

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE  
ORIENTALE AMEDEO AVOGADRO



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

TESI DI LAUREA

---

**Analisi strutturale mediante  
diffrazione di raggi X da polveri di  
co-cristalli basati su building block  
idrossilati**

---

*Relatore:*  
Prof. Marco Milanese

*Correlatore:*

Dott. Mattia Lopresti

*Candidata:*

Alessia Dura

*Tesi per Laurea Magistrale in Scienze Chimiche*

*Anno Accademico 2023/2024*

Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE AMEDEO  
AVOGADRO

## *Sommario*

Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica

Laurea Magistrale

### **"Analisi strutturale mediante diffrazione di raggi X da polveri di co-cristalli basati su building block idrossilati"**

Alessia Dura

I co-cristalli, ovvero cristalli formati da due o più componenti (detti anche coformer), rivestono un'importanza notevole grazie alla possibilità di ottenere effetti combinati e caratteristiche migliori rispetto alla semplice somma dei componenti e di varierne le proprietà a livello chimico-fisico e/o biologico. In questo lavoro di tesi si è sviluppata la preparazione e effettuata la caratterizzazione di cocristalli preparati a partire da molecole "building block" idrossilate. Nello specifico, sono stati preparati campioni a due componenti con l'obiettivo di ottenere co-cristalli a base di quercetina e di acido trimesico, ciascuno combinato con 18 coformer, selezionati in base alla compatibilità chimica, mediante cristallizzazione per evaporazione del solvente, cristallizzazione per raffreddamento e tecnica LAG (Liquid Assisted Grinding). Queste tecniche sono state selezionate in quanto adatte ad uno screening efficace in caso si debbano preparare molti campioni per selezionare i casi in cui si formano prodotti con alte rese e adeguata purezza. La quercetina è un flavonoide con proprietà antiossidanti e antinfiammatorie, l'acido trimesico l'acido trimesico ha vari usi tra cui è rilevante quello di veicolante di farmaci. L'ottenimento di co-cristalli e la loro caratterizzazione strutturale può guidare la ricerca verso formulazioni con prestazioni migliori rispetto ai componenti puri.

Sono stati preparati circa 150 campioni, in seguito analizzati mediante diffrazione da raggi X da polveri e spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR). La prima tecnica fornisce informazioni dettagliate sull'effettiva formazione di un prodotto e resa di conversione, mentre la seconda fornisce informazioni sulla composizione chimica e le interazioni molecolari. Il miglior risultato, in termini di resa e purezza, si è ottenuto con il campione di acido trimesico-urea in rapporto 1:3, per il quale è stata, in seguito, risolta la struttura, non disponibile in letteratura, attraverso il metodo del simulated annealing. La struttura (monoclina P21/c) presenta un impacchettamento guidato da legami ad H, affacciamenti degli anelli aromatici e dai gruppi amminici delle molecole di urea perpendicolari ai piani con le molecole dell'unità asimmetrica.

# Indice

<b>Sommario</b>	<b>i</b>
<b>1 Stato dell'arte</b>	<b>1</b>
1.1 La cristallizzazione . . . . .	1
1.2 Risoluzione strutturale . . . . .	2
1.3 Molecole building block e coformer . . . . .	3
<b>2 Metodologia e strumentazione</b>	<b>5</b>
2.1 Metodi di cristallizzazione usati . . . . .	5
2.1.1 Cristallizzazione per evaporazione del solvente . . . . .	5
2.1.2 Cristallizzazione per raffreddamento . . . . .	6
2.1.3 Cristallizzazione con tecnica LAG . . . . .	6
2.2 Diffrazione da raggi X . . . . .	6
2.3 Risoluzione strutturale . . . . .	8
2.4 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier . . . . .	9
<b>3 Condizioni sperimentali per la preparazione dei co-cristalli</b>	<b>10</b>
3.1 Campioni di quercetina . . . . .	10
3.2 Campioni di acido trimesico . . . . .	13
<b>4 Analisi e selezione dei campioni</b>	<b>15</b>
4.1 Campioni di quercetina . . . . .	15
4.2 Campioni di acido trimesico . . . . .	21
4.2.1 Acido trimesico-CTAB . . . . .	25
4.2.2 Acido trimesico-urea . . . . .	29
4.3 Preparazione di un campione puro acido trimesico-urea 1:3 . . . . .	31
<b>5 Risoluzione strutturale del co-cristallo acido trimesico-urea</b>	<b>37</b>
<b>6 Conclusioni</b>	<b>41</b>
<b>A Acido tiaprofenico</b>	<b>43</b>
<b>Ringraziamenti</b>	<b>47</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>51</b>

# Capitolo 1

## Stato dell'arte

### 1.1 La cristallizzazione

La cristallizzazione è il processo nel quale avviene la formazione di cristalli, ovvero una disposizione ordinata a lungo raggio allo stato solido di atomi e molecole nello spazio tridimensionale. La cristallizzazione può avvenire a partire da sostanze in stato gassoso, liquido o solido. Questo processo è molto sensibile alle condizioni ambientali quali temperatura, concentrazione e tipologia di superficie del recipiente in cui avviene.

Un'applicazione molto importante della cristallizzazione avviene per la formazione dei co-cristalli, ovvero cristalli con due o più componenti. La possibilità di formare co-cristalli permette di migliorare alcune proprietà tra cui stabilità, solubilità e se usate in ambito medico anche la biodisponibilità. Ad esempio, l'uso in ambito farmacologico di co-cristalli permetterebbe un controllo sulla dose fornita al paziente e la possibilità di ottenere benefici addizionali. Infatti, un co-cristallo ha spesso proprietà migliori della semplice somma delle proprietà dei componenti separati.

Esistono diverse tecniche e processi di cristallizzazione, molti dei quali sono riassunti in letteratura scientifica, come ad esempio nel lavoro di Kumar Bandaru et al. (2021). Qui di seguito sono riportati alcuni esempi per quanto riguarda la formazione di co-cristalli:

- cristallizzazione per evaporazione del solvente: i reagenti vengono disciolti in un'unica soluzione con i giusti rapporti stechiometrici e lasciati ad evaporare;
- cristallizzazione con antisolvente: si aggiunge alla soluzione dei reagenti un solvente in cui il prodotto è meno solubile favorendone la precipitazione, successivamente si filtra il solido;
- cristallizzazione per macinazione in stato solido: vengono macinati i reagenti allo stato solido senza l'aggiunta di alcun solvente;
- cristallizzazione per macinazione in presenza di una minima quantità di liquido (LAG, Liquid Assisted Grinding): vengono macinati i reagenti allo stato solido con l'aggiunta di una piccola quantità di solvente,

quest'ultimo facilita la reazione creando un'interfaccia liquido/solido sulla superficie dei reagenti per la formazione del prodotto di cui, solitamente, non ne farà parte;

- cristallizzazione per slurry: si scioglie uno dei reagenti nel solvente di cristallizzazione, alla soluzione si aggiunge il coformer, ovvero il secondo reagente che andrà a formare il co-cristallo. Il coformer deve essere insolubile nel solvente per poter ottenere una sospensione. La sospensione viene poi agitata, filtrata e asciugata;
- cristallizzazione per raffreddamento: la soluzione dei reagenti viene riscaldata in agitazione, raffreddata in un bagno freddo a temperatura variabile a seconda dei casi ed infine filtrata per recuperare il prodotto;
- cristallizzazione con sonicazione: la presenza di bolle dovute agli ultrasuoni svolgono un effetto di cavitazione e fanno precipitare i cristalli di prodotto;
- cristallizzazione con fluidi supercritici: viene utilizzata la CO<sub>2</sub> come solvente senza aggiungerne uno organico, controllando temperatura e pressione. Questo metodo è utilizzato per formare prodotti che non cristallizzano utilizzando i solventi tradizionali con i metodi qui sopra riportati.

In questo lavoro sono state utilizzate per preparare i campioni la cristallizzazione per evaporazione del solvente, cristallizzazione per raffreddamento e tecnica LAG (Liquid Assisted Grinding), tecniche spiegate più dettagliatamente nel capitolo 2.

## 1.2 Risoluzione strutturale

Dopo aver cristallizzato con successo un composto ed essere riusciti ad ottenere un prodotto puro, si passa alla fase di risoluzione strutturale da raggi X da cristallo singolo o da polveri a seconda del campione in esame. Come suggeriscono i nomi, la risoluzione strutturale può essere effettuata a partire da due tipi diversi di dati. Per la raccolta di dati da cristallo singolo è necessario avere cristalli di almeno 40-50  $\mu\text{m}$ . In questo lavoro non sono stati ottenuti cristalli singoli, di conseguenza si è dovuto procedere con la risoluzione da dati di polveri. La differenza tra risolvere da cristallo singolo o da polveri è che nel primo caso si ottiene direttamente un'informazione sulla disposizione degli atomi all'interno dell'unità ripetente (cella unitaria) del cristallo, mentre nel secondo caso avendo dei policristalli orientati casualmente nello spazio non si ottengono informazioni dirette sulla posizione atomica, ma bisogna determinarle in maniera indiretta.

Con risoluzione strutturale si indica il processo in cui, attraverso l'aiuto di software, si effettua l'indicizzazione dei riflessi del pattern di diffrazione del composto, l'individuazione delle dimensioni della cella elementare e infine

la disposizione tridimensionale degli atomi e molecole nella cella. Come risultato si ottengono le dimensioni della cella in termini di lati ( $a, b, c$ ) e angoli ( $\alpha, \beta, \gamma$ ), il gruppo spaziale, gli operatori di simmetria, il volume della cella, il contenuto della cella (numero e tipo di atomi) e il volume occupato per atomo. La risoluzione da polveri è decisamente più complessa e con un grado di successo molto minore rispetto al cristallo singolo.

Nel capitolo 4 sono spiegati più approfonditamente i passaggi svolti per la risoluzione strutturale utilizzati nella tesi.

### 1.3 Molecole building block e cofomer

I flavonoidi sono un' ampia classe di composti naturali presenti nelle piante noti per le loro proprietà antiossidanti. Si trovano in numerosi alimenti, come frutta, verdura, tè, vino rosso e cacao. Nelle piante, i flavonoidi svolgono un ruolo fondamentale nella protezione contro stress ambientali, come l'esposizione ai raggi UV e le infezioni da agenti patogeni.

Tra le molecole flavonoidi è stato selezionato il 3,3',4',5,7-penta idrossiflavone, la quercetina  $C_{15}H_{10}O_7$ , (Jaisinghani, 2017), nota per la sua potente azione antiossidante che permette di neutralizzare i radicali liberi e ridurre lo stress ossidativo. Presenta anche proprietà antinfiammatorie, antiallergiche, antivirali e si suppone anche antitumorali.

La quercetina può anche supportare il sistema immunitario, favorendo la produzione e l'attivazione delle cellule immunitarie, e contribuendo a una risposta immunitaria più robusta contro infezioni e malattie. Per queste ragioni, è frequentemente utilizzata come integratore alimentare e si trova in vari prodotti naturali.

La quercetina è solubile in solventi polari come etanolo e metanolo, mentre la sua solubilità in acqua è limitata, la presenza di gruppi idrossilici conferisce alla quercetina una certa reattività chimica, permettendo la formazione di legami idrogeno e interazioni con altre molecole.

Tra le molecole utilizzabili come building block vi sono anche molecole precursori di strutture rigide come l'acido trimesico  $C_9H_6O_6$  che è un composto organico, un tricarbossilato aromatico, caratterizzato dalla presenza di tre gruppi carbossilici (-COOH) legati a un anello benzenico in posizione 1, 3 e 5. L'acido trimesico è solubile in solventi polari come acqua, metanolo ed etanolo, mentre risulta insolubile in solventi apolari. Inoltre, presenta una buona stabilità termica, il che lo rende adatto per applicazioni che richiedono resistenza a temperature elevate. Grazie alla presenza di gruppi funzionali reattivi, può partecipare a diverse reazioni chimiche, utilizzato per la sintesi di altri composti.

Uno degli usi principali dell'acido trimesico è nella sintesi dei MOF (Metal-Organic Framework, Moorthy et al., 2023). Questi materiali porosi sono poi impiegati per l'immagazzinamento di gas, la separazione di sostanze chimiche e la catalisi. La rigidità della sua struttura consente la formazione di reticoli ordinati e altamente porosi, rendendolo un precursore fondamentale per la produzione di questo tipo di materiali.

L'acido trimesico è inoltre impiegato nella produzione di resine e polimeri,

4-metilcatecolo	acido acetilsalicilico
acido citrico	acido L-ascorbico
acido Salicilico	acido Tannico
acido tiaprofenico	acridina
CTAB (bromuro di cetil-trimetilammonio)	diclofenac
eusolex 232	fenolo
ibuprofene	indometacina
ketoprofene	PABA (acido para-aminobenzoico)
TETA (trietilenetetramina)	urea

TABELLA 1.1: Coformer utilizzati con le molecole building block.

utilizzati in applicazioni quali adesivi, rivestimenti e materiali compositi. La sua stabilità chimica e rigidità contribuiscono a migliorare le proprietà meccaniche di questi materiali.

L'acido trimesico è un composto di crescente interesse per i sistemi di rilascio controllato di farmaci, in quanto viene studiato per il suo potenziale utilizzo nella progettazione di veicoli per la somministrazione di medicinali.

Nell'ottica di studiare e migliorare le prestazioni della quercetina come anti-ossidante e di valutare la possibilità di sfruttare l'acido trimesico come veicolante di farmaci, è stato fatto uno screening dei possibili co-cristalli che si possono ottenere usando queste due molecole come primo componente. Sono state testate tutte le possibili coppie tra questi due precursori e i coformer in tabella 1.1. I coformer sono stati scelti in base alla loro affinità con i componenti buiding block.

Nella tabella 1.1 sono riportati tutti i coformer utilizzati in questo lavoro.

La quercetina e l'acido trimesico hanno strutture aromatiche, planari e idrossilate, sono stati quindi selezionate delle molecole con affinità chimica come coformer. Queste molecole presentano gruppi amminici ( $-NH_2$ ) o gruppi idrossilici ( $-OH$ ) o gruppi carbossilici ( $-COOH$ ) o anelli aromatici, tutti gruppi funzionali in grado di creare interazioni con i gruppi presenti nella quercetina e nell'acido trimesico.

Lo scopo di questo studio è quello di ottenere dei co-cristalli a base di tipici "mattoni" idrossilati. Una volta individuata stechiometria più adatta, è necessario ottimizzare la sintesi al fine di ottenere solamente il prodotto senza i reagenti, impurezze o sottoprodotti. La cristallinità dei composti e la riuscita della sintesi sono state monitorate grazie alla diffrazione da raggi X, mentre le interazioni sono state studiate mediante la spettroscopia FT-IR. Nei casi in cui si è ottenuto un co-cristallo puro, con il pattern del composto si è passati infine alla fase di risoluzione strutturale per poter comprendere la disposizione tridimensionale dei reagenti nel co-cristallo.

# Capitolo 2

## Metodologia e strumentazione

### 2.1 Metodi di cristallizzazione usati

La cristallizzazione di un composto può essere ottenuta attraverso diversi metodi (Kumar Bandaru et al., 2021), in questo lavoro di tesi i campioni sono stati preparati mediante:

- cristallizzazione per evaporazione del solvente (2.1.1);
- cristallizzazione per raffreddamento (2.1.2);
- cristallizzazione con tecnica LAG (Liquid Assisted Grinding, 2.1.3).

Queste tecniche sono state selezionate in quanto, come riportato in letteratura (Mirocki et al., 2022), risultano particolarmente efficienti sia nella preparazione di un elevato numero di campioni, sia nella risoluzione strutturale da polveri. Nonostante la risoluzione strutturale da cristallo singolo sia relativamente più semplice, in questo caso si è dovuto ricorrere alla risoluzione strutturale a polveri.

#### 2.1.1 Cristallizzazione per evaporazione del solvente

La cristallizzazione per evaporazione del solvente consiste nel preparare una soluzione con i reagenti da cristallizzare disciolti in un solvente. La soluzione viene lasciata a raffreddare controllando la discesa di temperatura con diversi metodi. Durante il presente lavoro è sempre stata utilizzata una miscela acqua-etanolo 1:1, salvo diverse indicazioni. La soluzione preparata è stata studiata in diversi recipienti e condizioni tra cui :

- un becher in diverse condizioni:
  - becher di vetro posto sotto cappa;
  - becher di vetro posto sotto cappa e coperto con parafilm;
  - becher di plastica posto sotto cappa e coperto con parafilm;
  - becher di vetro posto fuori cappa e coperto con parafilm;



- becher di vetro posto in stufa a 60/70 °C;
- un cristallizzatore di vetro posto sotto cappa e coperto con parafilm.

In questo modo è possibile verificare se le condizioni di cristallizzazione, utilizzando la stessa tecnica, generano risultati diversi. L'utilizzo o meno del parafilm permette di controllare la velocità di cristallizzazione: con il parafilm il solvente impiega più tempo per evaporare, vengono praticati dei fori affinché il solvente possa evaporare. È stata utilizzata una stufa per accelerare l'evaporazione del solvente per osservare se erano presenti casi in cui la cristallizzazione può avvenire in tempi più ridotti rispetto a quelli dettati dall'evaporazione del solvente a temperatura ambiente.

### 2.1.2 Cristallizzazione per raffreddamento

La cristallizzazione per raffreddamento prevede la preparazione di una soluzione con i reagenti da cristallizzare in un solvente, dove i campioni hanno una solubilità moderata, e posta in agitazione su una piastra riscaldata. Quando il volume della soluzione si è dimezzato, e di conseguenza la concentrazione dei reattivi è raddoppiata, la soluzione viene trasferita in provette e poste in un bagno di ghiaccio. Lo shock termico induce la cristallizzazione e si formano dei flocculi in soluzione. Lo svantaggio di questa tecnica consiste nel fatto che vengono prodotti dei cristalli molto piccoli. Appena il prodotto si è formato viene filtrato su büchner e posto in stufa per asciugare e in fine raccolto.

### 2.1.3 Cristallizzazione con tecnica LAG

La tecnica LAG (Liquid Assisted Grinding) consiste nel macinare i reagenti allo stato solido attraverso l'aiuto di un solvente. Dopo aver pesato le rispettive quantità dei reagenti utilizzando un mortaio si macinano delicatamente aggiungendo il solvente in numero di gocce. In questo studio vengono aggiunte dalle 2 alle 8 gocce di solvente, utilizzando sempre acqua ed etanolo in rapporto 1:1. Il numero di gocce è un metodo usato per semplificare e velocizzare il processo di preparazione, una goccia equivale a circa 0.05 ml.

## 2.2 Diffrazione da raggi X

La diffrazione da raggi X è una tecnica di caratterizzazione che permette l'identificazione delle fasi cristalline presenti in un campione. Viene sfruttata l'interazione dei raggi X con i campioni per ottenere informazioni qualitative sulle fasi presenti. Il riconoscimento e l'assegnazione della fasi avviene grazie il supporto di software dove sono caricati i database con tutte le fasi cristalline conosciute.

La raccolta di un pattern di diffrazione può avvenire nel caso della formazione di interferenze costruttive tra i raggi diffusi dal campione. I piani cristallografici che danno interferenze costruttive sono quelli che rispettano la

legge di Bragg (figura 2.1):

$$2d_{hkl}\sin\theta = n\lambda \quad (2.1)$$

dove:

- $d_{hkl}$  è la distanza tra i piani cristallografici (hkl);
- $\theta$  è l'angolo di incidenza dei raggi X;
- $\lambda$  è la lunghezza d'onda dei raggi X che è paragonabile alla distanza interatomica ed è dell'ordine dell'Ångström, circa  $10^{-10}$  m.

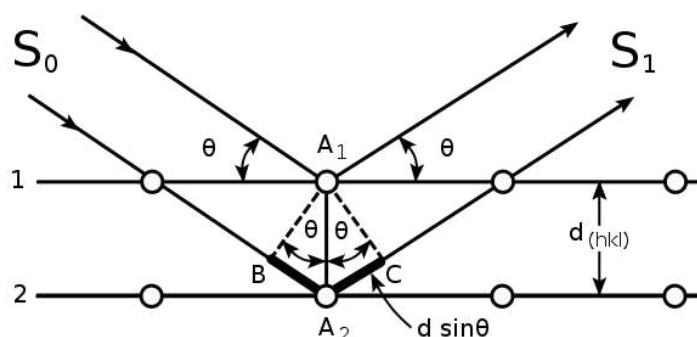


FIGURA 2.1: Rappresentazione grafica della Legge di Bragg.

Il diffrattometro è lo strumento con cui vengono analizzati i campioni e raccolto i dati di diffrazione. È composto da una sorgente di raggi X generati da un fascio di elettroni accelerati contro un anodo metallico generalmente di rame, una serie di ottiche primarie (variable size slits e soller slits), vi è poi il portacampioni su cui vengono inviati i raggi X, delle ottiche secondarie ( per esempio fenditure soller per correggere la divergenza assiale), e il detector che raccoglie i raggi diffratti dal campione. Vi sono diverse geometrie che controllano la posizione e il movimento della sorgente e del detector che si utilizzano in base all'esigenza.. In questo lavoro i campioni sono stati posti su portacampione piatto zero background e analizzati utilizzando la geometria Bragg-Brentano (figura 2.2). L'utilizzo di un portacampione piatto zero background permette di diminuire il rumore di fondo e di ottenere, quindi, un pattern con accuratezza maggiore, inoltre permette di avere una buona sensibilità nei casi di campioni in piccole quantità.

Il pattern di diffrazione, o diffrattogramma, che si ottiene è un grafico che presenta sull'asse delle ascisse i valori dell'angolo  $2\theta$ , cioè l'angolo tra il fascio incidente e quello diffratto, e sull'asse delle ordinate il numero di conteggi per ogni angolo, ovvero l'intensità. Ogni fase cristallina presenta dei picchi caratteristici che possono essere utilizzati come impronta digitale per l'analisi qualitativa. L'analisi di questi permette, attraverso alcuni parametri, di risalire a molte informazioni. I parametri considerati sono:

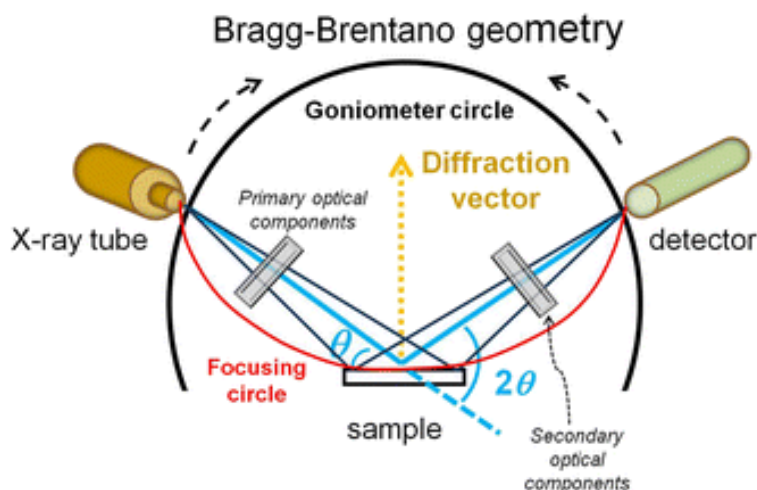


FIGURA 2.2: Rappresentazione della geometria Bragg-Brentano.

- la posizione del picco che fornisce informazioni sui parametri della cella unitaria del campione;
- la larghezza del picco che è un indice dell'ordine della struttura del campione;
- l'intensità che permette di capire, a primo impatto, la quantità della fase presente nel campione e di risolverne la struttura.

## 2.3 Risoluzione strutturale

Esistono diversi metodi per risolvere una struttura, suddivisi nelle categorie:

- metodi diretti ti permettono di localizzare e quantificare le densità elettroniche nello spazio reciproco;
- metodi nello spazio reale utilizzano modelli molecolari e noti a priori e li posizionano nello spazio in modo da minimizzare la differenza tra le densità elettroniche misure e quelle calcolate a partire dal modello in uso;
- metodi ibridi.

Per la risoluzione strutturale, in questo lavoro di tesi, è stato utilizzato il simulated annealing nello spazio diretto.

Il simulated annealing prevede la generazione di una sequenza di strutture di prova a partire da un appropriato modello tridimensionale. I parametri che definiscono il modello vengono modificati fino a quando non viene trovata una buona corrispondenza tra le intensità calcolate e quelle osservate (Chou e Lee, 2001).

In questo lavoro come modelli tridimensionali sono utilizzate le unità asimmetriche dei campioni studiati.

## 2.4 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier

La spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR) è una tecnica utilizzata per ricavare informazioni sui gruppi funzionali di una molecola e, in alcuni casi, le interazioni molecolari attraverso la raccolta di uno spettro vibrazionale molecolare.

Quando un campione viene esposto alla radiazione infrarossa, le sue molecole assorbono selettivamente le radiazioni di lunghezze d'onda tali per cui avviene un cambiamento del momento di dipolo. Nei livelli di energia vibrazionale delle molecole del campione avviene un passaggio dallo stato fondamentale allo stato eccitato. La frequenza del picco di assorbimento è determinata dal gap di energia vibrazionale. L'intensità dei picchi di assorbimento è correlata al cambiamento del momento di dipolo e alla possibilità di transizione dei livelli di energia.

Uno spettro infrarosso presenta in ascissa il numero d'onda del fotone incidente, e in ordinata l'assorbanza o la trasmittanza. Le vibrazioni di un legame possono essere lo stretching ovvero il suo stiramento e il bending ovvero la deformazione dell'angolo di legame. Vi sono poi modi più complessi come il twisting e le deformazioni fuori dal piano, queste ultime spesso localizzate nella zona dei modi di fingerprint.

Nella spettroscopia FT-IR viene utilizzato un interferometro (figura 2.3), che grazie ad uno specchio mobile permette la scansione, allo stesso tempo, di tutte le frequenze presenti nella radiazione IR generata dalla sorgente. Questo permette di ridurre moltissimo i tempi di misura rispetto agli strumenti tradizionali. Lo specchio muovendosi introduce una differenza di cammino ottico, il quale origina una interferenza che può essere costruttiva o distruttiva con il raggio riflesso da uno specchio fisso. In questo modo si ottiene un interferogramma dell'intensità nel dominio del tempo, a questo viene applicata la trasformata di Fourier e si ottiene lo spettro infrarosso, ovvero la rappresentazione dell'intensità nel dominio della frequenza.

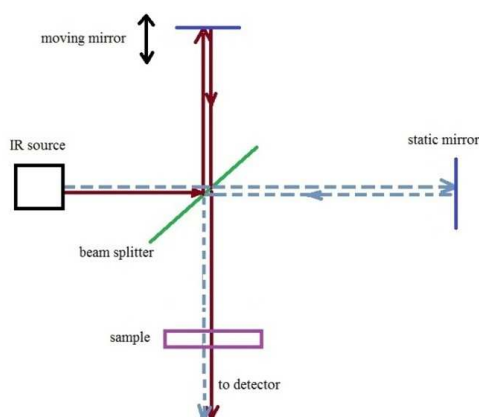


FIGURA 2.3: Rappresentazione del funzionamento dell'interferometro.

## Capitolo 3

# Condizioni sperimentali per la preparazione dei co-cristalli

In questo lavoro sono studiati i campioni preparati con lo scopo di ottenere dei co-cristalli di due diverse molecole idrossilate utilizzate come building block: la quercetina ( $C_{15}H_{10}O_7$ , 3,3',4',5,7-penta idrossiflavone, figura 3.1a) e l'acido trimesico ( $C_9H_6O_6$ , acido 1,3,5-benzentricarbossilico, figura 3.1b), le cui proprietà sono descritte nella sezione 1.3.

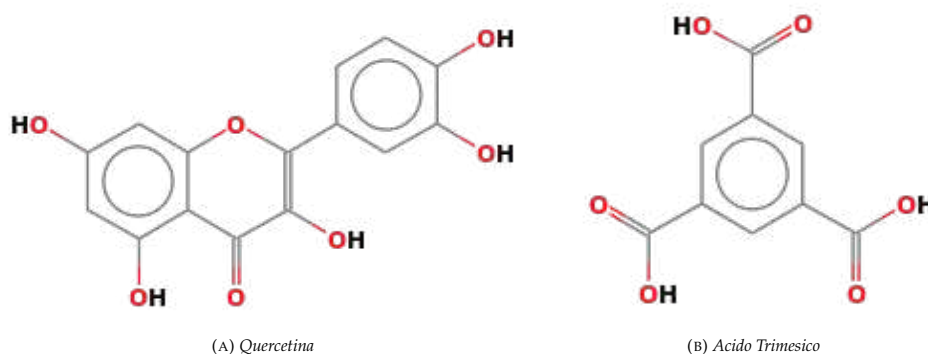


FIGURA 3.1: Reagenti fissi utilizzati.

### 3.1 Campioni di quercetina

La quercetina è una molecola con proprietà antiossidante, antiinfiammatorie, anti allergiche e antivirali come descritto nel dettaglio nella sezione 1.3. I primi campioni, per l'ottenimento dei co-cristalli di quercetina, sono stati preparati in rapporto 1:1 con il coformer in 5 ml di etanolo mediante cristallizzazione per evaporazione del solvente sia senza parafilm per un'evaporazione veloce che con parafilm, su cui sono stati praticati dei fori, per un'evaporazione lenta.

I coformer utilizzati sono:

- 4-metilcatecolo;
- acido acetilsalicilico;
- acido citrico;
- acido L-ascorbico;
- acido salicilico;
- acido tannico;
- acido tiaprofenico;
- acridina;
- diclofenac;
- eusolex 232;
- ibuprofene:
- indometacina:
- ketoprofene:
- PABA (Acido para-Aminobenzoico):
- urea.

Dopo aver analizzato i primi prodotti sono stati selezionati cinque coformer per svolgere uno studio più approfondito. I campioni preparati mediante cristallizzazione per evaporazione del solvente e cristallizzazione con tecnica LAG. I cinque coformer selezionati sono: urea, acridina, acido acetilsalicilico, acido salicilico e acido citrico. I campioni sono stati preparati in diverse condizioni:

- in un becher di vetro con parafilm, sotto cappa, in rapporto 1:1;
- in un becher di vetro con parafilm, fuori cappa, in rapporto 1:1;
- in un cristallizzatore di vetro con parafilm, sotto cappa, in rapporto 1:1;
- in un becher di plastica con parafilm, sotto cappa, in rapporto 1:1;
- in un becher di vetro, in stufa a 60 °C;
- in un becher di vetro con parafilm, sotto cappa, in rapporto 1:2 ( 2 rapporto del coformer);
- LAG in rapporto 1:1;
- LAG in rapporto 1:2 ( 2 rapporto del coformer).

Sono state preparate delle soluzioni di quercetina e dei cinque coformer per i campioni mediante cristallizzazione per evaporazione da solvente. La quercetina ha una solubilità di 2 mg/ml, è stata quindi preparata una soluzione di 200 mg in 100 ml. Le soluzioni dei coformer sono state preparate in 100 ml di etanolo in rapporto equimolare con la quercetina pesando:

- 36.4 mg di urea;
- 105.4 mg di acridina;
- 106.9 mg di acido acetilsalicilico;
- 81.6 mg di acido salicilico;
- 114.0 mg di acido citrico.

Per i campioni in rapporto 1:1 vengono prelevati 2.5 ml della soluzione di quercetina e 2.5 ml della soluzione del coformer; in caso di rapporto 1:2 sono prelevati 2.5 ml della soluzione di quercetina e 5 ml della soluzione del coformer.

Per i campioni con la tecnica LAG vengono pesati i reagenti in rapporto 1:1 e 1:2 con la quercetina e macinati in un mortaio con l'aggiunta di 4 gocce di etanolo.

Per approfondire lo studio sono stati preparati dei campioni dei singoli reagenti per capire se i riflessi osservati siano di nuove fasi prodotte o dei reagenti. Sono stati cristallizzati mediante evaporazione del solvente:

- 2.5 ml di quercetina sotto cappa con parafilm;
- 2.5 ml di acido acetilsalicilico sotto cappa con parafilm;
- 5 ml di acridina sotto cappa con parafilm;
- 2.5 ml di quercetina in stufa a 60 °C;
- 2.5 ml di acido salicilico in stufa a 60 °C;
- 2.5 ml di acido citrico in stufa a 60 °C;

Sono stati cristallizzati tutti i reagenti mediante tecnica LAG con 4 gocce di etanolo:

- quercetina in rapporto 1;
- acridina in rapporto 2;
- acido acetilsalicilico in rapporto 1;
- acido salicilico in rapporto 1;
- acido citrico in rapporto 1;

Con l'analisi dei campioni dei reagenti si è individuata la presenza di un'inquinante in piccola, ma significativa, percentuale nella quercetina, il quale ha invalidato i risultati ottenuti e suggerito l'abbandono di questo filone della ricerca, come descritto nel dettaglio nel capitolo 4, sezione 4.1.

## 3.2 Campioni di acido trimesico

L'acido trimesico è un composto organico utilizzato nella sintesi di MOF (Metal-Organic Framework, Moorthy et al., 2023), resine e polimeri, grazie alla sua stabilità chimica e alla struttura rigida come descritto nel dettaglio in sezione 1.3.

I primi campioni, per l'ottenimento dei co-cristalli di acido trimesico, sono preparati mediante cristallizzazione con tecnica LAG in rapporto 1:1 con l'aggiunta di 1 goccia di acqua e 1 goccia di etanolo. Sono stati selezionati dalla tabella 1.1 i primi 6 coformer da utilizzare per i primi campioni a base di acido Trimesico. I coformer utilizzati sono:

- acido acetilsalicilico;
- acido citrico;
- acido L-ascorbico;
- acido salicilico;
- fenolo;
- urea.

Successivamente a questi campioni sono preparati una serie di campioni mediante cristallizzazione per raffreddamento. I campioni sono stati preparati con il medesimo procedimento variando solamente coformer e rapporto stechiometrico. Per questi campioni sono stati scartati i coformer nell'elenco 3.2, ad esclusione dell'Urea, poiché, come descritto nel capitolo 4 non hanno portato a prodotti interessanti in termini di fasi nuove. Si è deciso di selezionare dalla 1.1 altri coformer a base azotata in conformità alle caratteristiche dell'Urea. Si sono quindi preparati campioni con:

- acridina in rapporto 1:1;
- CTAB (bromuro di cetil-trimetilammonio) in rapporto 1:3;
- trietilentetramina in rapporto 4:3;
- urea in rapporto:
  - 1:1;
  - 1:2;
  - 2:3;
  - 2:1.

Infine, l'attenzione si è focalizzata sui campioni Trimesico-Urea e Trimesico-CTAB, poiché hanno fornito risultati più soddisfacenti. I campioni sono stati preparati mediante cristallizzazione per raffreddamento e tecnica LAG, esplorando diversi rapporti tra i reagenti.

Per la coppia acido trimesico-urea i campioni sono stati preparati:



- mediante cristallizzazione per raffreddamento:
  - in rapporto 1:3;
  - in rapporto 1:3 (preparato con una soluzione di urea);
  - in rapporto 1:4;
- mediante tecnica LAG in rapporto 1:3 con numero di gocce crescente:
  - 4 ( 2 di soluzione di urea e 2 di etanolo);
  - 6 ( 3 di soluzione di urea e 3 di etanolo);
  - 8 ( 4 di soluzione di urea e 4 di etanolo).

Per la coppia acido trimesico-CTAB i campioni sono stati preparati :

- mediante cristallizzazione per raffreddamento:
  - in rapporto 1:1;
  - in rapporto 1:2;
  - in rapporto 1:1.5;
  - in rapporto 2:1;
- mediante tecnica LAG in rapporto 1:1 e 1:2 con numero di gocce crescente:
  - 4 ( 2 di acqua e 2 di etanolo);
  - 6 ( 3 di acqua e 3 di etanolo);
  - 8 ( 4 di acqua e 4 di etanolo).

Nel capitolo 4 i campioni presentati verranno analizzati con approccio multitecnica per procedere alla selezione dei candidati per la risoluzione strutturale.

## Capitolo 4

# Analisi dei campioni e selezione dei candidati per la risoluzione strutturale

In questo capitolo sono riportati i risultati ottenuti analizzando, sia con diffrazione da raggi X che con la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier, i circa 150 campioni preparati secondo le procedure descritte nel capitolo 3. L'obiettivo è individuare i casi in cui si sono osservati prodotti diversi dalla miscela meccanica dei reagenti. I risultati sono suddivisi per i due building block idrossilati utilizzati come reagenti principali: quercetina e acido trimesico. Sono stati selezionati i coformer dalla tabella 1.1 per creare dei sottogruppi da utilizzare nella preparazione dei campioni di quercetina e per i campioni di acido trimesico. Nelle tabelle 4.1 e 4.2 sono elencati più dettagliatamente quali coformer sono stati utilizzati per ogni molecola building block.

### 4.1 Campioni di quercetina

Nella tabella 4.1 sono riportati i coformer utilizzati per la preparazione dei primi campioni con la quercetina in rapporto 1:1. Solo nei casi in cui si osservano picchi non appartenenti ai reagenti si procede ad approfondirne le analisi. Nella tabella 4.1 sono evidenziati in giallo i casi in cui questo è avvenuto.

4- metilcatecolo
acido acetilsalicilico
acido citrico
acido L-ascorbico
acido salicilico
acido tannico
acido tiaprofenico
acridina
diclofenac
eusolex 232
ibuprofene
indometacina
ketoprofene
PABA (Acido para-Aminobenzoico)
urea

TABELLA 4.1: Coformer utilizzati con la quercetina.

Sono riportati due esempi di casi quercetina-coformer che non sono stati studiati ulteriormente poiché non vi si è formato alcun prodotto. Come si può notare nei pattern di diffrazione di quercetina-acido tannico (figura 4.1) e quercetina-eusolex232 (figura 4.2) il pattern del prodotto non è altro che la somma di quelli dei reagenti. Si conclude che il tentativo non ha portato ad un co-cristallo ma solo alla miscela meccanica dei reagenti, in questo e negli altri casi (non evidenziati in giallo nella tabella 4.1) non si è proceduto oltre con l'analisi ed i tentativi di cristallizzazione. Probabilmente queste coppie non sono abbastanza complementari dal punto di vista chimico per dare luogo ad un co-cristallo.

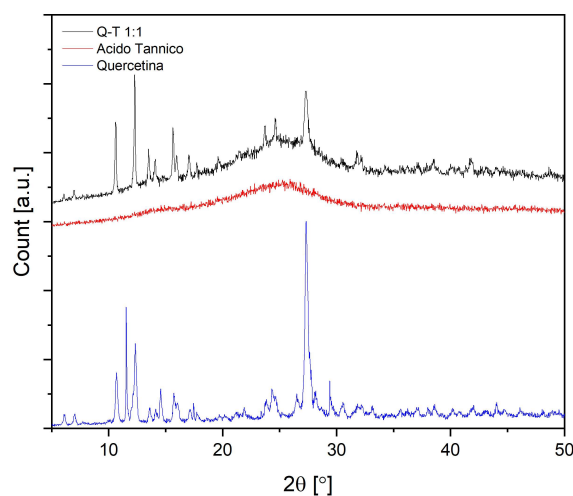


FIGURA 4.1: Pattern del campione di quercetina-acido tannico e reagenti.

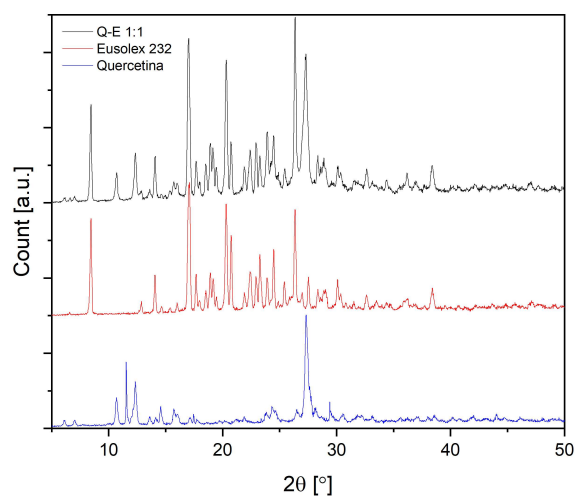


FIGURA 4.2: Pattern del campione di quercetina-eusolex232 e reagenti.

I campioni successivamente preparati sono stati investigati in diverse condizioni di cristallizzazione per evaporazione del solvente. Dall'analisi dei pattern di diffrazione si è notato come non ci sia differenza tra i campioni lasciati evaporare sotto cappa o fuori cappa e tra i campioni posti in becher di vetro, in becher di plastica o nel cristallizzatore di vetro. È riportato un esempio con il campione di quercetina-acido citrico (figura 4.3) in cui si dimostra che al variare del materiale e forma del recipiente e velocità di evaporazione non si hanno effettive differenze.

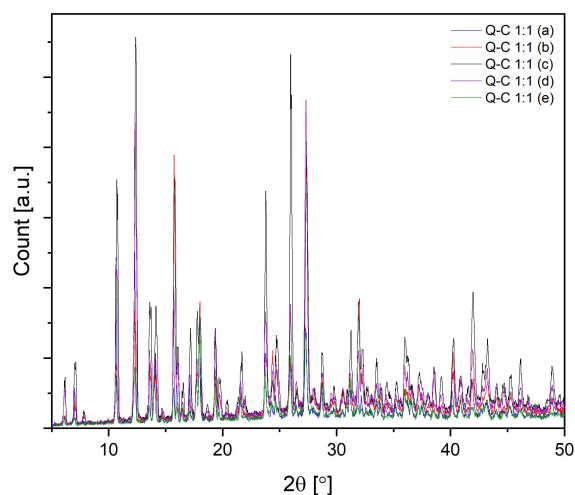


FIGURA 4.3: Pattern dei campioni di quercetina-acido citrico in diverse condizioni.

Quasi tutti i campioni riportano differenze, non significative, tra il pattern

di diffrazione del campione lasciato evaporare sotto cappa e quello posto in stufa a 60°C. Le differenze presenti nel campione cristallizzato in stufa sono conseguenza dell'elevata temperatura che forza una rapida cristallizzazione dei reagenti. È riportato un esempio con il caso del campione di quercetina-acido salicilico (figura 4.4). Nel grafico sono riportati i pattern dei reagenti, quindi quercetina e acido salicilico, il pattern del campione preparato in rapporto 1:1 e lasciato cristallizzare sotto cappa e quello del campione preparato e lasciato cristallizzare in stufa a 60°C. Si può notare come nel pattern del campione da stufa sono presenti dei riflessi a circa 10° e 14° in  $2\theta$  non appartenenti ai reagenti e che non sono presenti in quello lasciato sotto cappa (identificato come "Q-S 1:1 soluzione" nel grafico). Queste differenze tra i pattern suggeriscono altre analisi per indagarne l'origine.

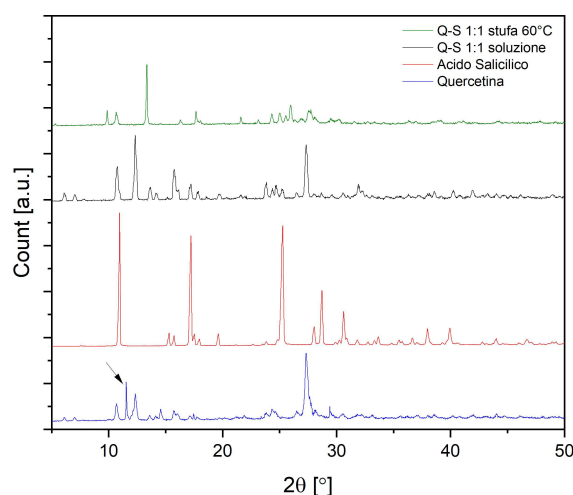


FIGURA 4.4: Pattern dei campioni di quercetina-acido salicilico e reagenti. Impurezza indicata dalla freccia.

Anche nel caso dei campioni preparati mediante la tecnica LAG vi sono, nel pattern di diffrazione, dei riflessi non presenti nel campione lasciato ad evaporare sotto cappa. Come nel caso precedente state effettuate altre analisi per capire se le differenze tra i due pattern di diffrazione siano collegate ai reagenti o inquinanti o se si sia veramente formato un co-cristallo. È riportato un esempio del campione quercetina-urea in figura 4.5. Nel grafico è riportato il pattern dei reagenti: quercetina e urea, del campione lasciato ad evaporare sotto cappa (identificato come "Q-U 1:1 soluzione" nel grafico) e del campione preparato mediante la tecnica LAG. In questo caso, il pattern nel suo insieme appare diverso a quello della miscela meccanica.

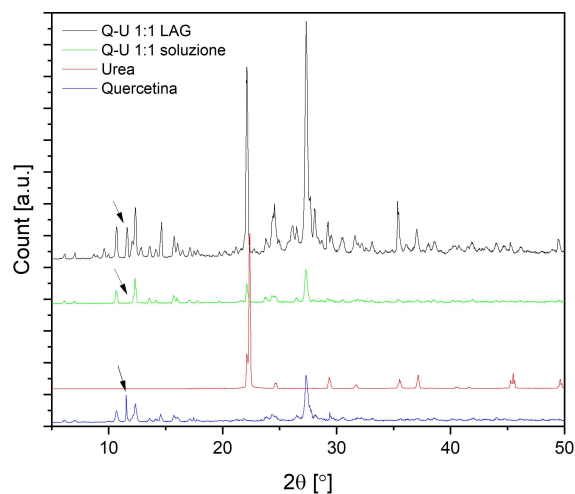


FIGURA 4.5: Pattern dei campioni di quercetina-urea e reagenti. Impurezza indicata dalla freccia.

Sono stati studiati anche diversi rapporti sia mediante cristallizzazione per evaporazione del solvente che mediante tecnica LAG. In entrambi i casi oltre al rapporto 1:1 è stato preparato anche il rapporto 1:2. In alcuni campioni preparati con rapporto 1:2 sono presenti nel pattern di diffrazione dei riflessi che non appaiono in quello con rapporto 1:1. È riportato il caso del campione quercetina-acridina in figura 4.6 si può notare come soprattutto nella regione a bassi angoli siano presenti dei riflessi nel pattern di diffrazione del campione in rapporto 1:2 che nel pattern di diffrazione del campione preparato in rapporto 1:1 non ci sono. Nella figura 4.7 sono riportati i pattern di diffrazione dei campioni di quercetina-urea preparati tramite tecnica LAG in rapporto 1:1, 1:2 e reagenti. Si può notare come vi siano dei riflessi a circa  $9^\circ$  in  $2\theta$  nel campione in rapporto 1:2 che non è presente nel campione in rapporto 1:1. Anche in questo caso sono stati effettuati ulteriori studi per poter indagare più a fondo la natura di questi riflessi.

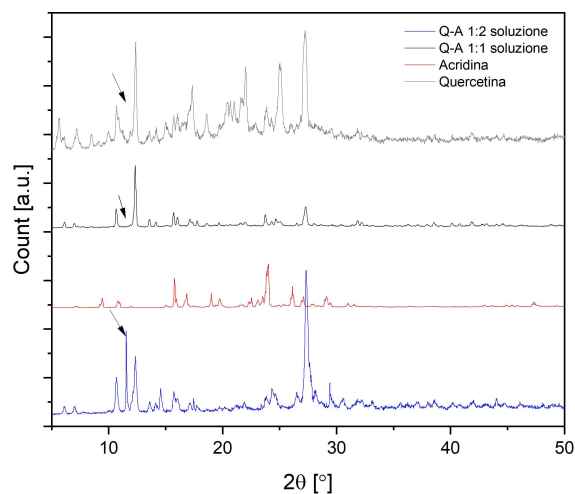


FIGURA 4.6: Pattern dei campioni di quercetina-acridina e reagenti da soluzione evaporata. Impurezza indicata dalla freccia.

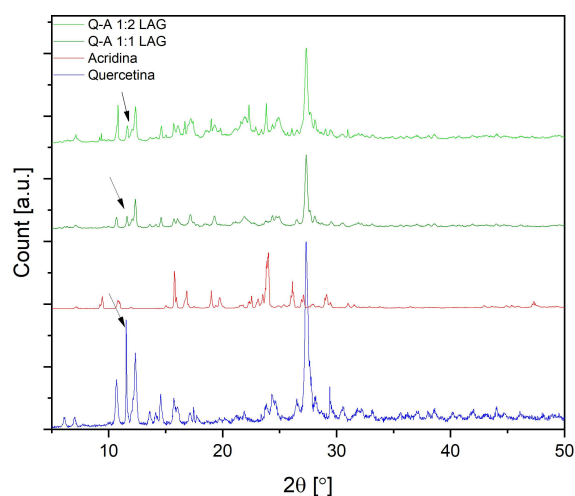


FIGURA 4.7: Pattern dei campioni di quercetina-acridina e reagenti da tecnica LAG. Impurezza indicata dalla freccia.

Confrontando i diversi pattern ottenuti, alcuni campioni presentano riflessi non appartenenti ai reagenti, ma simili tra loro indipendentemente dal co-former utilizzato. Questo suggerisce la presenza di impurezze e quindi sono stati analizzati singolarmente i reagenti, sottoponendoli alle stesse procedure applicate alle miscele. Lo studio ha rilevato la presenza di un inquinante nella quercetina, compromettendo i risultati ottenuti fino a questo momento e rendendo impossibile il proseguimento del lavoro sui co-cristalli a base di quercetina. Questo inquinante non è indicato nella scheda tecnica e non

facilmente individuabile da una semplice analisi visuale del pattern di diffrazione. Si è provato a ricristallizzare la quercetina, mediante cristallizzazione per raffreddamento (come spiegato nel capitolo 2, sezione 2.1.2), in piccola quantità per controllare se fosse possibile purificarla. Nel pattern di diffrazione (figura 4.8) si nota come il riflesso nel pattern nero a circa  $12^\circ$  in  $2\theta$  sparisca nel pattern rosso della quercetina cristallizzata per raffreddamento. Questo riflesso non viene assegnata a nessuna fase cristallina. Non essendo nota però la natura dell'inquinante si è preferito interrompere i tentativi di preparazione di co-cristalli a base di quercetina, vista l'assenza di una fonte sufficientemente pura di questo reagente. L'inquinante è indicato in tutti i pattern precedenti da una freccia.

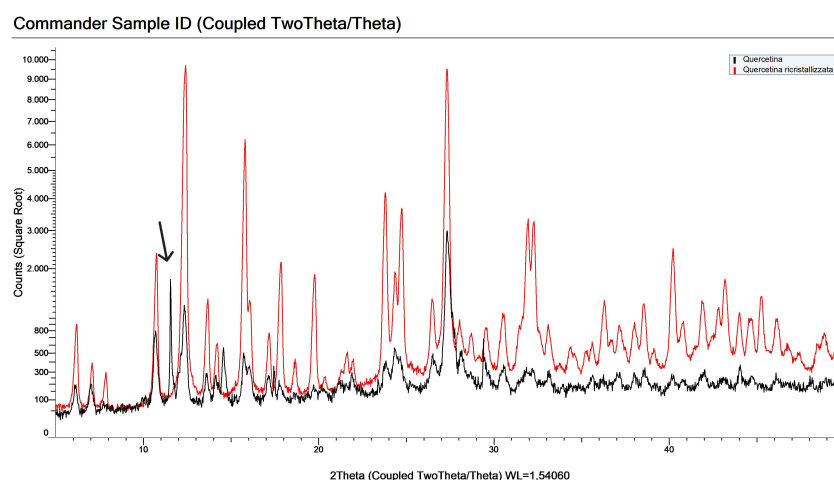


FIGURA 4.8: Pattern della quercetina pre e post ricristallizzazione. Impurezza indicata dalla freccia.

## 4.2 Campioni di acido trimesico

I campioni a base di acido trimesico sono preparati mediante cristallizzazione per raffreddamento e mediante tecnica LAG. Come riportato in letteratura (Mirocki et al., 2022), queste tecniche sono state utilizzate poiché utili per svolgere uno screening semplice ed efficace di una serie di campioni anche numerosa e individuarne polimorfi anidri (LAG) o idrati/solvatati (cristallizzazione per raffreddamento).



I primi campioni sono stati preparati, mediante entrambe le tecniche, con i coformer:

acido acetilsalicilico
acido citrico
acido L-ascorbico
acido salicilico
acridina
CTAB (bromuro di cetil-trimetilammonio)
Fenolo
TETA (trietilenetetramina)
urea

TABELLA 4.2: Coformer utilizzati con l'acido trimesico.

Alcuni dei campioni preparati non hanno portato ad un risultato soddisfacente, come è possibile notare, ad esempio, nel pattern di diffrazione del campione di acido trimesico-acridina (figura 4.9) per quando riguarda i campioni preparati mediante cristallizzazione per raffreddamento e nel pattern del campione acido trimesico-acido salicilico (figura 4.10) per i campioni mediante tecnica LAG. In entrambi i casi non sono presenti riflessi che possano suggerire la formazione di un prodotto nuovo, risultano una miscela meccanica dei reagenti utilizzati.

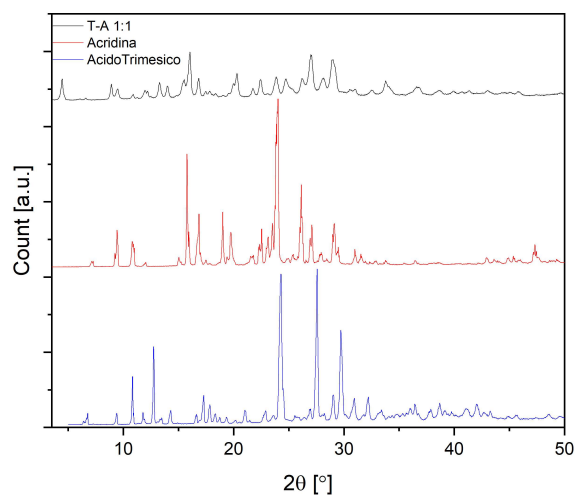


FIGURA 4.9: Pattern campione di acido trimesico-acridina e reagenti.

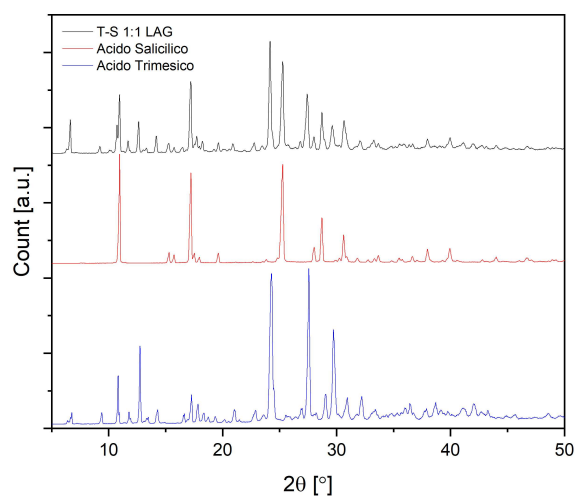


FIGURA 4.10: Pattern campione di acido trimesico-salicilico e reagenti.

A supporto dello studio sono stati raccolti spettri FT-IR dei campioni per analizzare la variazione dei segnali tra prodotti e reagenti. La tecnica infrarossa permette di evidenziare dei cambiamenti nella protonazione dei reagenti indice della formazione di sali e prodotti, informazione che non viene fornita dall'analisi in diffrazione da raggi X.

Sono riportati gli spettri FT-IR dell'acido trimesico (figura 4.11) e dell'acido salicilico (figura 4.12) con l'assegnazione delle rispettive bande (Mahalakshmi e Balachandran, 2014, Trivedi, Dahryn Trivedi e Khemraj Bairwa, 2015, Socrates, 2001).

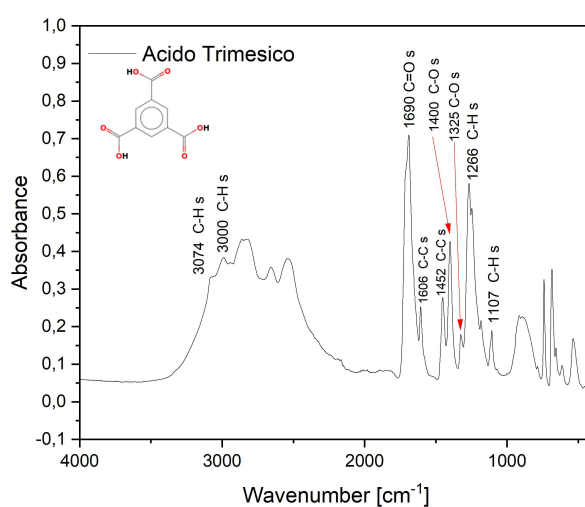


FIGURA 4.11: Spettro FT-IR acido trimesico.

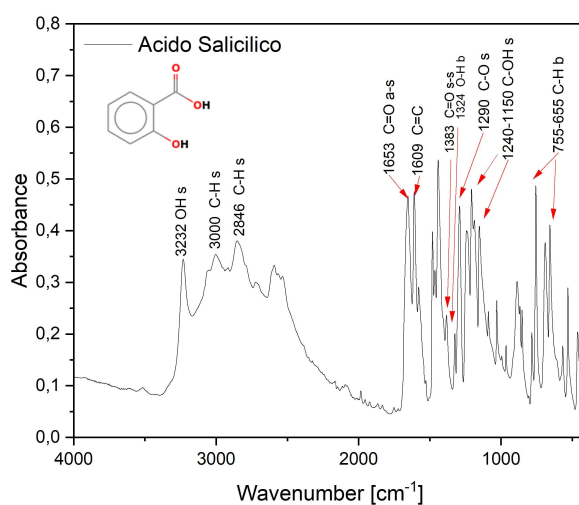


FIGURA 4.12: Spettro FT-IR acido salicilico.

La spettro FT-IR del campione acido trimesico-acido salicilico mostrato in figura 4.13 risulta una combinazione degli spettri dei reagenti. Non sono presenti variazioni nelle bande, risultato che conferma ciò che si è ottenuto dall'analisi del rispettivo pattern di diffrazione. I dati indicano chiaramente che la formazione del co-cristallo non è avvenuta nelle condizioni molto diverse utilizzate (LAG e cristallizzazione per raffreddamento). Questo suggerisce che queste coppie non sono compatibili per formare un co-cristallo e quindi non sono stati effettuati ulteriori esperimenti. Per brevità non vengono mostrati tutti i dati relativi agli esperimenti senza successo (quelli non evidenziati da un colore nella tabella 4.2). Ci si è quindi concentrati sulle coppie acido trimesico-urea e acido trimesico-CTAB (evidenziati rispettivamente in verde e giallo nella tabella 4.2).

Infatti, in questi due casi, risultati promettenti sono stati osservati e studiati in diversi rapporti molari mediante tecnica di cristallizzazione per raffreddamento e diverse quantità di solvente aggiunto mediante la tecnica LAG.

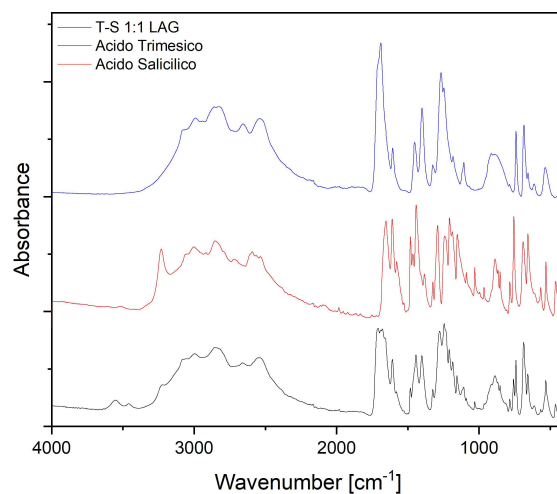


FIGURA 4.13: Spettro FT-IR del campione acido trimesico-acido salicilico mediante tecnica LAG e reagenti.

#### 4.2.1 Acido trimesico-CTAB

I campioni preparati mediante cristallizzazione per raffreddamento sono stati investigati in diversi rapporti stechiometrici, come spiegato nel capitolo 3 sezione 3.2. Si è notato che il rapporto 1 di acido trimesico e 2 di CTAB risulta essere il rapporto migliore in termini di fasi e resa del prodotto che si forma. Come si può notare sono presenti dei riflessi nel pattern di diffrazione (figura 4.14) del campione acido trimesico-CTAB non presenti nei reagenti. Vi sono riflessi a circa 5° e 26° in  $2\theta$  che non appartengono ai pattern di diffrazione dei reagenti.

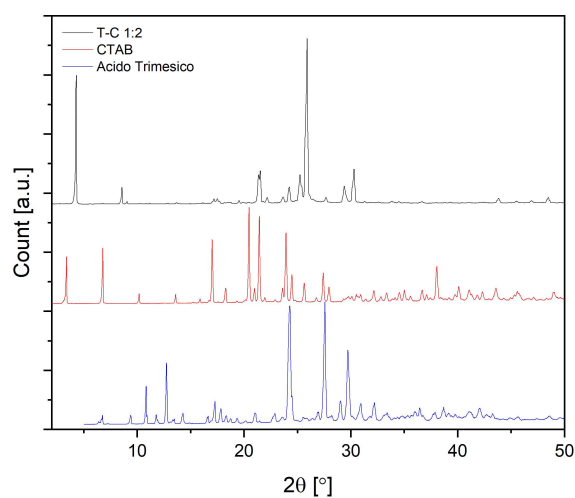


FIGURA 4.14: Pattern campione di acido trimesico-CTAB e reagenti.

Sono riportati anche i pattern dei campioni preparati nei diversi rapporti (1:1, 1:3, 1:1.5, 1:4, 2:1, figura 4.15) a confronto con il pattern del campione in rapporto 1:2 per poterne osservare le differenze. Si nota come in rapporti diversi da 1:2 vi sia una difficoltà nel cristallizzare il campione e all'aumento di CTAB utilizzato aumentino i riflessi di esso senza però un significativo cambiamento nel prodotto formato. Anche i rapporti inferiori di 1:2 non si forma un prodotto soddisfacente per quanto riguarda i riflessi extra rispetto ai reagenti.

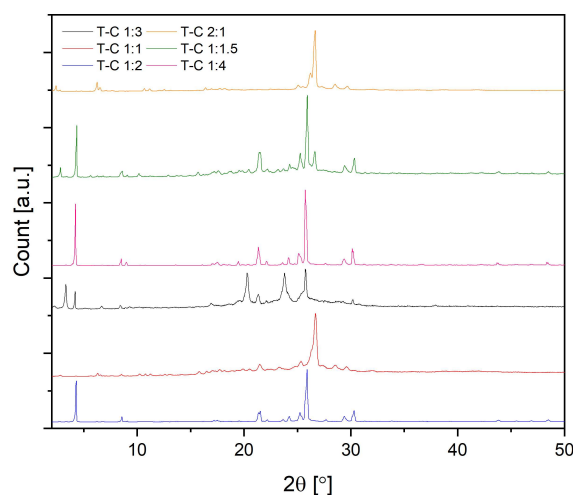


FIGURA 4.15: Pattern campioni di acido trimesico-CTAB per cristallizzazione per raffreddamento.

Per i campioni preparati con la tecnica LAG sono stati indagati tre casi con aggiunte progressive dei solventi in rapporto 1:1 (acqua ed etanolo): 4 gocce, 6 gocce e 8 gocce (figura 4.16). Tra i tre casi studiati non vi sono differenze, nei pattern di diffrazione, a parte per le intensità crescenti all'aumentare del solvente utilizzato.

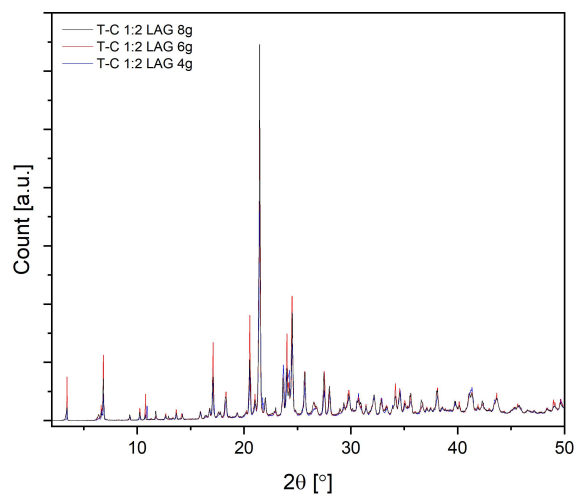


FIGURA 4.16: Pattern campioni di acido trimesico-CTAB mediante cristallizzazione con tecnica LAG.

È riportato anche il pattern di diffrazione del campione preparato mediante tecnica LAG con 8 gocce con i reagenti per osservarne le differenze (figura 4.17). Si nota come il campione preparato mediante tecnica LAG risulti essere più un miscela meccanica dei reagenti rispetto che ad un prodotto di essi.

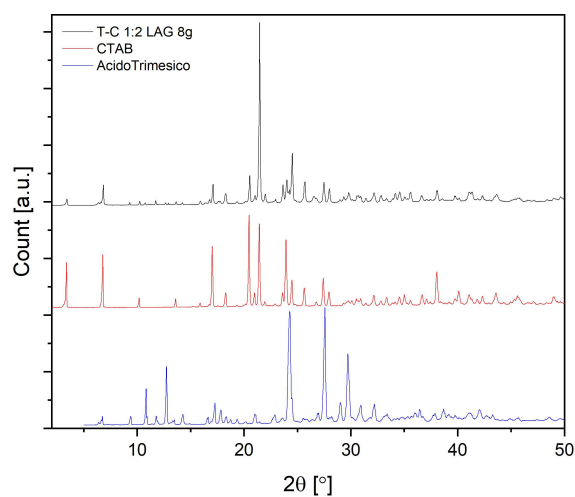


FIGURA 4.17: Pattern campione di acido trimesico-CTAB e reagenti.

Nel caso della coppia acido trimesico-CTAB le due tecniche portano a risultati diversi. In entrambi i casi non si sono ottenuti composti puri senza la presenza dei reagenti. Sono riportati (figura 4.18) a confronto il pattern di diffrazione del campione in rapporto 1:2 preparato mediante cristallizzazione per raffreddamento e del campione in rapporto 1:2 preparato mediante tecnica LAG con 8 gocce di solvente (4 di acqua e 4 di etanolo). Si può notare come nel pattern del campione preparato mediante cristallizzazione per raffreddamento i riflessi a circa  $4^\circ$  e  $26^\circ$  in  $2\theta$ , presi come riferimento per un nuovo prodotto, sono presenti rispetto che nel campione preparato mediante cristallizzazione con tecnica LAG.

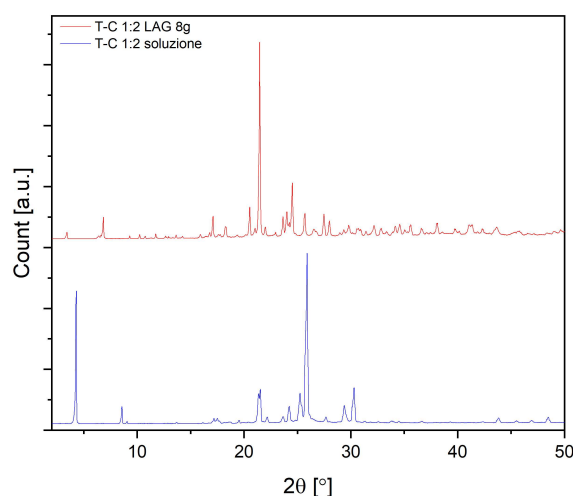


FIGURA 4.18: Pattern campione di acido trimesico-CTAB a confronto.

Anche per il CTAB (figura 4.19) è stato raccolto uno spettro FT-IR ed è stata svolta l'assegnazione delle bande (Su, Yang e Zhu, 2015).

Lo spettro FT-IR del campione acido trimesico-CTAB 1:2 preparato mediante cristallizzazione per raffreddamento (figura 4.20) si presenta come una combinazione degli spettri dei reagenti. I campioni di acido trimesico-CTAB sono quindi promettenti e indicano la possibilità di ottenere un co-cristallo ma non in forma pura, condizione essenziale per tentare la risoluzione strutturale da diffrazione da polveri. Visto che questo è l'obiettivo della tesi si è a questo punto interrotta l'analisi, che potrà proseguire come sviluppo della presente tesi.

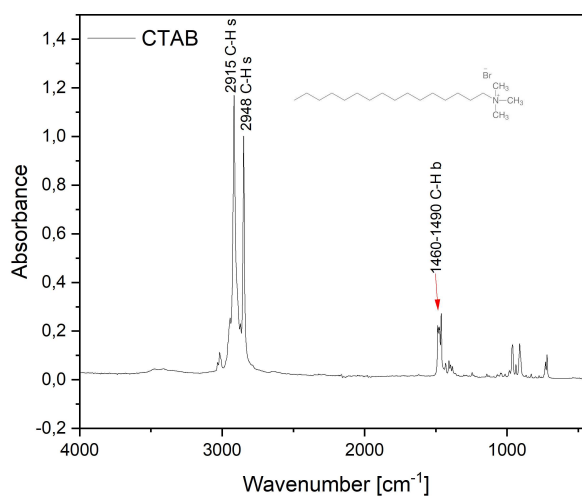


FIGURA 4.19: Spettro FT-IR del CTAB.

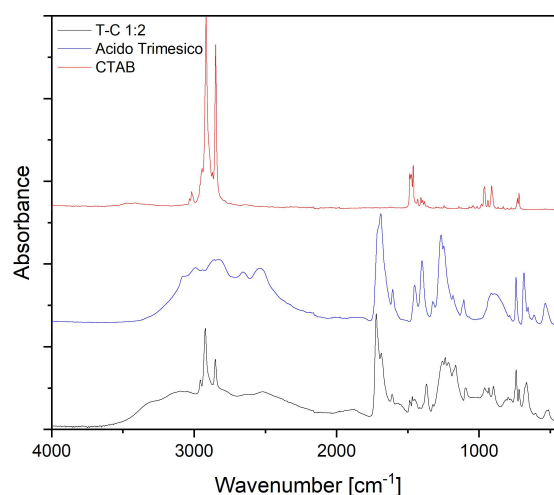


FIGURA 4.20: Spettro FT-IR del campione acido trimesico-CTAB e reagenti.

### 4.2.2 Acido trimesico-urea

I campioni acido trimesico-urea sono studiati con differenti rapporti stechiometrici tra i due reagenti mediante la cristallizzazione per raffreddamento. Sono riportati i pattern di diffrazione dei campioni preparati nei diversi rapporti: 1:1, 1:2, 2:3, 1:4, 2:1 (figura 4.21). Si è individuato che il rapporto migliore per la coppia acido trimesico-urea è di 1 di acido trimesico e 3 di urea. Si può notare che in qualunque altro rapporto rispetto al 1:3 non appare il riflesso a circa  $9^\circ$  e circa  $20^\circ$  in  $2\theta$ . I pattern di diffrazione a rapporti 1:1 e 1:2 sono molto simili tra loro, come nel caso dei rapporti 2:1 e 2:3. Nel caso del rapporto 1:4 vi è un eccesso di urea.



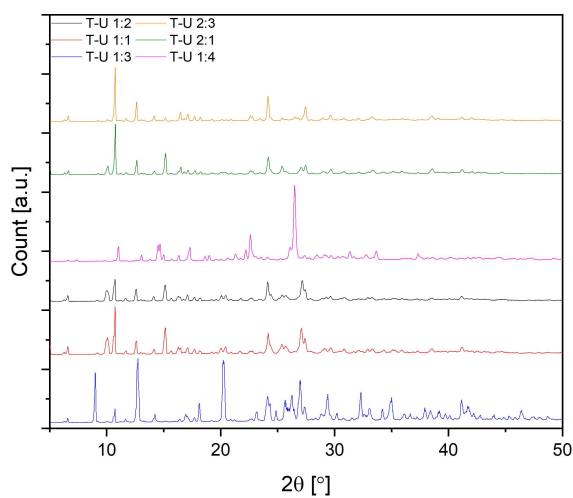


FIGURA 4.21: Pattern campioni di acido trimesico-urea mediante cristallizzazione per raffreddamento.

È riportato il pattern del campione acido trimesico-urea in rapporto 1:3 in cui si può notare che i riflessi a circa  $9^\circ$  e circa  $20^\circ$  in  $2\theta$  non appartengono ai reagenti (figura 4.22).

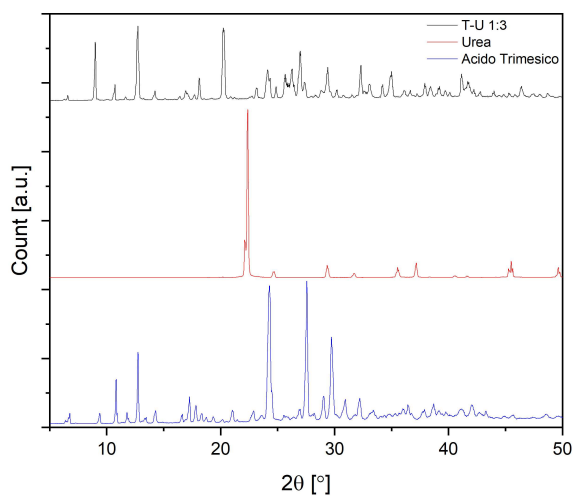


FIGURA 4.22: Pattern campione di acido trimesico-urea e reagenti.

### 4.3 Preparazione di un campione puro acido trimesico-urea 1:3

Con l'obiettivo di ottenere un composto puro di acido trimesico-urea senza, quindi, la presenza dei reagenti si è provato a lavare il campione con acqua su filtro buchner e recuperare il solido rimasto. Si è notato analizzando il prodotto prelevato, successivamente ad essiccazione in stufa a 70°C, che il lavaggio è, da un lato efficace nel rimuovere l'acido trimesico non reagito, ma causa anche una perdita di prodotto.

Per poter ottimizzare la sintesi del campione di acido trimesico-urea si è deciso di cristallizzarlo modificando la miscela di acqua ed etanolo utilizzata durante la preparazione del campione. Si è preparata una soluzione di urea (2 grammi in 100 ml) che ha sostituito l'acqua nella miscela per la cristallizzazione per raffreddamento. Il campione è stato quindi preparato con la medesima tecnica spiegata nel capitolo 2, sezione 2.1.2, con la sola modifica della miscela, non più acqua ed etanolo ma etanolo e soluzione di urea. Lavando il campione con acqua pura oltre alla rimozione dell'acido trimesico in eccesso viene rimosso del prodotto poiché essendo l'urea una molecola polare tende a restare in soluzione piuttosto che cristallizzare nel solido. L'uso di questa soluzione di urea permette la rimozione dell'acido in eccesso, ma evita la rimozione del prodotto. Questo perché essendo già presente dell'urea nella miscela di cristallizzazione non scioglie quella che concorre alla formazione del campione di acido trimesico-urea.

Sono riportati i pattern del campione di acido trimesico-urea in rapporto 1:3 utilizzando come solventi etanolo e acqua ed etanolo e soluzione acquosa di urea al 2%, quest'ultimo è identificato come "ottimizzato" (figura 4.23). Si può notare come la presenza dei reagenti sia quasi del tutto eliminata e il pattern appaia adeguatamente puro. I riflessi presenti nel pattern nero, ovvero quello preparato con la miscela standard utilizzata per la cristallizzazione per raffreddamento, prima di 10° in  $2\theta$ , a circa 13°, 15°, 20°, 25°, 26° e 40° in  $2\theta$  non risultano più nel pattern rosso, ovvero quello del campione preparato con la soluzione di urea nella miscela di cristallizzazione.

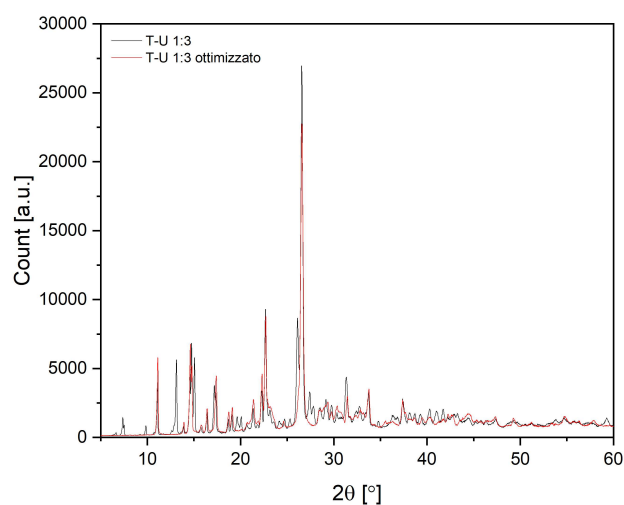


FIGURA 4.23: Pattern campioni di acido trimesico-urea 1:3 a confronto.

Per i campioni di acido trimesico-urea cristallizzati mediante la tecnica LAG sono stati investigati tre casi utilizzando come rapporto tra i reagenti quello di 1:3, riscontrato essere il caso con la formazione di un prodotto nuovo della cristallizzazione per raffreddamento, con aggiunta crescente dei solventi in rapporto uguale (acqua ed etanolo). Si è osservata una netta differenza tra i pattern di diffrazione dei campioni preparati con 4 e 6 gocce rispetto a quello del campione preparato con 8 gocce (figura 4.24).

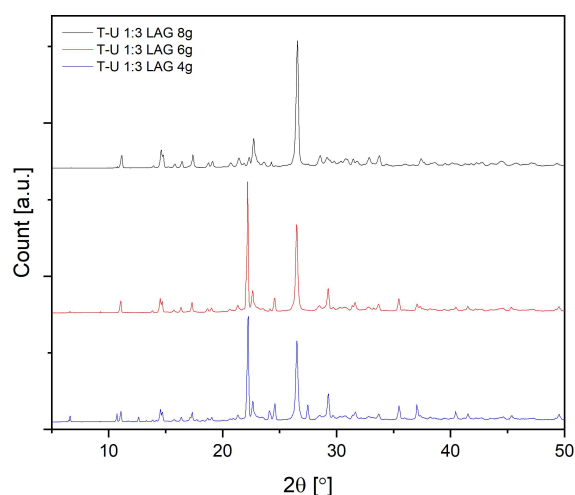


FIGURA 4.24: Pattern campioni di acido trimesico-urea 1:3 con tecnica LAG.

Nella figura 4.25 è riportato il pattern di diffrazione del campione di acido trimesico-urea 1:3 preparato con tecnica LAG con 8 gocce di solvente (4 di acqua e 4 di etanolo). Si può notare come i riflessi a circa  $15^\circ$  e  $26^\circ$  in  $2\theta$ , presenti anche nel campione preparato mediante cristallizzazione per raffreddamento, non siano presenti nei pattern di diffrazione dei reagenti.

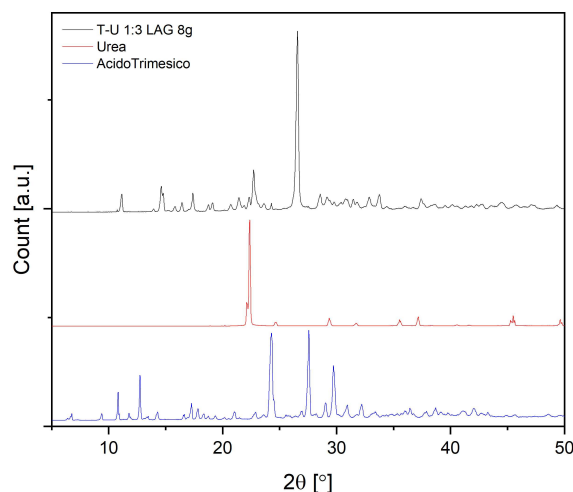


FIGURA 4.25: Pattern campione di acido trimesico-urea 1:3 con tecnica LAG con 8 gocce e reagenti.

Il confronto tra i campioni preparati mediante cristallizzazione per raffreddamento ha mostrato un netto miglioramento del pattern del campione prodotto utilizzando come miscela la soluzione acquosa di urea al 2% e l'etanolo rispetto a quello preparato con la miscela di acqua e etanolo. Visto il miglioramento ottenuto si è deciso di provare a cristallizzare il caso migliore della tecnica LAG con anch'esso la soluzione di acquosa di urea al 2% ed etanolo. Il campione è stato sintetizzato utilizzando 4 gocce di etanolo e 4 gocce della soluzione acquosa di urea al 2%, il pattern è stato successivamente confrontato con il corrispondente ottenuto mediante cristallizzazione per raffreddamento.

I due pattern di diffrazione sono stati sovrapposti e come si può notare nella figura 4.26 sono pressoché identici. Si è quindi ottenuto lo stesso prodotto, il campione di acido trimesico-urea in rapporto 1:3, sia mediante tecnica di cristallizzazione per raffreddamento da soluzione che mediante tecnica LAG da solido.

È stato raccolto lo spettro FT-IR dell'urea (figura 4.27) e sono state assegnate le rispettive bande in accordo con il lavoro di Manivannan e Rajendran.

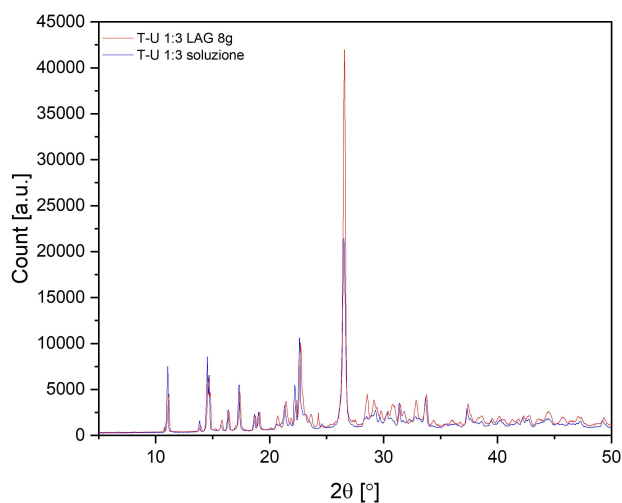


FIGURA 4.26: Pattern campioni di acido trimesico-urea 1:3 mediante cristallizzazione per raffreddamento e LAG.

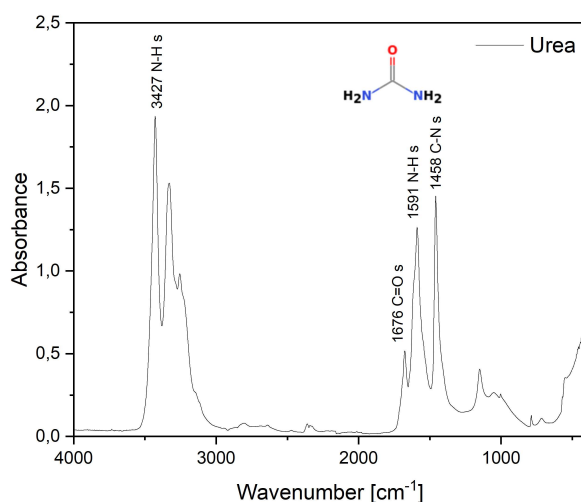


FIGURA 4.27: Spettro FT-IR dell'urea.

Sono stati raccolti gli spettri FT-IR dei campioni in rapporto 1:3 preparati mediante cristallizzazione per raffreddamento e mediante tecnica LAG con 4,6 e 8 gocce. È riportato nella figura 4.28 lo spettro FT-IR del campione sintetizzato mediante cristallizzazione per raffreddamento a confronto con i reagenti. Si può notare come, nello spettro del campione acido trimesico-urea, ci sia uno sdoppiamento della banda a circa 1625 cm<sup>-1</sup> e l'assenza della banda a circa 1400 cm<sup>-1</sup> presente invece nello spettro FT-IR dell'acido trimesico e relativa al gruppo C=O. Si può ipotizzare si siano stabiliti dei legami ad idrogeno tra i gruppi amminici dell'urea e i gruppi carbossilici dell'acido trimesico, che suggeriscono la formazione di un co-cristallo.

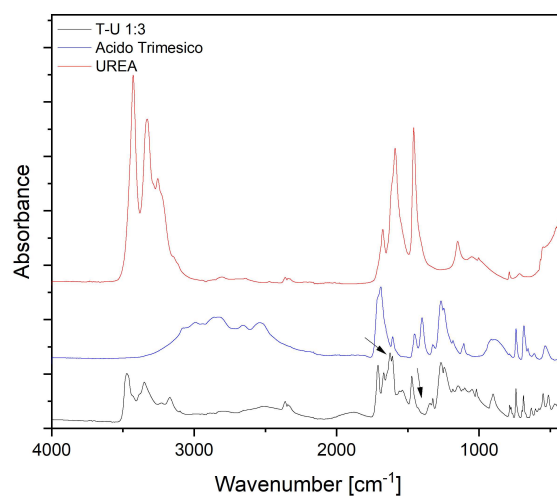


FIGURA 4.28: Spettri FT-IR del campione acido trimesico-urea 1:3 mediante cristallizzazione per raffreddamento e reagenti.

Si sono analizzati anche i tre campioni preparati mediante tecnica LAG con l'aggiunta di 4, 6 e 8 gocce di solvente (figura 4.29). Per quanto nel campione preparato mediante tecnica LAG con 8 gocce risultino, nel pattern di diffrazione, più fasi appartenenti ad un prodotto e meno relative ai reagenti, rispetto ai campioni preparati con 6 e 4 gocce, osservando gli spettri FT-IR dei tre campioni si può notare come la preparazione del campione mediante tecnica LAG sia riproducibile. Non sono presenti evidenti differenze tra i tre spettri FI-IR dei campioni preparati con 4, 6 e 8 gocce.

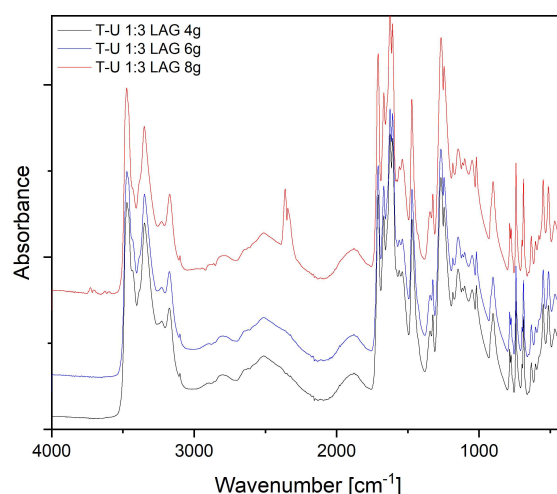


FIGURA 4.29: Spettri FT-IR del campione acido trimesico-urea 1:3 mediante tecnica LAG e reagenti.

Si sono infine confrontati gli spettri FT-IR, in rapporto 1:3, del campione preparato mediante cristallizzazione per raffreddamento, tecnica LAG con 8 gocce e una miscela meccanica di acido trimesico e urea in cui i due componenti non reagiscono. Si può notare nel grafico in figura 4.30 come gli spettri dei due campioni preparati con le due tecniche di cristallizzazione siano uguali e come nello spettro della miscela meccanica sia presente la banda a circa  $1400\text{ cm}^{-1}$  che risulta assente nei due campioni.

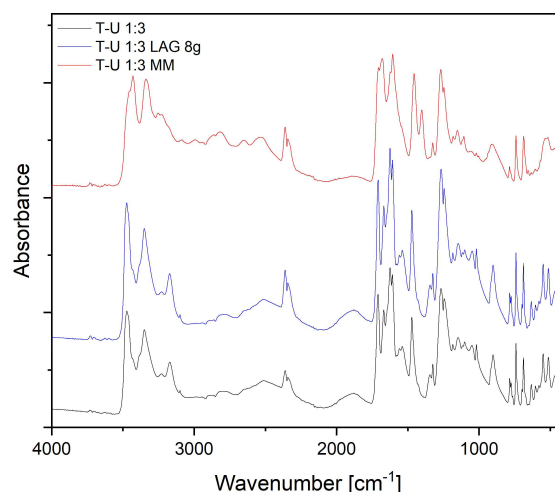


FIGURA 4.30: Spettri FT-IR dei campione acido trimesico-urea 1:3 a confronto.

Avendo, nel caso del campione acido trimesico-urea in rapporto 1:3, raggiunto l'obiettivo di ottenere di un composto probabilmente puro e con uno spettro FT-IR che suggerisce la formazione di un co-cristallo, si è deciso di provare ad indicizzarne la cella e a risolverne la struttura, come dettagliato nel Capitolo 5.

## Capitolo 5

# Risoluzione strutturale del co-cristallo acido trimesico-urea 1:3

Nel Capitolo 4 sono stati analizzati i pattern di diffrazione dei campioni preparati per evidenziare la presenza di un prodotto. Avendo ottenuto un pattern di diffrazione di un composto puro, ovvero un campione di acido trimesico-urea in rapporto 1:3 preparato mediante cristallizzazione per raffreddamento e tecnica LAG (figura 4.26), si è deciso di procedere con un tentativo di risoluzione strutturale mediante il metodo del simulated annealing, come precedentemente descritto nella sezione 2.3.

La risoluzione strutturale è stata condotta sul campione di acido trimesico-urea 1:3 poiché la purezza è una condizione necessaria per la risoluzione strutturale da polveri.

Prima di procedere alla risoluzione strutturale è stata condotta un'approfondita ricerca nella letteratura scientifica per controllare la presenza della struttura risolta all'interno dei database cristallografici. L'unico riferimento trovato è relativo ad uno studio (Videnova-Adrabińska, 1996) in cui è discussa l'importanza del legame ad idrogeno nelle geometrie dei cristalli.

In questo articolo gli autori hanno svolto una fine discussione dei legami ad idrogeno che intercorrono tra le molecole della struttura e hanno riportato i parametri di cella della struttura da loro ottenuti, senza riportare le coordinate geometriche della stessa. Si è quindi deciso di procedere con la risoluzione strutturale.

A partire dal pattern di diffrazione si è utilizzato il software "Expo2014" per procedere nei vari passaggi che portano alla risoluzione strutturale mediante simulated annealing.

I riflessi del pattern ottenuto in questo lavoro sono stati indicizzati per poter confrontare i parametri di cella con quelli riportati nella letteratura e quindi confermare se si è in presenza di una nuova fase.

Viene svolto un affinamento con il fit polinomiale Le Bail per cui viene fatta un'interpolazione per avere la conferma che i parametri di cella trovati siano corretti per il pattern raccolto sperimentalmente. Per l'affinamento è stato utilizzato il pattern del campione acido trimesico-urea 1:3 sintetizzato mediante cristallizzazione per raffreddamento. In figura 5.1 il pattern blu è quello raccolto sperimentalmente, quello rosso è calcolato con il metodo Le



Bail e in viola è la differenza tra i due. La differenza risulta minima e quindi la cella trovata risulta corretta per il campione acido trimesico-urea 1:3 e il fit Le Bail può essere usato per estrarre le intensità dei vari riflessi.

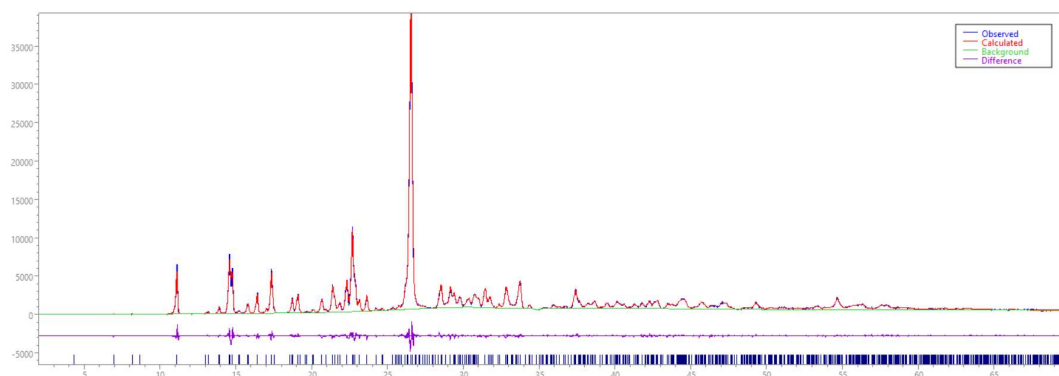


FIGURA 5.1: Affinamento Le Bail con i soli lati di cella come parametri strutturali ottimizzati del pattern acido trimesico-urea.

I parametri di cella ottenuti sono come lati:  $a = 6.731(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 20.456(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 14.150(1) \text{ \AA}$  e come angoli:  $\alpha = 90.00^\circ$ ,  $\beta = 115.72(3)^\circ$ ,  $\gamma = 90.00^\circ$  (tabella 5.1). In particolare ciò che risulta differente rispetto ai dati di letteratura è l'angolo beta, il quale è pari a  $92.70(6)^\circ$ .

Unità Asimmetrica	1T-3U		
Lati Cella	$a: 6.731(1) \text{ \AA}$	$b: 20.456(3) \text{ \AA}$	$c: 14.150(1) \text{ \AA}$
Angoli Cella	$\alpha: 90.00^\circ$	$\beta: 115.72(3)^\circ$	$\gamma: 90.00^\circ$
Gruppo Spaziale	P21/c 1 centrosimmetrico		
Volume Cella	$1755.29 \text{ \AA}^3$		
Contenuto Cella	H 72 C 48 N 24 O 36		
Volume per atomo	$18.158 \text{ \AA}^3$		
Rp	6.490 %		
Rwp	8.966 %		

TABELLA 5.1: Riepilogo parametri di cella per il co-cristallo acido trimesico-urea 1:3.

Successivamente viene determinato il gruppo spaziale, che per il campione di questo lavoro risulta P21/c ed è differente da quello ritrovato in letteratura che è P21/n. Avendo determinato il gruppo spaziale si può partire con la risoluzione strutturale mediante simulated annealing. Questo consiste nel il modello tridimensionale fornito nello spazio diretto cercando di minimizzare le differenze tra il pattern calcolato e quello sperimentale raccolto. Come modello per il campione di acido trimesico-urea si è utilizzata l'unità asimmetrica composta da una molecola di acido trimesico e tre molecole di urea (figura 5.2), in conformità con il rapporto di 1:3 utilizzato per la preparazione del campione ottenuto puro.

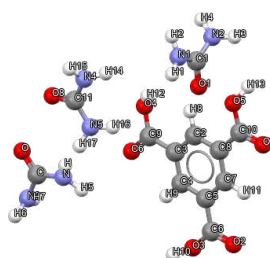


FIGURA 5.2: Unità asimmetrica del co-cristallo acido trimesico-urea.

Nella figura 5.3 è riportata la cella unitaria del co-cristallo acido trimesico-urea 1:3 ottenuta al termine della procedura, ovvero l'unità asimmetrica ripetuta nella cella dagli elementi di simmetria presenti.

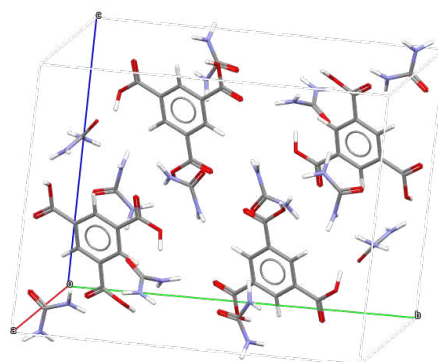


FIGURA 5.3: Cella unitaria del co-cristallo acido trimesico-urea.

Attraverso il software "Mercury", fornito dal CCDC (The Cambridge Crystallographic Data Centre), è stata analizzata la struttura e l'impacchettamento del co-cristallo per poter osservare le interazioni che regolano il packing molecolare. Nello spazio l'unità asimmetrica è così disposta: una molecola di acido trimesico e due di urea sono complanari e la terza molecola di urea con il gruppo carbonile complanare alle tre molecole precedenti e i gruppi amminici perpendicolari al piano in cui giacciono le altre (figura 5.4).

Sono state misurate le distanze e gli angoli che caratterizzano la struttura. Nelle immagini in figura 5.4 si può notare la presenza di piani sfalsati che implicano l'affacciamento di una molecola di acido trimesico rispetto ad una molecola di urea del piano adiacente che a sua volta si affaccia ad una molecola di acido trimesico nel piano successivo. La distanza tra il primo piano con l'acido trimesico e il secondo con l'urea è pari a 3.324 Å con un angolo di 79.99° e la distanza tra il secondo piano con l'urea e il terzo piano con l'acido trimesico è pari a 3.492 Å con un angolo di 90.14° (figura 5.5). Nella struttura si vengono a formare dei legami ad idrogeno tra le molecole complanari, I

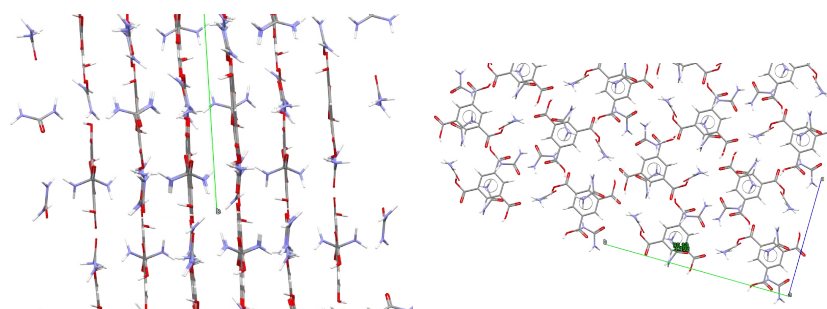


FIGURA 5.4: Posizionamento tridimensionale delle molecole del co-cristallo.

gruppi amminici delle molecole di urea poste perpendicolari ai piani regolano le interazioni tra essi.

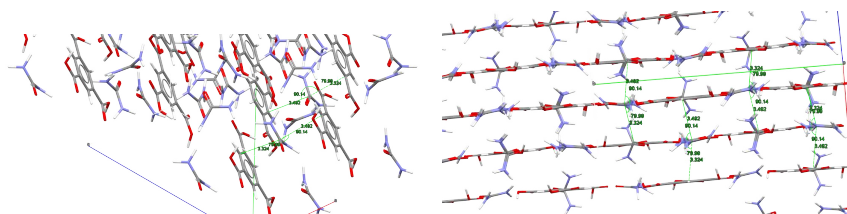


FIGURA 5.5: Distanze ed angoli interplanari tra i piani di acido trimesico e urea.

Nella figura 5.6 è riportato l'affinamento strutturale mediante metodo Rietveld svolto successivamente alla risoluzione strutturale. Il pattern blu è quello raccolto del campione preparato durante il lavoro, il pattern rosso è quello calcolato e quello viola è la differenza tra i due. La differenza risulta minima, per cui vengono confermati i parametri di cella e la struttura ottenuta per il campione di acido trimesico-urea in rapporto 1:3. Sono stati ottenuti valori di  $R_p$  pari a 6.490 % e di  $R_{w_p}$  pari a 8.966 % (tabella 5.1), entrambi i valori sono minori del 10% indice di un buon accordo e fondatezza della struttura ottenuta.

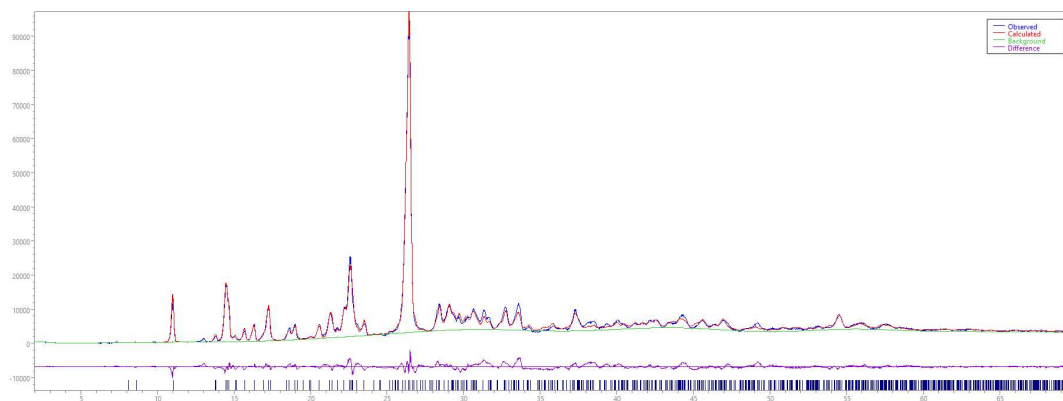


FIGURA 5.6: Affinamento strutturale mediante metodo Rietveld del pattern trimesico-urea.

## Capitolo 6

### Conclusioni

Sono stati utilizzate diverse tecniche di cristallizzazione con l'obiettivo di sintetizzare dei co-cristalli partendo da molecole idrossilate, da utilizzare come building block, quali la quercetina e l'acido trimesico. Queste due molecole sono state combinate con dei sottoinsiemi dei 18 coformer scelti poiché teoricamente adatti ad interagire favorevolmente, grazie all'utilizzo di diverse tecniche di cristallizzazione (cristallizzazione per evaporazione del solvente, cristallizzazione per raffreddamento e tecnica LAG (Liquid Assisted Grinding)). Tali combinazioni hanno portato a circa 150 campioni che sono stati successivamente studiati con tecniche di diffrazione da raggi X da polveri e FT-IR.

Tutti i campioni sono stati analizzati per identificare quelli che presentavano riflessi non attribuibili ai reagenti di partenza, indicativi della formazione di un nuovo prodotto o di un materiale la cui struttura non è disponibile nei database cristallografici. Nel dettaglio in due casi si è arrivati ad un campione puro la cui struttura è stata risolta mediante diffrazione da polveri.

Il primo caso riguarda l'acido tiaprofenico, un coformer utilizzato per la preparazione di un ipotetico co-cristallo di quercetina-acido tiaprofenico. Esso non ha portato ad un composto puro, ma si è notata la mancanza in letteratura della sua struttura cristallina. Si è quindi portato a termine il processo di risoluzione strutturale mediante il metodo del simulated annealing. Questo studio, essendo certamente originale ma non centrale alla discussione della tesi, è discusso nell'Appendice A.

Il secondo caso riguarda l'acido trimesico, i cui risultati più soddisfacenti sono stati riscontrati utilizzando la cristallizzazione per raffreddamento e la tecnica LAG (Liquid Assisted Grinding). Nello specifico, dopo ripetute prove con diverse stechiometrie e metodi di cristallizzazione, il campione acido trimesico-urea in rapporto 1:3 è quello che portato al risultato migliore, poiché il suo pattern è risultato corrispondente ad una nuova fase diversa dai reagenti, riproducibile e presumibilmente pura per questo campione, è stato riscontrato uno spettro FT-IR diverso dalla miscela meccanica dei reagenti, che suggerisce la formazione di un co-cristallo.

Il pattern del campione acido trimesico-urea in rapporto 1:3 è stato successivamente utilizzato per la risoluzione strutturale. Si sono ottenuti i parametri di cella dopo l'indicizzazione e, infine, la posizione delle molecole nella cella

unitaria, con il metodo del simulated annealing, partendo da un'unità asimmetrica composta da una molecola di acido trimesico e tre molecole di urea, così scelta in base alla stechiometria utilizzata per la preparazione del campione.

Di seguito sono riportati i parametri di cella (tabella ??) e la cella unitaria del co-cristallo acido trimesico-urea 1:3 ottenuta (figura 6.1).

Unità Asimmetrica	1T-3U		
Lati Cella	a: 6.73107 Å	b: 20.45627 Å	c: 14.15012 Å
Angoli Cella	alpha: 90.00°	beta: 115.72(3)°	gamma: 90.00°
Gruppo Spaziale	P21/c 1	centrosimmetrico	
Volume Cella	1755.29 Å <sup>3</sup>		
Contenuto Cella	H 72 C 48 N 24 O 36		
Volume per atomo	18.158 Å <sup>3</sup>		
Rp	6.490 %		
Rwp	8.966 %		

TABELLA 6.1: Dati cristallografici rilevanti per il co-cristallo acido trimesico-urea 1:3.

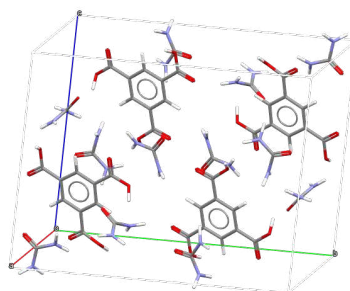


FIGURA 6.1: Cella unitaria del co-cristallo acido trimesico-urea.

Nella struttura così risolta (figura 6.1, si osservano dei piani sfalsati che implicano l'affacciamento di una molecola di acido trimesico rispetto ad una molecola di urea del piano adiacente. A sua volta, questa molecola di urea si affaccia con una molecola di acido trimesico del piano successivo. Le molecole dell'unità asimmetrica si dispongono nel seguente modo: una molecola di acido trimesico e due di urea complanari e la terza molecola di urea con il gruppo carbonile complanare, alle tre molecole precedenti, e i gruppi amminici perpendicolari al piano. Questi ultimi permettono le interazioni tra i piani, mentre tra le molecole complanari si osservano dei legami ad idrogeno. Sono stati ottenuti valori di Rp pari a 6.490 % e di Rwp pari a 8.966 % (tabella 6.1), entrambi i valori sono minori del 10% indice di un buon accordo e fondatezza della struttura trovata.

## Appendice A

### Acido tiaprofenico

Durante le analisi sui campioni di quercetina-acido tiaprofenico, nonostante il fallimento nell'ottenimento di co-cristalli, è stata osservata la formazione di materiale policristallino dell'acido tiaprofenico ( $C_{14}H_{12}O_3S$ , figura A.1). L'analisi di questi cristalli ha evidenziato l'assenza di dati strutturali disponibili in letteratura, costituendo un risultato nuovo. Questi ultimi, sebbene non rappresentino un risultato rilevante per l'obiettivo iniziale della tesi, vengono analizzati in questa Appendice. Essendo stato il primo lavoro di risoluzione strutturale vi è stato il contributo e il supporto del Dottor Mattia Lopresti.

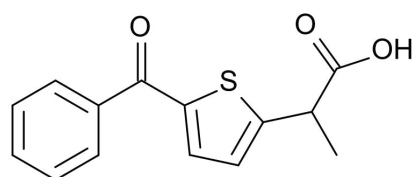


FIGURA A.1: Acido tiaprofenico.

Come spiegato nel Capitolo 5 il pattern di diffrazione raccolto viene indicizzato e affinato con il fit Le Bail per confermare che i parametri di cella trovati sono compatibili con il campione. Nella figura A.2 il pattern blu è quello raccolto sperimentale, quello rosso quello calcolato con il fit Le Bail e quello viola la differenza tra i due.

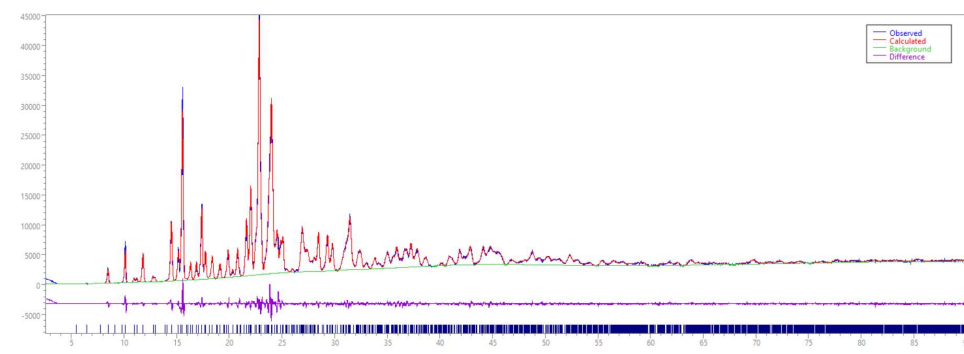


FIGURA A.2: Affinamento Le Bail con i soli lati di cella come parametri strutturali ottimizzati del pattern dell'acido tiaprofenico.

I parametri di cella ottenuti sono come lati:  $a=11.435 \text{ \AA}$ ,  $b=13.625 \text{ \AA}$ ,  $c=16.180 \text{ \AA}$  e come angoli:  $\alpha=90.000^\circ$ ,  $\beta=94.452^\circ$ ,  $\gamma=90.000^\circ$  (tabella A.1).

Unità Asimmetrica			
Lati Cella	a: 11.435 Å	b: 13.625 Å	c: 16.180 Å
Angoli Cella	alpha: 90.000°	beta: 94.452°	gamma: 90.000°
Gruppo Spaziale	P 12/c 1	centrosimmetrico	
Volume Cella	2513.268 Å <sup>3</sup>		
Contenuto Cella	H 96 C 112 O 24 S 8		
Volume per atomo	17.952 Å <sup>3</sup>		
Rp	7.308 %		
Rwp	10.578 %		

TABELLA A.1: Riepilogo parametri di cella per l'acido tiaprofenico.

È stato determinato il gruppo spaziale che per l'acido tiaprofenico è P 12/c. Dopo la determinazione del gruppo spaziale si è passata alla risoluzione strutturale da polveri mediante simulated annealing. Come modello per la risoluzione è stata utilizzata l'unità asimmetrica formata da una miscela racemica dell'acido tiaprofenico, quindi una coppia formata da una molecola dell'enantiomero R e una molecola dell'enantiomero S (figura A.3). Si è utilizzata la miscela racemica poiché i risultati ottenuti utilizzando solamente l'enantiomero R o solamente l'enantiomero S risultavano peggiori di quelli per la miscela.

L'acido tiaprofenico, pur essendo una molecola relativamente semplice, presenta un'insolita mancanza di dati strutturali in letteratura. Questa assenza potrebbe essere giustificata dalla particolarità strutturale della presenza simultanea dei due enantiomeri all'interno della unità asimmetrica.

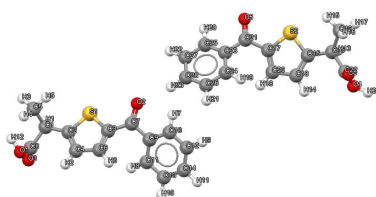


FIGURA A.3: Unità asimmetrica dell'acido tiaprofenico.

Di seguito è riportata la cella unitaria dell'acido tiaprofenico, ovvero l'unità asimmetrica ripetuta nella cella dagli elementi di simmetria presenti (figura A.4).

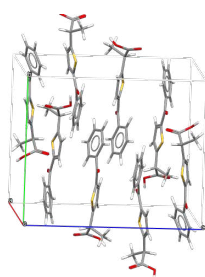


FIGURA A.4: Cella unitaria dell'acido tiaprofenico.

Dalla struttura si osserva la presenza di layer alternati per massimizzare le interazioni di tipo  $\pi$  che sono le principali interazioni osservabili nella struttura (figura A.5).

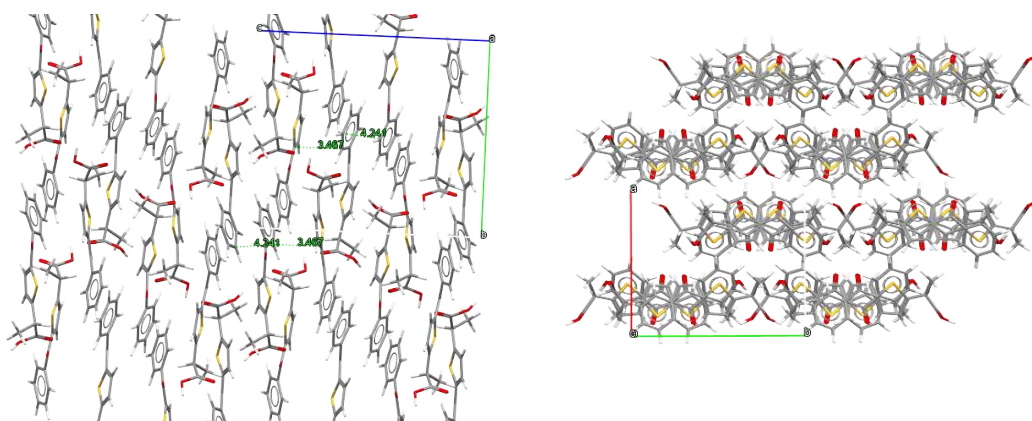


FIGURA A.5: Posizionamento tridimensionale delle molecole dell'acido tiaprofenico.

Le sovrapposizioni risultano tra anelli aromatici di circa 4 Å, nello specifico le interazioni sono tra due anelli benzenici e un anello benzenico e un anello tiofenico. (figura A.6).



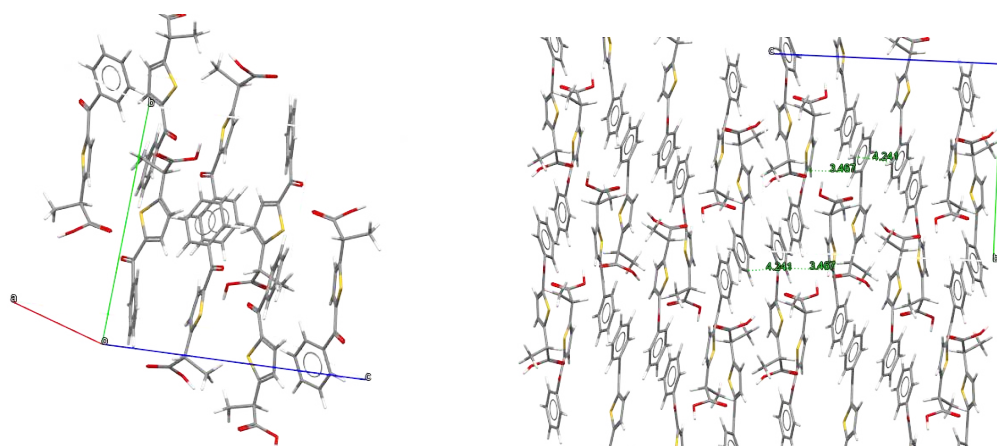


FIGURA A.6: Distanze i tra i piani dell'acido tiaprofenico.

Nella figura A.7 è riportato l'affinamento strutturale mediante metodo Rietveld svolto successivamente alla risoluzione strutturale. Il pattern blu è quello sperimentale del campione preparato durante il lavoro, il pattern rosso è quello calcolato e quello viola è la differenza tra i due. La differenza risulta minima, per cui vengono confermati i parametri di cella e la struttura trovata sono esatte per il campione di acidi tiaprofenico.

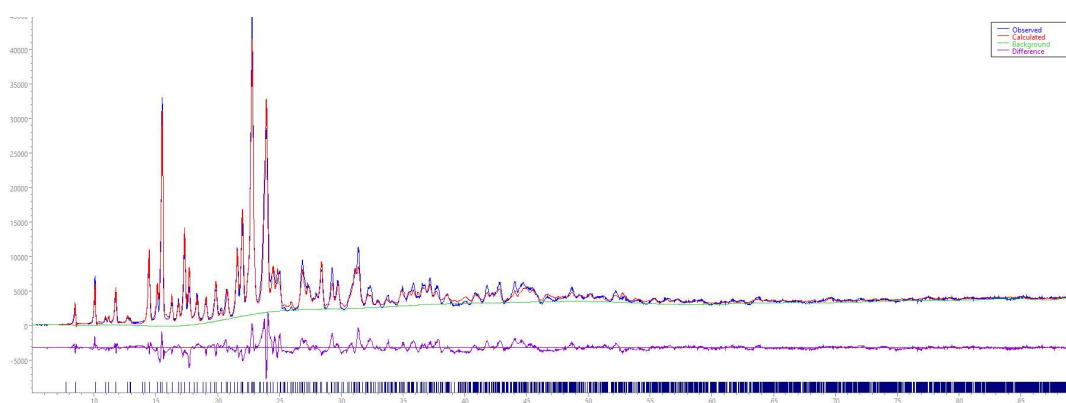


FIGURA A.7: Affinamento strutturale mediante metodo Rietveld del pattern dell'acido tiaprofenico.

## *Ringraziamenti*

Non sono brava a spiegarmi con le parole, ma spero che tutte le persone che citerò sappiano quanto importati sono per me.

Ringrazio il Professor Marco Milanese e il Dottor Mattia Lopresti per avermi dato la possibilità di svolgere questo lavoro di tesi. Ringrazio per la fiducia che hanno riposto in me e i consigli durante tutto il percorso.

Ringrazio i miei genitori, Giorgia e Giovanni, per tutto ciò che hanno fatto per me durante questi anni di università e per avermi spronato a dare sempre il meglio.

Ringrazio le mie miglior amiche Alessia e Marta, diventate ormai delle sorelle acquisite, sempre presenti e pronte a condividere i drammi universitari.

Ringrazio tutti i miei amici, ma soprattutto Ruggero, Andrea, Nicolò e Davide per le serate passate su Discord a chiacchierare e divertirci. ANDATE TIGRI!

Ringrazio Federica, Andrea e Giorgia, amici trovati che hanno reso meno noiosi gli anni in magistrale.

## Elenco delle figure

2.1	Rappresentazione grafica della Legge di Bragg. . . . .	7
2.2	Rappresentazione della geometria Bragg-Brentano. . . . .	8
2.3	Rappresentazione del funzionamento dell'interferometro. . . . .	9
3.1	Reagenti fissi utilizzati. . . . .	10
4.1	Pattern del campione di quercetina-acido tannico e reagenti. . . . .	16
4.2	Pattern del campione di quercetina-eusolex232 e reagenti. . . . .	17
4.3	Pattern dei campioni di quercetina-acido citrico in diverse condizioni. . . . .	17
4.4	Pattern dei campioni di quercetina-acido salicilico e reagenti. Impurezza indicata dalla freccia. . . . .	18
4.5	Pattern dei campioni di quercetina-urea e reagenti. Impurezza indicata dalla freccia. . . . .	19
4.6	Pattern dei campioni di quercetina-acridina e reagenti da soluzione evaporata. Impurezza indicata dalla freccia. . . . .	20
4.7	Pattern dei campioni di quercetina-acridina e reagenti da tecnica LAG. Impurezza indicata dalla freccia. . . . .	20
4.8	Pattern della quercetina pre e post ricristallizzazione. Impurezza indicata dalla freccia. . . . .	21
4.9	Pattern campione di acido trimesico-acridina e reagenti. . . . .	22
4.10	Pattern campione di acido trimesico-salicilico e reagenti. . . . .	23
4.11	Spettro FT-IR acido trimesico. . . . .	23
4.12	Spettro FT-IR acido salicilico. . . . .	24
4.13	Spettro FT-IR del campione acido trimesico-acido salicilico mediante tecnica LAG e reagenti. . . . .	25
4.14	Pattern campione di acido trimesico-CTAB e reagenti. . . . .	25
4.15	Pattern campioni di acido trimesico-CTAB per cristallizzazione per raffreddamento. . . . .	26
4.16	Pattern campioni di acido trimesico-CTAB mediante cristallizzazione con tecnica LAG. . . . .	27
4.17	Pattern campione di acido trimesico-CTAB e reagenti. . . . .	27
4.18	Pattern campione di acido trimesico-CTAB a confronto. . . . .	28
4.19	Spettro FT-IR del CTAB. . . . .	29
4.20	Spettro FT-IR del campione acido trimesico-CTAB e reagenti. . . . .	29
4.21	Pattern campioni di acido trimesico-urea mediante cristallizzazione per raffreddamento. . . . .	30
4.22	Pattern campione di acido trimesico-urea e reagenti. . . . .	30
4.23	Pattern campioni di acido trimesico-urea 1:3 a confronto. . . . .	32

4.24	Pattern campioni di acido trimesico-urea 1:3 con tecnica LAG. . . . .	32
4.25	Pattern campione di acido trimesico-urea 1:3 con tecnica LAG con 8 gocce e reagenti. . . . .	33
4.26	Pattern campioni di acido trimesico-urea 1:3 mediante cristallizza- zione per raffreddamento e LAG. . . . .	34
4.27	Spettro FT-IR dell'urea. . . . .	34
4.28	Spettri FT-IR del campione acido trimesico-urea 1:3 mediante cristal- lizzazione per raffreddamento e reagenti. . . . .	35
4.29	Spettri FT-IR del campione acido trimesico-urea 1:3 mediante tecnica LAG e reagenti. . . . .	35
4.30	Spettri FT-IR dei campione acido trimesico-urea 1:3 a confronto. . . .	36
5.1	Affinamento Le Bail con i soli lati di cella come parametri strtturali ottimizzati del pattern acido trimesico-urea. . . . .	38
5.2	Unità asimmetrica del co-cristallo acido trimesico-urea. . . . .	39
5.3	Cella unitaria del co-cristallo acido trimesico-urea. . . . .	39
5.4	Posizionamento tridimensionale delle molecole del co-cristallo. . . .	40
5.5	Distanze ed angoli interplanari tra i piani di acido trimesico e urea.	40
5.6	Affinamento strutturale mediante metodo Rietveld del pattern trimesico- urea. . . . .	40
6.1	Cella unitaria del co-cristallo acido trimesico-urea. . . . .	42
A.1	Acido tiaprofenico. . . . .	43
A.2	Affinamento Le Bail con i soli lati di cella come parametri strutturali ottimizzati del pattern dell'acido tiaprofenico. . . . .	44
A.3	Unità asimmetrica dell'acido tiaprofenico. . . . .	45
A.4	Cella unitaria dell'acido tiaprofenico. . . . .	45
A.5	Posizionamento tridimensionale delle molecole dell'acido tiaprofe- nico. . . . .	45
A.6	Distanze i tra i piani dell'acido tiaprofenico. . . . .	46
A.7	Affinamento strutturale mediante metodo Rietveld del pattern del- l'acido tiaprofenico. . . . .	46

## Elenco delle tabelle

1.1	Coformer utilizzati con le molecole building block. . . . .	4
4.1	Coformer utilizzati con la quercetina. . . . .	16
4.2	Coformer utilizzati con l'acido trimesico. . . . .	22
5.1	Riepilogo parametri di cella per il co-cristallo acido trimesico-urea 1:3.	38
6.1	Dati cristallografici rilevanti per il co-cristallo acido trimesico-urea 1:3.	42
A.1	Riepilogo parametri di cella per l'acido tiaprofenico. . . . .	44

## Bibliografia

- Chou, C. I. e T. K. Lee (dic. 2001). «A guided simulated annealing method for crystallography». In: *Acta Crystallographica Section A Foundations of Crystallography* 58.1, 42–46. ISSN: 0108-7673. DOI: 10.1107/s0108767301015537. URL: <http://dx.doi.org/10.1107/S0108767301015537>.
- Jaisinghani, Renu Narendra (mag. 2017). «Antibacterial properties of quercetin». In: *Microbiology Research* 8.1. ISSN: 2036-7473. DOI: 10.4081/mr.2017.6877. URL: <http://dx.doi.org/10.4081/mr.2017.6877>.
- Kumar Bandaru, Ravi et al. (nov. 2021). «Recent Advances in Pharmaceutical Cocrystals: From Bench to Market». In: *Frontiers in Pharmacology* 12. ISSN: 1663-9812. DOI: 10.3389/fphar.2021.780582. URL: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2021.780582>.
- Mahalakshmi, G. e V. Balachandran (apr. 2014). «FT-IR and FT-Raman spectra, normal coordinate analysis and ab initio computations of Trimesic acid». In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 124, 535–547. ISSN: 1386-1425. DOI: 10.1016/j.saa.2014.01.061. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.01.061>.
- Manivannan, Mani e Susai Rajendran (nov. 2011). «Investigation of inhibitive action of urea-Zn<sup>2+</sup> system in the corrosion control of carbon steel in sea water». In: *International Journal of Engineering Science and Technology* 3.
- Mirocki, Artur et al. (2022). «Exploring the molecular landscape of multicomponent crystals formed by naproxen drug and acridines». In: *CrystEngComm* 24.39, 6839–6853. ISSN: 1466-8033. DOI: 10.1039/d2ce00890d. URL: <http://dx.doi.org/10.1039/d2ce00890d>.
- Moorthy, Siva et al. (nov. 2023). «Synthesis and fabrication of Cu-trimesic acid MOF anchored sulfonated Poly(2, 5-benzimidazole) membranes for PEMFC applications». In: *International Journal of Hydrogen Energy* 48.92, 36063–36075. ISSN: 0360-3199. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2023.05.362. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.05.362>.
- Socrates, George (2001). *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies*. Wiley.
- Su, Gaoxing, Chi Yang e Jun-Jie Zhu (gen. 2015). «Fabrication of Gold Nanorods with Tunable Longitudinal Surface Plasmon Resonance Peaks by Reductive Dopamine». In: *Langmuir* 31.2, 817–823. ISSN: 1520-5827. DOI: 10.1021/la504041f. URL: <http://dx.doi.org/10.1021/la504041f>.
- Trivedi, Mahendra Kumar, Alice Branton Dahryn Trivedi e Harish Shettigar Khemraj Bairwa (2015). «Fourier Transform Infrared and Ultraviolet-Visible Spectroscopic Characterization of Biofield Treated Salicylic Acid

and Sparfloxacin». In: *Natural Products Chemistry amp; Research* 03.05. ISSN: 2329-6836. DOI: 10.4172/2329-6836.1000186. URL: <http://dx.doi.org/10.4172/2329-6836.1000186>.

Videnova-Adrabińska, Veneta (gen. 1996). «The hydrogen bond as a design element in crystal engineering. Two- and three-dimensional building blocks of crystal architecture». In: *Journal of Molecular Structure* 374.1–3, 199–222. ISSN: 0022-2860. DOI: 10.1016/0022-2860(95)08975-6. URL: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-2860\(95\)08975-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-2860(95)08975-6).