

Facoltà di Scienze
matematiche, fisiche e naturali

**DALLA CHIMICA
SUPRAMOLECOLARE ALLA
NANOFABBRICAZIONE**

David Nicolaas Reinhoudt

Laurea Specialistica Honoris causa
in CHIMICA

Parma, 12 ottobre 2007

*Lectio doctoralis di David Nicolaas Reinhoudt
in occasione del conferimento della Laurea Specialistica Honoris causa
in Chimica*

Introduzione	Pag.	5
I. Chimica e Tecnologia Supramolecolari	“	8
II. Ionofori	“	10
III. Trasporto mediato da vettori	“	11
IV. Sensori per ioni	“	14
V. Catalizzatori supramolecolari biomimetici	“	17
VI. Complessazione di molecole neutre	“	18
VII. Sintesi non covalente	“	20
VIII. Chiralità supramolecolare	“	23
IX. Self-assembly di molecole all’interfaccia solido-liquido	“	24
X. Nanotecnologia	“	26
XI. La chimica a livello della singola molecola	“	31
XII. Molecular printboard e nanofabbricazione	“	33
XIII. Spettroscopia di forza atomica a livello di singola molecola mediante AFM.	“	34
XIV. Nanofabbricazione bottom-up; stampare e scrivere su molecular printboard mediante dendrimeri.	“	37
XV. Soft lithography su printboard molecolari	“	38
XVI. Nanofabbricazione mediante chimica covalente (reversibile) di superficie.	“	42
XVII. Note conclusive	“	45
XVIII. Ringraziamenti	“	47
Bibliografia	“	48

DALLA CHIMICA SUPRAMOLECOLARE ALLA NANOFABBRICAZIONE

David Nicolaas Reinhoudt

Introduzione

La sintesi organica è una delle discipline più creative della Scienza. Da un numero limitato di atomi nella Tavola Periodica, la sintesi organica può creare un numero virtualmente infinito di molecole tutte differenti in forma e proprietà. Attualmente i *Chemical Abstracts* catalogano più di 10 milioni di composti organici, un numero che è in rapida crescita. La moderna sintesi organica è caratterizzata da (stereo)-selettività, complessità di strutture e crescente efficienza delle reazioni chimiche. Uno dei pionieri della sintesi organica moderna, il premio Nobel Robert Burns Woodward, descrisse il suo lavoro nella sua *Nobel Lecture* nel 1965 come “L’Arte della Sintesi Organica” [1]. La rappresentazione grafica di molecole tridimensionali di oggi non è molto diversa dai quadri d’arte moderna.

Ma la sintesi organica è più di un’arte perchè senza i suoi prodotti la vita moderna sarebbe molto diversa.

La sostituzione dei prodotti naturali con composti sintetici iniziò alla fine del XIX secolo, quando i coloranti artificiali sostituirono ed integrarono i pigmenti naturali.

Da allora l’impatto dei composti organici di sintesi è progressivamente aumentato. Con la scoperta dei polimeri cominciò a svilupparsi una nuova classe di materiali che influenza molti aspetti della vita quotidiana. Anche

nelle scienze della vita ed in medicina, i farmaci sintetici dominano il mercato ormai da più di un secolo, con l'aspirina come uno dei più rappresentativi.

Nella sintesi organica nuove molecole sono create attraverso la formazione di legami covalenti tra atomi o gruppi di atomi. Questi legami sono più o meno stabili e la loro rottura, o la reattività indesiderata della molecola con ossigeno o acqua, porta alla decomposizione e alla degradazione del composto. Ciò cambia le proprietà molecolari spesso in modo indesiderato. Di conseguenza la stabilità dei legami covalenti è di primaria importanza per le applicazioni pratiche delle molecole organiche di sintesi.

La forma e la struttura di una molecola sono proprietà importanti che ne determinano il colore (come nelle tinture), il sapore o l'odore. Anche in medicina l'azione di un farmaco può essere sempre di più qualitativamente correlata alla sua forma e struttura, in relazione alle strutture delle proteine, delle membrane e del *DNA*. Perfino piccole differenze nelle strutture tridimensionali delle molecole possono avere un effetto importante sulla loro attività biologica.

Il classico e tragico esempio è la Talidomide, di cui un enantiomero ha l'effetto desiderato di curare la nausea da gravidanza, mentre l'altro causò gravi malformazioni congenite. Nella medicina moderna non è più accettabile usare tali miscele racemiche di molecole e la tendenza è verso molecole enantiopure.

Sebbene Emil Fischer già nel 1894 postulò che la specificità degli enzimi per certi substrati può essere spiegata dal modello chiave-serratura, trascorsero più di 60 anni prima che l'interazione tra le molecole (e specie ioniche) diventasse un argomento di interesse specifico. Nel 1967 Charles Pedersen

della *Dupont* negli Stati Uniti, pubblicò tre articoli molto importanti nei quali descrisse la sintesi di polieteri macrociclici [2]. Le molecole, chiamate eteri corona, hanno una struttura che presenta una cavità interna, nella quale specie cationiche e piccole molecole organiche possono essere legate. Poichè esiste una relazione tra il diametro della cavità e quello dello ione, che determina l'energia di complessazione, esiste la base per un *design* razionale delle proprietà di *binding*. Questa scoperta valse il Premio Nobel in Chimica a Pedersen nel 1987, insieme con Jean Marie Lehn e Donald Cram [3]. Per questa chimica del legame non covalente Jean Marie Lehn ha coniato il termine Chimica Supramolecolare e ha descritto questa disciplina come "*Sociologia Molecolare*". Di fatto è questa interazione tra le molecole che determina le proprietà fondamentali della materia quali il punto di fusione o di ebollizione, il carattere idrofilico o idrofobico, etc. Essa determina anche, attraverso l'interazione con le biomolecole, tossicità, attività biologica, odore e sapore.

I. Chimica e Tecnologia Supramolecolari

Quest'anno commemoriamo il quarantesimo anniversario della pubblicazione da parte di Charles Pedersen, nel 1967, dei suoi tre classici lavori sugli eteri corona e sulle loro proprietà di complessazione dei cationi. In questi quarant'anni il campo della chimica supramolecolare si è sviluppato enormemente ed il suo impatto ha oltrepassato i confini della chimica per arrivare alla scienza dei materiali, alla biologia, alla medicina ed in particolare alla nanotecnologia.

Il mio coinvolgimento in questo settore di ricerca cominciò nel 1971, lavorando nei laboratori della Shell ad Amsterdam. In questo lavoro darò una panoramica dei contributi del mio gruppo all'Università del Twente, dove ho continuato la mia ricerca dal 1975. La mia motivazione personale a svolgere ricerca nell'ambito della chimica supramolecolare fu la possibilità di usare il *design* molecolare per risolvere problemi pratici. E' stato l'uso delle molecole come strumento che fu, ed è ancora, così attraente.

Fin quasi dall'inizio, la chimica supramolecolare è stata associata con possibili applicazioni grazie alle interazioni selettive tra le molecole, sulla base della forma. Queste applicazioni richiedono la riproduzione delle proprietà molecolari ad un livello macroscopico e portano a nuovi dispositivi e materiali.

Nella prima parte di questa tesi descriverò il nostro lavoro sulla sintesi di recettori molecolari e le loro applicazioni nella realizzazione di sensori, nel trasporto attraverso le membrane, nel trattamento delle scorie nucleari e nella sintesi di enzimi artificiali. Nella seconda parte tratterò la chimica supramolecolare applicata all'ottenimento di nanostrutture non covalenti.

Infine mostrerò che la chimica supramolecolare è la base delle metodologie di nanofabbricazione dal basso verso l'alto (*bottom-up*). Nella chimica supramolecolare usiamo forze tra le molecole e/o ioni che sono molto più deboli di quelle coinvolte nella chimica covalente. In Tabella 1 sono riassunte le differenze tra chimica covalente e non covalente [4].

Tabella 1. Confronto tra chimica **covalente** e **non covalente**

<u>caratteristiche</u>	<u>covalente</u>	<u>non covalente</u>
unità costitutive	atomi	molecole
obiettivo (target)	molecola	supermolecola
tipo di legame	covalente	ionico, di idrogeno, interazioni idrofobiche, coordinative
composizione del ΔG°	$\Delta H^\circ \gg T \Delta S^\circ$	$\Delta H^\circ \sim T \Delta S^\circ$
stabilità cinetica	alta	bassa (strutture dinamiche)
effetto del solvente	secondario	fondamentale

A causa della loro direzionalità, i legami idrogeno hanno un ruolo fondamentale

nella nostra ricerca. Questi possono essere introdotti facilmente in diverse posizioni sulle molecole. Sebbene relativamente deboli, essi sono responsabili delle proprietà uniche dell'acqua, delle strutture complementari del DNA, delle strutture tridimensionali delle proteine, etc. Attraverso l'introduzione di legami idrogeno multipli, l'energia di associazione tra le molecole, o tra molecole e superfici, può essere variata. Questo principio della multivalenza è ampiamente usato in Natura ed ha avuto un ruolo molto importante nel nostro lavoro sulla nanofabbricazione.

II. Ionofori

In biologia le proprietà uniche di complessazione di ionofori naturali furono notate per la prima volta quando fu mostrato che la Valinomicina, un prodotto di fermentazione dei batteri della specie *Streptomyces griseus*, induce un assorbimento altamente selettivo degli ioni potassio e non degli ioni sodio da parte dei mitocondri. Pressman mostrò nel 1964 che questi ionofori agiscono come trasportatori di cationi che sono in grado di far attraversare a questi ultimi le membrane lipidiche. La caratteristica più importante fu la selettività per alcuni ioni [5].

Pertanto Pedersen, quando pubblicò la sintesi di sistemi artificiali con un comportamento di complessazione molto simile, aprì la strada al *design* di molecole con specifiche proprietà di *binding*. Oggi sembra banale sintetizzare grandi molecole macrocicliche ma intorno al 1970 perfino la sintesi di anelli a 8-10 termini costituiva una sfida per la chimica sintetica.

In realtà il motivo dell'inaspettata scoperta di Pedersen degli eteri corona fu la presenza di ioni durante la sintesi. Questi ioni agivano da stampo (*template*) favorendo la formazione di prodotti macrociclici piuttosto che di polimeri. La prima osservazione di Pedersen che gli eteri corona miglioravano la solubilità dei sali, quando il catione aveva dimensioni confrontabili con la cavità, mi ispirò alla Shell nell'uso di eteri corona per la solubilizzazione dei sali che formano depositi durante l'estrazione del petrolio in mare aperto. Al termine di questo progetto eravamo in grado di solubilizzare perfino il solfato di bario, che è estremamente insolubile in acqua, fino a 55 grammi per litro!

III. Trasporto mediato da vettori

Il trasporto selettivo di sali attraverso le membrane biologiche ha ispirato i chimici supramolecolari ad imitare questi sistemi con recettori e membrane artificiali.

Le membrane sintetiche hanno un ruolo importante nelle separazioni su scala industriale. Ad esempio, in collaborazione con il gruppo di Rocco Ungaro a Parma, abbiamo focalizzato la nostra attenzione sulla separazione di specifici ioni da scorie radioattive. Il primo obiettivo è stato la rimozione dello ione $^{137}\text{Cs}^+$ mediante complessazione con uno ionoforo selettivo per il catione Cs^+ . Poiché il $^{137}\text{Cs}^+$ è presente in minor quantità, insieme con un grande eccesso di sodio, la progettazione di uno ionoforo selettivo per il Cs^+ è stata una sfida ardua. Alla fine siamo stati in grado di risolvere questo problema utilizzando come *building block* il calix[4]arene e catene polieteree [6,7].

La progettazione e la sintesi dei recettori calixcorona è stata condotta in collaborazione con il gruppo di Parma ed è stata una studentessa di Parma, Eleonora Ghidini, a portare a termine con successo la sintesi (Figura 1).

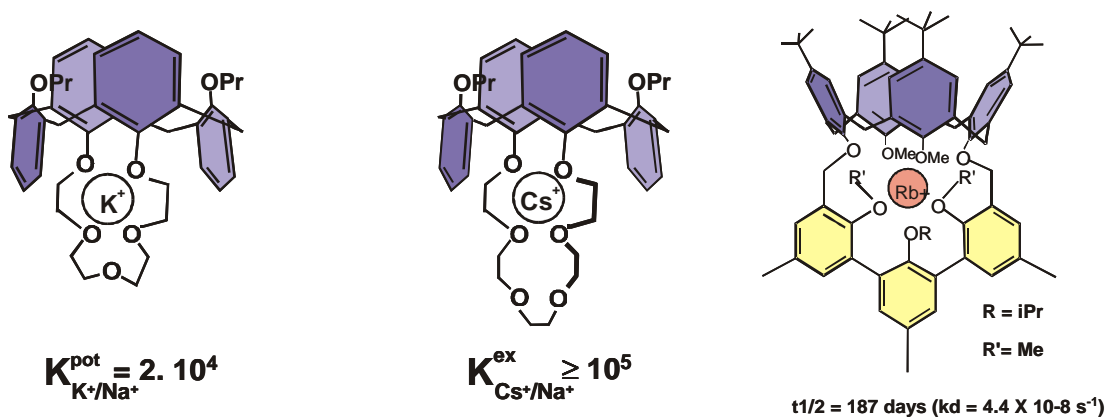


Figura 1. Ionofori per K^+ , Cs^+ e Rb^+

La nostra collaborazione è iniziata intorno al 1985, quando stavamo studiando il problema dell'immobilizzazione dello ione radioattivo $^{81}\text{Rb}^+$ nel rene per studiare il flusso sanguigno renale [8]. Tale applicazione richiede uno ionoforo per il Rb^+ con una proprietà unica, cioè quella di complessare il $^{81}\text{Rb}^+$ molto rapidamente e di rilasciarlo in modo infinitamente lento. Secondo la terminologia di Donald Cram, ciò richiederebbe un grande livello di preorganizzazione, [9] di atomi di ossigeno "duri" ("*hard*") come siti di coordinazione, in una cavità stericamente protetta. Il calix[4]arene fornì esattamente la struttura che stavamo cercando, in combinazione con le unità terfeniliche a ponte. Dopo il completamento della sintesi del calix-sferando (Figura 1), anche questa nell'ambito di un progetto in collaborazione con l'Università di Parma, le proprietà di complessazione furono quelle previste. Questo *design* innovativo, basato sull'uso dei calixareni, è stato l'inizio di una collaborazione durata più di vent'anni. I risultati scientifici sono stati di qualità e quantità estremamente alte. Tale progetto è stato anche il nucleo di una Rete

Europea di Ricerca, descritta da David Gutsche come l' *European (calixarene) Consortium*. Stiamo ancora oggi lavorando sulla separazione degli isotopi da scorie nucleari in un progetto congiunto dell'Unione Europea. Menzionare tutti i progetti comuni esula dallo scopo di questa tesi, ma tornerò a parlare di questa collaborazione discutendo le nucleasi artificiali (*vide infra*).

L'approccio per la sintesi degli ionofori calix-corona e calix-sferandi è un esempio tipico di sintesi modulare, dove mattoni (*building block*) di diversa natura sono combinati insieme. Abbiamo sfruttato con successo questa strategia sintetica perché permette l'introduzione di gruppi funzionali nelle

posizioni desiderate. Una rassegna di alcuni *building block* è rappresentata in Figura 2.

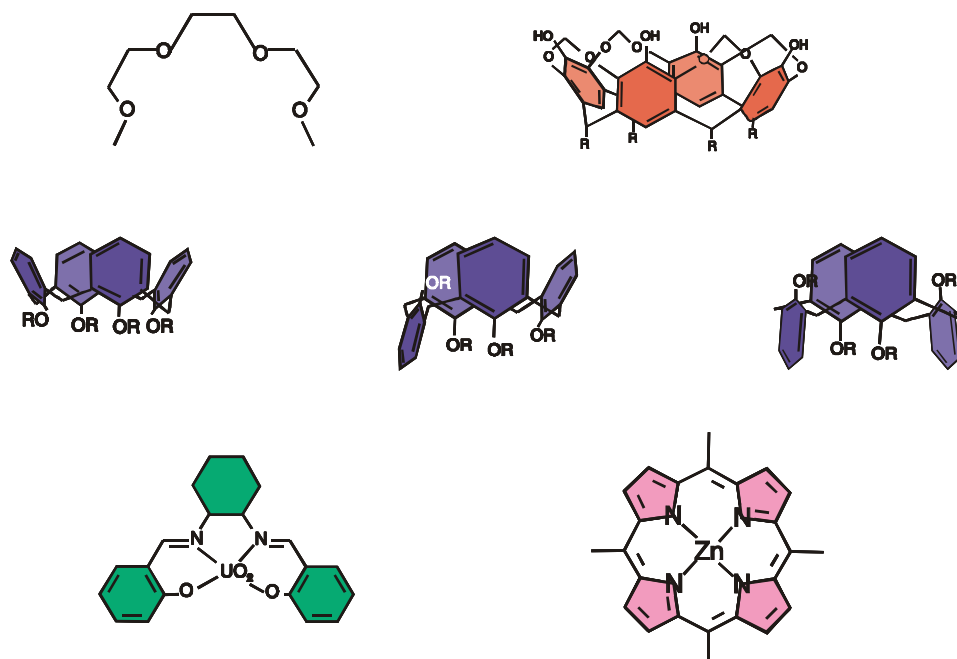


Figura 2. Unità modulari nella sintesi supramolecolare.

Ci sono molti esempi di recettori che sono stati sintetizzati in questo modo, ad esempio per la complessazione simultanea di anioni e cationi [10], dell'ossigeno [11] e dell'urea [12].

IV. Sensori per ioni

La determinazione selettiva di ioni è importante in medicina, ecologia, industria e agricoltura. Ionofori selettivi, se combinati con un elemento trasduttore, possono dare sensori selettivi per ioni, messi a punto per applicazioni specifiche.

Nel 1983 abbiamo cominciato ad investigare la possibile combinazione di ionofori e transistor ad effetto di campo (FET), dispositivi elettronici che furono sviluppati come sensori di pH da Bergveld, mio collega all' Università del Twente. Lo scopo era combinare il riconoscimento molecolare e l'elettronica dello stato solido per trasdurre il processo di riconoscimento molecolare in un segnale elettrico. Nel 1998 abbiamo completato questo progetto con la produzione di un transistor a effetto di campo modificato chimicamente (CHEMFET) per il rilevamento di una serie di cationi ed anioni su scala industriale. Sono stati necessari 15 anni e il lavoro di molti dottorandi e post-doc per poter convertire una semplice idea in un dispositivo funzionante ed affidabile.

Questo processo, che possiamo descrivere come tecnologia supramolecolare, è un tipico esempio del fatto che la nostra ricerca è completa solo quando si riesce a portare un sistema dal livello molecolare a quello macroscopico. La chimica supramolecolare ha spesso suscitato grandi aspettative per le applicazioni, specialmente nella sensoristica, ma il processo di trasduzione del segnale è sempre il più arduo. L'idea originale di combinare recettori molecolari e FET fu proposta da Janata nel 1978 [13]. Egli ricoprì il *gate oxide* con una membrana di PVC, contenente valinomicina e misurò la risposta selettiva del dispositivo allo ione K^+ in presenza di un

largo eccesso di Na^+ . D'altra parte, nonostante i contributi di molti gruppi, la riproducibilità insoddisfacente e il tempo di vita limitato hanno ridotto l'entusiasmo iniziale per i sensori basati su FET [14]. Il processo da noi seguito per risolvere questo problema di trasduzione servirà per illustrare come realizzare dispositivi basati sul riconoscimento molecolare. E' stato relativamente semplice capire perché il concetto di Janata fosse destinato a fallire: non c'era legame chimico fra i componenti essenziali della membrana e la superficie del FET. Inoltre, le interfacce fra la membrana, la soluzione e il FET non erano definite dal punto di vista elettrochimico [15]. Abbiamo risolto il primo problema ancorando tutti i componenti alla membrana e la membrana alla superficie di SiO_2 del FET. La fondamentale mobilità dei componenti elettro-attivi nella membrana è stata studiata mediante spettroscopia ad impedenza e simulazioni con modelli teorici.

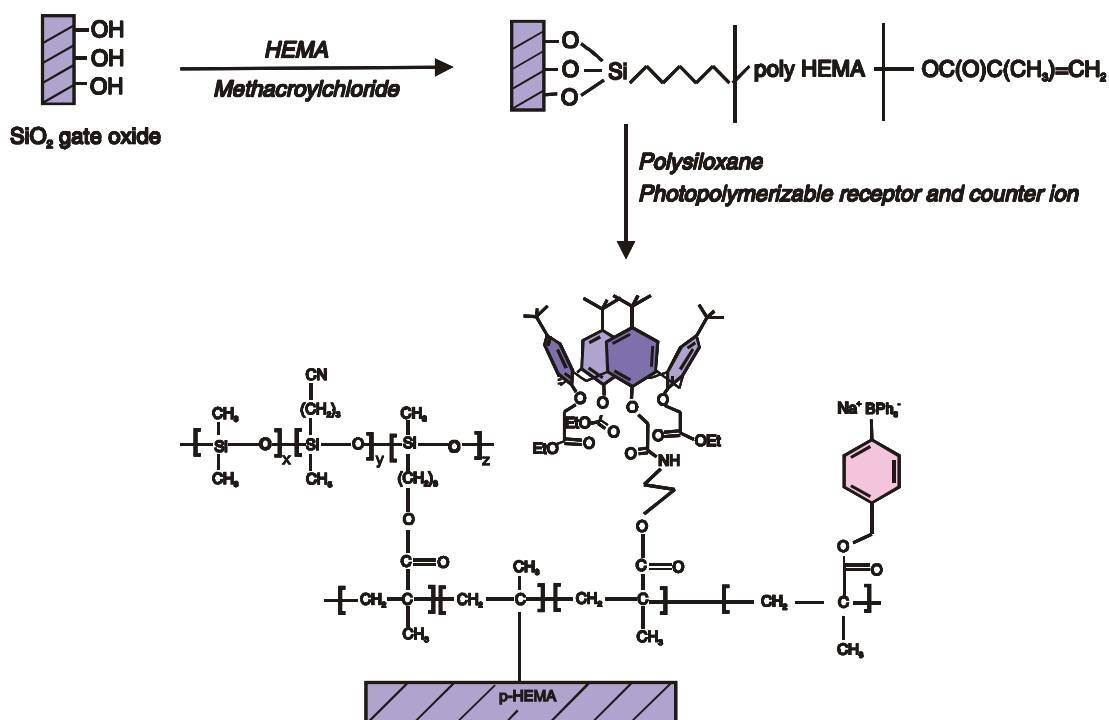


Figura 3. Architettura CHEMFET

Il secondo problema è stato risolto non appena abbiamo capito che il potenziale della superficie interna deve essere tenuto costante. Abbiamo ottenuto ciò inserendo un sottile compartimento tampone fra la membrana idrofobica e la superficie del FET. La configurazione finale dei sensori CHEMFET è illustrata in Figura 3.

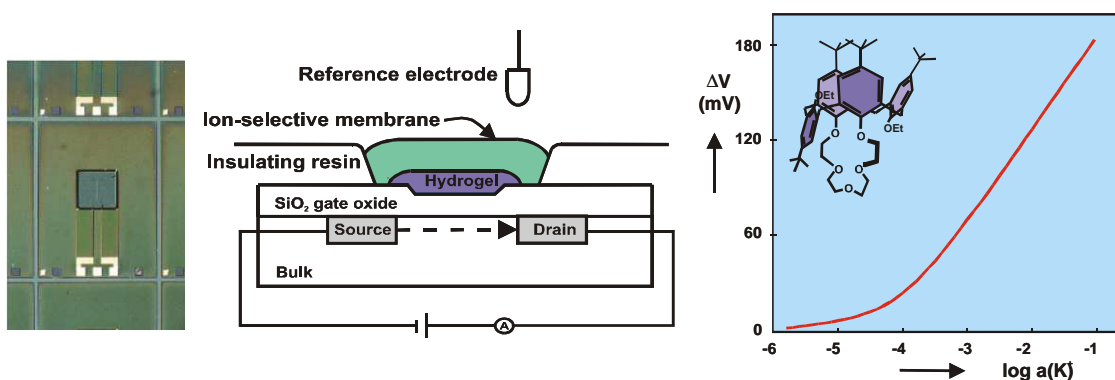


Figura 4. Transistor ad effetto di campo modificato chimicamente e la curva di risposta selettiva per lo ione K^+ .

Una tipica curva di risposta di un recettore di tipo calixcorona selettivo per lo ione K^+ è mostrato in Figura 4. Questo è un esempio interessante di come piccole variazioni nella struttura dello ionoforo si riflettano sulla selettività della risposta. L'ancoraggio dello ionoforo alla matrice della membrana migliora notevolmente il tempo di vita. Questi risultati mostrano che, nonostante il riconoscimento molecolare sia la base per i sensori chimici, il processo di trasduzione non è un aspetto banale del problema. Questo richiede la comprensione fondamentale della generazione del segnale ed un appropriato *design* del materiale.

V. Catalizzatori supramolecolari biomimetici (Enzyme mimics)

Poiché il riconoscimento molecolare è così diffuso in Natura, i processi biologici sono stati una delle maggiori fonti di ispirazione per i chimici supramolecolari. Il trasporto transmembrana e la trasduzione del segnale discussi in precedenza hanno analogie nei sistemi viventi, ma ancora più interessanti sono le trasformazioni chimiche catalizzate da enzimi. L'alta specificità di substrato degli enzimi, insieme ad aumenti della velocità di reazione di 10^{14} , ha scatenato l'immaginazione dei chimici supramolecolari. Il nostro lavoro in questo campo è iniziato con i metallomacrocieli quali sistemi mimici dei metalloenzimi come l'ureasi. Più recentemente abbiamo studiato sistemi di- e trimetallici, mimici delle fosfodiesterasi, per la scissione selettiva degli oligonucleotidi. Questo progetto è stato il culmine della collaborazione fra il mio gruppo e quello di Rocco Ungaro e Alessandro Casnati, poi esteso al gruppo del Prof. Luigi Mandolini dell'Università di Roma "La Sapienza". Andrea Sartori ha lavorato come dottorando in tutti e tre i gruppi, occupandosi della sintesi e della reattività di calix[4]areni con gruppi catalitici in differenti posizioni [16].

I catalizzatori, solubili in acqua, accelerano l'idrolisi degli oligoribonucleosidi monofosfati di un fattore di 10^5 e presentano specificità per alcune sequenze di basi. Questi sono fra i catalizzatori supramolecolari a più alta attività.

VI. Complessazione di molecole neutre

L'interazione tra eteri corona e molecole neutre fu descritta nella terza pubblicazione di Pedersen ma solo in termini qualitativi. Inoltre, quella pubblicazione era molto generica.

Intorno al 1974-75, iniziai ad interessarmi a complessi con molecole *guest* neutre. Sintetizzammo diversi complessi di quel tipo e le strutture allo stato solido ed in soluzione [7] furono caratterizzate mediante spettroscopia NMR e diffrazione ai raggi X.

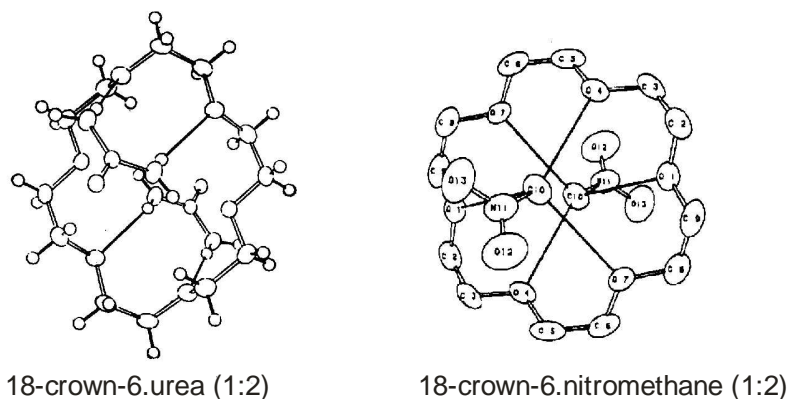


Figura 5. Struttura ai raggi X di complessi di 18-corona-6 con molecole neutre [17]

Negli anni '80 e '90 la ricerca in questo campo si è sviluppata diventando la chimica supramolecolare che conosciamo oggi. Il contributo più significativo del nostro lavoro di ricerca sulla sintesi covalente di recettori per molecole neutre fu la realizzazione di un recettore per steroidi con una cavità nanometrica. Per l'ottenimento di questa molecola, chiamata Holand (figura 6), fu necessario un complesso lavoro di sintesi a più stadi, ma dopo le misure di complessazione con steroidi, i risultati furono deludenti.

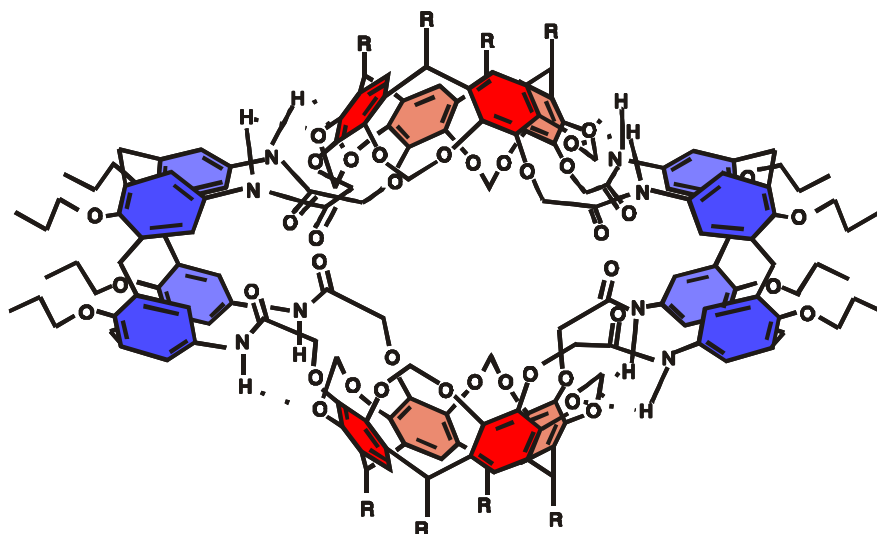


Figura 6. Struttura di Holland

Dovemmo concludere che, perfino con l'uso di modellistica molecolare molto sofisticata, i valori predetti per le costanti di associazione si rivelarono inadeguati per *guest* di dimensioni così grandi. Non siamo stati gli unici a constatare tale problema ed è per questo che, a partire dal 1995, la ricerca nell'ambito della chimica supramolecolare si è spostata verso aree diverse come rotaxani, catenani, griglie e materiali polimerici supramolecolari.

VII. Sintesi non covalente

Nei nostri gruppi di ricerca fu deciso di cambiare strategia riguardo ai recettori per molecole di grandi dimensioni. Invece di focalizzarci nella direzione dei legami covalenti cercammo *building block* in grado di aggregarsi spontaneamente in supramolecole definite, che fossero in grado di riconoscere molecole *guest*. Per questo scopo si decise di usare la formazione legami idrogeno come interazione capace di guidare il *self-assembly*, principalmente per la sua direzionalità e la multivalenza dei *building block* disponibili.

Il così detto motivo a rosetta, rappresentato in figura 7, offrì le proprietà desiderate e così, combinando più melammine, ottenemmo rosette doppie, triple etc. . Cruciale per il successo del *self-assembly* fu lo scheletro calix[4]arenico che è un compromesso tra rigidità e flessibilità [18].

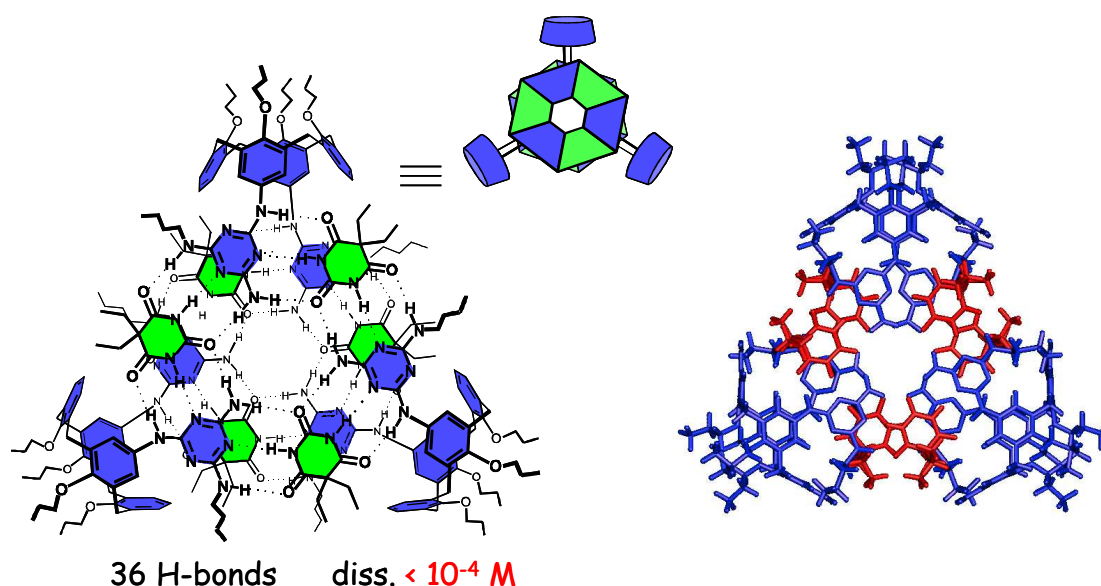


Figura 7. Struttura ai raggi X della doppia rosetta [18]

La differenza tra queste “supramolecole” e le molecole covalenti consiste principalmente nel fatto che i componenti di tali supramolecole sono mobili e interscambiano rapidamente su una scala di tempi umana. Tuttavia, quando l’associazione tra i componenti delle supramolecole è forte dal punto di vista termodinamico, queste sono entità chimiche ben definite. In natura tali supramolecole sono molto comuni, come nei quartetti G nella struttura del DNA, nell’emoglobina, dove la proteina e il gruppo eme sono legati in modo non covalente, nelle proteine tetrameriche etc.

Il nostro concetto di *self-assembly* di recettori molecolari è stato provato attraverso l’inclusione di tre molecole di alizarina nella cavità della struttura della doppia rosetta (figura 8). La formazione di questi complessi illustra magnificamente la potenza della chimica supramolecolare. Semplicemente mescolando tre diverse molecole neutre nel rapporto adeguato, si ottiene la formazione, spontanea ed immediata, della struttura desiderata. Le forze di legame delle singole interazioni sono deboli, ma complessivamente forti abbastanza per formare strutture chimiche definite.

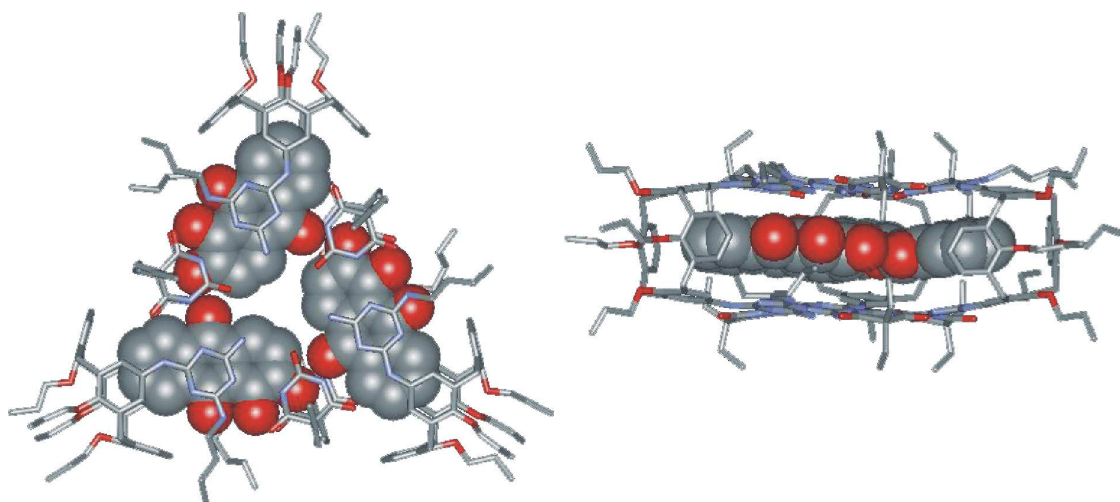


Figura 8. Struttura ai raggi X del complesso tra una rosetta doppia e tre molecole di alizarina

L'efficienza di questa sintesi non covalente è notevole poiché in questo sistema dinamico gli errori sono spontaneamente corretti fino alla formazione della struttura termodinamicamente più stabile.

Più recentemente abbiamo utilizzato la sintesi non covalente per altri tipi di recettori e con solventi più polari, per esempio usando forze ioniche per guidare il processo di *assembly* [20]. Un esempio rappresentativo è l'associazione spontanea di una porfirina, che emula l'emoglobina, con un derivato di un calix[4]arene.

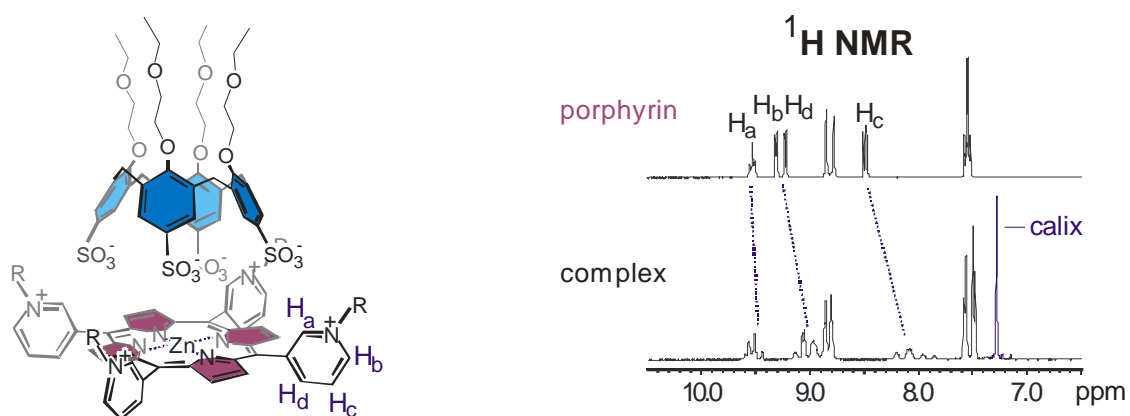


Figura 9. Modello di heme non covalente [20c]

Questo aggregato agisce da trasportatore di ossigeno in membrane idrofiliche.

VIII. Chiralità supramolecolare

In chimica molto può essere pianificato e predetto, ma scoperte davvero rivoluzionarie possono anche avvenire per caso. La struttura ai raggi X delle doppie rosette rivelò un gruppo spaziale chirale. Allora comprendemmo che l'associazione tra melammine achirali neutre e barbiturati poteva avvenire solamente in una struttura avvitata. Queste strutture possono avere elicità di tipo P o M (Figura 10).

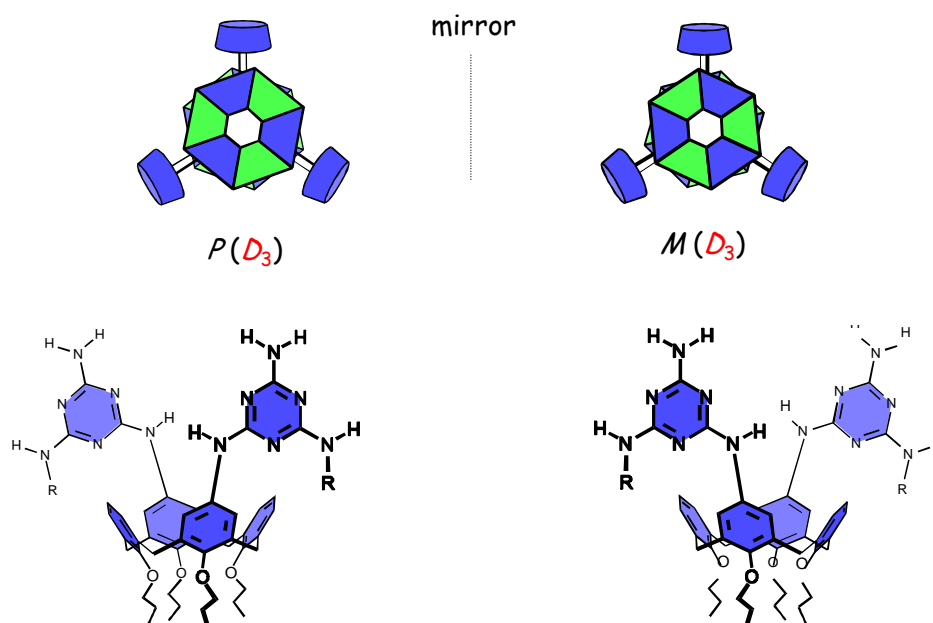


Figura 10. Chiralità supramolecolare nelle rosette doppie [21,22]

In assenza di altri elementi chirali si ottiene una miscela racemica, ma se vengono introdotti centri chirali in uno dei *building block*, si può ottenere una associazione stereoselettiva. Sostituendo il componente chirale (il barbiturato) con un cianurato achirale si osserva la formazione di enantiomeri puri che sono incredibilmente stabili! Sebbene questi aggregati siano dinamici, la velocità di racemizzazione è molto lenta. Con questi risultati il concetto di chiralità supramolecolare venne saldamente stabilito.

IX. Self-assembly di molecole all'interfaccia solido-liquido

Il nostro lavoro sui sensori CHEMFET e sul trasporto transmembrana (*vide supra*) ci portò ad interessarci della chimica all'interfase con i solidi. Confrontata con la chimica in soluzione e con le usuali procedure nei nostri laboratori, questa è stata una rivoluzione dal punto di vista tecnico. Con gruppi come quello di Jacob Sagiv e Israel Rubinstein all'istituto Weizman in Israele, di Ralf Nuzzo e George Whitesides negli Stati Uniti, noi siamo stati uno dei primi gruppi di chimica organica ad attuare questa transizione.

Il nostro obiettivo era il *self-assembly* di recettori molecolari su superfici d'oro per ottenere *monolayer* organizzati (SAM) di circa 2 nm di spessore. La proprietà di questi monostrati di agire da sensori era molto attraente, per l'alta densità e orientamento dei recettori e, di conseguenza, per i loro rapidi tempi di risposta [23].

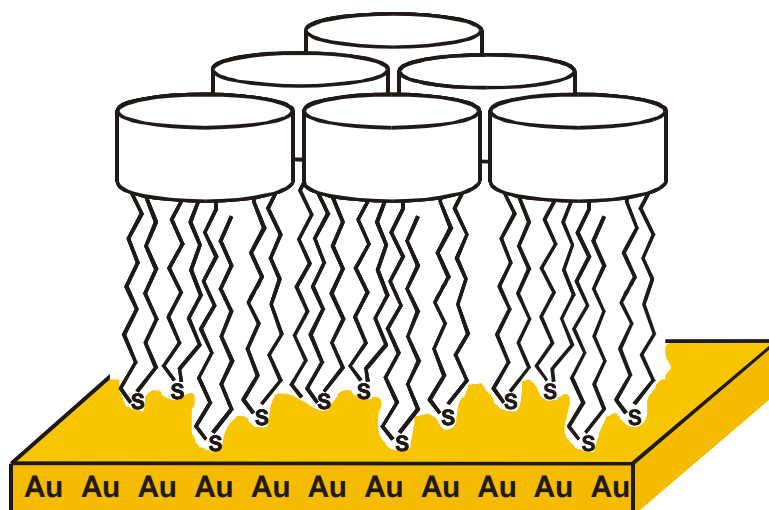


Figura 11. Self-assembled monolayer di recettori [23]

Abbiamo utilizzato microbilance al quarzo, risonanza plasmonica di superficie (SPR) ed electrochimica per rilevare la presenza di un' ampia varietà di *guest* su *monolayer* di derivati di resorcinareni e calix[4]areni [24].

Negli ultimi anni ci siamo concentrati su SAM di ciclodestrine a causa delle loro eccellenti proprietà di complessazione in acqua [25].

Il nostro lavoro su questi *layers* di recettori spessi pochi nanometri e il *self-assembly* di oggetti di dimensioni nanometriche in soluzione ci portò naturalmente nel regno della nanotecnologia.

X. Nanotecnologia

In senso letterale, la nanotecnologia è la scienza e la tecnologia degli oggetti di dimensioni comprese tra 1 e 100 nanometri. “*Nano*” infatti significa gnomo in Greco. Ciò che la rende così speciale è che essa rappresenta il limite inferiore del mondo molecolare, dove esistono i più piccoli building block della materia. Per dare un’idea delle dimensioni di cui stiamo parlando, la Figura 12 mostra tre oggetti sferici: la Terra, un pallone da calcio e il fullerene (C₆₀), detto “bucky ball”.



Figura 12. Tre oggetti sferici di differenti dimensioni

Una trattazione esaustiva della nanotecnologia va al di là degli scopi di questo lavoro. È forse sufficiente considerarla come l’ultimo passo del continuo processo verso la miniaturizzazione come si evince, ad esempio, nella tecnologia dei chip.

Una caratteristica interessante della nanotecnologia è di non essere legata ad una singola disciplina. Il continuo processo di miniaturizzazione dei transistor in microelettronica e l’*assembly* di strutture supramolecolari ci portano alla stessa dimensione.

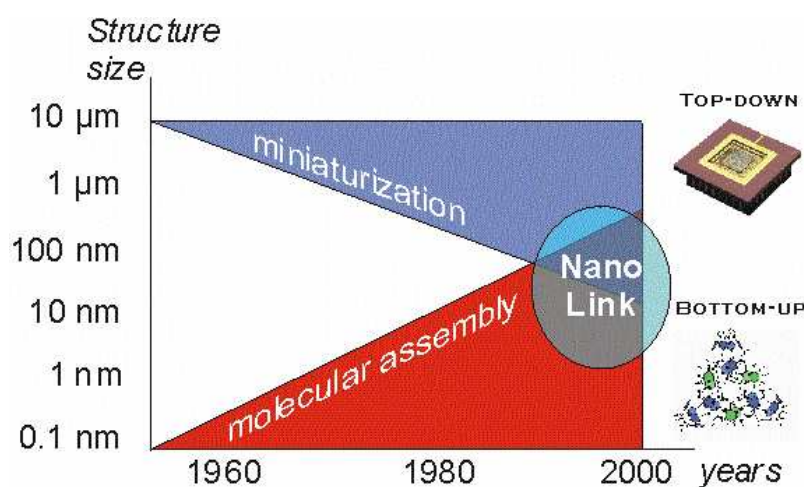


Figura13. Il top-down incontra il bottom-up.

Per me, la nanotecnologia è la più avanzata tecnologia di produzione in cui è possibile controllare la materia su scala molecolare. Scientificamente, questa cambierà settori come l'elettronica, l'ottica e la scienza dei materiali, così profondamente come la "molecolarizzazione" ha cambiato la biologia.

Oggi, mentre la scienza si concentra sul progresso continuo, le discipline scientifiche sono spesso conservatrici e concentrate principalmente sulla continuità.

La nanotecnologia non può essere incasellata in modo univoco e le discussioni riguardo ad essa sono del tipo: "che c'è di nuovo?"

Le molecole organiche hanno in genere una dimensione compresa tra 1 e 5 nanometri. Non è quindi la chimica la nanotecnologia per definizione? Gli scettici hanno speso molta energia in questa discussione, anche se va detto che, in ambito scientifico, ci sono molte meno novità di quante ne vengano presentate come tali. Numerose pubblicazioni scientifiche contengono parole come "primo", "nuovo", "unico" e "innovativo".

I colloidi, per esempio, sono nanoparticelle che sono note da più di 150 anni, grazie al lavoro di Michael Faraday. E' inoltre noto che le nanoparticelle sono state impiegate nell'antichità nella vita quotidiana. Una recente pubblicazione da parte de L'Oreal Recherche [26] descrive il motivo per cui, in Egitto, i capelli fossero dipinti con sali di piombo. Usando la microscopia elettronica, gli scienziati hanno osservato la formazione di nanoparticelle di solfuro di piombo della dimensione di circa 4-5 nanometri, originate tramite la reazione tra gli ioni piombo e gli amminoacidi contenenti zolfo nelle proteine dei capelli. Poichè questi nanocristalli, intensamente colorati di nero, sono così piccoli, essi non danneggiano la struttura dei capelli e conferiscono loro quel colore nero intenso che era un potente simbolo di bellezza in Egitto.

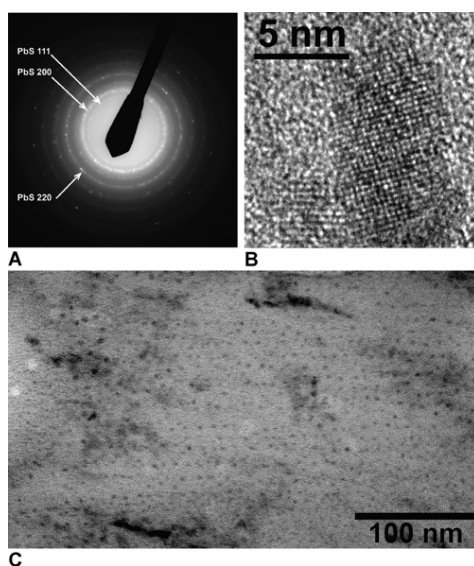


Figura 14. Struttura dei cristalli di solfuro di piombo nelle proteine dei capelli

Un secondo esempio dall'antichità 'è la coppa di Licurgo, che e' conservata al British Museum. Questo vaso di vetro appare verde ma, quando è illuminato dall'interno, diventa rosso. Oggi sappiamo che le nanoparticelle

contenute nel vetro assorbono diverse porzioni dello spettro ottico in riflessione e in trasmissione.



Figura 15. La coppa di Licurgo

Si può pensare che questi esempi dimostrino che la nanotecnologia non sia nulla di nuovo. Invece questa è una conclusione sbagliata. Nell'uso corrente del termine, la nanotecnologia ci permette di creare e analizzare nanostrutture singole e di conseguenza costruire strutture più grandi. La differenza fondamentale quindi è la nanostruttura individuale e non l'insieme casuale.

Nel periodo compreso tra il 1990 e il 1999, la nanotecnologia venne avvolta da un alone di fantascienza anzichè di scienza. Questo è in parte dovuto a persone come Eric Drexler [27]. Nel suo libro *"Engines of creation; the coming area of nanotechnology"*, egli dipinse un mondo di oggetti creati tramite robotica o meccanosintesi. Era una idea elaborata, ma priva di basi scientifiche.

In realtà la nanotecnologia venne portata all'attenzione del mondo da Bill Clinton. In un discorso al Caltech, nel gennaio del 2000, egli affermò che la nanotecnologia sarebbe stata la tecnologia del XXI secolo e annunciò la *National Nano Initiative*, con un budget di 470 milioni di dollari [28]. Grazie ad un solo discorso, la nanotecnologia arrivò sull'agenda dei politici.

XI. La chimica a livello della singola molecola

Solitamente le reazioni chimiche vengono effettuate su un grande numero di molecole, perfino quando eseguite su scala microscopica o in sistemi *lab-on-a-chip*. Tuttavia, i microscopi a scansione di sonda (STM, AFM etc.) permettono di sondare oggetti di dimensioni (sub) nanometriche. Quando iniziammo il nostro lavoro sulle nanostrutture con un approccio di tipo *bottom-up*, i nostri obiettivi erano di manipolare singole molecole o un numero limitato di queste. Abbiamo depositato di- e tetra-rosette, formate tramite *self-assembly* in soluzione, su substrati di oro e grafite. Esse formano *nanowires*, le cui dimensioni possono essere controllate variando la struttura della rosetta [29] che può essere utilizzata per organizzare *cluster* di atomi di argento.

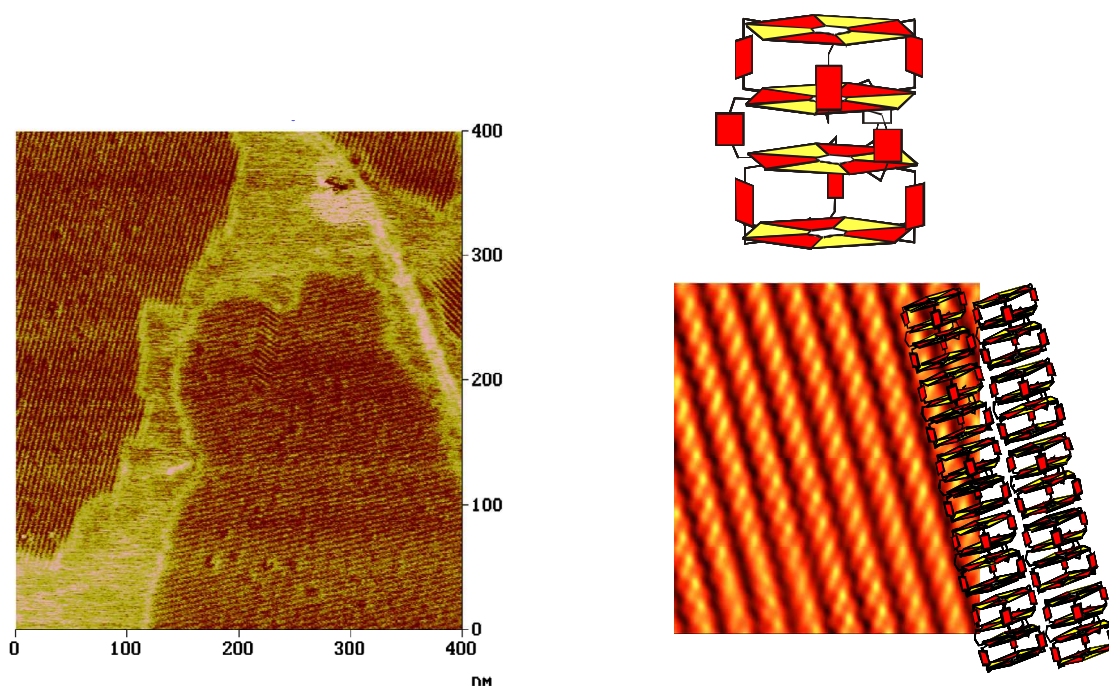


Figura 16. Selfassembly di rosette su graphite

Spingendoci fino a livello delle singole molecole, abbiamo inserito dei Pd-*pincher*, isolati in modo casuale, in SAM di tioli. Abbiamo così potuto osservare reazioni di sostituzione sul centro di Pd attraverso la misura di differenze in altezza tramite microscopio a forza atomica in *tapping mode* [30].

Abbiamo compreso che la nanotecnologia richiede più di un posizionamento casuale di singole molecole in un SAM su oro e che quindi la superficie metallica deve essere precedentemente convertita in una superficie con una struttura chimica più specifica. Per questa ragione abbiamo sviluppato il concetto di *Molecular Printboard*.

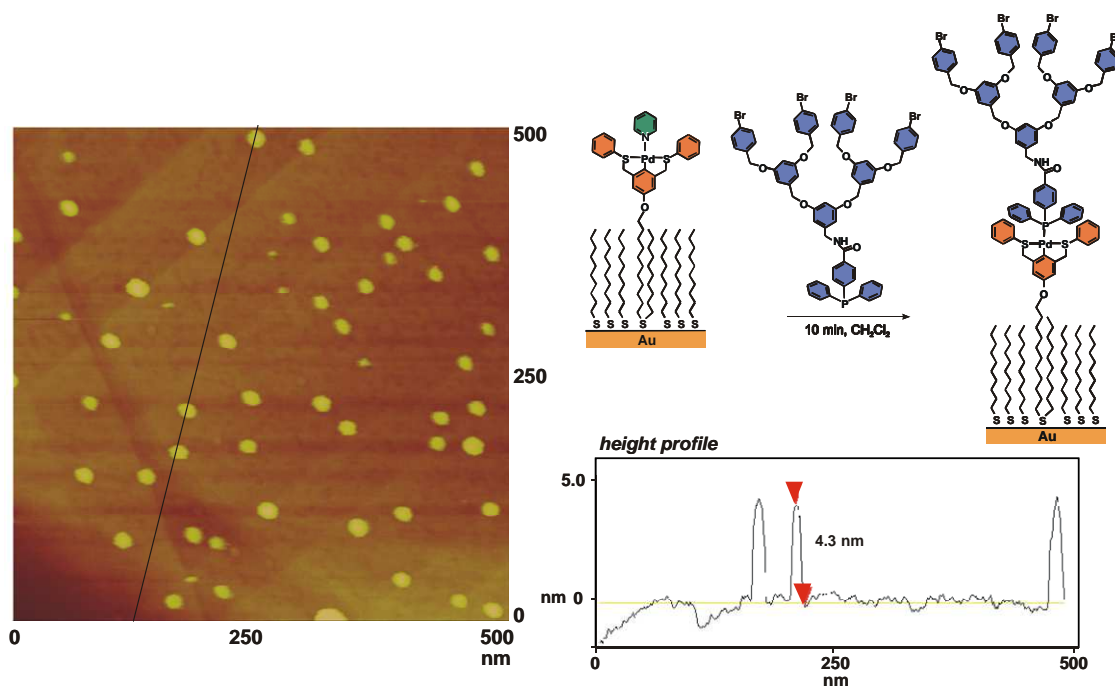


Figura 17. Reazione su una singola molecole [30]

XII. Molecular printboard e nanofabbricazione

Secondo la nostra definizione, la *molecular printboard* è una superficie con una struttura regolare di recettori molecolari.

Tramite interazioni supramolecolari multiple e specifiche, le molecole guest possono essere posizionate tramite tecniche di nanofabbricazione come *micro contact printing* o *dip pen lithography*. Seguendo la stessa strategia usata per i *monolayer* che agiscono da sensori, abbiamo realizzato queste *molecular printboard* tramite *self-assembly* spontaneo su oro o tramite modificazione chimica di superfici di ossido di Silicio [31]. Questi *molecular printboard* sono stati completamente caratterizzati tramite SPR, ellissometria, spettrometria di massa del secondo ordine, misure di angolo di contatto, etc. Per i *monolayer* di β -ciclodestrine su oro siamo stati in grado di ottenere immagini AFM ad alta risoluzione che mostrano un impacchettamento esagonale con una periodicità di 2.1 nm, in accordo con il modello di un *monolayer* densamente impaccato [32]. Abbiamo dimostrato per primi che le interazioni supramolecolari tra comuni molecole aromatiche e questi derivati della β -ciclodestrina immobilizzati, non sono influenzati da tale immobilizzazione. E' così emerso che le costanti di associazione sono praticamente inalterate se confrontate con quelle in soluzione. Sebbene questo sia stato un risultato molto incoraggiante, il nostro interesse nella nanofabbricazione tramite deposizione di un numero finito di molecole su queste *printboard*, richiede una più profonda comprensione della complessazione di una singola molecola *guest*.

XIII. Spettroscopia di forza atomica a livello di singola molecola mediante AFM

Con lo scopo di valutare le forze di rottura di singoli complessi *host-guest* con *monolayer* di β -ciclodestrine su oro, abbiamo misurato le forze di *pull-off* con esperimenti AFM [33].

Questi esperimenti sono stati effettuati in acqua, perchè la chimica *host-guest* delle ciclodestrine è basata su interazioni idrofobiche tra l'ospite (*guest*) e il recettore (*host*). Questo è un aspetto *molto importante per la nanofabbricazione in condizioni ambientali*, poichè l'acqua è sempre adsorbita sulle superfici.

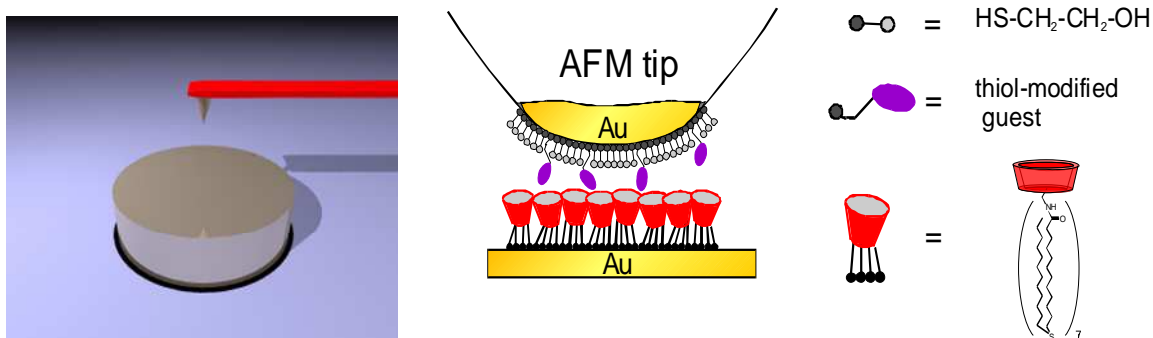


Figura 18. Esperimenti forza-distanza [33]

In questi esperimenti una punta AFM è stata ricoperta con una miscela binaria di molecole *guest* e 2-mercaptoetanolo, che minimizza le interazioni non specifiche tra il *monolayer* di β -ciclodestrine e le molecole sulla punta. Le curve forza vs distanza hanno mostrato dei massimi in corrispondenza di multipli interi di un certo valore di forza, caratteristico della struttura del *guest*.

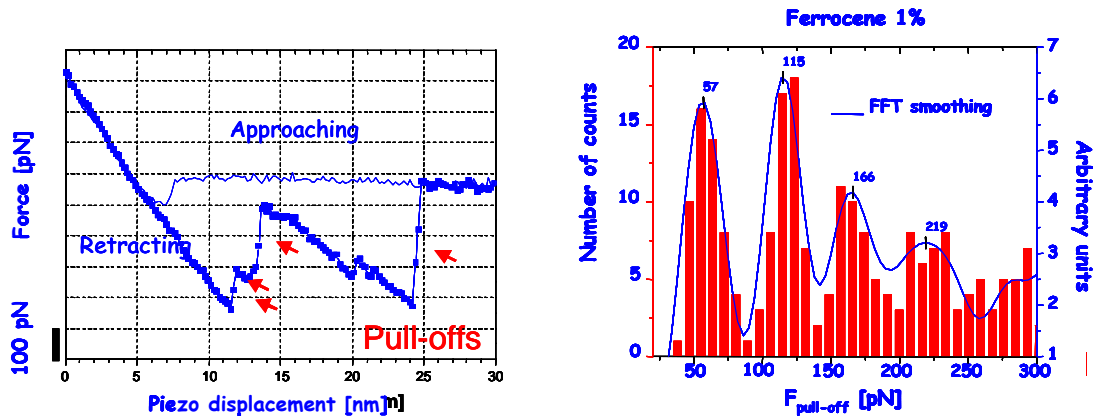
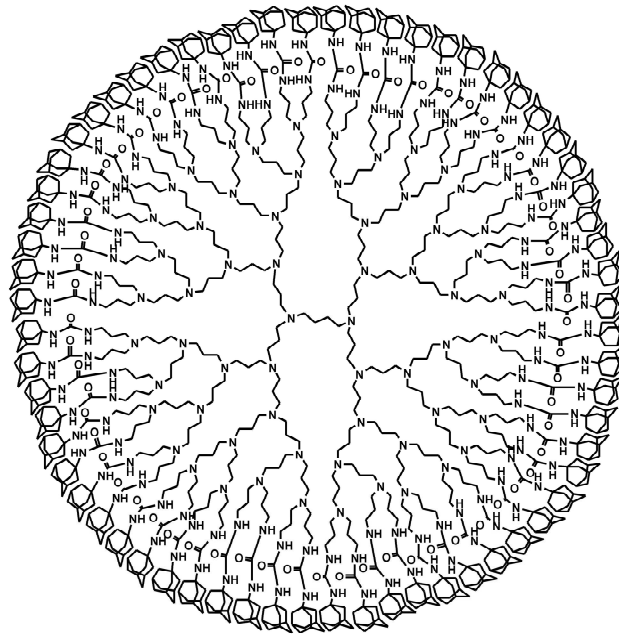


Figura 19. Spettroscopia di forza a livello di singola molecola su molecular printboard [33]

Questi esperimenti correlano la chimica supramolecolare in acqua con la stabilità di nanostrutture a livello di singola molecola. Questo è un risultato estremamente importante per la fabbricazione con metodologia di tipo *bottom-up* perchè (i) le forze sono additive (ii) possono essere modificate scegliendo il guest appropriato. La struttura del *guest* può includere fluorofori, centri redox [35], nanoparticelle [36], specie magnetiche [37], ligandi di proteine [38], etc. Usando il concetto della multivalenza, l'energia dell'interazione può essere variata da molto debole fino ad arrivare ad una associazione irreversibile. Sebbene in linea di principio la struttura del *guest*, che funge da "inchiostro" nella nanofabbricazione, possa essere variata a piacere e la scelta sia illimitata, io userò i dendrimeri in questo lavoro per illustrare i principi della nanofabbricazione sulle *printboard*. I dendrimeri hanno almeno tre importanti proprietà che li rendono adatti per la nanofabbricazione:

- (i) le loro dimensioni nanometriche
- (ii) la loro cavità interna
- (iii) la loro superficie esterna multivalente



G5-PPI

Figura 20. Struttura di un dendrimero

XIV. Nanofabbricazione bottom-up: stampare e scrivere su molecular printboard mediante dendrimeri

Negli ultimi anni notevole interesse è stato rivolto verso le tecniche definite *soft lithography* per la nanofabbricazione in condizioni ambientali, quali la *micro contact printing* (μ CP), la *dip pen nanolithography* (DPN), la *nano imprint lithography*, etc.

In questa parte saranno discussi alcuni esempi, da noi sviluppati, relativi al *patterning* di superfici. Verrà, inoltre, discussa la formazione di strutture 3D, generate mediante l'uso di forze supramolecolari. Tutto ciò porta ad applicazioni nel campo dei dispositivi elettronici e dei *biochip*.

XV. Soft lithography su printboard molecolari

L'idea originale alla base del μ CP viene dai laboratori di George Whitesides ad Harvard. Lì dimostrarono questi principi depositando semplici tioli su oro.

Per strutture delle dimensioni dei micrometri questa tecnica funziona bene, ma per strutture submicrometriche e nanometriche, la volatilità e la mobilità di questi tioli a così basso peso molecolare causa una perdita di definizione nei *pattern*. Il nostro lavoro in questo campo si è basato ancora su recettori molecolari come resorcinareni e calix[4]areni. Al fine di illustrare questo concetto vorrei discutere il lavoro condotto in collaborazione con Enrico Dalcanale a Parma sulla deposizione su superfici e il *selfassembly* di capsule molecolari (Figure 21) [40].

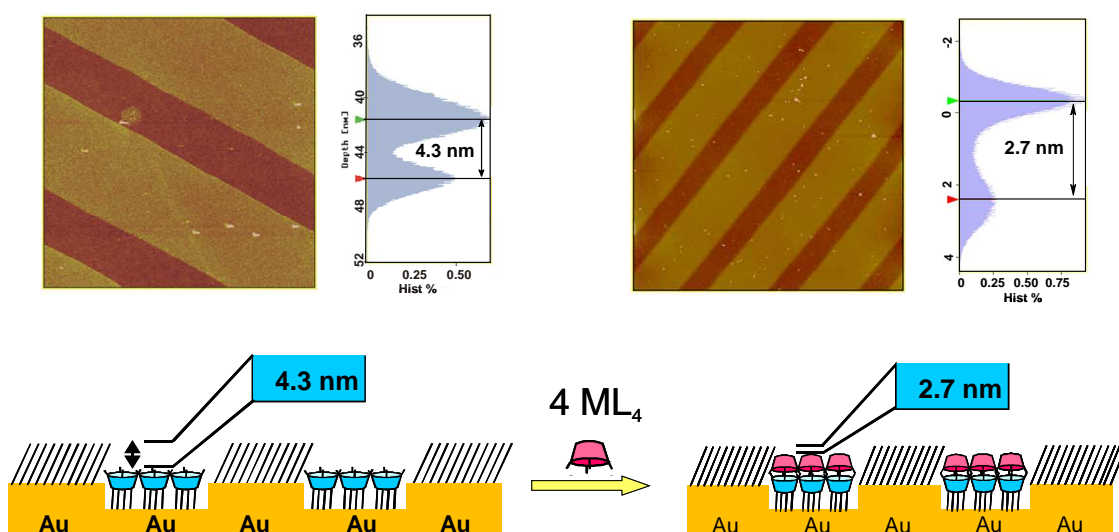
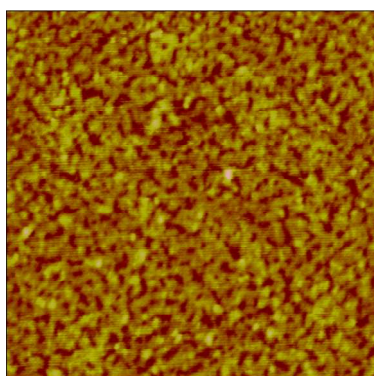


Figura 21. Concetto di regolo molecolare [40]

Il processo di assembly è stato monitorato attraverso misure dell'altezza dei μ CP *monolayer* prima e dopo la formazione delle capsule (concetto di regolo molecolare). Al fine di risolvere il problema della mobilità e della volatilità delle molecole depositate è stato sviluppato un processo di μ CP senza

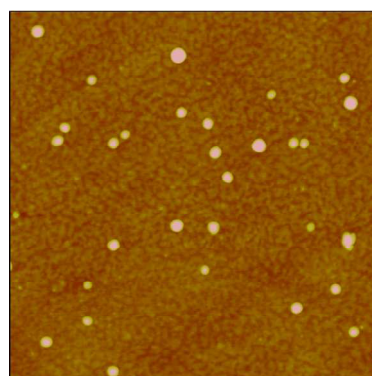
“inchiostro” [41], dove, per creare i *pattern*, sono stati impiegati stampi con differente idrofobicità.

La mobilità delle molecole su substrati di oro solleva un problema generale nella nanofabbricazione a causa del legame zolfo-oro cineticamente labile. Ciò fu la base per lo sviluppo del concetto di *molecular printboard*. Questo è un concetto molto generale perchè si basa sulle interazioni supramolecolari tra *host* e *guest* che possono essere cambiate variando la struttura di questi ultimi. Dendrimeri con 4-64 gruppi terminali possono essere complessati dalle ciclodestrine su *printboard*. Misure AFM mostrano che i dendrimeri a più alta generazione (G-4, G-5) non possono essere rimossi dal substrato neanche con lavaggi prolungati. In questo caso 5-8 gruppi terminali (unità ferroceniche o adamantaniche) interagiscono contemporaneamente.



500 nm x 500 nm

Bare β CD layer



1 μ m x 1 μ m

Immersion into G5-PPI-(Fc)₆₄
aqueous solution for 20 s

Figura 22. Singoli dendrimeri su printboard molecolari di β -ciclodestrine

Solamente quando le unità ferroceniche sono ossidate i dendrimeri vengono liberati dalla superficie. Questo permette di stampare e cancellare pattern molecolari. Strutture più piccole possono essere create depositando dendrimeri con una punta AFM (dip pen nanolithography) in punti o linee della dimensione di 60 nanometri.

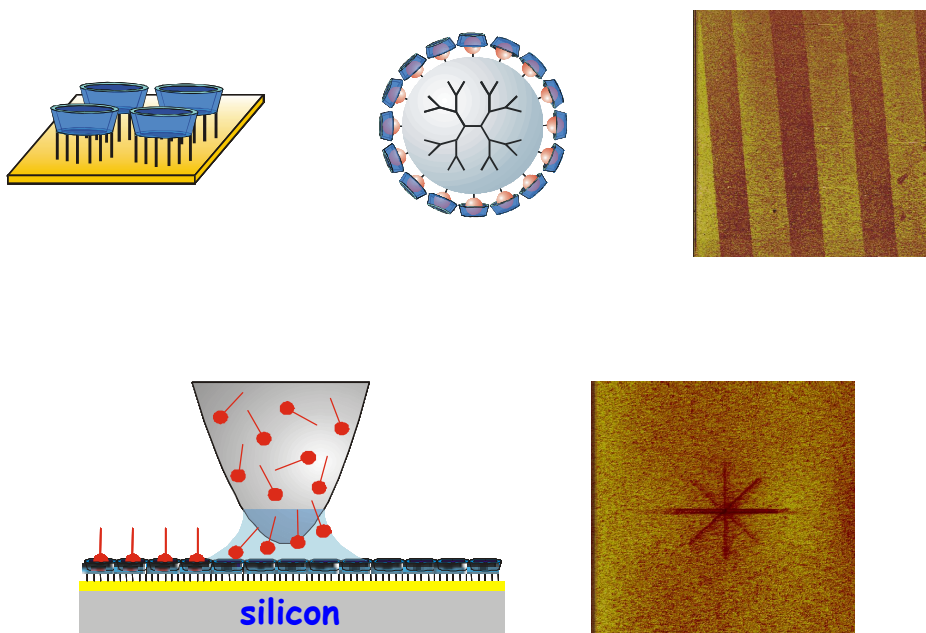


Figura 23. μ CP e DPN di dendrimeri su printboard di β -ciclodestrine

Lo stesso principio può essere impiegato per la costruzione di strutture tridimensionali [42]. Poiché nel processo di stampa e scrittura con i dendrimeri soltanto una piccola frazione dei gruppi terminali è impegnata nell'interazione con la *printboard*, numerose funzioni sono ancora disponibili. Queste possono essere utilizzate per costruire un secondo strato di molecole o particelle funzionalizzate in modo complementare. Questo processo può essere ripetuto molte volte per costruire strutture a più strati. Nel caso dei dendrimeri di quinta generazione con adamantani come unità terminali e nanoparticelle di oro funzionalizzate con β -ciclodestrine, ciascun doppio strato aggiunge alla struttura 3.0-3.1 nm di altezza.

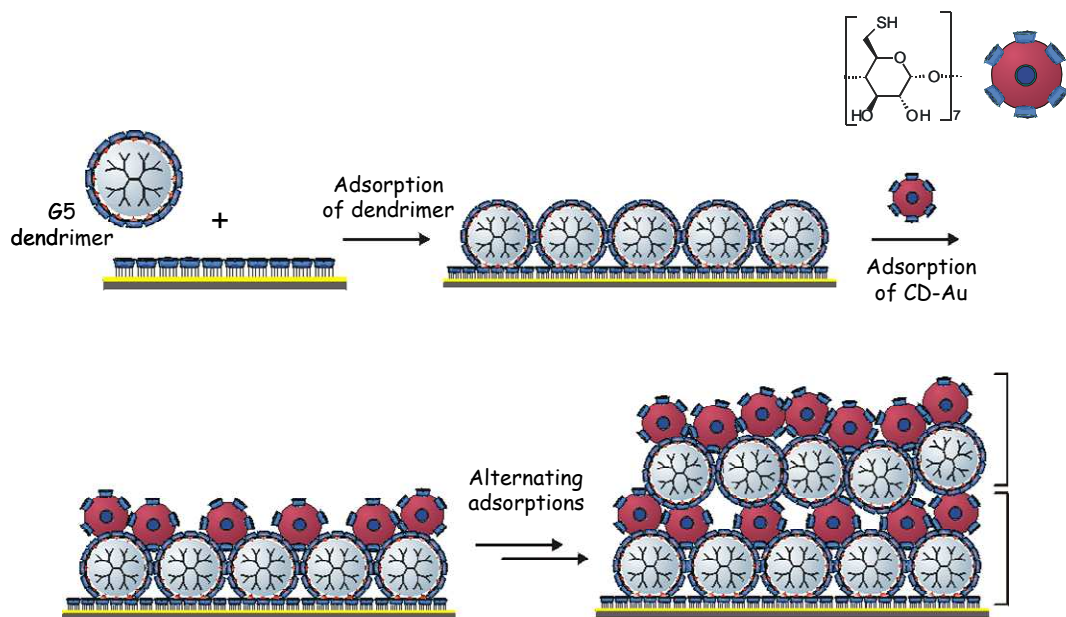


Figura 24. Assembly layer-by-layer [42]

La tecnica di *assembly Layer-by-Layer* (L-b-L) combinata alla formazione di *pattern* realizzati mediante permette di realizzare strutture nanometriche con controllo sulle tre dimensioni. In particolare, combinando tale approccio con il *metal transfer printing*, sono stati messi a punto dispositivi elettronici con strutture di tipo FET. Perfino biomolecole come le proteine possono essere depositate secondo certi *pattern* sul *molecular printboard* [43]. La figura 25 illustra questo concetto. La biotina, funzionalizzata con una unità adamantanica, è stata depositata ed usata per immobilizzare localmente la streptavidina in uno stadio successivo.

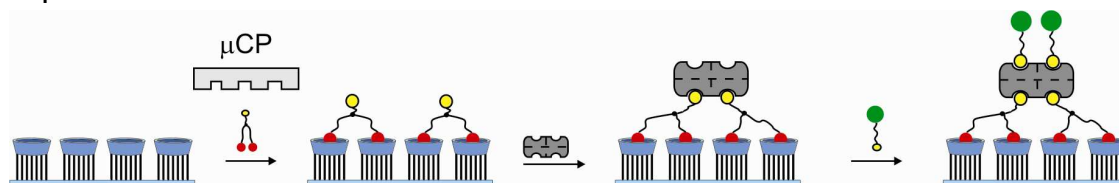


Figura 25. Immobilizzazione della streptavidina [43]

XVI. Nanofabbricazione mediante chimica covalente (reversibile) di superficie

La differenza tra la chimica covalente e quella supramolecolare è nella stabilità termodinamica e cinetica dei legami tra le molecole. Nella parte precedente sono stati illustrati i vantaggi della chimica supramolecolare nei processi di scrittura, cancellazione e correzione di errori per dare strutture perfette con resa quantitativa.

Tuttavia ci sono situazioni in cui anche la chimica covalente può essere reversibile in determinate condizioni. Nella chimica combinatoriale il lavoro di Sanders e dei suoi collaboratori ha dimostrato l'utilità del legame imminico come analogo covalente e reversibile della chimica supramolecolare [44].

Abbiamo utilizzato la chimica delle immine per depositare (bio)molecole che contengono gruppi amminici su una superficie funzionalizzata con aldeidi. I legami imminici si formavano più rapidamente del previsto e potevano essere scissi in condizioni lievemente acide. In questo aspetto i legami imminici non sono sostanzialmente differenti dai legami non covalenti. Inoltre, in seguito ad una riduzione, il legame imminico diventa irreversibile. Dato che molte biomolecole contengono gruppi amminici liberi, questa chimica è molto generale.

Un esempio tipico è il nostro lavoro recente sulla realizzazione di chip di DNA con tecniche di μ CP e DPN.

Con lo scopo di depositare oligonucleotidi abbiamo ricoperto stampi e punte AFM con dendrimeri che introducono un'alta densità di carica positiva. Con questa tecnica abbiamo preparato grandi *array* di oligonucleotidi depositati in modo puntiforme. Il vantaggio di questo metodo è la distribuzione

omogenea degli oligonucleotidi nel *monolayer* e la miniaturizzazione estrema dei punti per mezzo di una tecnica DPN. L'immagine riportata in Figura 26, ottenuta mediante microscopio a fluorescenza, mostra un *array* nanometrico di DNA realizzato con un processo di scrittura di tipo DPN, utilizzando una sonda a 18 punte.

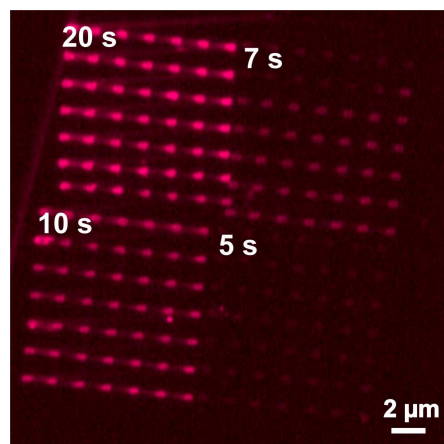


Figura 26. Nano array di DNA

Gli oligonucleotidi, depositati su superfici funzionalizzate con gruppi aldeidici, ibridizzano con il loro filamento complementare e possono così essere rilevati al microscopio a Fluorescenza.

Abbiamo anche immobilizzato proteine citofiliche sulle quali le cellule si legano in modo specifico [45]. In questo lavoro abbiamo scoperto che la formazione di un legame covalente avviene molto più rapidamente in presenza di luce e nelle condizioni di deposizione che in soluzione.

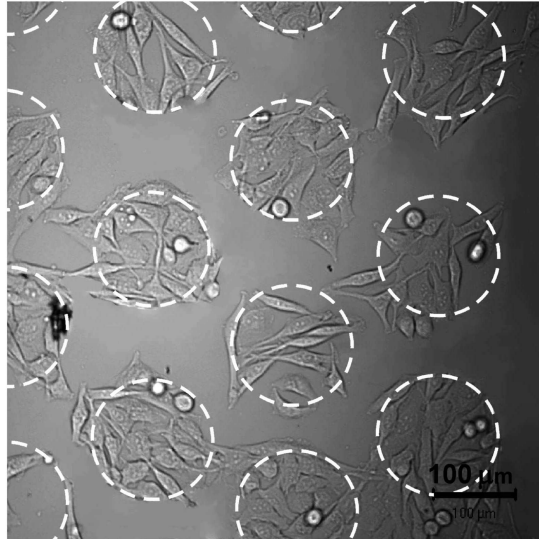


Figura 27. Immobilizzazione di cellule Hela su proteine Col3a1 [45]

Altre reazioni tipo “*click chemistry*” sono state realizzate su superfici funzionalizzate con azidi e acetileni [46]. Anche quest’ultimo approccio può essere usato per la fabbricazione di chip di DNA.

Il nostro lavoro ha chiaramente mostrato che la nanofabbricazione su superfici può essere ottenuta sia tramite chimica supramolecolare, sia tramite chimica covalente reversibile. La chimica covalente, sorprendentemente veloce sulle superfici nelle condizioni di deposizione, può essere di grande importanza per la nanofabbricazione con approccio *bottom-up*.

XVII. Note conclusive

La chimica supramolecolare ha certamente cambiato la chimica e le scienze ad essa correlate. Il pensare a come le molecole comunicano le une con le altre ha proposto sfide per i chimici organici sintetici. Sono stati sviluppati *building block* che posizionano siti di *binding* in tre dimensioni, come calixareni, resorcinareni, ciclodestrine etc. La Natura utilizza un numero molto limitato di nucleotidi ed amminoacidi per costruire un numero illimitato di strutture funzionali complesse. La chimica supramolecolare sta seguendo il medesimo approccio. Il nostro lavoro nell'ambito della chimica supramolecolare si è sempre mantenuto molto ampio, dalla sintesi, alla chimica fisica al *self-assembly*. Abbiamo sempre avuto un'attenzione particolare alle applicazioni ed abbiamo introdotto l'aspetto della tecnologia supramolecolare. Con la microscopia a scansione di sonda siamo riusciti a manipolare singole molecole e loro aggregati. Oggi questo ci consente il controllo su singole molecole, i più piccoli *building block* della Natura. La nano dimensione è unica, poichè nel processo di miniaturizzazione che coinvolge la nostra società, la nanotecnologia diventerà la più avanzata tecnologia di produzione.

Ci sono due modi per creare nanostrutture, un approccio dall'alto verso il basso (*top-down*) o dal basso verso l'alto (*bottom-up*). Il primo metodo è costoso quando sono impiegati metodi di fabbricazione tradizionali che utilizzano la litografia. L'approccio di tipo *bottom-up* somiglia di più alla biologia dove il *self-assembly*, basato sull'informazione chimica contenuta nei componenti, organizza la materia.

I principi sviluppati nella chimica supramolecolare saranno le basi del *self-assembly* su una scala di lunghezze tra i 5 ed i 100 nanometri. I metodi di *soft lithography*, che sono in corso di sviluppo, integrano perfettamente i processi di *self-assembly*. La nanotecnologia sovrasta la chimica supramolecolare ed è certamente qualcosa in più rispetto a questa.

La nanotecnologia è l'area dove diverse discipline, che si separarono nel secolo scorso, si incontrano ancora.

A livello molecolare non c'è differenza tra chimica, fisica e biologia, ma solamente una diversa competenza per lavorare sullo stesso problema. Negli ultimi quarant'anni, il modo in cui la scienza si è organizzata è cambiato da piccolo ed individuale a grande ed organizzato. Lavorare su problemi complessi richiede collaborazione tra le discipline ma anche tra i paesi, specialmente in Europa. Ho avuto il piacere di essere un chimico che ha vissuto questo processo di internazionalizzazione. L'Università di Parma è stata coinvolta all'inizio di questo processo ed insieme abbiamo organizzato il *network* europeo in chimica supramolecolare. Un *network* di eccellenza "*avant la lettre*".

XVIII. Ringraziamenti

Sono molto grato all'Università di Parma per questa laurea *ad honorem* che vedo come il riconoscimento della fruttuosa collaborazione scientifica tra le Università di Parma e di Twente. Questo mette anche in evidenza il ruolo prominente che la chimica supramolecolare ricopre qui a Parma. Tutto il lavoro che ho qui descritto non sarebbe stato possibile senza gli sforzi dei miei colleghi, dottorandi, post-docs, tecnici e personale di supporto dell'Università del Twente. Il supporto finanziario al mio lavoro è stato generoso in misura crescente da trent'anni a questa parte. Ringrazio con gratitudine La *Technology Foundation* (STW), NWO, *NanoNed* e *Frontiers* (EU, FW-6).

Bibliografia

1. R.B. Woodward, *Angew. Chem.* **1966**, *78*, 557.
2. a. C.J. Pedersen, *J.Am.Chem.Soc.* **1967**, *89*,2495.
b. C.J. Pedersen, *J.Am.Chem.Soc.* **1967**, *89*,7071.
c. C.J. Pedersen, *J.Org.Chem.* **1971**, *36*, 1690.
3. a. C.J. Pedersen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1021.
b. D.J. Cram, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1009.
c. J.M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89.
4. Prins, L.J.; Reinhoudt, D.N.; Timmerman, P., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2382-2426.
5. B.C. Pressman, E.J. Harris, W.S. Jagger, J.H. Johnson, *Proc.Natl.Acad.Sci.* **1967**, *58*, 1949.
6. Ghidini, E.; Ugozzoli, F.; Ungaro, R.; Harkema, S.; Abu El-Fadl, A.; Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6979-6985.
7. Casnati, A.; Pochini, A.; Ungaro, R.; Bocchi, C.; Ugozzoli, F.; Egberink, R.J.M.; Struijk, H.; Lugtenberg, R.J.M.; De Jong, F.; Reinhoudt, D.N., *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 436-445.
8. Dijkstra, P.J.; Brunink, J.A.J.; Bugge, K.E.; Reinhoudt, D.N.; Harkema, S.; Ungaro, R.; Ugozzoli, F.; Ghidini, E., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7567-7575.
9. Cram, D.J., "From Design to Discovery", American Chemical Society, Washinton DC, p91.
10. Rudkevich, D.M.; Brøzka, Z.; Palys, M.; Visser, H.C.; Verboom, W.; Reinhoudt, D.N., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 467-468.
11. Fiammengo, R.; Bruinink, C.M.; Crego-Calama, M.; Reinhoudt, D.N., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8552-8557.
12. Aarts, V.M.L.J.; van Staveren, C.J.; Grootenhuis, P.D.J.; van Eerden, J.; Kruise, L.; Harkema, S.; Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5035- 5036.
13. Moss, S.D.; Janata, J.; Johnson, C.C.; *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 2338.
14. Reinhoudt, D.N., Transduction of molecular recognition into electronic signals, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1996**, *115*, 109-118.
15. Cobben, P.L.H.M.; Egberink, R.J.M.; Bomer, J.G.; Bergveld, P.; Verboom, W.; Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10573-10582.
16. Cacciapaglia, R.; Casnati, A.; Mandolini, L.; Reinhoudt, D.N.; Salvio, R.; Sartori, A. and Ungaro, R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 12322-12330.
17. a. Harkema, S.; van Hummel, G.J.; Daasvaten, K.; Reinhoudt, D.N.; *J.Chem.Soc.Chem.Comm.* **1981**, 368.
b. De Boer, J.A.A.; Reinhoudt, D.N.; Harkema, S.; van Hummel, G.J.; de Jong, F., *J.Am.Chem.Soc.* **1982**, *104*, 4073.
18. a. Vreekamp, R.H.; van Duynhoven, J.P.M.; Hubert, M.; Verboom, W.; Reinhoudt, D.N., *Angew.Chem.Int.Ed.* **1996**, *35*, 1215-18.

- b. Timmerman, P.; Vreekamp, R.H.; Hulst, R.; Verboom, W.; Reinhoudt, D.N.; Rissanen, K.; Udachin, K.A.; Ripmeester, J., *Chem.Eur.J.* **1997**, *3*, 1823.
19. Reinhoudt, D.N.; Crego-Calama, *Science* **2002**, *295*, 2403-2407.
20. a. Corbellini, F.; Costanzo, L.D.; Crego-Calama, M.; Geremia, S.; Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9946-9947.
b. Oshovsky, G.V.; Reinhoudt, D.N. and Verboom, W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 2366-2393. c. Fiammengo, R.; Timmerman, P.; De Jong, F.; Reinhoudt, D.N., *Chem. Commun.* **2000**, 2313-2314.
21. Prins, L.J.; Huskens, J.; De Jong, F.; Timmerman, P.; Reinhoudt, D.N., *Nature* **1999**, *398*, 498-502.
22. Prins, L.J.; De Jong, F.; Timmerman, P.; Reinhoudt, D.N., *Nature* **2000**, *408*, 181-184.
23. Schierbaum, K.D.; Weiss, T.; Thoden van Velzen, E.U.; Engbersen, J.F.J.; Reinhoudt, D.N.; Göpel, W., *Science* **1994**, *265*, 1413-1415.
24. a. Schönherr, H.; Vancso, G.J.; Huisman, B.-H.; Van Veggel, F.C.J.M.; Reinhoudt, D.N., *Langmuir* **1997**, *13*, 1567-1570.
b. Friggeri, A.; Van Veggel, F.C.J.M.; Reinhoudt, D.N., *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3595-3602.
25. Beulen, M.W.J.; Bügler, J.; Lammerink, B.; Geurts, F.A.J.; Biemond, E.M.E.F.; Van Leerdam, K.G.C.; Van Veggel, F.C.J.M.; Engbersen, J.F.J., Reinhoudt, D.N., *Langmuir* **1998**, *14*, 6424-6429.
26. Walter, P.; Welcome, E.; Hallégot, P.; Zaluzec, N.-J.; Deeb, C.; Castaing, J.; Veysi ere, P.; Breniaux, R.; Leveque, J.-L.; Tsoucaris, G., *Nano Lett.* **2006**, *6*, 2215.
27. Drexler, E., "Engines of creation, the coming area of Nanotechnology", Anchor Books, **1986**.
28. Lawler, A., *Science*, **2000**, *287*, 558.
29. Klok, H.-A.; Jolliffe, K.A.; Schauer, C.L.; Prins, L.J.; Spatz, J.P.; Möller, M.; Timmerman, P.; Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7154-7155.
30. Friggeri, A.; Van Manen, H.W.J.; Auletta, T.; Li, X.-M.; Zapotoczny, S.; Schönherr, H.; Vancso, G.J.; Huskens, J.; Van Veggel, F.C.J.M.; Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6388-6395.
31. Onclin, S.; Ravoo, B.J. and Reinhoudt, D.N., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 6282-6304.
32. Beulen, M.W.J.; Bügler, J.; De Jong, M.R.; Lammerink, B.; Huskens, J.; Schönherr, H.; Vancso, G.J.; Boukamp, B.A.; Wieder, H.; Offenh user, A.; Knoll, W.; Van Veggel, F.C.J.M.; Reinhoudt, D.N., *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1176-1183.
33. Auletta, T.; Jong, M.R. de; Mulder, A.; Veggel, F.C.J.M. van; Huskens, J.; Reinhoudt, D.N.; Zou, S.; Zapotoczny, S.; Schönherr, H.; Vancso, G.J. and Kuipers, L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 1577-1584.
34. Auletta, T.; Dordi, B.; Mulder, A.; Sartori, A.; Onclin, S.; Bruinink, C.M.; Péter, M.; Nijhuis, C.A.; Beijleveld, H.; Schönherr, H.; Vancso, G.J.; Casnati, A.; Ungaro, R.;

- Ravoo, B.J.; Huskens, J. and Reinhoudt, D.N., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 369-373.
35. Nijhuis, C.A.; Huskens, J. and Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 12266-12267.
 36. Nijhuis, C.A.; Oncel, N.; Huskens, J.; Zandvliet, H.J.W.; Ravoo, B.J., Poelsema, B. and Reinhoudt, D.N., *Small*, **2006**, *2*, 1422-1426.
 37. Crivillers, N.; Mas Torrent, M.; Perruchas, S., Roques, N.; Vidal Gancedo, J.; Veciana, J.; Rovira, C.; Basabe Desmonts, L.; Ravoo, B.J.; Crego Calama, M. and Reinhoudt, D.N., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 2215 – 2219.
 38. Ludden, M.J.W.; Mulder, A.; Tampé, R.; Reinhoudt, D.N.; Huskens, J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4104 – 4107.
 39. Huskens, J.; Mulder, A.; Auletta, T.; Nijhuis, C.A.; Ludden, M.J.W. and Reinhoudt, D.N., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 6784-6797.
 40. Levi, S.A.; Guatterri, P.; Van Veggel, F.C.J.M.; Vancso, G.J.; Dalcanale, E.; Reinhoudt, D.N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1892-1896.
 41. Sharpe, R.B.A.; Burdinski, D.; Huskens, J.; Zandvliet, H.J.W.; Reinhoudt, D.N. and Poelsema, B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 10344-10349.
 42. a. Crespo Biel, O.; Dordi, B.; Reinhoudt, D.N. and Huskens, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 7594-7600.
b. Maury, P.; Escalante, M.; Reinhoudt, D.N., and Huskens, J., *Adv. Mat.*, **2005**, *17*, 2718-2723.
c. Maury, P.; Peter, M.; Crespo Biel, O.; Ling, X.Y.; Reinhoudt, D.N. and Huskens, J., *Nanotechnology*, **2007**, *18*, 044007.
 43. Ludden, M.J.W.; Peter, M.; Reinhoudt, D.N. and Huskens, J., *Small*, **2006**, *2*, 1192-1202.
 44. Rowan, S.J.; Brady, P.A.; Sanders, J.K.M., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 2431.
 45. Rozkiewicz, D.I.; Kraan, Y.; Werten, M.W.T.; Wolf, F.A. de; Subramaniam, V.; Ravoo, B.J. and Reinhoudt, D.N., *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 6290-6297.
 46. Rozkiewicz, D.I.; Janczewski, D.; Verboom, W.; Ravoo, B.J. and Reinhoudt, D.N., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 5292-5296.