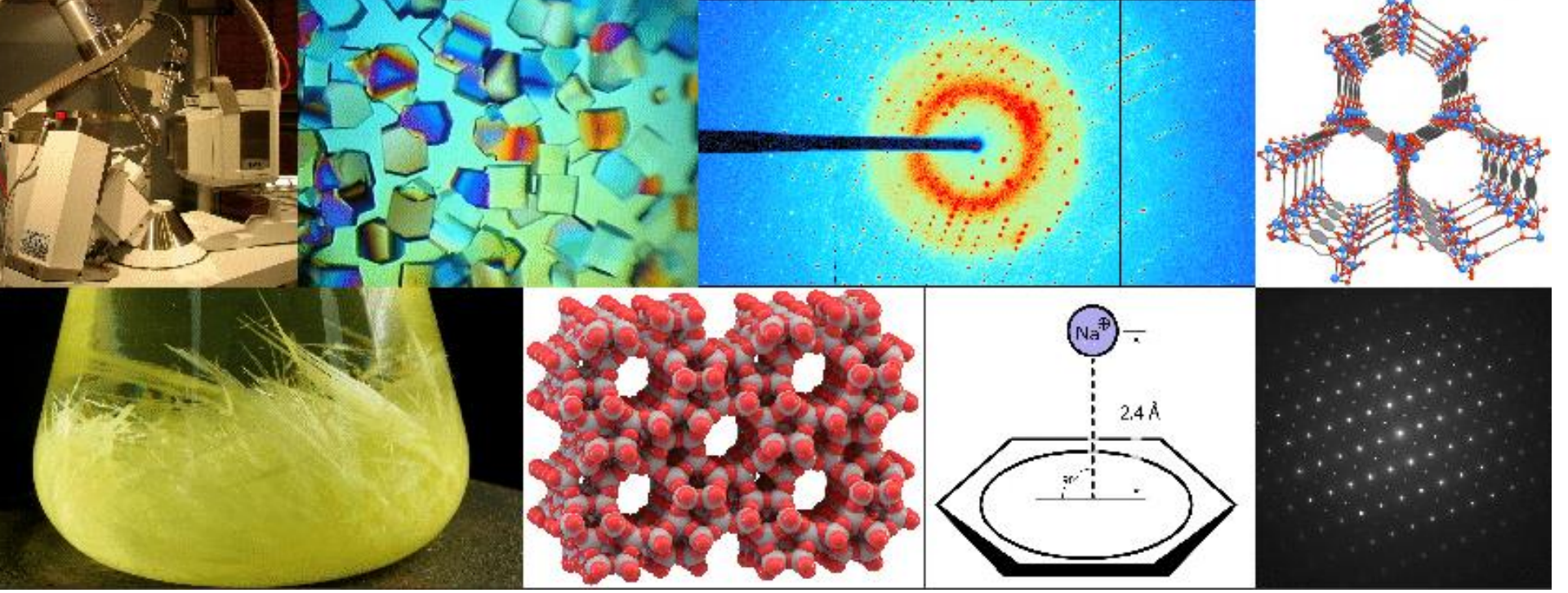
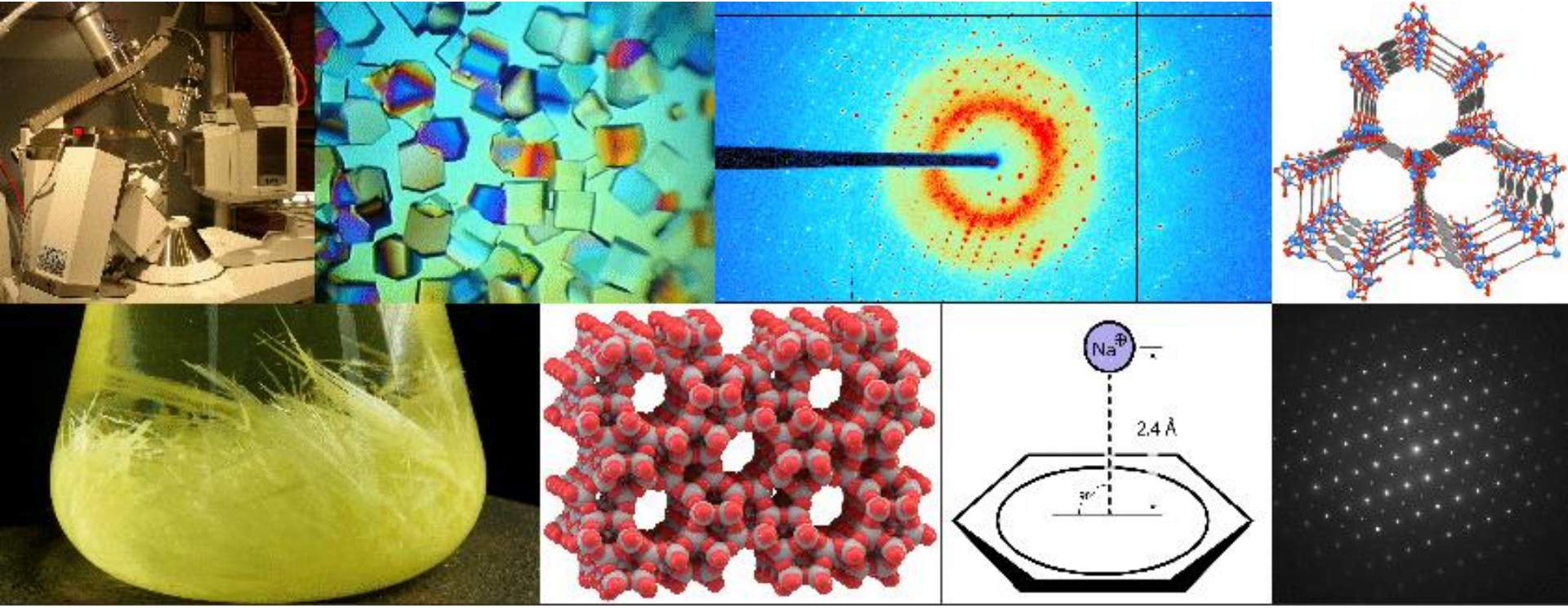


Programa de Actualización| ANUAL| 2018

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y ANÁLISIS DE PROPIEDADES DE SÓLIDOS CRISTALINOS: POLIMORFOS, SOLVATOS, COCRISTALES Y SALES

Florencia Di Salvo | Sebastián Suárez

Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, FCEN, UBA



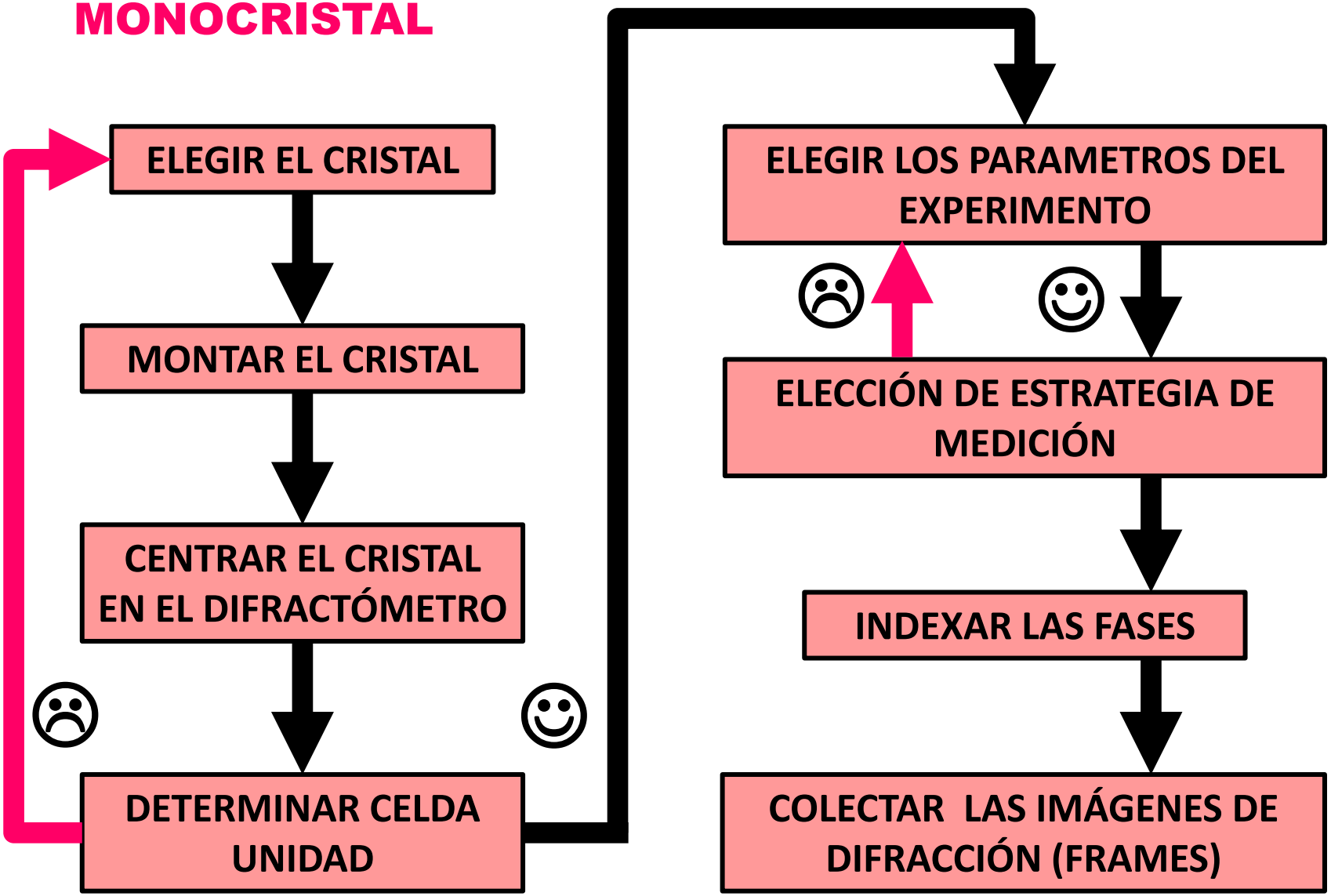
Programa de Actualización| Agosto-Septiembre | 2018

COLECCIÓN DE DATOS: EL EXPERIMENTO

Florencia Di Salvo | Sebastián Suárez

Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física, FCEN, UBA

ESQUEMA DE UN EXPERIMENTO DE DRX DE MONOCRISTAL



ELECCIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA DE LA RADIACIÓN

- **Ventajas de Cu *Kα* (1.54 Å) sobre Mo *Kα* (0.71 Å)**

- Intensidad de los rayos X (relacionado con λ^3 => mayor)
- Se pueden realizar experimentos de configuración absoluta (casos más frecuentes en moléculas orgánicas y en esos casos si o si hay que utilizar radiación de Cu para obtener datos precisos)
- Recomendado para muestras con parámetros de red grandes (ej. Para proteínas se utiliza solamente radiación de Cu)

- **Ventajas de Mo *Kα* sobre Cu *Kα*** La absorción de rayos X es menor

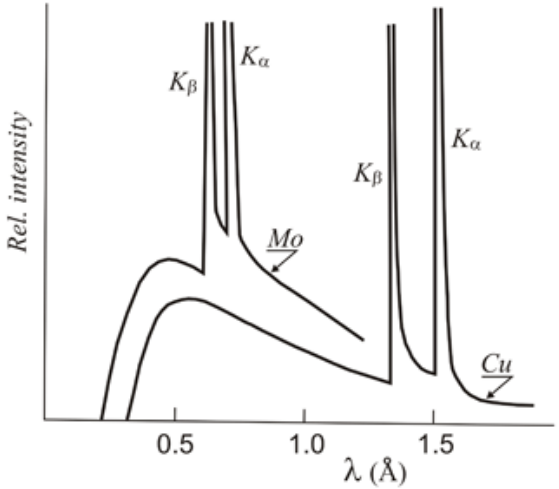
- Patrón de difracción "más compacto"

  Para la misma cantidad de datos se necesitan menos frames

  Mejor resolución

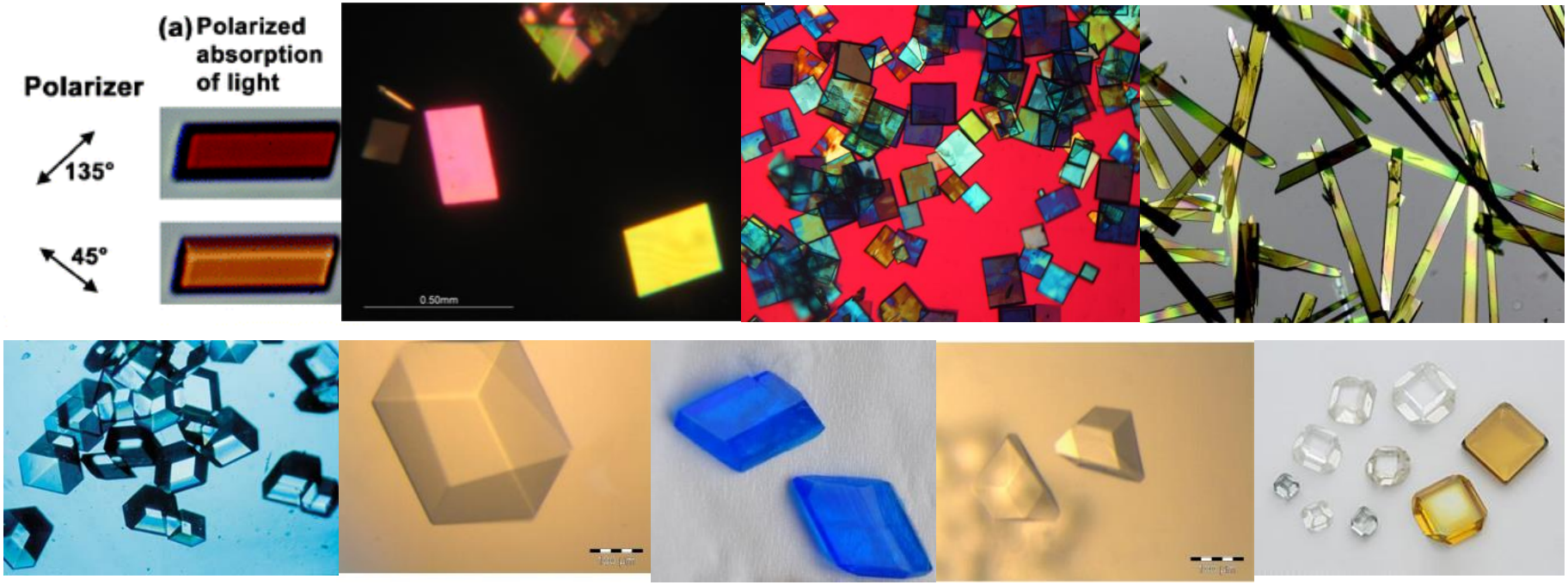
  Mejor procesamiento para parámetros de celda chicos

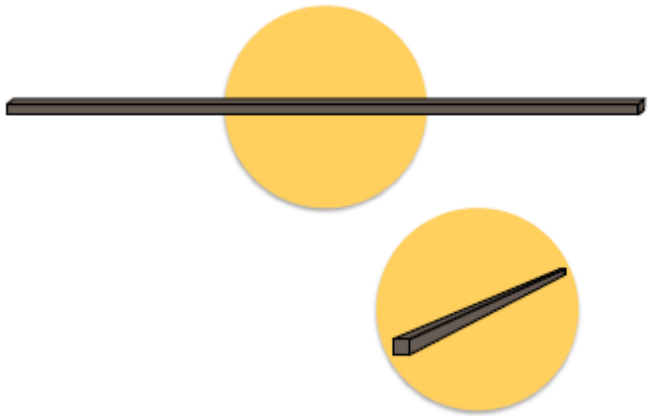
  X -Más Patrón de difracción compacta -Menos tramas de datos necesarios para la



ELECCIÓN DEL CRISTAL

VER CLASE XVI



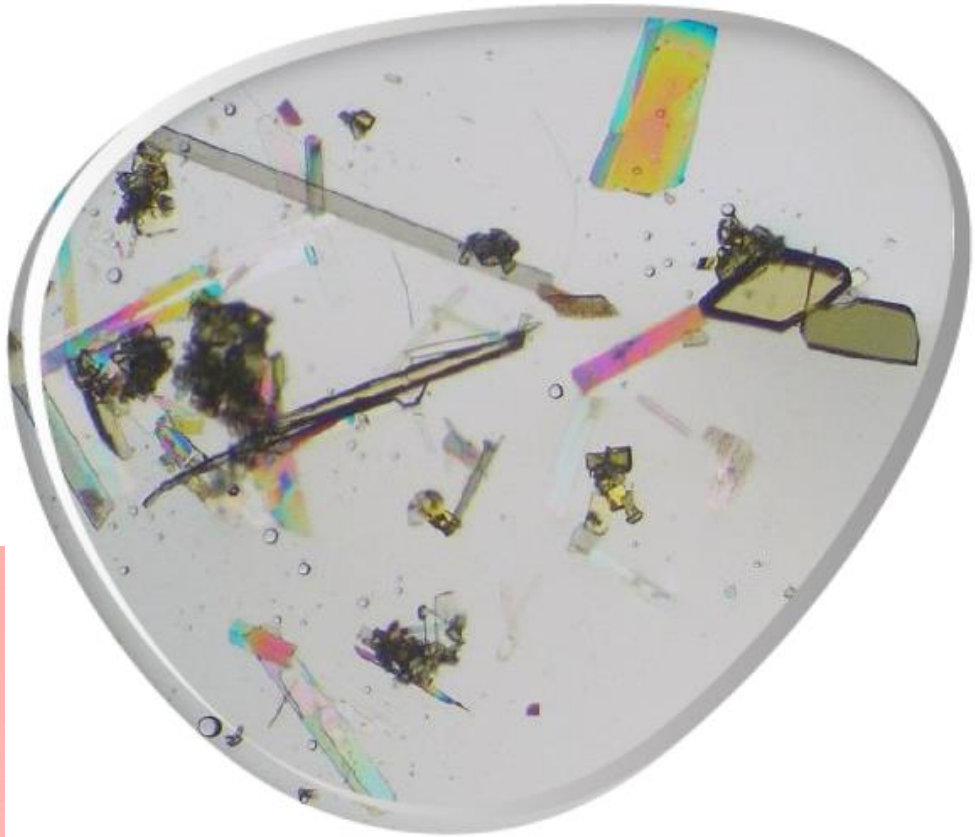


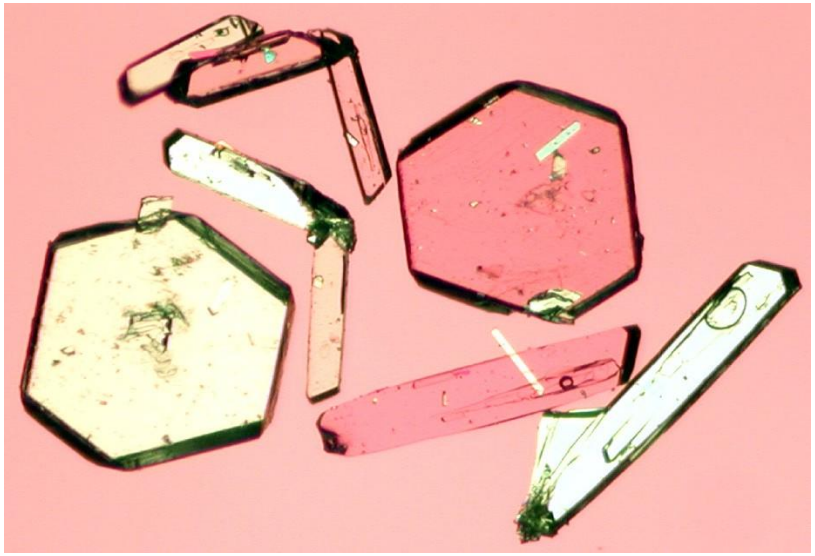
Cristales grandes, pueden cortarse
Tener en cuenta que el tamaño no exceda el 75% del ancho del colimador

ELECCIÓN DEL CRISTAL

La diferente morfología en una muestra cristalina puede deberse a:

- **Impurezas**
- **Solvatos**
- **Polimorfos**
- **Hidratos**
- **cocristales**
- **Productos de descomposición**





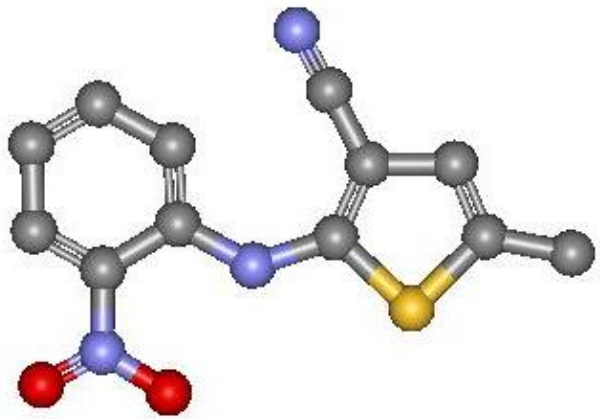
ELECCIÓN DEL CRISTAL

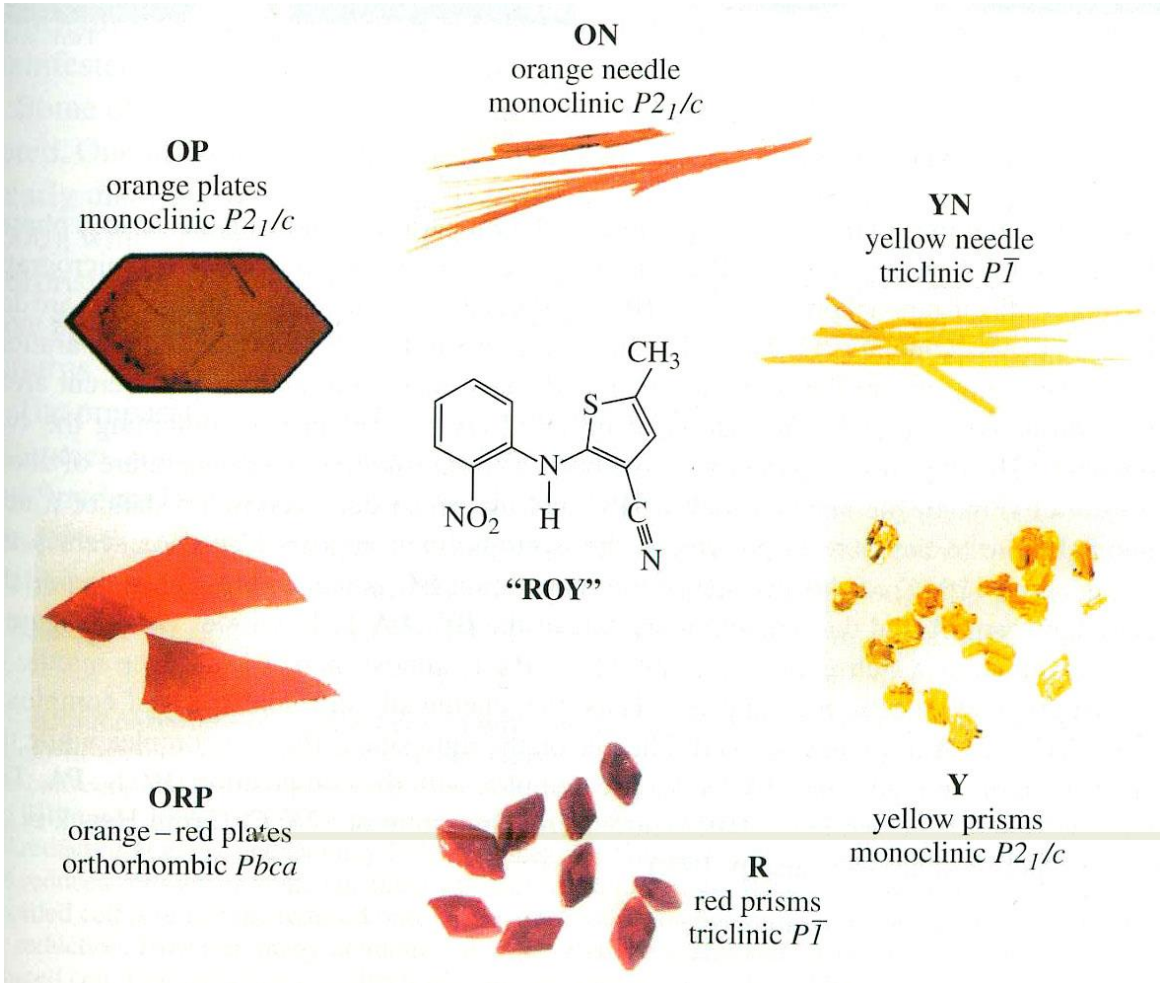
- **POLIMORFISMO:** se refiere a la habilidad que puede presentar un material sólido de existir en dos o más formas cristalinas manteniendo la misma composición química.

ELECCIÓN DEL CRISTAL

- **POLIMORFISMO:** se refiere a la habilidad que puede presentar un material sólido de existir en dos o más formas cristalinas manteniendo la misma composición química.

Ejemplo: ROY (5-metil-2-[(2-nitrofenil)amino]-3-tiofenocarbonitrilo), ejemplo muy usado por dar lugar a varios polimorfos de diferntes colores





Acta Crystallogr B. 2012 Dec;68(Pt 6):677-85 / *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127* (27), pp 9881–9885
L. Yu *J. Phys. Chem. A* **106**, 544-550 (2002)

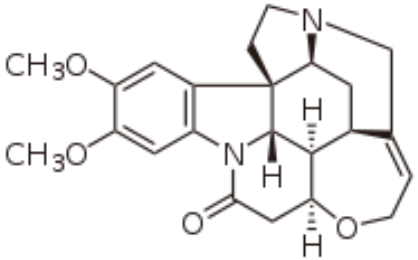
ELECCIÓN DEL CRISTAL

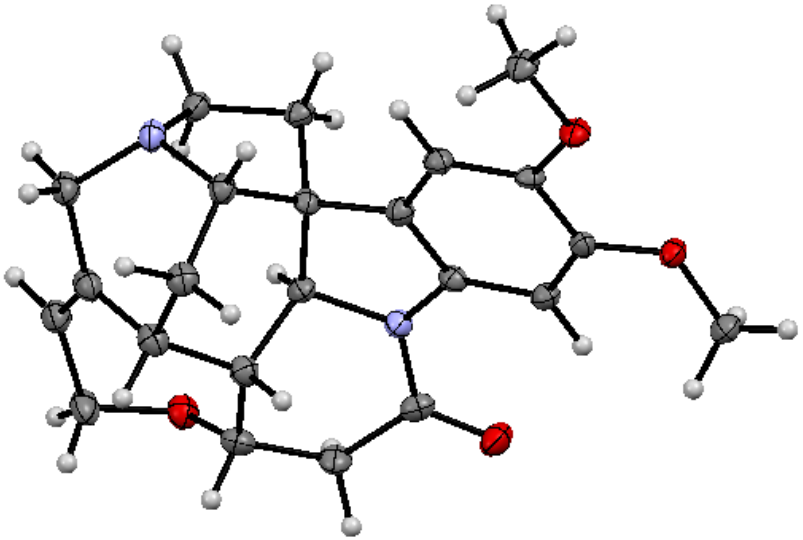
- **SOLVATO/SOLVATO:** en el contexto de cristalización y la obtención de material cristalino, se refiere a la cristalización de un determinado compuesto conjuntamente con la presencia de solvente en su estructura cristalina. Cuando el solvente es agua, se lo denomina **HIDRATO.**

ELECCIÓN DEL CRISTAL

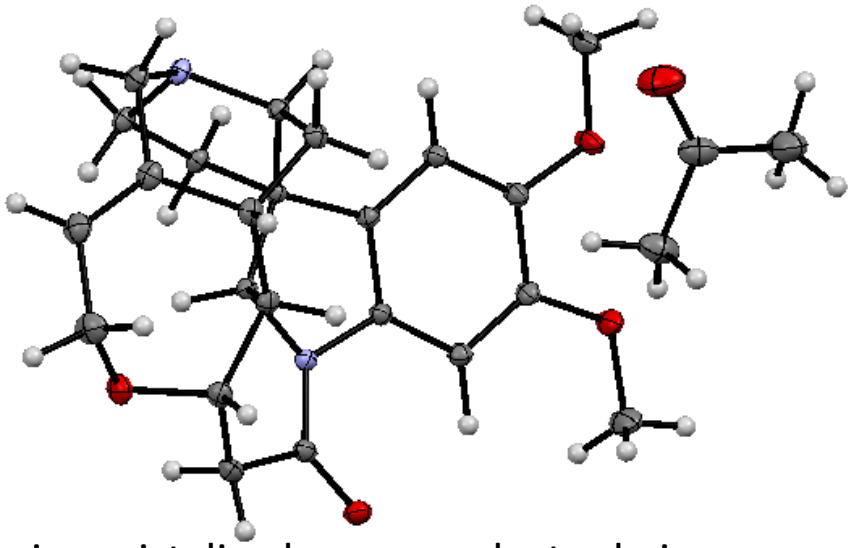
- **SOLVATO/SOLVATO:** en el contexto de cristalización y la obtención de material cristalino, se refiere a la cristalización de un determinado compuesto conjuntamente con la presencia de solvente en su estructura cristalina. Cuando el solvente es agua, se lo denomina **HIDRATO.**

Ejemplo: Brucina ($C_{23}H_{26}N_2O_4$) alcaloide presente en una especie de nuez de la cual también se extrae la estricnina (tóxico).





Brucina



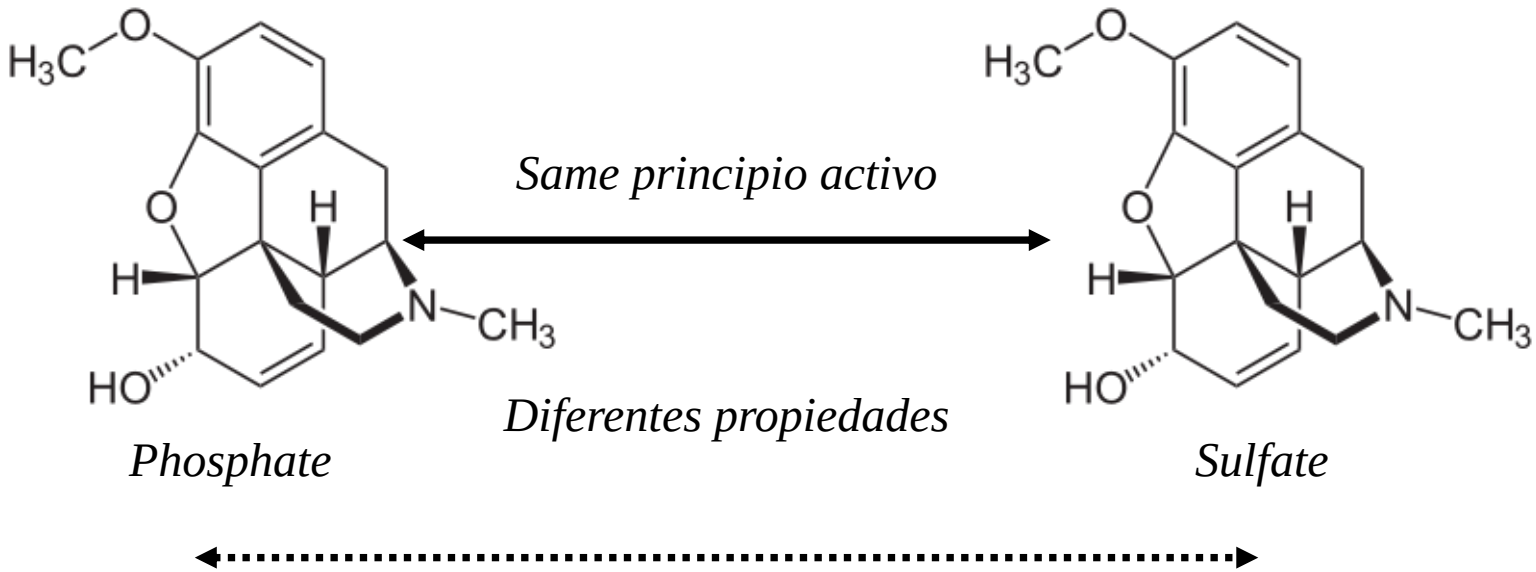
Brucina cristalizada como solvato de isopropanol

Acta Cryst. (2004). C**60**, o853-o855

ELECCIÓN DEL CRISTAL

- **SAL:** se refiere al material cristalino formado por un cation y un anión.

Ejemplo: principio activo compuesto farmacéutico



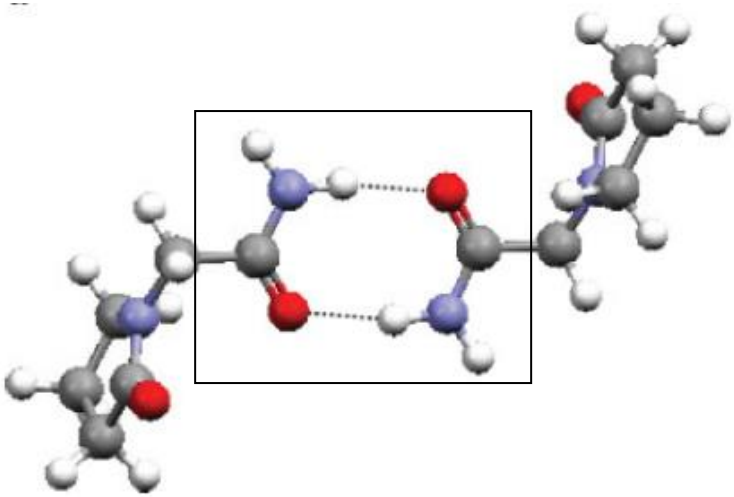
ELECCIÓN DEL CRISTAL

- **COCRISTAL:** se refiere al material cristalino formado por dos o más más compuestos químicos co-cristalizados de forma homogénea y que no son ni solvatos, ni sales.

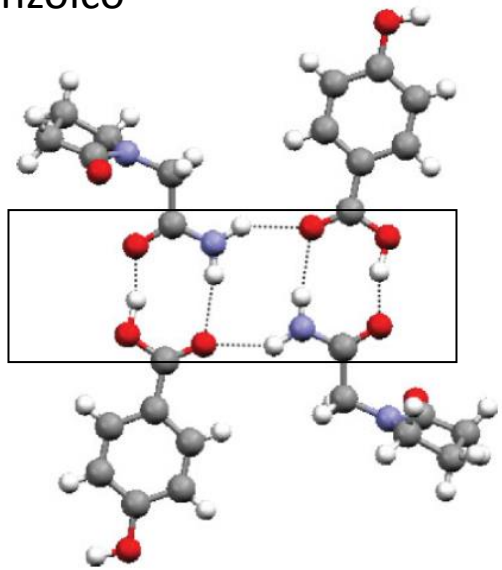
ELECCIÓN DEL CRISTAL

- **CO-CRISTAL:** se refiere al material cristalino formado por dos o más más compuestos químicos co-cristalizados de forma homogénea y que no son ni solvatos, ni sales.

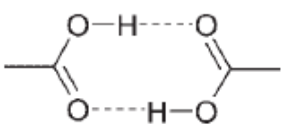
Ejemplo: piroxicam y cocristal piroxicama-ácido hidroxibenzoico



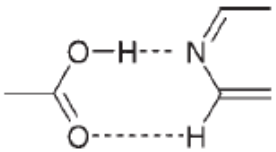
Piroxicam
Unión hidrógeno Network (III)



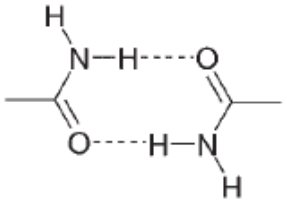
Piroxicam-ácido hidroxibenzoico
Unión hidrógeno entre el ácido y amida network (IV)



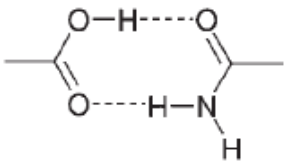
I



II



III



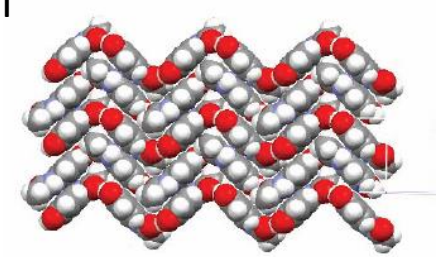
IV

P. Vishweshwar, J. Pharmaceutical Science, 95(3) 2006, p.499-516

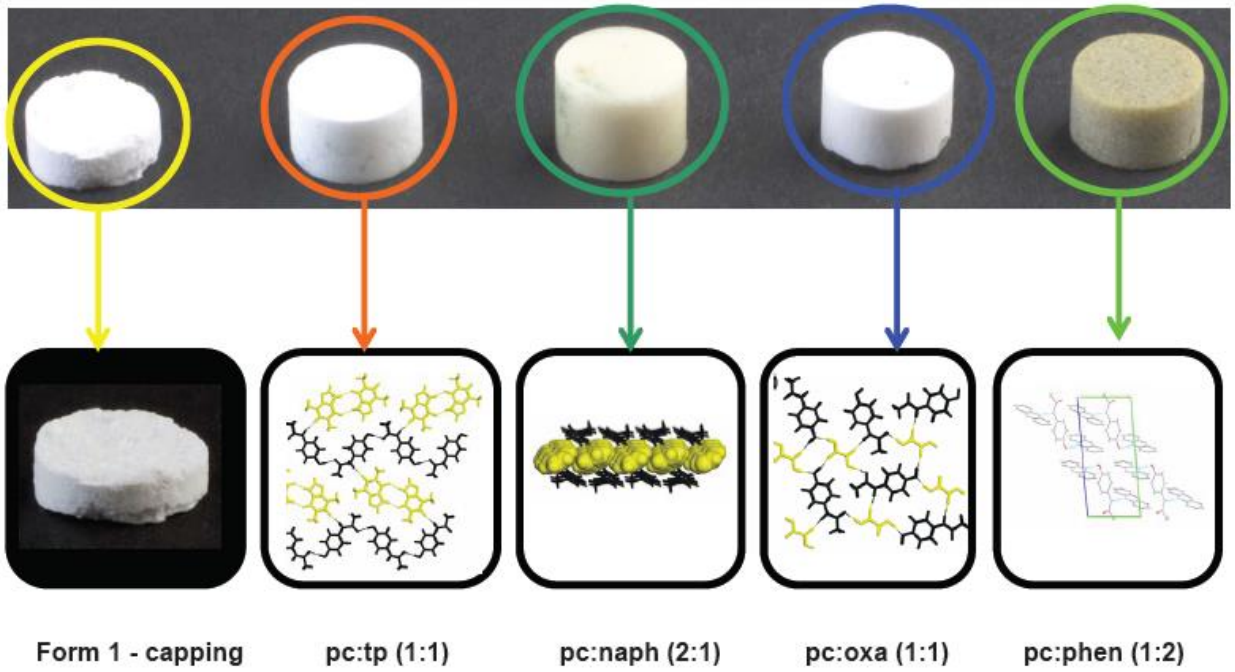
ELECCIÓN DEL CRISTAL

- **CO-CRISTALS:** se refiere al material cristalino formado por dos o más más compuestos químicos co-cristalizados de forma homogénea y que no son ni solvatos, ni sales.

Ejemplo: paracetamol



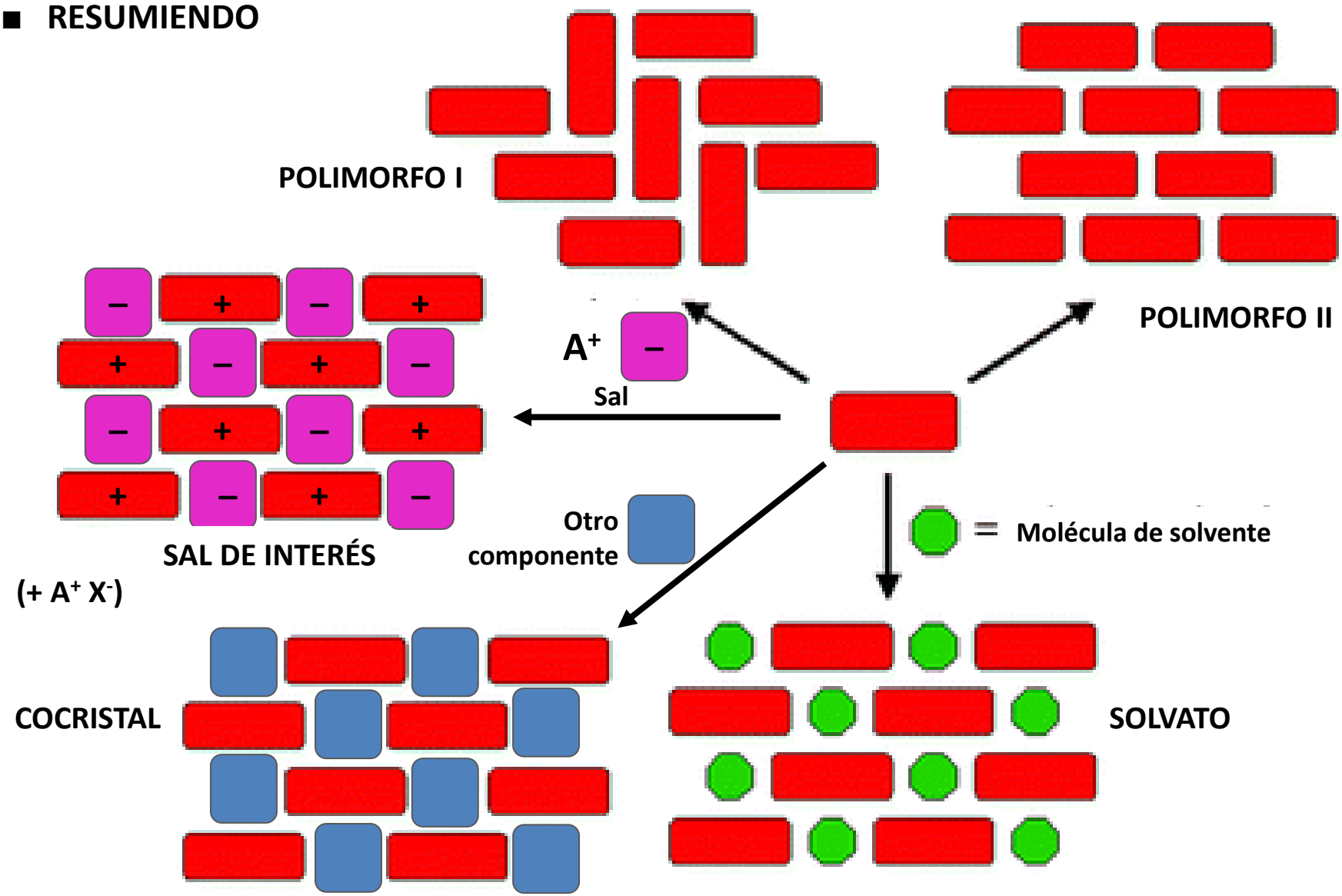
Paracetamol Forma I (Forma estable)
Red cristalina compacta
Estructura supramolecular: capas corrugadas apiladas
Propiedad: mala compresión (manufactura de comprimidos)



S. Karki, Advanced Materials, 21 (2000) p. 3905-3909.

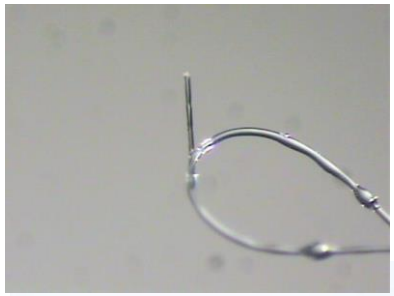
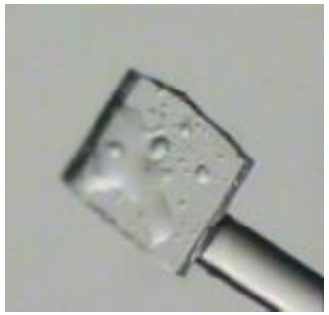
ELECCIÓN DEL CRISTAL

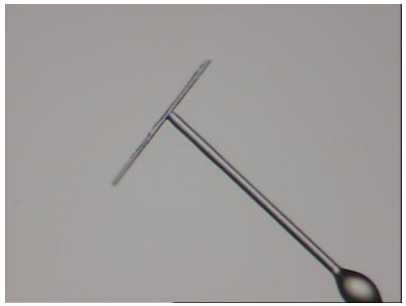
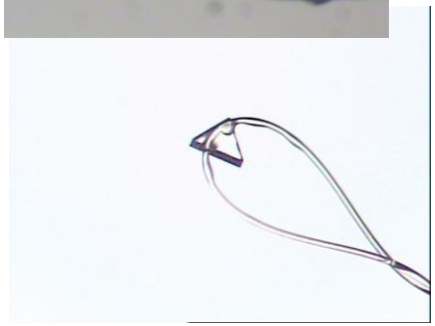
RESUMIENDO

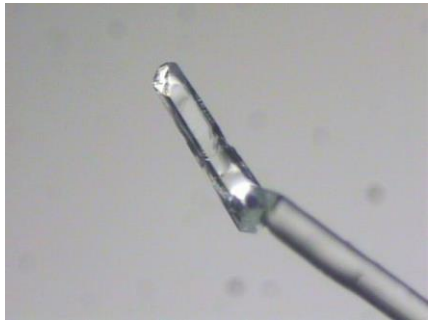
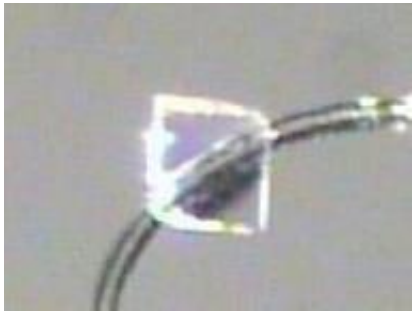
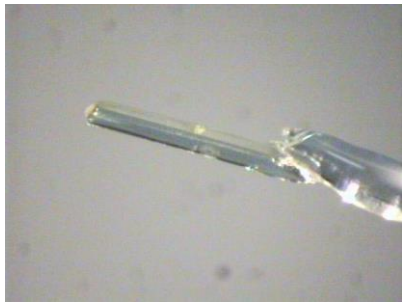
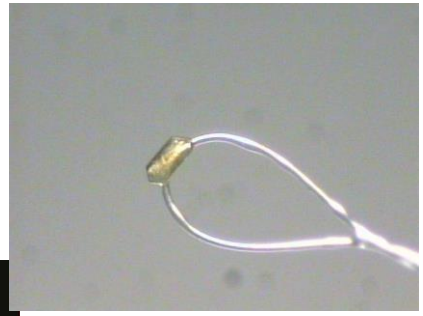


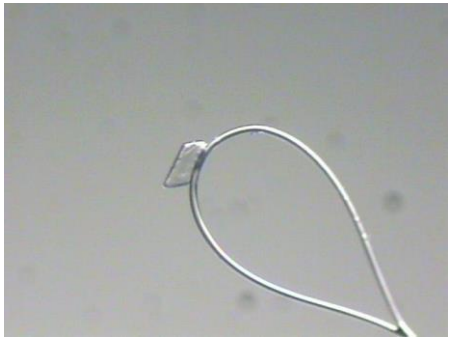
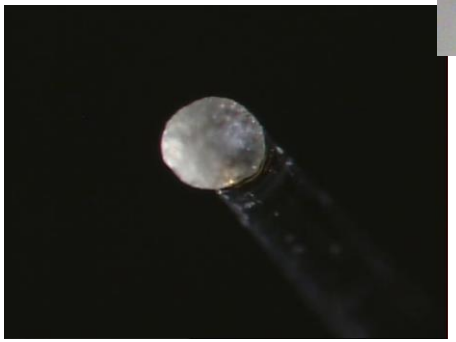
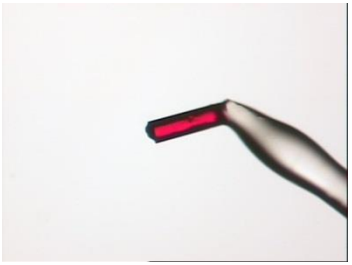
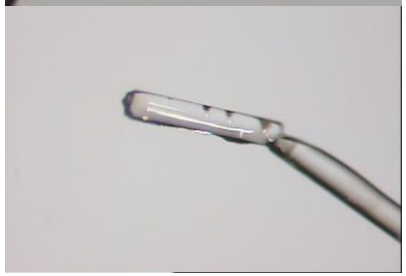
MONTAJE DEL CRISTAL

VER CLASE VII

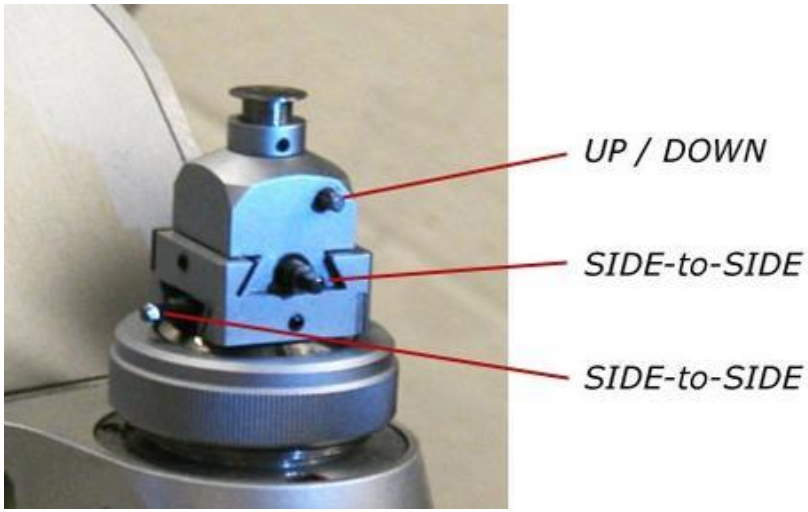



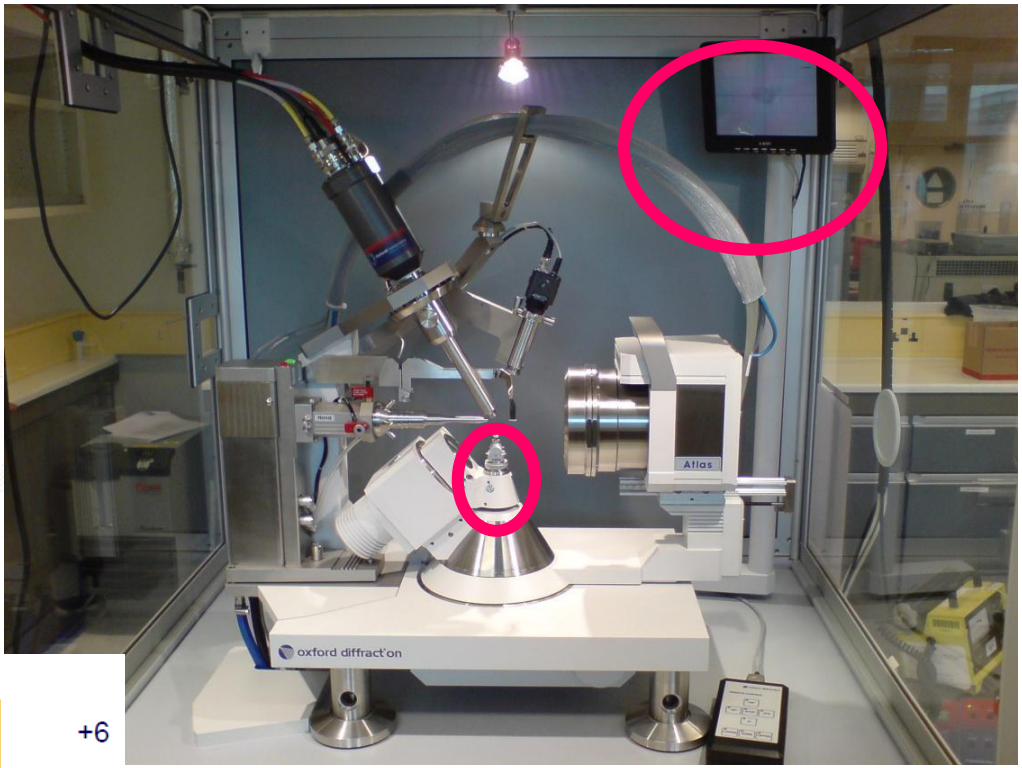





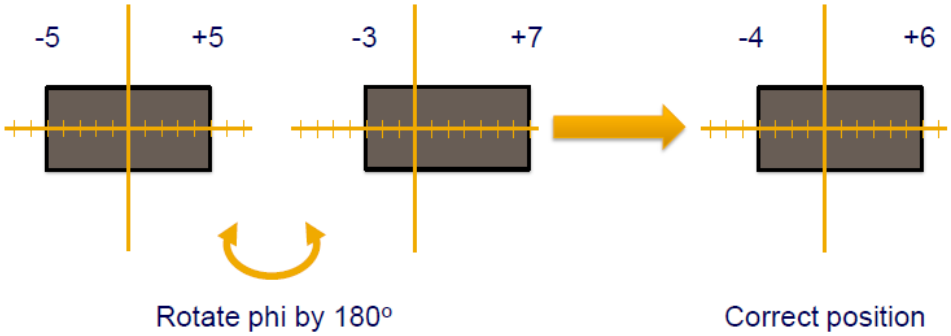





CENTRADO DEL CRISTAL

Ajustar las según xyz con respecto de la cabeza goniómetrica hasta que el centro de gravedad del cristal permanezca invariante cuando se rota la muestra







PRE-EXPERIMENTO: DETERMINACIÓN DE CELDA UNIDAD
Pre-experimento

- No es absolutamente necesario, **pero muy recomendable**!
- Es un indicador de la calidad del cristal ($2\theta_{max}$, forma de los puntos)
- Indicador de variables a tener en cuenta en la colección de datos
- Indicador de la identidad del cristal mediante el uso de bases de datos e información bibliográfica y "la regla de los 18 Å^3"

"Regla de los 18 Å^3": el volumen de la fórmula molecular en in Å^3 es aproximadamente igual a 18 veces el número de átomos que no son hidrógeno

⇒ Ejemplo para $C_{20}H_{18}N_2O_2$ se debería esperar un volumen de 24 x 18 = 432 Å^3
⇒ Considerar ese valor con respecto al volumen experimental determinado en el pre-experimento (determinación de celda unidad) y estimar fórmula molecular
⇒ Utilizar este valor para evaluar la validez de la propuesta del programa
⇒ Tener en cuenta que es un valor estimado

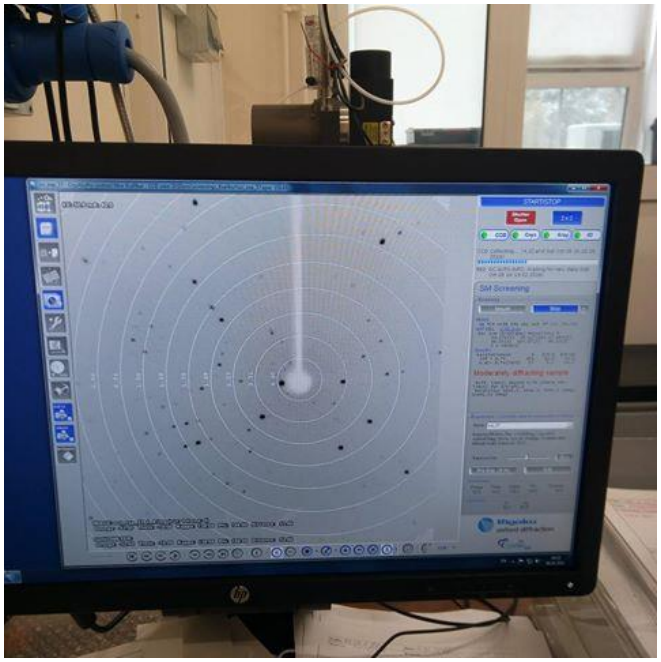
PRE-EXPERIMENTO: DETERMINACIÓN DE CELDA UNIDAD

Pre-experimento

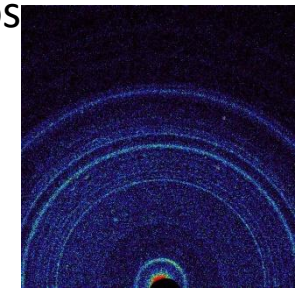
- Para determinar la celda unidad se requiere la variación angular para determinar los parámetros de celda y para definir los parámetros del experimento

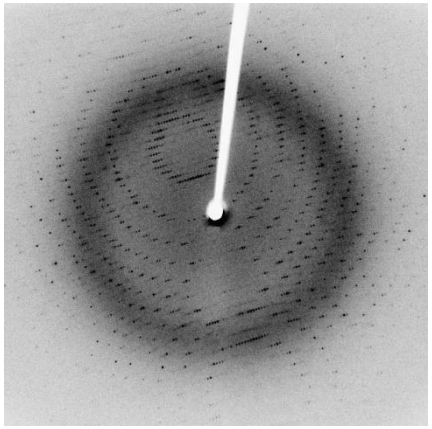
- Variables que se pueden modificar:
  - centrado (puede estar mal)
  - distancia del detector
  - número de frames
  - tiempo de exposición
  - resolución

- Siempre es preferible más frames ates que pocas. El limitante es el tiempo de uso/disponibilidad del equipo



RESOLUCIÓN Y TIEMPO DE EXPOSICIÓN





- Estas dos variables están estrechamente relacionados
- IUCr sugiere una resolución mínima de 0,84 Å
  - Mo *K*α, 50° 2θ
  - Cu *K*α, 134° 2θ
- Evaluar cuánto depende 2θ de la calidad del cristal y cuánto del tiempo de exposición
- Evaluar aumentar la resolución vs. El tiempo del experimento/tiempo de exposición
- Evitar tiempo de exposición muy largos a baja T para evitar formación de hielo
- Siempre la estrategia de medición/tiempo de exposición depende del uso de Mo *K*α o Cu *K*α
- Para Cu *K*α funciona muy bien trabajar con un de exposición mayor ángulo alto exponer momento de 4x que al ángulo inferior funciona bien
- Si la resolución demasiado baja, la calidad de los datos luego de resolverlos no será adecuada

DISTANCIA DEL DETECTOR AL CRISTAL

- Rango de trabajo: 45 a 120 mm

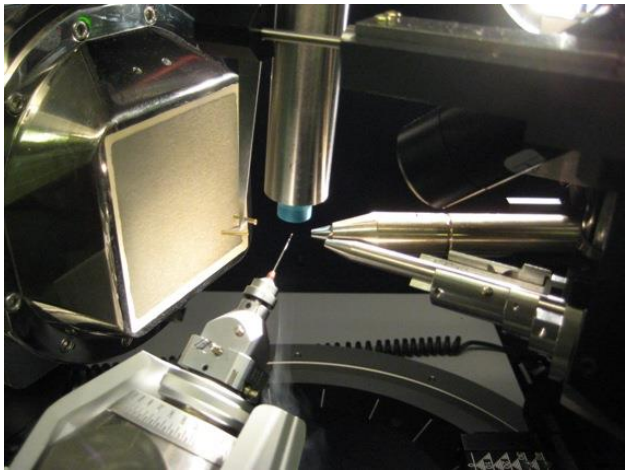
- Normalmente no es necesario modificar esta variable a no ser que se trate de una celda unidad muy grande y entonces ocurra que ciertas reflexiones comienzan a a parecer muy juntas

- Si ocurre lo anterior, se puede aumentar la distancia del detector

- Cálculo estimado: considerar al menos 1 mm por cada Å de la mayor dimensión de la celda unidad; ej. para 80 Å, el mínimo sería 80 mm

- A mayor distancia se posiciona el detector, menor es el ángulo de colección de datos y por lo tanto mayor es el número de frames que se necesitarán

- Si se utiliza MoKα, también se podría considerar
- un cambio a CuKα y evaluar mejoras



ESTRATEGIA DE COLECCIÓN DE DATOS

- "Opción manual" técnicamente viable: colectar datos que completen una hemiesfera

- Utilizando un modelo computacional de la construcción de Ewald:
  - posicionar los círculos
  - rotar un eje y colectar una serie de frames (imágenes) consecutivas (esa serie se denomina "run" => luego de terminar el experimento se tendrán varios runs con un determinado numero de frames cada uno, cada run posee una disposición diferente del cristal con respecto a la fuente)

- La cantidad de datos que se requieren dependerán de la clase de Laue a la que pertenezca el sistema

- Cuanto mayor cantidad de reflexiones equivalentes, más fácil es la tera

- Hoy en día, los programas crean la estrategia de medida de forma automática

- Proporcionar al programa los parámetros básicos requeridos (tipo de celda estimada, calidad del cristal, fórmula molecular, tipo de radiación, distancia del detector…)

REDUNDANCIA

- Redundancia = número de observaciones / número de datos únicos

- En detectores de área, siempre existe algo de redundancia

- Típicamente, a mayor redundancia, mejor; un alto valor de redundancia permite:
  - promediar intensidades e identificar outliers
  - establecer una estrategia de corrección de absorción standard y corregir otros errores sistemáticos

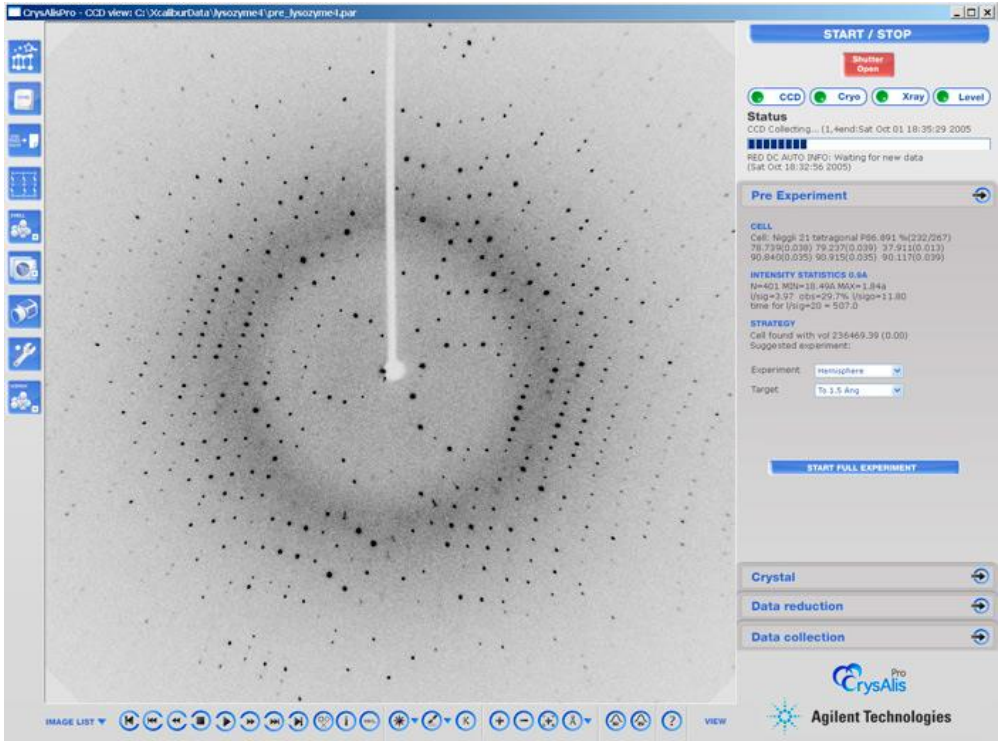
- El nivel de redundancia requerida depende de:
  - Nivel de exactitud deseado
  - nivel de errores sistemáticos en los datos (imperfecciones, polvo, formación de hielo, absorción,…)
  - Si las fases del cristal fueron determinadas correctamente (para realziar una corrección por absorción adecuada)
  - Tiempo disponible
  - sensibilidad del cristal a las condiciones de mediada

AUMENTAR LA REDUNDANCIA

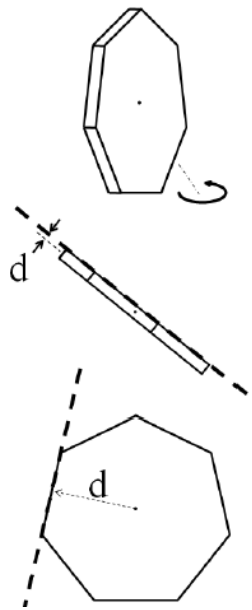
- Una opción para aumentar la redundancia es aumentar la cobertura de los datos medidos (*data coverage*).
  - Esto implica ignorar la clase de Laue y considerar cada reflexión única
  - 100% de cobertura, implica la colección de la esfera completa ("medir en P1")

- Si la simetría no representa el contenido de la celda, esta opción es la que conduce a datos resolubles

- Una buena opción para aumentar la redundancia puede ser colectar las reflexiones opuestas de Friedel



INDEXAR LAS CARAS



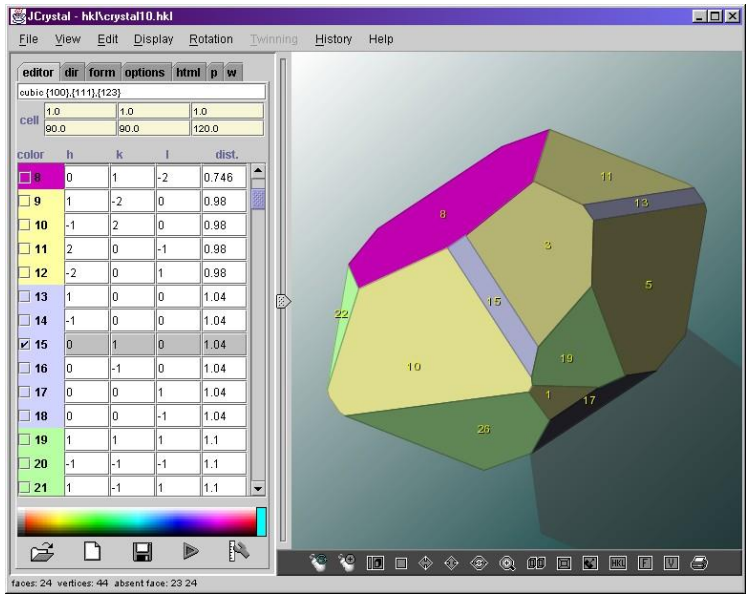
- Siempre es aconsejable tomar alguna foto del cristal. El programa CrysAlisPro registra un video corto del cristal antes de realizar la medición. Para que este video se registre correctamente, es necesario dejar la luz prendida de la cabina. Cuando termina la filmación, apagar la luz.

- Si el programa no lo hace en forma automática, realizarlo entes de realizar la medición

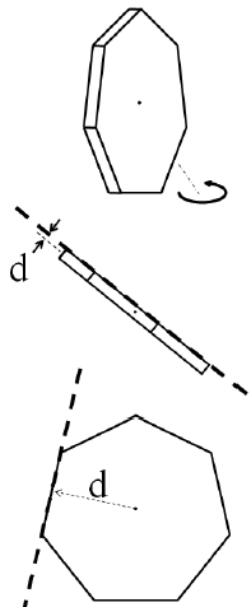
- Luego, indexar las caras con esa información. Si se cuenta con el video, la indexación puede hacerse luego del experimento de medida

- Según la “Ley de los índices racionales”, los índices de Miller deben ser los enteros menores

- Las caras opuestas del cristal, tendrán índices de Miller que corresponden a opuestos de Friedel (esto no lo veremos en detalle)



INDEXAR LAS CARAS



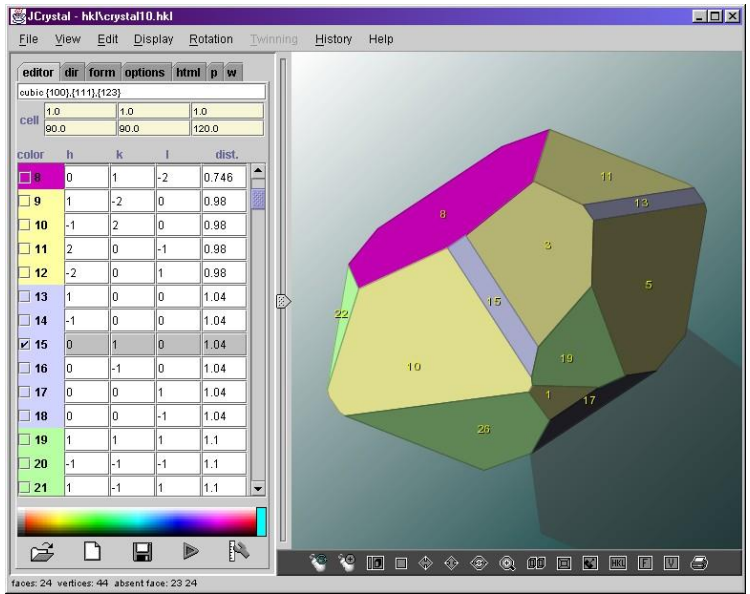
- Siempre es aconsejable tomar alguna foto del cristal. El programa CrysAlisPro registra un video corto del cristal antes de realizar la medición. Para que este video se registre correctamente, es necesario dejar la luz prendida de la cabina. Cuando termina la filmación, apagar la luz.

- Si el programa no lo hace en forma automática, realizarlo entes de realizar la medición

- Luego, indexar las caras con esa información. Si se cuenta con el video, la indexación puede hacerse luego del experimento de medida

- Según la “Ley de los índices racionales”, los índices de Miller deben ser los enteros menores

- Las caras opuestas del cristal, tendrán índices de Miller que corresponden a opuestos de Friedel (esto no lo veremos en detalle)



CORRECCIÓN DEL BACKGROUND

- El background (fondo, ruido, etc) varía y debe estimarse y realizar la corrección de los datos
- La estimación del background se realiza considerando la cuenta de pixeles en cada frame
- Puede considerar el error en 2θ o el área inmediata alrededor del pico (señal)
- Se puede considerar un background promedio para cada pixel
- Considerar un leva cambio dependiendo de cada frame

MASCARA ACTIVA o AREA ACTIVA DE MEDICIÓN

- Esta “máscara” se utiliza para saber qué pixeles son activos y cuales deberán ser considerados o no para su integración
- Ignora pixeles bajo la sombra del beamstop, o bajo el flujo del dispositivo de naja T
- Ignora pixeles cerca de los bordes del detector
- La mascara debe considerarse variable cuando el área activa de cada frame varía (eso depende del instrumento)

■ CORRECCIÓN POR ABSORCIÓN

La corrección por absorción se representa mediante el coeficiente de absorción lineal μ.
La IUCr recomienda:

- realizar el PRODUCTO DE LA DIMENSIÓN INTERMEDIA DEL CRISTAL x μ
- Si ese producto > 1, la corrección es considerada "beneficiosa"
- Si ese producto > 5 la corrección es considerada "altamente recomendable"

■ CORRECCIÓN POR INDEXACIÓN DE LAS CARAS.

- Método más preciso
- Con la información de las caras, se puede aplicar una corrección ANALITICA o GAUSEANA. La primera divide al cristal en pequeños poliedros y en la segunda se divide al cristal en una grilla de puntos.

■ CORRECCIÓN POR MULTI-SCAN

- Método semi-empírico que permite corregir datos inadecuados, incluida la corrección por absorción. Para realizar la corrección considera que la intensidad de las reflexiones a iguales ángulos deben ser iguales y si no lo son es por debido a factores entre ellos, la absorción.

CONSEJOS IMPORTANTES

- Utilizar el tiempo (de equipo y laboratorio) de forma correcta y solidaria
- Una vez que comienza el experimento, observar que los farmes estén colectándose correctamente.
- Registrar los datos del experimento (datos del cristal, parámetros de celda, ususario, detalles anómalos) en el cuaderno de usuarios
- Cuando termina el experimento observar la “película de las frames” antes de remover el cristal (película que registra todas las frames colectadas, dura unos pocos segundos)
- Considerar medir la celda a temperatura ambiente además de a baja T. Puede ocurrir que no corresponda a la misma fase.

Bibliografía y referencias

http://hazeslab.med.ualberta.ca/tutorials/data_collection/optimization.html

http://web.mit.edu/x-ray/cystallize.html

http://www.iucr.org/education/teaching-resources/crystal-growing

https://www2.chemistry.msu.edu/Facilities/Crystallography/xtalgrow.pdf

Hampton Research Catalog, http://www.hamptonresearch.com/

http://www.xray.ncsu.edu/GrowXtal.html