



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

Scuola di
Scienze Matematiche
Fisiche e Naturali

Corso di Laurea in
Chimica

Self-Assembly di derivati anfifilici a doppia catena dell'acido ascorbico

Self-Assembly of amphiphilic double- chained ascorbic acid derivates

Relatore

Pierandrea Lo Nostro

Correlatore

Moira Ambrosi

Candidato

Elia Tempestini

Anno Accademico **2014/2015**

INDICE

INDICE	2
1 PRESENTAZIONE DEL LAVORO.....	3
2 INTRODUZIONE.....	5
2.1 VITAMINA C	5
2.1.1 CARATTERISTICHE	5
2.1.2 MECCANISMO DI DISTRUZIONE DEI RADICALI LIBERI	6
2.2 TENSIOATTIVI.....	7
2.2.1 INTRODUZIONE.....	7
2.2.2 TENSIONE SUPERFICIALE E NATURA DEI TENSIOATTIVI	8
2.2.3 SELF-ASSEMBLY	10
2.3 ORGANOGEL	13
2.4 DERIVATI ANFIFILICI DELL'ACIDO ASCORBICO.....	14
3 MATERIALI E METODI	17
3.1 SINTESI DI-ASC12	17
3.2 PREPARAZIONE ORGANOGEL	20
3.3 DSC.....	21
3.3.1 TEORIA	21
3.3.2 MISURE CALORIMETRICHE	23
3.4 SAXS	24
3.4.1 TEORIA DELLO SCATTERING.....	24
3.4.2 MISURE EFFETTUATE E APPARATO SPERIMENTALE	26
3.5 FT-IR.....	28
4 RISULTATI E DISCUSSIONE	29
4.1 STATO SOLIDO	29
4.1.1 INFORMAZIONI GENERALI	29
4.1.2 DSC.....	30
4.1.3 SAXS	31
4.1.4 FT-IR.....	32
4.1.5 WAXS	34
4.2 ORGANOGEL	36
4.2.1 FORMAZIONE ORGANOGEL.....	36
4.2.2 DSC.....	37
4.2.3 SAXS	40
5 CONCLUSIONI	49
6 BIBLIOGRAFIA	51

1 PRESENTAZIONE DEL LAVORO

Il presente lavoro di tesi ha avuto come obiettivo la caratterizzazione in fase solida e lo studio del self-assembly di un derivato anfifilico dell'acido L-ascorbico.

La molecola in questione, sintetizzata dal gruppo di lavoro della professoressa Capperucci a partire da acido L-ascorbico, è stata rinominata DIASC-12 (figura 1.1). Essa presenta infatti due catene di 12 atomi di carbonio rappresentanti le code del sistema anfifilico. L'anello furanico, costituente la testa, rimane intatto durante il processo sintetico, e quindi conserva le proprietà redox, acido-base e i principali gruppi donori e accettori dell'acido L-ascorbico di partenza. La denominazione è stata data tenendo conto dei precedenti lavori riportati dal Prof. Lo Nostro [1,2].

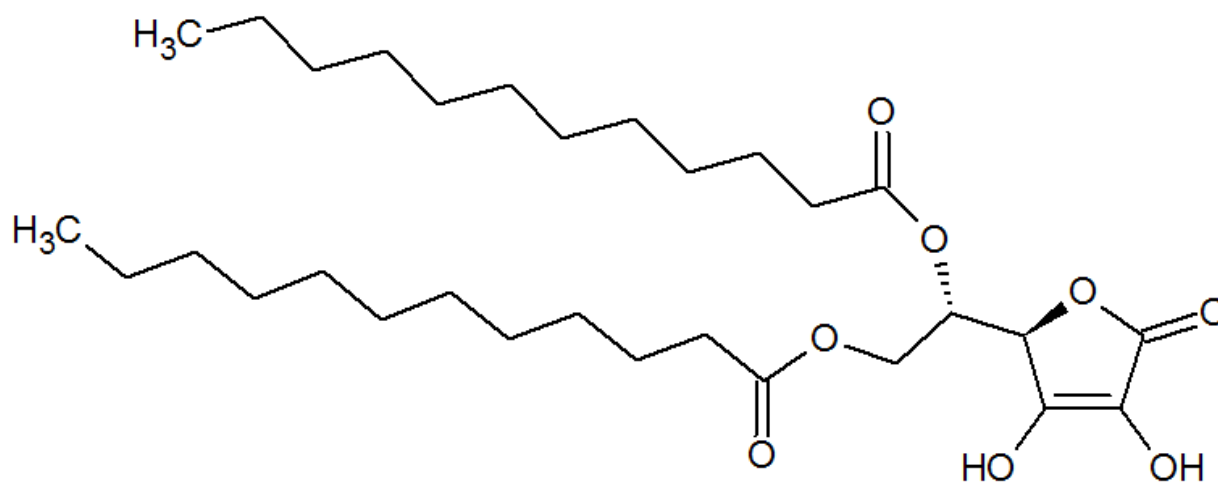


Figura 1.1: Molecola di DIASC-12

Preliminarmente sono state conseguite varie prove atte a determinare un solvente opportuno e la concentrazione con cui il DIASC-12 forma un idrogel o organogel.

L'interesse suscitato dagli organogel risiede nella loro capacità di prestarsi ad ambiente ideale per la solubilizzazione di farmaci. A tutto ciò va sommato la spiccata capacità di antiossidante naturale che

appartiene alla vitamina C e i suoi derivati, che possono proteggere le molecole particolarmente sensibili all'ossidazione contro l'attacco dei radicali liberi.

Particolarmente stabili si sono mostrati i sistemi aventi come fase liquida cicloesano. Data la struttura dell'idrocarburo, si può ritenere che la penetrazione di quest'ultimo tra le catene alifatiche porti ad una apertura 'a forbice' della struttura. Ne consegue la formazione di un aggregato micellare di tipo inverso, in cui le molecole di cicloesano stabilizzano le catene idrofobiche proiettate verso l'esterno della struttura, mentre le teste polari rimangono confinate verso l'interno. Per raffreddamento della dispersione si ottiene la formazione di uno stabile 'organogel'.

La molecola allo stato solido è stata analizzata con misure di FT-IR, DSC, SAXS e WAXS.

Il self-assembly in soluzione e lo status di gel sono state studiate con DSC e SAXS.

2 INTRODUZIONE

2.1 VITAMINA C

2.1.1 CARATTERISTICHE

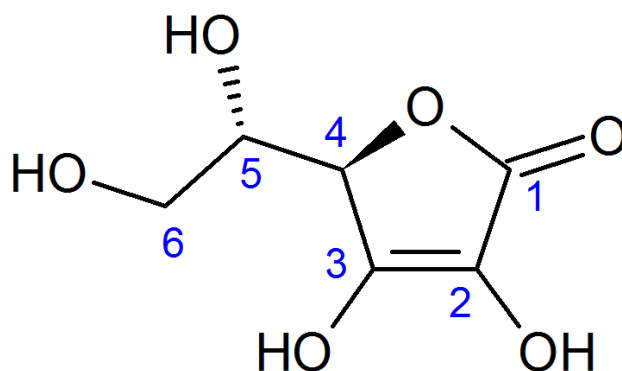


Figura 2.1: Formula di struttura dell' (R)-3,4-diidrossi-5-((S)-1,2-diidrossietil)furan-2(5H)-one

La vitamina C (acido L-Ascorbico) è una molecola biologicamente attiva che, oltre ad essere presente in numerosi cicli biochimici all'interno della cellula eucariote, quali la sintesi del collagene e della carnitina, esibisce particolari proprietà antiossidanti.

Le proprietà descritte appartengono solamente all'enantiomero L, che presenta due formule di struttura in equilibrio tautomerico come descritto dalla Figura 1.2. L'interconnessione tra le due risulta fondamentale per espletare le funzioni precedentemente descritte.

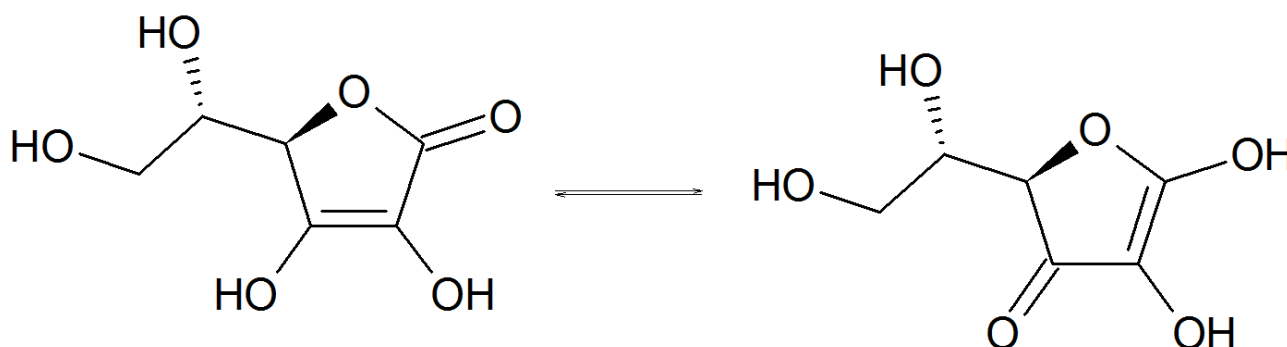


Figura 2.2: Equilibrio Tautomerico della Vitamina C

Per quanto riguarda le caratteristiche chimiche, la molecola di acido ascorbico è acida. Il gruppo idrossile in posizione 3 presenta una pKa di circa 4,2 mentre l'-OH in posizione 2 ha una pKa di 11,6.

La sintesi di questa molecola coinvolge in maniera diretta sia la chimica organica che quella biologica, in quanto la resa è fortemente influenzata dall'uso sia di reagenti chimici specifici, che batteri [3]. L'uso di tale composto all'interno dell'attività umana, e quindi lo studio della vitamina e dei suoi derivati, ha registrato una forte impennata nelle ultime decadi, essendo essa impiegata come conservante ed additivo alimentare oltre che come mero integratore data la facile solubilizzazione in solvente acquoso [2]. L'uomo ha infatti perso nel corso dell'evoluzione la facoltà di sintetizzare tale molecola, ed è costretto ad assumerla necessariamente per via esogena attraverso l'alimentazione. Alimenti particolarmente ricchi di vitamina C appartengono al mondo vegetale.

Il problema tuttavia, risiede nel fatto che i trattamenti culinari e l'esposizione alla luce tendono a ridurre la percentuale di principio attivo realmente disponibile per il consumatore, in quanto la molecola è molto labile e suscettibile a variazioni di temperatura, soprattutto se in contatto con l'ossigeno [4].

2.1.2 MECCANISMO DI DISTRUZIONE DEI RADICALI LIBERI

Paradossalmente, una delle sostanze più pericolose per la salute dell'organismo, a dispetto della sua infinita importanza nello sviluppo della vita sulla terra, è l'ossigeno.

Particolarmente nocivi e molto aggressivi, sono i radicali dell'ossigeno chiamati ROS, quali l'anione superossido, il radicale idrossile e peridrossile.

Queste specie sono dei sottoprodotti del metabolismo cellulare e possono attaccare i doppi legami dei fosfolipidi costituenti la membrana cellulare, le proteine di membrana, il DNA e l'RNA; causando gravi danni.

Il ruolo degli antiossidanti è quello di donare o accettare un elettrone nella reazione con i ROS, trasformandosi ovviamente in specie radicali meno reattive.

Il ruolo di 'radical scavenger' è dovuto alla natura chimica delle molecole.

In particolare l'acido ascorbico, che a pH fisiologico si trova nella forma deprotonata (AscH⁻), dopo aver reagito con il ROS riesce a delocalizzare l'elettrone radicalico usando il sistema coniugato formato dal gruppo carbonilico e il gruppo enediolico [6].

Per quantificare l'abilità della molecola a donare elettroni è necessario vedere il potenziale di riduzione relativo alla prima e alla seconda riduzione [5]:

- acido semiidroascorbico/acido ascorbico 0,28 V

- acido deidroascorbico/acido semiidroascorbico -0,17 V

2.2 TENSIOATTIVI

2.2.1 INTRODUZIONE

I tensioattivi sono ormai ampiamente diffusi nella nostra quotidianità.

Vengono usati nel campo della farmacia, della nanotecnologia, delle formulazioni, e in generale in tutti quei processi industriali in cui è necessario controllare e modificare l'energia associata ad una determinata superficie.

In questa categoria rientrano i saponi (senza dubbio i tensioattivi di uso più comune), ottenuti attraverso la reazione di saponificazione dei trigliceridi, il sodio dodecilsolfato (o SDS), usato in prodotti come dentifrici e shampoo e i fosfolipidi, che sono i costituenti della membrana cellulare.

Il termine tensioattivo è una traduzione dall'inglese di 'surfactant', contrazione dell'espressione 'surface-active agent'.

Come si può intuire quindi, queste molecole agiscono sulle proprietà di una superficie o di un'interfase.

In particolare, se aggiunti ad una soluzione, migrano dalla fase 'bulk' andando ad adsorbirsi all'interfase liquido-gas formando un monostrato relativamente ordinato definito 'packed monolayer'.

Più in generale possiamo dire che si adsorbono a qualsiasi interfase, sia essa liquido-liquido o liquido-solido.

L'adsorbimento è un processo spontaneo, associato quindi, in quanto tale, ad un abbassamento sostanziale dell'energia libera del sistema.

2.2.2 TENSIONE SUPERFICIALE E NATURA DEI TENSIOATTIVI

Le molecole che si trovano ad una qualsiasi interfaccia, possiedono proprietà fisiche ed in generale energia diversa rispetto a quelle presenti nella fase 'bulk'.

Come esempio possiamo riportare quello relativo a molecole di acqua presenti all'interfaccia liquido-aria.

Queste, rispetto a quelle nel bulk, dal lato esposto ai gas atmosferici, sono ovviamente impossibilitate a formare legami a idrogeno, presentando quindi un arrangiamento e un insieme di interazioni molto diverse da quelle della fase bulk. Questa asimmetria dà origine ad una forza netta che tende a contrarre la pellicola superficiale sotto l'effetto della tensione superficiale, minimizzando l'area interfasciale.

Un chiaro esempio è dato dalle gocce di liquido che, poste in contatto con l'aria, assumono appunto forma sferica; la quale, a parità di superficie, è quella che riesce a racchiudere il maggior volume.

Quindi nella espressione dell'energia libera di Gibbs dovremo considerare un termine supplementare che tenga conto della natura e dell'estensione dell'interfaccia.

Il differenziale esatto dG potrà essere espresso nel seguente modo:

$$dG = VdP - SdT + \sum \mu_i dn_i + \gamma dA$$

con γ (tensione superficiale), definita come:

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{p,T,n'}$$

Una molecola come un tensioattivo si adsorbe in superficie proprio perché, grazie alla propria natura chimica, riduce la tensione superficiale presente all'interfaccia, definita più comunemente tensione interfacciale.

In generale, poste in contatto due fasi immiscibili tra loro A e B, si definisce γ_{AB} tensione dell'interfaccia nel seguente modo [7]:

$$\gamma_{AB} = \gamma_A + \gamma_B - 2\psi_{AB}$$

I termini γ_i e ψ_{AB} si riferiscono rispettivamente alla tensione superficiale della fase i-esima e alla energia di interazione per unità di area tra A e B.

Se le fasi mostrano similarità strutturali e di distribuzione di carica (interazioni dipolari, dispersive ed elettrostatiche), la tensione interfacciale sarà zero, in quanto acquisirà grande importanza il termine ψ_{AB} . Se per esempio consideriamo una miscela acqua-etanolo, vediamo come la possibile formazione di legami a idrogeno tra le due specie chimiche generi una alta energia di interazione, che andrà a elidere nell'equazione precedentemente descritta i termini $\gamma_A + \gamma_B$.

Come risultato abbiamo la scomparsa dell'interfaccia e la completa miscibilità dei due liquidi.

Nel caso in cui una fase sia di tipo gassoso (fase B), non è presente né il termine di tensione superficiale, né quello di interazione vicendevole tra le fasi, in quanto lo stato di aggregazione gassoso genera forze coesive generalmente trascurabili.

Dato il posizionamento di tali molecole all'interfaccia, emerge la necessità di riscontrare sulla stessa specie chimica porzioni che esibiscano diverse affinità con le fasi componenti il sistema. Tant'è che solitamente siamo soliti considerare per questo campo sostanze di natura 'anfifilica', le quali presentano sia una porzione liofilica, ovvero chimicamente affine al solvente, e una liofobica che 'cerca' di evitare il contatto con le molecole di solvente. Dato che il solvente in assoluto più comune è l'acqua, parleremo di porzione idrofilica (o testa polare) e regione idrofobica (in genere code idrocarburiche).

Nei tensioattivi anfifilici solitamente la testa presenta una struttura compatta e piccola in relazione all'estensione della molecola. La coda idrocarburica può essere singola, doppia o tripla, può contenere eteroatomi, insaturazioni, anelli aromatici o residui ramificati.

Una semplice classificazione viene fatta sulla base delle cariche nette presenti sulla testa polare.

Possiamo quindi trovare tensioattivi ionici (cationici o anionici), non ionici o anfoteri.

Quelli anionici sono sicuramente i più diffusi.

Si trovano solitamente sotto forma di sali di metalli alcalini o come sali di ammonio.

Da notare è il fatto che, per le molecole recanti cariche di qualsiasi tipo sulla testa, generalmente troviamo in soluzione acquosa anche il relativo controione.

Importante tuttavia, è stato lo sforzo della comunità scientifica nel sintetizzare e studiare nuovi tipi di tensioattivi, che differissero da quelli semplicemente formati da una testa e una coda.

Si sono quindi recentemente iniziati a studiare tensioattivi catioanionici, 'bola-form', gemini e polimerici, i quali presentano proprietà diverse rispetto ai sopracitati.

Presentata la generica natura dei surfattanti cerchiamo di capire il perché, a livello di interazioni molecolari, esiste una differenza di energia tra lo stato in cui il surfattante si trova nel bulk, e quello in cui si trova adsorbito.

Considerando per esempio una generica soluzione acqua-tensioattivo, la 'driving-force' dell'adsorbimento, è la inefficace solvatazione della catena apolare da parte del solvente, che provoca quindi una vera e propria diffusione del tensioattivo verso l'interfase.

Ciò è dovuto al cosiddetto 'effetto idrofobico'. Le molecole anfifiliche infatti tentano di isolare più possibile la componente apolare, che non trova interazioni coesive intermolecolari favorevoli.

2.2.3 SELF-ASSEMBLY

Un'altra peculiarità dei tensioattivi è quella di esibire, a determinati valori di concentrazione, aggregati supramolecolari attraverso self-assembly. Se la concentrazione supera approssimativamente il 40%, si può anche avere la formazione di fasi liquide cristalline.

Inserendo tensioattivi in soluzione acquosa si ha, come descritto precedentemente, adsorbimento in superficie. Aumentando il valore della concentrazione, se l'area disponibile per adsorbimento è limitata o presenta una barriera energetica troppo elevata dovuta all'eccessiva presenza di molecole sulla superficie, si assiste all'accumulo di monomeri in soluzione.

Sono gli effetti idrofobici della catena apolare (o idrofilici delle teste se il solvente è apolare) che provocano la formazione di aggregati. Il sistema cerca fortemente di isolare tra loro tutte le componenti che non generano adeguate forze coesive con il solvente.

Si noti come le micelle (inverse o meno), non siano strutture rigidamente costituite, ma in equilibrio dinamico con i monomeri in soluzione. Questo permette ad esempio l'ingresso di sostanze apolari organiche all'interno della microstruttura se il solvente è polare.

Arrivati al valore di concentrazione sopra al quale si ha formazione di micelle (definito CMC: critical micellar concentration) si assiste ad una netta variazione delle proprietà della soluzione.

Aumenta la torbidità, la solubilità di coloranti organici, e diminuisce la conduttività (se il surfattante è ionico). Queste sono anche le grandezze da tenere in considerazione se si vuole determinare il parametro 'CMC'.

Un tipico valore di CMC a temperatura ambiente per tensioattivi anionici è 10^{-3} - 10^{-2} M. Le micelle solitamente contengono circa 100 monomeri.

Al crescere della concentrazione di tensioattivo nella dispersione aumenterà il numero di aggregati formati, mentre rimarrà costante (e pari alla cmc) la concentrazione di molecole disperse in forma monomera.

Sperimentalmente si nota che l'estensione della catena apolare contribuisce a far decrescere la cmc.

Analizzando il profilo della cmc in relazione alla temperatura, si nota che essa decresce fino a raggiungere un minimo (che corrisponde a 25°C per tensioattivi anionici) per poi aumentare proporzionalmente con T.

Numerose equazioni empiriche per valutare preventivamente il CMC sono state elaborate.

Per esempio per surfattanti ionici a singola catena [7]:

$$\log(CMC) = A - Bn$$

In cui A e B sono costanti tabulate per tipo di tensioattivo e sono dipendenti dalla temperatura, e n rappresenta il numero di atomi di carbonio della coda idrofobica.

Tuttavia esiste una temperatura (definita di Krafft) sotto la quale le molecole di tensioattivo formano precipitati piuttosto che generare aggregati 'self-assembled'.

Le micelle vengono infatti formate solo quando la catena apolare è sufficientemente mobile, come nello stato liquido, ovvero sopra la temperatura di fusione della corrispettiva molecola organica 'libera' dalla testa polare. Per i tensioattivi non ionici il problema è diametralmente opposto. Infatti all'aumentare della temperatura le teste avranno comportamenti meno idrofilici. Nel caso dei tensioattivi non ionici come la categoria dei CjEj, superando una temperatura definita 'Cloud Point' essi diventano totalmente insolubili.

Mentre nel caso di fosfolipidi zwitterionici il limite di solubilità viene raggiunto per raffreddamento.

L'aggregazione micellare non è la sola disponibile. Alcune molecole formano altri tipi di aggregati come vescicole, lamelle, 'double-layers', liposomi.

I diversi tipi di aggregati possono essere predetti usando la teoria di Israelachvili-Mitchell-Niham che tiene conto del volume e della lunghezza della catena idrofobica e dell'area della testa. La teoria è eminentemente di tipo geometrico, e non prende in considerazione le interazioni che coinvolgono le molecole di solvente e le varie parti di tensioattivo. Si definisce 'packing parameter'.

$$p = \frac{v}{a_0 l_c}$$

dove v volume della catena, l_c lunghezza di quest'ultima, minore o al più uguale a $l_{\max}$ ovvero la lunghezza della catena totalmente estesa nella conformazione *all-trans* e a_0 la cross-section della testa polare.

Le prime due variabili possono essere trovate tramite le seguenti equazioni di Tanford [7], in cui n rappresenta il numero di atomi di carbonio della catena e m il numero di catene presenti.

$$v = [27,4 + 26,9(n - 1)]m$$

$$l_c = 1,5 + 1,265(n - 1)$$

Nella tabella sono riportati i valori del packing parameter associate ad ogni architettura supramolecolare.

Micellar parameter	Struttura
$p < 1/3$	Micelle sferiche
$1/3 < p < 1/2$	Micelle cilindriche
$1/2 < p < 1$	Vescicole
$p > 1$	Strutture invertite

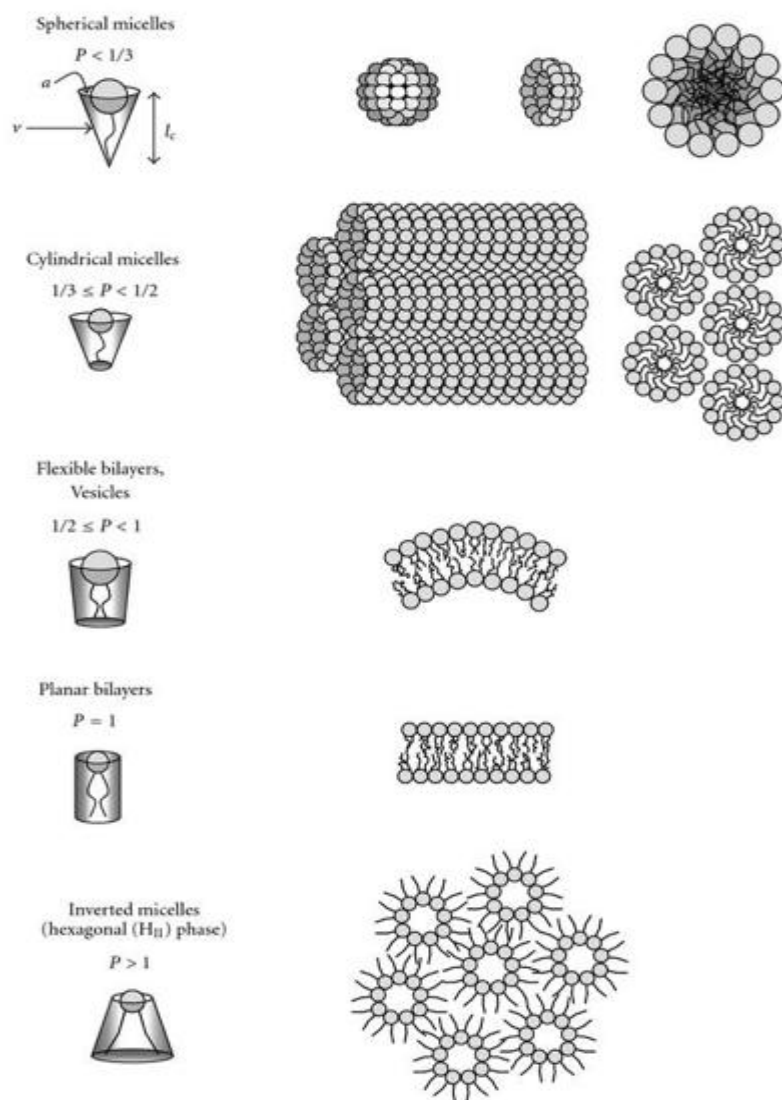


Figura 2.3 Aggregati supramolecolari formate a diversi valori di p

2.3 ORGANOGEL

Un gel può essere definito come un sistema colloidale che presenta una fase solida immersa in una fase liquida. Nel caso in cui la fase liquida sia di tipo organico, siamo soliti parlare di organogel.

Due sono le modalità con cui è possibile formare organogel: attraverso polimerizzazione o tramite self-assembly. Nel primo caso si osserverà la formazione di un network tridimensionale in cui la tensione superficiale del solvente inglobato consente alla struttura di non collassare su sé stessa.

Se sono invece presenti molecole capaci di dare self-assembly, come ad esempio gli anfifilici, si assisterà verosimilmente alla formazione di aggregati supramolecolari in soluzione e, in seguito all'abbassamento

della temperatura, alla formazione di organogel. Saranno le forze deboli intermolecolari a dare stabilità termodinamica al sistema; questo farà sì che la struttura sia altamente termoreversibile in quanto i legami formati non sono di tipo chimico.

Le molecole gelanti in questione, per essere differenziate da quelle polimeriche, sono chiamate 'low molecular weight gelators' (o LMWG).

L'importanza di questi sistemi in campo bio-medico e delle formulazioni risiede innanzitutto nella stabilità e nella relativa semplicità, da un punto di vista operativo, con cui si può avere transizione sol-gel [8].

Essi si pongono inoltre come seri candidati per la solubilizzazione di farmaci sia di natura lipofila che idrofila. Il sistema 'organogel' protegge inoltre il farmaco dall'azione di disturbo che si può avere dall'esposizione all'umidità atmosferica [8].

Un esempio è dato dai gel a base di lecitina, ampiamente studiati dalla comunità scientifica, i quali formano micelle sferiche inverse con solvente organico. Nel momento in cui si inserisce solvente polare, viene stimolata l'interazione tra le teste. Questo porta alla gelificazione della soluzione.

Tuttavia non esistono teorie che permettano di prevedere a priori quali possano essere le molecole e i solventi in grado di formare gel. [8,9]

E' opportuno quindi agire per via empirica, cercando sperimentalmente il solvente opportuno che permetta la gelificazione del sistema.

2.4 DERIVATI ANFIFILICI DELL'ACIDO ASCORBICO

Il Dr. Pierandrea Lo Nostro nel corso della sua attività di ricerca, ha a lungo studiato una particolare classe di derivati dell'acido ascorbico: i derivati anfifilici (molecole possedenti una porzione polare ed una apolare).

La presenza di molti gruppi idrossile dislocati sulla molecola di Acido L-ascorbico, permette, giocando su meccanismi di protezione-deprotezione selettiva dei vari gruppi funzionali, di sintetizzare con relativa facilità una grande gamma di composti possedenti anche porzioni apolari.

Lo studio e la sintesi di tali composti risiede nella limitata applicabilità della vitamina C ai sistemi organici.

Data l'importante funzione antiossidante dell'acido ascorbico e il contenuto costo, si è cercato di superare il confinamento all'ambiente polare.

Inizialmente il gruppo di ricerca del CSGI (Consorzio Universitario a Grande Interfase) ha analizzato derivati in cui l'idrossile in posizione 6 è stato trasformato in gruppo estereo contenente 12,10 e 8 atomi di carbonio.

Gli ascorbil-alcanoati sono stati denominati ASC-n, con n numero di atomi di carbonio presente nella catena laterale.

Gli ASC-n sono solubili in acqua e superata la cmc, riescono a formare aggregati micellari tipici del processo self-assembly [10].

Altra peculiarità, è quella di riuscire a formare una mesofase lamellare cristallina. In gergo tecnico tale struttura viene definita coagel [10]. Essa è caratteristica di un superiore ordine strutturale rispetto allo stato di gel, dovuto ad una forte interazione tra le teste e il solvente.

Riscaldando i coagel si assiste a comportamenti diversi a seconda della estensione della catena. Come mostrato in figura 2.3 i composti con numero di atomi di carbonio nella catena laterale esterea inferiori o uguali a 10 generano strutture micellari; in quelli aventi n superiore a 11 si assisteva alla transizione coagel-gel. Per gli aggregati supramolecolari si è verificato, con risultati soddisfacenti, anche la possibile solubilizzazione di farmaci [11].

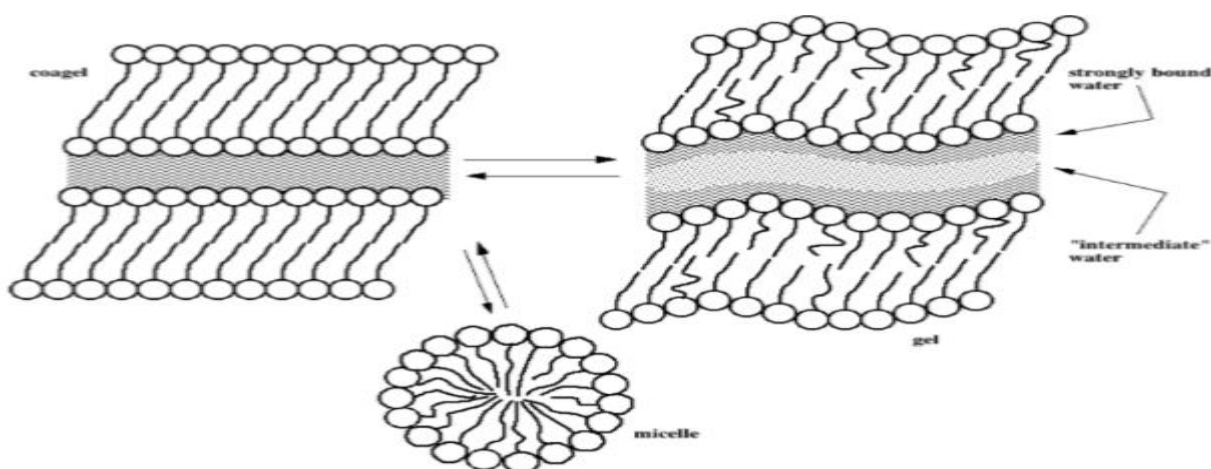


Figura 2.3: Transizione nei Coagel di ASCn

Successivamente nuovi studi sono stati effettuati su una nuova molecola chiamata 8ASC10 (2octil-decanoil-6-O-acido ascorbico) [12]. In questo caso si è voluto enfatizzare le caratteristiche idrofobiche inserendo una seconda catena carboniosa sulla molecola. Il derivato in questione per proprietà chimico-fisiche non riesce a formare idrogel. Piuttosto è favorita la formazione di organogel con solvente opportuno (principalmente cicloesano).

Sia i derivati ASC-n che l'8ASC10 hanno mostrato notevoli capacità antiossidanti come mostrato dagli esperimenti di DPPH [10,12].

3 MATERIALI E METODI

3.1 SINTESI DI-ASC12

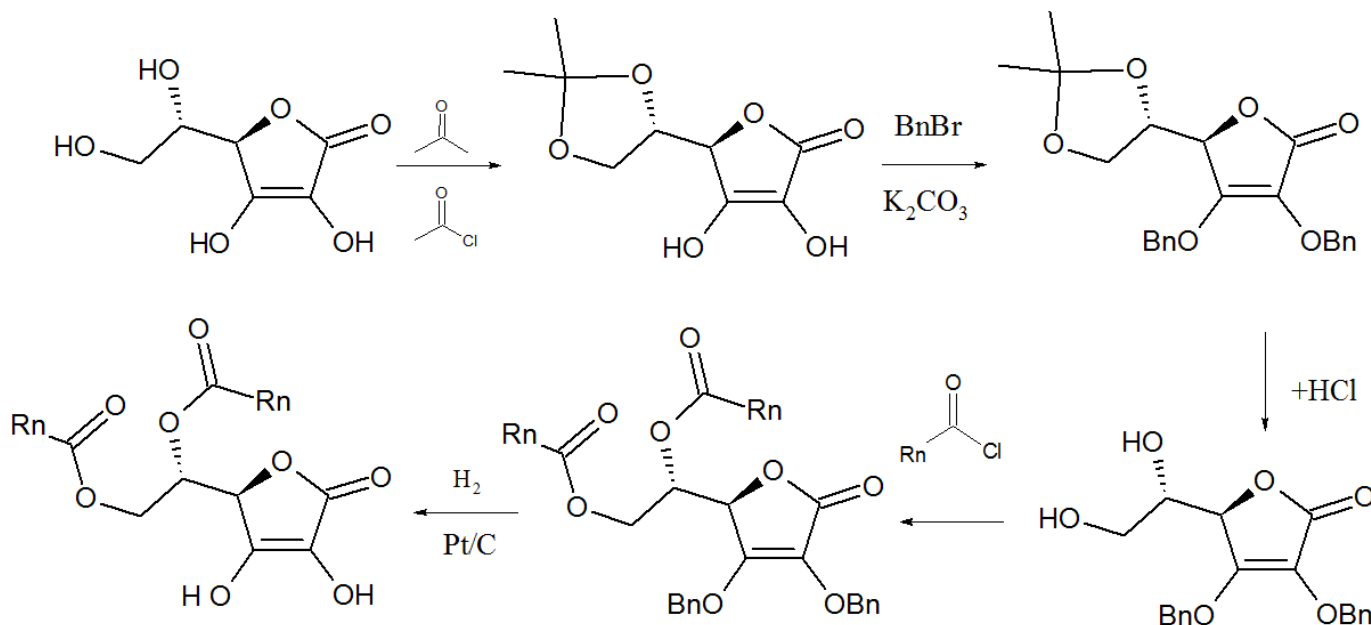


Figura 3.1-Schema del processo di sintesi per DIASC-12

La sintesi dei derivati di acido ascorbico, è stata effettuata dalla professoressa Capperucci insieme al suo gruppo di lavoro.

Innanzitutto la sintesi ha, come prima complicanza, il fatto che le molecole utilizzate come precursori per una successiva condensazione, presentano un diverso comportamento chimico-fisico per ciò che concerne la solubilità in ambiente acquoso.

A livello molecolare infatti si deve formare un legame esterificando due acidi carbossilici a catena lunga (fino a 12 atomi di carbonio) e quindi idrofobici, usando gruppi idrossile di una molecola di acido L-ascorbico che invece è altamente idrofila.

Inoltre, la presenza di numerosi gruppi –OH situati sull’anello rende difficoltosa la selettiva reazione con gli idrossili prescelti per la formazione di legami esterei.

E’ quindi importante sfruttare meccanismi di protezione/deprotezione selettiva dei vari gruppi situati sull’anello lattonico, che esibiranno comportamenti chimici diversi rispetto a quelli presenti sulla catena

laterale. Essenzialmente i quattro gruppi –OH possono essere trattati a due a due, in quanto la reattività delle singole coppie nei confronti dei reattivi chimici utilizzati è la medesima.

Sono stati riportati i vari passaggi della sintesi e caratterizzazione del DIASC-12.

-Sintesi del (R)-5-((S)-2,2-dimetil-1,3-diossolan-4-il)-3,4-diidrossifuran-2(5H)-one

Ad una soluzione contenente 20 mL di acetone e acil cloruro (500 µL, 7.01mmol) viene addizionato acido L-ascorbico (5g, 28,3 mmol). La miscela, mantenuta sotto agitazione, è scaldata a 40°C per 2 ore. Trascorso tale tempo la reazione viene riportata a temperatura ambiente e poi raffreddata con azoto liquido, e filtrata su filtro Büchner. Il solido bianco viene lavato con acetone freddo. Il prodotto viene recuperato e messo ad essiccare sotto alto vuoto.

Resa= 59%.

6.2 - Sintesi del (R)-3,4-bis(benzilossi)-5-((S)-2,2-dimetil-1,3-diossolan-4-il)furan-2(5H)-one

Ad una soluzione di isopropildien-ascorbato (2.631 mg, 12.18 mmol) in THF (8 mL) e DMSO (10 mL) vengono addizionati K₂CO₃ (4.97g, 35.96 mmol) e BnBr (3.47 mL, 29.18 mmol) goccia a goccia, sotto agitazione, e quindi la miscela è scaldata a 50°C per 3 ore.

Trascorso tale tempo la reazione viene raffreddata a temperatura ambiente, filtrata su Büchner per eliminare la sospensione solida (scarto). La soluzione è estratta con etil acetato (10mL), lavata con H₂O (3x 10mL) e quindi con una soluzione satura di NH₄Cl (10mL). La fase organica viene anidrificata su Na₂SO₄, filtrata ed essiccata sotto vuoto, ottenendo un solido giallo.

Resa =95%

6.3 - Sintesi del (R)-3,4-bis(benzilossi)-5-((S)-1,2-diidrossietil)furan-2(5H)-one

Ad una soluzione contenente (R)-3,4-bis(benzilossi)-5-((S)-2,2-dimetil-1,3-diossolan-4-il)furan-2(5H)-one₂ (2.42 g 0.007 mmol) in THF (20mL) è stato addizionato HCl 2N (3.7 mL, 0.12 mmol). La reazione è stata mantenuta sotto costante agitazione a temperatura ambiente per 48 ore. Al termine è stato addizionato MTBE (20mL) e NaCl (a saturazione). La soluzione è stata posta in imbuto separatore e lavata con H₂O (10

mLx3). La fase organica, anidrificata su Na₂SO₄, viene quindi filtrata ed essiccata sotto vuoto, per ottenere un liquido denso arancione. Resa= 75%.

Il grezzo di reazione viene purificato mediante colonna cromatografica su gel di silice (Etil Acetato: Etere di Petrolio 1:1) per ottenere il prodotto come liquido denso giallo chiaro.

Resa = 36%

6.5 - Esterificazione in 5,6 di derivati dell'acido L-ascorbico

Ad una soluzione contenente (R)-3,4-bis(benzilossi)-5-((S)-1,2-dihidrossietil)furan2(5H)-one(3) (1.4104g, 3.95 mmol) in CH₃CN (40 mL) vengono addizionati 4-DMAP (1.3 g, 12 mmol) e DCC (2.46 g, 12 mmol). Alla soluzione sono stati aggiunti 2.3 equivalenti del cloruro dell'acido grasso corrispondente. La soluzione è stata mantenuta sotto costante agitazione per 12 ore. La reazione è stata poi direttamente evaporata, il grezzo viene purificato mediante colonna cromatografica su gel di silice (Etere di Petrolio:Etil Acetato 8:1) per ottenere il prodotto come liquido denso giallo chiaro.

6.6 - Debenzilazione del 5,6-diesterei dell'acido L- ascorbico

L'Etil acetato è stato deossigenato sotto flusso di con azoto, dopo 20 minuti il solvente è stato prelevato (30mL) e posto nel pallone dove abbiamo il prodotto (3.06 mmol). Alla soluzione viene aggiunto Pd/C come catalizzatore (466,3 mg). La reazione, tenuta sotto costante agitazione, viene collegata con una vescica contenente idrogeno per 3 ore. Trascorso tale tempo il prodotto viene filtrato su Celite 545, estratta con etil acetato ed essiccata sotto vuoto. Il prodotto ottenuto (solido bianco) viene cristallizzato da dietil etere e precipitandolo poi con etere di petrolio in un bagno di ghiaccio. Il solido cristallizzato viene recuperato attraverso filtrazione su filtro Büchner e tenuto sotto alto vuoto per eliminare l'eventuale solvente rimasto. La procedura è stata eseguita per tutti e 3 i prodotti dell'acido ascorbico disostituiti. Resa>95%

Caratterizzazione:

5,6-O-Didodecanoato di L-ascorbile

Analisi Elementare: C₃₀H₅₂O₈ C 64,64%, H 9.69%. Trovato: C 64.32%, H 9.59%.

¹H-NMR (400MHz,CDCl₃) δ(ppm): 0.88 (6H, t, 3J (H,H)=6.8Hz, CH₃(CH₂)₁₀), 1.26

(32H, m, CH₃(CH₂)₈), 1.54-1.65 (4H, m, COCH₂CH₂), 2.29-2.34 (4H, m, COCH₂),

4.31 (1H, dd, 3J (H,H)= 6.6Hz, 2J (H,H)= 11.7Hz, CH₂O), 4.41 (1H, dd, 3J (H,H)=

4.8Hz, 2J(H,H)= 11.7Hz, CH₂O), 4.90 (1H, d, 3J (H,H)= 3.1Hz,CHO), 5.38-5.43 (1H,

m,CHCH₂).

¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) δ(ppm): 13.9, 22.5, 24.6, 24.7, 28.9, 29.0, 29.2, 29.4,

29.5, 31.8, 33.8, 33.9, 62.1 (CH₂O), 68.1 (CHCH₂), 74.7 (CHO), 118.8, 151.4,

171.5, 173.0, 173.8.

MS (ESI, negativo): m/z= 539 [M -H]-

IR (cm⁻¹): 3300-3500 cm⁻¹ (OH stretching), 2800-2950 cm⁻¹ (CH stretching sp₃), 1770 cm⁻¹ C=O stretching),

1690 cm⁻¹ (C=O e C=C stretching bande slargate), 1100-1190 cm⁻¹ (C-O stretching).

3.2 PREPARAZIONE ORGANOGELE

L'attività in laboratorio si è basata sullo studio del composto contenente catene apolari a 12 atomi di carbonio: il DIASC-12.

Il lavoro in un primo momento ha avuto contorni prettamente empirici.

Sono state infatti conseguite una serie di prove inserendo in vials da 20 ml il DIASC-12 con solventi organici, in presenza o meno di acqua, ed è stata osservata la possibile formazione di gel. I solventi utilizzati (basandoci su precedenti studi di molecole affini in struttura chimica[1][2]) sono stati il cicloesano, il cloroformio, l'isooottano, l'ottano e il decano.

Il procedimento utilizzato è estremamente semplice: sono state inserite le quantità preposte dei vari reagenti (pesate su bilancia analitica), dopodiché, al fine di conseguire la completa solubilizzazione delle soluzioni, le vials sono state scaldate e agitate usando un vortex.

Lo scopo di tali operazioni era anche quello di fornire energia al sistema in modo da facilitare la formazione di gel.

La temperatura di riscaldamento non ha mai superato i 38°C, poiché, grazie alle misure di DSC, è stato osservato che la temperatura di fusione del DIASC-12 è circa 46°C.

Le soluzioni sono state quindi lasciate raffreddare a temperatura ambiente o sotto bagno di ghiaccio.

3.3 DSC

3.3.1 TEORIA

DSC è l'acronimo di 'Calorimetria a Scansione Differenziale', una tipologia di calorimetro usata principalmente per lo studio delle transizioni di stato; siano esse semplici transizioni liquido-solido o transizioni più complesse come quelle vetrose o quelle sol-gel.

L'apparato presenta due celle identiche: una cella di riferimento ed una analitica.

In entrambe le celle vengono inseriti dei pan (piccoli contenitori di alluminio).

Il pan nella cella di riferimento è vuoto o presenta materiale inerte di massa identica a quella del campione; nel secondo pan si trova il campione stesso accuratamente pesato.

Viene fornito calore attraverso una resistenza elettrica al sistema che si trova in condizioni idealmente adiabatiche.

La macchina cerca di fornire calore a entrambe le celle in modo da avere uno stesso profilo di temperature in funzione del tempo.

Il calore generato per effetto Joule da una resistenza percorsa da corrente è definito dalla seguente equazione:

$$Q_{res} = \int_{t_0}^{t_1} [I(t)]^2 R dt$$

che nel caso di corrente rigorosamente continua diventa:

$$Q_{res} = I^2 R t = \frac{V^2 t}{R}$$

Se viene applicata alla resistenza una d.d.p. costante è fornita alla cella (in cui non avvengono transizioni di fase) una potenza di riscaldamento costante che farà variare la temperatura in relazione alla costante termica C della cella ammettendo che essa non vari troppo con la temperatura:

$$W_o = cost = \frac{V^2}{R} = \frac{dQ_{res}}{dt} = \frac{C dT}{dt}$$

Finché la temperatura del sistema è lontana da quella della transizione viene registrato un ΔW pressoché costante da applicare ai due sistemi in esame per riuscire a mantenere la stessa temperatura nelle celle, che riflette asimmetrie di tipo costruttivo ed è anche ovviamente dovuto alle diverse capacità termiche. Nella cella analitica però, quando siamo nella zona di temperatura deputata alla transizione di fase, parte del calore generato dalla resistenza sarà sfruttato dal campione per transire.

Ecco che il $\Delta W(t)$ registrato subirà una variazione per riuscire a sopperire al mancato aumento di temperatura.

Il calore associato al processo Q_{trans} (che è anche uguale all'entalpia di transizione) sarà trovata integrando la curva registrata che ha ΔW in ordinata e tempo in ascissa.

$$Q_{trans} = \Delta H_{trans} = \int_{t_i}^{t_f} [\Delta W(t) - \Delta W_0(t)] dt$$

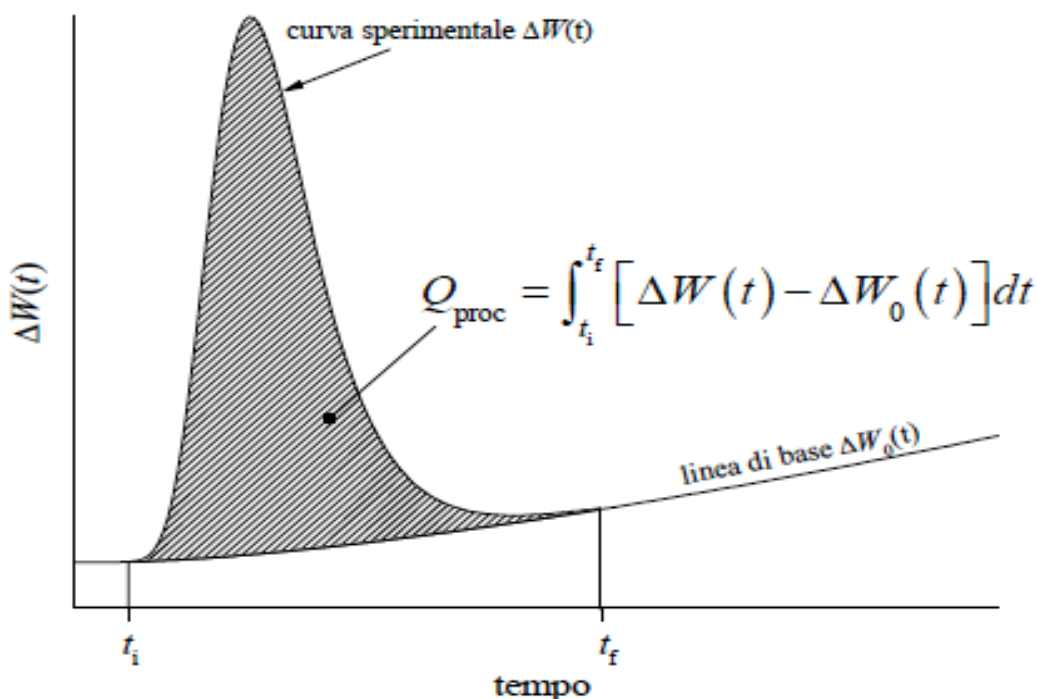


Figura 3.1 Esempio di termogramma di DSC

3.3.2 MISURE CALORIMETRICHE

Misure di DSC sono state fatte sui gel formati e i composti puri di DIASC-12.

Per la 'Differential Scanning Calorimetry' è stata usata una DSC Q2000 V24 TA INSTRUMENT.

Questo strumento permette di ottenere informazioni sulla natura chimico-fisica della materia, sia essa costituita da una polvere del solido cristallino o da un organogel. Le osservabili in entrambi i casi, sono la temperatura e l'entalpia relativa ai vari processi di transizione di stato, misurata integrando i picchi (endotermici nella fattispecie) presenti sul grafico.

Sono stati analizzati con DSC il DIASC-12 solido e due tipi di gel:

- DIASC12 in Cicloesano 15% (w/w)
- DIASC 12 in Acqua e Cicloesano 8/1/91 % (w/w)

Le quantità esatte inserite per formare le soluzioni gelificanti sono state rispettivamente:

- 44,5 mg DIASC12 + 257,9 mg Cicloesano, quindi DIASC12/Cicloesano= 14,72% (w/w)
- 23,94 mg DIASC12 + 3,27 mg di acqua+ 271,93 mg di Cicloesano, quindi

DIASC12/acqua/Cicloesano= 8/1,09/89,92 % (w/w)

Nell'analisi dei solidi la temperatura è stata aumentata di 2°C/min partendo da 20°C fino ad arrivare a 60°C.

Sono stati effettuati due cicli.

Per entrambi i gel abbiamo usato una rampa di temperatura che prevedesse partenza da 10°C (il gel è stato tenuto a quella temperatura per 30 minuti per evitare la dissoluzione del gel fisico formatosi precedentemente all'interno della vial, data la forte labilità) e un aumento di 2°C/min fino ad arrivare ad una temperatura di 50°C.

Le misure sono state eseguite due volte per entrambi i gel.

Inoltre per i gel contenenti acqua abbiamo fatto un'analisi aggiuntiva.

Siamo infatti risaliti alla quantità di acqua legata alle teste polari della molecola tenendo inizialmente a -60°C la temperatura per 5 minuti. Successivamente abbiamo alzato la temperatura di 0,5°C al minuto fino ad arrivare a 50°C. La misura è stata ripetuta due volte.

3.4 SAXS

3.4.1 TEORIA DELLO SCATTERING

Le misure di scattering a basso angolo, applicate alla soft matter, sono un eccellente strumento per riuscire ad indagare il mondo dei colloidi e dei nanosistemi.

L'apparato sperimentale è estremamente semplice: una sonda di varia natura incide su un campione allo stato solido o liquido e un detector, posto a distanza fissa, raccoglie la radiazione scatterata dalla materia in esame.

Analizziamo il fenomeno con formalismo matematico.

Possiamo rappresentare l'onda piana incidente usando la formula di Eulero:

$$A_i(\vec{R}) = A_0 e^{i\vec{k}_i \cdot \vec{R}}$$

Con A_0 che rappresenta il massimo valore raggiungibile dal campo elettrico (o magnetico) e k_i vettore d'onda con modulo:

$$|k_i| = \frac{2\pi n}{\lambda}$$

Immaginiamo adesso che sia presente una singola particella scatteratrice adimensionale.

Questa interazione farà emergere la radiazione sottoforma di onda sferica in quanto si considera in questo momento che lo 'scatterer' sia a sua volta una sorgente di onde.

L'onda scatterata A_s avrà la seguente forma:

$$A_s(\vec{R'}) = \frac{A_0 b e^{i\vec{k}_s \cdot \vec{R'}}}{|\vec{R'}|}$$

Si noti come l'ampiezza sia variata rispetto al raggio incidente a causa della distanza campione detector (R') ed il termine b che tiene conto dell'interazione radiazione-materia.

L'argomento dell'esponenziale $\vec{k}_s$, se lo scattering è elastico, avrà lo stesso modulo di $\vec{k}_i$, ma direzione diversa descritta da θ , ovvero l'angolo che si viene a formare tra la radiazione trasmessa e quella scatterata. Tuttavia la variabile operativa è il vettore chiamato vettore di scattering, e definito in relazione agli altri due:

$$\vec{q} = \vec{k}_s - \vec{k}_i$$

Il cui modulo è:

$$|\vec{q}| = \frac{4\pi(n)}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)$$

E' importante notare come la vera variabile sia θ ; in quanto tutte le altre grandezze sono considerate fisse.

Nel caso in cui siano presenti più particelle scatteranti si avranno più sorgenti di onde. Ne consegue una interferenza di tipo costruttivo o distruttivo che consente di trarre le informazioni strutturali ricercate analizzando l'intensità di radiazione scatterata funzione di q (o di θ).

In particolare si può dimostrare che vale la seguente equazione:

$$I(q) = K N_p V_p^2 (\Delta\rho)^2 P(q) S(q) + B$$

dove K è una costante strumentale, N_p la densità numerica delle particelle che scatterano, V_p il volume della singola particella, $\Delta\rho$ contrasto dell'esperimento, $P(q)$ fattore di forma, $S(q)$ fattore di struttura e B un fondo lineare (background).

$\Delta\rho$ definisce le diverse affinità che solvente e aggregati colloidali (come nel caso di gel formato da LMWG) hanno nei confronti della sonda. I raggi X hanno quindi la capacità di porre in evidenza le disomogeneità elettroniche presenti nella sostanza in analisi.

Visto che la risoluzione di uno strumento SAXS risulta inferiore alle dimensioni atomiche conviene definire una 'densità di interazione' per porzioni di campione, molecole o aggregati, definita come:

$$\rho = \frac{\sum b_i}{V} = \frac{\delta N_a}{M} \sum b_i$$

in cui V è il volume molecolare, M il peso molecolare e N_a il numero di Avogadro.

Di grande importanza è il termine b_i , lunghezza di scattering dell'atomo i -esimo che quantifica interazioni tra onda e materia. Nel caso di raggi X $b_i = Z_i b_e$ con Z_i numero atomico e b_e lunghezza di scattering del singolo elettrone.

$P(q)$ è una funzione matematica che descrive come l'intensità di radiazione raccolta sia dipendente dalla disposizione reciproca delle particelle scatteranti rispetto al centro di massa.

$S(q)$ è definito più precisamente fattore di 'struttura intraparticellare' e quantifica l'interazione presente tra i centri di massa del sistema. Si riesce in questo modo ad avere informazioni sull'intorno della singola nanostruttura. Questo termine acquista importanza a concentrazioni più elevate.

3.4.2 MISURE EFFETTUATE E APPARATO SPERIMENTALE

Le misure di scattering sono state eseguite con un apparato S3-Micro (Hecus) equipaggiato con un detector sensibile alla posizione (OED 50M) costituito da 54 μm di dimensione. La lunghezza d'onda operativa $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$ (CuKalfa) è stata ottenuta attraverso una sorgente X ultra-brillante a microfuoco puntiforme (GENIX-Fox 3D, Xenocs), operata alla massima potenza di 50 W (50 kV e 1 mA). Lo strumento è stato calibrato nella regione di basso angolo per mezzo di uno standard (Benephato di argento $d = 58,34 \text{ \AA}$) [13] e

mediante lupulen ($d = 4.12 \text{ \AA}$) per la regione ad angoli maggiori. La distanza campione-detector è 281 mm. Il vettore di scattering campionato, $q=(4\pi/\lambda)\sin\theta$, è risultato 0.01-0.54 $\text{\AA}^{-1}$, dove 2θ è l'angolo di scattering. L'esperimento è stato condotto in trasmissione, usando capillari in borosilicato N.50 con un diametro interno di 1.5 mm come porta campione. La temperatura dei campioni durante la misura è stata mantenuta per mezzo di un elemento Peltier. Tutte le curve di scattering sono state corrette per il contributo del capillare vuoto e della fase continua considerando il fattore di trasmissione relativo.

Per quanto riguarda l'analisi del solido sono state eseguite misure di WAXS (Wide-Angle X-ray Scattering) con un intervallo di 2θ che varia da 18° a 26° [14] e SAXS a temperatura ambiente.

Sono stati inoltre analizzati gel e soluzioni (nel caso in cui l'analisi sia stata eseguita a temperatura superiore a quella relativa alla transizione gel-sol o semplicemente a basse concentrazioni) contenenti DIASC-12 e Cicloesano.

Sono riportate le analisi sui campioni effettuate con le relative temperature. Si noti come per alcuni gel siano stati eseguiti cicli di riscaldamento/raffreddamento per trarre maggiori informazioni sulla reversibilità della transizione.

%(w/w)DIASC-12/Cicloesano	T (°C)
0,25%	15°
2%	15°
5%	15°/35°/15°
8%	35°
15%	15°/35°/15°

L'elaborazione degli spettri viene eseguita usando il programma IGOR PRO.

Il procedimento prevede che la curva sperimentale venga fittata con una 'trial function', la cui forma è predetta da assunzioni teoriche o conoscenze pre-acquisite.

Il programma cerca di modificare i parametri non tenuti fissi dall'operatore, in modo da riuscire a fittare nella maniera più precisa possibile la curva. Sono proprio i parametri calcolati che permettono di ricavare informazioni sul campione in esame.

3.5 FT-IR

Le misure di FT-IR sono state condotte utilizzando uno spettrometro Nexus 970-FTIR (Thermo-Nicolet) con una risoluzione di 8 cm^{-1} e 64 scansioni; il range di energia esaminato va da 4000 a 750 cm^{-1} . Le misure sono state condotte sul campione solido di DIASC-12, e sono state eseguite a pressione e temperatura ambiente. Dopo aver acquisito gli spettri, è stata fatta una correzione con il pacchetto software Omnic, distribuito con lo strumento.

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 STATO SOLIDO

4.1.1 INFORMAZIONI GENERALI

Il DIASC-12 (5,6-O-Didodecanoato di L-ascorbile) è una molecola anfifilica con una regione apolare, costituita da due catene di dodici atomi di carbonio ciascuna, e una porzione polare dovuta alla presenza dell'anello dell'acido ascorbico.

Il solido si presenta come una polvere bianca cristallina.

Possono essere ricavate informazioni generali sulla natura e sulle proprietà del tensioattivo.

In particolare è possibile valutare il parametro d'impaccamento, il quale consente di predire quale struttura supramolecolare formata per self-assembly si avrà in soluzione.

Si considera la coda idrofobica come formata da undici atomi di carbonio e non dodici, in quanto il carbonio carbonilico, impegnato nella formazione del gruppo estereo, fa senza dubbio parte della regione idrofila.

Usando le equazione di Tanford, si può dare una stima di l_c e v_c , rispettivamente lunghezze e volume delle code apolari. Essi valgono rispettivamente 15,4 Å e 646,6 Å³. Il valore della cross-section della testa polare A_h dell'anfifilico può essere ricavato dalle misure di SAXS applicate sui gel.

In particolare, considerando che in organogel con cicloesano lo spessore delle teste ($2 \cdot l_h$) misura circa 17 Å, come si evince dai dati ricavati dal fitting delle curve SAXS, e che il volume occupato da una testa polare V_h è all'incirca 275,3 Å³ (valore trovato per campioni di Acido Ascorbico usando modelli CPK) [1]) possiamo ottenere A_h usando la seguente formula:

$$2V_h = A_h * 2l_h$$

$$A_h = 32,3 \text{ Å}^2$$

Questo risultato lo si ottiene assumendo che la situazione di impaccamento delle teste nel gel in cui è solamente presente cicloesano, sia la medesima del solido cristallino, e immaginando che lo spazio

occupato dalle teste della molecola abbia geometria approssimativamente cilindrica come mostrato in figura 4.1.

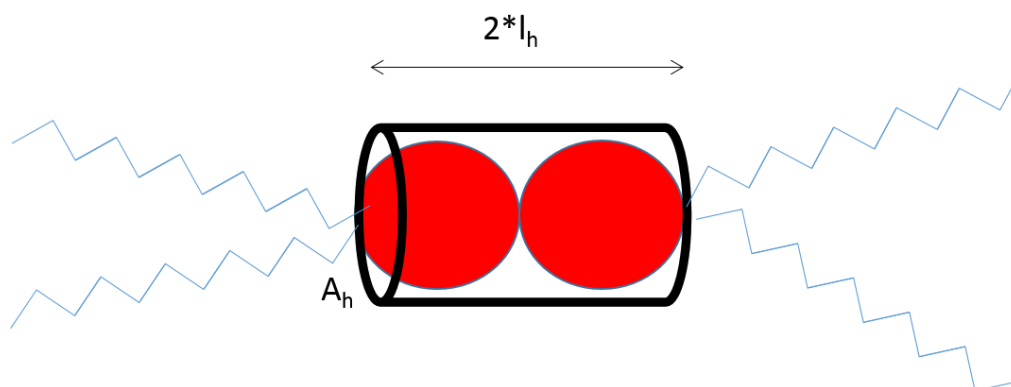


Figura 4.1 Schematizzazione delle dimensioni del DIASC-12 solido

Calcolando il parametro di impaccamento vediamo come esso abbia un valore maggiore di 1, per il quale si prevede la formazione in dispersione di una struttura a micella inversa con le code rivolte verso il solvente. Da misure di SAXS su sistemi in soluzione abbiamo rilevato che il sistema si organizza effettivamente in questo modo.

4.1.2 DSC

Il diagramma DSC per i solidi mostra una temperatura di fusione di 45,49°C con un ΔH_{fus} pari a 9,013 kJ/mol.

Il fatto che la transizione non generi un picco netto, e che da 38,30°C a 45,49°C si abbia la morfologia di curva indicata in figura 4.2, lascia pensare alla presenza di una possibile transizione che porta alla riorganizzazione della cella cristallina delle code.

In particolare possono essere identificate grossolanamente tre strutture polimorfiche per il sistema in esame, catalogate in base alla stabilità termodinamica: α , β' e β [14].

Le forme polimorfe sono state elencate in ordine crescente di stabilità, ed è possibile passare da una struttura all'altra in seguito a riscaldamento e successiva cristallizzazione della struttura, soprattutto se l'analisi viene eseguita con rampe di incremento della temperatura non troppo elevate.

Potrebbe essere utile eseguire ulteriori studi per accertare tale congettura con misure di DSC-modulata, per confermare l'ipotesi che la curva endotermica sia in effetti il frutto della convoluzione del picco di fusione e di un processo di cristallizzazione parziale che comporta il riordino di una componente amorfa nel campiona.

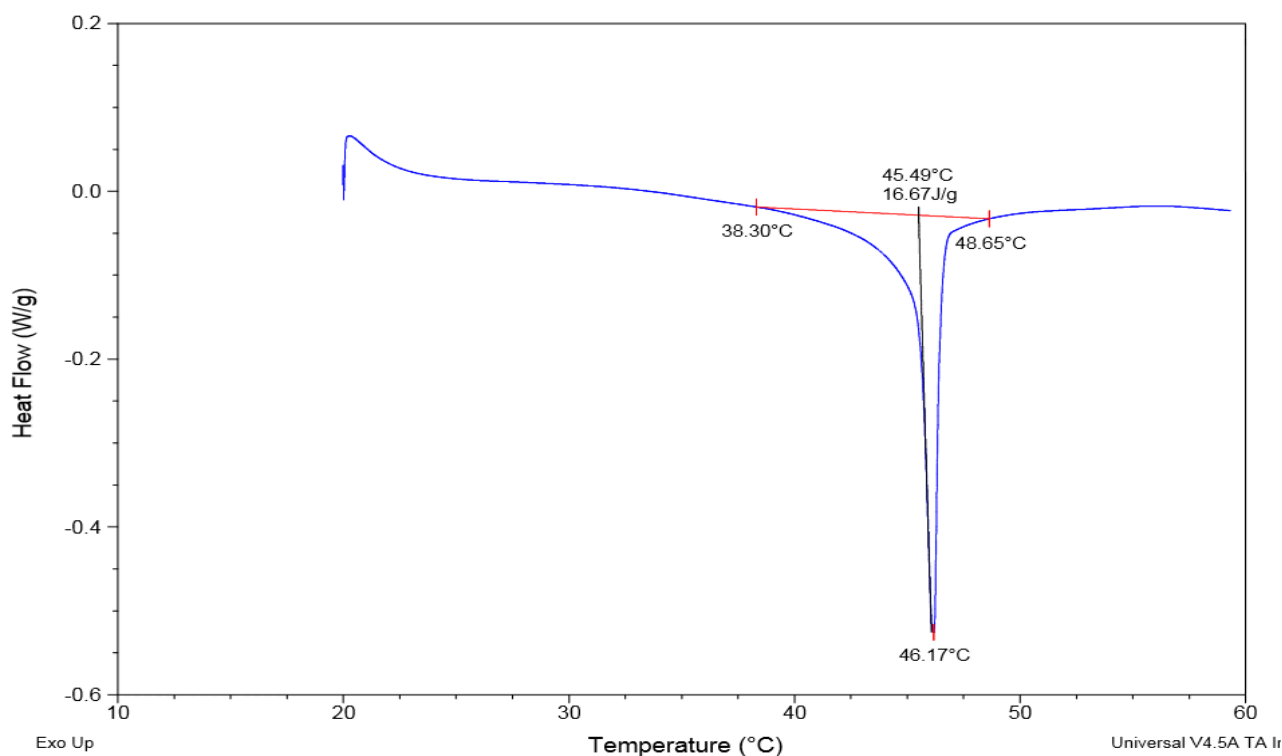


Figura 4.2 Analisi DSC di DIASC-12

4.1.3 SAXS

L'analisi dello spettro SAXS per il solido cristallino di DIASC-12 ha permesso di concludere che la molecola si organizza con una struttura di tipo lamellare.

Si nota in particolare la presenza di due picchi a valori di q (vettore di scattering) pari a $0,176 \text{ \AA}^{-1}$ e $0,353 \text{ \AA}^{-1}$ relativi rispettivamente alla prima e alla seconda riflessione della lamella.

Tramite la relazione che lega il vettore di scattering allo spacing lamellare, $q=2\pi/d$, si ricava un valore per d pari a $35,6 \text{ \AA}$.

E' possibile riuscire a dare una grossolana stima del grado di interdigitazione delle catene. La lunghezza di quest'ultime (l_c) infatti, usando la formula Tanford, risulta essere di $15,4 \text{ \AA}$. La testa polare del sistema ha

una lunghezza (l_h) di circa 8,5 Å (ottenuta dimezzando il valore di core thickness ottenuto per sistemi organogel).

Poiché l'unità ripetitiva strutturale (d) è composta da due catene e due teste, le quali sono poste ad una distanza verosimilmente limitata (data dalla necessità di massimizzare i legami a H); confrontando lo spessore idrocarburico ($d-2l_h$) con la lunghezza di due code, è stato il grado di interdigitazione G.I%:

$$G.I\% = \frac{d - 2l_h}{2(l_c)} * 100 \approx 60\%$$

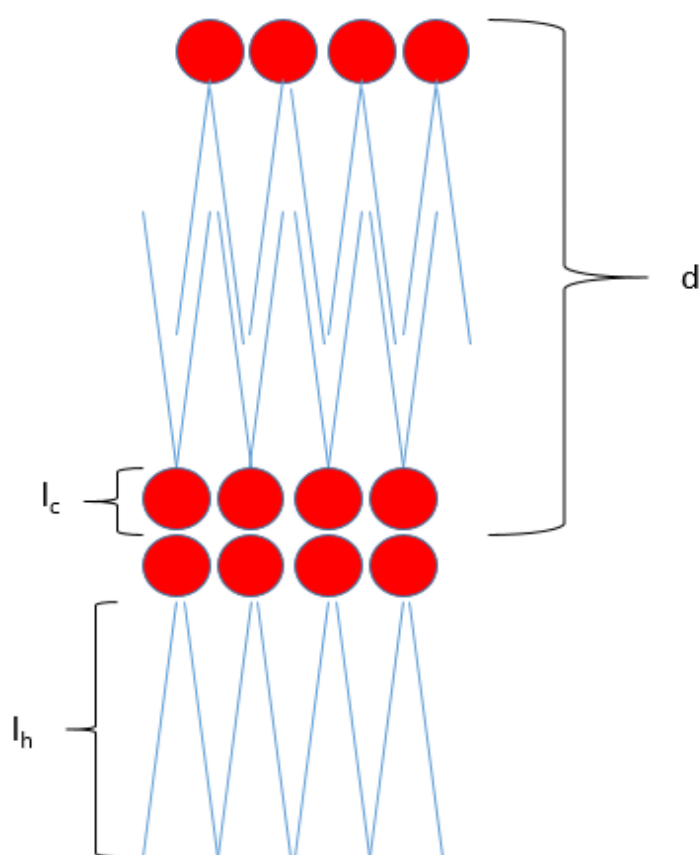


Figura 4.3 Schema delle lunghezze tenute di conto per valutare G.I.%

4.1.4 FT-IR

Sono riportati in figura 4.4 e 4.5 lo spettro IR del solido di DIASC-12 e l'ingrandimento della porzione compresa tra 750 e 710 cm^{-1} . Questa regione è caratteristica per distinguere le diverse fasi cristalline presenti negli alcani a lunga catena [14]. I picchi sono dovuti al rocking dei CH_2 appartenenti alla molecola.

In particolare, se è presente una cella triclina (β_t) o esagonale (α_h), vengono prodotte due singole bande, rispettivamente a 717 e 720 cm^{-1} . Se la struttura è ortorombica β_o la catena idrocarburica presenta un doppio assorbimento di radiazione a 719 e 727 cm^{-1} .

Le due bande nello spettro a 720 e 728 cm^{-1} lasciano concludere la presenza di cella di tipo ortorombico per quanto riguarda le catene idrocarburiche.

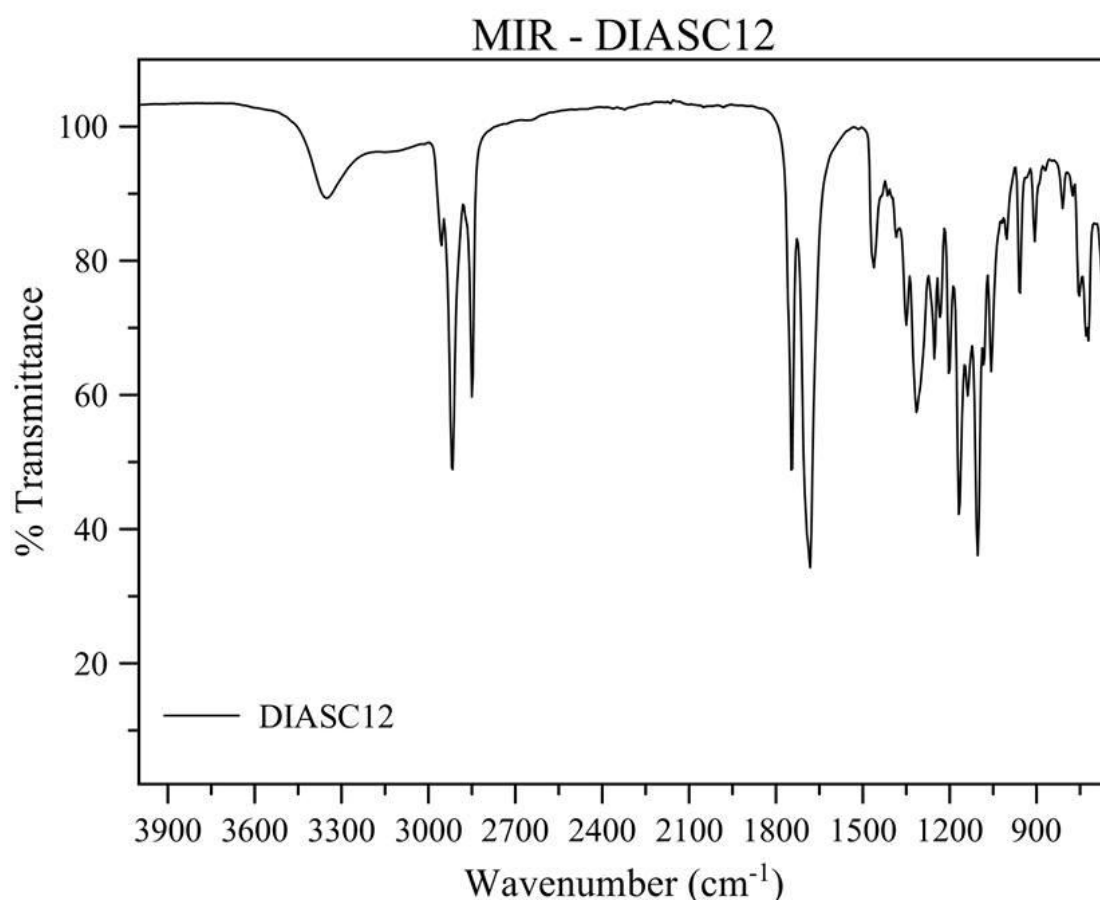


Figura 4.3 Spettro IR del DIASC-12

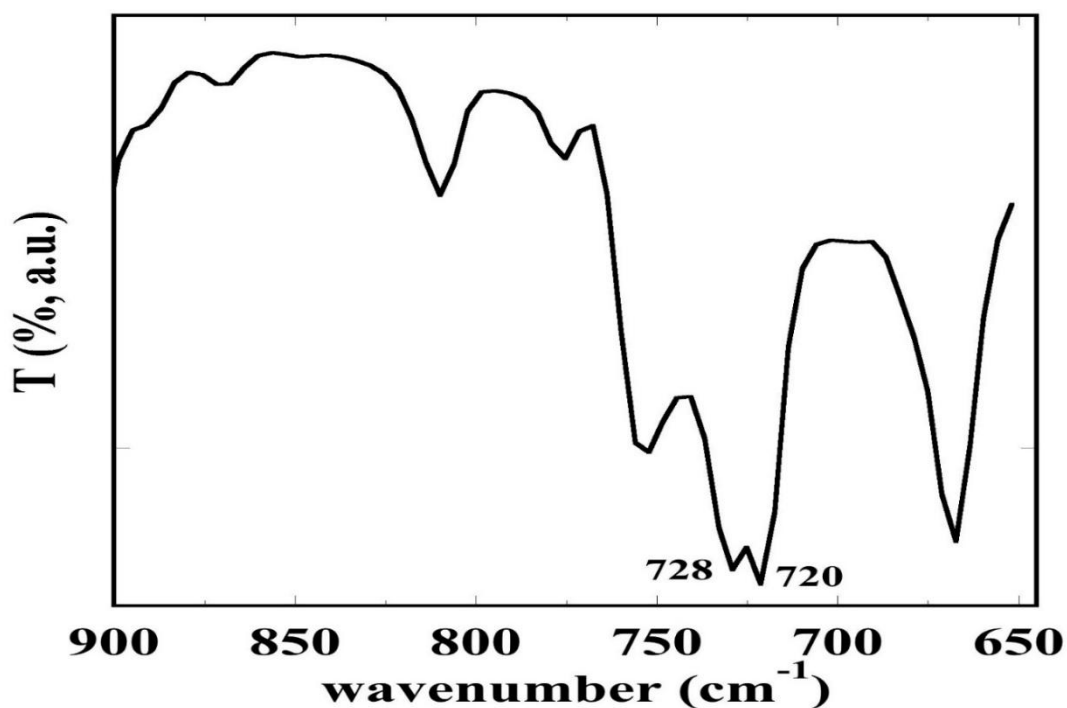


Figura 4.4 Ingrandimento della regione compresa tra 720 e 750 cm⁻¹ per lo spettro IR

4.1.5 WAXS

Gli idrocarburi alifatici a lunga catena mostrano uno spettro WAXS dipendente dal tipo di cella cristallina.

In particolare il picco a 0,42 nm è associato ad una struttura esagonale α_h . La struttura ortorombica presenta in genere due picchi a 0,42 e 0,38 nm e la cella triclina genera tre diffrazioni principali a 0,45 0,38 e 0,36 nm.

Vengono riportati in tabella 4.1 i picchi principali convertiti in d con la formula $q=2\pi/d$.

Lo spettro conferma la presenza di una struttura policristallina in cui è sicuramente presente la cella di tipo ortorombico.

d (Å)	q(Å⁻¹)
4,72	1,33
4,60	1,37
4,45	1,41
4,30	1,46
4,19	1,50
4,03	1,56
3,85	1,63
3,74	1,68

Tabella 4.1

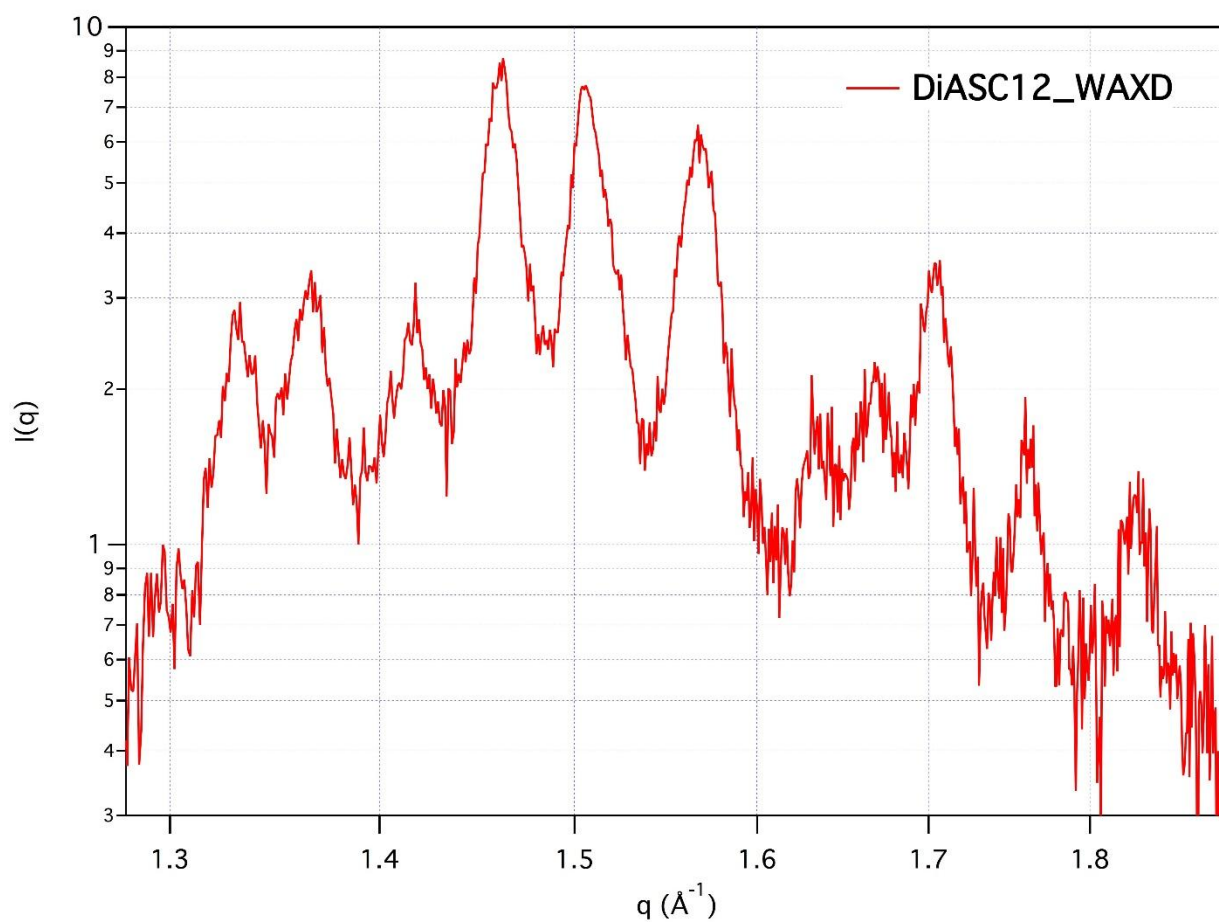


Figura 4-5 Spettro WAXS per DIASC-12

4.2 ORGANOGELE

4.2.1 FORMAZIONE ORGANOGELE

Nella tabella 4.2 sono riportate tutte le prove effettuate con i relativi esiti.

Nell'ultima colonna serve per contrassegnare i solventi e le concentrazioni con cui la molecola forma organogel.

DIASC-12+SOLVENTE	w/w %	FORMAZIONE GEL
Acqua	0,5	
Acqua	1	
Acqua	2	
Acqua	5	
Isottano	1	
Isottano	3	
Ottano	1	
Ottano	3	
Decano	1	
Decano	3	
Cloroformio	3	
Cloroformio	5	
Cloroformio	10	
Cicloesano	0,25	
Cicloesano	1	
Cicloesano	2	x
Cicloesano	3	x
Cicloesano	5	x
Cicloesano	8	x

Cicloesano	15	x
Acqua/Cicloesano	8/1/91	x
Acqua/Cicloesano	5/1/94	x
Acqua/Isottano	5/1/94	x

Tabella 4.2

E' stato constatato che in soluzioni con quantitativi di acqua maggiori rispetto all' 1% in peso, la molecola non formava gel né riusciva a solubilizzarsi in maniera completa, andando a formare un precipitato biancastro sul fondo o una soluzione torbida lattiscente.

Ciò lasciava presumere il forte effetto del carattere idrofobico impartito dalle catene carboniose laterali.

La condizione imprescindibile per la formazione di gel stabili è la completa solubilizzazione del soluto.

E' stato anche importante notare come, a parità di tipo di componenti presenti nella miscela, i gel che contenevano un quantitativo superiore in peso di derivato di acido ascorbico, fossero più stabili dal punto di vista termodinamico e meno suscettibili a minime variazioni di temperatura. Con il gel di composizione 8/1/91 per esempio, è stato difficile effettuare la successiva caratterizzazione.

Il semplice prelievo dalla vial per trasferire il gel nel pan della DSC per esempio provocava la disgregazione del sistema.

Al contrario la misura di DSC sulla concentrazione 15% è risultata più semplice dal punto di vista operativo.

4.2.2 DSC

Per quanto riguarda l'analisi dei gel, sono stati ottenuti i seguenti dati:

-DIASC12 15% in Cicloesano

$$T_{trans}(^{\circ}C)=26,69^{\circ}C$$

$$\Delta H_{trans}=26,06 \text{ J/g}; \quad 95,85 \text{ kJ/mol}_{tens}$$

-DIASC12 8/1/91 in Acqua e Cicloesano

$$T^{\circ}_{trans}=26,13^{\circ}C$$

$$\Delta H_{trans}=25,16 \text{ J/g}; \quad 170,05 \text{ kJ/mol}_{tens}$$

-ANALISI ACQUA LEGATA NEL GEL A COMPOSIZION 8/1/91 (w/w%)

<i>Tipo di transizione</i>	<i>T_{trans}(°C)</i>	<i>ΔH_{trans}(J/g)</i>
<i>Fusione H₂O</i>	0°C	2,021
<i>Fusione Cicloesano</i>	6,37°C	20,22
<i>Formazione Gel</i>	10,76°C	10,07
<i>Transizione Gel → sol</i>	25,54°C	23,29

E' possibile risalire alla quantità di acqua fortemente legata alle teste, sfruttando il valore dell'entalpia di fusione dell'acqua libera intorno a 0°C e la quantità stechiometrica di acqua presente nel campione. Questo calcolo è possibile perché le molecole che formano legami a idrogeno con le teste polari dell'anfifilo non partecipano a processi di fusione-cristallizzazione.

Attraverso semplici calcoli, conoscendo l'entalpia di fusione dell'acqua (333,79 J/g; 6,008 kJ/mol), troviamo che circa il 44% dell'acqua resta legata alle teste e forma quindi forti legami con l'anello lattonico del derivato di acido ascorbico.

Da questo risultato si ricava il rapporto tra molecole di acqua legate e molecola di DIASC-12:

$$n^{\circ}(\text{H}_2\text{O})_b/n^{\circ}(\text{DIASC-12}) \approx 1,6$$

Quindi ogni testa polare di tensioattivo si trova in contatto con un numero di molecole di acqua compreso tra uno e due. Questo può rappresentare un limite quantitativo per ciò che riguarda la quantità di acqua realmente assimilabile dal sistema gel: non essendoci nessun'altra componente polare all'interno del sistema, l'acqua può trovarsi solamente in contatto con la testa del DIASC-12 nello scomparto più interno della struttura inversa.

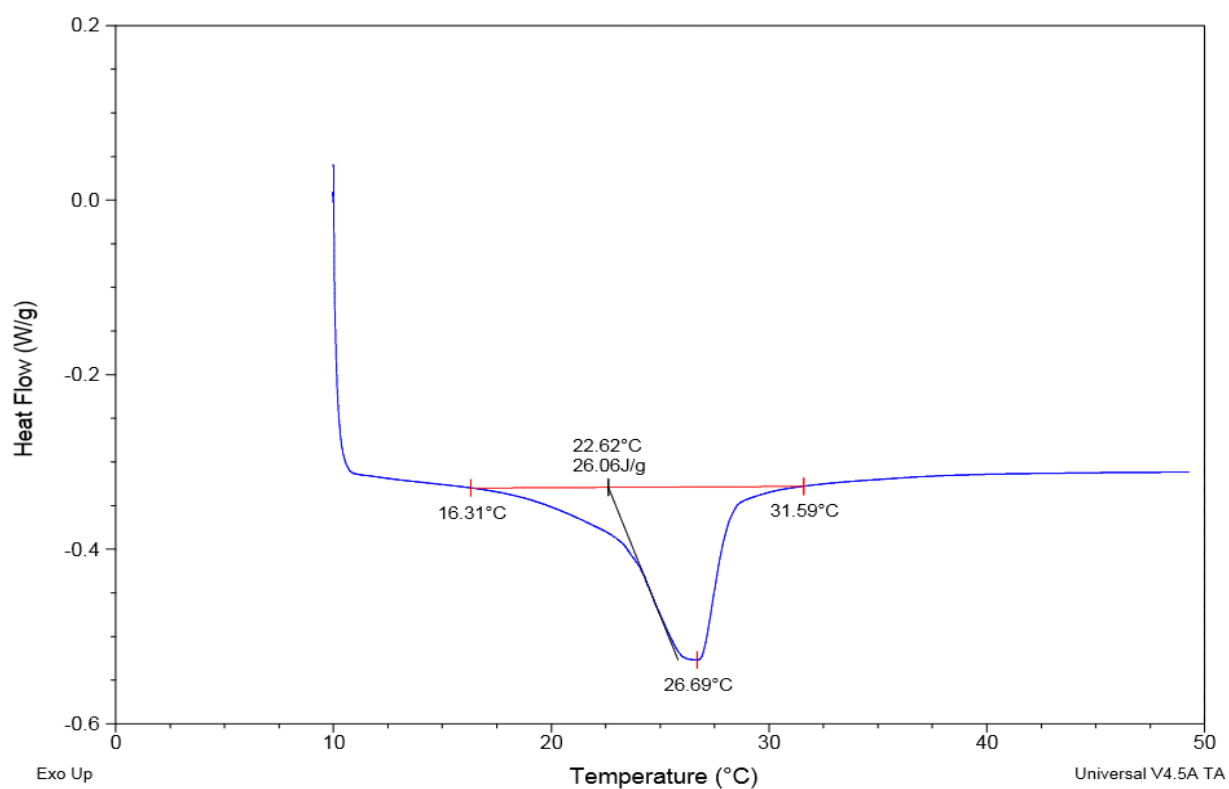


Figura 4.6 Termogramma del gel DIASC-12 al 15%

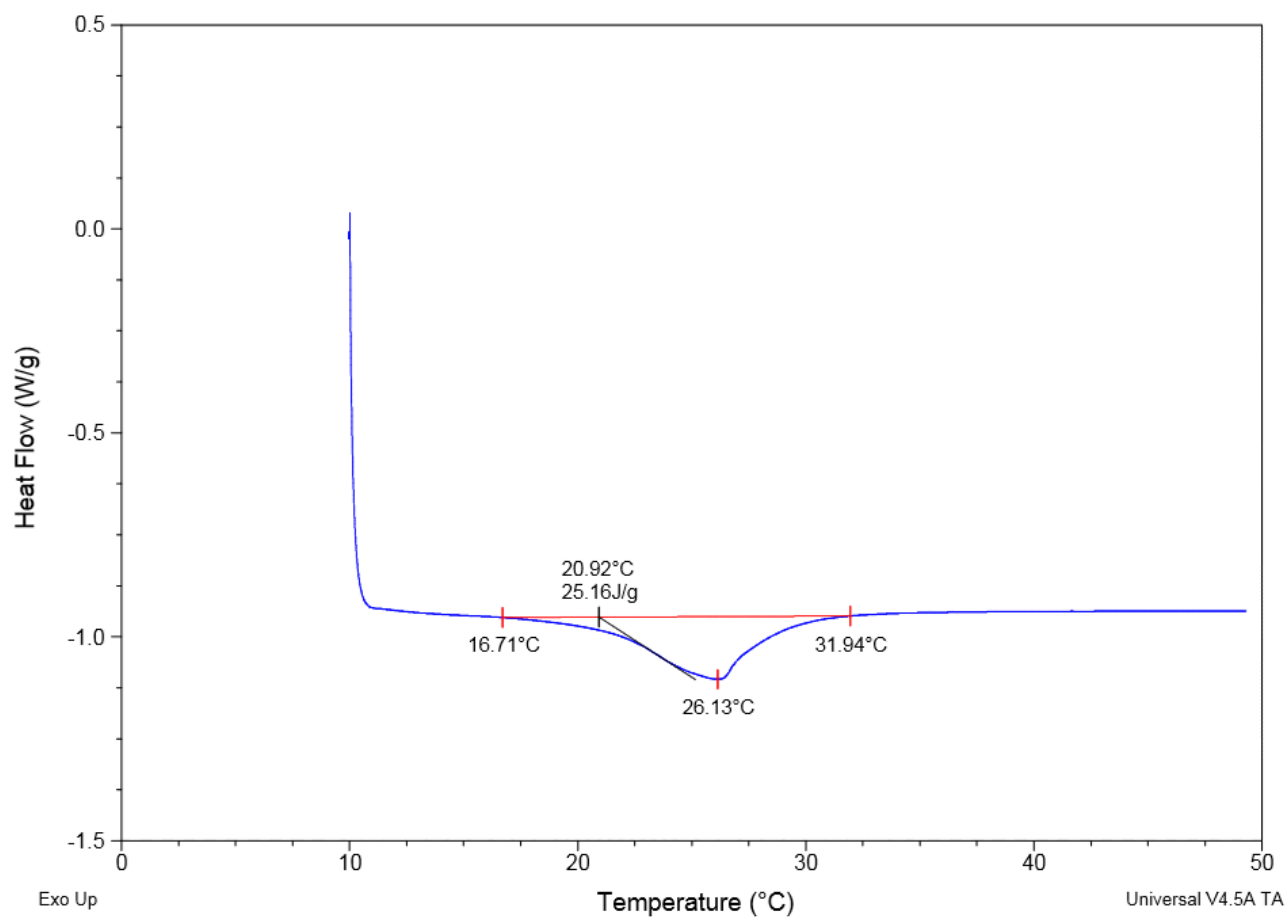


Figura 4.7 Termogramma del gel a composizione 8/1/91

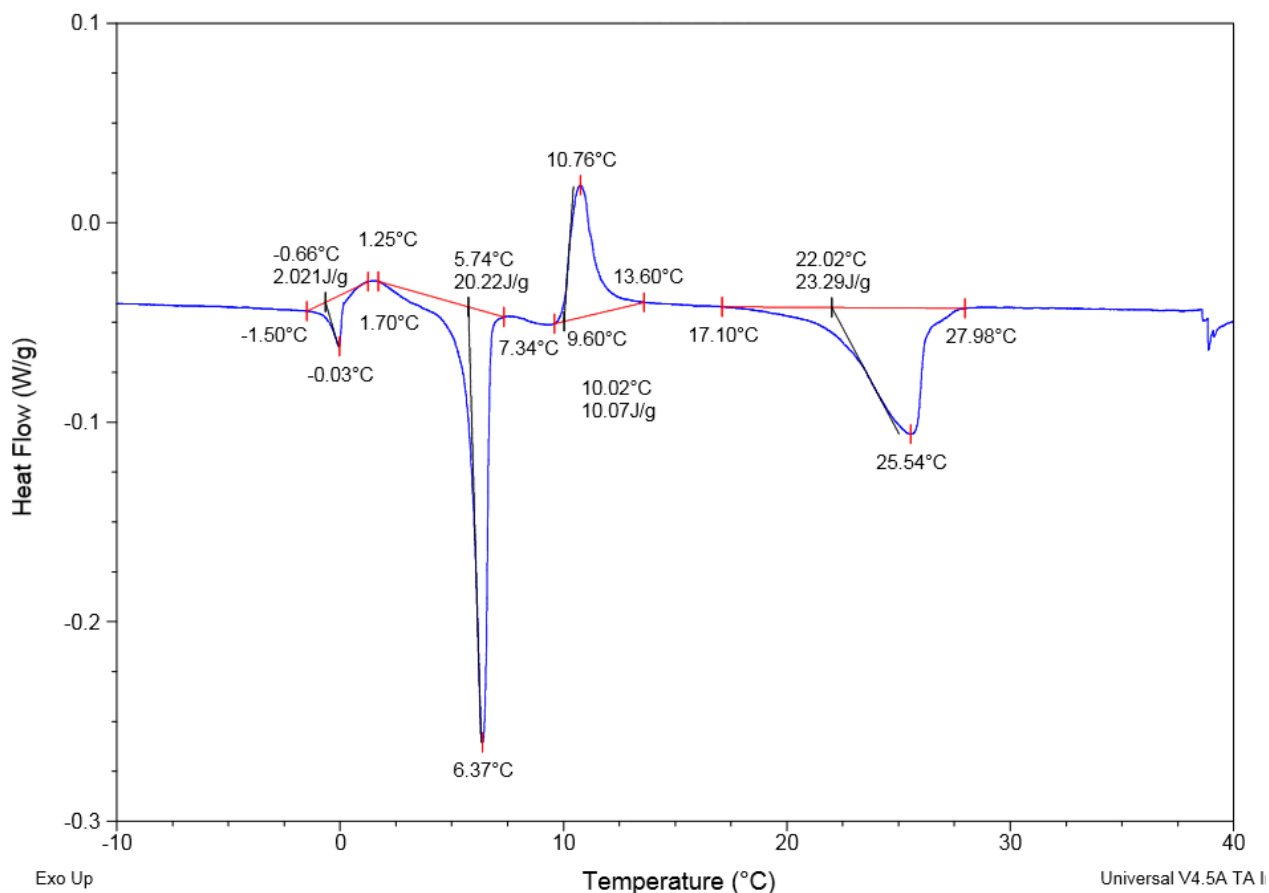


Figura 4.8 Termogramma dell'analisi 'Acqua Legata'

4.2.3 SAXS

DIASC-12 in Cicloesano:

Per quanto riguarda lo studio del DIASC-12 in Cicloesano è importante sottolineare come tutte le misure eseguite alla temperatura di 35°C e a concentrazioni inferiori al 2% siano state fatte su sistemi in soluzione; le altre su organogel.

Quindi, attraverso i primi, è stato possibile studiare gli aggregati supramolecolari che per self-assembly venivano generati in soluzione; i quali, in seguito a abbassamento della temperatura, gelificavano.

In soluzione il DIASC-12 si organizza in micelle sferiche inverse con raggio di circa 10 Å. Il raggio è più o meno equivalente alla lunghezza della testa polare. Essendo infatti il solvente cicloesano, esso avrà SLD (scattering length density) uguale alle code idrofobiche, le quali non vengono 'viste' dalla sonda.

Per fittare la curva è stato usato un modello che prevede la presenza di sfere polidisperse con una distribuzione dei raggi descritta dalla funzione di Schulz.

La funzione utilizzata per il fitting è la seguente:

$$I(q) = \left(\frac{4\pi}{3}\right)^2 N_o \Delta\rho^2 \int_0^\infty f(R) R^6 F^2(qR) dR$$

dove $f(R)$ rappresenta la distribuzione di Schulz normalizzata e $F(qR)$ la funzione di scattering per oggetti di forma sferica.

$$F(qR) = \frac{3[\sin(qR) - (qR) \cos(qR)]}{(qR)^2}$$

I dati ottenuti mostrano che alla concentrazione 0,25 %(w/w) è già superiore alla CMC o comunque a una concentrazione critica di aggregazione; si può notare come la forma della curva sia simile anche per concentrazioni maggiori. L'intensità di scattering aumenta proporzionalmente con la concentrazione a causa alla presenza di più oggetti scatteranti.

Si noti che per le concentrazioni 8% e 15% non sia stato possibile fittare i dati con il modello delle micelle sferiche. A tale concentrazione comincia a sussistere infatti una certa interazione tra le strutture in soluzione, generanti profili di $I(q)$ che parzialmente si dissociano da quelli a diluizione superiore. Sarebbe pertanto necessario introdurre nel fitting un potenziale di interazione fra aggregati. Al momento, l'uso dei vari modelli che tengono conto dell'interazione degli scatteranti implementati in Igor Pro non ha dato risultati soddisfacenti.

Un risultato significativo è fornito dalla decrescente polidispersità all'aumentare della concentrazione.

Sono riportate le curve ottenute e i valori dei parametri che ottimizzano la funzione di prova.

C (w/w%) e T (°C)	0.25% 15°C	2% 35°C	5% 35°C
mean radius (Å)	7.1	10.0	10.6
polydisp (sig/avg)	0.36	0.15	0.08
SLD sphere (Å ⁻²)	1.5e-05	1.5e-05	1.5e-05
SLD solvent (Å ⁻²)	7.5e-06	7.5e-06	7.5e-06

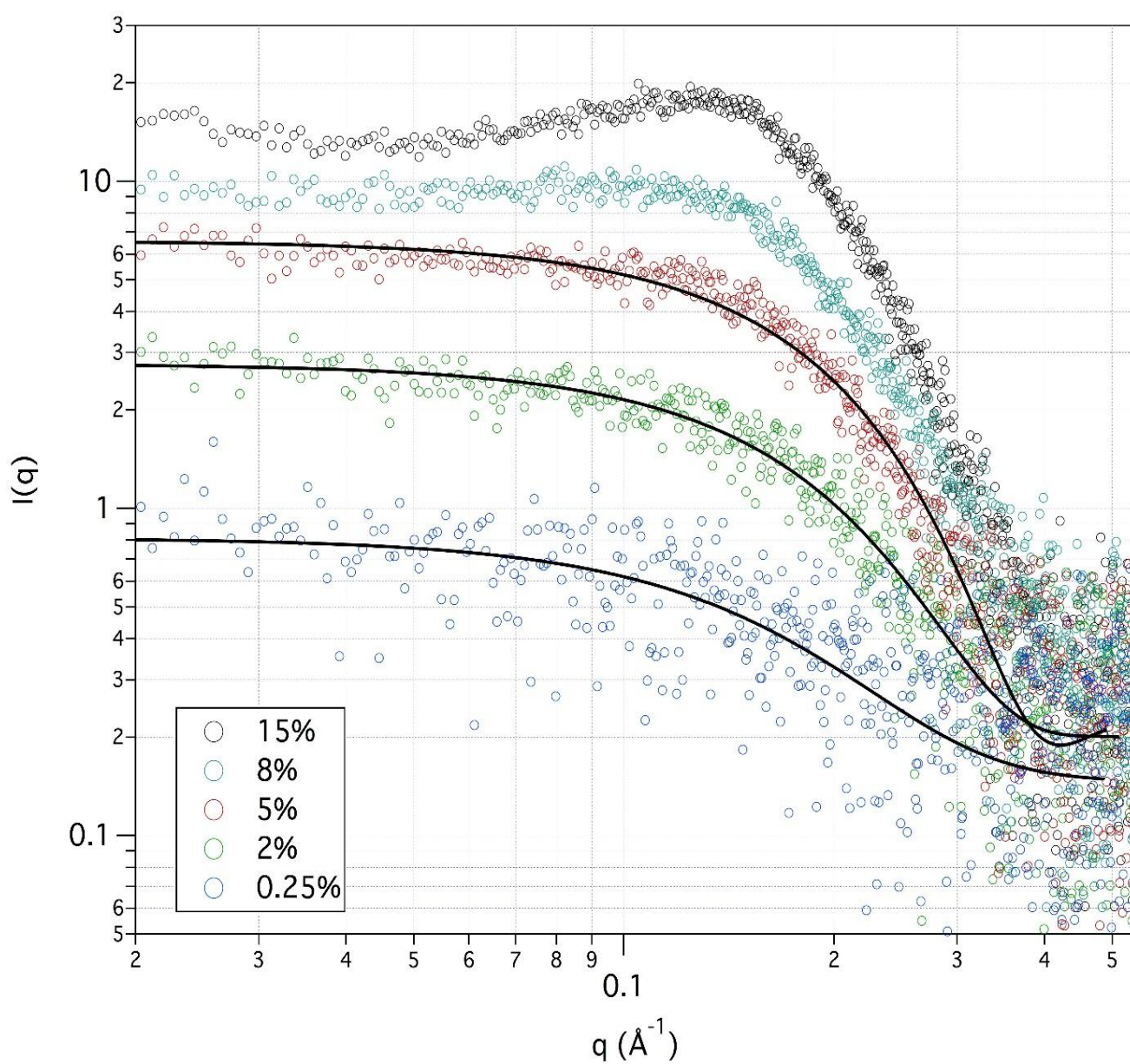


Figura 4.9 Curve ottenute per sistemi in soluzione a concentrazioni crescenti

ORGANOGELE:

Allo stato di gel il sistema si aggrega in modo da generare dischi di raggio circa $70\text{\AA}$ con struttura lamellare.

Il fitting consente di estrarre altri parametri strutturali quali spessore del core che comprende le teste polari (core thickness), lo spessore delle catene in contatto con il cicloesano (layer thickness) e il numero di dischi che si impilano a formare il blocco disperso nel solvente.

Il sistema può essere immaginato come composto in media da blocchi di 3 dischi impilati dispersi in solvente organico.

Le curve sperimentali sono state fittate con una funzione data dalla somma di tre contributi.

Alla funzione modello definita 'Stacked Disc' è stata quindi sommata la funzione 'Gaussian Peak' e la funzione 'Power Law'. L'accorgimento è stato utile in quanto risultava difficile riuscire a trovare un profilo strutturale che si adattasse alla discesa della curva a bassi q e al picco a circa $0,17\text{ \AA}^{-1}$.

Questi ultimi due contributi sono, con molta probabilità, dovuti a parte di solido che non è stato perfettamente solvatato dal cicloesano per ciò che concerne le catene più interne. Infatti tale picco lo ritroviamo anche nello spettro del solido agli stessi valori di q .

I cicli di riscaldamento/raffreddamento fatti sui gel al 15% e al 5% hanno mostrato innanzitutto come il gel sia un sistema altamente reversibile. Si genera infatti lo stesso profilo di intensità e i parametri strutturali calcolati sono pressoché identici per i gel con medesima concentrazione.

Inoltre si nota come in seguito alla seconda analisi a 15°C il picco tende ad allargarsi e si presenta con intensità leggermente minore. Questo è sinonimo del fatto che cicli di riscaldamento e raffreddamento permettono al cicloesano di solvare maggiormente le catene dell'anfilo non perfettamente disciolte e gelificate, il quale riesce a inglobare quindi al suo interno una quantità maggiore di solvente.

All'interno della funzione 'Power Law' è presente l'esponente di Porod (p).

Per questo è stato ottenuto un valore di circa '2' che descrive geometrie estese planari degli oggetti scatteranti presenti nel sistema [15]. In particolare in questo caso, dato che l'esponente si riferisce alla porzione non completamente disciolta e solvatata, è quindi possibile immaginare che il DIASC-12 si organizzi in dischi planari in cui la parte interna non entra pienamente in contatto con il cicloesano.

Vengono riportate le 3 funzioni usate (nell'ordine Stacked Disc, Gaussian Peak, Power Law); la somma delle tre genera la funzione modello utilizzata:

$$I(q) = N \int_0^{\frac{\pi}{2}} [\Delta\rho_l(V_t f_t(q) - V_c f_c(q)) + \Delta\rho_c V_c f_c(q)]^2 S(q) \sin\varphi d\varphi + bkg$$

$$I(q) = I_0 \exp \left[-1/2 \{(q - q_0)/B\}^2 \right] + BGD$$

$$I(q) = A + \frac{B}{q^p}$$

Nella tabella sottostante sono riportati i parametri strutturali ottenuti.

Parametri strutturali	2%	5%	5% back	15%	15% back
Raggio del disco (Å)	75,7	63,4	66,2	75,2	68,3
Core Thickness (Å)	18,6	17,7	15,7	17,7	18,2
Layer Thickness (Å)	9,3	11,3	11,7	9,3	11,1
Core SLD (Å⁻²)	1.5e-05	1.5e-05	1.5e-05	1.5e-05	1.5e-05
Layer SLD (Å⁻²)	7e-06	7e-06	7e-06	7e-06	7e-06
Solvente SLD (Å⁻²)	7,5e-06	7,5e-06	7,5e-06	7,5e-06	7,5e-06
# of Stacking	2,4	3,7	3,5	2,5	3,5
Esponente di Porod	2,1	2	2,2	2,2	2,3

E' stato possibile risalire allo spessore del core (s_h) e della porzione idrofobica (s_l) della lamella, rispettivamente di circa 17 e 10 Å per tutte le concentrazioni.

Poiché la 'layer thickness' misura circa 10 Å è possibile presumere che ci sia una apertura a forbice della porzione idrofobica, favorita dalla penetrazione del cicloesano, che aiuta l'interdigitazione delle catene carboniose. Infatti la singola catena misura 15,4 Å secondo i calcoli di Tanford.

E' possibile fornire una grossolana stima con l'ausilio della geometria, dell'angolo di tilting o inclinazione delle catene (θ). Una rappresentazione viene data in figura 4.10.

L'angolo θ infatti può avere un valore che varia a seconda del grado di interdigitazione. E' possibile stimare quindi due casi limite: uno costituito da un sistema completamente interdigitato, ed uno che non presenta sovrapposizione delle catene. Nell'ultimo caso ovviamente le catene saranno ancora più aperte rispetto al precedente (ovvero presenteranno un θ minore).

Sono riportati i valori dell'angolo, denominati θ_1 e θ_2 rispettivamente:

$$\theta_1 = \arcsin\left(\frac{s_h}{l_h}\right) \cong 40^\circ$$

$$\theta_2 = \arcsin\left(\frac{s_h}{2l_h}\right) \cong 19^\circ$$

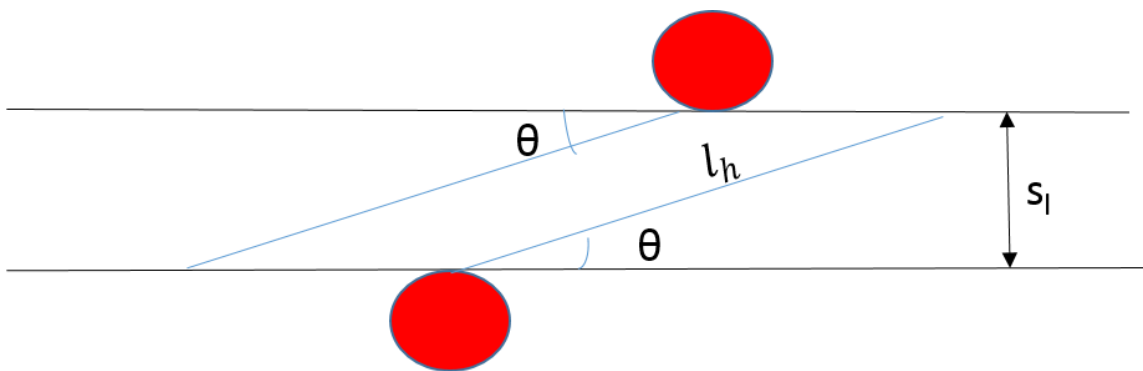


Figura 4.10 Rappresentazione dell'angolo di tilting della catena per il sistema totalmente interdigitato

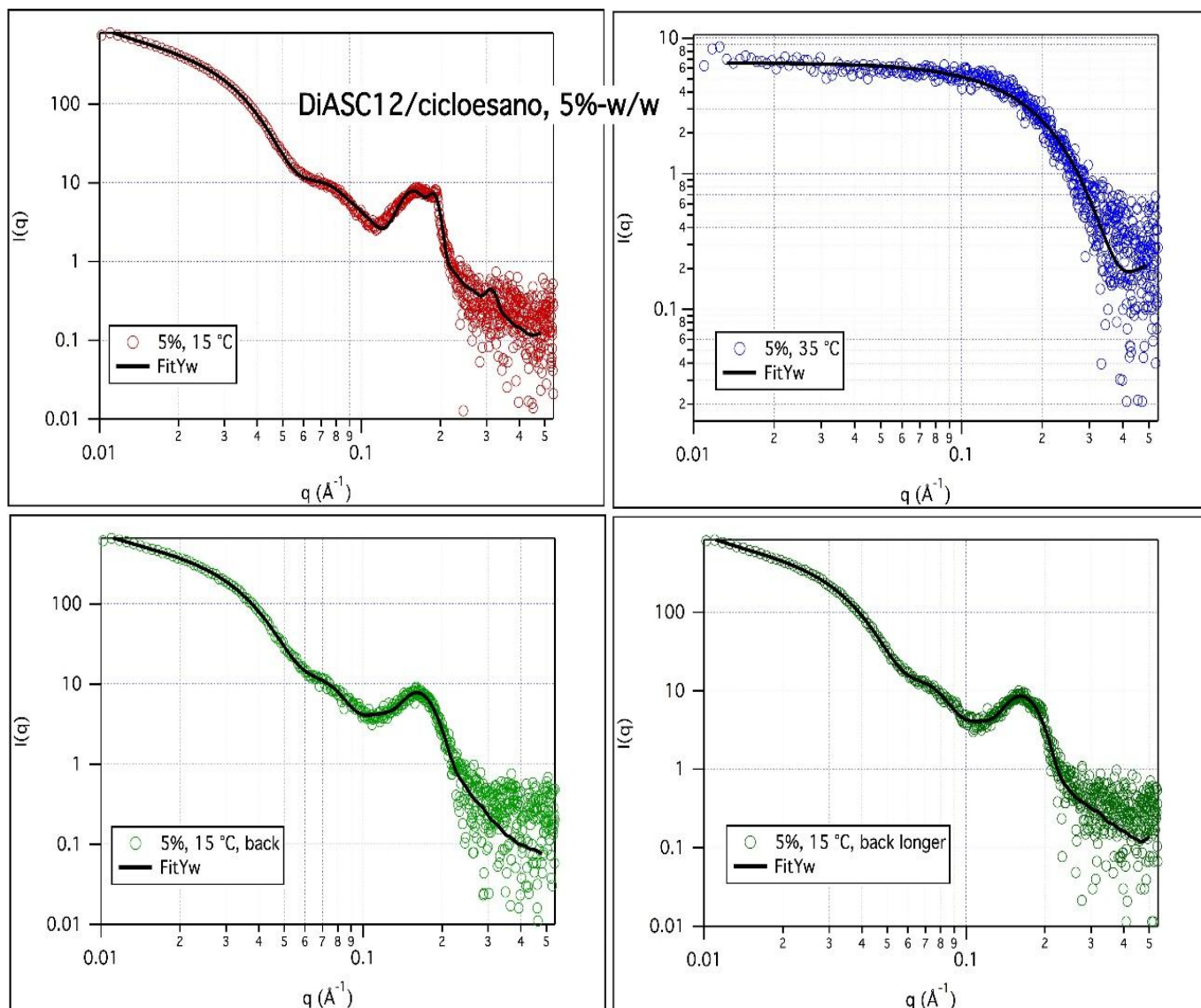


Figura 4.10 Curve SAXS per sistemi al 5%

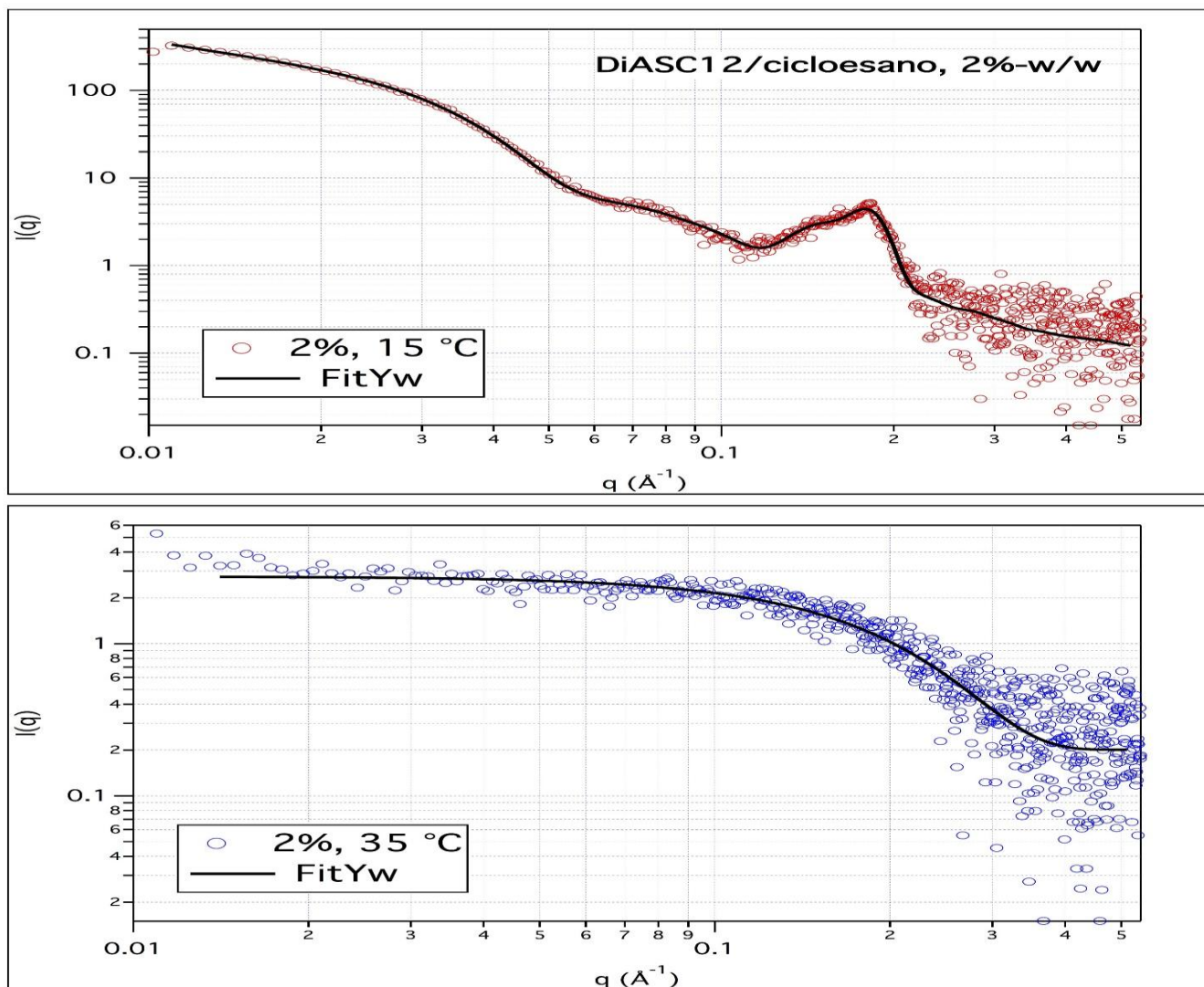


Figura 4-11 Curve SAXS per il sistema al 2%

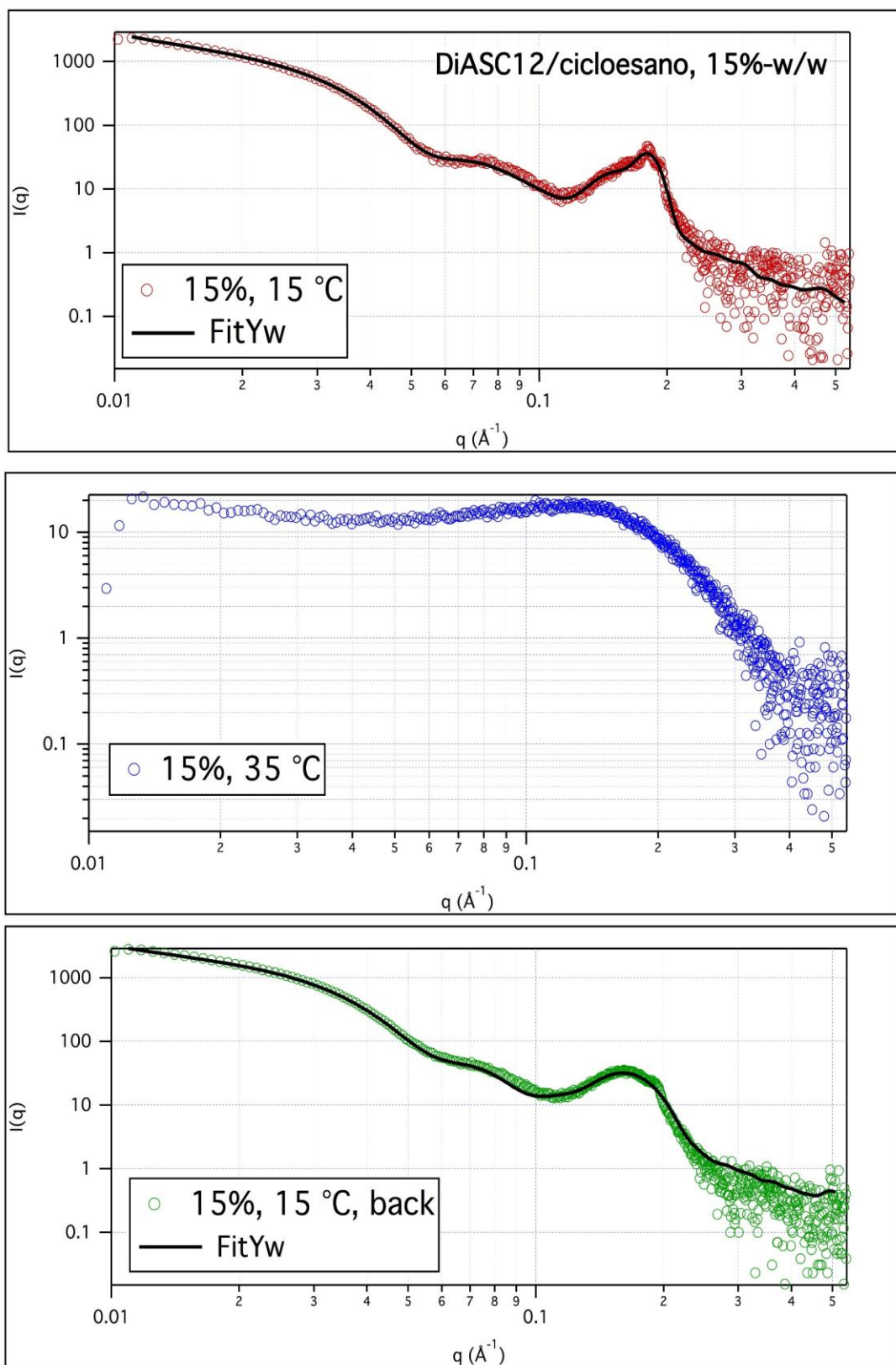


Figura 4.12 Curve SAXS per organogel all 15 %

5 CONCLUSIONI

Nel corso di questo lavoro di tesi è stato studiato il Self-Assembly in soluzione e la caratterizzazione chimico-fisica di un nuovo derivato anfifilico di acido ascorbico, chiamato DIASC-12.

Studi di DSC sullo stato solido, hanno permesso di concludere la temperatura di fusione si attesta a 45,5 °C.

Nuove misure di DSC-modulata dovrebbero essere eseguite per certificare la presenza di un probabile processo di cristallizzazione parziale della componente amorfa.

Analisi di FT-IR e WAXS hanno confermato vicendevolmente la presenza di una cella di tipo ortorombica per quanto riguarda la disposizione delle catene carboniose.

Il SAXS ha invece rivelato che il derivato, allo stato solido, si organizza con struttura di tipo lamellare, in cui le code del sistema anfifilico si interdigitano all'incirca per il 60%.

La molecola DIASC-12 riscontra particolare affinità con il Cicloesano nel generare strutture supramolecolari tramite Self-Assembly.

Grazie a misure di SAXS è stato osservato come vengano generate micelle inverse in soluzione organica.

Il risultato conferma le previsioni del calcolo sul parametro di impaccamento (p).

Attraverso cicli di riscaldamento-raffreddamento su soluzioni contenenti percentuali in peso di DIASC-12 superiori al 2%, si ottiene organogel. Anche piccole quantità di acqua (circa 1% in peso) possono essere inserite e inglobate tra le teste del soluto senza alterare il processo di gelazione.

La temperatura di transizione gel-sol per gel al 15% (DIASC-12/Cicloesano) e all'8% contenenti l'1% acqua è di circa 26°C. Attraverso analisi di DSC con rampa di temperatura partente da -60°C, è stato possibile valutare la quantità di acqua realmente assimilabile dal sistema gel. Infatti solamente un numero di molecole compreso tra uno e due è fortemente legata alla porzione polare della molecola anfifilica.

Il gel si organizza in dischi con struttura lamellare di circa 70 Å. Lo spessore della porzione polare e apolare è rispettivamente di circa 17 e 10 Å.

Le curve SAXS hanno permesso di concludere la presenza per tutte le concentrazioni analizzate (dal 2% al 15%) una certa quantità di DIASC-12 non completamente gelificato. Si reputa che la porzione più interna di tale aggregato non venga perfettamente solvatata dal cicloesano.

In futuro può essere utile studiare la miscibilità dei vari tensioattivi a doppia catena derivati dell'acido L-ascorbico, le proprietà di idratazione relativa a tali molecole e avere un'idea delle forze inter-intramolecolari che entrano in gioco tra i derivati nel momento in cui si va a esterificare l'-OH in posizione 5.

6 BIBLIOGRAFIA

[1] Lo Nostro, P.; Capuzzi, G.; Romani, A.; Mulinacci, N.; *Langmuir* **2000**, *16*, 1744

[2] Lo Nostro, P.; Ramsch, R.; Fratini, E.; Lagi, M.; Ridi, F.; Carretti, E.; Ambrosi, M.; Niham, B.Ş; Baglioni, P.; *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 11714

[3] McMurry, J.; *Chimica Organica*, 8°ed, PICCIN

[4] Davies, M.; Austin, J.; Partridge, D.; *VITAMIN C: Its Chemistry and Biochemistry*, Royal Society of Chemistry

[5] www.wikipedia.it

[6] Lu, J.; Lin, P.; Yao, Q.; Chen, C.; *J.Cell Mol Med.*; **2010**, *14*(4), 840

[7] Farn, R.; *Chemistry and Technology of Surfactants*, Blackwell Publishing

[8] Nigar, K.; Sangramsinh, L.; Veerendra, C; *IJPCBS*; **2014**, *4*(3), 758-773

[9] 'Synthesis of a new Vitamin-C-Derivate and its Characterisation', Rowland Ramsch

- [10] LoNostro, P.; Capuzzi, G.; Pinelli, P.; Mulinacci, N.; *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2000**, 167, 83–93
- [11] Palma, S.; Hilario, R.; Allemandi, D.; Fratoni, L.; Lo Nostro, P.; *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2003**, 2012, 163-173
- [12] Lo Nostro, P.; Ramsch, R.; Fratini, E.; Lagi, M.; Ridi, F.; Carretti, E.; Ambrosi, M.; Ninham, M.; Baglioni, P.; *J. Phys. Chem. B*, **2007**, 111, 11714-11721
- [13] Blanton TN; Rajeswaran M; Stephens PW; Whitcomb DR; Misture ST; Kaduk JA; *POWDER DIFFRACTION*, **2011**, 26, 313-320
- [14] Venturini, C; Pomposi, C.; Ambrosi, M.; Carretti, E.; Fratini, E.; Lo Nostro, P.; *J. Phys. Chem*, **2014**, 118, 3053-3062
- [15] Hammouda, B. *Probing Nanoscale Structures – The SANS Toolbox*
<http://www.ncnr.nist.gov/staff/hammouda/the_SANS_toolbox.pdf>