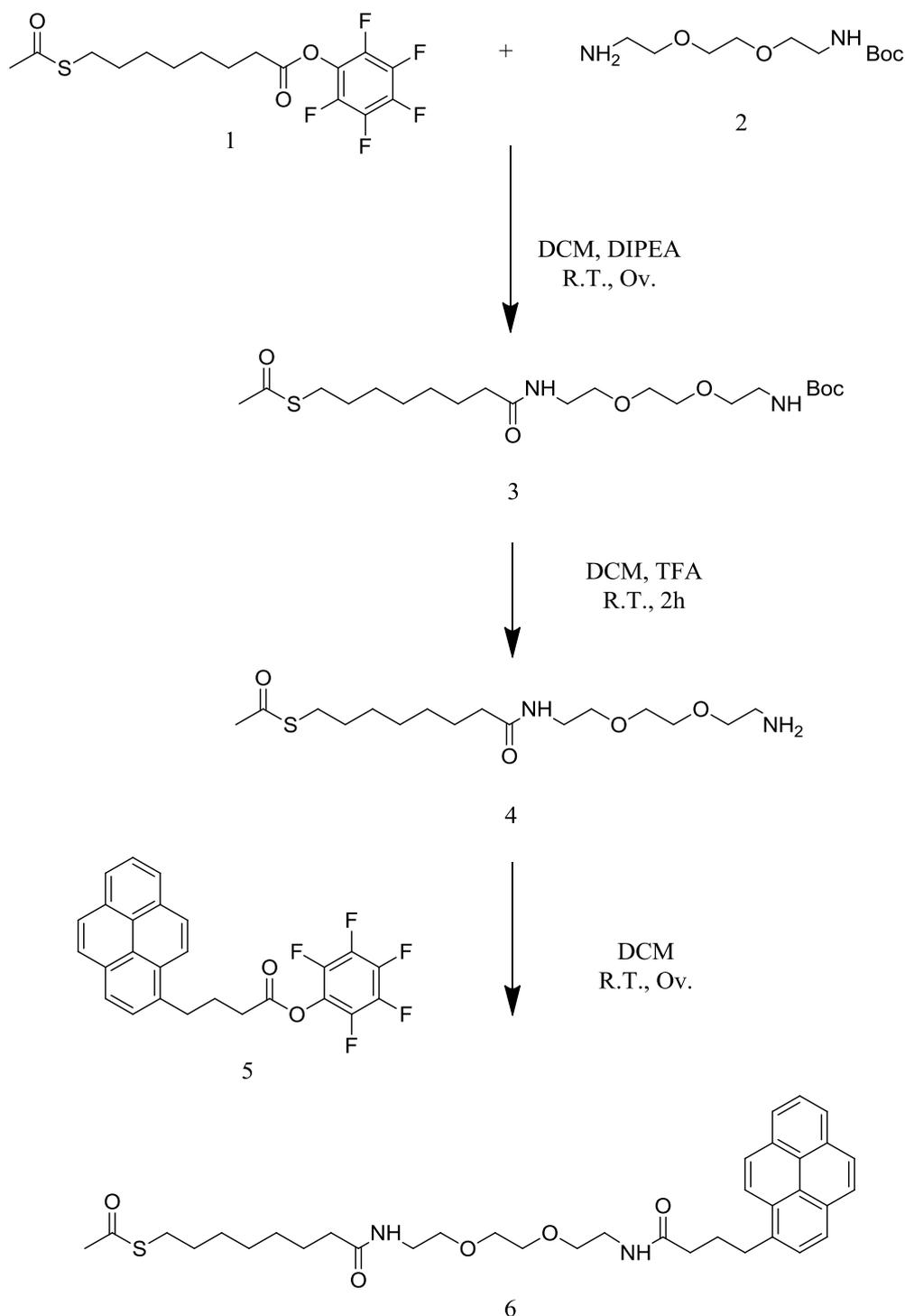


Fig. 96: percorso sintetico del derivato ZW

Risultati e Discussione

Il derivato pirenilico P1 è stato ottenuto per reazione del derivato tioacetilico 6 con *tert*-butyl 2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethylcarbamate, su cui (7) è stata successivamente attuata una deprotezione del carbammato in condizioni acide, ottenendo quindi l'ammina primaria 8. Questa è stata poi coniugata con acido 4-(pyren-1-yl)butanoico, ottenendo il derivato tiolico 10 dopo deprotezione del derivato tioacetilico 9 (Parte Sperimentale).



Risultati e discussione

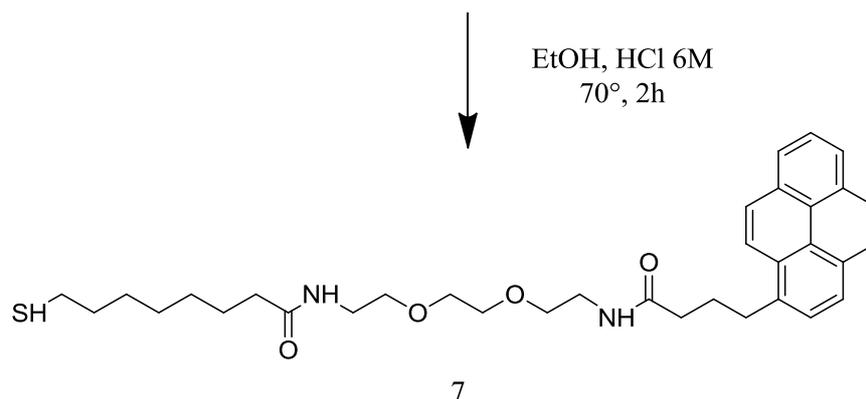


Fig. 97: percorso sintetico del derivato P1

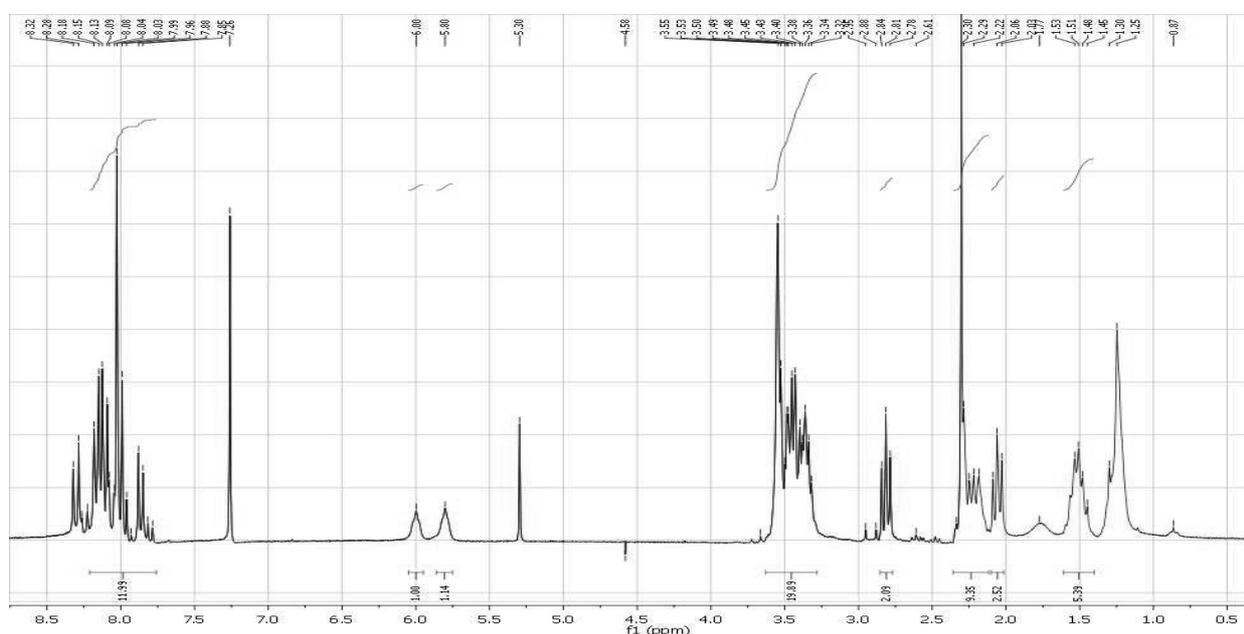


Fig. 98: spettro 1H-NMR del derivato pirenilico P1 tioacetilato (6)

1H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ : 1.23+1.51 (br, 10H, CH₂ catena alifatica); 2.05 (t, 2H, CH₂CO); 2.23 (t, 2H, PyrCH₂CH₂CH₂); 2.30 (br, 5H, CH₃+PyrCH₂); 2.83 (t, 2H, CH₂S); 3.234+3.591+3.724 (br, 12H, CH₂ catena TEG); 5.98 (s, 1H, NH); 5.79 (s, 2H, NH₂); 8.02 (br, 9H, CH aromatici)

Sono stati poi sintetizzati 5 campioni di AuNPs con monostrato misto composto dai derivati ZW e P1 in diversi rapporti quantitativi χ ($\chi = 0, 0.1, 0.15, 0.2$ e 1), dove χ esprime la frazione molare del tiolo P1, in accordo alla procedura standard utilizzata (Parte Sperimentale).

Come controllo nella preparazione dei nanoibridi sono state utilizzate AuNP-Pyr0 (100% ZW); il campione AuNP-Pyr100% (0% ZW) viene utilizzato come benchmark per indagine dell'interazione AuNPs-SWCNs, che è stata poi modulata tramite la sintesi dei campioni a monostrato misto (χ : 0.1, 0.15 e 0.2).

Risultati e Discussione

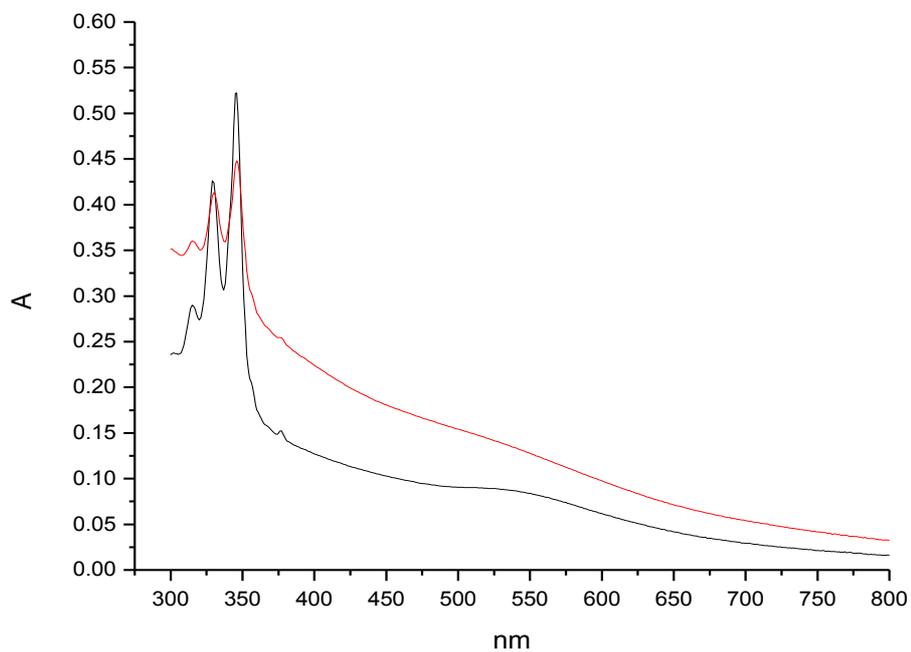


Fig. 99: spettro di assorbimento UV-Vis di AuNPs a monostrato unitario P1 (nero) e misto (rosso, χ : 0.2) in MeOH

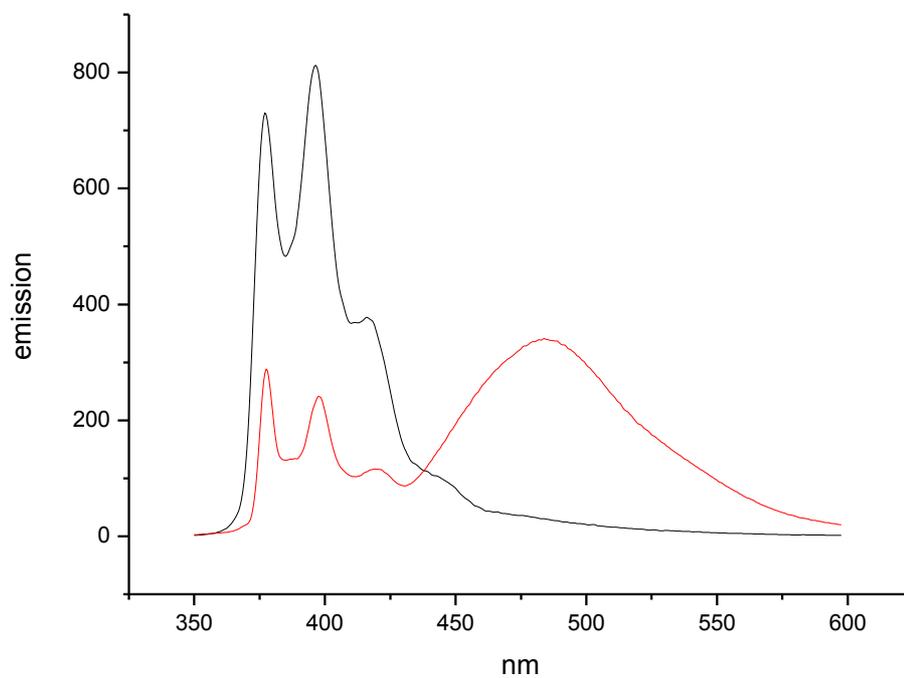


Fig. 100: spettro di emissione di fluorescenza di P1 (nero) e di AuNPs a monostrato unitario P1 (rosso) in MeOH

Risultati e discussione

Lo spettro di assorbimento UV-vis dei campioni a monostrato unitario e misto si presenta come la sovrapposizione degli spettri del fluoroforo e dei nuclei metallici e conserva sia le caratteristiche bande di assorbimento nell'UV del pirene (assorbimento strutturato a 344 nm), sia il caratteristico decadimento di assorbanza UV-Vis tipico dei nuclei metallici con dimensioni inferiori ai 3 nm, senza la banda plasmonica centrata a 530 nm. Non si è riscontrata nessuna rimarchevole variazione delle proprietà ottiche tra il campione a monostrato unitario e quelli misti, se non il progressivo aumento di assorbanza al crescere della frazione di loading.

Lo spettro di emissione di fluorescenza conserva le caratteristiche bande di emissione del fluoroforo (fig. 97), strutturate a 397 nm circa; tuttavia il campione di AuNPs presenta una intensa emissione eccimerica e la prevalenza della banda monomerica a 379 nm, indice di un aumento della polarità dell'ambiente chimico del fluoroforo

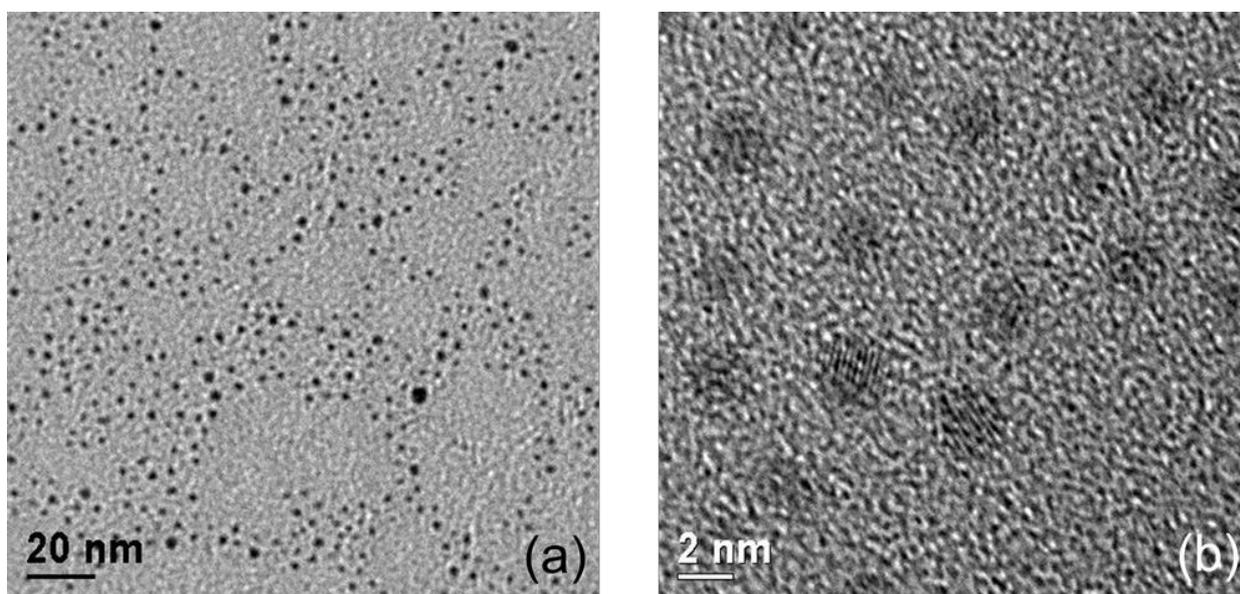


Fig. 101: immagini TEM di AuNPs a monostrato unitario ZW

Le misure TEM confermano che la dimensione media è quella prevista (2.7 ± 1.0 nm). La mancanza di emissione nel NIR preclude l'utilizzo di queste AuNPs nell'ideazione di sensori raziometrici. Tuttavia la bassa polidispersività e la buona solubilità in acqua, alcoli, DMF, e DMSO costituiscono ottimi presupposti per la sintesi di nanoibridi AuNPs-Pyr/SWCNs. Si è quindi proceduto a saggiare l'interazione dei due nanooggetti stimando i valori di costante di associazione del complesso (K_s).

3.3.3. LA COSTANTE DI QUENCHING STERN-VOLMER NELL'INDAGINE DELL'INTERAZIONE AuNPs/SWCNs

La determinazione della costante di associazione di un complesso (K_s) può essere effettuata, nel caso siano implicati fluorofori, tramite l'interpolazione di Stern-Volmer. In questo caso il pirene, normalmente emissivo anche se legato alla nanoparticella (lo spegnimento indotto dal nucleo aureo è correlato alla distanza e all'orientazione del fluoroforo, pag. 79), forma con i SWNTs complessi non emissivi, in cui l'azione di quenching viene così descritta:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_s[Q]$$

dove F_0 è l'emissione del pirenilderivato in assenza di quencher, F è l'emissione quando è presente una concentrazione $[Q]$ di quencher e K_s è la costante di associazione di formazione del complesso. La determinazione della K_s è stata operata aggiungendo aliquote di una dispersione di SWNTs a ogni soluzione di AuNPs a monostrato misto ZW-P1 monitorando l'emissione di fluorescenza a 395 nm. Dato che l'interesse si focalizza su complessi solubili in acqua, sono stati utilizzati per le titolazioni campioni di SWNTs semiconduttori funzionalizzati con polietilen-glicole (molecular weight: 5000 g/mol, $n = 104$), ottenendo SWNTs-PEG idrosolubili in riferimento a una procedura standard¹.

L'aggiunta di SWNTs-PEG a una soluzione di AuNPs provoca un decremento dell'emissione di fluorescenza, il cui valore viene corretto per due contributi: (a) il fattore di diluizione conseguente all'aumento di volume che ogni aggiunta di soluzione di quencher provoca, (b) l'effetto di filtro interno causato dai CNTs: infatti l'assorbimento dei nanotubi nel visibile comporta un riassorbimento della luce emessa dal pirenil-derivato e influirebbe pesantemente su una valutazione delle costanti di associazione. L'intensità di fluorescenza F_n alla n -esima aggiunta di SWNTs può quindi essere espressa da:

$$F_n = \frac{F_{mis,n}}{10^{-\varepsilon_{CNT} c_{CNT,n} l}} \left(1 + \frac{n \times V_{agg}}{V_0} \right)$$

dove $F_{mis,n}$ e $c_{CNT,n}$ sono le intensità di emissione del pirene e la concentrazione dei SWNTs alla n -esima aggiunta, rispettivamente, ε_{CNT} è il coefficiente di estinzione molare dei SWNTs, l è la lunghezza ottica nella quale viene calcolato l'effetto di filtro interno, e V_{agg} è il volume di ogni aliquota di SWNTs aggiunti alla soluzione iniziale di AuNPs con volume V_0 .

Risultati e discussione

Dopo aver applicato queste correzioni si è riscontrato come gli effetti di diluizione e filtro interno fossero le cause predominanti del decremento di emissione, ovvero la costante di associazione fosse molto bassa. Questo risultato si può razionalizzare assumendo che le catene ad alto peso molecolare di glicole polietilenico ostacolano l'interazione tra le AuNPs cofunzionalizzate e i SWNTs-PEG; è stata quindi investigata l'interazione AuNPs-SWNTs pristini utilizzando DMF come solvente, dato che i CNTs sono insolubili in acqua, mentre in DMF la dispersione è stabile per alcune ore. Per una maggior chiarezza nell'interpretazione dei risultati è stato incluso nello studio un pirenilderivato (PYR-TEG) che presenta una catena poliossoetilenica analoga a quella del derivato P1 (fig. 100).

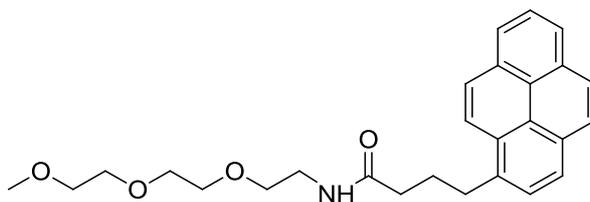


Fig. 102: formula di struttura del pirenilderivato PYR-TEG

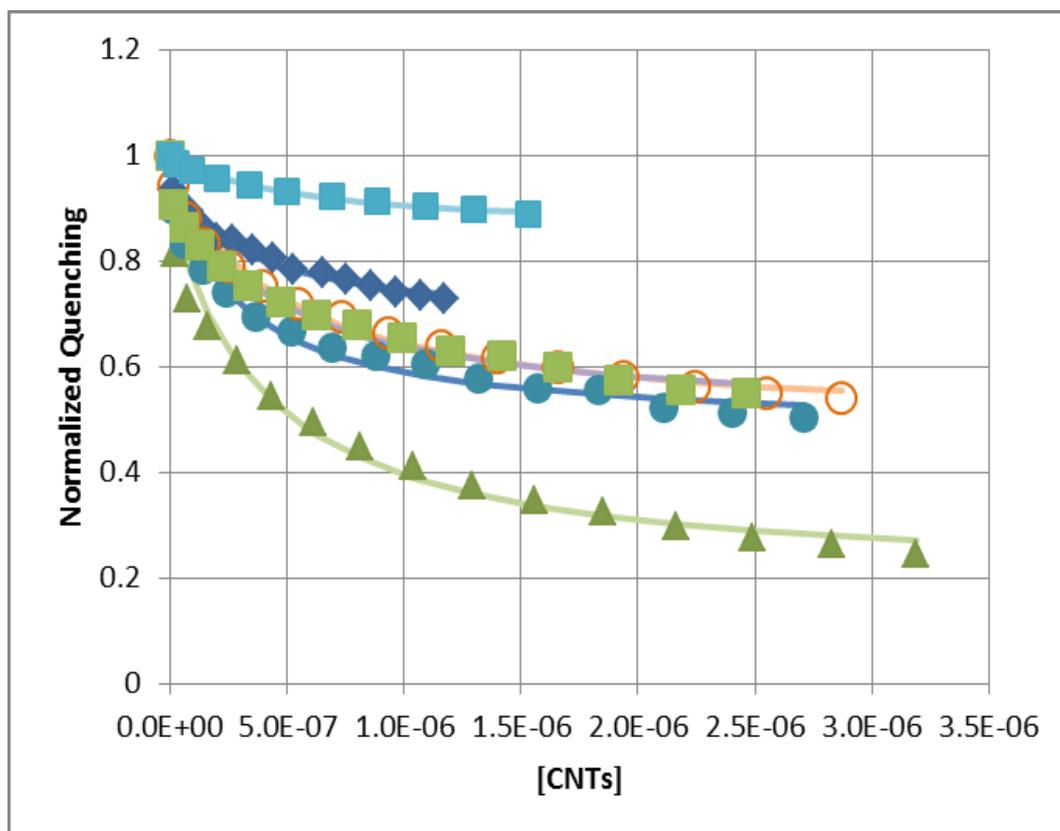


Fig. 103: grafici di Stern Volmer del quenching di: PYR-TEG (blu scuro), AuNP5% (quadrati verdi), AuNP10% (cerchi arancioni), AuNP20% (cerchi blu) and AuNP100% (triangoli verdi) da parte di SWNTs pristini in DMF.

Risultati e Discussione

In fig. 101 si riporta l'interpolazione di Stern-Volmer del quenching di AuNPs ad opera di SWNTs pristini in DMF.

E' evidente come la costante di associazione si sia dimostrata consistente per tutti i campioni, in particolar modo per AuNPs100%, in cui una maggior presenza di pirenil-derivato nel monostrato medierebbe una interazione più forte. L'intensità di emissione contro la concentrazione di SWNTs può essere efficacemente interpolata con un modello 1:1 che tenga in considerazione la quantità di pirene complessato e non, sia per il derivato pirenilico PYR-TEG, sia per le AuNPs.

Vengono di seguito riportati i valori di K_s calcolati fittando le curve per concentrazioni di SWNTs al di sotto di 1 $\mu\text{g/mL}$:

	K_s	Quenching (%)
PyrSAc	4.0 ± 0.8	28.5
AuNP-5%	3.3 ± 0.6	49.2
AuNP-10%	2.2 ± 0.3	49.3
AuNP-20%	2.3 ± 0.4	46.9
AuNP-100%	2.5 ± 0.5	78.7

Fig. 104: costante di Stern Volmer K_s ($\times 10^6$ mL/mg) della frazione di fluoroforo accessibile al quenching

È interessante notare che le costanti di affinità del pirenilderivato PYR-TEG e delle AuNPs hanno valori simili, che anzi per le AuNPs leggermente diminuiscono con l'aumentare del loading in fluoroforo. Apparentemente, questi dati indicano che non sussiste cooperazione tra unità pirene sulla stessa particella nel binding.

Non sembra plausibile che tale effetto sia il risultato né del piccolo numero di unità pirene presenti nel monostrato, né dell'interazione sfavorevole che si avrebbe tra i gruppi polari fosforilcolina e la superficie idrofoba dei SWNTs. Più probabilmente, la diminuzione della K_s con l'aumento del loading in pirene risiede nella tendenza all'aggregazione del campione di AuNPs, che dovrebbe diminuire la disponibilità delle unità pirene alla complessazione, o nella curvatura superficiale del nanocluster, che potrebbe impedire l'ideale disposizione spaziale delle stesse.

3.3.4. PREPARAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DEI NANOIBRIDI AuNP-SWCNs

I risultati sperimentali descritti nel precedente paragrafo indicano che le AuNPs a monostrato misto ZW-P1 possono interagire con SWNTs pristini, e confermano perciò la possibilità di sintetizzare nanoibridi. E' stata messa a punto perciò una procedura che permette di isolare nanoibridi AuNPs-Pyr/SWNTs, rimuovendo sia AuNPs che SWNTs dispersi non complessati, e che si basa su cicli di centrifugazione/ridissoluzione.

Si aggiungono 1.0 mg di SWNTs a 5.0 mL di una soluzione acquosa di AuNP-PyrX (2.0 mg di nanoparticelle d'oro con loading di pirene X in 5.0 mL di H₂O milliQ). La sospensione così ottenuta viene sonicata ottenendo una fine dispersione di SWNTs e viene poi centrifugata a 4000 r.p.m. per 5 min., rimuovendo così i SWNTs non complessati (e pertanto insolubili in acqua). Si rimuove il precipitato e si ripete il ciclo 3 volte. Successivamente, si centrifuga il supernatante a 12500 r.p.m. per 60 min., rimuovendo AuNP-PyrX non complessate. In questo caso il supernatante contiene solamente AuNPs non complessate, mentre il nanoibrido viene raccolto sul fondo della provetta da ultracentrifuga. Si eseguono 4 cicli di ultracentrifugazione.

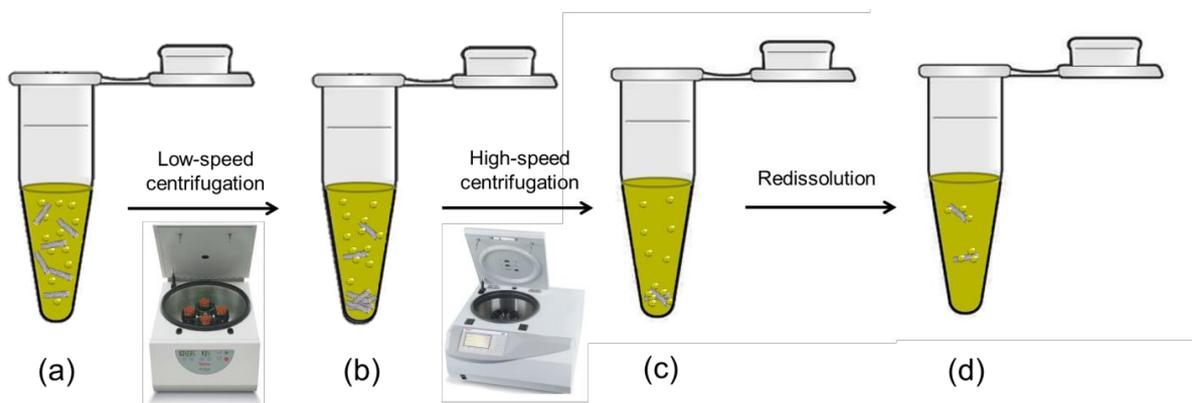


Fig. 105: rappresentazione del processo di preparazione dei nanoibridi idrosolubili AuNPs-SWCNTs: (a) sonicazione della miscela contenente AuNPs e SWCNTs fino a ottenere una dispersione omogenea; (b) rimozione dei SWCNTs insolubili per mezzo di cicli di centrifugazione a bassa velocità; (c) precipitazione dei nanoibridi e rimozione delle AuNPs libere nel supernatante con cicli di centrifugazione a alta velocità; (d) ridissoluzione e caratterizzazione.

L'efficacia del processo viene confermata dagli spettri UV-Vis del supernatante: mentre dopo il primo ciclo di ultracentrifugazione si può ancora distinguere il profilo di assorbimento tipico delle AuNPs, dal secondo in poi non si riscontra più (fig. 101).

Risultati e Discussione

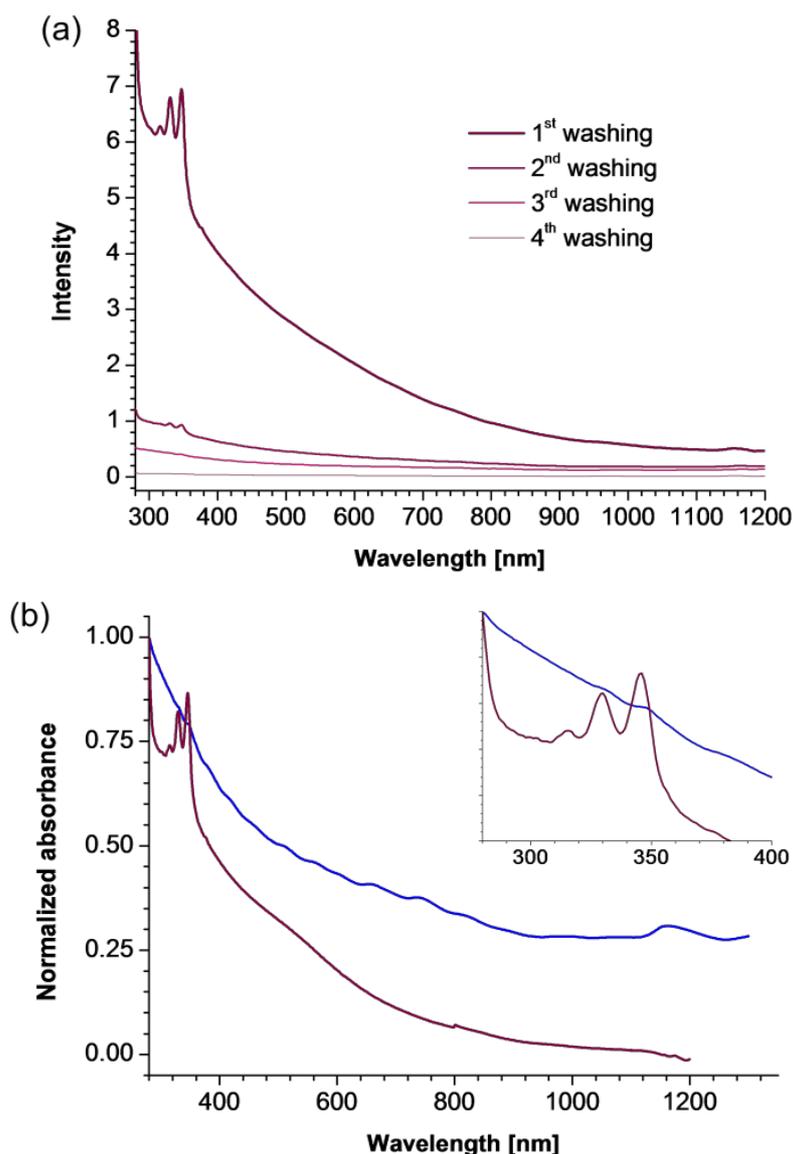


Fig. 106: spettri di assorbimento UV-Vis in acqua mQ dei supernatanti ottenuti tramite la procedura di preparazione dei complessi AuNPs 5%-SWNTs (a). Spettri di assorbimento UV-Vis di AuNP-5% (viola) e del nanoibrido AuNPs5%-SWNTs (blu). L'inserto evidenzia la regione dei picchi di assorbimento del pirene (b).

Il residuo raccolto viene ridissolto in 7.0 mL di acqua milliQ e caratterizzato tramite spettroscopia di assorbimento UV-Vis, spettroscopia di fluorescenza UV-Vis, DLS, Spettroscopia Raman e TEM. Lo spettro UV-Vis dei nanoibridi AUNPs-Pyr/SWNTs presenta, come evidenziato in fig. 101, sia le caratteristiche bande di assorbimento del pirene (tra 300 e 400 nm), che le bande corrispondenti alle transizioni di Van Hove dei SWNTs. La concentrazione dei SWNTs nei campioni è stata stimata valutando il coefficiente di estinzione a 1000 nm di una soluzione a titolo noto di SWNTs in DMF, assumendo che questo non cambi nell'interazione con le AuNPs. Per tutti i campioni è stata stimata

Risultati e discussione

una concentrazione 30 e 50 ug/mL, il che conferma che la capacità complessante delle AuNPs è indipendente dal loading in pirenilderivato.

Considerando i valori di Ks calcolati negli esperimenti di titolazione, ci si aspetta che il quenching dell'emissione del pirene sia pressoché completo; in effetti, l'eccitazione dei campioni a 345 nm dà luogo a una debole emissione a 392 nm (pirene); inoltre si è riscontrata una debole emissione nel NIR caratteristica di SWNTs semiconduttori.

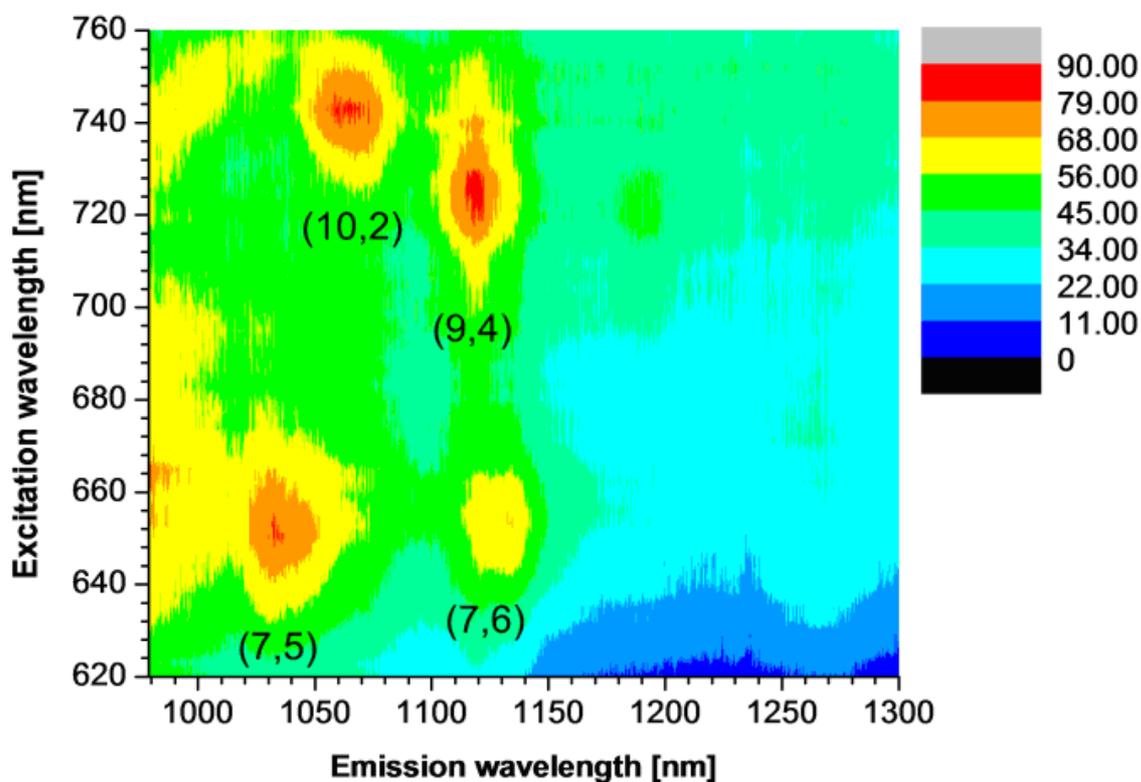


Fig. 107: mappa bidimensionale di eccitazione/emissione di fluorescenza di nanoibridi AuNPs-SWNTs in acqua MQ

La mappatura bidimensionale dello spettro di luminescenza (fig. 102) è una tecnica comunemente utilizzata per caratterizzare i SWNTs in termini di lunghezza e diametro, in quanto ogni tipologia di nanotubo (identificato in base all'indice chirale) presenta un peculiare picco di luminescenza. Dall'analisi dei 4 picchi di luminescenza osservati è stata riscontrata la presenza di (10,2), (9,4), (7,5) e (7,6)-SWNTs. Il fatto che i picchi siano così ben risolti è indice che i SWNTs sono ben solubilizzati.

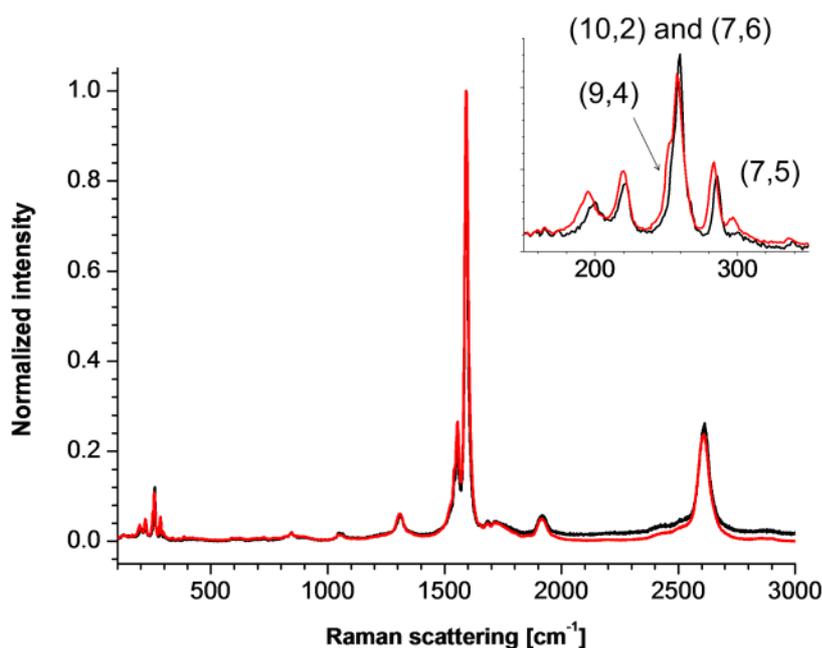


Fig. 108: spettri Raman di SWNTs pristini (nero) e del complesso AuNPs-SWNTs (rosso) in acqua mQ

Un'analisi complementare alla mappatura di fotoluminescenza è la spettroscopia Raman. Il tipico spettro Raman di un SWCN presenta le quattro caratteristiche distinguibili in figura: (a) la banda G1 a 2600 cm⁻¹ che è fortemente condizionata dalla perturbazione della struttura fononica/elettronica del nanotubo; (b) la banda G a 1600 cm⁻¹ che corrisponde allo stretching C-C nei materiali grafitici; (c) la banda D a 1300 cm⁻¹ che è correlata alla presenza di disordine e (d) la banda del cosiddetto “radial breathing mode”(RBM), tra 200 e 300 cm⁻¹ usata per determinare il diametro dei CNTs. Tutti i sottotipi identificati nello spettro 2D di fotoluminescenza presentano la corrispondente banda diametro-dipendente nello spettro Raman nella cosiddetta regione RBM. La distribuzione dei 4 picchi è peraltro analoga a quella di un campione di CNTs grezzi, il che suggerisce che l'interazione tra questi e le AuNPs cofunzionalizzate sia aspecifica (si sarebbe osservato un arricchimento selettivo nel caso vi fosse specificità). Inoltre, mentre un aumento nell'intensità della banda D a 1300 cm⁻¹ è stato sperimentalmente correlato alla formazione di disordini nella struttura sp³ del nanotubo dopo trattamenti ossidativi per la funzionalizzazione, in questo caso non si osserva aumento di intensità, il che implica che la complessazione non covalente preserva l'integrità strutturale e le proprietà elettroniche.

I risultati ottenuti sono stati confermati dalle immagini ottenute con microscopia TEM dei campioni di nanocomplessi preparati utilizzando AuNPs completamente stabilizzate da colinderivato (ZW) e con loading in pirene del 5%. Nel primo caso, (a) il precipitato ottenuto in seguito ai cicli di ultracentrifugazione non contiene SWNTs, ma solo impurezze: i nanotubi vengono totalmente

Risultati e discussione

separati tramite i primi cicli di ultracentrifugazione per la mancanza di interazione con le AuNPs-0%. Le immagini di nanocomplessi preparati utilizzando AuNPs-5% mostrano come il precipitato ottenuto dopo ultracentrifugazione sia composto di SWNTs complessati con AuNPs

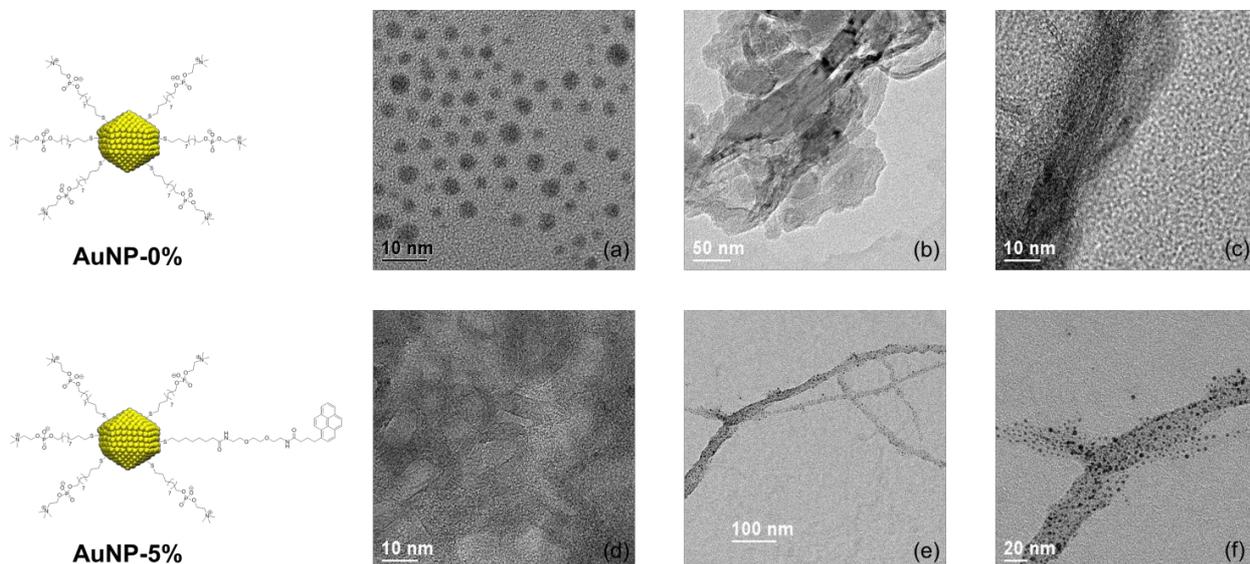


Fig. 109: Immagini TEM del (a) supernatante e (b,c) del precipitato dopo centrifugazione a alta velocità di una soluzione di SWNTs-AuNPs0%. Immagini TEM del (d) supernatante e (e,f) del precipitato dopo centrifugazione a alta velocità di una soluzione di SWNTs-AuNPs5%.

Come desiderato, le nanostrutture ottenute sono nanobridi nei quali AuNPs a monostrato misto con dimensione inferiore a 3 nm sono omogeneamente disperse lungo le pareti di piccoli aggregati di SWNTs. Prova tangibile della robusta interazione è che la grande maggioranza delle AuNPs sia ancora complessata ai SWNTs dopo il protocollo di sintesi applicato.

3.3.5. CONCLUSIONI

In conclusione, è stato qui presentato un approccio alla funzionalizzazione non covalente di SWNTs con AuNPs per la preparazione di nanoibridi idrosolubili AuNPs/CNTs. Sono stati utilizzati due tioli, un derivato colinico (ZW) e uno pirenilico (P1), che sono stati utilizzati nella preparazione di AuNPs idrosolubili in cui è stato variato il rapporto (χ) tra residui pirenilico e colinico, spaziando da AuNPs stabilizzate dal solo derivato colinico ($\chi=0$) a AuNPs stabilizzate dal solo derivato pirenilico ($\chi=100$). È stata operata una valutazione delle costanti di associazione per la formazione del complesso tramite misurazioni dello spegnimento del pirene causata dai CNTs: la formazione di nanoibridi stabili può essere ascritta solo all'utilizzo di nanotubi pristini, in quanto presumibilmente l'ingombro sterico causato dalle catene di PEG ad alto PM impedisce la complessazione. È stato confermato che l'interazione più rilevante si ha utilizzando AuNP-100%; il complesso così ottenuto è però insolubile in solventi polari e si è quindi optato per l'utilizzo di AuNPs a monostato misto con loading in pirenilderivato del 5%, 10% e 15%. Tutti questi campioni sono stati utilizzati nella preparazione di nanoibridi AuNPs-CNTs idrosolubili seguendo un protocollo basato su cicli di centrifugazione. Ogni ciclo è stato seguito tramite TEM e spettroscopia di assorbimento UV-Vis-NIR, provando che la presenza del pirenilderivato è condizione essenziale per la formazione dei complessi, in cui piccoli aggregati di nanotubi vengono uniformemente ricoperti di AuNPs. Le proprietà fotoemissive del pirene vengono completamente spente con la formazione del complesso, mentre la fluorescenza nel NIR dei nanotubi rimane inalterata, provando che le proprietà elettroniche dei componenti rimangono inalterate. Nonostante ci sia ancora un margine di miglioramento nella procedura (quelli che vengono solubilizzati sono di fatto aggregati di nanotubi e non unità singole), sono state poste le basi per una procedura rapida, robusta e semplice per la preparazione di nanoibridi AuNPs-CNTs idrosolubili.

3.3.6. PARTE SPERIMENTALE

3.3.6.1. Materiali e Metodi

Tutti i reagenti e i solventi sono stati acquistati da Sigma-Aldrich e sono stati usati come ricevuti, se non diversamente specificato. I SWCNTs (HiPco, High Pressure CO conversion) sono stati acquistati da Carbon Nanotechnologies, Inc. (CNI, numero di lotto p2150) e sono stati utilizzati allo stato grezzo. Tutte le soluzioni acquose sono state preparate utilizzando acqua MilliQ con > 18 mW cm resistività.

3.3.6.2. Sintesi di AuNPs

100 mg (0.254 mmol) di $\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$, precedentemente pesato in atmosfera di N_2 , sono sciolti in 4 mL di acqua mQ, ottenendo una soluzione gialla. 5 g (9.14 mmol) di TOABr vengono disciolti in 250 ml di toluene (precedentemente degassato); il sale aurico viene successivamente estratto dalla soluzione acquosa per lavaggi con la fase organica. La soluzione acquosa diventa incolore, mentre quella organica vira verso il rossastro. Si trasferisce la fase organica in un pallone e si pone sotto vigorosa agitazione per 10 min sotto atmosfera di azoto e si aggiunge poi diottilammina (4,2 mL, 13,94 mmol). La soluzione diventa lentamente incolore. Dopo completa decolorazione, 91.2 mg (2,44 mmol) di NaBH_4 , disciolto in 4 mL di acqua mQ, vengono rapidamente aggiunti sotto vigorosa agitazione. La soluzione diventa nera a causa della riduzione del sale aurico. Il pallone di reazione viene lasciato sotto agitazione per 2 ore e poi la fase acquosa viene rimosso utilizzando un imbuto separatore. Infine, viene aggiunta una soluzione in 2-propanolo dei tioli desiderati (42 % in moli rispetto al sale tetracloroaurato utilizzato); nel caso di nanoparticelle a monostrato misto P1-ZW, si utilizza un fattore di correzione 3 per il derivato pirenilico.

La soluzione di nanoparticelle viene successivamente lasciata sotto agitazione per una notte. Le nanoparticelle a monostrato fosforilcolonic (ZW) e misto vengono purificate dapprima mediante centrifugazione in toluene (3x30ml, 3500 rpm, 5 min) e successivamente con cromatografia ad esclusione molecolare (Sephadex LH-20, eluente: MeOH). Le nanoparticelle stabilizzate dal pirenilderivato P1 vengono purificate, dopo la rimozione del solvente organico, per evaporazione a pressione ridotta, attraverso una serie di cicli di cromatografia ad esclusione molecolare (Sephadex X1, eluente: CH_2Cl_2).

Risultati e Discussione

3.3.6.3. Preparazione dei complessi AuNPs-SWNTs

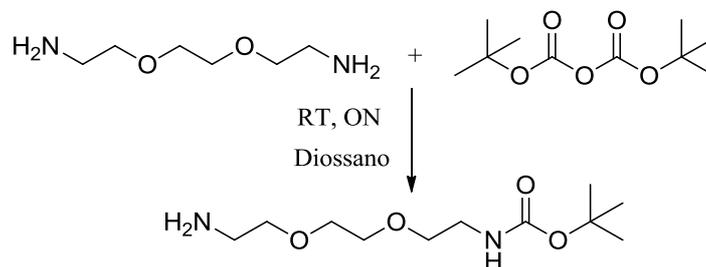
0.1 mg di SWCNTs (HiPCO, CNI lotto # p2150, diametro 0.85-1.15 nm) vengono aggiunti ad una soluzione di AuNP-Pyr10 (nanoparticelle di oro con il 10 % di loading di pirenilderivato P1) in 5.0 mL di acqua milliQ. La sospensione risultante viene sonicata finché i SWNTs sono finemente dispersi (sonicatore Tip Misonix 3000, potenza : 1W/mL, impulso : 3 sec, impulso off : 3 sec, tempo di sonicazione : 5 minuti). La sospensione viene centrifugata a 4000 rpm per 5 minuti (centrifuga IEC CL10 Thermo Corporation) per rimuovere i SWNTs non legati alla AuNPs (quindi insolubili in acqua). Infatti, mentre il surnatante contiene sia AuNPs liberi e il complesso AuNP - SWCNT, SWNTs non legati precipitano nella parte inferiore della provetta da centrifuga. Dopo tre cicli di centrifugazione, il surnatante è libero da nanotubi di carbonio non legati. I surnatanti sono successivamente stati caricati nella provette da centrifuga Nalgene (Oak Ridge Style 3119) e centrifugati a 12500 rpm per 60 minuti utilizzando un'ultracentrifuga MR23i (Thermo Fisher Scientific, Inc.) per rimuovere le AuNPs non complessate. In questo caso, il supernatante contiene solo AuNPs non complessate, mentre il complesso AuNP - SWNTs viene raccolto sul fondo della provetta da centrifuga. Dopo 4 cicli di centrifugazione il surnatante è esente da AuNPs complessate. Il residuo nero raccolto sul fondo del tubo viene ridisciolti in 7 mL di acqua milliQ e caratterizzato tramite spettroscopia di assorbimento UV-Vis (spettrofotometro UV-Vis - NIR Cary 5000 Agilent Technologies, a temperatura ambiente, tra 280 e 1400 nm, intervallo di dati = 0.5 nm, frequenza di scansione = 300 nm / min, SBW = 2 nm), spettroscopia UV-Vis di fluorescenza e DLS.

3.3.6.4. Caratterizzazione dei nanoibridi AuNP-SWNTs

Il residuo nero sul fondo della provetta viene ridisciolti in 7.0 mL di acqua milliQ e caratterizzato mediante spettroscopia di assorbimento UV-Vis-NIR, spettroscopia di fluorescenza UV-Vis-NIR allo stato stazionario utilizzando sia uno spettrofotometro a fluorescenza LS 55 (PerkinElmer, Inc.) per studiare le proprietà di emissione del pirene tra 300 e 700 nm e uno spettrofluorimetro Jobin Yvon NanoLog (HORIBA, Ltd.) per misurare le mappe di fotoluminescenza di eccitazione dei SWCNTs nella regione NIR. Una goccia di soluzione acquosa di ogni campione di AuNP-SWNTs è stata deposta su micro vetrini pre-puliti (Corning) e riscaldata a 110 ° C. Il film risultante è stato caratterizzato con uno Spettrometro Invia Renishaw Raman (50× obiettivo) utilizzando la riga a 633 nm di un laser He -Ne a temperatura ambiente con un laser a bassa potenza. Analogamente, una goccia della soluzione SWCNT-TPPS3 CD viene deposta su silicio e osservata con un microscopio elettronico a trasmissione FEI Tecnai G 12 operante a 100 kV a vari ingrandimenti.

Risultati e discussione

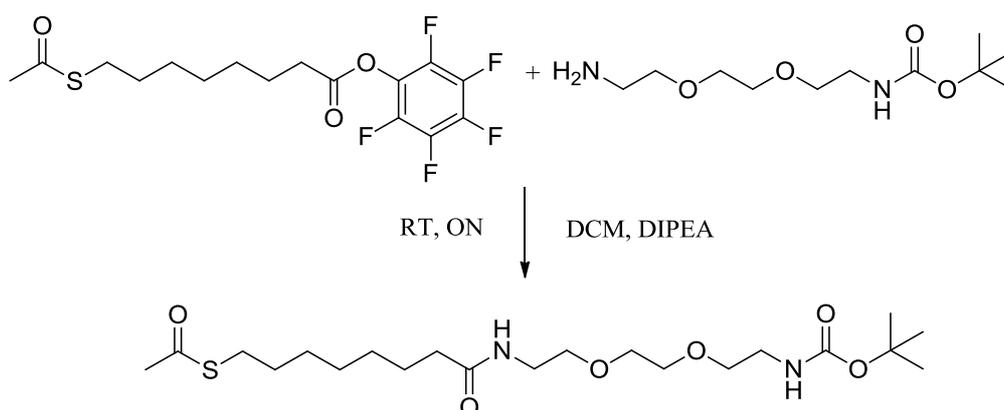
3.3.6.5. Sintesi di tert-butyl (2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl) carbamate



In un pallone da 50 mL vengono introdotti 10 mL (66.8 mmol) di 2,2'-etilendiossidiethylammina sciolta in 10 mL di diossano. 2.43 g (11.1 mmol) di di-ter-butil dicarbonato sciolti in 10 mL di diossano, vengono poi aggiunti goccia a goccia in 50 minuti. Si lascia reagire a RT overnight e si monitora tramite TLC (DCM:MeOH:NH₃, 10:1:0.1, R_{f1}=0, R_{f2}=0.4, macchie visibili con ninidrina). Dopo aver evaporato il solvente, si riprende il residuo con DCM e si lava in imbuto separatore con H₂O milliQ. Le due fasi vengono separate e si controlla tramite TLC che il prodotto sia rimasto puro nella fase organica (DCM:MeOH:NH₃, 10:1:0.1; fase acquosa: R_{f1}=0, R_{f2}=0.4; fase organica: R_f=0.4; macchie visibili con ninidrina). Si anidrifca la fase organica con Na₂SO₄ e si evapora il solvente per ottenere 1.0 g (resa= 36.26%) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 5.195 (br, 1H, NH); 3.491 (t, 6H, NH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂O); 3.417 (t, 2H, CH₂NH); 3.190 (br, 2H, CH₂NH₂); 2.744 (t, 2H, CH₂CH₂NH); 1.618 (br, 2H, NH₂); 1.312 (s, 9H, CH₃ Boc).

3.3.6.6. Sintesi di 2,2-dimethyl-4,15-dioxa-3,8,11-trioxa-5,14-diazadocosan-22-yl ethanethioate



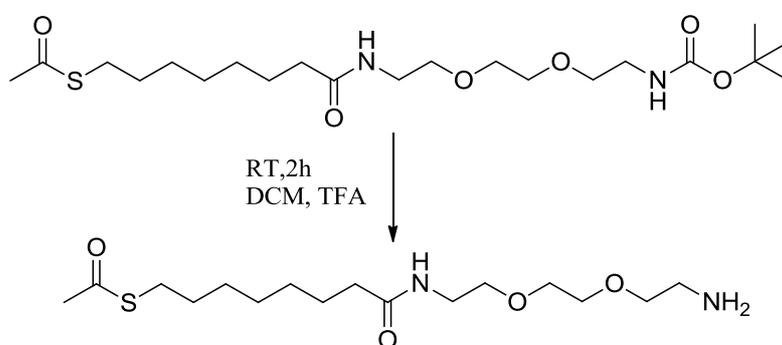
In un pallone da 50 mL si sciolgono 703 mg (1.8 mmol) di 8-tioacetil-1-pentafluorofenolottanoato in 10 mL di DCM. Si aggiungono 343 μL (2.0 mmol) di DIPEA e la miscela di reazione viene portata a 0°C in bagno di ghiaccio. Si aggiungono 500 mg (2.0 mmol) di ter-butyl-2-(2-(2-amminoetossi)etossi)etilcarbamate goccia a goccia in 30 minuti. Si lascia reagire a RT overnight. Si

Risultati e Discussione

esegue poi un' estrazione con acqua e si controlla la reazione tramite TLC (EtAc puro, Rf1=0, Rf2=0.8, Rf3=0.9). Si concentra la miscela di reazione evaporando il solvente. Il residuo viene in seguito purificato con cromatografia flash su gel di silice (EtAc puro) ottenendo 464 mg (resa=56.6%) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 1.262 (br, 6H, CH₂ catena alifatica); 1.397 (s, 9H, CH₃ Boc); 1.536 (m, 4H, CH₂CH₂CO catena alifatica + CH₂CH₂S catena alifatica); 2.132 (t, 2H, CH₂CO catena alifatica); 2.268 (s, 3H, CH₃); 2.771 (t, 2H, CH₂NH catena TEG); 2.829 (m, 2H, CH₂S); 3.283 (m, 2H, CH₂NH catena TEG); 3.415 (t, 4H, CH₂O catena TEG); 3.564 (s, 4H, CH₂O catena TEG).

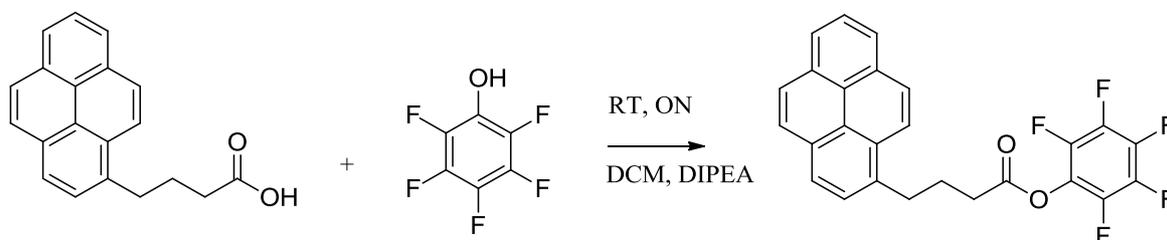
3.3.6.7. Sintesi di (8-((2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl)amino)-8-oxooctyl)ethanethioate



In un pallone da 10 mL vengono sciolti 250 mg (0.6 mmol) di 8-tioacetil-1-(ter-butyl-2-(2-(2-amminoetossi)etossi)etilcarbamil) ottanoato in 5 mL di DCM. Vengono poi aggiunti 3.0 mL di TFA e si lascia reagire a RT per 2 h. Infine si rimuove il solvente per evaporazione a pressione ridotta, ottenendo 235 mg (resa=91%) di prodotto.

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ: 1.284+1.509 (br, 10H, CH₂ catena alifatica); 2.311 (t, 2H, CH₂CO); 2.321 (s, 3H, CH₃); 2.830 (t, 2H, CH₂S); 3.234+3.591+3.724 (br, 12H, CH₂ catena TEG); 7.165 (s, 1H, NH); 7.517 (s, 2H, NH₂).

3.3.6.8. Sintesi di perfluorophenyl 4-(pyren-1-yl) butanoate



In un pallone da 50 mL vengono sciolti 288 mg (1.0 mmol) di acido 4-(pyren-1-yl)butanoico e 230 mg (1.2 mmol) di EDAC in 30 mL di DCM. Si aggiungono 257 μL (1.5 mmol) di DIPEA e si porta il pallone di reazione a 0°C in bagno di ghiaccio, si aggiunge goccia a goccia una soluzione di

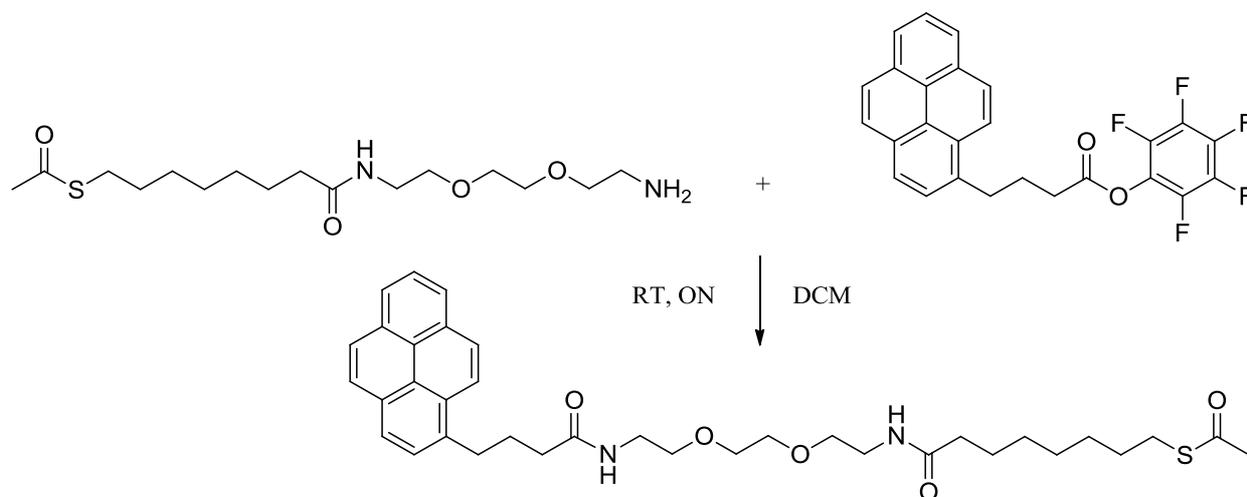
Risultati e discussione

pentafluorofenolo (153 mg, 1.2 mmol) in DCM (10 mL) e si lascia reagire a RT overnight. La reazione viene monitorata tramite TLC (CHCl_3 , $R_{f1}=0.3$, $R_{f2}=0.8$).

Il solvente viene allontanato tramite evaporazione a pressione ridotta e il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (CHCl_3). Si ottengono così 274 mg (resa=61%) di prodotto.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ : 1.71 (m, 2H, $\text{PyrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.23 (t, 2H, $\text{PyrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 3.06 (t, 2H, $\text{PyrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

3.3.6.9. Sintesi di 4,15-dioxo-1-(pyren-1-yl)-8,11-dioxa-5,14-diazadocosan-22-yl ethanethioate



In un pallone da 50 mL vengono sciolti 274 mg di perfluorophenyl 4-(pyren-1-yl) butanoate (0.6 mmol) e 235 mg di (8-((2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl)amino)-8-oxooctyl) ethanethioate (0.5 mmol) in 20 mL di DCM. Si lascia reagire a RT overnight. La reazione viene monitorata tramite TLC (CHCl_3 :MeOH, 9.5;0.5, $R_{f1}=0.2$, $R_{f2}=0.9$).

Il solvente viene allontanato tramite evaporazione a pressione ridotta e il residuo viene purificato con cromatografia flash su gel di silice (CHCl_3 :MeOH, 9.5;0.5).

Si ottengono così 210 mg (resa=34%) di prodotto.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ : 1.23+1.51 (br, 10H, CH_2 catena alifatica); 2.05 (t, 2H, CH_2CO); 2.23 (t, 2H, $\text{PyrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.30 (br, 5H, CH_3 + PyrCH_2); 2.83 (t, 2H, CH_2S); 3.234+3.591+3.724 (br, 12H, CH_2 catena TEG); 5.98 (s, 1H, NH); 5.79 (s, 2H, NH_2); 8.02 (br, 9H, CH, aromatici)

3.3.6.10. Parte Strumentale

Per le ulteriori specifiche riguardanti la parte strumentale utilizzata per la caratterizzazione di AuNPs, si rimanda alla corrispondente sezione del paragrafo 3.1.

3.3.7. BIBLIOGRAFIA

1. Gao, C.; Guo, Z.; Liu, J.-H.; Huang, X.-J., *Nanoscale* 2012, 4, .
2. Cataldo, S.; Salice, P.; Menna, E.; Pignataro, B., *Energy Environ. Sci.* 2012, 5, 5919-5940.
3. Lamanna, G.; Battigelli, A.; Ménard-Moyon, C.; Bianco, A., *Nanotechnology Reviews*, 2012; 1, 17.
4. Wildgoose, G. G.; Banks, C. E.; Compton, R. G., *Small*, 2006, 2, 182-193.
5. Quinn, B. M.; Dekker, C.; Lemay, S. G., *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127 (17), 6146-6147.
6. Chopra, N.; Majumder, M.; Hinds, B. J., *Adv. Funct. Mater.*, 2005, 15 (5), 858-864.
7. Ismaili, H.; Lagugné-Labarthet, F. O.; Workentin, M. S.; *Chem. Mater.* 2011, 23 (6), 1519-1525.