



*Facultad  
de  
Ciencias*

**ESTUDIOS ESTRUCTURALES EN  
FÁRMACOS DE USO COMÚN. EFECTO DE  
LAS ORIENTACIONES PREFERENCIALES**

**(Structural studies on commonly used drugs.  
Effect of preferred orientations)**

**Trabajo de Fin de Grado  
para acceder al**

**GRADO EN FÍSICA**

**Autor: Santiago Crespo Fernández**

**Director: Fernando Aguado Menéndez**

**Co-Director: Marina Teresa Candela de Aroca**

**Septiembre - 2022**

## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer a todas las personas que en cualquier momento me hayan ayudado en esta última etapa y a lo largo de estos años.

En primer lugar, a mi director y co-directora de TFG Fernando Aguado y Marina Teresa Candela sin su dedicación no podría haberse llevado a cabo.

En segundo lugar, a mi familia en especial a mis padres por todo su apoyo y comprensión en los peores momentos.

Por ultimo me gustaría agradecer a mis amigos por toda su ayuda y apoyo durante estos años, en especial a mis amigos Ixaka, Aritz, Asier y Desirée, sin ellos esta experiencia no habría sido igual.

## Resumen

En este trabajo se ha resuelto la estructura cristalina de diferentes fármacos de uso común (aspirina, ibuprofeno, ranitidina y amoxicilina) tanto en su forma comercial como su principio activo a partir de la técnica de difracción de rayos X en muestras en polvo. A su vez, se ha evaluado el efecto de las orientaciones preferenciales en la resolución de dichas estructuras, para lo cual se han realizado estudios previos del efecto de diferentes factores experimentales sobre las orientaciones preferenciales. Para la resolución de la estructura se ha empleado principalmente el método *Simulated annealing*, complementado en algunos casos con el método *Charge Flipping*. Los resultados se han comparado con datos estructurales previos obtenidos por difracción en monocristal.

**Palabras clave:** Difracción de rayos X, fármacos, estructura cristalina, orientaciones preferenciales, simulated annealing.

**Abstract:** The crystalline structure of several commonly used drugs (aspirin, ibuprofen, ranitidine and amoxicillin) has been obtained both in its commercial form (with excipients) and in its pure form (active ingredient), through X-ray powder diffraction. The effect of preferred orientations on the structure determination process has also been evaluated, analyzing the effect of different experimental variables previously. Structure determination has been mainly performed with the Simulated annealing method, although Charge Flipping has been tested as well. Results have been compared with previous works from single crystal data.

**Keywords:** X-ray Diffraction, Drugs, crystal structure, preferred orientations, simulated annealing.

# Índice

1.	Introducción.....	6
1.1	Fármacos de uso común.....	6
1.1.1	La aspirina .....	6
1.1.2	El ibuprofeno.....	7
1.1.3	La ranitidina.....	8
1.1.4	La amoxicilina.....	9
1.2	Polimorfismo en fármacos.....	11
1.3	Orientaciones preferenciales.....	13
2.	Técnicas experimentales y preparación de muestras .....	14
2.1	Los Rayos X.....	14
2.2.1	Teoría de la difracción de R-X.....	145
2.2.2	Dispositivo experimental .....	146
2.2.3	Técnicas de preparación de la muestra.....	146
3.	Métodos de análisis .....	17
3.1	Refinamiento Pawley .....	18
3.2	Determinación estructural.....	18
3.2.1	Simulated Annealing.....	18
3.2.2	Charge Flipping .....	19
3.3	Refinamiento Rietveld .....	14
4.	Resultados .....	14
4.1	Análisis cualitativo.....	14
4.1.1	Aspirina .....	14
4.1.2	Ibuprofeno .....	14
4.1.3	Ranitidina.....	14
4.1.4	Otros: Amoxicilina y ciprofloxacino.....	14
4.2	Obtención de la estructura.....	14
4.2.1.3	Simulated annealing y refinamiento Rietveld.....	14

4.2.1.1 aspirina.....	14
4.2.1.2 Ibuprofeno .....	14
4.2.1.3 Ranitidina .....	14
4.2.1.4 Amoxicilina.....	14
4.2.2 Charges flipping .....	14
5. Conclusiones .....	14
6. Referencias.....	20
7. Anexos.....	20
7.1 Anexo I: Posiciones atómicas tomadas como referencia.....	14
7.2 Anexo II: composición comercial de los medicamentos.....	14
7.3 Anexo III: Ejemplos de codigos usados .....	14

## 1.Introducción

En este trabajo se ha estudiado la resolución de la estructura cristalina de algunos fármacos de uso común a partir de la técnica de difracción de rayos X sobre muestras en polvo. Esta técnica, a pesar de ser rápida, sencilla y estar disponible en muchos laboratorios relacionados con la física y química de materiales, presenta algunos inconvenientes frente a otras alternativas no tan accesibles, como la difracción de rayos X de muestras en monocristal. En particular, el efecto de las orientaciones preferenciales (OP) que presentan muchas de estas muestras y que vienen normalmente asociadas a la morfología de las partículas que forman el polvo, hacen que la resolución de la estructura pueda verse dificultada o imposibilitada en algunos casos. Por tanto, se ha realizado un estudio del efecto de las OP sobre la resolución de estructuras de fármacos, tanto en su principio activo como en muestras comerciales. Para ello, previamente se ha realizado un estudio cualitativo de las OP en cada una de las muestras, analizando el efecto que pueden tener las diferentes variables asociadas a la naturaleza de las mismas, así como las relacionadas con la preparación y procedimiento experimental de medida. En este trabajo se han seleccionado hasta 5 fármacos de uso común para su evaluación y resolución de su estructura. Los resultados se han comparado con las estructuras previamente publicadas y obtenidas a partir de la difracción en monocristal (sin efecto de OP), datos que también se han empleado para el análisis de los factores que afectan a dichas OP en las muestras de interés.

### 1.1 Fármacos de uso común

Una forma de clasificar los fármacos es según su uso habitual. Dentro de esta clasificación se pueden encontrar los analgésicos, los antipiréticos, los antiinflamatorios (AINES), los antibióticos o los antialérgicos, por nombrar unos pocos. Muchos de estos fármacos que se usan en medicina pueden cristalizar en diferentes fases o formas, de las que dependen diferentes propiedades, desde la compactación a la farmacocinética. Por tanto, es muy importante conocer la estructura de las diferentes fases o polimorfos de los medicamentos en cuestión. La técnica utilizada en este trabajo permite identificar la presencia de diferentes polimorfos, además de la resolución de sus estructuras cristalinas. En este trabajo se han empleado hasta 5 medicamentos de uso común: aspirina, ibuprofeno, ranitidina, amoxicilina y ciprofloxacino. A continuación, se describen sus usos y características junto con la descripción de sus moléculas y las estructuras cristalinas conocidas.

#### 1.1.1 La aspirina

La aspirina o ácido acetilsalicílico es uno de los principales y más conocidos fármacos en la actualidad. Su uso medicinal es muy amplio ya que es utilizado como analgésico, antiinflamatorio y antipirético. Naturalmente proviene de la esencia de la corteza del sauce y sus propiedades eran ya conocidas por los egipcios. Sin embargo, no fue hasta el año 1897 cuando el científico F. Hoffman en los laboratorios Bayer sintetizó la aspirina en su fase estable tal y como hoy la conocemos. [1]

La molécula de la aspirina (ver Figura 1), con fórmula estequiometría  $C_9H_8O_4$  y denominada Ácido 2-(acetiloxi)-benzoico según la IUPAC, se compone de un anillo de benceno (C1-C6), un acetilo (C7-O3-O4) y un carboxilo (O1-C8-O2-C9).

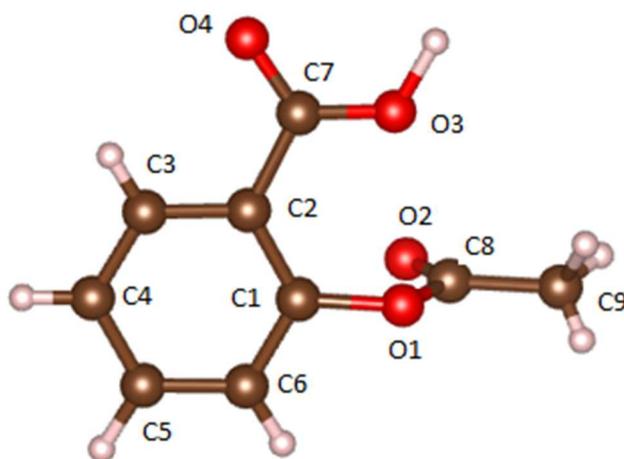


Figura 1. Esquema de la molécula de la aspirina [2]. Los átomos C1 a C9 se corresponden con átomos de carbono, mientras que O1 y O2 representan átomos de oxígeno. Los átomos no etiquetados se corresponden con hidrógenos.

Como se puede ver en la Figura 1, el anillo de benceno y el grupo acetilo se encuentran en un mismo plano mientras que el grupo carboxilo se encuentra formando un ángulo de torsión (O1-C1-C2-C7) de  $3^\circ$ . Los grupos carboxilo y acetilo se encuentran aproximadamente en perpendicularidad el uno del otro. El ángulo entre O3 y O4 y entre O1 y O2 es de  $123^\circ$  en ambos casos, sin embargo, el ángulo entre O1 y C9 es de  $110^\circ$ . Las distancias de enlace son aproximadamente  $1.39 \text{ \AA}$  para los enlaces dobles C=C correspondientes del anillo de benceno y para el enlace C1-O1,  $1.49 \text{ \AA}$  para los enlaces simples C-C enlace (C2-C7 y C8-C9). Las demás distancias de enlace C-O o C=O tienen distancias de enlace que varían de  $1.16$  a  $1.36 \text{ \AA}$ .

### 1.1.2 El ibuprofeno

El ibuprofeno pertenece al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), como la aspirina, y es muy usado en dolencias musculoesqueléticas. Se trata de un fármaco mucho más reciente que la aspirina, ya que no fue formulado y sintetizado hasta 1960 por el español Antonio Ribera Blancafort.

La molécula de ibuprofeno tiene fórmula estequiométrica  $C_{13}H_{18}O_2$  y se denomina por la IUPAC como ácido (*RS*)-2-(4-isobutilfenil) propanoico. Como se puede observar en la Figura 2, la molécula se compone de un anillo de benceno con un carboxilo y un grupo 2metil-propano, uno a cada extremo del anillo. La molécula de ibuprofeno tiene una forma alargada debido al enlace de las dos ramas, del carboxilo y del 2metil-propano, a ambos lados del anillo de benceno. Los átomos de carbono del anillo bencénico y el C11 y C7 están posicionados en un mismo plano, sin embargo, a partir de aquí la adopta una forma de zigzag a lo largo de su cadena principal. El ángulo formado por C1-C7-C8 es de  $113.34^\circ$ , el ángulo entre C7-C8-C9 es de  $110^\circ$ , igual que el ángulo formado por C9-C8-C10. En el otro extremo de la molécula (izquierda de la Figura 2) se observan los siguientes ángulos:  $114^\circ$  entre C4-C11-C13,  $107^\circ$  entre C4-C11-C12 y  $123.5^\circ$  entre O1-C12-O2.

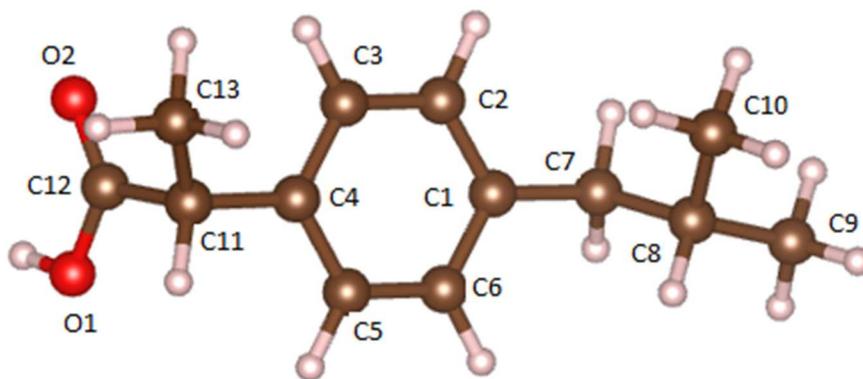


Figura 2. Esquema de la molécula del ibuprofeno [3]. De forma análoga al etiquetado de la aspirina, los átomos C1 a C13 se corresponden con carbonos, mientras que O1 y O2 se corresponden con oxígenos. Los hidrógenos no han sido etiquetados.

Las distancias típicas de enlace en la molécula de ibuprofeno son de 1.4 Å para los enlaces que componen el anillo de benceno, 1.5 Å para los enlaces C-C fuera del anillo, 1.3 Å para los enlaces C-O y 1.2 Å para los enlaces C=O.

Como se verá más adelante, en el caso del ibuprofeno existen dos polimorfos conocidos, es decir, diferentes formas de organización de las moléculas en una estructura cristalina. Esta es una característica común en muchos fármacos de uso habitual.

### 1.1.3 La ranitidina

La ranitidina pertenece al grupo de fármacos denominados antagonistas de los receptores  $H_2$  de la histamina, y se encarga de controlar la liberación del ácido del estómago, por lo que su uso principal es como protector de estómago y otras causas digestivas. Sin embargo, en septiembre de 2019 la agencia española del medicamento ordenó la retirada del mercado de todos los fármacos con este principio activo por la presencia de nitrosaminas, orden que elevó a estancias europeas y se está llevando a cabo a nivel internacional. Estas sustancias proceden de reacciones químicas o contaminación en los reactivos y son perjudiciales por ser potencialmente cancerígenas. [4]

La molécula de la ranitidina, con fórmula estequiométrica  $C_{13}H_{23}ClN_4O_3S$  y denominado como Clorhidrato de [1-({2-[[{5-[(dimetilamino)metil]furan-2-il]metil]sulfanil]etil}amino)-2-nitroetenil](metil)amina, tiene una forma más compleja que los fármacos descritos anteriormente, como puede observarse en la Figura 3 En su forma de hidrocloreuro, cuenta con un cloro (Cl) que se encuentra alejado de la cadena principal de la molécula, como puede observarse.

La ranitidina tiene una forma compleja. Por ello, para describir su forma partimos la molécula en diferentes partes. Empezando por la izquierda en la Figura 3 puede verse un Nitrógeno (N1) enlazando con tres carbonos C5, C6 y C7 en forma piramidal con ángulos de  $112^\circ$  entre ellos. Por otra parte, enlazando a C5 formando un ángulo de  $113^\circ$  con N1-C5-C4, encontramos un anillo de benceno en forma pentagonal con los átomos C1, C2, C3, C4 y O1. De forma simétrica enlaza por C1 con la siguiente parte de la molécula, una cadena con marcados ángulos entre átomos y de torsión desde C8 hasta C11, pasando por S y N2, desde su comienzo.

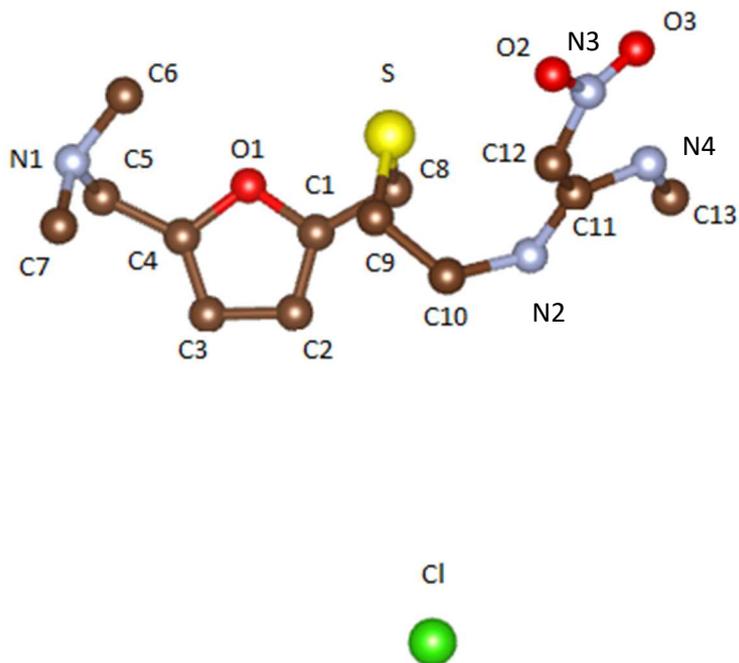


Figura 3. Esquema de la molécula de la ranitidina [5]. Los átomos N1-N4 se corresponden con átomos de nitrógeno, y los átomos S y Cl representan a átomos de azufre y cloro, respectivamente. El resto de etiquetados se mantiene como en las anteriores figuras.

El átomo C8 enlaza con un S, formando un ángulo C1-C8-S de  $113^\circ$ , que a su vez enlaza con C9 formando un ángulo C8-S-C9 de  $101^\circ$  y un ángulo de torsión C1-C8-S-C9 de  $63^\circ$ . Seguidamente C9-C10-N2-C11 se encuentran formando ángulos de  $121^\circ$  entre ellos y un ángulo de torsión de  $66^\circ$ . Al fin de la cadena se observan dos grupos: primero está la unión de N4 con C13 formando un ángulo de  $116^\circ$  con C11 y por otra parte están C12 y N3 enlazando con C11 con un ángulo de  $110^\circ$  y O2-N3-O3 con un ángulo de  $120^\circ$ . Estos dos últimos grupos contienen todos sus átomos en el mismo plano, sin ángulos de torsión excepto los dos oxígenos muy ligeramente desviados.

Algunas de las distancias típicas de enlace presentes en la ranitidina son  $1.37 \text{ \AA}$  para los enlaces dentro del anillo pentagonal (tanto C-O como C-C o C=C) y  $1.80 \text{ \AA}$  para las distancias de enlace C-S. El resto de distancias de enlace varía aproximadamente entre  $1.4$  y  $1.5 \text{ \AA}$ .

#### 1.1.4 La amoxicilina

La amoxicilina ( $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ ) es uno de los antibióticos más usados en la medicina y en la veterinaria. Se trata de un fármaco derivado de la penicilina, y puede presentarse en forma anhídrida, sódica o trihidratada, si bien la trihidratada es la más estable y es la utilizada a lo largo de este trabajo.

La molécula de la amoxicilina tiene una estructura compleja formada por una cadena de átomos de carbono, nitrógeno y oxígeno además de los hidrógenos correspondientes (ver Figura 4). En la Figura 5 se han representado en detalle cada una de sus partes.

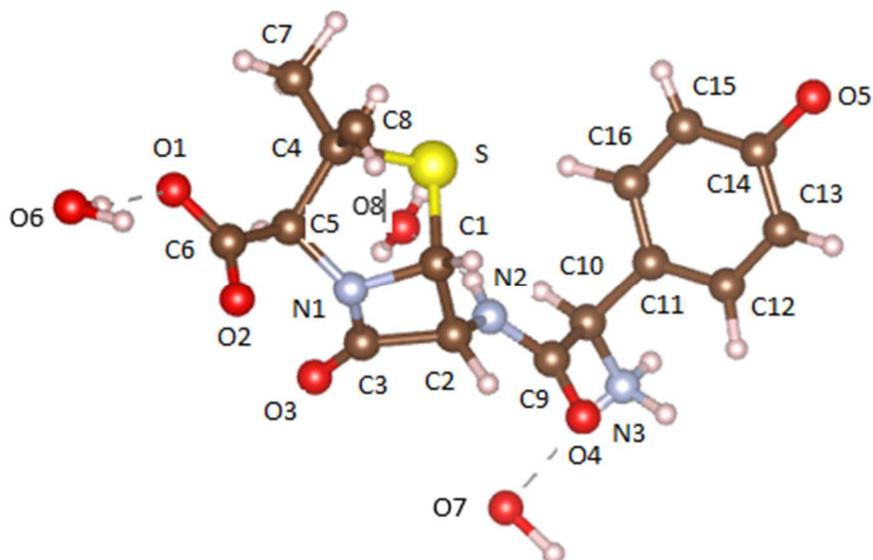


Figura 4. Esquema de la molécula de la amoxicilina [6]. Las diferentes etiquetas corresponden a cada uno de los átomos mencionados en las anteriores figuras.

La molécula de la amoxicilina se puede explicar en cuatro partes diferentes. La primera corresponde al extremo derecho de la Figura 4 (así como la Figura 5d). Cuenta con un oxígeno (O5) enlazado a un anillo de benceno (C11-C12-C13-C14-C15-C16) en un mismo plano y con distancias de enlace dentro del anillo de 1.37 Å, al igual que para la unión con el oxígeno O5. La segunda parte (Figura 5c) enlaza con el anillo por C11 donde se sitúa C10, el cual se encuentra en el mismo plano que la parte anterior. Siguiendo la cadena principal estaría el carbono C9 formando un ángulo C11-C10-C9 de 108.5° y finalmente un nitrógeno N2 formando un ángulo de 113.5° con C10-C9-N2. Sin embargo, N3 y O4 se encuentran en esta parte fuera de la cadena principal, enlazado a C10 y C9, respectivamente. C10-C9-O4 están en un mismo plano, situándose N3 con un ángulo de 36°.

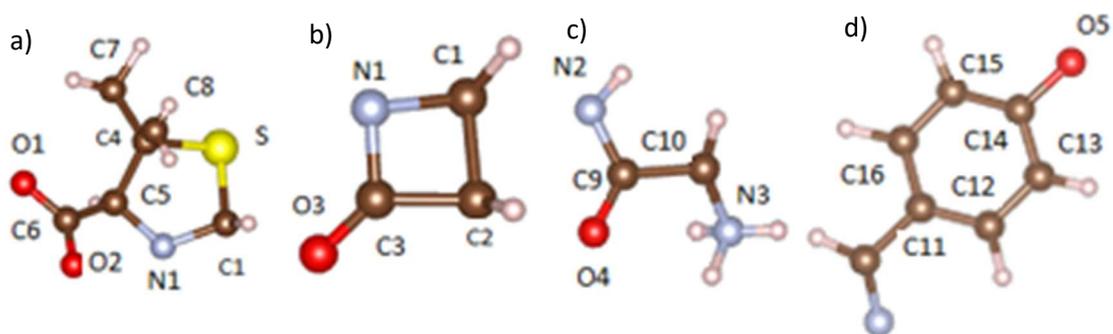


Figura 5. Esquema por partes de la molécula de amoxicilina.

La parte más compleja de la molécula se compone de una unión rectangular formada por N1-C1-C2-C3 (Figura 5b) a la que se añade un oxígeno O3 enlazado a C3. Se encuentran en un plano del que C1 está desviado por un ángulo de torsión 10°. Las uniones entre carbonos tienen unas distancias de enlace de 1.51 Å, mientras que los enlaces con nitrógeno son de 1.42 Å. La parte final de la molécula (Figura 5a) se compone por un pentágono C1-N1-S-C4-C5 en un mismo plano salvo por el átomo de azufre que está desviado 27.5°, con distancias de enlace próximas a 1.8 Å. Además, existen dos carbonos C7 y C8 enlazando con C4, formando un ángulo C7-C4-C8 de 126°. De esta manera C8 tiene un ángulo de torsión de 88° con el plano correspondiente al pentágono. Finalmente se encuentra el grupo carboxilo O1-C6-O2 cuyo ángulo es de 126° enlazado a C5.

Estos átomos están en un mismo plano formando un ángulo de  $114^\circ$  con el plano del pentágono. Las distancias de enlace típicas fuera de la cadena principal son de  $1.23\text{\AA}$  para los oxígenos mientras que para el nitrógeno es de  $1.47\text{\AA}$ .

## 1.2 Polimorfismo en fármacos

Como se ha mencionado anteriormente, muchos de los fármacos utilizados en medicina pueden existir en más de una forma cristalina o fase, es decir, presentan polimorfismo. En cada polimorfo las moléculas se encuentran empaquetadas de distinta manera (ya sea por cambios en la red cristalina, en ángulos de torsión, en la posición de la molécula, etc.), lo cual puede derivar en compuestos que pese a estar constituidos por entidades químicamente iguales, pueden tener propiedades drásticamente diferentes. Por ello el estudio del polimorfismo tiene especial interés en la industria farmacológica.

Hoy en día se conocen hasta cuatro fases diferentes de la aspirina (ver Figura 6), una de las cuales (fase III) se estabiliza bajo condiciones de alta presión. La fase I es desde el punto de vista termodinámico la más estable y es la que se usa comercialmente. Su estructura cristalina se resolvió por primera vez en 1964 por Wheatley y colaboradores a partir de experimentos de difracción de rayos X en monocristal [2] y se ha utilizado como referencia en el presente trabajo. Dicha fase forma una red monoclinica con grupo espacial  $P2_1/c$  y parámetros de malla  $a = 11.44\text{\AA}$ ,  $b = 6.59\text{\AA}$ ,  $c = 11.38\text{\AA}$ ,  $\beta = 95.55^\circ$  y contiene cuatro moléculas por malla ( $Z = 4$ ) [2]. En el año 2004 los investigadores Ouvrard and Price [7] caracterizaron la fase II de la aspirina mediante análisis computacional y en 2005 P. Vishweshwa y colaboradores [8] dijeron haberla encontrado experimentalmente, aunque esto fue puesto en duda. El problema es que las diferencias entre las dos fases eran mínimas, misma celda unidad  $P2_1/c$  con parámetros de malla muy similares. Sin embargo, existe una diferencia importante en el ángulo de torsión formado por el grupo carboxilo y el grupo acetilo. La fase III se estabiliza a una presión de 2 GPa, pero es muy poco estable, transformándose en la fase I tras varios minutos después de liberar la presión. Por último en 2017 se ha observado una cuarta fase (fase IV) que aunque cristaliza también en el mismo grupo espacial que las fases I y II ( $P2_1/c$ ), tiene parámetros de malla bien diferenciados:  $a = 16,74\text{\AA}$ ,  $b = 4,79\text{\AA}$ ,  $c = 23,80\text{\AA}$ ,  $\beta = 111^\circ$  y  $Z = 8$  [9].

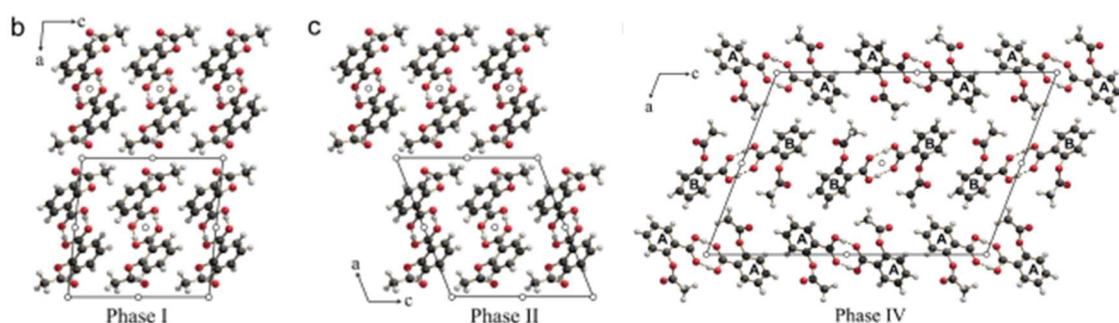


Figura 6. Proyección sobre el plano a-c de las fases I, II y IV de la aspirina. [12]

En el caso del ibuprofeno se conocen dos polimorfos distintos: la forma I y la forma II. La fase más estable termodinámicamente es la forma I, que es la que se encuentra comercializada y la que ha sido estudiada en el presente trabajo. Dicha fase cristaliza en una celda monoclinica con grupo espacial  $P2_1/c$  y parámetros de malla  $a = 14.46\text{\AA}$ ,  $b = 7.81\text{\AA}$ ,  $c = 10.43\text{\AA}$ ,  $\beta = 99.6^\circ$ . La celda unidad cuenta cuatro moléculas ( $Z = 4$ ) unidas dos a dos mediante puentes de hidrogeno, lo que hace que sea un material muy hidrófobo [3][10]. Por otra parte, la fase II cristaliza también en una fase monoclinica  $P2_1/c$ , con parámetros de malla  $a = 12,37\text{\AA}$ ,  $b =$

5,87 Å,  $c = 17,56$  Å,  $\beta = 94,87^\circ$  y  $Z = 4$  [11]. En la Figura 7 se muestra una proyección sobre el plano a-c de la estructura cristalina de las fases I y II.

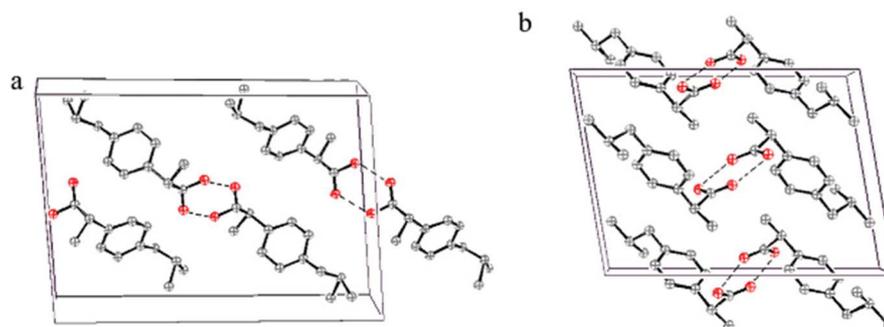


Figura 7. Representación de las fases I (dcha.) y II (izda.) del ibuprofeno a lo largo del plano a-b [12].

Para la ranitidina en su estado básico se conocen dos fases diferentes. La fase I cristaliza en un grupo espacial monoclinico  $P2_1/c$  con parámetros de malla  $a = 7.31$  Å,  $b = 9.02$  Å  $c = 25.09$  Å,  $\beta = 95.7^\circ$  con cuatro moléculas por malla, mientras que la fase II cristaliza en un grupo espacial ortorrómbico  $Pbca$  con parámetros de malla  $a = 31.25$  Å,  $b = 9.02$  Å  $c = 8.089$  Å, ( $Z = 8$ ) [13]. No obstante, la ranitidina se encuentra generalmente en su forma hidrócloro, la cual tiene a su vez otros dos polimorfos (Ran-HCl-I y II). En primer lugar, la fase Ran-HCl I cristaliza en una celda monoclinica (grupo espacial  $P2_1/n$ ) con parámetros de malla  $a = 12.19$  Å,  $b = 6.53$  Å  $c = 22.03$  Å,  $\beta = 93.98^\circ$  y  $Z = 4$ . En segundo lugar, la fase Ran-HCl II, que es la que ha estado comercializada (y es la utilizada en este trabajo), cristaliza en una red monoclinica con grupo espacial  $P2_1/n$  con parámetros de malla  $a = 18.80$  Å,  $b = 12.98$  Å  $c = 7.20$  Å,  $\beta = 95.1^\circ$  y  $Z = 4$ . [5],[14].

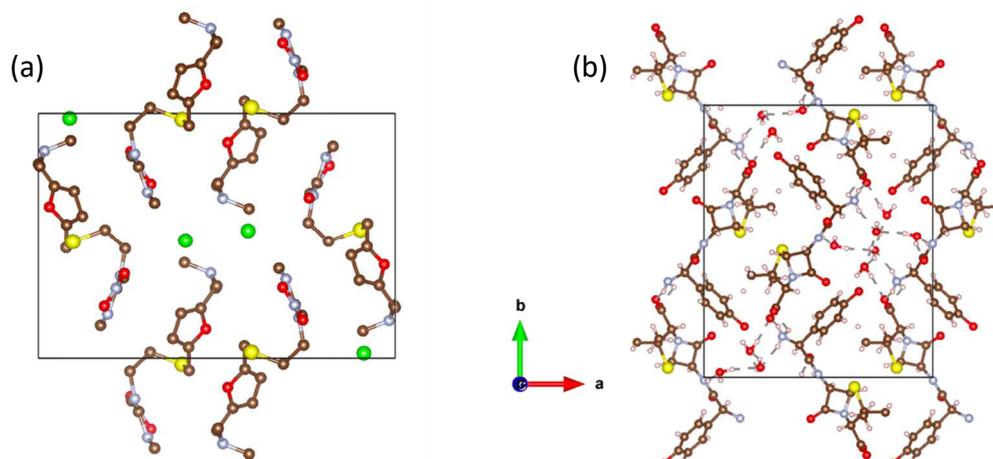


Figura 8. Representación a lo largo del plano a-b de la fase II de la ranitidina clorhidrato (a) y de la forma conocida de la amoxicilina trihidratada (b).

A diferencia de en los fármacos previamente mencionados, para la amoxicilina trihidratada solo se conoce una forma cristalina, es decir no presenta polimorfismo. Mediante estudios de difracción de rayos X en monocristal se ha determinado su estructura cristalina, la cual puede describirse mediante una red ortorrómbica con grupo espacial  $P2_12_12_1$  ( $Z = 4$ ) y con parámetros de malla  $a = 15.62$  Å,  $b = 18.78$  Å  $c = 6.64$  Å. [6]

### 1.3 Orientaciones preferenciales

Las OP o textura son un fenómeno ligado a muestras policristalinas, esto es, formadas por una gran cantidad de granos o cristalitos, en contraposición a un monocristal. Así, las estructuras cristalinas están formadas por átomos ordenados periódicamente, que al juntarse en moléculas y en cristales forman granos. Estos a su vez se ensamblan entre ellos formando el conjunto del compuesto.

La teoría general de la difracción de rayos X sobre muestras en polvo, que se verá más adelante, implica que existe un número infinito de cristalitos que están orientados aleatoriamente en el espacio, dando representatividad a todos los planos de difracción. Ahora bien, si los diferentes cristalitos que forman la muestra tienden a agruparse de una forma no aleatoria, puede surgir el problema de las OP. Esto está relacionado con la morfología de los granos que pueden favorecer determinados apilamientos, como por ejemplo en el caso de agujas o láminas (ver Figura 9) [15].

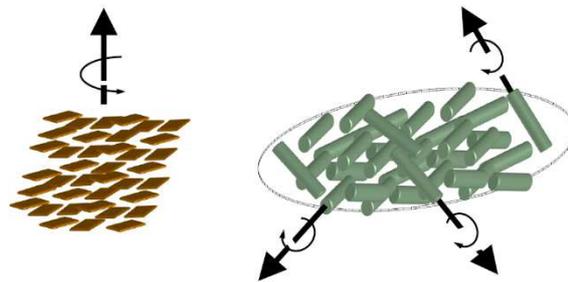


Figura 9. Apilamiento de granos con morfología de láminas y agujas, asociados con la existencia de orientaciones preferenciales en las muestras en polvo (policristalinas).

Las OP pueden suponer un problema en la resolución de estructuras cristalinas, que emplean las intensidades de difracción de los diferentes planos cristalográficos. La modificación de dichas intensidades puede suponer un problema insalvable. No obstante, existen diferentes modelos matemáticos para corregir la teoría general, de forma que las OP puedan ser tenidas en cuenta y parametrizadas para el cálculo de intensidades. Esto es un procedimiento difícil de llevar a cabo en el caso general, de forma que se puedan corregir las intensidades y proporcionar una resolución estructural fiable, como sucedería en el caso de muestras con cristalitos ordenados aleatoriamente. En este trabajo se ha realizado un estudio cualitativo de las OP tomando como punto de partida las estructuras obtenidas sin OP, esto es, a partir de monocristales.

## 2. Técnicas experimentales y preparación de muestras

### 2.1 Los Rayos X

Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética ionizante que se descubrió al estudiar la fluorescencia producida por los rayos catódicos. Se observó que al incidir sobre algunos metales se formaban unos rayos que podían atravesar papel, cartón y espesores finos de algunos metales. Sin embargo, la verdadera procedencia de los rayos X no fue explicada hasta 1912, cuando se descubrió la difracción de rayos X como instrumento para obtener información sobre la estructura cristalina de los materiales.

Estos rayos tienen la peculiaridad de tener longitudes de onda del orden del angstrom, similar a las distancias interatómicas (frente a los 4000-7000 Å que tiene la luz visible), de manera que al interaccionar con un material cristalino puede darse el fenómeno de difracción de rayos X, el cual se detallará a continuación. Los rayos X pueden producirse en instalaciones de radiación sincrotrón o en tubos de rayos X, siendo esta última fuente la utilizada en laboratorios u hospitales.

#### 2.2.1 Teoría de la difracción de R-X:

En 1912 Max Von Laue describió la difracción de rayos X mediante un primer modelo según el cual los electrones de los átomos del cristal sobre los que incide la radiación vibran sincrónamente con el campo incidente, de tal manera que los electrones pasan a ser a su vez emisores secundarios de radiación con la misma frecuencia que la radiación incidente. Los nuevos frentes de onda, emitidos en todas las direcciones pueden interferir y en el caso de que se dé una interferencia constructiva se producirá un pico de radiación que se puede medir.

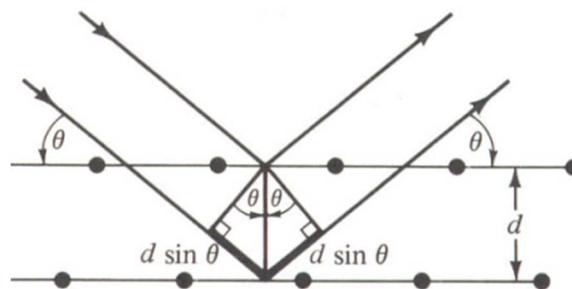


Figura 10. Representación del fenómeno de la difracción de R-X a partir del modelo de Bragg. [16]

Unos años más tarde, W.H. Bragg y W.L. Bragg (padre e hijo, respectivamente) describieron el fenómeno de difracción de una manera más intuitiva, relacionándolo con la periodicidad del sólido cristalino. Como se sabe, la mínima representación de un sólido cristalino es la celda unidad, la cual al repetirse mediante traslaciones en las diferentes direcciones del espacio genera todo el cristal. Los átomos de la red cristalina están contenidos en los denominados planos cristalográficos, los cuales se pueden identificar a partir de los índices de Miller (hkl). Dado el carácter periódico de las redes cristalinas, todos aquellos planos cristalográficos paralelos con el mismo empaquetamiento atómico forman una familia de planos. Según el modelo propuesto por W.H. y W.L. Bragg, el fenómeno de difracción de rayos X se podía explicar mediante la reflexión elástica de los rayos X en las mencionadas familias de planos del cristal (ver esquema en la Figura 10). Al reflejarse los rayos X, es posible que se produzcan interferencias constructivas y destructivas. Para que se produzca la condición de interferencia

constructiva entre dos haces dispersados por la misma familia de planos, se tiene que cumplir la denominada ley de Bragg, que se puede expresar como:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (1)$$

Donde  $n$  es un número entero,  $\lambda$  la longitud de onda de los rayos X,  $d_{hkl}$  la distancia interplanar, es decir la distancia entre planos iguales consecutivos,  $\sin \theta$  es el seno del ángulo de incidencia. Cada interferencia constructiva en una familia de planos genera un pico de una determinada intensidad en el patrón de difracción y el conjunto de los picos obtenidos a partir de todas las reflexiones permitidas para una misma muestra originan el difractograma completo, cuyos observables principales son la intensidad de los diferentes picos y el ángulo en el que se producen. Los ángulos a los que aparecen los diferentes picos, definidos por la ley de Bragg, permiten obtener información sobre el tamaño de la red cristalina o su simetría, mientras que la intensidad de los picos es más compleja ya que viene dada por diferentes contribuciones y, de ella se puede obtener información acerca de las posiciones atómicas en la celda unidad:

$$I_{hkl} = K \cdot P_{hkl} \cdot L_{\theta} \cdot P_{\theta} \cdot A_{\theta} \cdot T_{hkl} \cdot E_{hkl} \cdot |F_{hkl}|^2 \quad (2)$$

Donde  $K$  es el factor de escala,  $P_{hkl}$  el factor de multiplicidad,  $L_{\theta}$  el factor de Lorentz,  $P_{\theta}$  el factor de polarización,  $A_{\theta}$  el factor de absorción,  $T_{hkl}$  factor que da cuenta de las orientaciones preferenciales,  $E_{hkl}$  el factor de extinción y  $F_{hkl}$  el factor de estructura. A continuación, se explican brevemente en que consiste cada uno de ellos:

- Factor  $K$  de escala: este factor da la relación entre las intensidades observadas y las intensidades calculadas.
- Factor  $P_{hkl}$  de multiplicidad: se corresponde con el número de planos simétricamente equivalentes con igual  $d_{hkl}$ .
- Factor  $L_{\theta}$  de Lorentz: está únicamente ligado a la geometría utilizada en el difractómetro y tiene que ver con la diferencia de velocidad angular en los puntos recíprocos. Cambia según el dispositivo usado, pero no es constante, varía en función del ángulo.
- Factor  $P_{\theta}$  de polarización: este factor da cuenta de la polarización parcial que se da en los rayos dispersados debido a la incidencia sobre los planos de la muestra. Este factor también depende del ángulo de incidencia.
- Factor  $A_{\theta}$  de absorción: este factor representa la pérdida de intensidad por atenuación del rayo incidente y dispersado por la muestra.
- Factor  $T_{hkl}$  de orientaciones preferenciales: este factor corrige la variación en la intensidad de los picos debido a la no aleatoriedad de los cristales que forman el polvo. Estas orientaciones se pueden tratar por medios matemáticos como el término March-Dollase o por armónicos esféricos, este último utilizado en el presente trabajo.
- Factor  $E_{hkl}$  de extinción: está relacionado con la pérdida de intensidad debido a interacciones destructivas, pero en difracción en polvo es tan pequeño que se suele despreciar.
- Factor  $F_{hkl}$  de estructura: es un número complejo que se puede definir a partir de los factores de dispersión o *scattering* atómico. La intensidad medida en el patrón de difracción es proporcional a su módulo al cuadrado. Se trata de un factor dependiente de la estructura cristalina del material (tipo, número y posición de los átomos), según:

$$F_{hkl} = \sum_{hkl} f_j(\theta) O_j e^{-(B_j \sin^2(\theta)/\lambda^2)} e^{2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)} \quad (3)$$

Donde  $f_j(\theta)$  es el factor de scattering que tiene información sobre la interacción de un átomo con los RX, y  $(x_j, y_j, z_j)$  son las coordenadas fraccionales de las posiciones atómicas,  $O_j$  es el factor de ocupación y  $B_j$  es el factor térmico que da cuenta del movimiento térmico de los átomos. A partir de los factores de estructura se puede obtener una densidad de carga electrónica, que tendrá máximos en las posiciones donde se encuentran los átomos. Para obtener esta distribución es necesario realizar la transformada de Fourier de la función factor de estructura, es decir,

$$\rho(r) = \sum_{hkl} F_{hkl} e^{-2\pi i(hx+ky+lz)} \quad (4)$$

## 2.2.2 Dispositivo experimental

Para las medidas de difracción de rayos X en polvo realizadas en este trabajo se ha utilizado un difractómetro Bruker D8 Advance, con geometría Bragg-Brentano, el cual se muestra en la Figura 11a. Este equipo está constituido por una fuente de rayos X formada por un tubo de cobre que emite en una longitud de onda promedio  $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$  y un detector de energía dispersiva unidimensional (Bruker LynxEye 1D), que permite realizar medidas de forma rápida. A su vez, consta de una serie de rendijas, entre las que destacan: las rendijas de divergencia (que controlan la divergencia del haz de rayos X en el plano ecuatorial) y las rendijas Soller (para controlar la divergencia en el plano axial). Las rendijas anti-scattering, que se colocan entre la muestra y el detector no estarían presentes en esta configuración. El difractómetro consta además de un goniómetro en donde van articulados el detector y la fuente de rayos X, una pantalla protectora de cristal plomado para proteger de la radiación, y un apoyo magnético para el portamuestras, el cual puede rotar.

## 2.2.3 Técnicas de preparación de la muestra

Para evaluar los diferentes factores que pueden afectar a las intensidades de los picos de difracción y que por tanto pueden influir en la correcta resolución estructural, se han analizado los efectos de las OP en función de la preparación de la muestra o de las condiciones experimentales de medida. En concreto se ha estudiado el efecto de:

- La molienda mecánica: con la ayuda de un mortero de Ágata se muele la muestra hasta hacerla un polvo homogéneo donde no se aprecien granos. Para ello se ha molido la muestra durante diferentes tiempos, hasta un máximo de 20 minutos.
- La compactación: Para recrear el proceso de elaboración de comprimidos comerciales se han creado pastillas de 10 mm de diámetro en una prensa hidráulica de laboratorio (ver Figura 11b) mediante la aplicación de una carga de 5 toneladas.
- La suspensión del fármaco en una disolución sobresaturada: para ello una vez colocada la muestra en el portamuestras se deja caer una o dos gotas del disolvente, en este caso etanol o acetona, y se deja secar hasta su evaporación. Al secarse lentamente los granos generalmente se agregan orientándose a lo largo de ciertas direcciones, si existen problemas de OP.
- Rotación del portamuestras durante la medida de difracción: Para ello se han utilizado distintas velocidades de rotación: 0, 15 y 30 r.p.m.



Figura 11. (a) Difractómetro D8 empleado [17]. (b) Prensa hidráulica de laboratorio para la realización de pastillas.

### 3. Métodos de análisis

En el presente trabajo se han llevado a cabo dos tipos de análisis. Por una parte, se ha realizado una comparación cualitativa de los difractogramas obtenidos a partir de las diferentes preparaciones de muestra o condiciones de medida descritas en la sección anterior. Con el objeto de estudiar el efecto de las OP en los diferentes fármacos (y de establecer comparaciones), se ha simulado su patrón de difracción a partir de estructuras publicadas y resueltas en base a datos de difracción de rayos X de monocristal, muestras las cuales carecen de OP. Para analizar mejor su efecto se han variado parámetros generales de ajuste asociados con la posición de los picos: parámetro de escala, cero, fondo, etc. Este análisis se ha llevado a cabo con el programa TOPAS 5.

En segundo lugar, se ha analizado como afecta la presencia de OP (en caso de existir) a la resolución de la estructura de cada fármaco. La determinación de la estructura cristalina de un material a partir de la técnica de difracción de rayos X en polvo puede dividirse en cinco pasos: *i)* la indexación, *ii)* la determinación del grupo espacial, *iii)* la extracción de intensidades/refinamiento de parámetros (ajuste *Pawley*), *iv)* la resolución de la estructura propiamente dicha y *v)* el refinamiento final (Rietveld). En este trabajo los dos primeros pasos no se han llevado a cabo, ya que tanto los parámetros de malla como el grupo espacial se han tomado de la bibliografía a partir de los datos publicados de monocristal refinados durante el procedimiento.

A continuación, se describirán los pasos *iii)*, *iv)* y *v)* recién mencionados.

### 3.1 Refinamiento Pawley

Una vez el difractograma está indexado, el siguiente paso en el proceso de resolución de estructuras cristalinas a partir de datos de difracción de rayos X en polvo es la descomposición del difractograma (también denominado ajuste de perfiles). Esto puede hacerse mediante el denominado método Pawley, el cual permite realizar un ajuste de los picos de difracción en base a una serie de parámetros como el error del cero, los parámetros de malla, el fondo, la forma de pico o las intensidades integradas. Matemáticamente, la descomposición del difractograma se lleva a cabo por un procedimiento de mínimos cuadrados a partir de la expresión [18]:

$$Y_n = b_n + \sum_{k=1}^m I_k [y_k(x_k) + 0,5y_k(x_k + \Delta x_k)] \quad (5)$$

Donde  $Y_n$  es el parámetro a ajustar, esto es, la intensidad del difractograma en todos los puntos,  $b_n$  es el fondo en todos los puntos del difractograma,  $I_k$  es la intensidad de cada reflexión de Bragg,  $x_k = 2\theta_i - 2\theta_k$  donde  $2\theta_i$  es el valor del ángulo en el punto  $i$  del difractograma y  $2\theta_k$  es el valor y  $\Delta x_k$  la diferencia de los ángulos para la longitud de onda  $k_{\alpha 1}$  y  $k_{\alpha 2}$ .

A partir del ajuste Pawley se pueden obtener valores refinados de los diferentes parámetros mencionados anteriormente. Todos estos parámetros serán fijados en la posterior etapa de resolución estructural mediante métodos de espacio directo, de ahí la importancia de este paso. Por otra parte, a partir de las intensidades obtenidas de este ajuste, se pueden extraer los factores de estructura asociados a cada reflexión ( $hkl$ ), los cuales son necesarios para la determinación estructural en base a métodos directos.

### 3.2 Determinación estructural

Para la determinación de la estructura de los diferentes fármacos en base a datos de difracción de rayos X en polvo, se ha utilizado principalmente el método *Simulated Annealing*, si bien se ha evaluado también el método *Charge Flipping*. Ambos métodos están implementados en el programa Topas 5 y se describen a continuación.

#### 3.2.1 Simulated Annealing

El *Simulated Annealing* es un método de resolución de estructuras moleculares que se encuentra incluido dentro de los denominados métodos de espacio directo. Dichos métodos solo usan parámetros del espacio real, es decir necesitan datos estructurales conocidos. La gran ventaja del método *Simulated Annealing* es su facilidad para ser implementado y la generalidad del uso del método, ya que se pueden resolver muchos tipos de estructuras cambiando pocos aspectos [19]. Se trata de un método que simula el *annealing* de los metales. Cuando un compuesto está por encima de su temperatura de fusión y se deja enfriar, éste cristalizará de una forma concreta en la que la energía interna del compuesto esté en su mínimo absoluto. Ahora bien, si el enfriamiento se realiza a una velocidad rápida es posible que la estructura del compuesto no tenga el tiempo de enfriamiento para encontrar el estado de mínima energía y se forme un amorfo con una energía mínima local mayor que la del sólido cristalino. El método tiene una función  $x^2$  que debe minimizarse.[20]

Para la utilización de este método en estructuras cristalinas formadas por moléculas (cristales moleculares), como es el caso de los fármacos que se van a tratar en este trabajo, es necesario construir previamente la molécula que se va a ubicar (y repetir) dentro de la celda unidad. Dicha molécula puede ser fija o puede parametrizarse de manera que durante la ejecución del método

se varíen las distancias de enlace o los ángulos (ya sean de enlace o de torsión), pudiendo limitarse las variaciones a un determinado rango. No obstante, si se establece un rango muy amplio, es posible que la molécula pueda deformarse, de tal manera que no se llegue a una solución satisfactoria. En este caso, se ha decidido mantener los ángulos entre átomos fijos y variar solamente las distancias interatómicas en un cierto rango ( $\pm 0.05$  o  $\pm 0.1$  Å), tomando como valores centrales aquellos obtenidos de estudios previos de monocristal.

Durante la ejecución de este método es necesario fijar una serie de parámetros obtenidos tras el refinamiento Pawley antes descrito, entre los que podemos encontrar: los parámetros de malla, el fondo, el error del cero o la forma de pico. A su vez, para tener en cuenta los cambios en las intensidades de los picos debido a la existencia de OP, es posible implementar dentro del código del *Simulated Annealing* una corrección basada en armónicos esféricos de diferente orden.

Durante el proceso de determinación de la estructura por medio del método, el modelo molecular construido previamente se va colocando aleatoriamente dentro de la celda unidad fijada (teniendo en cuenta el número de fórmulas por celda unidad, en este caso  $Z = 4$ ) y se van simulando los patrones de difracción a partir de las estructuras simuladas. El objetivo del método es encontrar aquella estructura que minimice la diferencia entre el difractograma experimental y el simulado. Para dar cuenta de la concordancia entre ambos difractogramas se tienen diferentes parámetros de calidad de ajuste, como el factor  $R_{Bragg}$  o el  $R_{wp}$  (este último denominado factor residual ponderado, ver en sección 3.3).

### 3.2.2 Charge Flipping

El método *Charge Flipping* es un método de resolución de estructuras que se engloba dentro de los denominados métodos de espacio dual, es decir, el algoritmo alterna ciclos tanto en el espacio recíproco como en el espacio real, relacionando ambos mediante transformadas de Fourier. Dicho método genera un mapa de densidades atómicas a partir de solo dos parámetros (en principio): los factores de estructura asociados a cada reflexión ( $hkl$ ) y los parámetros de malla, si bien es necesario partir de datos de muy buena calidad. Otros parámetros que pueden ayudar a encontrar la solución mediante este método son: el grupo espacial y el tipo y número de átomos. El algoritmo básico del *Charge Flipping* se puede describir mediante los siguientes pasos [21]:

- i. Para iniciar el algoritmo, se crean un conjunto de fases arbitrarias  $\phi(h)$  de forma que se cumpla la ley de Friedel, las cuales se asignan a los módulos de los factores de estructura medidos ( $|F_{obs}|$ ), de tal manera que se crean unos nuevos factores de estructura  $F(h) = |F_{obs}| e^{i\phi(h)}$ .
- ii. Se crea una densidad de carga inicial  $\rho(r)$  mediante una transformada de Fourier inversa a  $F(h)$ .
- iii. La densidad electrónica  $\rho(r)$  se divide en dos partes,  $\rho(r) = \rho_1 + \rho_2$ , donde  $\rho_1 = \rho$  si  $\rho(r) \geq \mu$  (con  $\mu$  un número positivo y pequeño) y  $\rho_2 = \rho$  si  $\rho(r) < \mu$ . Se genera una nueva densidad electrónica como  $g(r) = \rho_1 - \rho_2$ .
- iv. A partir de las nuevas densidades de carga  $g(r)$  se crean unos factores de estructura temporales  $G(h)$  mediante una transformada de Fourier, es decir,  $G(h) = |G_{hkl}| e^{i\phi_G(h)}$ .
- v. Se calculan unos nuevos factores de estructura combinando las fases  $\phi_G(h)$  obtenidas en el paso anterior con los módulos de los factores de estructura obtenidos experimentalmente ( $|F_{obs}|$ ), de tal manera que:  $F(h)_- = |F_{obs}| \cdot e^{i\phi_G(h)}$

- vi. El ciclo finaliza cuando a partir de los últimos factores de estructura  $F(h)_-$  se obtiene una nueva densidad de carga y se vuelve al paso iii).

Aunque en su versión más básica este algoritmo solo tiene un único parámetro  $\mu$ , en la actualidad programas como el TOPAS 5 disponen de mejoras que incluyen otros procesos y parámetros de utilidad, como por ejemplo la inclusión de la *fórmula tangente* en el algoritmo antes descrito [22], la cual en teoría permite la resolución de estructuras cuando la calidad de los datos de difracción no es muy buena.

### 3.3 Refinamiento Rietveld

Una vez obtenida una estructura mediante el *simulated annealing* (u otro método), se procede a realizar un último refinamiento estructural. Para ello se emplea el método Rietveld, el cual se basa en un método de ajuste por mínimos cuadrados. La función a minimizar en este caso es  $\Phi_y$ :

$$\Phi_y = \sum_{i=1}^n w_i (y_i^{obs} - y_i^{cal})^2 \quad (8)$$

Donde  $w_i$  es el peso asociado a cada punto del difractograma,  $y_i^{obs}$  y  $y_i^{cal}$  son las intensidades en cada punto del difractograma experimental y del calculado en base a la estructura resuelta en el apartado anterior [20]. Con el fin de minimizar esta función, y por tanto las diferencias entre el difractograma obtenido y el calculado, en este método se refinan parámetros anteriormente fijados, como los parámetros de malla, el fondo, el factor de escala, etc., junto con las posiciones atómicas obtenidas.

El nivel de concordancia entre los patrones de difracción observado y calculado se puede expresar a partir del factor residual ponderado,  $R_{wp}$ , que viene dado por la ec.9.

$$R_{wp}(\%) = \sqrt{\frac{\sum w_i [y_i^{obs} - y_i^{cal}]^2}{\sum w_i y_i^{obs^2}}} \quad (9)$$

## 4. Resultados

En este capítulo se recogen los resultados más importantes de este trabajo. En la primera parte se incluye un estudio de las orientaciones preferenciales (OP), modificando diferentes parámetros de medida, en base a estructuras conocidas de los compuestos de interés. En la segunda parte se recogen los resultados de la resolución estructural usando diferentes métodos y analizando el efecto de las OP.

### 4.1 Análisis cualitativo

En esta primera parte se presentan los difractogramas de los compuestos obtenidos en diferentes condiciones susceptibles de presentar OP. Los resultados se han analizado cualitativamente por comparación directa y/o mediante simulaciones de los difractogramas obtenidas a partir de las estructuras publicadas, resueltas en base a datos de monocristal.

Las simulaciones se han efectuado a partir de las estructuras publicadas, directamente mediante el programa TOPAS. Los difractogramas simulados se han ajustado a los medidos experimentalmente respetando la estructura bibliográfica, que está libre errores debidos a presencia de impurezas, problemas de fases adicionales y de OP. Para ello se han ajustado parámetros generales que no afectan a las intensidades de difracción de forma directa: factor de escala, fondo, error en el cero... así como factores estructurales relacionados con la posición de los picos, esto es, parámetros de malla. En ningún caso se han modificado los parámetros relacionados con la muestra que afecten directamente a las intensidades, esto es, posiciones atómicas, factores de desplazamiento atómico (B), ni se han aplicado correcciones de intensidades relacionadas con las OP.

#### 4.1.1 Aspirina

El primer compuesto analizado es la aspirina (ácido acetilsalicílico). Su estructura, disponible en la bibliografía, se resolvió en base a un experimento de difracción en monocristal [2] (ver anexo I). Este modelo se ha usado para la realización de las comparativas sobre muestras en polvo. En este compuesto se han publicado diferencias de intensidad en los difractogramas del principio activo (PA) y los comprimidos comerciales en polvo, supuestamente debido a la existencia de OP( [23] y [24]). Por tanto, a priori es un buen candidato para analizar el efecto de las OP sobre la resolución estructural.

En primer lugar, se ha medido una muestra comercial de la marca Bayern tras una leve molienda, en portamuestras estándar y con rotación del mismo. En la Figura 12 se ha representado el difractograma medido junto con el calculado a partir los datos estructurales del monocristal. Para ello se han ajustado algunos parámetros generales y de la muestra.

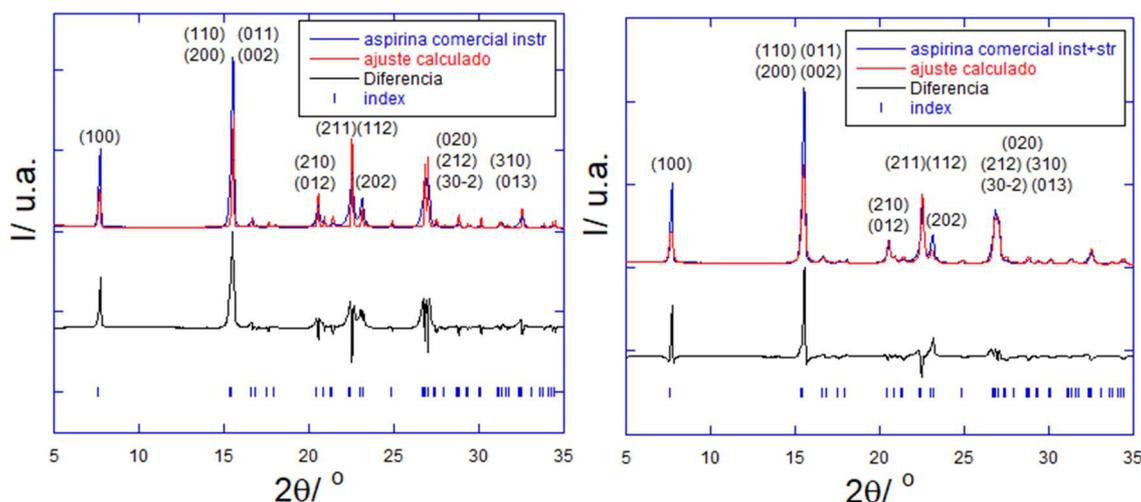


Figura 12. Detalle del difractograma medido para la muestra de aspirina comercial en polvo, junto con el ajuste a partir del modelo estructural, utilizando solo la función instrumental para la forma de pico (izda.) y con el ensanchamiento producido por la muestra (dcha.). Se incluyen también las todas las reflexiones de Bragg y la asignación de los picos más importantes.

En la izquierda se representa el ajuste utilizando únicamente la función instrumental para la forma de los picos, mientras que en la derecha se ha ajustado la forma de pico a partir de la microestructura de la muestra (efecto de tamaño), lo que produce un ensanchamiento de los mismos y mejor ajuste. En general se aprecia que hay una buena correspondencia entre ambos ajustes en lo referente a las intensidades relativas. No obstante, ninguna de ellas representa de forma adecuada el patrón experimental, lo que puede indicar la presencia de OP en esta muestra. Es posible que la calidad del ajuste se vea afectada por la presencia de excipientes (ver anexo II), que normalmente son amorfos. No se aprecian picos adicionales claros que pudieran corresponder a fases cristalinas de dichos excipientes. En el difractograma se puede observar que el pico más intenso, en torno a  $2\theta = 16^\circ$ , corresponde a la convolución de varias reflexiones asociadas a los planos (110), (011), (200) y (002), que se encuentran casi degeneradas. Para la comparación de intensidades se han tomado otros picos intensos del difractograma en torno a  $8^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $22^\circ$  y  $23^\circ$ : (100) (intensidad experimental subestimada), (210), (211) (intensidad ligeramente sobreestimada) y (202). En la Tabla 1 se recogen los valores de las intensidades normalizadas.

Pico	$2\theta(^{\circ})$	$d$	$(hkl)$	$M$	$I_{obs}$	$I_{calc}$	$(I_{obs}-I_{calc})/I_{calc}$
1	7.76	11.39	(100)	2	1.68	0.68	1.47
2	15.50	5.71	(110)	4	3.55	2.87	0.24
	15.51	5.71	(011)	4			
	15.55	5.69	(200)	2			
	15.59	5.68	(002)	2			
3	20.59	4.31	(210)	4	0.54	0.49	0.10
	20.61	4.31	(012)	4			
4	22.57	3.94	(211)	4	1.02	1.43	-0.29
	22.59	3.93	(112)	4			
5	23.17	3.84	(202)	2	0.60	0.31	0.94

Tabla 1. Intensidad experimental y calculada de varios picos seleccionados del difractograma, junto con su error relativo. Se incluyen también los índices de Miller ( $hkl$ ), la distancia interplanar ( $d$ ) y la multiplicidad ( $M$ ) asociada a cada reflexión.

A pesar de no tratarse de un ajuste completo, las diferencias de intensidad experimental y calculada en los picos de la figura sugieren existencia de OP importantes. No obstante, es

complicado hacer un análisis de las OP presentes de esta forma. En cualquier caso, se puede observar que en esta muestra los picos medidos correspondientes a las reflexiones (100), (200) ... tienen una intensidad por encima del valor de la simulación (Fig. 12 y Tabla 1). Esto estaría de acuerdo con el alineamiento de cristalitas de forma plana con respecto a una dirección, lo que se ha observado previamente en este tipo de compuestos (ver Figura 13).

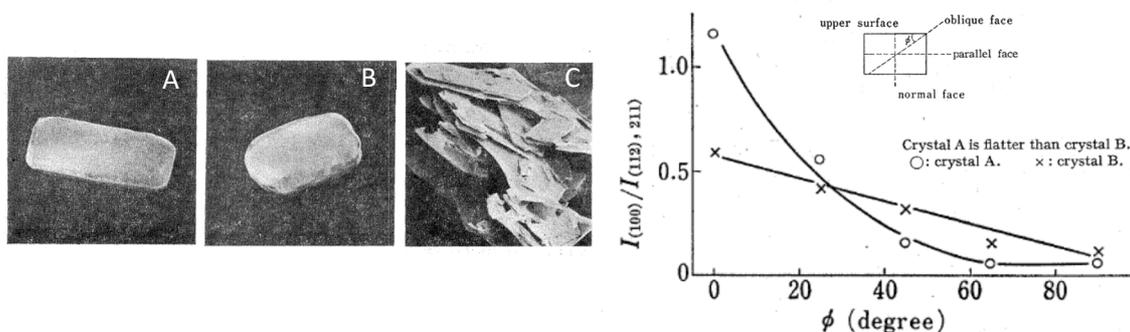


Figura 13. Morfología de diferentes cristalitas de aspirina y su efecto en la intensidad de los picos de difracción. El apilamiento de láminas a lo largo de la dirección (100) en  $c$  correspondería a un mayor efecto de OP. Adaptado de [23].

En cualquier caso, es evidente que existe una desviación de las intensidades experimentales con respecto al modelo ideal, lo que puede dificultar la obtención de la estructura a partir de datos de difracción en polvo, como se verá más adelante.

Además de la muestra comercial se ha utilizado una muestra en polvo del PA puro para analizar las OP comparativamente. En la Figura 14 se han representado los difractogramas característicos de ambas muestras normalizados. Se puede observar que existen diferencias entre las intensidades de varios picos.

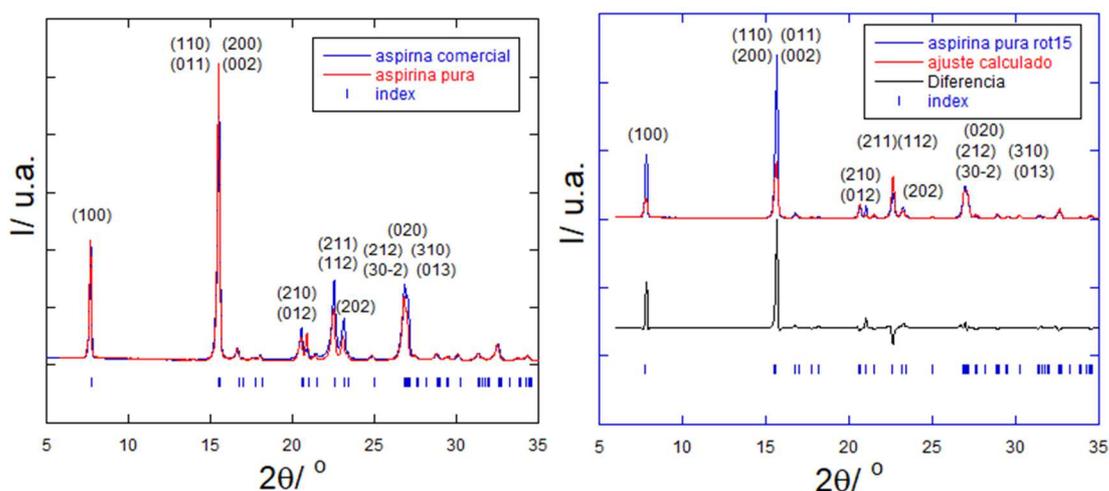


Figura 14. Comparación de los difractogramas medidos para la muestra pura (PA) y comercial (izda.). Ajuste del difractograma de la muestra del PA con rotación (dcha.).

No obstante, el ajuste a partir del modelo cristalino publicado tampoco es satisfactorio en este caso, como se observa en el ajuste de la figura (dcha.). Cabe destacar que la intensidad calculada del pico en torno a  $2\theta = 16^\circ$  sigue siendo muy inferior a la experimental, como sucede en el caso de las reflexiones (100) y (202). Lo contrario sucede para las reflexiones (211). Por tanto, no existe una tendencia clara que permita establecer un modelo sencillo para las OP. No obstante, la calidad del ajuste utilizando el mismo modelo cristalino es ligeramente superior en el caso de la muestra comercial con respecto a la muestra pura del PA.

En las medidas de difracción estándar se rota la muestra durante la medida a lo largo de un eje que pasa por el plano de difracción [26], para paliar una posible orientación de cristalitas en el portamuestras. En caso de ausencia total de OP las medidas con y sin rotación deberían ser iguales. Por tanto, una forma de corroborar la presencia de OP es a través de la comparación de ambas. Así, se ha analizado este efecto en una muestra del PA de aspirina, sin rotar y a dos velocidades de rotación diferentes. En la Figura 15 se han representado los difractogramas correspondientes.

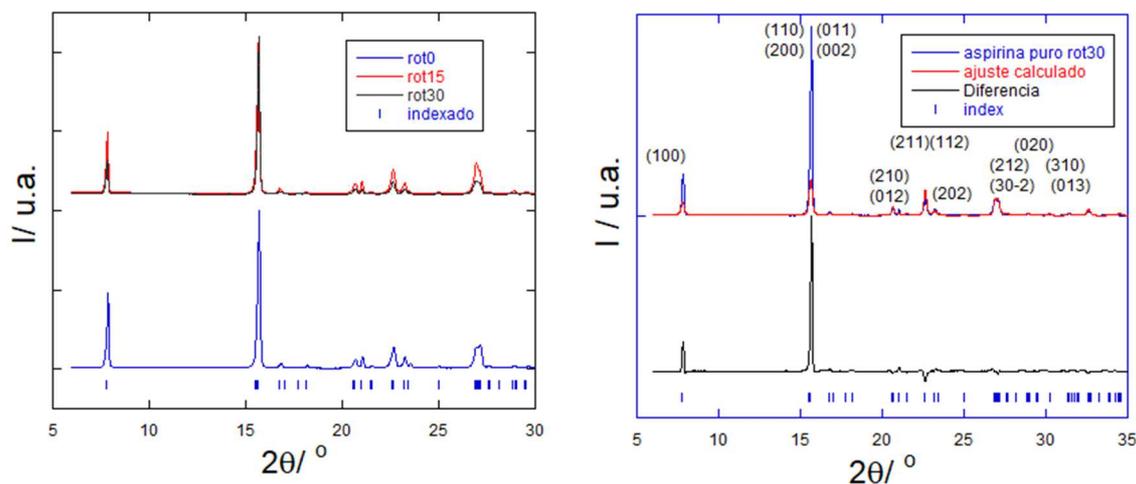


Figura 15. Representación de los difractogramas experimentales del PA de aspirina con diferentes velocidades de rotación (izda.) y ajuste del correspondiente a 30rpm (dcha.).

Se puede observar una variación significativa en las intensidades relativas en todos los difractogramas, lo que corrobora la existencia de OP en este caso. Por otro lado, en ningún caso existe una buena correspondencia entre los difractogramas medido y ajustado (ver Figura 15 dcha.). Un hecho relevante es que la velocidad de rotación del portamuestras afecta a las intensidades relativas en la muestra pura. Con todo ello la existencia de OP en las muestras comercial y pura (PA) es clara. El efecto de las diferencias de intensidades es menos marcado en el caso de la muestra comercial, de acuerdo con los datos recogidos en la bibliografía.

En la aspirina los cristalitas que forman el polvo generalmente suelen adquirir una forma plana. Los planos (100) suelen orientarse en paralelo con la parte superior de la pastilla al hacer comprimidos [23] por lo que es en el pico (100) y todos los de la familia: (200), (300), ... donde podemos ver de forma natural la mayor OP, la cual se incrementa muy notablemente por medio de la comprensión [24]. Por otra parte, se ha publicado que el pico más intenso debido a los planos (110), (011) y (002) también sufre OP debido al mismo efecto [25]. Esto se ha observado directamente en el polvo suelto [23] y en comprimidos comerciales [24].

Además de la rotación se han evaluado otros factores relativos a la preparación de las muestras, su naturaleza y el método de medida que pueden inducir la aparición de OP y por tanto afectar a la resolución de la estructura cristalina del medicamento.

En primer lugar, se ha estudiado el efecto de la molienda mecánica. Esta puede hacer que se modifique el tamaño y la forma de los cristalitas que forman el polvo y por tanto afectar así a las OP, manifestándose a través de las intensidades relativas de difracción. Se han realizado una serie de moliendas mecánicas durante diferentes tiempos sobre la misma muestra de partida (aspirina comercial), lo que disminuirá el tamaño de los cristalitas y, por tanto, afectará a la forma de los picos de difracción. La posible existencia de agregados cristalinos y la no homogeneidad de tamaños en los cristalitas siempre hace recomendable este proceso previo al

experimento de difracción. En la Figura 16 se representan los difractogramas con moliendas de 5, 10, 15 y 20 minutos, junto con los resultados del ajuste correspondiente al último caso.

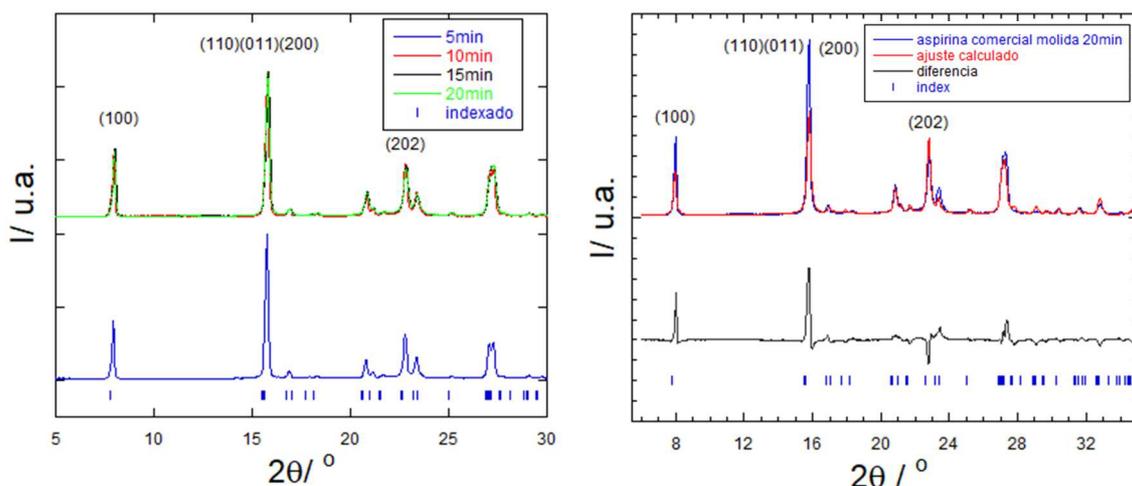


Figura 16. Representación de los difractogramas experimentales de la muestra de aspirina comercial sometida a diferentes tiempos de molienda (izda.) y resultados del ajuste de la muestra molida 20 minutos (dcha.).

En la Tabla 2 se recogen los datos de la evolución de las intensidades con el tiempo de molienda, normalizadas al pico (020). Aunque no se observa una tendencia clara, sí que observa que el aumento del tiempo de molienda hace variar las intensidades relativas en algunos picos mientras permanece constante en otros. No obstante, en ninguno de los casos se obtiene una buena correspondencia a través del ajuste con el difractograma experimental (ver Fig. 16 dcha.), lo que indicaría la persistencia de las OP. De cualquier forma, la variación de las intensidades relativas puede indicar una modificación de las mismas, que puede afectar también a la resolución estructural.

	5min	10min	15min	20min
(100)	1.58	1.36	1.36	1.23
(110)(011)(200)(002)	3.91	2.96	1.79	2.71
(210)(012)	0.54	0.50	0.51	0.51
(202)	0.62	0.55	0.46	0.45

Tabla 2. Intensidad normalizada de los picos difracción de la aspirina comercial en función del tiempo de molienda.

Otro factor que puede afectar a las intensidades de difracción en el caso de existencia de OP es la preparación de la muestra. Es importante que durante el proceso de compactación y enrase del portamuestras no se favorezca el apilamiento de cristalitas a lo largo de una dirección. Todas las muestras analizadas se han compactado y posteriormente se ha realizado un proceso de barrido superficial para mitigar el efecto de ordenación en la superficie del polvo en el caso de que existiesen morfologías de partícula que lo favoreciesen [18].

Por el contrario, la preparación mediante un disolvente de secado rápido puede hacer que la orientación de los cristalitas se incremente, con una variación fuerte de algunas intensidades de difracción. El efecto de la compactación por disolución se ha analizado utilizando diferentes disolventes: agua, etanol, acetona... De esta forma, se trata de ver si existe alguna diferencia en la apariencia de los patrones de difracción. En la Figura 17 se representan los difractogramas medidos utilizando como disolventes el etanol y la acetona.

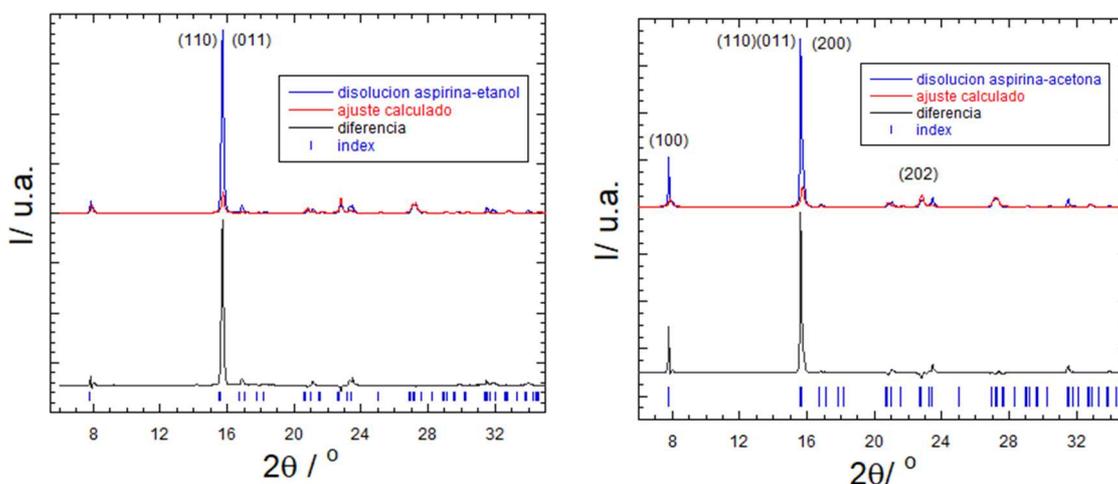


Figura 17. Representación del difractograma de la aspirina pura preparada con disolución en etanol (izda.) y con acetona (dcha.). En ambos casos se incluyen los mejores ajustes.

Se puede observar claramente un resultado distinto utilizando disolventes. De esta forma, la intensidad del pico en torno a 16° es mucho mayor en ambos casos a la muestra preparada sin disolvente. Además, en el caso del etanol su intensidad es mayor que en acetona. Sin embargo, el pico (100) es mucho más intenso en el último caso.

Finalmente se ha estudiado el comportamiento de las OP existentes al someter las muestras a compresión uniaxial [23], proceso similar al que normalmente se lleva a cabo en la producción de comprimidos comerciales.

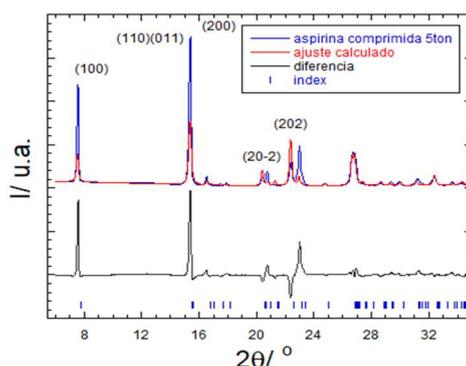


Figura 18. Resultados del ajuste del difractograma de la muestra correspondiente a la aspirina pura sometida a 5 t.

En la Figura 18 se representa el resultado del refinamiento a partir del modelo estructural del monocristal sobre la muestra comprimida. Se puede observar que la calidad del ajuste es peor que en el PA de partida y en los comprimidos comerciales. Existe una gran diferencia entre las intensidades observadas y calculadas para las reflexiones de la familia de planos (100). También se observan diferencias considerables en las reflexiones (112) y (202), lo que indica que las OP no siguen un patrón sencillo para una única familia de planos. Por otra parte, el hecho de que

los comprimidos comerciales presenten menor OP indica que la presión únicamente no es un factor determinante para la reducción de dichas OP.

### 4.1.2 Ibuprofeno

La estructura cristalina del ibuprofeno que se ha resuelto previamente a partir de datos de monocristal [3] (ver anexo I), se ha utilizado como punto de partida para las simulaciones y ajustes de los difractogramas, así como para un análisis cualitativo de las OP.

En primer lugar, se ha medido una muestra comercial usando un portamuestras estándar con rotación. El difractograma resultante se muestra en la Figura 19.

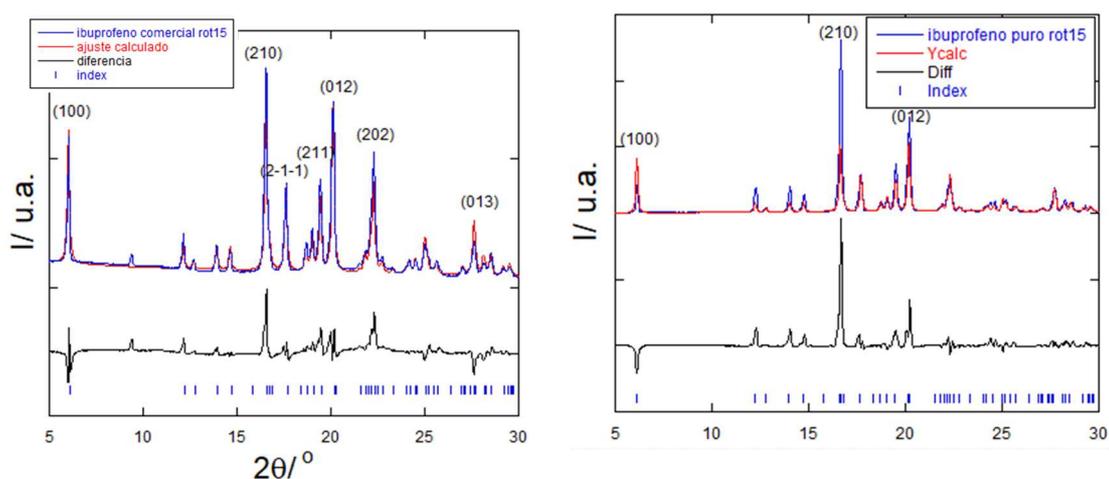


Figura 19. Representación del difractograma experimental para la muestra en polvo de ibuprofeno comercial con el portamuestras rotado (izda.). Refinamiento de la muestra del principio activo en polvo rotando (dcha.), donde se aprecia una variación notable de intensidades relativas, indicando en este caso la presencia de OP.

Como en el caso anterior, se ha realizado un ajuste del difractograma variando los parámetros generales y los propios de la muestra que no afectan a la intensidad de los picos (posiciones atómicas y parámetros de desplazamiento). Como se ve en la Fig. 19, el resultado del ajuste en la muestra comercial es satisfactorio, a diferencia de lo que sucedía con la aspirina. La mayor diferencia de intensidad corresponde al pico más intenso, asociado a la reflexión (210). No obstante, el refinamiento parece indicar la ausencia de OP severas en este caso. Por otra parte, se observa la existencia de un pico en torno a  $2\theta = 9^\circ$  sin indexar, probablemente procedente de una impureza, como por ejemplo un excipiente cristalino (ver lista de excipientes en anexo II). Se ha descartado que el mismo pertenezca a otro polimorfo conocido de ibuprofeno.

Como en otros casos, se ha realizado un análisis del efecto de la variación de otras variables que puedan generar OP en esta muestra. En primer lugar, se ha analizado de forma comparativa el PA del medicamento, observando una mayor discrepancia entre las intensidades observada y calculada, lo que sugiere la presencia de OP en este caso. La diferencia es mucho mayor para la muestra pura rotando cuando se hace el ajuste a partir del modelo cristalino, como se puede observar en la Figura 19.

Por otra parte, se ha estudiado el efecto de la molienda sobre los comprimidos comerciales. Así, en la Figura 20 se han representado los difractogramas correspondientes a diferentes tiempos de molienda. Se puede observar que en este caso no hay diferencias significativas en cuanto a

las intensidades relativas de los picos. Como en el caso de la aspirina todos los picos del difractograma se ensanchan a medida que aumenta el tiempo, como efecto de la reducción del tamaño de partícula.

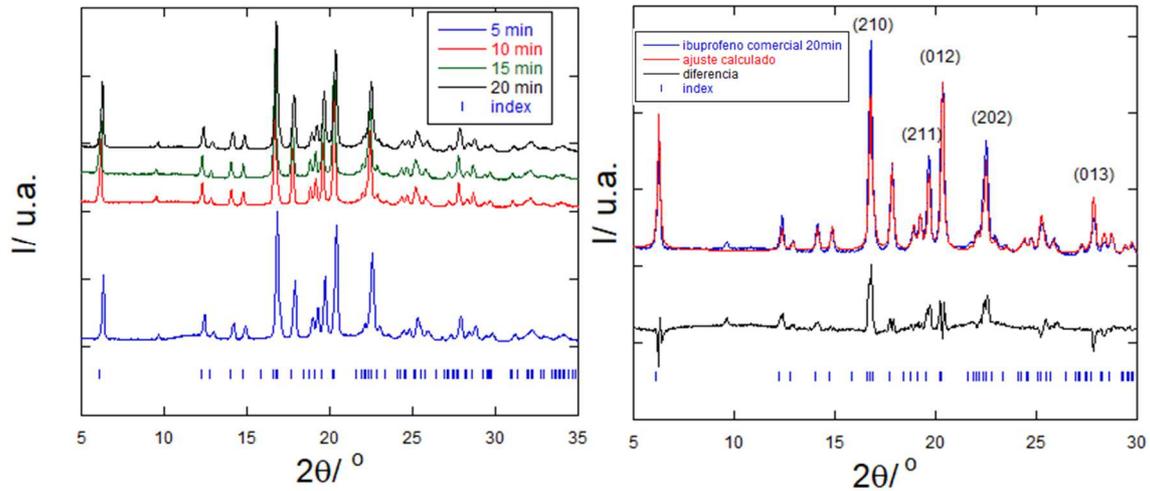


Figura 20. Representación de los difractogramas experimentales con diferentes tiempos de molienda (izda.) y resultado del refinamiento del difractograma de la muestra de ibuprofeno comercial molido 20 minutos (dcha.).

En la figura se observa que el ajuste para el difractograma correspondiente a 20 minutos de molienda sigue siendo satisfactorio. La mayor diferencia de intensidades aparece, una vez más, para el pico (210). Esto está de acuerdo con la ausencia de OP, como se predice en [26].

Debido a la elasticidad del ibuprofeno este se ve débilmente influenciado por la compresión, forma por la cual es apto para la producción de comprimidos comerciales. Se ha estudiado el efecto de la compresión tomando una muestra de PA, con presencia de OP, y someténdola a 5 t de presión uniaxial. Los resultados del ajuste del difractograma correspondiente se muestran en la Figura 21.

En este caso también se observa una gran diferencia de intensidades en los picos (100) (por encima del 100%) y (210), pero además en otros como (211) o el (202). Por tanto, la compresión uniaxial favorece las OP en las muestras del PA de ibuprofeno puro.

Finalmente, para constatar la presencia de OP se suspendió el polvo de la muestra del PA de ibuprofeno en etanol, lo que produjo un incremento de las OP, como se observa en la Fig. 21 dcha. Se puede observar un gran aumento de la intensidad de los picos de la familia (100) por la orientación de los cristales debido a su morfología, como se predice en [11]. También se intentó suspender el PA en acetona y agua, pero no fue posible dada la propiedad hidrofóbica del ibuprofeno.

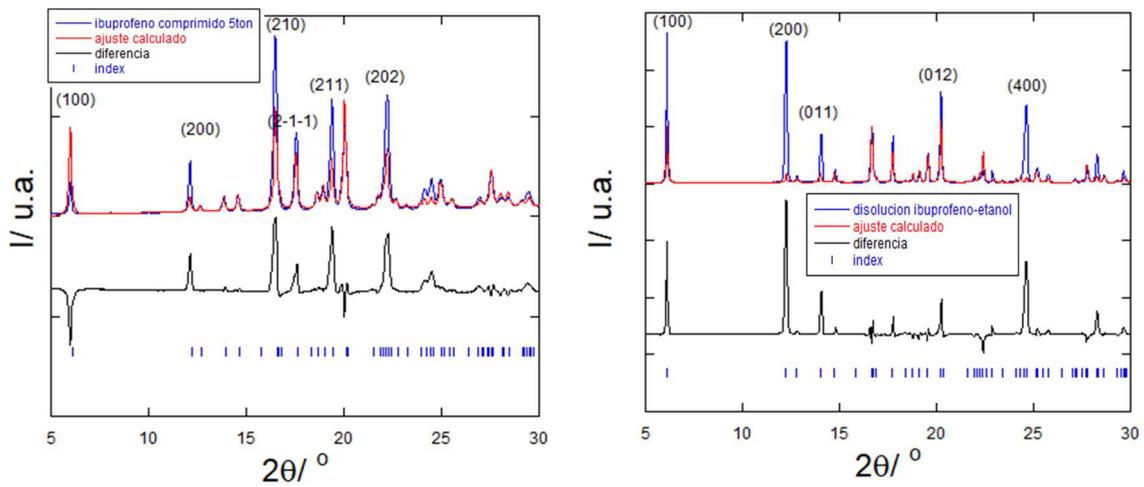


Figura 21. Refinamiento del difractograma de la muestra de ibuprofeno puro comprimido aplicando 5 t (izda.) y de la muestra pura suspendida en etanol (dcha.).

Por tanto, el ibuprofeno presenta unas buenas condiciones de cristalización y estabilidad bajo diferentes condiciones de molienda mecánica. A priori los comprimidos comerciales son buenos candidatos para determinar la estructura cristalina, no tanto el PA en diferentes condiciones de medida, así como las muestras sometidas a presión uniaxial y disueltas en etanol (todas ellas a partir del PA).

### 4.1.3 Ranitidina

El tercer medicamento analizado es la ranitidina, del que también se dispone de estructura cristalina resuelta a partir de datos de monocristal [5]. Los resultados del ajuste a partir de este modelo utilizando una muestra comercial en polvo rotada se muestran en la Figura 22.

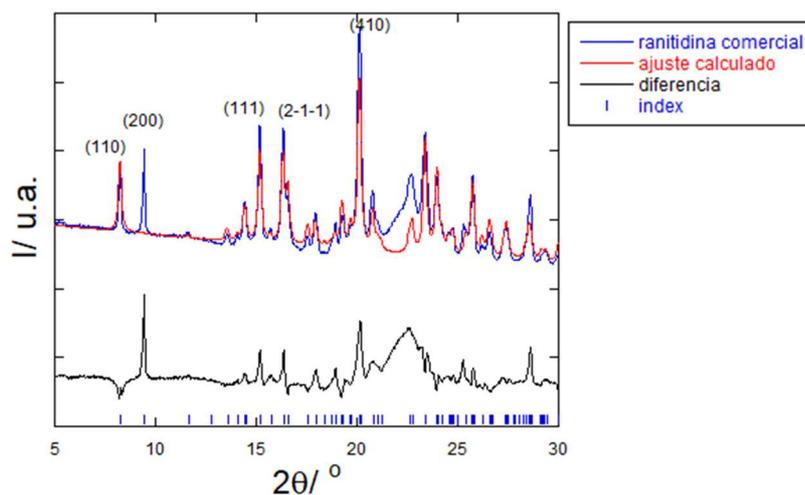


Figura 22. Difractograma de la muestra en polvo comercial de ranitidina junto con los resultados del ajuste y los índices de Miller correspondientes a la estructura, tomada de [5].

A primera vista se pueden observar diferencias notables entre los difractogramas calculado y experimental. En particular se observa un fondo en la región entre 20 y 25°, que probablemente corresponda a la señal amorfa de uno de los excipientes (ver lista de excipientes en anexo II). Por otro parte, la intensidad asociada al pico (200), que debería estar casi ausente, junto con el

exceso de intensidad de los picos (111), (2-1-1) y (410), sugieren ya la presencia de OP en la muestra comercial.

Se ha analizado si el efecto de la molienda mecánica modifica las OP presentes, como en casos anteriores. Así, partiendo del PA en lugar de la muestra comercial, se ha comparado el efecto del tiempo de molienda en las intensidades de difracción. En la Figura 23 se representan los difractogramas de la muestra en polvo sin moler y tras una molienda de 10 min.

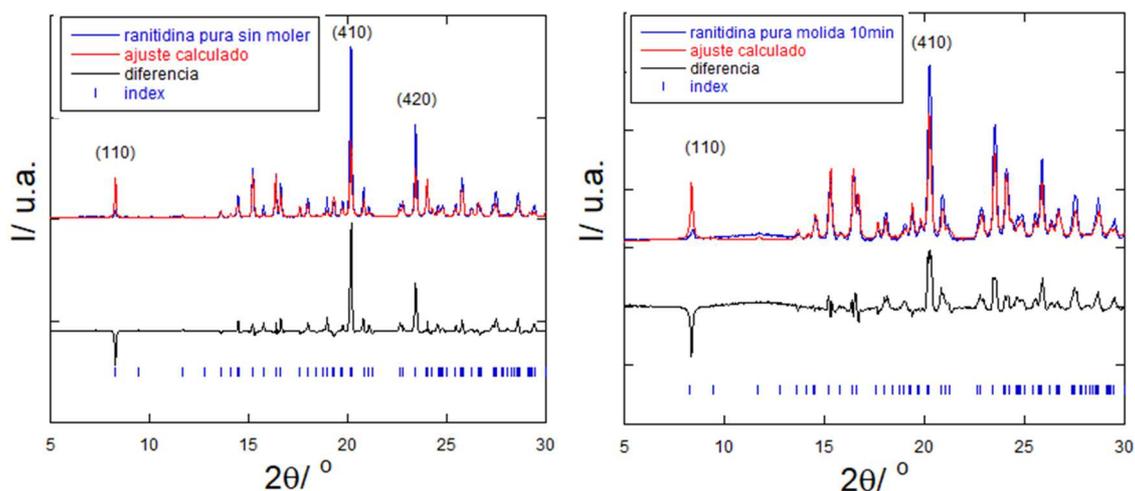


Figura 23. Difractogramas del PA de ranitidina en polvo sin moler (izda.) y molido 10 min. (dcha.).

Se puede observar que en ambos casos existe una diferencia notable entre los difractogramas calculado y experimental, particularmente en algunos picos como el (110). A pesar de que las OP no desaparecen tras la molienda, es claro que existe un mejor acuerdo entre los difractogramas tras la misma, lo que estaría asociado a una reducción de las OP.

Por otra parte, se ha estudiado el efecto de la compresión y la disolución del polvo sobre las OP, como en los medicamentos anteriores. En la Figura 24 se representa el difractograma para la muestra sometida a 5 t de fuerza.

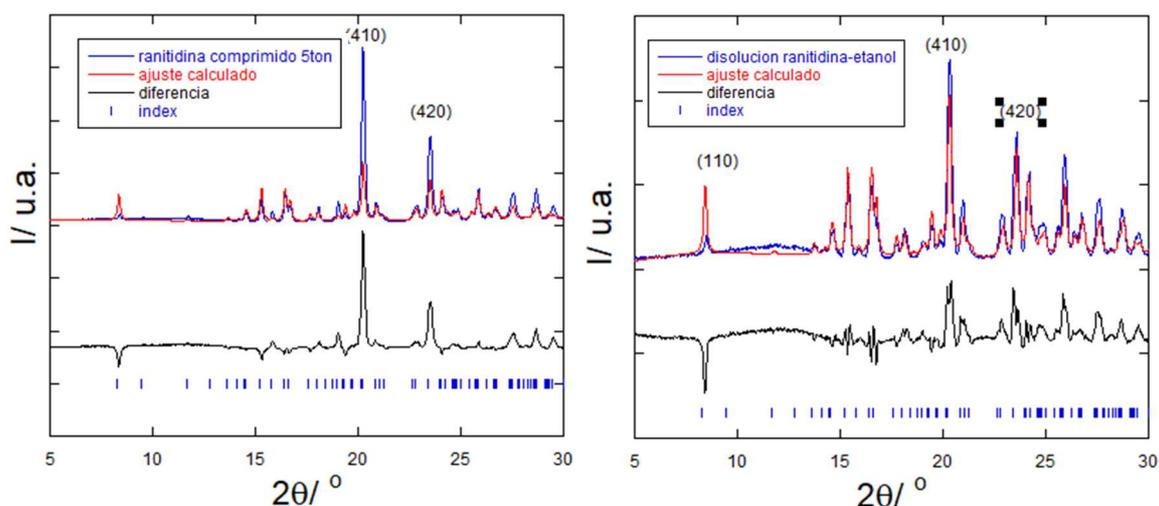


Figura 24. Difractograma de la muestra del PA de ranitidina sometida a 5 t, junto con el ajuste correspondiente (izda.). Difractograma del PA tras la disolución en etanol y secado (dcha.).

Se puede observar que tras la compresión el difractograma experimental sigue difiriendo del calculado, con un exceso de la intensidad de las reflexiones (410) y (420) respecto al calculado a partir del modelo estructural, al contrario que la reflexión (110). Por tanto, no existe una modificación notable de las OP existentes al someter la muestra a tensión uniaxial.

El efecto de la disolución de la muestra pura en etanol se ha representado también en la Figura 24. A pesar de que el pico (110) tiene una intensidad menor que la calculada, en general existe un mejor acuerdo entre las intensidades observadas y calculadas. Las intensidades calculadas de los picos (410) y (420) son ligeramente superiores a las experimentales. Por otro lado, los resultados de la disolución en acetona muestran un peor acuerdo que en el caso del etanol.

Al igual que en el ibuprofeno, los hábitos y/o agregados de cristales adoptan diferentes formas, esto tiene un efecto en las OP que se ponen de manifiesto en los difractogramas. En el caso del etanol, se produce una reducción de dichas OP, que estaría de acuerdo con datos previos publicados en la bibliografía [8], que indican que el etanol produce una forma esférica de agregados por lo que el efecto de OP sería menor, mientras que en acetona o un disolvente de baja polaridad adopta formas planas y surgen mayores efectos de OP.

#### 4.1.4 Otros: Amoxicilina y ciprofloxacino

Finalmente se recogen brevemente los datos de dos antibióticos también estudiados en este trabajo. En primer lugar, se han medido muestras comerciales de amoxicilina, de la que se conoce su estructura cristalina a través de difracción en monocristal [6]. En la Figura 25 se representa el difractograma de la muestra comercial medida en condiciones normales.

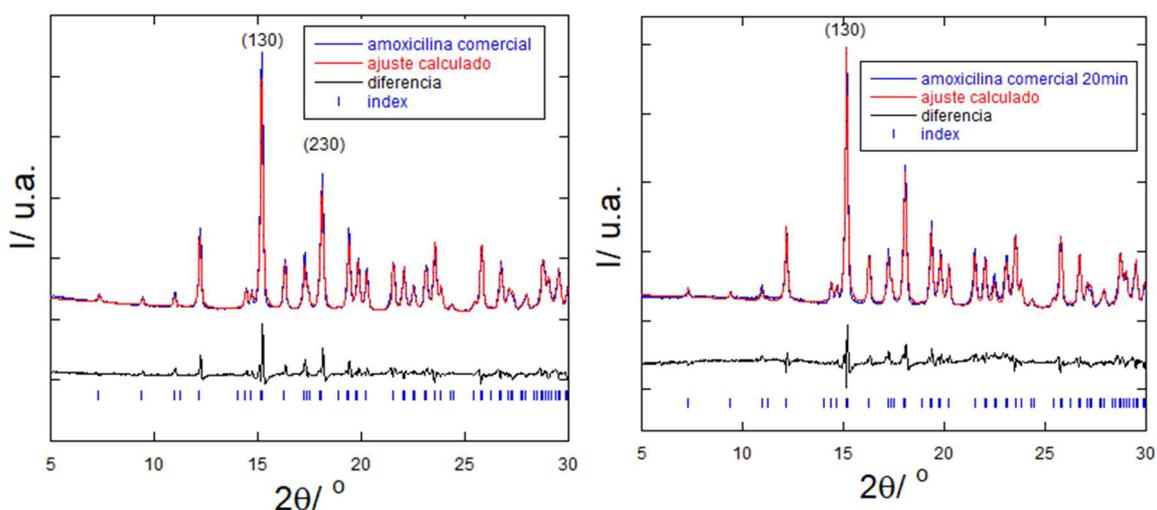


Figura 25. Resultados del refinamiento del difractograma de una muestra comercial de amoxicilina tal cual (izda.) y tras una molienda de 20 min. (dcha.).

En este caso se observa también un buen acuerdo entre los difractogramas medido y calculado, lo que parece indicar la ausencia de OP. Solo se observan pequeñas diferencias de intensidad en algunos picos, como el (130) y (230), que podrían ser debidas a otros factores del ajuste o a pequeñas variaciones en el modelo estructural.

La molienda por periodos más prolongados (ver Figura 25) hace que el acuerdo mejore, por lo que ayudaría a reducir esas pequeñas diferencias de intensidad y se podrían descartar definitivamente la presencia de OP en esta muestra. Además, en ningún difractograma se observan reflexiones procedentes de excipientes o de fases de polimorfos del PA del

medicamento. Por otra parte, no se observan diferencias significativas en las intensidades relativas en función del tiempo de molienda, a partir de 5 min. (hasta 20 min.).

Finalmente, también se ha analizado las OP en una muestra comercial de ciprofloxacino a partir del modelo estructural de la bibliografía [27]. En este caso se observó que el modelo representa bien todos los picos del difractograma, pero existen variaciones muy importantes de las intensidades de difracción, lo que indicaría una vez más fuertes OP. En particular, existe un factor 20 o superior entre la intensidad observada y calculada del pico (020). Este medicamento se descartó para la resolución estructural.

## 4.2 Obtención de la estructura

En este apartado se muestran los resultados obtenidos tras el empleo de los métodos *Simulated Annealing* y *Charge Flipping* como procedimientos para la determinación de la estructura de los diferentes fármacos analizados a partir de datos de difracción de rayos X en polvo. Previamente a la resolución de la estructura y como se ha comentado en la sección 3, se ha realizado un ajuste de perfiles tipo Pawley, donde se han refinado los parámetros de malla (utilizando de partida aquellos procedentes de datos bibliográficos de muestras en monocristal), el fondo, el error del cero o la forma de pico (en este caso, tipo Pseudo-Voigt). Todos los parámetros refinados serán fijados durante la resolución de estructuras con el método *Simulated Annealing*. A su vez, a partir del método Pawley se han obtenido las intensidades asociadas a cada reflexión (hkl), de las cuales se pueden extraer los cuadrados de los factores de estructura (solo las amplitudes, ya que las fases se pierden), que son necesarios para el funcionamiento del método *Charge Flipping*.

Dado el número de estructuras resueltas (teniendo en cuenta no solo el número de fármacos analizados sino también las diferentes formas de preparación de cada uno de ellos) y la imposibilidad de compilar todas ellas en el presente trabajo, se ha realizado una selección de los resultados más importantes, los cuales se exponen a continuación.

### 4.2.1 Simulated Annealing y refinamiento Rietveld

Para la ejecución del método *Simulated Annealing*, aparte de fijar los parámetros antes mencionados, es necesario conocer la forma de la molécula que se encuentra en la estructura que se quiere resolver, incluyendo las distancias y ángulos de enlace entre los diferentes átomos, así como los posibles ángulos de torsión entre los diferentes fragmentos en los que se pueda dividir la molécula. El modelo molecular puede construirse utilizando el *Rigid Body Editor* incluido en el programa TOPAS 5. Para ello se utiliza el formalismo *z-matrix*, (ver ejemplo de código anexo III) que consiste en una vez definido el primer átomo, ir definiendo el resto a partir de las distancias de enlace, los ángulos formados por tres átomos y los ángulos de torsión (formados por cuatro átomos), hasta generar la molécula entera. Aunque al construir la molécula ésta es rígida, puede posteriormente parametrizarse, dejando variar tanto las distancias de enlace como los ángulos. En este caso, los ángulos de enlace y de torsión han sido fijados, mientras que las distancias de enlace se han dejado variar dentro de un determinado rango (en general,  $\pm 0.1 \text{ \AA}$ ), para evitar que la molécula se deforme. No obstante, para reducir el número de parámetros variables, las distancias de enlace entre dos átomos dados se han parametrizado atendiendo al tipo de enlace que presentan, es decir, sencillo o doble, y siempre y cuando las distancias tomadas de referencia fueran similares. Si no, se han parametrizado por separado. Cabe mencionar que los átomos de hidrógeno no se han incluido al construir la molécula, ya que no son detectables por difracción de rayos X. Una vez se ha obtenido un

resultado con este método, tanto los parámetros previamente fijados como las posiciones atómicas obtenidas se dejan refinar mediante el refinamiento Rietveld (ver ejemplo de código anexo III).

A continuación, se describen las estructuras obtenidas para los distintos casos analizados de cada fármaco.

#### 4.2.1.1 Aspirina

En el caso de la aspirina se muestran los resultados correspondientes a la muestra comercial (comprimidos Bayern), la muestra pura molida 10 min, la muestra pura medida rotando (15 rpm) y la preparada mediante una suspensión en etanol. En todos los casos se ha utilizado el rango 5-50° ( $2\theta$ ) para la determinación de la estructura.

En primer lugar, para la muestra comercial la mejor solución obtenida con el Simulated Annealing proporciona un  $R_{wp} = 17\%$ , el cual mejora a  $R_{wp} = 13\%$  al realizar el refinamiento Rietveld, si bien apenas se observaron cambios en las posiciones atómicas tras este refinamiento. Para resolver la estructura de la muestra comercial no se han usado armónicos esféricos, (y en caso incorporarlos en el código, se ha observado que el resultado no mejoraba significativamente). En la Figura 26 se muestra el refinamiento Rietveld junto a la estructura obtenida vista desde el plano a-c. Los parámetros de malla resultantes después del refinamiento Rietveld han sido:  $a = 11.439(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 6.6255(10) \text{ \AA}$ ,  $c = 11.4104(18) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 95.72(15)^\circ$ , los cuales están en concordancia con los datos bibliográficos.

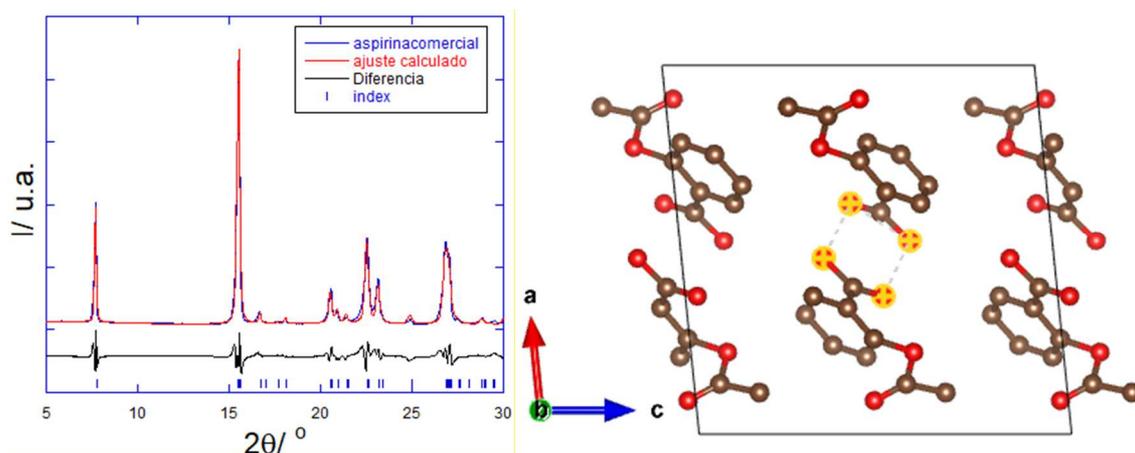


Figura 26. Refinamiento Rietveld (izda.) y estructura obtenida vista a lo largo del plano a-c (dcha.) para la muestra de aspirina comercial.

Si se comparan las posiciones atómicas obtenidas (ver Tabla 3) con aquellas de la muestra de monocristal de referencia [2] (ver Anexo I), se puede observar que ambas están en buena concordancia, salvo por un desplazamiento de 0.5 en el eje x originado por una diferente elección del origen.

En el caso de la muestra pura molida 10 min, la mejor solución obtenida se corresponde con un  $R_{wp} = 17\%$  y  $R_{wp} = 14\%$  para el *simulated annealing* y el refinamiento Rietveld, respectivamente. En este caso sí se han usado armónicos esféricos para la corrección de las OP, ya que se observaba una cierta mejoría en los resultados, aunque el efecto es pequeño. El difractograma ajustado y su estructura se representan en la Figura 27.

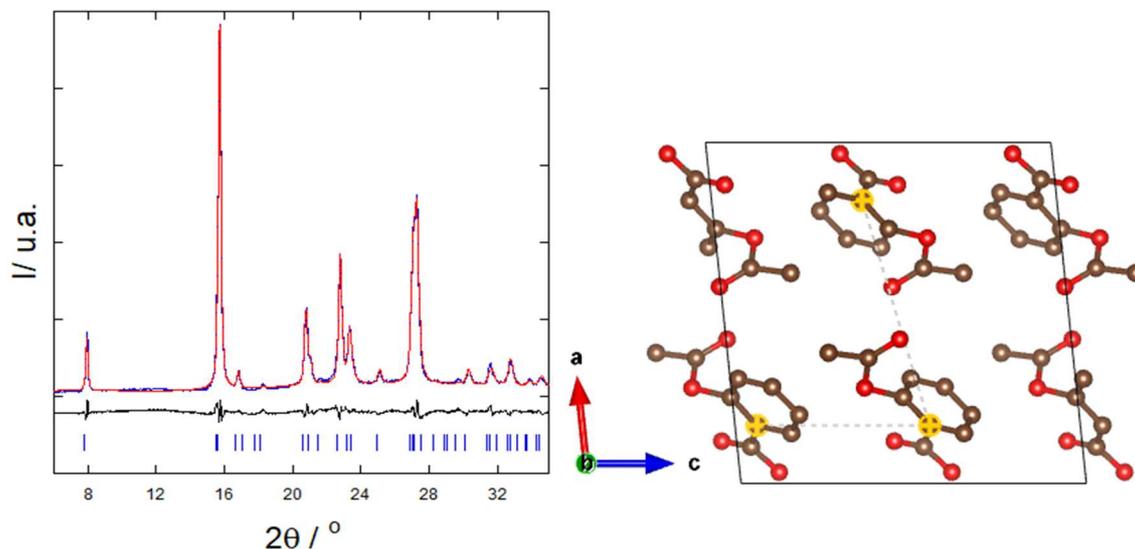


Figura 27. Refinamiento Rietveld (izda) y estructura obtenida (dcha) para la muestra de aspirina pura molida 10 minutos.

Los parámetros de malla obtenidos son  $a = 11.463(3) \text{ \AA}$ ,  $b = 6.5814(19) \text{ \AA}$ ,  $c = 11.468(3) \text{ \AA}$  y  $\beta = 95.913(14)^\circ$ , los cuales son ligeramente superiores a los obtenidos para la muestra comercial. En la Tabla 3 muestran las posiciones atómicas obtenidas después del refinamiento Rietveld, las cuales se puede ver que son similares a las de monocristal [2], si bien difieren en algunos casos en  $\pm 0.02-0.03$ , lo que puede derivar en pequeños cambios en la orientación de la molécula en la celda unidad.

Aspirina	Muestra comercial			muestra pura molida 10min		
	x	y	z	x	y	z
C1	0.6581(19)	0.448(3)	0.0680(13)	0.170(3)	0.463(5)	0.063(2)
C2	0.7420(2)	0.525(5)	0.0055(18)	0.253(2)	0.546(4)	0.995(2)
C3	0.7897(3)	0.709(6)	0.029(2)	0.306(5)	0.733(7)	0.023(3)
C4	0.7585(4)	0.825(6)	0.117(2)	0.282(6)	0.848(7)	0.119(3)
C5	0.6756(4)	0.750(5)	0.181(2)	0.200(5)	0.767(6)	0.188(2)
C6	0.6274(2)	0.566(4)	0.1564(16)	0.146(3)	0.580(4)	0.160(2)
C7	0.6029(8)	0.257(2)	0.0475(11)	0.1076(10)	0.265(3)	0.0402(17)
C8	0.8639(2)	0.273(6)	0.930(2)	0.367(2)	0.289(8)	0.907(3)
C9	0.8870(2)	0.169(6)	0.826(3)	0.382(3)	0.187(8)	0.793(3)
O1	0.524(2)	0.196(3)	0.117(2)	0.033(2)	0.208(4)	0.1135(2)
O2	0.6264(15)	0.156(4)	0.968(2)	0.1241(17)	0.168(4)	0.956(3)
O3	0.777(2)	0.409(5)	0.901(2)	0.2796(2)	0.436(6)	0.886(2)
O4	0.909(2)	0.249(8)	0.021(3)	0.4229(2)	0.2528(10)	0.002(4)

Tabla 3. Comparación de las coordenadas fraccionales de las posiciones atómicas de una molécula de aspirina correspondientes a la muestra comercial y pura molida 10min.

Para la muestra pura medida con una rotación de 15 rpm se ha obtenido una solución con un  $R_{wp} = 16\%$  tras la ejecución del Simulated Annealing, el cual se redujo a  $R_{wp} = 13\%$  al realizar el refinamiento Rietveld. En este caso, no se han incluido armónicos esféricos. El difractograma ajustado, así como la estructura obtenida se muestran en la Figura 28.

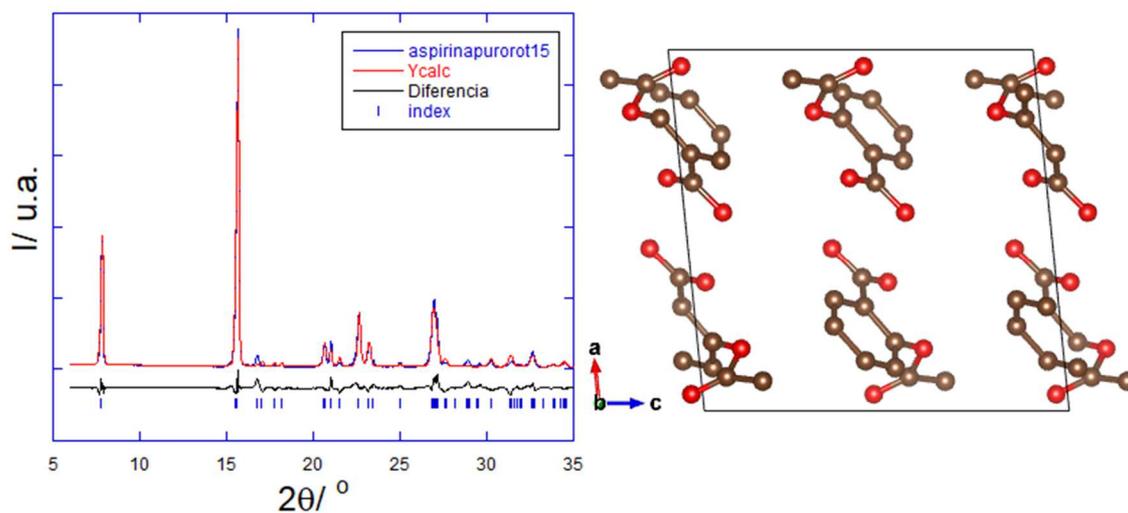


Figura 28. Refinamiento Rietveld (izda) y estructura obtenida (dcha) para la muestra de aspirina pura con rotación (15 r.p.m).

Los parámetros de malla obtenidos para esta estructura son:  $a = 11.461(2)\text{Å}$ ,  $b = 6.6069(12)\text{Å}$ ,  $c = 11.4308(12)\text{Å}$ ,  $\beta = 95.68(12)^\circ$ . En este caso, la distribución de las moléculas en la celda es adecuada (salvo por el desplazamiento en uno de los ejes), si bien el anillo bencénico parece presentar distancias de enlace mayores que en los casos anteriores (como se verá en la Tabla 4).

Por otra parte, para el caso de la aspirina pura suspendida en etanol, la cual cuenta con OP notables como se vio anteriormente, la resolución de la estructura no ha resultado ser satisfactoria. No obstante, a priori parece que el ajuste al difractograma es bueno, como se muestra en la Figura 29. La mejor solución obtenida con el *simulated annealing* resultaba en una estructura donde las moléculas de aspirina se solapaban entre ellas formando cadenas, como se puede observar en la Figura 29. El resultado no variaba con la inclusión armónicos esféricos para dar cuenta de las OP en la resolución de la estructura. El factor de calidad  $R_{wp}$  resultante tras el intento de resolución de esta estructura es 13%, por lo que se puede observar que un valor bajo de  $R_{wp}$  no necesariamente implica una buena resolución estructural.

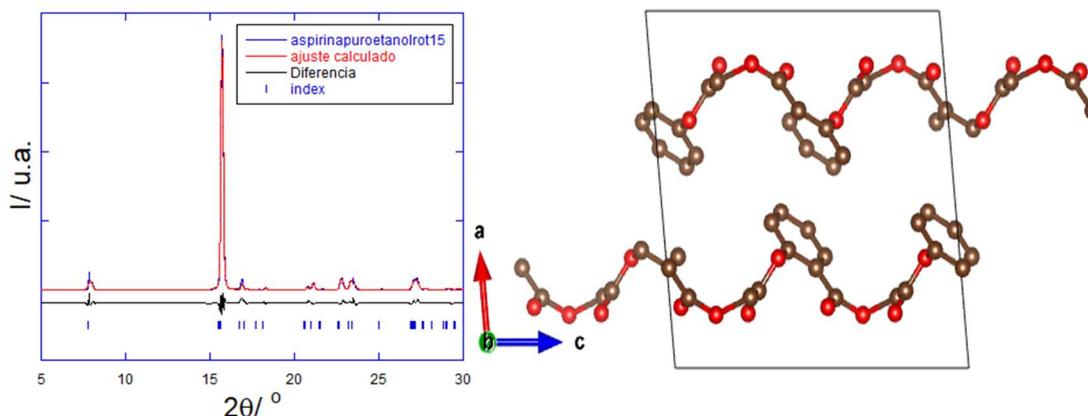


Figura 29. Refinamiento Rietveld (izda) y estructura obtenida (dcha) para la muestra de aspirina diluida en etanol (incluyendo armónicos esféricos).

Para realizar comparaciones entre los diferentes resultados de la aspirina, más allá de la concordancia entre sus estructuras aparentes y posiciones atómicas, se han resumido en la Tabla 4, las diferentes distancias de enlace que fueron parametrizadas y que han sido obtenidas tras el refinamiento Rietveld.

Enlace	Monocristal[2] /Å	Comercial/Å	Puramolida 10min/Å	Pura rot15/Å
C1-C2=C3-C4=C5-C6	1.39	1.352(9)	1.39(9)	1.479(8)
C1-C7	1.50	1.42(2)	1.49(2)	1.52(2)
C7=O1	1.23	1.32(3)	1.33(3)	1.32(2)
C7-O2	1.28	1.18(3)	1.18(4)	1.27(3)
C2-O3	1.40	1.500(18)	1.500(18)	1.30(2)
O3-C8	1.36	1.352(9)	1.399(9)	1.47(8)
C8=O4	1.18	1.11(3)	1.23(3)	1.20(3)

Tabla 4. Distancias de enlace típicas de referencia y obtenidas para las muestras comercial, pura con rotación y pura molida 10 minutos. Las etiquetas se corresponden con aquellas mostradas en la Figura 1.

Como se puede observar en la Tabla 4, las distancias intramoleculares obtenidas varían de muestra a muestra pese a obtener estructuras aparentemente compatibles entre sí, si bien dentro del intervalo de error son aproximadamente similares a los resultados de monocristal en la mayoría de los casos.

En el caso de las distancias intermoleculares se han analizado las distancias entre los átomos de oxígeno O1-O2 (ver Figura 2) del par de moléculas que se encuentran enfrentadas, así como las distancias entre los átomos C1 de las dos moléculas vecinas (ver Figura 1), los valores obtenidos para las muestras comercial y pura molida 10 minutos se resumen en la siguiente tabla, junto con los valores de referencia (monocristal).

Distancia	Monocristal[2] /Å	Comercial/Å	Puro 10 min/Å
Entre C1 vecinos	7.07 y 8.27	6.97(4) y 7.83(5)	6.87(4) y 7.87(5)
Par O1-O2	3.21	3.00(4)	2.83(4)

Tabla 5. Algunas distancias intermoleculares obtenidas para las muestras de aspirina comercial y pura molida 10 minutos.

#### 4.2.1.2 Ibuprofeno

En el caso del ibuprofeno, se expone la estructura obtenida para la muestra comercial y la para el principio activo (muestra pura) rotando (15 rpm) y sin rotar (ya que en esos dos casos son muy notables los cambios en las intensidades relativas de algunos picos). En todos los casos los difractogramas se han analizado en el rango 5-50° (2 $\theta$ ). Para la muestra de ibuprofeno comercial, la mejor solución se corresponde con un valor  $R_{wp} = 13\%$ , el cual se reduce a un valor  $R_{wp} = 11\%$  tras el refinamiento Rietveld. En la Figura 30 se muestra el ajuste Rietveld obtenido, así como la estructura resultante (vista desde el plano a-c).

Los parámetros de malla obtenidos son  $a = 14.665(3) \text{ \AA}$ ,  $b = 7.8910(13) \text{ \AA}$ ,  $c = 10.7328(16) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 99.41^\circ(10)$  frente a  $a = 14.46 \text{ \AA}$ ,  $b = 7.81 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.43 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 99.6^\circ$  de los valores bibliográficos [3]. Cabe mencionar que los valores de la bibliografía se corresponden con una resolución estructural a 100 K, lo cual está en concordancia con que nuestros parámetros de malla sean más grandes, ya que habrá una expansión de la celda unidad debido al aumento de temperatura.

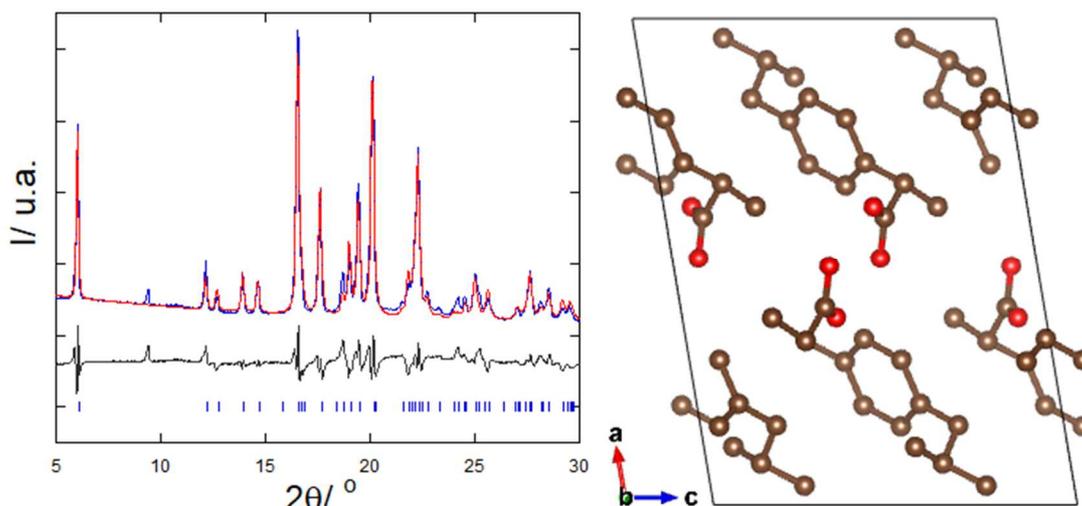


Figura 30. Refinamiento Rietveld (izda) y estructura obtenida para la muestra de ibuprofeno comercial (dcha).

Las posiciones atómicas obtenidas para el ibuprofeno comercial se muestran en la Tabla 6, las cuales están buen acuerdo con las propuestas por la referencia en monocristal [3].

Ibuprofeno	comercial			principio activo rotado		
	x	y	z	x	y	z
O1	0.3861(19)	0.997(3)	0.421(3)	0.871(3)	0.997(7)	0.426(6)
O2	0.493(2)	0.214(2)	0.4259(2)	0.982(4)	0.776(5)	0.437(5)
C1	0.2109(5)	0.5579(12)	0.6135(9)	0.7058(13)	0.441(2)	0.6119(15)
C2	0.1656(7)	0.4114(17)	0.5500(12)	0.6598(16)	0.585(3)	0.548(2)
C3	0.2073(10)	0.317(2)	0.4582(16)	0.701(2)	0.680(4)	0.458(3)
C4	0.2959(10)	0.3679(18)	0.4275(17)	0.790(2)	0.633(3)	0.429(3)
C5	0.3416(10)	0.5143(14)	0.4907(14)	0.836(2)	0.489(2)	0.493(2)
C6	0.2995(7)	0.6079(14)	0.5825(11)	0.7948(16)	0.394(2)	0.583(2)
C7	0.1666(7)	0.6535(14)	0.7082(11)	0.6636(15)	0.348(2)	0.7007(19)
C8	0.0883(9)	0.7638(16)	0.6495(15)	0.5908(19)	0.240(3)	0.643(2)
C9	0.0424(11)	0.8123(17)	0.7589(19)	0.546(2)	0.192(3)	0.746(3)
C10	0.1227(12)	0.9105(19)	0.5820(19)	0.625(2)	0.101(3)	0.580(3)
C11	0.33805(14)	0.276(2)	0.328(2)	0.830(2)	0.723(4)	0.337(4)
C12	0.4076(15)	0.155(2)	0.396(2)	0.895(3)	0.840(4)	0.402(5)
C13	0.3860(15)	0.389(2)	0.248(2)	0.878(3)	0.617(4)	0.262(4)

Tabla 6. Coordenadas fraccionales de las posiciones atómicas de una molécula de ibuprofeno correspondientes a la muestra comercial y a la pura con rotación.

Por otra parte, para el principio activo de ibuprofeno medido con rotación (15 rpm) y sin rotación (sin ninguna preparación adicional) se obtuvieron los valores de  $R_{wp} = 26\%$  para el *simulated annealing* y de  $R_{wp} = 22\%$  para el refinamiento Rietveld en el caso de la muestra medida con rotación y  $R_{wp} = 27\%$  para el *simulated annealing* y de  $R_{wp} = 22\%$  en el refinamiento Rietveld, incluyendo corrección de armónicos esféricos.

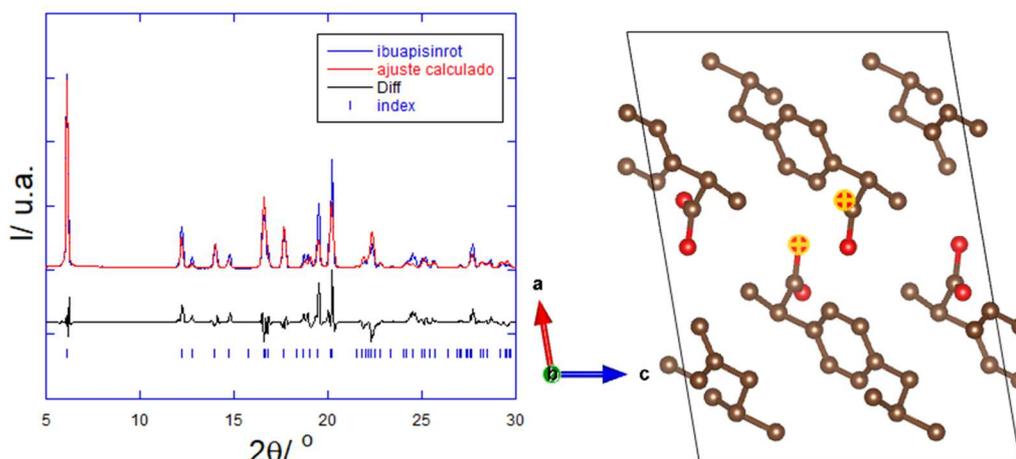


Figura 31. Refinamiento Rietveld de la muestra pura medida sin rotar (izda), junto la estructura resultante vista desde el plano a-c.

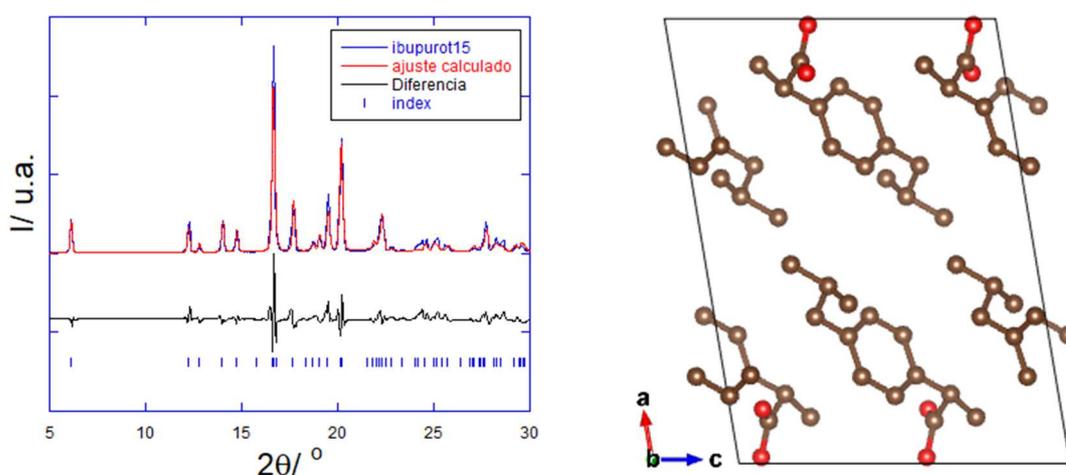


Figura 32. Ajuste obtenido tras el refinamiento Rietveld del principio activo de ibuprofeno medido dejando rotar la muestra (15 r.p.m)

Los parámetros de malla obtenidos son:  $a = 14.702(4)\text{Å}$ ,  $b = 7.883(2)\text{Å}$ ,  $c = 10.774(2)\text{Å}$ ,  $\beta = 99.36(15)^\circ$  para la muestra medida con rotación frente a  $a = 14.736(4)\text{Å}$ ,  $b = 7.9097(19)\text{Å}$ ,  $c = 10.749(2)\text{Å}$ ,  $\beta = 99.48^\circ(18)$  para la muestra medida sin rotación. A partir de las estructuras obtenidas (ver figura 31 y figura 32) se puede observar que, si bien la orientación de las moléculas dentro la celda es correcta, éstas están desplazadas en el eje  $a$ , lo que hace que las posiciones atómicas no sean iguales en ambos casos (ni en comparación con las de referencia), como ya se ha observado anteriormente. Las posiciones atómicas obtenidas para el principio activo se muestran también en la Tabla 6.

Por otra parte, y con el objetivo de establecer las diferencias a nivel molecular entre las diferentes estructuras obtenidas, se muestran en la Tabla 7 las distancias de enlace resultantes tras el refinamiento Rietveld y que son fruto de la parametrización dada a la molécula.

Enlace	Monocrystal[3]/Å	comercial/Å	Puro con rot/Å	Puro sin rot/Å
C1=C2-C3=C4-C5=C6	1.40	1.447(7)	1.4396(14)	1.318(12)
C1-C7	1.50	1.495(4)	1.425(10)	1.510(8)
C12-O1	1.31	1.32(2)	1.31(4)	1.15(5)
C12=O2	1.22	1.21(3)	1.36(4)	1.41(5)

Tabla 7. Distancias de enlace típicas de referencia y obtenidas para las muestras comercial y pura con y sin rotación. Las etiquetas se corresponden con aquellas mostradas en la Figura 2.

Como el ibuprofeno consta de cuatros moléculas por malla orientadas inversamente dos a dos, con el fin de realizar comparaciones estructurales adicionales, se ha medido la distancia entre los átomos de oxígeno O1-O2 (ver Figura 31) del par de moléculas que se encuentran enfrentadas obteniendo valores experimentales 6.63 Å, 6.46 Å, 6.43 Å y 6.69 Å para la muestra comercial, pura (con rotación), pura (sin rotación) y la bibliográfica. Nótese que variaciones con la estructura de referencia pueden darse debido a que es una malla más pequeña en este último caso.

### 4.2.1.3 Ranitidina

En el caso de la ranitidina, se han incorporado en la memoria las resoluciones estructurales correspondientes a la muestra comercial, a la muestra pura sometida a compresión (5 t) y a la muestra pura disuelta en acetona. Se han aplicado correcciones de armónicos esféricos en las dos últimas muestras. En el caso de la ranitidina (que se encuentra en la forma clorhidrato), el cloro presente en la estructura no se ha incluido en la parametrización de la molécula, sino que se ha dejado variar libremente durante la ejecución del *Simulated Annealing*. A su vez, en todos los casos los difractogramas se han analizado en el rango 5-50° ( $2\theta$ ).

En la Figura 33 se muestra se muestra el refinamiento Rietveld de la muestra de ranitidina comercial, el cual se corresponde con un valor  $R_{wp} = 22\%$  (para el *simulated annealing* el valor obtenido es  $R_{wp} = 25\%$ ). Cabe mencionar que en la muestra comercial aparece en el difractograma una parte amorfa en torno a 22-24° (debida probablemente a excipientes) la cual no se ha tenido en cuenta a la hora de resolver la estructura, de ahí un incremento en el factor de calidad. La estructura obtenida se muestra también en la Figura 33. Los parámetros de malla obtenidos han sido:  $a = 18.824(6)$  Å,  $b = 12.994(5)$  Å  $c = 7.213(2)$  Å,  $\beta = 95.05^\circ(2)$ .

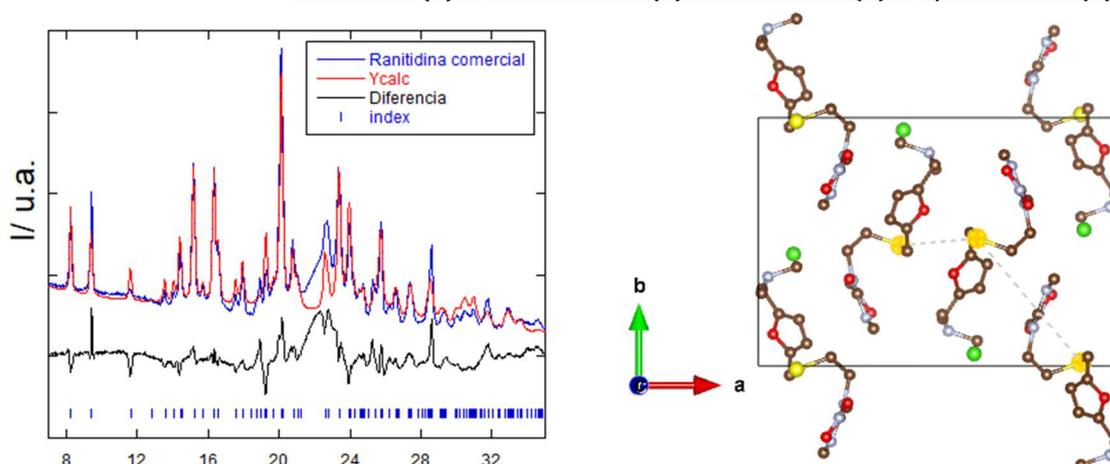


Figura 33. Refinamiento (izda.) y estructura obtenida (dcha.) para la muestra de ranitidina comercial.

Las posiciones atómicas tras el refinamiento Rietveld se muestran en la Tabla 8 las cuales están en concordancia con las bibliográficas con un desplazamiento de 0.5 en los ejes b y c.

En el caso de la muestra pura diluida en acetona la mejor solución obtenida tras el *simulated annealing* se corresponde con un  $R_{wp} = 22\%$ , que se reduce a 18% tras el refinamiento Rietveld, el cual se muestra en la Figura 34 junto con la estructura obtenida. Los parámetros de malla obtenidos son  $a = 18.846(3) \text{ \AA}$ ,  $b = 12.999(2) \text{ \AA}$ ,  $c = 7.2211(14) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 95,06^\circ(13)$ .

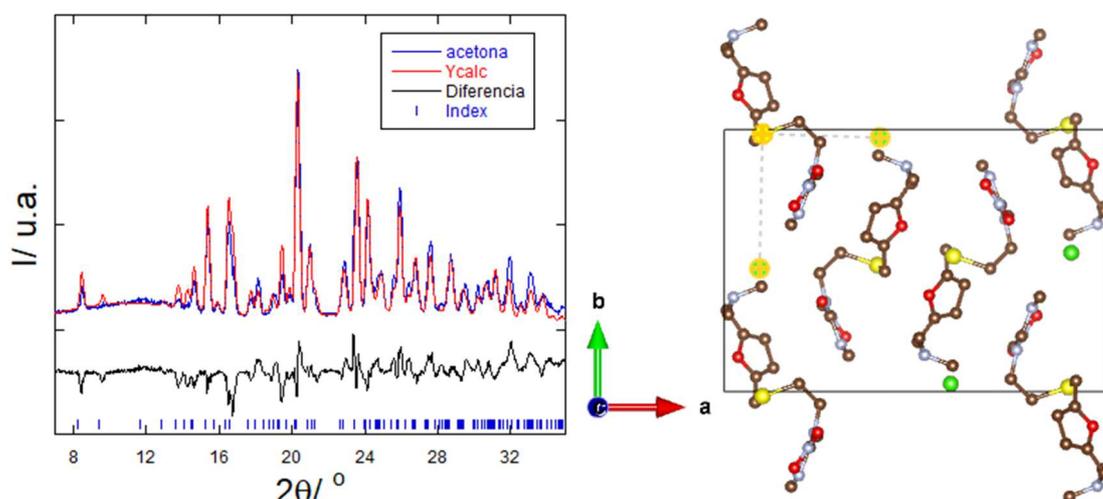


Figura 34. Refinamiento (izda.) y estructura obtenida (dcha.) para la muestra de ranitidina diluida en acetona.

Ranitidina	Comercial			Acetona		
	x	y	z	x	y	z
C1	0.089(4)	0.054(6)	0.622(9)	0.083(2)	0.057(3)	0.614(5)
C2	0.133(4)	0.089(6)	0.5005(10)	0.128(2)	0.091(3)	0.490(6)
C3	0.113(5)	0.186(7)	0.4602(12)	0.106(3)	0.200(4)	0.444(6)
C4	0.057(5)	0.210(7)	0.5564(11)	0.050(2)	0.219(3)	0.546(6)
C5	0.011(5)	0.310(4)	0.5779(12)	0.006(3)	0.310(4)	0.574(6)
C6	0.009(4)	0.293(7)	0.9221(12)	0.010(2)	0.295(4)	0.922(7)
C7	0.106(5)	0.399(7)	0.7706(14)	0.097(3)	0.401(4)	0.778(7)
C8	0.086(3)	0.963(5)	0.726(9)	0.080(2)	0.959(2)	0.727(5)
C9	0.200(2)	0.035(3)	0.995(8)	0.1953(17)	0.030(2)	0.995(4)
C10	0.247(2)	0.464(3)	0.548(8)	0.2504(14)	0.952(2)	0.947(4)
C11	0.2251(16)	0.792(2)	0.100(6)	0.223(9)	0.7887(15)	0.100(3)
C12	0.180(2)	0.650(3)	0.893(8)	0.1747(12)	0.6380(19)	0.908(4)
C13	0.2445(13)	0.832(2)	0.269(6)	0.242(8)	0.8300(12)	0.271(3)
O1	0.041(4)	0.127(6)	0.6556(10)	0.036(2)	0.132(3)	0.647(5)
O2	0.187(2)	0.713(4)	0.447(5)	0.1832(13)	0.709(2)	0.468(2)
O3	0.247(12)	0.849(2)	0.573(5)	0.244(7)	0.8439(11)	0.593(3)
N1	0.027(5)	0.359(7)	0.7495(13)	0.024(3)	0.3600(4)	0.760(7)
N2	0.237(2)	0.845(3)	0.945(7)	0.2352(12)	0.8415(18)	0.943(4)
N3	0.2242(10)	0.7908(18)	0.426(5)	0.219(7)	0.7842(9)	0.446(2)
N4	0.2014(15)	0.790(2)	0.092(7)	0.194(9)	0.6808(15)	0.093(3)
S	0.105(3)	0.985(4)	0.985(8)	0.0997(17)	0.983(2)	0.986(4)
Cl	0.0979(17)	0.450(2)	0.266(4)	0.092(9)	0.4700(12)	0.270(2)

Tabla 8. Coordenadas fraccionales de las posiciones atómicas de una molécula de ranitidina hidrócloro correspondientes a la muestra comercial molida 20 minutos y la suspensión en acetona.

Por otra parte, las posiciones atómicas se muestran en la Tabla 8. Se puede observar que estas se encuentran desplazadas tanto en el eje *a* como en el eje *b*, lo que hace que no coincidan con las bibliográficas [5].

En la Figura 35 se muestra el difractograma ajustado tras el refinamiento Rietveld ( $R_{wp} = 25\%$ ) de la muestra de ranitidina tras aplicarle una compresión uniaxial, junto con la estructura obtenida. En este caso, así como para la resolución de la muestra pura medida con rotación (15 r.p.m,  $R_{wp} = 21\%$ ) se obtienen estructuras equivalentes, con moléculas bien orientadas en la celda unidad.

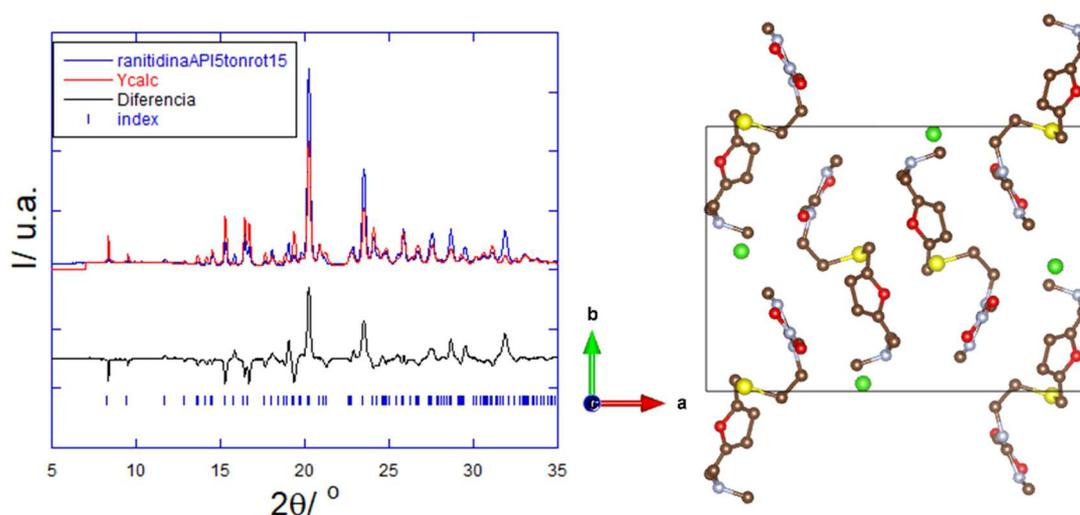


Figura 35 Refinamiento (izda.) y estructura obtenida (dcha.) para la muestra de ranitidina comprimida (5 t).

En la Tabla 9 se muestran las diferentes distancias de enlace obtenidas para las resoluciones estructurales realizadas.

Enlace	Monocristal[5] /Å	comercial/ Å	Puro/Å	Presión/Å	acetona/ Å
C1=C2-C3=C4-O1	1.37	1.350(18)	1.308(19)	1.346(14)	1.361(10)
C1-C8	1.48	1.40(2)	1.40(3)	1.51(2)	1.510(16)
C8-S	1.8	1.89(3)	1.90(3)	1.88(2)	1.899(16)
C11-N4	1.43	1.49(5)	1.32(3)	1.50(2)	1.499(17)
O2-N6	1.14	1.24(7)	1.04(8)	1.23(5)	1.2109()
O4-N6	1.39	1.350(18)	1.308(19)	1.346(14)	1.361(10)

Tabla 9. Distancias de enlace típicas de referencia y obtenidas para las muestras de ranitidina comercial, pura con rotación, presión y disolución en acetona. Las etiquetas se corresponden con aquellas mostradas en la Figura 3.

Las distancias intermoleculares se han analizado tomando como referencia unos parámetros comunes. Estas distancias vienen marcadas en las Figuras 33 y 34 y son las distancias entre átomos S vecinos y la distancia entre átomos de S y los átomos libres de Cl. Estas distancias para las muestras comercial, disolución de acetona y la referencia por monocristal se presentan en la Tabla 10.

Distancia	Monocristal[5] /Å	Comercial/Å	Acetona/Å
Entre S vecinos	9.47 y 3.72	9.29(9) y 3.51(12)	9.22(5) y 6.04(15)
Entre S y cloros	6.86 y 6.04	8.12(7) y 7.96(7)	6.98(4) y 5.92(4)

Tabla 10 comparativa de las distancias intermoleculares de las estructuras resueltas y los datos de la bibliografía.

#### 4.2.1.4 Amoxicilina

En el caso de la amoxicilina solo se dispone de la muestra comercial, por lo que solo se mostrarán como datos representativos los resultados correspondientes a dicha muestra molida 5 y 20 minutos. En ningún caso han tenido que incluirse armónicos esféricos durante la resolución de la estructura, ya que como se ha visto en la sección anterior, la amoxicilina carece de OP, por lo que no es necesario su uso. Cabe mencionar que, en el caso de este fármaco, dado que se encuentra en su forma trihidratada, los átomos de oxígeno correspondientes a las tres moléculas de agua no se han incorporado dentro del cuerpo rígido descrito con el formalismo *z-matrix*, sino que se han dejado variar sus posiciones atómicas libremente sin ninguna restricción de conectividad. Para la determinación estructural se ha utilizado el rango 5-60°. La solución obtenida con el *simulated annealing* muestra un  $R_{wp} = 24\%$  y  $9\%$  para las muestras molidas durante 5 y 20 minutos, respectivamente. Tras el refinamiento Rietveld, dichos parámetros de calidad mejoraron a  $R_{wp} = 21\%$  y  $8\%$  respectivamente. No obstante, y como en los casos estudiados anteriormente, se ha observado que las posiciones atómicas apenas cambiaban tras el refinamiento. En la Figura 36 se muestran el refinamiento Rietveld correspondiente a las dos muestras expuestas anteriormente.

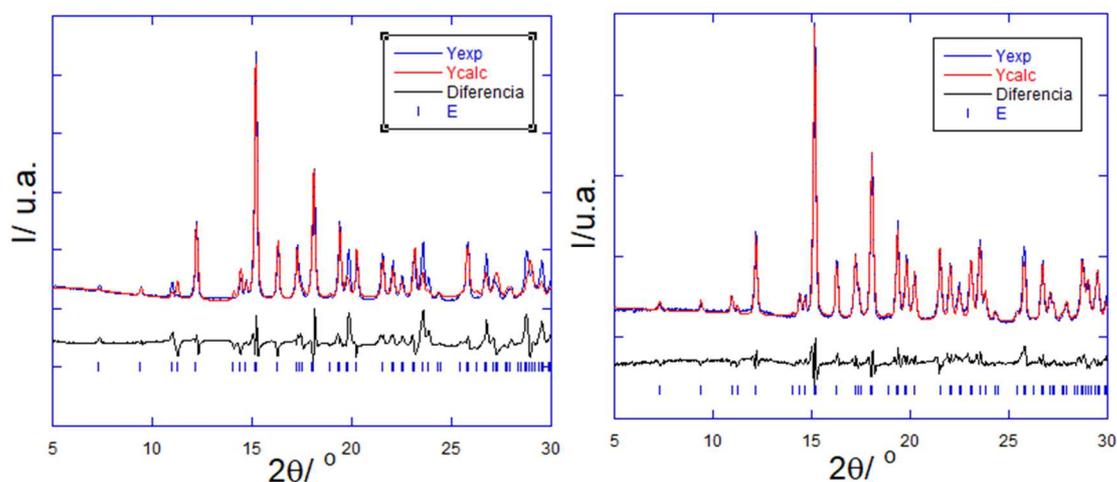


Figura 36. Refinamiento Rietveld de la amoxicilina comercial molida 5 minutos (izda) y la molida 20 minutos (dcha)

Los parámetros de malla resultantes tras el refinamiento Rietveld son  $a = 15.760(3)\text{Å}$ ,  $b = 18.820(4)\text{Å}$ ,  $c = 6.6876(16)\text{Å}$  para la muestra molida 5 min y  $a = 15.7604(14)\text{Å}$ ,  $b = 18.8073(19)\text{Å}$ ,  $c = 6.6817(7)\text{Å}$  para la muestra molida 20 min. Por otra parte, en la Tabla 11 se muestran las posiciones atómicas correspondientes a la muestra molida 20 min comparadas con la muestra de monocristal. Como se puede observar, las posiciones atómicas se encuentran en concordancia, salvo por un desplazamiento de 0.5 en el eje z originado por una diferente elección del origen. Para el caso de las posiciones atómicas de la muestra molida 5 min, estas son muy similares a las obtenidas para la muestra molida 20 min.

Amoxicilina	Monocrista I[6]			Muestra Molida 20 min		
	X	Y	Z	x	y	z
C1	0.2993	0.3748	0.2188	0.2974(4)	0.3740(5)	0.7145(19)
C2	0.3579	0.3244	0.3434	0.3554(5)	0.3220(6)	0.839(2)
C3	0.3596	0.4431	0.5213	0.3601(8)	0.4432(9)	0.029(2)
C4	0.4486	0.4598	0.6174	0.4492(11)	0.4589(12)	0.128(2)
C5	0.4696	0.3830	0.5650	0.4707(8)	0.3818(11)	0.075(2)
C6	0.2075	0.3722	0.2910	0.2067(6)	0.3721(6)	0.784(2)
C7	0.3030	0.3596	-0.0031	0.3015(5)	0.3590(6)	0.493(2)
C8	0.3143	0.2542	0.4087	0.3102(7)	0.2507(8)	0.904(2)
C9	0.5413	0.5639	0.6184	0.5436(17)	0.5635(17)	0.117(3)
C10	0.5832	0.6181	0.4806	0.5859(18)	0.6171(18)	0.984(4)
C11	0.5177	0.6742	0.4272	0.5219(19)	0.6731(17)	0.928(4)
C12	0.4770	0.6702	0.2448	0.4817(18)	0.6693(16)	0.740(5)
C13	0.4135	0.7173	0.1954	0.417(2)	0.7179(15)	0.688(6)
C14	0.3887	0.7675	0.3342	0.391(2)	0.7694(15)	0.828(6)
C15	0.4293	0.7742	0.6162	0.432(2)	0.7748(17)	0.015(6)
C16	0.4945	0.7270	0.5630	0.497(2)	0.7266(18)	0.064(5)
O1	0.5333	0.3482	0.5551	0.5405(11)	0.3437(14)	0.065(3)
O2	0.3057	0.2416	0.5878	0.3004(8)	0.2366(9)	0.095(3)
O3	0.2891	0.2155	0.2662	0.2838(9)	0.2108(9)	0.754(3)
O4	0.5386	0.5727	0.8005	0.539(2)	0.573(2)	0.312(4)
O8	0.3231	0.8142	0.2966	0.325(2)	0.8176(15)	0.788(8)
N1	0.3870	0.3669	0.5138	0.3863(7)	0.3663(9)	0.021(2)
N2	0.5009	0.5113	0.5193	0.5066(13)	0.5147(14)	0.024(2)
N3	0.6578	0.6496	0.5827	0.663(2)	0.649(2)	0.093(4)
S1	0.3424	0.4649	0.2639	0.3423(7)	0.4657(9)	0.763(2)
O5	-0.2990	0.4043	-0.3739	0.934(2)	0.5198(15)	0.122(3)
O6	-0.2531	0.4640	0.2393	0.2546(16)	0.9661(15)	0.749(4)
O7	-0.4312	0.4817	0.1318	0.7977(16)	0.5928(16)	0.622(4)

Tabla 11. Coordenadas fraccionales de las posiciones atómicas de una molécula de amoxicilina trihidratada correspondientes a las muestras de monocristal y 20 minutos.

En la Figura 37 se muestra la estructura final de la amoxicilina comercial molida 20 min obtenida tras el refinamiento Rietveld, la cual se ha comparado con la estructura bibliográfica de monocristal. Se puede ver que la orientación de las moléculas es idéntica en ambos casos.

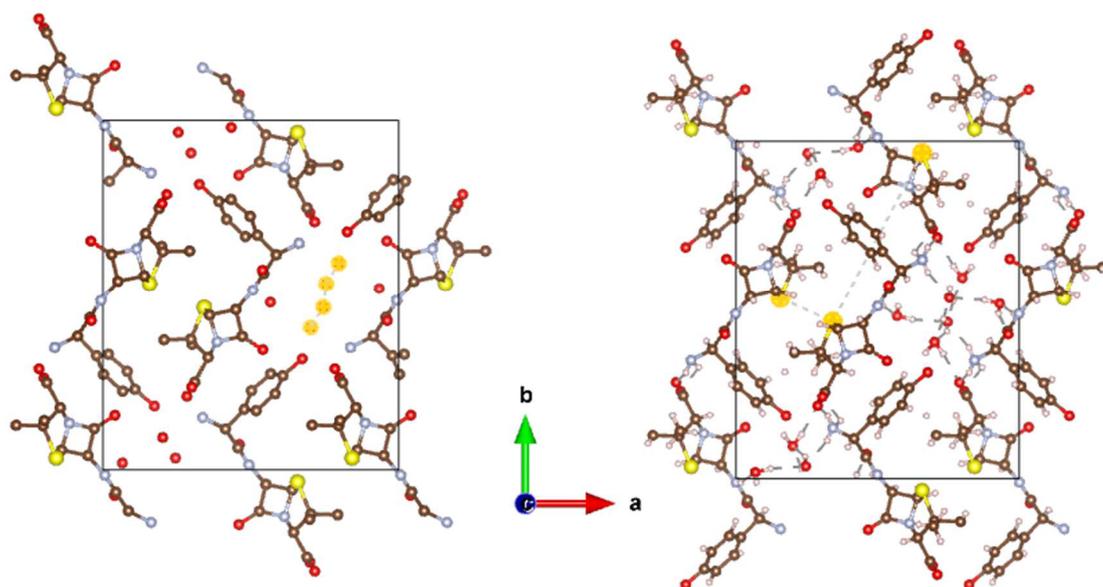


Figura 37. Estructura final de la amoxicilina molida 20 minutos en el plano a-b (izda) comparada con la estructura de referencia en ese mismo plano (dcha).

Si bien las posiciones atómicas son similares, es posible que haya pequeñas diferencias estructurales entre las muestras molidas durante 5 y 20 minutos debidas a variaciones en las distancias de enlace propias de la molécula, y que son fruto de la parametrización usada en el cuerpo rígido de la molécula. Las distancias de enlace obtenidas para las distintas parametrizaciones se muestran en la Tabla 12, las cuales aparecen comparadas con las obtenidas a partir de datos de monocristal.

Enlace	Monocristal[6] /Å	Comercial molido 5 min/Å	Comercial molido 20 min/Å
C1-C2	1.55	1.584(15)	1.579(7)
C1-S	1.84	1.85(3)	1.892(15)
N1-C2	1.46	1.552(19)	1.549(12)
C1-C7	1.50	1.518(18)	1.505(7)
C8=O2	1.22	1.32(3)	1.316(14)
C9-N2	1.34	1.25(4)	1.252(19)
C10-N3	1.47	1.54(2)	1.549(12)
C11=C12-C13=C14-C15=C16	1.37	1.425(14)	1.408(4)

Tabla 12. Distancias de enlace típicas de referencia y obtenidas para las dos muestras. Las etiquetas se corresponden con aquellas mostradas en la Figura 4.

A su vez, las distancias intermoleculares entre moléculas vecinas son muy similares a aquellas de datos de monocristal, como era de esperar a partir de los resultados obtenidos. Se han estudiado las distancias marcadas en la Figura 36, esto es, las distancias entre átomos de S vecinos y las distancias entre los átomos de oxígeno pertenecientes a las moléculas de agua fuera de la molécula del fármaco. Las distancias obtenidas son: 2.80 Å, 3.58 Å y 4.40 Å, frente a los 2.89 Å, 3.58 Å y 4.28 Å de la referencia. Para los O vecinos a los S son: 4.61 Å y 10.63 Å frente a los 4.59 Å y 10.67 Å de la referencia.

## 4.2.2 Charge flipping

Como se ha mencionado en secciones anteriores, para la ejecución este método *a priori* solo es necesario conocer los parámetros de malla de la muestra, así como los factores de estructura junto con los índices de Miller asociados. Es decir, en principio no se necesita información sobre el tipo de átomos, la conectividad de estos o el grupo espacial, a diferencia del *Simulated Annealing*. Sin embargo, se ha observado que utilizando de partida solo los mínimos datos de partida necesarios, la resolución de la estructura no es posible. Aportando información como el grupo espacial o el tipo y número de átomos contenidos en la celda unidad, se ha comprobado que tampoco llega a resolverse la estructura de ninguno de los fármacos, ya que ni siquiera llegan a formarse las moléculas que los componen (ver Figura 38). Una “desventaja” del método *Charge Flipping* es que es necesario que los datos de partida sean de alta calidad, la cual viene dada por: i) un cociente señal/ruido alto, ii) un bajo solapamiento de los picos y iii) una alta resolución, es decir, se deben tener datos que lleguen a valores de  $d < 1 \text{ \AA}$  (lo que para datos medidos a partir de un tubo de rayos X de cobre equivale a  $2\theta \sim 100^\circ$ ). Para los fármacos analizados, los datos de difracción de rayos X en polvo utilizados fueron solo hasta  $2\theta = 50^\circ$ , ya que a partir de ese ángulo había un gran solapamiento de picos, así como un cociente señal/ruido bajo. Por tanto, los datos que se han utilizado para intentar determinar la estructura de los diversos fármacos se engloban dentro de los denominados datos de baja calidad y esa es probablemente la razón por la que la resolución estructural no ha podido llevarse a cabo, ni siquiera utilizando las mejoras incluidas dentro de este método como la fórmula tangente (que ayuda a resolver las estructuras cuando los datos son de baja calidad).

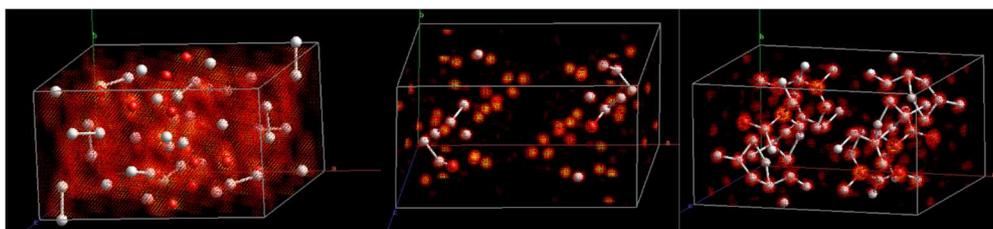


Figura 38. Representación de las soluciones obtenidas para, de izquierda a derecha: el ibuprofeno, la aspirina pura, el ibuprofeno comercial, en diferentes momentos del proceso por el método de charge flipping.

En el caso del ibuprofeno, se han utilizado datos de difracción de rayos X de monocristal (alta calidad) publicados [3] y se ha intentado resolver la estructura mediante el método *Charge Flipping*. Como información de partida se han usado los parámetros de malla, los factores de estructura y sus índices (hkl), el grupo espacial y el número y tipo de átomos. A su vez, se ha utilizado la fórmula de la tangente para mejorar las posibilidades de resolución de la estructura. Otros parámetros que se han utilizado a su vez durante la resolución estructural con este método son:

-*Simmetry obey*: este parámetro puede adquirir valores en el intervalo de 0 a 1 y restringe donde se ubica la densidad de carga de acuerdo con el grupo espacial: un valor 0 implica que no hay ninguna restricción de simetría mientras un valor 1 implica que se tiene guardar la simetría totalmente. En este caso el valor tomado ha sido 1.

-*Fraction reflection weak*: es la fracción de reflexiones que por tener muy poca intensidad se descartan. Cuanto mayor sea ese valor más reflexiones descartará, acelerando el proceso, pero eliminando datos. El valor tomado en este caso es 0.4, aunque se ha ido variando entre 0.2 y 0.4.

-*Min\_grid\_spacing*: tiene que ver con una mejor o peor resolución gráfica. Este parámetro aumenta los puntos a estudiar aumentando su resolución, pero también el tiempo de ejecución. El valor utilizado ha sido 0.3, aunque se ha dejado variar también entre 0.2 y 0.4.

Un ejemplo de *Charge Flipping* puede verse en el anexo III, se ha observado una gran dependencia del valor que adquieren estos parámetros con la “correcta” resolución de la estructura, ya que ligeras variaciones pueden tener como resultado que no se formen las moléculas de ibuprofeno, ni si quiera tras agotar el número de ciclos posibles en la resolución. En la Figura 39 se muestra la estructura del ibuprofeno obtenida a partir del método *Charge Flipping*. Como se puede observar, la forma de la molécula de ibuprofeno se forma correctamente, si bien la colocación de los oxígenos es incorrecta, ya que deberían estar posicionados en el extremo de la molécula y no en el interior de ésta (ver figura 38). Esto puede deberse a que se confundan las densidades calculadas asociadas al carbono y al oxígeno, dado que son dos átomos seguidos en la Tabla Periódica. A su vez, la ocupación obtenida para los átomos de oxígeno es 0.81 en vez de 1.

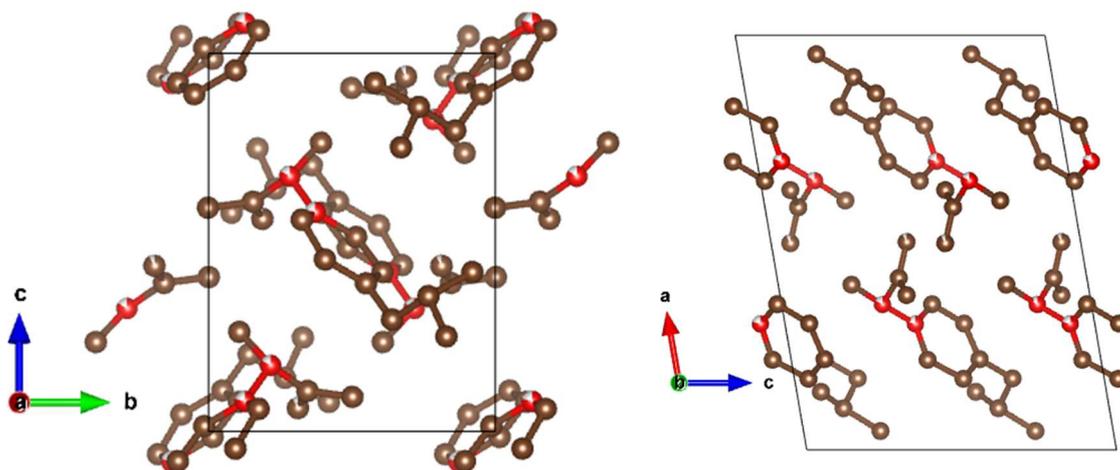


Figura 39. Estructura de ibuprofeno resuelta por el método de *Charge Flipping* a partir de los datos de monocristal de la referencia [3].

En la Tabla 9 se recogen las posiciones atómicas de la estructura mostrada en la Fig.11, las cuales se encuentran en bastante concordancia (salvaguardando la confusión de dos átomos de carbono con dos de oxígeno y un desplazamiento de 0.5 en las coordenadas fraccionales del eje y por una diferente elección de origen) con aquellas publicadas, las cuales han sido obtenidas por otro método de resolución de estructuras.

Átomo	x	y	z
O1	0.351	0.716	0.325
O2	0.304	0.627	0.420
C1	0.828	0.094	0.954
C2	0.585	0.154	0.607
C3	0.305	0.393	0.578
C4	0.219	0.048	0.108
C5	0.351	0.014	0.985
C6	0.217	0.825	0.940
C7	0.827	0.639	0.295
C8	0.398	0.607	0.236
C9	0.954	0.671	0.751
C10	0.100	0.233	0.641
C11	0.6266	0.501	0.091
C12	0.140	0.080	0.578
C13	0.501	0.688	0.937

Tabla 13. Coordenadas fraccionales de las posiciones atómicas del ibuprofeno obtenida mediante charge flipping.

Las distancias de enlace fuera del anillo de benceno son ligeramente más pequeñas respecto a la estructura por monocristal [3] como el par de valores del enlace C8-C9 (ver Figura 2) con un valor obtenido de 1.5271(6) Å frente al 1.5311 Å referenciado, también se nota una mayor diferencia en las distancias de enlace en las que están presentes los dos oxígenos y los dos carbonos intercambiados como se explicaba anteriormente. Sin embargo, donde mayor diferencia aparecen son en las distancias dentro del anillo de benceno, como es el caso del enlace C5-C6 (ver Figura 2) con un valor obtenido de 1.5150(7) Å frente a los 1.3955 Å de la referencia.

Se ha calculado a su vez el cociente  $\sin(\theta)/\lambda$  empleado para resolver la estructura a partir de datos de monocristal, el cual ha resultado ser 0.597 Å, frente al valor 0.274 Å, que toma si se usan los datos de difracción polvo medidos en este trabajo. Esto puede explicar por qué no se ha podido resolver la estructura con los datos de ibuprofeno obtenidos en este trabajo.

## 5. Conclusiones

A continuación, se recogen las conclusiones más importantes de este trabajo:

- El análisis de los difractogramas de muestras de diferentes medicamentos de uso común en polvo, tanto en su forma de principio activo como comercial (con excipientes), ha permitido resolver la fase cristalina principal. Además, se han podido detectar fases secundarias correspondientes a impurezas (no polimorfos), cristalinas y amorfas, en algunos casos. Por otra parte, se ha podido determinar cualitativamente la presencia de orientaciones preferenciales en algunos medicamentos.
- En las muestras comerciales de ibuprofeno y amoxicilina no se han detectado variaciones de intensidad importantes asociadas con orientaciones preferenciales, haciéndolas en principio las mejores candidatas para una correcta resolución de la estructura cristalina. El principio activo de todos los medicamentos analizados presenta efectos importantes de orientaciones preferenciales en su forma en polvo.
- Las diferentes variables asociadas a la preparación de la muestra para los experimentos de difracción, esto es, molienda mecánica, suspensión en disolvente y compresión uniaxial, modifican las orientaciones preferenciales en aquellas muestras que las presentaban a priori. En ningún caso se han podido eliminar estas completamente variando estos parámetros.
- La comparativa de los difractogramas obtenidos con y sin rotación de muestra es una buena herramienta para determinar la existencia de orientaciones preferenciales en una muestra, aunque no se puede utilizar para establecer direcciones ni cuantificar dichas orientaciones preferenciales.
- Se ha conseguido obtener al menos una resolución de las estructuras compatible con la de referencia para los cuatro fármacos mediante el método de *simulated annealing*. Sin embargo, existen pequeñas variaciones estructurales (posiciones atómicas, distancias intra- e intermoleculares, parámetros de malla...) dependiendo de las condiciones de medida asociadas a las diferentes variables experimentales exploradas.
- El método de espacio dual *Charge flipping* no permite obtener ninguna estructura en su totalidad en los casos analizados. Los datos utilizados no son de la calidad necesaria para obtener buenos resultados. La complejidad de las estructuras, con el solapamiento de múltiples reflexiones (resolución) restringe la porción de espacio recíproco a utilizar para la obtención de la estructura.

## 6. Referencias

- [1] M.F. Braña, L. A. del Rio, C.Trives, N. Salazar, *An. R. Acad. Nac. Farm.* **71**, 813 (2005)
- [2] P.J. Wheatley, *J. Chem. Soc.*, 6036 (1964)
- [3] F. Kleemiss *et al.*, *J. Med. Chem.* **46**, 615 (2020)
- [4] F. J. King, A. D. Searle, M. W. Urquhart, *Org. Process Res. Dev.* **24**, 2915 (2020)
- [5] T. Ishida, Y. In, M. Inoue, *Acta Cryst. C* **46**, 1893 (1990)
- [6] M. O. Boles, R. J. Girven, P. A. C. Gane, *Acta Cryst. B* **34**, 461 (1978)
- [7] C. Ouvrard, S.L. Price, *Cryst. Growth Des.* **4**, 1119 (2004)
- [8] P. Vishweshwar *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 16802 (2005)
- [9] A. G. Shtukenberg *et al.*, *Cryst. Growth Des.* **17**, 3562 (2017)
- [10] N. Rasernack, B.W. Muller, *Int. J. Pharm.* **245**, 9 (2002)
- [11] P. Derollez *et al.*, *Acta Cryst. B* **66**, 76 (2010)
- [12] I.A. Khodov *et al.*, *Eur. J Pharm. Sci.*, **65**, 65 (2014)
- [13] H. Novoa de Armas *et al.*, *J. Pharm. Sci.* **98**, 146 (2009)
- [14] M. Mirmehrabia *et al.*, *J. Cryst. Growth* **260**, 517 (2004)
- [15] A.L. da Silva, A.H. de Oliveira, M.L. Souza, Influence of preferred orientation of minerals in the mineralogical identification process by x-ray diffraction, International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2011. ISBN 978-85-99141-04-5.
- [16] R.E. Dinnebier, S.J.L. Billinge, Powder Diffraction: Theory and Practice. RSC. ISBN 978-0854042319 (2008).
- [17] D. Fernandez, Desorden Y Relajación Magnética En Nanopartículas Mononúcleo Y Multinúcleo De Óxidos De Fe, Repositorio UC (2018).
- [18] V.K. Pecharsky, P.Y. Zavalij. Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials. Springer (2005).
- [19] R.E. Dinnebier, VII. Workshop Powder Diffraction Structure Determination and Refinement from Powder Diffraction Data (2000).
- [20] A. Meden, I. R. Evans, *Cryst. Res. Technol.* **50**, 747 (2015).
- [21] G. Oszlányi, A. Sütö, *Acta Cryst. A* **64**, 123 (2008).
- [22] A.A. Coelho, *Acta Cryst A* **63**, 400 (2007).
- [23] Y. Nakai, E. Fukuoka, H. Nakagawa, *Yakugaku Zasshi* **98**, 184 (1977).
- [24] E. Fukuoka, M. Makita, S. Yamamura, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1564 (1987).
- [25] E. Fukuoka, M. Makita, S. Yamamura, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 3313 (1991).

- [26] Anton Paar reports, *Why the Sample Holder and Preparation Matter in XRD: Preferred Orientation of Pharmaceutical Samples*. Ref. E291A003EN-A. [www.anton-paar.com](http://www.anton-paar.com)
- [27] O. D. Putra et al. *CrystEngComm*, **22**, 7272 (2020)

## 7. Anexos

### Anexo I: Posiciones atómicas tomadas como referencia de cada uno de los fármacos utilizados.

Aspirina:

Aspirina	bibliográficos		
	X	y	Z
C1	0.1531	0.4365	0.0674
C2	0.2463	0.5118	0.0092
C3	0.2993	0.6947	0.0419
C4	0.2608	0.8044	0.1347
C5	0.1698	0.7316	0.1938
C6	0.1167	0.5505	0.1602
C7	0.0898	0.2417	0.0372
C8	0.3653	0.2611	-0.0631
C9	0.3970	0.1618	-0.1738
O1	0.0106	0.1876	0.0966
O2	0.1203	0.1387	-0.0508
O3	0.2853	0.4120	-0.0884
O4	0.4031	0.2199	0.0343

Tabla 14. Posiciones atómicas de la estructura de aspirina por monocristal tomada como referencia [2].

Ibuprofeno:

Ibuprofeno	Bibliografico		
	X	y	Z
O1	0.3775	0.9972	0.4124
O2	0.4975	0.8121	0.4361
C1	0.2208	0.4478	0.6099
C2	0.1749	0.5853	0.5400
C3	0.2155	0.6715	0.4463
C4	0.3032	0.6220	0.4192
C5	0.3496	0.4858	0.4894
C6	0.3089	0.4001	0.5833
C7	0.1754	0.3548	0.7099
C8	0.0959	0.2332	0.6496
C9	0.0390	0.1750	0.7528
C10	0.1350	0.0789	0.5858
C11	0.3482	0.7202	0.3191
C12	0.4156	0.8481	0.3937
C13	0.3994	0.6065	0.2342

Tabla 15. Posiciones atómicas de la estructura de ibuprofeno por monocristal tomada como referencia [3].

## Ranitidina

Ranitidina	Bibliográficos		
	X	Y	Z
C1	0.2993	0.3748	0.2188
C2	0.3579	0.3244	0.3434
C3	0.3596	0.4431	0.5213
C4	0.4486	0.4598	0.6174
C5	0.4696	0.3830	0.5650
C6	0.2075	0.3722	0.2910
C7	0.3030	0.3596	-0.0031
C8	0.3143	0.2542	0.4087
C9	0.5413	0.5639	0.6184
C10	0.5832	0.6181	0.4806
C11	0.5177	0.6742	0.4272
C12	0.4770	0.6702	0.2448
C13	0.4135	0.7173	0.1954
C14	0.3887	0.7675	0.3342
C15	0.4293	0.7742	0.6162
C16	0.4945	0.7270	0.5630
O1	0.5333	0.3482	0.5551
O2	0.3057	0.2416	0.5878
O3	0.2891	0.2155	0.2662
O4	0.5386	0.5727	0.8005
O8	0.3231	0.8142	0.2966

Tabla 16. Posiciones atómicas de la estructura de ranitidina por monocristal tomada como referencia [5].

## Amoxicilina

	Bibliográficos		
	X	Y	Z
C1	0.2993	0.3748	0.2188
C2	0.3579	0.3244	0.3434
C3	0.3596	0.4431	0.5213
C4	0.4486	0.4598	0.6174
C5	0.4696	0.3830	0.5650
C6	0.2075	0.3722	0.2910
C7	0.3030	0.3596	-0.0031
C8	0.3143	0.2542	0.4087
C9	0.5413	0.5639	0.6184
C10	0.5832	0.6181	0.4806
C11	0.5177	0.6742	0.4272
C12	0.4770	0.6702	0.2448
C13	0.4135	0.7173	0.1954
C14	0.3887	0.7675	0.3342
C15	0.4293	0.7742	0.6162
C16	0.4945	0.7270	0.5630
O1	0.5333	0.3482	0.5551
O2	0.3057	0.2416	0.5878
O3	0.2891	0.2155	0.2662
O4	0.5386	0.5727	0.8005
O8	0.3231	0.8142	0.2966
N1	0.3870	0.3669	0.5138
N2	0.5009	0.5113	0.5193
N3	0.6578	0.6496	0.5827
S1	0.3424	0.4649	0.2639
O5	-0.2990	0.4043	-0.3739
O6	-0.2531	0.4640	0.2393
O7	-0.4312	0.4817	0.1318

Tabla 17. Posiciones atómicas de la estructura de amoxicilina por monocristal tomada como referencia [6].

## **Anexo II: composición comercial de los diferentes medicamentos.**

Aspirina: El principio activo es la aspirina o ácido acetilsalicílico.

Los demás componentes o excipientes son: celulosa en polvo y almidón de maíz.

Ibuprofeno: El principio activo es el ibuprofeno.

Los demás componentes o excipientes son:

a) Para el núcleo: croscarmelosa sódica, sílice coloidal anhidra, celulosa microcristalina y ácido esteárico.

b) Para el recubrimiento: lactosa monohidrato, hipromelosa, dióxido de titanio (E-171) y macrogol 4000

Ranitidina: El principio activo es la ranitidina (hidrocloruro).

Los demás componentes o excipientes son:

a) Para el núcleo: croscarmelosa sódica, sílice coloidal anhidra, celulosa microcristalina y ácido esteárico.

b) Para el recubrimiento: lactosa en monohidrato, hipromelosa, dióxido de titanio (E-171) y macrogol 4000.

Amoxicilina: El principio activo es la amoxicilina (trihidratada).

Los demás componentes o excipientes son: Polivinilpirrolidona, sacarina sódica, estearato de magnesio, sodio lauril sulfato, celulosa microcristalina y aroma de frambuesa.

### Anexo III: códigos

#### Rigid body: Ejemplo Ranitidina

prm r 1.50 min 1.40 max 1.60

prm r1 1.40 min 1.30 max 1.50

prm r2 1.39 min 1.29 max 1.49

prm r3 1.28 min 1.18 max 1.38

prm r4 1.23 min 1.13 max 1.33

prm r5 1.18 min 1.08 max 1.28

rigid

z\_matrix C7

z\_matrix C1 C7 =r;

z\_matrix O2 C7 =r3; C1 120.123

z\_matrix O1 C7 =r4; C1 119.390 O2 179.428

z\_matrix C6 C1 =r2; C7 119.642 O1 1.799

z\_matrix C2 C1 =r2; C7 125.266 C6 -179.847

z\_matrix C5 C6 =r2; C1 123.339 C2 -0.258

z\_matrix C3 C2 =r2; C1 121.803 C6 0.874

z\_matrix O3 C2 =r1; C1 118.987 C3 176.146

z\_matrix C4 C5 =r2; C3 31.558 C2 -179.811

z\_matrix C8 O3 =r2; C2 113.425 C3 -96.277

z\_matrix C9 C8 =r; O3 108.120 C2 -178.089

z\_matrix O4 C8 =r5; C9 126.420 O3 179.461

Simulated annealing: Ejemplo ranitidina puro

r\_exp 0.142615691 r\_exp\_dash 0.203962392 r\_wp 35.9115623 r\_wp\_dash  
51.3590622 r\_p 27.8373876 r\_p\_dash 50.5674722

weighted\_Durbin\_Watson 0.0560488565

gof 251.806531

iters 100000

Auto\_T(5)

chi2\_convergence\_criteria 0.01

do\_errors

'-----

xdd ranitidinaAPIrot15.raw

r\_exp 1.718536198 r\_exp\_dash 2.572788294 r\_wp 11.05131563 r\_wp\_dash  
16.54471725 r\_p 7.967062695 r\_p\_dash 13.66876398 weighted\_Durbin\_Watson  
1.028886731 gof 6.430656301

bkg 1124.865459 212.0240948 -0.4173114744 26.72759186 85.40986414  
99.22184981 -3.968307671 63.04510452 3.866402114

finish\_X 50

LP\_Factor( 0)

Zero\_Error(, -0.03485449997)

Rp 217.5

Rs 217.5

lam

ymin\_on\_ymax 0.001

la 0.653817 lo 1.540596 lh 0.501844

la 0.346183 lo 1.544493 lh 0.626579

Structure\_Solution\_Weighting

str

phase\_name "ranitidinaAPIrot15"

space\_group "P21/n"

phase\_name "ranitidinaAPIrot15"

a 18.77633118  
b 12.9570174  
c 7.198537886  
be 95.02525909  
scale @ 0

site O2 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ O 1 beq 1  
site O4 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ O 1 beq 1  
site N6 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ N 1 beq 1  
site C13 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C11 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site N4 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ N 1 beq 1  
site C12 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site N2 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ N 1 beq 1  
site C10 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C9 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site S1 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ S 1 beq 1  
site C8 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C1 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C2 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C3 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C4 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site O1 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ O 1 beq 1  
site C5 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site N1 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ N 1 beq 1  
site C7 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site C6 x 0.001 y 0.001 z 0.001 occ C 1 beq 1  
site Cl1 x @ 0.001 y @ 0.001 z @ 0.001 occ Cl 1 beq 1

prm r 1.37 min 1.27 max 1.47

prm r1 1.5 min 1.4 max 1.6

prm r2 1.47 min 1.37 max 1.57

prm r3 1.8 min 1.7 max 1.9

prm r4 1.4 min 1.3 max 1.5

prm r5 1.14 min 1.04 max 1.24

rigid

z\_matrix N6

z\_matrix C13 N6 =r4;

z\_matrix O2 N6 =r5; C13 129.694

z\_matrix O4 N6 =r; C13 109.341 O2 -177.308

z\_matrix C11 C13 =r; N6 122.166 O4 -177.102

z\_matrix N4 C11 =r4; C13 117.757 N6 -16.340

z\_matrix N2 C11 =r; C13 120.044 N4 -174.270

z\_matrix C12 N4 =r2; C11 116.441 N2 -5.367

z\_matrix C10 N2 =r2; C11 121.666 N4 168.809

z\_matrix C9 C10 =r1; N2 121.586 C11 -65.840

z\_matrix S1 C9 =r3; C10 116.376 N2 -15.789

z\_matrix C8 S1 =r3; C9 101.050 C10 -67.592

z\_matrix C1 C8 =r1; S1 112.587 C9 -62.764

z\_matrix C2 C1 =r; C8 133.842 S1 111.910

z\_matrix O1 C1 =r; C2 109.448 C8 174.817

z\_matrix C3 C2 =r4; C1 106.378 O1 0.878

z\_matrix C4 C3 =r; O1 35.722 C1 -178.517

z\_matrix C5 C4 =r2; C3 134.350 O1 177.803

z\_matrix N1 C5 =r1; C4 112.868 O1 72.427

z\_matrix C7 N1 =r2; C5 111.182 C4 64.030

z\_matrix C6 N1 =r2; C5 114.232 C7 -127.680

Rotate\_about\_axies(@ 0, @ 0, @ 0)

Translate(@ 0, @ 0, @ 0)

occ\_merge C\* occ\_merge\_radius .6

occ\_merge O\* occ\_merge\_radius .6

```
occ_merge N* occ_merge_radius .6
occ_merge S* occ_merge_radius .6

MVW( 1310.7284, 1744.56641, 100)
LVol_FWHM_CS_G_L( 1, 708.8619926, 0.89, 990.9952546,,,, 1113.477814)
      TCHZ_Peak_Type(, -0.01965884126,, -0.0155869448,, 0.00540458091,,
0,, 0.1316075125,, 0)
User_Defined_Dependence_Convolution(circles_conv, , , 0.05843288722)
  normalize_FCs
  append_fractional
  Out_CIF_STR(ranitidinaAPIrot15_sabien.CIF)
  Out_FCF(ranitidinaAPIrot15_sabien.FCF)
  r_bragg 25.0604477
  view_structure
```

Refinamiento Rietveld:

```
r_exp 0.209918857 r_exp_dash 0.256289171 r_wp 31.5051064 r_wp_dash 38.46447
r_p 23.5661415 r_p_dash 40.4314661
weighted_Durbin_Watson 0.230889755
gof 150.082307
chi2_convergence_criteria 0.01
```

do\_errors

'-----

xdd ranitidinaAPIrot15.raw

r\_exp 0.209918857 r\_exp\_dash 0.256289171 r\_wp 31.5051064 r\_wp\_dash 38.46447  
r\_p 23.5661415 r\_p\_dash 40.4314661 weighted\_Durbin\_Watson 0.230889755 gof  
150.082307

bkg @ 1124.865459 212.0240948 -0.4173114744 26.72759186 85.40986414  
99.22184981 -3.968307671 63.04510452 3.866402114

finish\_X 50

LP\_Factor( 0)

Zero\_Error(@, -0.03485449997)

Rp 217.5

Rs 217.5

lam

ymin\_on\_ymax 0.001

la 0.653817 lo 1.540596 lh 0.501844

la 0.346183 lo 1.544493 lh 0.626579

Structure\_Solution\_Weighting

str

phase\_name "ranitidinaAPIrot15"

space\_group "P21/n"

phase\_name "ranitidinaAPIrot15"

a @ 18.77633118

b @ 12.9570174

c @ 7.198537886

be @ 95.02525909

scale @ 0.000896538301`\_1.271e-005

site O2 x 0.68128`\_0.00215 y 0.20915`\_0.00371 z 0.96022`\_0.00426 occ O  
1.00000 beq 1

site O4 x 0.74513`\_0.00124 y 0.33629`\_0.00171 z 1.07731`\_0.00431 occ O  
1.00000 beq 1

site N6 x 0.71757`\_0.00111 y 0.27797`\_0.00144 z 0.93512`\_0.00386 occ N  
 1.00000 beq 1

site C13 x 0.73956`\_0.00132 y 0.32119`\_0.00183 z 0.75547`\_0.00496 occ C  
 1.00000 beq 1

site C11 x 0.71699`\_0.00152 y 0.28057`\_0.00222 z 0.58961`\_0.00523 occ C  
 1.00000 beq 1

site N4 x 0.68547`\_0.00152 y 0.17415`\_0.00233 z 0.58710`\_0.00549 occ N  
 1.00000 beq 1

site C12 x 0.66211`\_0.00191 y 0.13208`\_0.00294 z 0.40572`\_0.00652 occ C  
 1.00000 beq 1

site N2 x 0.72846`\_0.00188 y 0.33080`\_0.00270 z 0.43238`\_0.00619 occ N  
 1.00000 beq 1

site C10 x 0.74669`\_0.00223 y 0.43932`\_0.00332 z 0.43304`\_0.00664 occ C  
 1.00000 beq 1

site C9 x 0.69318`\_0.00258 y 0.52316`\_0.00332 z 0.48572`\_0.00697 occ C  
 1.00000 beq 1

site S1 x 0.59891`\_0.00271 y 0.48285`\_0.00355 z 0.48586`\_0.00674 occ S  
 1.00000 beq 1

site C8 x 0.57552`\_0.00318 y 0.45961`\_0.00425 z 0.23496`\_0.00755 occ C  
 1.00000 beq 1

site C1 x 0.58069`\_0.00371 y 0.55860`\_0.00517 z 0.11615`\_0.00795 occ C  
 1.00000 beq 1

site C2 x 0.62420`\_0.00410 y 0.58899`\_0.00546 z -0.01116`\_0.00887 occ C  
 1.00000 beq 1

site C3 x 0.60495`\_0.00460 y 0.69893`\_0.00612 z -0.05753`\_0.00983 occ C  
 1.00000 beq 1

site C4 x 0.55186`\_0.00448 y 0.72124`\_0.00577 z 0.04855`\_0.00937 occ C  
 1.00000 beq 1

site O1 x 0.53656`\_0.00398 y 0.63605`\_0.00533 z 0.15116`\_0.00830 occ O  
 1.00000 beq 1

site C5 x 0.51086`\_0.00485 y 0.81322`\_0.00650 z 0.07978`\_0.01027 occ C  
 1.00000 beq 1

site N1 x 0.53277`\_0.00479 y 0.86468`\_0.00652 z 0.27053`\_0.01092 occ N  
 1.00000 beq 1

site C7 x 0.60577`\_0.00508 y 0.90146`\_0.00661 z 0.28024`\_0.01129 occ C  
 1.00000 beq 1

site C6 x 0.51986`\_0.00428 y 0.80161`\_0.00608 z 0.43006`\_0.01077 occ C  
1.00000 beq 1

site Cl1 x @ 0.40814`\_0.00142 y @ 0.02943`\_0.00177 z @ 0.23675`\_0.00326 occ  
Cl 1.00000 beq 1

prm r 1.33926`\_0.01530 min 1.27 max 1.47

prm r1 1.54925`\_0.02337 min 1.4 max 1.6

prm r2 1.44705`\_0.02451 min 1.37 max 1.57

prm r3 1.84570`\_0.02563 min 1.7 max 1.9

prm r4 1.50000`\_0.02488 min 1.3 max 1.5

prm r5 1.14621`\_0.05626 min 1.04 max 1.24

rigid

z\_matrix N6

z\_matrix C13 N6 =r4;

z\_matrix O2 N6 =r5; C13 129.694

z\_matrix O4 N6 =r; C13 109.341 O2 -177.308

z\_matrix C11 C13 =r; N6 122.166 O4 -177.102

z\_matrix N4 C11 =r4; C13 117.757 N6 -16.340

z\_matrix N2 C11 =r; C13 120.044 N4 -174.270

z\_matrix C12 N4 =r2; C11 116.441 N2 -5.367

z\_matrix C10 N2 =r2; C11 121.666 N4 168.809

z\_matrix C9 C10 =r1; N2 121.586 C11 -65.840

z\_matrix S1 C9 =r3; C10 116.376 N2 -15.789

z\_matrix C8 S1 =r3; C9 101.050 C10 -67.592

z\_matrix C1 C8 =r1; S1 112.587 C9 -62.764

z\_matrix C2 C1 =r; C8 133.842 S1 111.910

z\_matrix O1 C1 =r; C2 109.448 C8 174.817

z\_matrix C3 C2 =r4; C1 106.378 O1 0.878

z\_matrix C4 C3 =r; O1 35.722 C1 -178.517

z\_matrix C5 C4 =r2; C3 134.350 O1 177.803

z\_matrix N1 C5 =r1; C4 112.868 O1 72.427

```
z_matrix C7 N1 =r2; C5 111.182 C4 64.030
z_matrix C6 N1 =r2; C5 114.232 C7 -127.680
```

```
Rotate_about_axes(@ 180.65147`_0.37754, @ 327.38714`_0.48577, @
52.29879`_0.48259)
```

```
Translate(@ 0.71757`_0.00111, @ 0.27797`_0.00144, @ 0.93512`_0.00386)
```

```
occ_merge C* occ_merge_radius .6
```

```
occ_merge O* occ_merge_radius .6
```

```
occ_merge N* occ_merge_radius .6
```

```
occ_merge S* occ_merge_radius .6
```

```
MVW( 1310.728, 1744.566, 100.000`_0.000)
```

```
LVol_FWHM_CS_G_L( 1, 708.86199, 0.89, 990.99525,,,@, 1113.477814)
```

```
TCHZ_Peak_Type(@, -0.01965884126,@, -0.0155869448,@,
0.00540458091,, 0,@, 0.1316075125,, 0)
```

```
User_Defined_Dependence_Convolution(circles_conv, , , 0.05843288722)
```

```
normalize_FCs
```

```
append_fractional
```

```
Out_CIF_STR(ranitidinaAPIrot15_rietvbien.CIF)
```

```
Out_FCF(ranitidinaAPIrot15_rietvbien.FCF)
```

```
r_bragg 23.7009177
```

```
view_structure
```

```
C_matrix_normalized
```

```
{
```

```
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
```

```
scalee025c8_ 1: 100 4 3 0 21 -25 24 23 -1 33 0 5 -4 13 11 32
```

```
xfb3830_ 2: 4 100 -5 0 -16 -5 -2 -5 17 17 4 11 9 26 18 0
```

```
yfb38d0_ 3: 3 -5 100 0 3 -6 8 -2 -8 10 3 -6 5 5 0 -8
```

```

zfb3970_      4:  0  0  0 100  0 -9 -1 25 -12 -2  1 -21 -0  7 -0 -1
r             5: 21 -16  3  0 100 -38 -7  1 -56 -9 14 -44 18 -5 -11 26
r1           6: -25 -5 -6 -9 -38 100 -64 -51 21 12 -33 28 31 14 19 -4
r2           7:  24 -2  8 -1 -7 -64 100 20 -16  1 -8 13 -11 -27 -14 10
r3           8:  23 -5 -2 25  1 -51 20 100 -3 -11 30 -40 -49  8 -24 -7
r4           9:  -1 17 -8 -12 -56 21 -16 -3 100 -15  3 37 -24 -3 -0 21
r5          10: 33 17 10 -2 -9 12  1 -11 -15 100 -10 27 10 33 41  3
rotate_prme042d8_ 11:  0  4  3  1 14 -33 -8 30  3 -10 100  6 -68 49 -25 -46
rotate_prme044b8_ 12:  5 11 -6 -21 -44 28 13 -40 37 27  6 100 -32 31 35 15
rotate_prme04698_ 13: -4  9  5 -0 18 31 -11 -49 -24 10 -68 -32 100 -18 31 22
rx04710_      14: 13 26  5  7 -5 14 -27  8 -3 33 49 31 -18 100 40 -21
ry04788_      15: 11 18  0 -0 -11 19 -14 -24 -0 41 -25 35 31 40 100 22
rz04800_      16: 32  0 -8 -1 26 -4 10 -7 21  3 -46 15 22 -21 22 100
}

```

### Charges flipping: Ejemplo ibuprofeno monocristal

```

charge_flipping
cf_hkl_file "prueba.HKL"
space_group p21/c
a 14.397
b 7.818
c 10.506
be 99.70

```

```
min_grid_spacing .3
fraction_reflections_weak .4
symmetry_obey_0_to_1 = 1;
Tangent(.5, 30)
Pick(1)
load f_atom_type f_atom_quantity
{ C = 13 4;
  O = 2 4; }
```