

UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SAN MARTIN
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA
INSTITUTO DE TECNOLOGÍA
"Prof. Jorge A. Sabato"

**Aplicación de los Rayos X a materiales de interés
para la salud humana: estudios estructurales y
termodinámicos en diferentes formas cristalinas de
ingredientes farmacéuticos activos**

por Lic. Pablo Gaztañaga

Director

Dr. Daniel Vega

Codirector

Dr. Mariano Quintero

**Tesis para optar al título de Doctor en Ciencia y Tecnología: Mención
Física**

República Argentina

2020

Resumen

En esta tesis se estudia la problemática de distintos ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) en estado sólido cristalino desde un análisis térmico y estructural. Esto es importante por cuanto un mismo IFA puede tener múltiples estructuras sólidas cristalinas, fenómeno conocido como polimorfismo, y cada una de estas estructuras posee diferentes solubilidades. Las diferentes solubilidades de un IFA implican distinta biodisponibilidad en el organismo al ser administrado y por lo tanto puede afectar al tratamiento del paciente.

Por otra parte, al elegir la forma física es importante garantizar su estabilidad tanto física como química para que el IFA no cambie durante su almacenamiento y mantenga la misma forma física con la que se lo proveyó hasta el momento de la formulación y/o administración del mismo. En este aspecto resultan importantes los estudios térmicos que permiten determinar la estabilidad relativa entre distintas formas cristalinas.

La técnica de difracción de rayos X resulta ideal para los estudios estructurales ya que la técnica de difracción de rayos X de monocristal (SC-XRD) permite obtener la estructura cristalina de un sólido cristalino a partir de un único cristal, mientras que la difracción de rayos X de polvo (XRPD) permite en una porción de muestra mayor identificar las diferentes formas cristalinas presentes.

Los estudios térmicos son realizados por medio de técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis térmico diferencial (DTA) y de Termogravimetría (TG). TG permite determinar la masa en función de la temperatura de la muestra de manera que si existe una descomposición de la muestra estudiada puede ser determinada la temperatura a la que ocurre dicho evento. DSC y DTA permiten determinar la temperatura a la que ocurren eventos de fusión, deshidratación, transiciones sólido-sólido, etc. y la variación de Entalpía de dicho evento.

Tres casos de polimorfismo son estudiados en esta tesis, Palmitato de Pipotiazina, un IFA antipsicótico de tipo Fenotiazina, Clorhidrato de Tapentadol, un opioide utilizado en tratamientos del dolor y Clorhidrato de Bendamustina, una mostaza nitrogenada utilizada en tratamientos de distintos linfomas.

En ocasiones los métodos utilizados en la industria para obtener un dado IFA da como resultado un solvato del IFA. Un solvato es un sólido cristalino donde el IFA y algún solvente se encuentran unidos en la estructura cristalina, generalmente en forma estequiométrica. El más usual de los solvatos es el hidrato. En general, se ha observado que los hidratos poseen menor solubilidad que los IFAs anhidros, de manera que es importante el estudio de los posibles estados de hidratación de un dado IFA y la estabilidad relativa de las distintas estructuras posibles, así como la cinética en la conversión entre estados hidratados y estados anhidros. Esto también es estudiado en esta tesis por las técnicas anteriormente descriptas. Tres casos distintos se estudian: el ya mencionado Clorhidrato de Bendamustina presenta un monohidrato que puede convertir a una de sus formas anhidras (y rehidratarse) con facilidad. También se estudió el caso de Pridinol Mesilato una sal que se utiliza como relajante muscular y muestra facilidad para hidratarse y convertir a un monohidrato

altamente estable. Finalmente se estudio un complejo de Manganeso y Pregabalina hidratado de alta estabilidad.

En algunos casos las distintas formas cristalinas que presenta un dado IFA no cumplen las características fisicoquímicas para poder ser administrado en un determinado tratamiento. En muchos de estos casos el IFA es provisto como una sal con algún contraión biológicamente compatible. Recientemente se ha propuesto el desarrollo de cocristales para mejorar las propiedades de un dado IFA. Un cocrystal consiste en la presencia de dos moléculas con carga formal nula coexistiendo en una misma estructura cristalina en forma estequiométrica. En este trabajo se desarrollaron y estudiaron distintas sales y cocristales de Pregabalina, un IFA utilizado como analgésico y antiepiléptico.

A Cristian Oubiña y Cecilia Albornoz por su ayuda en las mediciones de calorimetría y termogravimetría.

A Eleonora Freire por el trabajo dedicado a la síntesis de compuestos con Pregabalina utilizados en esta tesis.

A Ricardo Baggio por su ayuda en la discusión de múltiples estructuras cristalinas.

A Alicia Petragalli por su paciencia cuando le ocupaba el laboratorio y cuyo trabajo de muchos años permitió la compra del difractómetro Bruker con el que se realizó gran parte de las mediciones de esta tesis.

A Claudia por acompañarme estos años y a mi familia y amigos por la paciencia durante estos años.

Índice general

Resúmen	III
	V
1. Introducción	1
1.1. Ingredientes farmacéuticos activos	1
1.2. Descubrimiento y optimización de medicamentos	2
1.3. Solubilidad de los IFAs	2
1.4. Termodinámica de soluciones	5
1.5. Estabilidad de un IFA	8
1.6. Formulaciones farmacéuticas	8
1.7. Formas físicas de un IFA	9
1.8. Polimorfismo y solubilidad	10
1.9. Cristalización	11
1.10. Termodinámica de polimorfos	14
1.11. Aspectos estructurales del polimorfismo	19
1.11.1. Simetría de traslación	19
1.11.2. Operaciones y elementos de simetría	19
Operación identidad	20
Simetría de rotación	20
Reflexión Especular	20
Inversión	21
Rotación impropia	21
1.11.3. Redes de Bravais y grupos espaciales	21
1.11.4. Teoría estructural del polimorfismo	23
1.12. Termodinámica de hidratos	24
1.13. Clasificación estructural de hidratos	26
1.14. Termodinámica de cocristales	27
1.15. Aspectos Estructurales de cocristales	27
2. Métodos Experimentales	33
2.1. Generación de polimorfos, hidratos, y solvatos	33
2.1.1. Evaporación lenta de solventes	33
2.1.2. Evaporación rápida de soluciones	34
2.1.3. <i>Slurry conversion</i>	35
2.1.4. Método de fusión	36
2.1.5. Tratamiento térmico	36
2.1.6. Desolvatación de solvatos	36
2.2. Microscopía óptica	37
2.3. Caracterización estructural: difracción de rayos X	39
2.3.1. Dispersión de Thomson	39
2.3.2. Interferencia	40
2.3.3. Difracción por un cristal	42

2.3.4.	Generación y detección de rayos X	42
2.3.5.	Difracción de polvo	44
2.3.6.	Difracción de monocristal	46
2.3.7.	Extinciones sistemáticas y determinación del grupo espacial . .	48
2.3.8.	El problema de las fases	49
2.3.9.	Refinamiento de estructuras	50
2.4.	Caracterización térmica	51
2.4.1.	Termogravimetría	51
2.4.2.	Calorimetría diferencial de barrido y análisis térmico diferencial	52
3.	Polimorfismo en IFAs	57
3.1.	Sistemas monotrópicos	57
3.1.1.	Palmitato de Pipotiazina	57
	Introducción	57
	Caracterización estructural de Palmitato de Pipotiazina	57
	Caracterización térmica de Palmitato de Pipotiazina	61
	Conclusiones	65
3.1.2.	Clorhidrato de Bendamustina	66
	Introducción	66
	Estudios Estructurales	67
	Estudios térmicos	74
	Inestabilidad química	75
	Conclusiones	78
3.2.	Sistemas Enantiotrópicos	78
3.2.1.	Clorhidrato de Tapentadol	78
	Introducción	78
	Estudios estructurales	79
	Estudios térmicos	86
	Microscopía óptica: El efecto termosaliante	89
	Conclusiones	90
4.	Hidratos	93
4.1.	Hidratos de canal: El caso de Clorhidrato de Bendamustina	93
4.1.1.	Estudios estructurales y térmicos	93
4.1.2.	Conclusiones	97
4.2.	Hidratos de sitio aislado: El caso de Pridinol Mesilato	97
4.2.1.	Introducción	97
4.2.2.	Estudios estructurales	100
	Pridinol Mesilato bajo condiciones de alta humedad	106
	Pridinol Mesilato bajo condiciones de baja humedad	107
	Efectos térmicos: <i>Quenching</i> de forma II	108
4.2.3.	Estudios térmicos	111
4.2.4.	Conclusiones	119
4.3.	Hidratos asociados a un ión: El caso de <i>Pregabalina</i> : $MnCl_2$: H_2O . .	121
4.3.1.	Introducción	121
4.3.2.	Estructura Cristalina a Temperatura Ambiente	122
4.3.3.	Estudios térmicos	124
4.3.4.	Polimorfismo	128
4.3.5.	Conclusiones	129

5. Sales y cocristales de Pregabalina	133
5.1. Introducción	133
5.2. Aspectos estructurales de sales de Pregabalina	139
5.2.1. Oxalato de Pregabalina	139
5.2.2. Maleato de Pregabalina	141
5.2.3. Salicilato de Pregabalina	148
5.3. Comportamiento térmico de sales de Pregabalina	151
5.4. Aspectos estructurales de cocristales de Pregabalina	157
5.5. Estudios térmicos de cocristales de Pregabalina	168
5.6. Polimorfismo en PGB:8	174
5.7. Aspectos estructurales de cocristales de Pregabalina a baja temperatura	184
5.8. Polimorfismo en PGB2:101	188
5.9. Conclusiones	191
6. Conclusiones	195

Capítulo 1

Introducción

1.1. Ingredientes farmacéuticos activos

La farmacopea es la documentación publicada por las autoridades sanitarias de cada país en todo el mundo. Este documento contiene información sobre las especificaciones y metodologías que deben utilizarse en la producción de ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) y en la dosificación correspondiente de los medicamentos¹.

En Argentina, la Farmacopea Argentina es el texto oficial que codifica los IFAs, excipientes y productos farmacéuticos y contiene las especificaciones que éstos deben cumplir para demostrar su calidad y resguardar la salud de la población². Según esta publicación, los medicamentos pueden definirse como "toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra".

Los medicamentos están compuestos por IFAs y excipientes. Mientras que los IFAs son sustancias químicas o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana², los excipientes son toda sustancia de origen natural o sintética presente en una preparación farmacéutica incorporada sin propósito terapéutico².

Existen diferentes formas de administrar un medicamento sobre un paciente (vía oral, transcutánea, percutánea, etc). Independientemente de la forma en que esta se administre, una vez que el medicamento es tomado este comienza a interactuar con el organismo. La interacción más importante es la absorción de la misma en el plasma sanguíneo: cuanto más rápido ocurra la absorción, más rápido va a provocar efectos sobre el organismo. La actividad del medicamento depende de la biodisponibilidad del IFA, la cual se define como la cantidad disponible del IFA en el torrente sanguíneo³.

Un medicamento administrado con una dosificación menor a la correcta tienen una eficiencia menor a la del mismo medicamento administrado con la dosis correcta. Una dosificación mayor puede tener efectos nocivos para la salud por efectos secundarios tóxicos del medicamento³.

La mayor parte de los IFAs (alrededor del 90 %) son pequeñas moléculas orgánicas, entendiendo como tal a las moléculas orgánicas con un peso molecular menor a 600g.mol^{-1} ⁴. Una de las razones para que esto sea así es que cuanto más grandes son las moléculas mayores problemas va a tener para atravesar las membranas biológicas⁵. A su vez la mayoría de los IFAs se encuentran en estado sólido en condiciones ambiente ya que suelen tener mayor estabilidad fisicoquímica⁶, por lo que es importante estudiar las propiedades fisicoquímicas del estado sólido.

1.2. Descubrimiento y optimización de medicamentos

A principios del siglo XX la expectativa de vida rondaba los 30-40 años. En el año 2015 esa expectativa de vida creció hasta los 69 años. En Argentina la expectativa de vida llega a los 76 años⁷. Estudios econométricos realizados por Frank R. Lichtenberg indican que el desarrollo de nuevas entidades moleculares (NEM) ha tenido un fuerte impacto en las posibilidades de supervivencia de la población. En ese mismo trabajo se estima que dentro de los países pertenecientes a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) el costo por año de vida ganado gracias al desarrollo de nuevos medicamentos es de 4500 USD por año por persona.

Es por esta razón que la industria farmacéutica se basa en la investigación y desarrollo (I+D). Típicamente lleva entre 8 y 12 años para una NEM que muestra actividad biológica progresar desde ser sintetizada por primera vez a ser introducida en el mercado como un medicamento eficaz. Este proceso se puede dividir en tres partes: (i) descubrimiento y optimización (ii) desarrollo y (iii) mercado^{8,9}.

En la primer parte del proceso se identifica un blanco molecular, el lugar en el organismo humano donde se identifica que un fármaco debe actuar para combatir una determinada enfermedad. Una vez identificado y validado se sintetizan, o se escogen de librerías, moléculas candidatas. Las primeras pruebas consisten en evaluar la capacidad de alterar o inhibir la actividad del blanco molecular. A las moléculas que superan exitosamente esta etapa se las conoce como *hits*^{8,9}. Una vez identificados estos *hits*, viene la etapa de la optimización donde se busca mejorar sus propiedades fisicoquímicas, en particular la solubilidad. Para optimizar su actividad biológica se hacen mediciones de permeabilidad y de relación dosis-respuesta. Relaciones cuantitativas de propiedades de la estructura (QSPR) que provienen de métodos computacionales rápidos son utilizados para seleccionar moléculas candidatas de una base de datos. Las moléculas seleccionadas son elegidas y un screening *in vitro* da una primera estimación de la solubilidad y la permeabilidad del compuesto¹⁰. En esta instancia por primera vez entran en juego las propiedades fisicoquímicas del compuesto que eventualmente deberán ser estudiadas. La mayoría de las moléculas que pasan estas instancias no van a llegar al mercado, se estima que tan solo 1 de cada 9000 NEM sintetizadas llegan al mercado, frecuentemente debido a la toxicidad o a sus pobres propiedades farmacocinéticas⁹.

Al finalizar los ensayos de esta primera etapa debe tomarse una decisión sobre la forma en que será administrada la molécula, ya sea en su forma neutra, como sal o como cocrystal⁸. Cuando la etapa de investigación y optimización produce un buen resultado, se puede presentar el pedido de patente sobre la molécula a investigar y el pedido para realizar los ensayos clínicos ante la autoridad regulatoria de cada país, en el caso de Argentina ante la ANMAT¹. En la etapa de desarrollo se realizan los correspondientes ensayos clínicos y finalmente en la etapa de mercado se coloca el medicamento a la venta. En la figura 1.1 se muestra un esquema del proceso de descubrimiento y desarrollo de un medicamento.

1.3. Solubilidad de los IFAs

La solubilidad de un IFA puede ser hidrofílica (soluble en agua) o lipofílica (soluble en lípidos). A pesar de que la mayor parte del cuerpo humano está compuesto de agua, las membranas biológicas están compuestas de lípidos. La mayoría de los IFAs contienen cierto grado de solubilidad en agua y en lípidos, sin embargo existen casos de IFAs con solubilidad extrema, es decir, solo solubles en agua o solo soluble

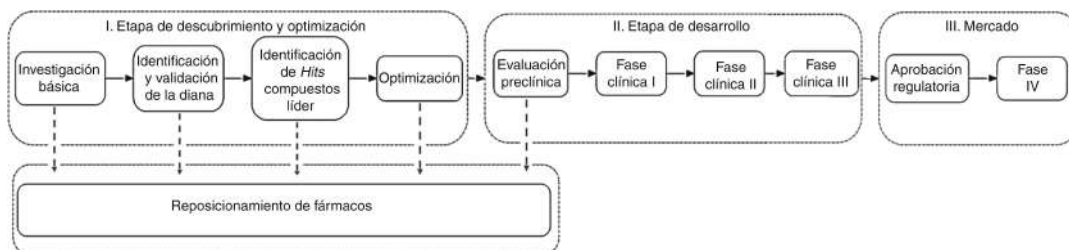


FIGURA 1.1: Etapas en el descubrimiento y desarrollo de un medicamento⁹.

en medio graso. Como ejemplos del primer caso se pueden citar los medicamentos antibióticos y las drogas anti-hipertensivas, mientras que algunas IFAs insolubles en agua son los antipsicóticos y los opiáceos. Estos últimos IFAs necesitan cruzar la barrera hematoencefálica que esta compuesta por lípidos.¹¹ En la literatura muchas veces se utiliza el término solubilidad para la solubilidad hidrofílica mientras que para la solubilidad en la membrana intestinal se utiliza el término permeabilidad.

La solubilidad de un IFA esta dada por el tipo de interacción que genera con el solvente correspondiente. Típicamente, moléculas polares se disuelven en solventes polares (por ejemplo, el agua) y moléculas no polares se disuelven en solventes no polares como los aceites vegetales¹¹. El momento dipolar de una molécula esta dado por la suma vectorial de los momentos dipolares de enlace de todos sus enlaces individuales. El momento dipolar de enlace μ se define como en la ecuación 1.1 donde δ es la cantidad de carga en cada extremo del dipolo que forma el enlace y d es la distancia de enlace.

$$\mu = \delta \cdot d \quad (1.1)$$

Usualmente el momento dipolar se mide en Debyes, que se define como $D = 3.34 \times 10^{-30} \text{ C.m}$. Cuando el momento dipolar de una molécula es 0, se dice que dicha molécula es no polar¹².

La solubilidad de un compuesto (solute) en un determinado solvente es la cantidad máxima de compuesto que se puede disolver en el solvente formando una única fase homogénea. La solubilidad se expresa en unidades de concentración como molaridad, molalidad, ppm, etc. Dadas la temperatura y la presión de un sistema, existe una concentración máxima de soluto que puede disolverse en un solvente sin que precipiten partes del soluto. Cuando se tiene esta concentración máxima se dice que la solución se encuentra *saturada* y al valor de esa concentración se lo denomina *solubilidad de equilibrio*. Esta solubilidad de equilibrio tiene importancia práctica en los medicamentos porque cuanto mayor sea la solubilidad de equilibrio mayor será la velocidad de absorción. En ciertas circunstancias se pueden preparar soluciones de concentraciones mayores a la solubilidad de equilibrio, las cuales se conocen como *soluciones sobresaturadas*¹³.

Usualmente se utilizan términos como poco soluble o insoluble sin demasiada precisión. En la Farmacopea Argentina se les asigna a estos términos un rango de solubilidades (medidas a temperatura entre 15 y 30 °C y presión atmosférica) entre los cuales se acepta el uso de dicha terminología. En la tabla 1.1 se muestra la terminología que acepta la Farmacopea Argentina para las distintas solubilidades¹⁴.

Se han invertido grandes esfuerzos en poder correlacionar la velocidad de disolución de un medicamento *in vitro* con la biodisponibilidad del mismo *in vivo*^{15,16}. Se ha determinado que los parámetros que controlan la velocidad y la cantidad de

Termino Descriptivo	Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia
Muy Soluble	Inferior a 1
Facilmente Soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente Soluble	De 30 a 100
Poco Soluble	De 100 a 1000
Muy Poco Soluble	De 1000 a 10000
Practicamente Insoluble	Más de 10000

TABLA 1.1: Terminología aceptada por la farmacopea argentina para distintos valores de solubilidad.

absorción de un dado IFA administrado por vía oral son la solubilidad y la permeabilidad del mismo. Es por esto que se ha propuesto un sistema de clasificación biofarmacéutica (BCS) en base a estos parámetros, el cual se encuentra resumido en la tabla 1.2¹⁷.

La ecuación 1.2 llamada ecuación de Noyes-Withney determina la velocidad de disolución de un IFA tanto *in vivo* como *in vitro*. En la misma $\frac{dw}{dt}$ es la velocidad de incremento del IFA en solución, D es el coeficiente de difusión del IFA, A es el área del mismo expuesta al solvente, δ es el ancho de la capa difusiva, C_s es la solubilidad del IFA en la capa difusiva mientras que C es la solubilidad en el *bulk* de la solución. De esta expresión se observa la dependencia de la disolución del IFA con la solubilidad del compuesto entre otros factores¹⁸.

$$\frac{dw}{dt} = \frac{D \cdot A}{\delta} \cdot (C_s - C) \quad (1.2)$$

La baja solubilidad de los IFAs es uno de los mayores problemas de la industria farmacéutica, se ha estimado que el 40 % de los medicamentos que han llegado al mercado son prácticamente insolubles, mientras que el 70 % de los *hits* también lo son¹⁹.

Clase	Solubilidad	Permeabilidad
I	Alta	Alta
II	Baja	Alta
III	Alta	Baja
IV	Baja	Baja

TABLA 1.2: Sistema de clasificación biofarmacéutica. En este sistema, solubilidad alta implica que el compuesto se disuelve totalmente en 200 ml de agua, siendo distinta la terminología a la utilizada en la Farmacopea Argentina.

Los IFAs correspondientes a la clase II y clase IV de la clasificación BCS tienen baja biodisponibilidad, y a lo largo del tiempo la industria ha desarrollado varias estrategias para mejorar la solubilidad de estos fármacos¹¹.

Para los IFAs de clase II la absorción del medicamento está limitada por la baja solubilidad y la permeabilidad no es un limitante para la acción del fármaco. A partir de esto se puede prever que la diferencia de solubilidad de las distintas formas físicas del IFA (polimorfos, formas amorfas, líquidas, etc.) pueden afectar a la biodisponibilidad de dicho IFA. En cambio, IFAs clase I y clase III tienen bajo riesgo de que cambie la biodisponibilidad debido a un cambio de forma polimórfica.²⁰

1.4. Termodinámica de soluciones

Para un dado sistema, la energía interna esta dada por la expresión 1.3, donde U es la energía interna, T es la temperatura, S es la entropía y $W_{reversible}$ es el trabajo reversible realizado por el sistema.

$$U = TS - W_{reversible} \quad (1.3)$$

En un sistema puramente mecánico $W_{reversible} = PV$ con P la presión del sistema y V su volumen, en este caso la expresión diferencial de la energía interna expresa que esta es función de la entropía, del número de partículas y del volumen como muestra la expresión 1.4. En dicha expresión μ es el potencial químico del sistema mientras que N es el número de partículas.

$$dU = TdS - PdV + \mu dN \quad (1.4)$$

A partir de la expresión de la energía interna se puede definir la energía libre de Gibbs (G) como en la ecuación 1.5 y la Entalpía (H) como en la ecuación 1.6.

$$G = U - TS + PV \quad (1.5)$$

$$H = U + PV = G + TS \quad (1.6)$$

En el caso de un sistema puramente mecánico la ecuación 1.5 queda reducida a la expresión 1.7²¹.

$$G = \mu \cdot N \quad (1.7)$$

Por otra parte, se define la fugacidad f de un dado compuesto en una dada fase como en la ecuación 1.8.

$$d\mu = RTd(\log(f)) \quad (1.8)$$

Una solución ideal es aquella que cumple la ley de Raoult. Esta ley dice que la fugacidad de vapor de un líquido A (f_A^*) utilizado como solvente y la fugacidad de vapor de una solución que forme el líquido A (f_A) son proporcionales entre sí con constante de proporcionalidad igual a la fracción molar de A , χ_A . Si bien la mayoría de los solventes cumple la ley de Raoult esto no es necesariamente cierto para los solutos. Una expresión más general se obtiene definiendo la actividad del compuesto A , a_A como $a_A = \frac{f_A}{f_A^*}$. Usando esta definición se puede obtener el potencial químico del compuesto. La ecuación 1.9 da la expresión para el potencial químico de un compuesto A en solución con respecto a su potencial químico libre. En la misma, μ_a es el potencial químico de la solución, μ_a^* es el potencial químico del solvente puro A , R es la constante de los gases y T la temperatura. En el caso de que el solvente sea ideal, se cumple que $a_A = \chi_A$, donde χ_A es la fracción molar del compuesto, la cual cumple la ley de Raoult $\chi_A = \frac{P_A}{P_A^*}$ ²²

$$\mu_A = \mu_A^* + RT \ln(a_A) \quad (1.9)$$

Es sencillo probar que la mezcla de dos compuestos A y B que forman una solución tienen una energía libre de Gibbs dada por la expresión 1.10 que resulta de la

combinación de las ecuaciones 1.7 y 1.9. En solución la actividad de cada compuesto se denota con el superíndice "mezcla" mientras que en el caso de los compuestos separados se utiliza el superíndice "libre".

$$G_{\text{Solucion}} = (\mu_A^* + RT \ln(a_A^{\text{mezcla}})) \cdot n_A + (\mu_B^* + RT \ln(a_B^{\text{mezcla}})) \cdot n_B \quad (1.10)$$

Como cada líquido por separado va a tener una expresión para su energía libre de Gibbs de la misma forma que la expresión 1.7, la diferencia de energía de Gibbs entre un sistema donde A y B sean dos líquidos separados (inmiscibles) y el sistema en solución esta dado por la expresión 1.11. Dicha expresión tiene la propiedad de ser siempre negativa para una solución ideal, por lo que bajo las condiciones de solución ideal, el sistema va a preferir permanecer en solución en lugar de estar separado, independientemente de las concentraciones de A y B.

$$\Delta G_{\text{Solucion}} = nRT \left(a_A \ln\left(\frac{a_A^{\text{mezcla}}}{a_A^{\text{libre}}}\right) + a_B \ln\left(\frac{a_B^{\text{mezcla}}}{a_B^{\text{libre}}}\right) \right) \quad (1.11)$$

Combinando las ecuaciones 1.4 y 1.5 se puede obtener que la derivada parcial de la energía libre de Gibbs con respecto a la temperatura es igual a la entropía del sistema. A partir de esto y utilizando la ecuación 1.6, se puede observar para el caso ideal que la diferencia de entalpía entre la solución y los líquidos separados es nula. Esto implica que en la mezcla de los líquidos el sistema no intercambia trabajo con el ambiente. Como la derivada con respecto a la presión de la ecuación 1.11 es nula, también puede concluirse que no hay cambio de volumen en la mezcla cuando la solución es ideal.

En las soluciones reales esto no tiene porque ser cierto, e incluso se puede tener líquidos inmiscibles donde la solución no se forme espontáneamente. Una forma de cuantificar esto es a través de las funciones de exceso, que se definen como la diferencia entre una dada cantidad termodinámica observada en la solución real con el correspondiente valor en la solución ideal. En el caso de la diferencia de volumen entre los líquidos separados y el volumen en solución se puede medir directamente por cuanto el valor en solución ideal es 0²².

Utilizando las ecuaciones 1.4 y 1.5 se puede llegar a la relación $\left. \frac{\partial G}{\partial T} \right|_P = -S$. Por otra parte, utilizando las ecuaciones 1.5 y 1.6 se puede despejar $S = \frac{H-G}{T}$. En base a estas dos expresiones se puede obtener la ecuación de Gibbs-Helmholtz que establece la expresión 1.12.

$$\frac{\partial \left(\frac{G}{T} \right)}{\partial T} = -\frac{H}{T^2} \quad (1.12)$$

En el caso de que el soluto sea un sólido es posible obtener la solubilidad de equilibrio a partir de la expresión 1.11. Suponiendo que se tiene un soluto B disuelto en un líquido A, y esta solución es una solución saturada, el potencial químico del soluto en estado sólido $\mu_B^*(s)$ debe ser igual al potencial químico del soluto en solución $\mu_B^*(l)$ que se puede expresar de acuerdo a la ecuación 1.9. Haciendo un pequeño despeje algebraico se puede obtener una expresión para la solubilidad de equilibrio a_B^{eq} , como en la ecuación 1.13, donde ΔG_f es la diferencia de energía libre de Gibbs entre el estado sólido y el estado en solución²². Esta diferencia de energía libre depende de la temperatura y es posible utilizar la ecuación de Gibbs-Helmholtz 1.12 para transformar la ecuación 1.13 en una ecuación donde es evidente la dependencia con la temperatura.

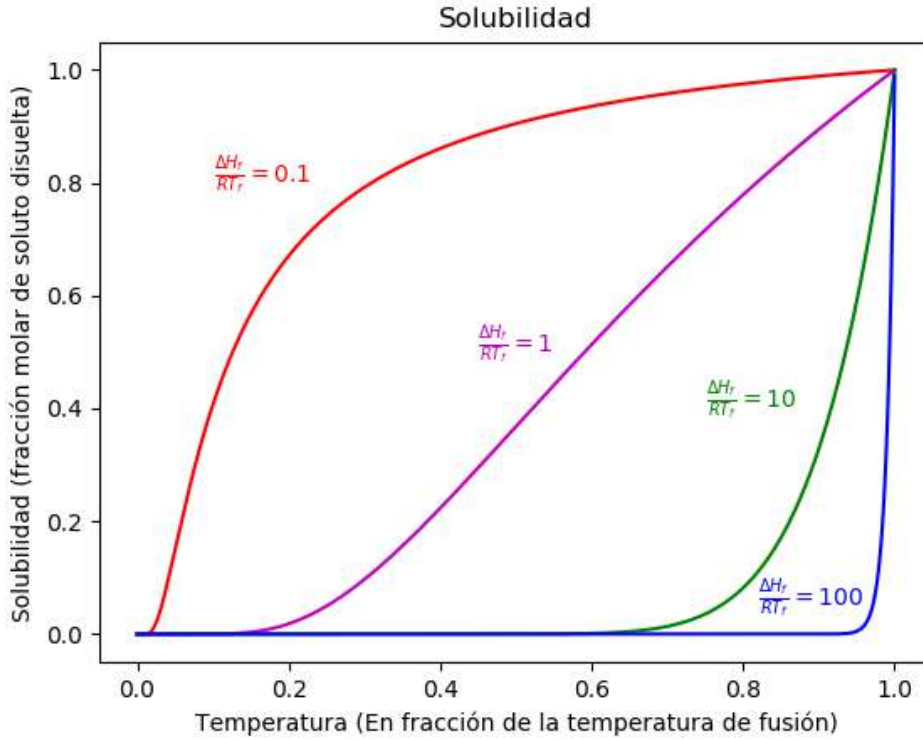


FIGURA 1.2: Gráfico de solubilidad genérico para distintos valores de $\frac{\Delta H_f}{RT_f}$

$$\ln(a_B^{eq}) = \frac{\mu_B^*(s) - \mu_B^*(l)}{RT} = -\frac{\Delta G_f}{RT} \quad (1.13)$$

Diferenciando la expresión 1.13, aplicando la ecuación de Gibbs-Helmholtz y luego integrando entre una temperatura arbitraria y la temperatura de fusión del soluto se obtiene la expresión 1.14. ΔH_f es la variación de entalpía entre las partículas de soluto en estado sólido o en solución, la cual se supone independiente de la temperatura, a diferencia de la variación de energía libre de Gibbs. T_f es la temperatura de fusión del soluto. Cuando el mismo llega a esta temperatura, el soluto pasa al estado líquido. Como estamos asumiendo una solución ideal, en el estado líquido la solubilidad cumple $\chi_B = 1$ ²². Es esperable, que para un dado compuesto con diferentes polimorfos, el de menor temperatura de fusión sea el más soluble²³. En la figura 1.2 se muestra el gráfico de la solubilidad para distintos valores de $\frac{\Delta H_f}{RT_f}$.

$$\ln(a_B^{eq}) = -\Delta H_f \left(\frac{1}{RT} - \frac{1}{RT_f} \right) \quad (1.14)$$

Es claro de observar la expresión 1.13 que al ser ΔG_f positivo para cualquier compuesto sólido (siempre cuesta energía fundir un material), la solubilidad de un compuesto en estado líquido será superior a la del mismo compuesto en estado sólido, por lo tanto, si la solubilidad fuera la única propiedad física que importara de un IFA siempre se elegiría administrarla en estado líquido. Pero esto no es así, hay otro factor importante a tener en cuenta que es la estabilidad del IFA.

1.5. Estabilidad de un IFA

Una impureza en un medicamento es cualquier sustancia que no sea el IFA ni algún excipiente en el medicamento²⁴. Es importante para cualquier medicamento determinar el intervalo de tiempo en el que preserva sus propiedades. Normalmente se considera que la vida útil del medicamento es el tiempo en el cual la concentración del IFA es 95 % de la que tenía al momento de ser elaborado¹³. Si los medicamentos no son estables, su inestabilidad puede generar que el medicamento se degrade y se generen impurezas¹¹. Es por esto que las condiciones de almacenamiento de los medicamentos son importantes, muchos factores ambientales pueden afectar a la estabilidad del mismo. Todo medicamento que sale al mercado posee una fecha de vencimiento antes de la cual el medicamento no debe presentar ninguna de las siguientes características:

- Cambios en su apariencia física ni en su solubilidad (estabilidad física)
- Pérdida de eficacia dentro de los límites establecidos (estabilidad química)
- Crecimiento de bacterias o pérdida de esterilidad (estabilidad microbiana)
- Cambios en sus efectos terapéuticos (estabilidad terapéutica)
- Toxicidad (estabilidad toxicológica)
- Genotoxicidad (estabilidad genotóxica)

La inestabilidad de tipo física es mas frecuente en las formulaciones líquidas que en las formulaciones sólidas, aunque tambien hay casos reportados en formas sólidas, siendo uno de los más conocidos el de la aspirina, cuyas tabletas se tornan de color rosa despues de un tiempo de almacenamiento²⁵.

Las inestabilidades de tipo químico pueden producir inestabilidades físicas, falta de eficacia y/o formación de degradantes tóxicos. Las reacciones químicas más usuales involucradas en los procesos de degradación de un medicamento son la hidrólisis, la oxidación, la fotólisis, la racemización y la decarboxilación. Estas reacciones y la velocidad de degradación son afectadas por las condiciones ambientales, como la temperatura, la humedad, el PH de soluciones, la luz, presencia de metales, etc²⁵.

Dependiendo de la forma en que se suministre un dado IFA, ya sean distintas formas sólidas, mesofases o líquidos, este IFA puede sufrir degradación física (la conversión de una forma a otra del mismo IFA) y esta degradación puede provocar cambios en la estabilidad química de la droga. Estos cambios pueden tener efectos en la toxicidad y biodisponibilidad del medicamento por lo que la elección de la forma física del IFA es importante para mantener la eficacia, la calidad y la seguridad del medicamento²⁴. En general los medicamentos se proveen en estado sólido, incluso cuando la formulación final sea líquida, por la mayor estabilidad que suele presentar el estado sólido.

1.6. Formulaciones farmacéuticas

Una de las razones por las que puede preferirse un formulación líquida es por la necesidad de administrar un medicamento por via parenteral. La administración parenteral de un medicamento se refiere a la administración del mismo directamente al torrente sanguíneo, sin pasar por el intestino, puede ser por vía intramuscular,

intravenosa, etc. Esta vía de administración ofrece ventajas, ya que al no tener que pasar la primer barrera del intestino la acción del medicamento es más rápida. Como desventaja, esta forma de administración no puede ser aplicada por el propio paciente y debe ser administrada por un profesional. Además, si bien la formulación es relativamente sencilla, no es sencillo mantenerlo estéril y libre de partículas. El medicamento debe ser estable en solución, al menos el suficiente tiempo como para que la misma sea administrada al paciente y actúe en el organismo. El proceso típico con el cual se producen las formulaciones parentales es el proceso de liofilización que consiste en congelar una solución en vacío y secarlo por sublimación de acuerdo a los siguientes pasos:

- El IFA y los excipientes se mezclan en un recipiente para formar una solución
- Se esteriliza la solución
- Se llenan contenedores individuales esterilizados (vial), se colocan en el equipo correspondiente (freeze-dryer) y se lo congela bajando la temperatura
- Se genera un alto vacío, de forma tal que el solvente congelado se sublima. Una vez secó el vial es retirado.

En general el liofilizado produce el compuesto en forma amorfa, aunque existen casos reportados donde el resultado final es cristalino. Aun en estos casos el compuesto se mantiene en forma sólida hasta el momento de su administración, por la mayor estabilidad de dicha forma con respecto al estado líquido. Por ejemplo, en este trabajo se estudiará Clorhidrato de Bendamustina, un compuesto que se administra por vía parenteral y que es almacenado en forma sólida por su mayor estabilidad química.

1.7. Formas físicas de un IFA

En caso de optar por un IFA en estado sólido, en la etapa de optimización del desarrollo hay que decidir entre desarrollar el IFA libre, una sal o un cocrystal del mismo. Usualmente la formación de una sal es posible si el IFA contiene un grupo ácido o básico. Una sal se elige en lugar del IFA libre si este presenta alguna desventaja como baja solubilidad, incapacidad de cristalizar, alta higroscopicidad, baja estabilidad química, etc. Potenciales contraiones se eligen en base a diferencia de pK_a , la toxicidad del contraión, etc. En esta instancia también se debe decidir si se considera la posibilidad de desarrollar un cocrystal. Los cocrystal son una valiosa alternativa, especialmente para ácidos y bases débiles⁸.

El siguiente paso en el desarrollo del medicamento es la identificación de todos los polimorfos y solvatos relevantes, caracterizarlos y elegir la forma adecuada para el desarrollo subsiguiente⁸. Un dado IFA puede utilizarse en distintas formas cristalinas (estados sólidos ordenados), las cuales se conocen como polimorfos. El polimorfismo es la capacidad de un elemento o compuesto de cristalizar en más de una forma cristalina. Además, la gran mayoría de los IFAs pueden estar en un estado sólido desordenado conocido como amorfo. También pueden cristalizar como solvatos, cristales donde además del IFA se encuentran moléculas de solvente en forma estequiométrica o no-estequiométrica⁸. Si el IFA cristaliza con otra molécula que a temperatura ambiente y aislada es sólida, y ambas moléculas cristalizan eléctricamente neutras, entonces a la forma física se la conoce como cocrystal²⁶. El término cocrystal ha sido objeto de gran debate, y en ocasiones se ha argumentado que los

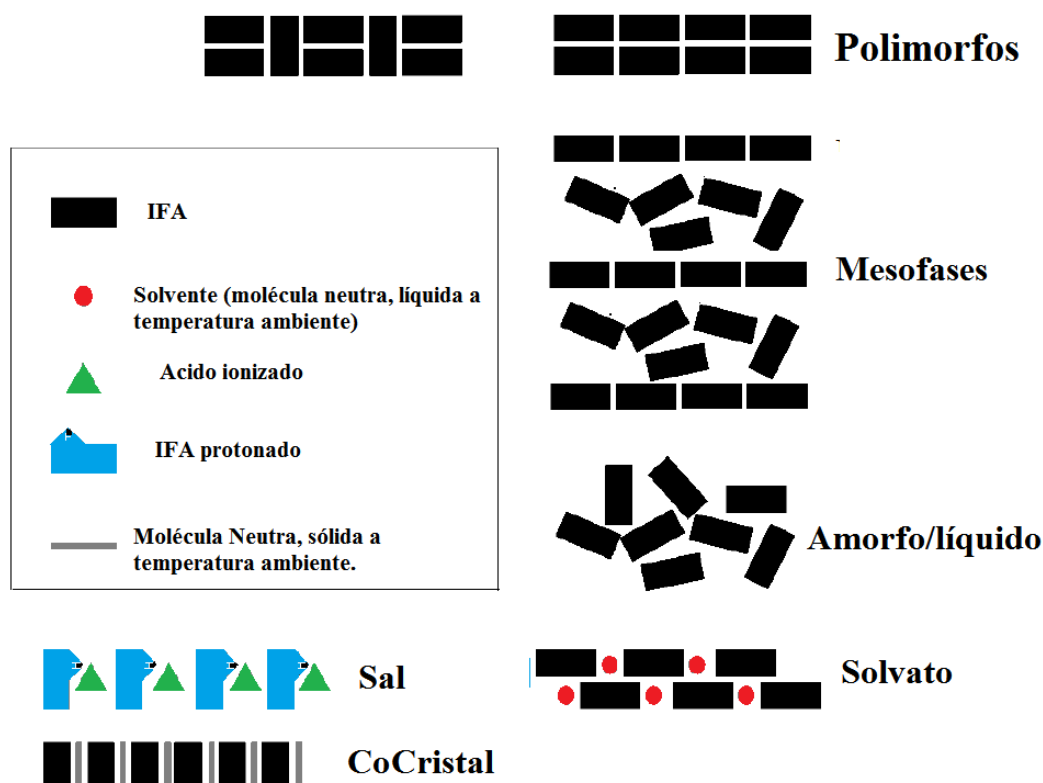


FIGURA 1.3: Esquema de las distintas formas físicas en que se puede encontrar un IFA. Adaptado de *Polymorphism in the pharmaceutical industry*.⁸

solvatos deben ser incluidos como un tipo de cocrystal²⁷. Si las moléculas que componen el cristal tienen carga eléctrica neta lo que se obtiene es una sal. En la figura 1.3 se muestra un esquema de las distintas formas físicas en las que se puede encontrar un IFA.

Es en general aceptado que durante el desarrollo de un IFA debe encontrarse el polimorfo de menor energía libre para su desarrollo. La falla en lograr encontrar el polimorfo de menor energía libre puede ser catastrófico, como pasó con el IFA Ritonavir, utilizado en el tratamiento del HIV y distribuido por la firma Abbot. En ciertas circunstancias puede considerarse utilizar otra forma cristalina o incluso una forma amorfa en pos de conseguir algún beneficio médico, por ejemplo, mejorar la biodisponibilidad. En cualquier caso, el desarrollo de una forma metaestable implica que debe garantizarse que el compuesto no va a sufrir una transformación durante el tiempo de almacenamiento²⁸.

Un caso interesante es el de Maleato de Enalapril, compuesto para el cual se conocen dos polimorfos, la forma I y la forma II. La forma II es la más estable, pero al desarrollar tabletas con bicarbonato de sodio genera una cantidad inaceptable de dicetopiperazina, una impureza producto de la degradación. Por tanto, para desarrollar estas tabletas hay que utilizar la forma I²⁰.

1.8. Polimorfismo y solubilidad

Ritonavir se proveía en solución en mezcla de agua y etanol, por lo que no se habían realizado controles sobre las formas sólidas del compuesto. A mediados de

1998 varias capsulas del compuesto fallaron en los controles de disolución. Al examinar las cápsulas por difracción de Rayos X se encontró una nueva forma cristalina (Forma II) la cual era mucho más insoluble que la forma I y sorprendentemente muy estable. Además, con la aparición de este nuevo polimorfo, el depósito del producto que usualmente se hacía entre 2°C y 8°C ya no era seguro por los riesgos que presentaba la recrystalización de la forma II²⁹. Se descubrió que la recrystalización de la forma II se producía por la presencia de impurezas, a partir de lo cual se realizó una reformulación del medicamento de manera tal que la forma II se disolviera por completo, sin necesidad de especificar ninguna forma cristalina en particular³⁰.

Cuando un sistema esta constituido por una sustancia homogénea se dice que consta de una sola fase. En un sistema heterogéneo, cada una de las partes que aisladamente sean homogéneas constituyen una fase, de forma tal que el sistema tiene tantas fases como partes homogéneas. Todas las propiedades específicas de una fase dependen de la temperatura, la presión y las concentraciones relativas de todos los componentes de la fase²¹. Gibbs dedujo su conocida regla de las fases expresada en la ecuación 1.15, la misma relaciona la cantidad de grados de libertad del sistema (L) con el número de componentes (C) y el número de fases (F)³¹. Si el número de grados de libertad de un dado sistema es 0, entonces existe una solubilidad de equilibrio bien definida que el sistema puede alcanzar³². Esta solubilidad de equilibrio es función de la temperatura, y los gráficos de solubilidad de equilibrio en función de la temperatura han sido frecuentemente utilizados para caracterizar IFAs sólidos. Usualmente la dependencia de la solubilidad con la temperatura se describe a través de la ecuación de Valentiner 1.16 donde a, b y c son parámetros de la solución a determinar. Dicha ecuación permite correlacionar la solubilidad en un amplio rango de temperatura siempre y cuando la fase cristalina sea estable³².

$$L = C + 2 - F \quad (1.15)$$

$$\ln \chi = \frac{-a}{RT} + \frac{b}{R} \ln T + c \quad (1.16)$$

1.9. Cristalización

Como se explicó anteriormente, una solución posee para una dada presión y temperatura una única concentración máxima de soluto en solvente, en equilibrio termodinámico, llamada solubilidad. Es posible obtener una solución con mayor concentración de soluto (sobresaturada), pero esta va a ser intrínsecamente inestable. Sin embargo, si el exceso de soluto es lo suficientemente bajo, es posible tener una solución en situación metaestable. Cuando la concentración supera la concentración de sobresaturación, el soluto inevitablemente precipitará. De acuerdo a la ley de Ostwald, deberá hacerlo al estado energeticamente más cercano.

En la figura 1.4 se muestra un esquema de la concentración de la solución en función de la temperatura. Si una solución se encuentra en el punto A del gráfico, la solución se encuentra no saturada. A partir de allí, si se disminuye la temperatura de la solución se llegará al punto B. En dicho punto la solución se encuentra sobresaturada, en una situación metaestable. Alguna perturbación de la solución desde esta situación puede provocar que precipite una partícula de soluto y de lugar al comienzo del proceso de nucleación.

El proceso de nucleación consiste en la formación de núcleos, que pueden contener algunas decenas o hasta algunos miles de moléculas del compuesto que va a cristalizar. La cristalización es un proceso complejo donde varios de estos núcleos

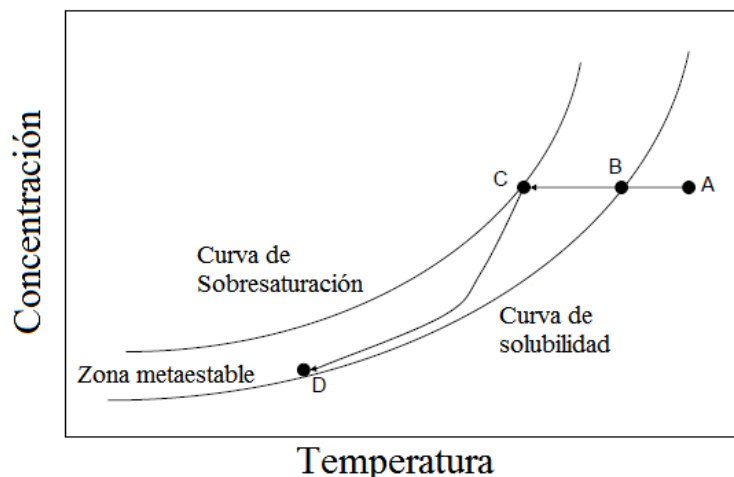


FIGURA 1.4: Concentración de la solución en función de la temperatura

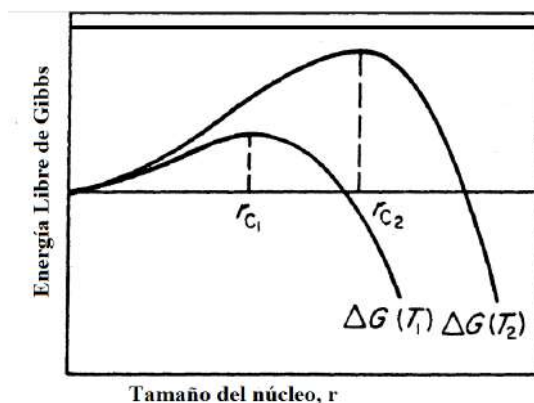


FIGURA 1.5: Gráfico de solubilidad en función del tamaño de partícula. Existe un tamaño crítico donde la solubilidad es máxima. Dicho tamaño es dependiente de la temperatura

pueden ser redisueltos. El tamaño de partícula afecta a la solubilidad de un compuesto, la cual aumenta con el tamaño de partícula hasta un cierto tamaño crítico para luego disminuir y estabilizar en el valor de solubilidad de la muestra de tamaños de grano grande, como se muestra en la figura 1.5. De esta manera, antes de llegar al tamaño crítico el núcleo puede redisolverse. Simultáneamente otros núcleos pueden estar formándose. Eventualmente uno de estos núcleos puede llegar al tamaño crítico y a partir de allí comienza el crecimiento del cristal.³³

El modelo clásico de la nucleación se debe a Gibbs³⁴, Becker y Doring³⁵ y Volmer³⁶. El mismo está basado en la condensación del vapor donde una gota se condensa y a partir de dicha situación se calcula la energía libre de Gibbs de dicha gota. El tratamiento es similar para la formación de un núcleo en solución o desde la fase líquida del mismo compuesto. Esencialmente la teoría considera que la energía libre del núcleo está dada por un término de superficie y un término volumétrico que se puede escribir como en la ecuación 1.17 donde r es el radio medio del núcleo, k es la constante de Boltzmann, T la temperatura, γ es la diferencia de energía libre entre la superficie del núcleo y el medio, σ es el cociente de supersaturación definido como el cociente de la concentración de soluto en la solución supersaturada con respecto a la concentración en la solución saturada (solubilidad) y v es el volumen ocupado

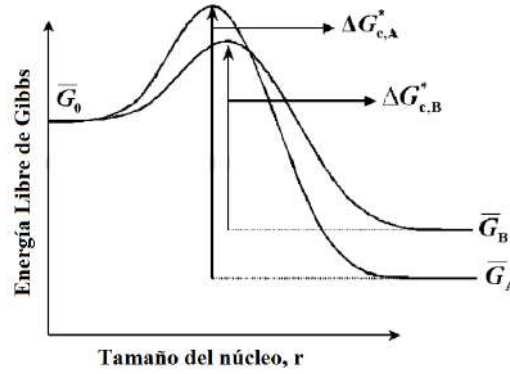


FIGURA 1.6: Gráfico de energía libre de Gibbs en función del tamaño crítico para dos polimorfos A y B de un mismo compuesto. La barrera de energía a superar para que el polimorfo cristalice es menor para el polimorfo B y por lo tanto la cinética de la cristalización favorece su crecimiento.

por una molécula.

$$\Delta G_{Nucleo} = \Delta G_{Superficie} + \Delta G_{Volmen} = 4\pi r^2 \gamma + \frac{-4\pi r^3 kT \log \sigma}{3v} \quad (1.17)$$

Derivando la expresión 1.17 e igualando a 0 se puede obtener la expresión del radio crítico $r_c = \frac{2v\gamma}{kT \log \sigma}$. Esto demuestra que el radio crítico disminuye con la temperatura. El radio crítico es el tamaño de núcleo en donde la contribución del término de superficie es igual al término volumétrico. La supersaturación permite superar la barrera que imprime el término de superficie hasta llegar al tamaño crítico. A partir de allí, superada la energía de activación, se obtiene un núcleo estable que eventualmente crecerá y formará un cristal. El crecimiento del cristal es anisotrópico, sucediendo a distintas velocidades en cada una de las caras de los cristales. Esto se debe a las distintas interacciones que cohesionan al cristal en cada una de estas caras.

En el caso de que existan polimorfos distintos, estos competirán por formar núcleos. En un sistema de dos polimorfos, donde el polimorfo A es el más estable y B el menos estable, el polimorfo A tendrá menor solubilidad y por lo tanto logrará supersaturar la solución con menor concentración. Hasta tanto ese núcleo no alcance a superar la barrera de energía $\Delta G_{c,A}$ obtenida al evaluar la ecuación 1.17 en el tamaño crítico $r_{c,A}$, correspondiente al polimorfo A, no se formarán núcleos estables del polimorfo A.

En la medida que el polimorfo B también se encuentre supersaturado, también se podrán formar núcleos del polimorfo B. Si bien termodinámicamente el sistema prefiere cristalizar en el polimorfo A, es posible que la barrera de energía $\Delta G_{c,B}$ correspondiente al polimorfo B sea menor que la barrera de energía $\Delta G_{c,A}$ correspondiente al polimorfo A y por lo tanto la cinética del sistema prefiera cristalizar en el polimorfo B³⁷. Un esquema de esta situación se muestra en la figura 1.6. Si el polimorfo B supera su barrera de energía antes de que lo haga el polimorfo A, entonces este cristalizará mientras que los núcleos del polimorfo A tenderán a redisolverse. Determinar si esto pasará es complejo, puesto que el polimorfo que crecerá está determinado por una combinación de las velocidades relativas de nucleación y de las velocidades relativas de crecimiento de ambos polimorfos³⁸.

1.10. Termodinámica de polimorfos

La regla de las fases 1.15 tiene múltiples consecuencias para sistemas polimórficos. Si no se consideran solvatos, cocristales o reacciones químicas podemos considerar que un sistema polimorfo contiene un solo componente. En ese caso el sistema puede tener dos grados de libertad (presión y temperatura típicamente) si existe como una única fase. En cambio si el sistema presenta dos fases en equilibrio (las cuales pueden ser dos formas polimórficas distintas (S1-S2), una forma sólida con su forma líquida (S-L), etc.) el hecho de tener un solo grado de libertad implica que en el equilibrio entre dos fases, dada la temperatura, la presión queda automáticamente fijada. La curva $P(T)$ donde ambas fases coexisten en una única fase homogénea es llamada curva de coexistencia²¹. Para el equilibrio entre líquido y vapor o el equilibrio entre el estado sólido y vapor se puede utilizar la ecuación de Clausius-Clapeyron 1.18 para determinar la curva de coexistencia entre ambas fases. ΔH en la ecuación 1.18 es la Entalpía necesaria para transformar el compuesto de una fase a la otra y ΔV es la variación de volumen correspondiente a dicha transición. Como la transición líquido-vapor es endotérmica y generalmente implica una expansión del volumen, la curva de coexistencia crece en presión cuando se incrementa el volumen, hasta que se llega al punto crítico.³⁹

$$\frac{dP}{dT} = \frac{\Delta H}{T\Delta V} \quad (1.18)$$

Un análisis similar puede realizarse para sistemas sólido-vapor, donde la curva de coexistencia corresponde a la curva de sublimación. En general la presión de sublimación de un sólido es muy pequeña, aunque existen excepciones, una de las más conocidas el "hielo seco" (Dióxido de carbono)⁴⁰. En el caso de la coexistencia sólido-líquido suele utilizarse la ecuación de Clausius-Clapeyron inversa 1.19.

$$\frac{dT}{dP} = \frac{T\Delta V}{\Delta H} \quad (1.19)$$

Cuando se tiene un sistema de un componente la regla de las fases 1.15 establece que el sistema no posee grados de libertad. En efecto, para un sistema de tres fases (por ejemplo, sólido, líquido y vapor), el punto de coexistencia es único y se lo conoce como punto triple. Se puede deducir que el punto triple debe surgir como la intersección de la curva de coexistencia sólido-líquido, la curva de coexistencia líquido-vapor y la curva de coexistencia sólido-vapor ya que si en el punto triple las tres fases se encuentran en equilibrio, lo mismo debe suceder entre dos fases cualesquiera de ellas. Al aplicar las ecuaciones 1.18 y 1.19 se puede concluir que debe haber una discontinuidad al pasar de una curva de coexistencia sólido-líquido a una curva de coexistencia sólido-vapor ya que la entalpía de sublimación para pasar de sólido a vapor debe ser mayor a la entalpía de fusión al pasar de sólido a líquido, mientras que el cambio de volumen específico en cada transición es aproximadamente el mismo. Por lo tanto $\frac{dP}{dT}$ debe tener una discontinuidad, teniendo un valor mayor para la curva sólido-líquido que para la curva líquido-vapor³⁹. Un diagrama de fases típico que muestra estas características se muestra en la figura 1.7.

Aunque el caso de la coexistencia sólido-líquido-vapor es el más conocido, un sistema polimórfico posee más de tres fases y por lo tanto posee más de un punto triple. Para un sistema de dos polimorfos (S_1, S_2) se tiene cuatro puntos triples, $S_1, S_2, L; S_1, S_2, V; S_1, L, V$ y S_2, L, V . Al punto triple S_1, S_2, L se lo conoce como el punto triple condensado⁴¹. En general, es sencillo demostrar que si se tienen P polimorfos, el número de puntos triples será $\frac{P(P+2)(P+1)}{6}$ ⁴² y todas las deducciones realizadas

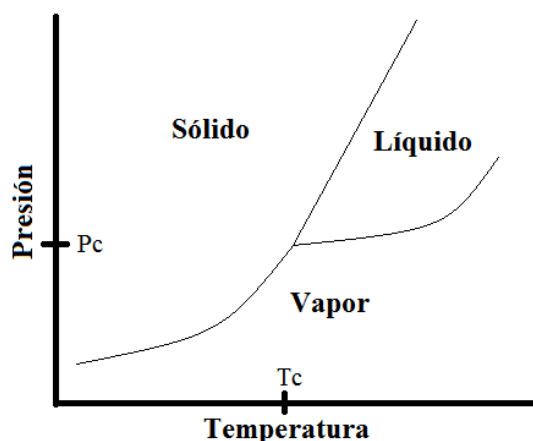


FIGURA 1.7: Diagrama esquemático del plano P-T para un sistema de un componente. En el punto triple confluyen las curvas de coexistencia

para el punto triple sólido-líquido-vapor aplican para cada uno de estos puntos triples.

Existen cuatro tipos de diagramas de presión y temperatura posibles para un sistema de dos polimorfos⁴³. Esta clasificación, propuesta por Bakhuis, se corresponde a como están los puntos triples ubicados entre sí. Suponiendo que O1 es el punto triple de coexistencia Polimorfo I, líquido y vapor (I-L-V), O2 el punto triple entre ambos polimorfos y el vapor (I-II-V), O3 corresponde a II-L-V y O4 corresponde a I-II-L, el gráfico 1.8 muestra el esquema de los 4 diagramas posibles. En general las líneas punteadas demarcan la extensión metaestable de una coexistencia estable entre dos fases.

En el caso 1 se observa que al elevar la temperatura la forma II transforma a la forma I siempre que la presión sea menor a la correspondiente al punto triple O4. Este comportamiento se lo denomina enantiotrópico. Por encima de dicha presión, al subir la temperatura de la forma II, esta se transforma a la fase líquida sin pasar por la forma I. Este comportamiento, en el que no es posible pasar de una forma cristalina a otra sin pasar por el estado líquido se denomina monotrópico. En el caso 2 se observa que la relación entre ambas formas cristalinas es enantiotrópica para todo el rango de presiones, mientras que en el caso 4 la relación es monotrópica para todo el rango de presiones. El caso 3 es el inverso al caso 1; por debajo de la presión correspondiente al punto de coexistencia la relación entre las fases cristalinas es monotrópica mientras que por encima de esta presión la relación es enantiotrópica.

En el caso de Ritonavir, Ceolin y Rietveld han determinado el diagrama de fases del compuesto⁴⁴. En la figura 1.9 se muestra el diagrama de fases obtenido por ellos, donde la presión está en Pa y la temperatura en K. El punto O1 del gráfico corresponde al punto de equilibrio entre la forma II, la forma líquida y la forma gaseosa. El punto O3 corresponde al punto triple de la forma I, la forma líquida y la forma gaseosa. El caso de Ritonavir se corresponde con el caso 3 en la clasificación propuesta por Bakhuis.

Aunque sería ideal tener un diagrama de fases completo para determinar la estabilidad de un compuesto, en una gran cantidad de casos un IFA va a permanecer a presión ambiente, por lo que en esos casos alcanza con conocer el carácter de la relación entre las formas cristalinas (enantiotrópica o monotrópica) a presión ambiente. Eventualmente si se decide proveer el IFA en un comprimido, durante la molienda o compresión pueden alcanzarse presiones altas y lo anterior no ser cierto, pero si

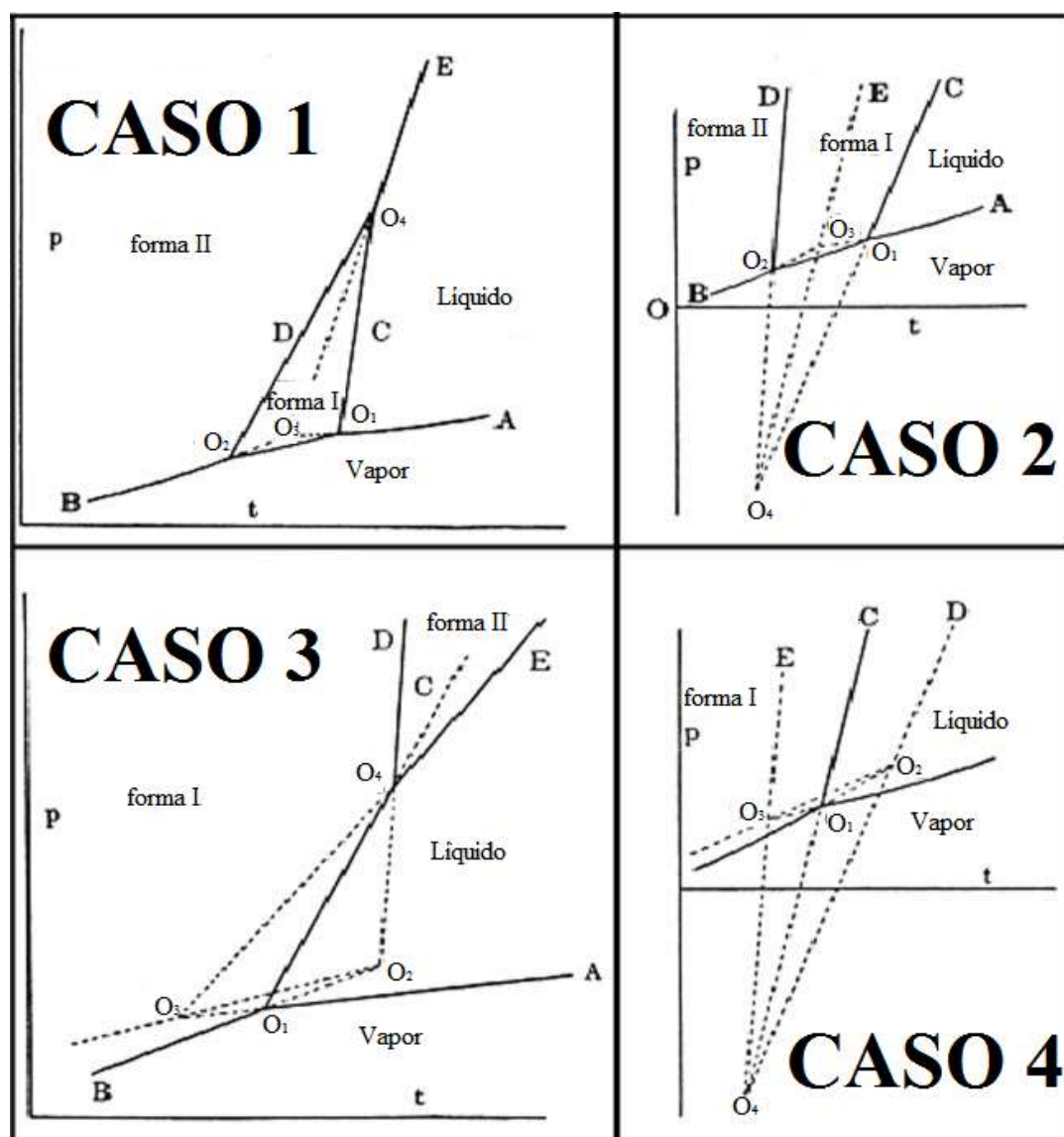


FIGURA 1.8: Diferentes casos posibles de diagramas de fase para sistemas de dos polimorfos. Adaptado de Bakhuis⁴³. El punto O₁ corresponde al punto triple I-L-V, O₂ I-II-V, O₃ II-L-V y O₄ I-II-L

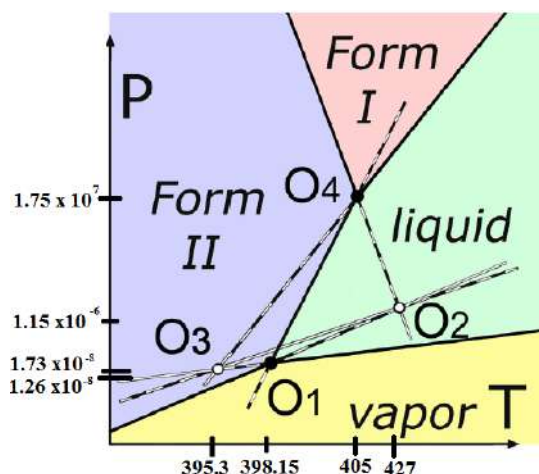


FIGURA 1.9: Diagrama de fase correspondiente a Ritonavir⁴⁴. La presión está en Pa y la temperatura en K.

este no es el caso, el carácter de la relación entre ambos polimorfos puede reducirse a un gráfico de energía en función de la temperatura.

El tercer principio de la termodinámica establece que la entropía de cualquier sistema en el 0 absoluto debe ser nula²¹. Por lo tanto para una dada forma cristalina en el 0 absoluto, su Entalpía debe ser igual a la energía libre de Gibbs de acuerdo a la ecuación 1.6. Al incrementar la temperatura, la Entalpía debe ser una función monotonamente creciente ya que las ecuaciones 1.6 y 1.3 imponen $\frac{\partial H}{\partial T} = C_p$. Como el calor específico debe ser siempre positivo, la pendiente de la Entalpía en función de la temperatura es siempre creciente. Por otra parte la energía libre de Gibbs debe ser monotonamente decreciente ya que $\frac{\partial G}{\partial T} = -S$ y la entropía por definición debe ser siempre positiva.

Como la entropía de cada una de las formas cristalinas de un compuesto y de su forma líquida son distintas, eventualmente para alguna temperatura las curvas de energía libre de Gibbs se cruzarán. Suponiendo a la forma B como la más estable, si su curva de energía libre de Gibbs se cruza con la curva de energía libre de la forma A antes que con la curva de energía libre de la forma líquida, entonces la relación entre ambas formas es enantiotrópica. Este caso se ejemplifica en la figura a) del gráfico 1.10. La temperatura donde la curva de energía libre de la fase A y de la fase B se cruzan es la llamada temperatura de transición (T_{tr}). La temperatura donde la energía libre de la forma A se cruza con la curva de energía libre de la forma líquida es la temperatura de fusión (T_{fA}) y lo mismo para la forma B (T_{fB}). En el caso b) de la misma figura se muestra el mismo esquema para un sistema monotrópico, el cual se caracteriza por tener T_{fA} y T_{fB} menores a T_{tr} .

En la práctica no es posible medir la energía libre de un sistema en función de la temperatura, y en ocasiones sistemas que son enantiotrópicos no muestran transición entre ellos en los tiempos de laboratorio por estar cinéticamente inhibido. En general es posible medir el calor específico en función de la temperatura, variando esta con alguna velocidad predeterminada. De esta manera es posible observar eventos térmicos, determinar la temperatura a la que ocurren y su variación de entalpía. Si la variación de entalpía de un evento es positiva (es decir el sistema absorbe calor durante el evento), se dice que este evento es endotérmico. En caso contrario, el evento es exotérmico. Burger y Ramberger⁴⁵ elaboraron una serie de reglas para poder determinar el carácter de la relación entre dos polimorfos:

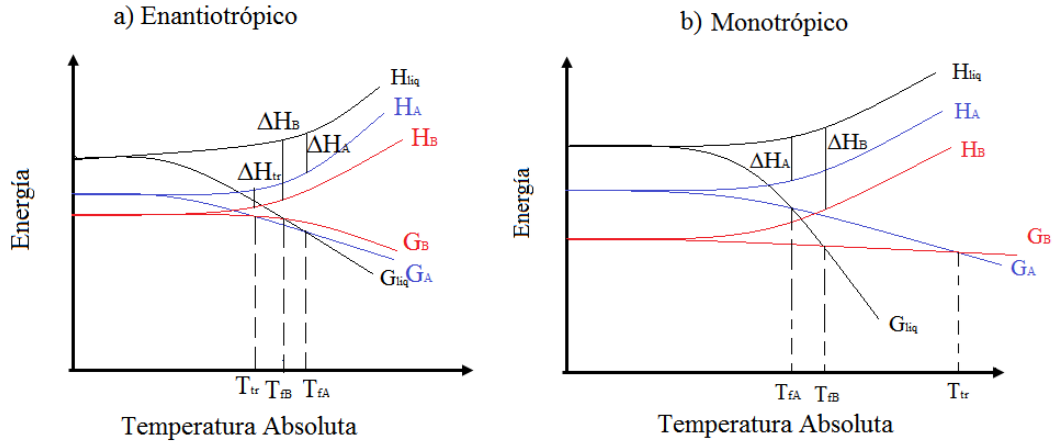


FIGURA 1.10: Diagrama de Energía en función de temperatura. El caso a) corresponde a un sistema enantiotrópico mientras que el caso b) corresponde al caso monotrópico

- Regla del Calor de Transición: a) Si una transición endotérmica se observa a cierta temperatura entre dos polimorfos A y B, se puede asumir que existe una T_{tr} por debajo de esta y ambas formas se encuentran relacionadas enantiotrópicamente. b) Si se observa una transición exotérmica a cierta temperatura, se puede asumir que no existe T_{tr} por debajo de esta temperatura y por lo tanto o la temperatura de transición es mayor, o la relación es monotrópica
- Regla del calor de Fusión: Si la forma de mayor punto de fusión tiene menor variación de Entalpía de fusión entonces la relación es enantiotrópica, sino es monotrópica.
- Regla de la densidad: La forma más estable a $0^\circ K$ es la que tiene mayor densidad

La regla del calor de transición este basada en la observación de los gráficos 1.10 asumiendo que las energías libres de dos polimorfos se cruzan a lo sumo una vez mientras que sus curvas de Entalpía no lo hacen nunca. Esta afirmación no siempre es cierta, existen casos de polimorfismo conformacional donde las curvas de Entalpía se cruzan entre sí y en dicho caso la regla no se cumple⁴⁵. La regla del calor de fusión se basa en la suposición de que la diferencia de Entalpía en la transición, ΔH_{tr} es equivalente a la diferencia entre las Entalpías de fusión $\Delta H_A - \Delta H_B$. Esto no es cierto, y una expresión más exacta de la misma es la dada por la ecuación 1.20, donde $C_{P,L}$ es el calor específico a presión constante de la fase líquida.

$$\Delta H_{tr} = \Delta H_A - \Delta H_B + \int_{T_{fA}}^{T_{fB}} C_{P,L} - C_{P,A} dT \quad (1.20)$$

La regla del calor de fusión funciona bien en el caso en que la diferencia entre las temperaturas de fusión de ambos polimorfos sea pequeña y las curvas de entalpía no se modifiquen significativamente. El trabajo de Burger y Ramberger fue extendido por Yu L., donde a partir de datos de calorimetría y la ecuación 1.20 utilizó aproximaciones de primer orden para la energía libre de Gibbs que le permitieron obtener ΔH_{tr} y T_{tr} a partir de ΔH_B y ΔH_A y las temperaturas de fusión de acuerdo a la ecuación 1.20. De esta manera se puede estimar la variación de entropía en la transición como en la ecuación 1.21.

$$\Delta S_{tr} = \frac{\Delta H_{tr}}{T_{tr}} \quad (1.21)$$

El caso de Ritonavir previamente discutido es una clara excepción a la regla de la densidad. En ausencia de interacciones de puente hidrógeno, que son fuertemente direccionales, la energía de cohesión depende de la distancia entre los átomos externos de las moléculas, y por lo tanto es esperable que minimicen su energía al minimizar la distancia entre ellas. De esta manera el cristal más denso suele ser el más estable con excepción de los cristales donde las interacciones direccionales, como los puentes hidrógenos, son fuertes⁴⁵. Existe otra regla establecida para las bandas en los espectros de absorción del infrarojo que no será utilizado en esta tesis.

1.11. Aspectos estructurales del polimorfismo

1.11.1. Simetría de traslación

Una característica distintiva del estado cristalino es la repetición tridimensional y regular de una molécula o un grupo de moléculas a lo largo de un espacio correspondiente a miles de moléculas. Existe el caso de las estructuras moduladas que pueden ser consideradas cristales perfectos con una distorsión periódica de las posiciones atómicas y/o la variación periódica en la probabilidad de ocupación de un sitio atómico. Si la distorsión de una dada celda nunca vuelve a producir la misma celda, se dice que se tiene una estructura modulada inconmensurable. Si bien dichas estructuras son cristalinas y no son una repetición tridimensional y regular, se ha demostrado que son estructuras periódicas en un espacio (3+d) dimensional⁴⁶. Esta repetición regular es una idealización puesto que un cristal real posee una serie de defectos que pueden ser defectos puntuales (vacancias, distorsiones intersticiales, etc.), de línea (dislocaciones, etc.) o de superficies³³. En la discusión que sigue se considerarán las características de cristales ideales.

Se puede describir la estructura cristalina en términos de una red periódica de nodos que representa la simetría traslacional de una unidad estructural fundamental. Cada uno de los nodos de la red puede ser unido a otro por una combinación lineal de tres vectores no coplanares $\vec{a}$, $\vec{b}$ y $\vec{c}$. De esta forma, dada la posición de un nodo de la red $\vec{r}$, la posición de cualquier otro nodo $\vec{r}'$ cumple que $\vec{r}' = \vec{r} + n_1\vec{a} + n_2\vec{b} + n_3\vec{c}$. Es de hacer notar que los nodos de la red son puntos matemáticos que no están necesariamente ligados a una entidad física (átomos o moléculas). Además, la forma de unir los nodos de la red no es única, dando lugar a distintas elecciones de vectores $\vec{a}$, $\vec{b}$ y $\vec{c}$ que dan lugar a la misma red cristalina.

Se llama celda unidad primitiva al paralelepípedo de menor volumen formado por los vectores $\vec{a}$, $\vec{b}$ y $\vec{c}$. Dicho volumen se puede obtener de la forma $V = \vec{a} \times \vec{b} \cdot \vec{c}$. Usualmente la celda unidad se describe por la longitud de los vectores $\vec{a}$, $\vec{b}$ y $\vec{c}$ (para denotar solo la longitud del vector se usará a , b y c) y los ángulos que forman entre ellos, α (el ángulo entre $\vec{b}$ y $\vec{c}$), β (el ángulo entre $\vec{a}$ y $\vec{c}$) y γ (el ángulo restante)⁴⁷.

1.11.2. Operaciones y elementos de simetría

Se entiende por operación de simetría aquella que aplicada a todos los puntos del espacio simultáneamente deja invariante el espacio. En un cristal ideal las operaciones de traslación previamente descritas son una operación de simetría. Todos los cristales tienen simetría de traslación pero existen otras operaciones de simetría

posibles como inversiones, rotaciones y reflexiones. Se entiende por elemento de simetría al punto, recta o plano a partir del cual dicha operación es aplicada⁴⁶. Todas las operaciones de simetría que tiene un sólido cristalino forman un grupo.

Operación identidad

La operación identidad es la operación de simetría que mantiene el espacio inalterado. Si bien es trivial, es un requerimiento de la teoría de grupos que esta operación de simetría se encuentre presente⁴⁷.

Simetría de rotación

Si las propiedades del espacio permanecen invariantes al realizar rotaciones en un ángulo de $\frac{2\pi}{n}$ alrededor de algún eje, se dice que dicho eje es un eje de rotación de orden n . Todo sistema tendrá un eje de orden 1 trivialmente, pero los sistemas cristalinos pueden tener ejes de orden 2, 3, 4 y 6. Es interesante notar que el eje de orden 5 es incompatible con la simetría de traslación tridimensional, pero podría estar presente en una estructura modulada incommensurable.

La existencia de ejes de rotación impone restricciones a la métrica de la celda unidad, por lo que es conveniente agrupar a los tipos de cristales posibles en los 7 sistemas cristalinos, que son sistemas de coordenadas convenientes para describir el cristal haciendo uso de sus simetrías.⁴⁸ Estos sistemas son:

- Triclínico: El cristal solo posee ejes de rotación de orden 1 y no hay ninguna restricción para los valores de $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$, $\mathbf{c}$, α , β y γ
- Monoclínico: El cristal posee un eje de orden 2, y se elige $\vec{b}$ en la misma dirección que el eje de rotación. Esto impone que $\alpha = \gamma = 90^\circ$. $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$, $\mathbf{c}$ y β pueden tomar valores arbitrarios
- Ortorrómbico: La existencia de dos ejes de orden 2 perpendiculares entre sí impone la existencia de un tercer eje de orden 2 perpendicular a los anteriores por la estructura de grupo. En este caso $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ con $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$ y $\mathbf{c}$ de valores arbitrarios.
- Tetragonal: Cuando se tiene un eje de orden 4, se elige $\vec{c}$ en la dirección de dicho eje por convención. En dicho caso, la estructura de grupo impone que $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ y $\mathbf{a}=\mathbf{b}$.
- Hexagonal y Trigonal: Bajo los sistemas trigonales y hexagonales se agrupan las redes cristalinas que tienen un eje de rotación de orden 3 (trigonal) o un eje de rotación de orden 6 (hexagonal). En este caso se impone que $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$ y $\mathbf{a}=\mathbf{b}$
- Cúbico: Este sistema se caracteriza por tener 4 ejes de rotación de orden 3. Cada uno de estos ejes se encuentra en las diagonales de un cubo, por lo que se impone que en este sistema $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ y $\mathbf{a}=\mathbf{b}=\mathbf{c}$

Reflexión Especular

Dado un punto p en el espacio, el punto p' generado por la reflexión en un plano de reflexión especular conserva la misma distancia a dicho plano que el punto p . El espacio queda dividido en 2 regiones por dicho plano, mientras p pertenece a una

de estas regiones, p' pertenece a la otra. En forma práctica, utilizando un sistema de ejes cartesianos cuyo origen se encuentre sobre el plano especular, las componentes paralelas al plano de los puntos p y p' son iguales mientras que las componentes perpendiculares son de igual magnitud y signo contrario⁴⁷. A diferencia de las rotaciones, la reflexión especular cambia la quiralidad de una molécula quiral. Esto tiene como consecuencia el hecho de que moléculas quirales donde solo se encuentra presente uno de los enantiómeros, no pueden cristalizar en cristales con simetría de reflexión especular⁴⁸.

Inversión

Otro tipo de simetría que cambia la quiralidad de una molécula es la simetría de inversión. El punto con respecto al que se produce dicha inversión se lo conoce como centro de inversión. Si se coloca un sistema de ejes cartesianos con origen en el centro de inversión, la operación de simetría que genera consiste en cambiar el signo de todas las componentes vectoriales cartesianas.

Rotación impropia

Si se combina una rotación con una reflexión a través de un plano especular perpendicular a dicha rotación la operación de simetría resultante es una rotación impropia, la cual también se caracteriza por su eje de rotación⁴⁷.

1.11.3. Redes de Bravais y grupos espaciales

Con el fin de describir al cristal en un sistema de coordenadas con la mayor simetría posible, a los 7 sistemas cristalinos previamente descritos se les puede agregar la simetría de traslación debido al centrado. Esta operación consiste en la adición de nodos debido a una traslación en alguna dirección de la red. Una celda puede ser primitiva (P) en cuyo caso no hay ninguna traslación adicional, puede tener un centrado en la cara perpendicular al eje A (A) o a alguno de los otros ejes (B,C). Además, puede tener un centrado en todas sus caras (F) o en el centro del paralelepípedo que forma una celda unidad (I). En el caso de una red trigonal también es posible el centrado Romboédrico (R). Agregando los centrados a los sistemas cristalinos se obtienen las 14 redes de Bravais, las cuales se resumen en la figura 1.11⁴⁶.

El conjunto de operaciones de simetría que toma un objeto tridimensional periódico conforman un grupo espacial. Existen 230 grupos espaciales posibles que fueron derivados por primera vez por Fedorov (1890) y Schoenflies (1891). Como consecuencia de la existencia de estos elementos de simetría todos los elementos (átomos o moléculas) de la celda primitiva pueden ser descritos a partir de unos pocos elementos y obtenerse los demás a partir de operaciones de simetría. Se entiende por unidad asimétrica como aquella porción del espacio a partir de la cual se puede generar el resto del espacio aplicando las operaciones de simetría. Esta unidad asimétrica no es única y puede ser elegida con cierta libertad⁴⁶, sin embargo, convencionalmente las tablas internacionales de cristalografía⁴⁹ definen una única unidad asimétrica para cada grupo espacial.

Actualmente se utiliza la notación de Herman-Mauguin para indicar al grupo espacial al que pertenece una dada estructura cristalina. En primer lugar se utiliza una letra indicando el tipo de centrado, seguido por una serie de caracteres que indican los elementos de simetría. A las operaciones de simetría previamente descritas hay

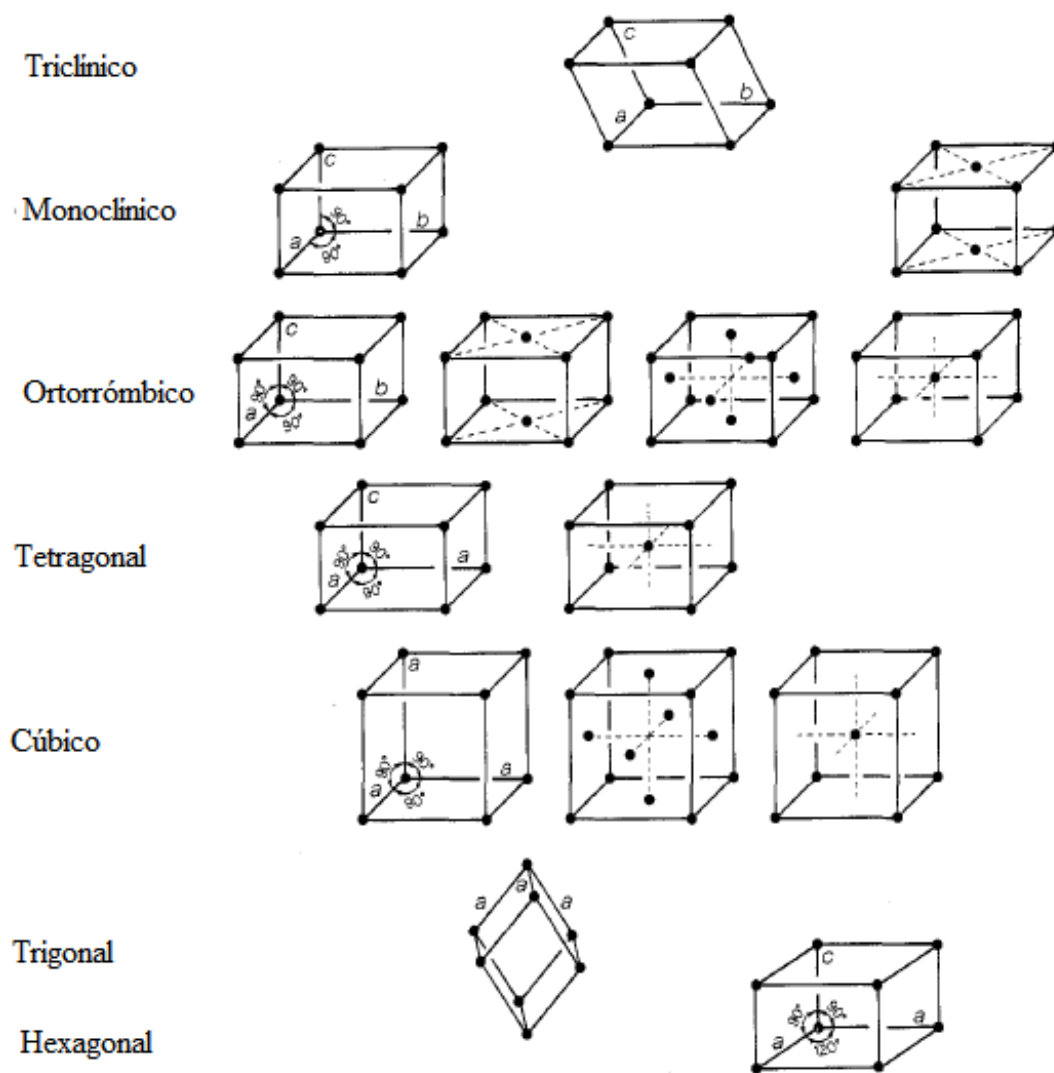


FIGURA 1.11: Esquema de las 14 redes de Bravais agrupadas por sistema cristalino.

que agregar las operaciones de simetría que combinan rotaciones o reflexiones con traslaciones, llamadas no simórficas:

- Ejes tornillo: Consisten en una rotación alrededor de un eje seguido de un traslación en la dirección del eje. Se escriben con un número que indica el orden del eje de rotación seguido de un subíndice que indica que fracción de celda se desplaza. Por ejemplo 3_1 indica una rotación de orden 3 y un desplazamiento de $\frac{1}{3}$ de celda en la dirección del eje de rotación.
- Planos con deslizamiento: Un plano con deslizamiento se caracteriza por ser una operación de simetría que consiste en la reflexión especular a través de un plano más un desplazamiento paralelo al mismo, usualmente de medio parámetro de celda. Generalmente se lo denota con la dirección perpendicular al plano (a,b o c si dicha dirección coincide con un eje cristalográfico, n si corresponde a la diagonal entre dos ejes)

Una descripción detallada de los grupos espaciales puede encontrarse en las tablas internacionales de cristalografía⁴⁹.

1.11.4. Teoría estructural del polimorfismo

Dos estructuras se encuentran relacionadas entre sí cuando existe alguna transformación lineal que las vincule, usualmente por la ruptura de una simetría cristalina, en cuyo caso la segunda estructura cristalizará en un subgrupo del primero⁴⁹. Esto puede ser la duplicación, triplicación, etc. de un parámetro de celda, la ruptura de algún eje de rotación, un plano especular o un centro de simetría.

Si dos estructuras cristalinas de un mismo compuesto no se encuentran relacionadas entre sí, las moléculas que componen la estructura deben romper los enlaces que las une, reacomodarse y volver a formar enlaces para transicionar de una estructura a otra. Es por esto que dos formas cristalinas polimórficas no relacionadas estructuralmente usualmente tienen una relación monotrópica⁴⁷. En el caso en que tengan relación estructural entre sí no se puede concluir sobre el carácter de la relación entre ambas formas. Si bien existe la posibilidad de transicionar de una estructura a otra de forma suave, el carácter monotrópico o enantiotrópico de dicha relación depende de la relación entre las energías libres entre ambas estructuras a toda temperatura y presión.

Al considerar la estructura que forman las moléculas orgánicas uno puede encontrarse con dos casos:

- Polimorfismo estructural: Es el caso en que moléculas rígidas, poco flexibles, logra formar distintas redes cristalinas en virtud de distintas interacciones inter-moleculares (interacciones de puente hidrógeno, interacciones de Van der Waals, etc)
- Polimorfismo conformacional: En este caso las moléculas en las distintas estructuras cristalinas adoptan una conformación distinta y como consecuencia las redes cristalinas que forman cada una de ellas son distintas.

El caso de Ritonavir se encuadra dentro del polimorfismo conformacional dado que las moléculas de Ritonavir tienen distintas conformaciones en la forma I y la forma II. En la figura 1.12 se muestra las conformaciones moleculares de la forma I y la forma II de Ritonavir, donde resultan evidentes las diferencias conformacionales entre ambas moléculas.

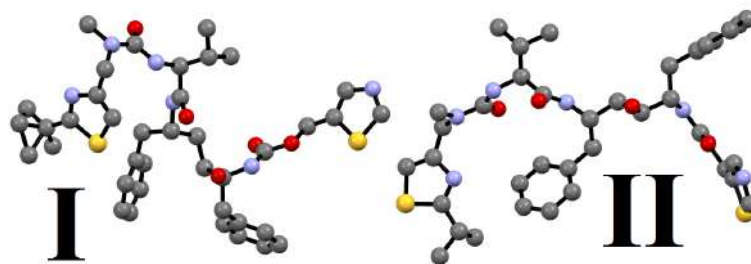


FIGURA 1.12: Conformación de la molécula de Ritonavir en la Forma I y en la forma II

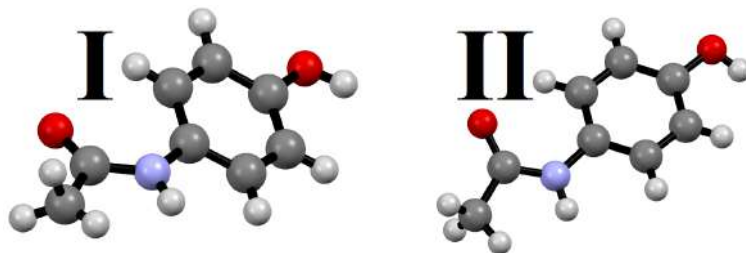


FIGURA 1.13: Conformación de la molécula de Paracetamol en la Forma I y en la forma II

Un caso de polimorfismo estructural importante es el de Paracetamol (4-Acetamidophenol) el IFA analgésico antifebril más vendido del mundo⁵⁰. Se han encontrado tres formas polimórficas de Paracetamol, donde la forma I es monoclinica con parámetros de red $a = 12.93\text{\AA}$, $b = 9.40\text{\AA}$, $c = 7.10\text{\AA}$ y $\beta = 115.9^\circ$ y cristaliza en el grupo espacial $P2_1/a$. En esta estructura las moléculas de Paracetamol se unen entre sí por dos tipos de puentes hidrógeno que forman una estructura bidimensional en forma de hojas plegadas a través del plano (1 0 0). El ángulo entre el anillo benzénico y el grupo amida es de 21.2° ⁵¹.

En la forma cristalina II el sistema cristalino es ortorrómbico con parámetros de red $a = 11.805\text{\AA}$, $b = 17.164\text{\AA}$, $c = 7.393\text{\AA}$ y grupo espacial $Pcab$. En la misma hay dos tipos de puente hidrógeno que forman hojas alrededor del plano (0 1 0)⁵². En esta forma el grupo carbonilo adopta una estructura muy similar al de la forma I, con un ángulo entre el anillo benzénico y el plano que contiene a la amida de 17.7° . En la figura 1.13 se muestra la conformación molecular en ambas estructuras.

1.12. Termodinámica de hidratos

Un solvato es un compuesto cristalino en el que moléculas del solvente cristalizan en la misma red cristalina que las moléculas del soluto⁵³. Un caso especial de solvato es el hidrato donde el solvente que cristaliza es agua. El hidrato es el solvato más frecuente en moléculas pequeñas⁵⁴ y es el tipo de solvatos con el que se trabajó en esta tesis, de forma que la discusión siguiente se hará pensando en el agua como solvente, aunque es aplicable a otros solventes. Se ha estimado que aproximadamente un tercio de los IFAs son capaces de formar hidratos⁵⁵.

Los solvatos pueden ser estequiométricos, en cuyo caso existe una relación estequiométrica entre la cantidad de solvente y la de la molécula de soluto, o no-estequiométrico siendo un ejemplo de este último el hidrato de cafeína, donde el agua se encuentra en una proporción de 0.33 moléculas de agua por molécula de

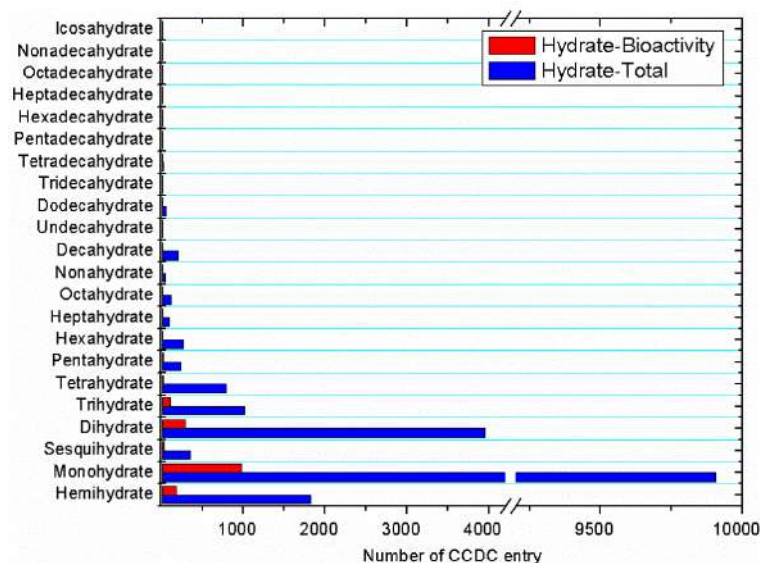
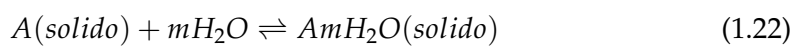


FIGURA 1.14: Cantidad de estructuras hidratadas en la base de datos de Cambridge, en función de la cantidad de aguas en la estructura⁵⁶.

cafeína. Entre los hidratos estequiométricos, los monohidratos son el caso más frecuente como puede observarse en la figura 1.14. El equilibrio entre un hidrato y el compuesto dehidratado puede describirse por la relación 1.22



Donde m es la cantidad de aguas y la constante de equilibrio esta dada por la constante de reacción $K = \frac{a(Am\text{H}_2\text{O}(\text{solido}))}{a(A(\text{solido}))a(\text{H}_2\text{O})^m}$. Esto implica que cuando la actividad del agua es mayor que el cociente $\left(\frac{a(Am\text{H}_2\text{O}(\text{solido}))}{a(A(\text{solido}))K}\right)^{\frac{1}{m}}$ entonces el hidrato es la forma estable. En caso contrario, el sólido anhidro es la forma estable. Suponiendo la actividad del hidrato y la forma sólida A igual a la unidad, se observa que la estabilidad del hidrato con respecto a la forma deshidratada depende de la presión parcial de vapor de agua (Humedad Relativa(HR)) que es equivalente a la actividad del agua en fase gaseosa⁵⁷. En la figura 1.15 se observa el gráfico de cantidad de agua absorbida en función de la HR para el caso del Levotiroxina Sódica. Para obtenerlo se colocó la muestra de Levotiroxina Sódica y se fue agregando agua al ambiente mientras se pesaba la muestra. A medida que el agua es agregada al sistema sube su HR hasta cierto límite en que el compuesto comienza a absorber el agua. Mientras esto sucede la HR permanece constante, ya que la actividad del agua se encuentra en el valor adecuado para producir la transformación a un estado de mayor hidratación, en este caso un pentahidrato⁵⁴. Si hubiera estados de mayor hidratación, el mismo comportamiento continúa a medida que se agrega agua al sistema hasta que se alcanza el estado de mayor hidratación o en ocasiones el compuesto se vuelve líquido o amorfo en exposición a una humedad relativa alta.

Si alguna de las fases del cristal es higroscópica, entonces la cantidad de agua no será constante a medida que sube la HR, es por esto que la Levotiroxina Sódica Pentahidratada sigue aumentando su masa a medida que sube la HR. El compuesto adsorbe agua en su superficie o en microporos⁵⁸, manteniendo su estructura cristalina.

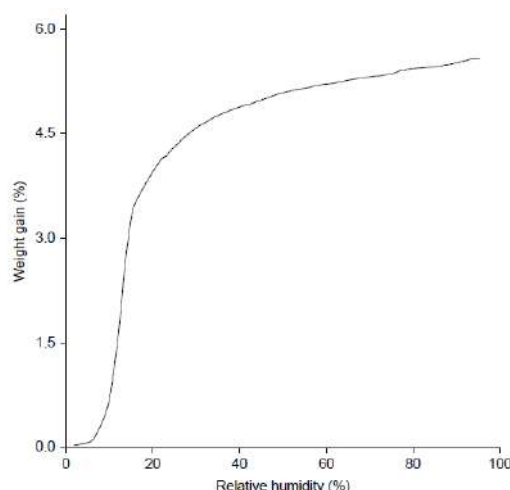


FIGURA 1.15: Ganancia de masa en función de la HR para Levotiróxina Sódica. Extraído de Brittain et. al.⁵⁴.

1.13. Clasificación estructural de hidratos

La capacidad del agua de formar distintos puentes hidrógenos le proporciona sus particulares propiedades coligativas como el punto de fusión y el punto de ebullición. De forma similar, los puentes hidrógeno que forma con un IFA va a dictaminar el rol que cumpla el agua en la estructura cristalina, como por ejemplo, formar un hidrato con el IFA⁵⁹. Una molécula de agua puede formar hasta 4 enlaces puente hidrógeno, uno con cada uno de sus hidrógenos y uno con cada uno de los electrones libres del oxígeno. De esta manera puede formar enlaces con una molécula de algún IFA así como con otras moléculas de agua. Un enlace puente hidrógeno típico entre aguas es del orden de 4.5 kcal/mol⁶⁰. Además de las interacciones de puente hidrógeno, el par de electrones libres del oxígeno puede enlazarse con cationes metálicos presentes en múltiples sales. Por otra parte, en complejos de coordinación con metales de transición, la molécula de agua puede formar un enlace de coordinación con estos últimos ya que estos metales poseen orbitales d de energía adecuada para realizarlo. Estos enlaces son mayormente electrostáticos y pueden ser descriptos por la electrostática clásica⁶¹. Dichos enlaces pueden llegar a ser entre 4 y 5 veces más grande que los enlaces entre aguas.

Una molécula de agua libre tiene una distancia $O - H$ de 0.957 Å y un ángulo $H - O - H$ de 104.52°. En cuanto la molécula comienza a formar puentes hidrógeno o tener algún otro tipo de interacción, la molécula comienza a distorsionarse con respecto a su geometría libre. El enlace $O - H$ de la molécula se debilita si el hidrógeno de esta participa en la formación de un enlace puente hidrógeno, lo que resulta en un incremento de la distancia entre estos átomos de entre 0.01 Å y 0.02 Å.

Las estructuras que pueden surgir de las distintas formas de interacción de las moléculas de agua son diversas, de manera que es útil una clasificación estructural de los hidratos que permita seleccionar la mejor formulación del compuesto y las condiciones en que manejarlo. Los hidratos se pueden dividir en tres clases:

- Hidrato de canal: En este tipo de hidratos las moléculas de agua forman canales dentro de la red. Cada molécula de agua se encuentra a continuación de otra molécula de agua formando un canal de aguas. En este tipo de hidratos se espera que al incrementar la temperatura, la deshidratación comience en los bordes del cristal y que continúe hasta el centro a lo largo de los canales.

Esta deshidratación observada en una medición de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se caracteriza por un pico ancho, con la temperatura del *onset*, bastante menor que la temperatura del pico⁵⁹.

- Hidrato de sitio aislado: Este tipo de hidratos se caracteriza porque la molécula de agua se encuentra aislada del contacto directo de otras moléculas de agua. En general estas deshidrataciones dan un pico de DSC angosto en comparación a los hidratos de canal.⁵⁹
- Hidratos Asociados a un Ion: Son hidratos donde la molécula de agua se encuentra unida a un catión metálico. Como estas interacciones suelen ser más fuertes que las interacciones de puente hidrógeno, es usual que este tipo de hidratos tenga una temperatura de deshidratación relativamente alta⁵⁹.

En el capítulo 4 se muestra un caso estudiado de cada clase de hidrato.

1.14. Termodinámica de cocristales

De acuerdo con la expresión 1.14 es esperable que para un dado compuesto, el polimorfo de menor temperatura sea el de mayor solubilidad. No puede decirse lo mismo en el caso de los cocristales, ya que las diferentes interacciones soluto-solvente presentes no respeten dicho patrón⁶². Para tener en consideración la modificación producida por la interacción soluto-solvente se suele utilizar la expresión 1.23 donde γ es un coeficiente de actividad que representa la contribución de la interacción soluto-solvente y el primer término representa la solubilidad ideal del sólido.

$$\log \chi = -\frac{\Delta H_m}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m} \right) - \log \gamma \quad (1.23)$$

En general, la solubilidad observada es menor que la solubilidad ideal esperada²³. Un comportamiento similar es observado en sales⁶³.

1.15. Aspectos Estructurales de cocristales

Un concepto clave en el diseño de cocristales es el concepto de synthon. En el año 1995 Desiraju introdujo el concepto de synthon supramolecular el cual se define como un arreglo espacial de interacciones intermoleculares que ocurren frecuentemente en estructuras cristalinas⁶⁴. El concepto es puramente probabilístico y se ocupa de la frecuencia de ocurrencia de ciertos patrones en estructuras cristalinas⁶⁵. Synthons producidos por grupos funcionales similares son conocidos como homosynthons mientras que los producidos por grupos funcionales distintos son conocidos como heterosynthons⁶⁶. Por ejemplo en la figura 1.16 se muestran posibles heterosynthons entre un grupo amida protonado y un carboxilato (I), entre un grupo carboxílico y el grupo carboxilato (II y III). Del análisis de la base de datos de Cambridge (CDS)¹¹⁴ Reddy y sus colaboradores concluyeron que (II) era el synthon que ocurría con mayor frecuencia y por lo tanto decidieron utilizar ácidos carboxílicos como coformadores para Gabapentín.⁶⁷

En el capítulo 5 se estudiarán distintas sales y cocristales de Pregabalina, un compuesto similar estructuralmente a Gabapentín, con diferentes ácidos carboxílicos.

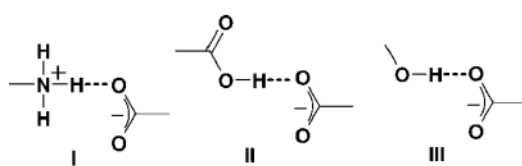


FIGURA 1.16: Posibles heterosynthons (I) entre un grupo amida protonado y un grupo carboxilato (II),(III) entre un grupo carboxílico y un grupo carboxilato

Bibliografía

1. R. Jiben, *An Introduction to Pharmaceutical Sciences* (Biohealthcare publishing (Oxford) Limited, New York, 2011), cap. 3, pág. 61.
2. Anmat, *Farmacopea Argentina* (Anmat, Argentina, ed. 7, 2002), vol. 1, cap. Consideraciones Generales.
3. R. Jiben, *An Introduction to Pharmaceutical Sciences* (Biohealthcare publishing (Oxford) Limited, New York, 2011), cap. 9.
4. C. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy y P. Feeney, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **46**, 3-26 (2001).
5. K. Nishida y col., *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **58**, 705-711 (2004).
6. N. K Thakral, R. L. Zanon, R. C. Kelly y S. Thakral, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **107**, 1-12 (2018).
7. *World Population Prospects: The 2017 Revision, Volume I: Comprehensive Tables. ST/ESA/SER.A/399*. United Nations, Department of Economic y Social Affairs, Population Division.
8. R. Hilfiker, ed., *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry* (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2006), cap. 1.
9. F. Saldivar-Gonzalez, F. Prieto Martinez y J. Medina-Franco, *educación Química* **28**, 51-58 (2017).
10. P. Stenberg, C. Bergstrom, K. Luthman y P. Arturson, *Clinical Pharmacokinetics* **41**, 877-899 (2002).
11. R. Jiben, *An Introduction to Pharmaceutical Sciences* (Biohealthcare publishing (Oxford) Limited, New York, 2011), cap. 4.
12. L. G. J. Wade, *QUIMICA ORGANICA, Quinta Edición* (Pearso Prentice Hall, Madrid, 2004), cap. 2.
13. A. Florence y D. Atwood, *Physicochemical principles of Pharmacy* (Pharmaceutical Press, Gran Bretaña, 2006), cap. 4.
14. Anmat, *Farmacopea Argentina* (Anmat, Argentina, ed. 7, 2002), vol. 4, cap. Consideraciones Generales.
15. D. Oh, R. Curl y G. Amidon, *Pharmaceutical Research* **10**, 264-270 (1993).
16. J. Crison, University of Michigan, 1993.
17. G. Amidon, H. Lennernas, V. Shah y J. Crison, *Pharmaceutical Research* **12**, 413-420 (1995).
18. A. Florence y D. Atwood, *Physicochemical principles of Pharmacy* (Pharmaceutical Press, Gran Bretaña, 2006), cap. 1.
19. M. Ku y W. Dulin, *Pharm. Dev. Technol.* **17**, 285-302 (2012).

20. R. Hilfiker, ed., *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry* (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2006), cap. 1.
21. E. Fermi, *Termodinámica* (EUDEBA S.E.M, Buenos Aires, ed. 4, 1977), cap. 5.
22. P. Atkins y J. De Paula, *Physical Chemistry* (W. H. Freeman y Company, Nueva York, ed. 8, 2006), cap. 5.
23. L. Queré y J. Wouters, eds., *Pharmaceutical Salts and Co-crystals* (The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2012), cap. 11.
24. M. Li, *Organic Chemistry of Drug Degradation* (The Royal Society of Chemistry, Cambridge, ed. 1, 2012), cap. 1.
25. R. Jiben, *An Introduction to Pharmaceutical Sciences* (Biohealthcare publishing (Oxford) Limited, New York, 2011), cap. 7.
26. O. Almarsson y M. Zaworotko, *Chemical Communications*, 1889-1896 (2004).
27. L. Queré y J. Wouters, eds., *Pharmaceutical Salts and Co-crystals* (The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2012), cap. 1.
28. D. Singhal y W. Curatolo, *Advanced Drug Delicery Reviews* **56**, 335-347 (2004).
29. J. Bauer y col., *Pharmaceutical Research* **18**, 859-866 (2001).
30. S. Chemburkar y col., *Organic Process Research and Development* **4**, 413-417 (2000).
31. J. W. Gibbs, *Collected Works* (Longmans, Nueva York, 1928), vol. 1.
32. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, ed. 1, 1999), cap. 7.
33. J. Mullin, *Crystallization* (Butterworth-Heinemann, India, 2001), cap. 5.
34. G. J.W., *The scientific papers of J.W. Gibbs: On the equilibrium of heterogeneous substances* (Dover Publications Inc., New York, 1961).
35. R. Becker y W. Doring, *Annalen der Physik* **416**, 719-752 (1935).
36. M. Volmer, *Kinetik der Phasenbildung* (Steinkopf, Leipzig, 1939).
37. M. Etter, D. Jahn, B. Donahue, R. Johnson y C. Ojala, *Journal of Crystal Growth* **76**, 645-655 (3 1986).
38. J. Bernstein, R. Davey y O. Henck, *Angewandte Chemie international edition* **38**, 3441-3461 (1999).
39. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Informa Healthcare USA, Inc., Nueva York, ed. 2, 2009), cap. 2.
40. R. C. Weast, ed., *Handbook of Chemistry and Physics* (Chemical Rubber Company, Cleveland, Ohio, ed. 12, 1969).
41. J. Ricci, *The phase Rule and heterogeneous equilibrium* (Van Nostrand, Nueva York, 1951).
42. E. Riecke, *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **6**, 411 (1890).
43. H. Bakhuis-Roozeboom, *Bakhuis-Roozeboom HW. Die heterogenen Gleichgewichte vom Standpunkte der Phasenlehre. Erstes Heft: Die Phasenlehre— Systeme aus einer Komponente, 1.* (Braunschweig: Friedrich Vieweg und Sohn, 1901).
44. R. Ceoli e I. Rietveld, *Annales Pharmaceutiques Françaises* **73**, 22-30 (2015).
45. A. Burger y R. Ramberger, *Mikrochimica Acta* **II**, 259-271, 273-316 (1979).
46. C. Giacovazzo, ed., *Fundamentals of Crystallography* (Oxford Science Publications, Great Brittain, 1992), cap. 1.

47. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Informa Healthcare USA, Inc., Nueva York, ed. 2, 2009), cap. 6.
48. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Informa Healthcare Inc., Nueva York, ed. 2, 2009), cap. 15.
49. H. Wondratschek y U. Müller, eds., *International Tables for Crystallography* (Kluwer Academic Publishers, ed. 5, 2006), vol. A1.
50. R. Jiben, *An Introduction to Pharmaceutical Sciences* (Biohealthcare publishing (Oxford) Limited, New York, 2011), cap. 3, pág. 61.
51. M. Haisa, R. Kashino S. and Kawai y H. Maeda, *Acta Crystallographica Section B* **32**, 1283-1285 (1976).
52. M. Haisa, S. Kashino y H. Maeda, *Acta Crystallographica Section B* **30**, 2510-2512 (1974).
53. J. Halebian, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **64**, 1269-1288 (1975).
54. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Informa Healthcare USA, Inc., Nueva York, ed. 2, 2009), cap. 7.
55. H. Stahl, *Towards better safety of drugs and pharmaceutical products*, ed. por D. Braimar (Elsevier, Holland, 1980), cap. The problems of drug interaction with excipients, págs. 265-280.
56. A. Healy, Z. Worku, D. Kumar y A. Madi, *Advanced Drug Delivery Reviews* **117**, 25-46 (2017).
57. D. Grant y T. Higuchi, *Solubility behaviour of Organic Compounds* (John Wiley, Nueva York, 1990).
58. M. Scott, H. A. Lieberman y F. S. Chow, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **52**, 994-998 (1963).
59. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, ed. 1, 1999), cap. 4.
60. *Water, A comprehensive Treatise, Volume 2: Water in Crystalline Hydrates Aqueous Solutions of Simple Nonelectrolytes* (Plenum Press, Nueva York, 1973), págs. 55-113.
61. I. Dzidic y P. Kebarle, *Journal of Physical Chemistry* **74**, 1466-1474 (1970).
62. D. Good y N. Rodríguez-Hornedo, *Crystal Growth and Design* **9**, 2252-2264 (2009).
63. A. Serajuddin, *Advanced Drug Delivery Reviews* **59**, 603-616 (2007).
64. G. Desiraju, *Angewandte Chemie International Edition* **34**, 2311 (1995).
65. G. Desiraju, *Angewandte Chemie International Edition* **46**, 8342 (2007).
66. L. Queré y J. Wouters, eds., *Pharmaceutical Salts and Co-crystals* (The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2012), cap. 2.
67. L. Reddy, S. Bethune, J. Kampf y N. Rodríguez-Hornedo, *Crystal Growth and Design* **9**, 378-385 (2008).
114. CCDC, *Cambridge Structural Database 5.40*, 2018.

Capítulo 2

Métodos Experimentales

2.1. Generación de polimorfos, hidratos, y solvatos

Es ampliamente conocida la frase de McCrone “Aquellos que estudian polimorfismo rápidamente llegan a la conclusión de que todos los compuestos, orgánicos e inorgánicos pueden cristalizar en diferentes formas cristalinas. De hecho, cuanto mayor tiempo se dedica a investigar un compuesto, mayor es el número de polimorfos encontrados.”⁶⁸ Sin embargo, es un hecho que varios IFAs importantes solo tienen una estructura conocida al día de hoy. Los procesos de cristalización realizados en condiciones cercanas al equilibrio tienden a producir el polimorfo más estable o al menos formas relativamente estables. En cambio, la cristalización bajo condiciones de estrés, como el enfriamiento rápido de soluciones, tiende a formar polimorfos inestables⁶⁹. En estos casos, la cinética determina la forma cristalina en que cristaliza el material mas que la termodinámica. En 1890 Ostwald estableció su regla de etapas, en la cual establece que “un sistema inestable no necesariamente transforma en el estado más estable, sino en el que más se parece al estado inicial con la menor pérdida de energía libre”⁷⁰. Sin embargo, el mismo Ostwald reconocía que esto no siempre se cumple, las descripciones teóricas modernas involucran una combinación de factores cinéticos y termodinámicos, así como factores estructurales⁷¹. En esta sección se van a describir los métodos de obtención de polimorfos e hidratos que se utilizaron en esta tesis, aunque existen muchos otros.

Como principio general, la evaporación lenta de solventes, como todo proceso de cristalización en condiciones lentas, tiene mayores probabilidades de producir formas cristalinas estables, mientras que procesos rápidos como la evaporación rápida de soluciones tiende a producir polimorfos inestables⁶⁹. En la figura 2.1 se muestra un esquema de los métodos más comunes de obtención de polimorfos y su escala temporal indica el tiempo estimativo del proceso de producción de dichos polimorfos.

2.1.1. Evaporación lenta de solventes

La cristalización a partir de una solución es el método más común de obtención de cristales en la muestra farmacéutica. En gran parte, porque en la síntesis de compuestos orgánicos es generalmente realizada en solución y la recristalización es el paso final a partir del cual se recupera el material sólido de la síntesis con la pureza requerida en un IFA que se administrará en humanos (99.9%). La evaporación lenta del solvente permite, en general, obtener formas polimórficas estables y al ser un proceso de cristalización lento, en general permite obtener cristales adecuados para difracción de rayos X de monocristal (SC-XRD).

Solventes de solubilidad moderada (200mg/ml) suelen preferirse ya que solventes de muy alta solubilidad pueden generar soluciones de alta viscosidad y un sólido

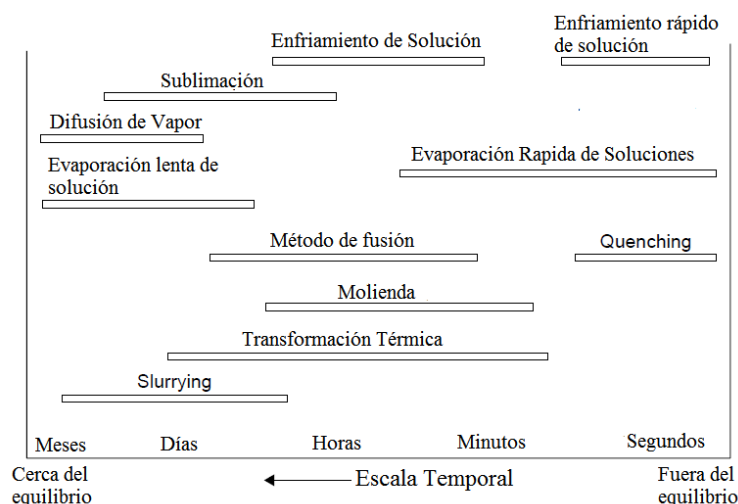


FIGURA 2.1: Diferentes métodos de producción de polimorfos, la escala temporal es indicativa del tiempo que lleva el proceso de cristalización.

amorfo se forma en lugar de una forma cristalina. En general, es útil realizar un *screening* de solventes con poca muestra y unas pocas gotas de solvente. Observando la reacción por microscopía óptica es posible determinar cuan soluble es el compuesto en un dado solvente. Si el sólido disuelve completamente la solubilidad es muy alta; si no se observan cambios el sólido es prácticamente insoluble. Para realizar un *screening* de polimorfos, es necesario realizar recrystalizaciones en una amplia variedad de solventes⁷² ya que se considera que diferentes polaridades y las características del solvente para formar distintos puentes hidrógeno pueden promover o inhibir la formación de núcleos de distintos polimorfos en solución supersaturada^{73,74}. La interferencia del solvente en la formación de ciertos puentes hidrógeno también puede resultar en cambios de hábitos cristalinos sin modificar la estructura cristalina como en el caso de Acetanilida³⁷. Usualmente se considera que diferentes polaridades y características de puentes hidrógeno del solvente promueven o inhiben la formación de distintos polimorfos del soluto en soluciones supersaturadas.

El rango de temperaturas en que un solvente puede ser utilizado se encuentra limitado por el punto de ebullición del mismo y por el perfil de solubilidad del soluto. La temperatura que se elige para la cristalización puede determinar el polimorfo que cristaliza, especialmente en sistemas enantiotrópicos.

En el gráfico de concentración de la solución en función de la temperatura 2.2 se muestra el mecanismo de formación de cristales por este método. La solución inicial (punto B del gráfico) se encuentra insaturada. A medida que se evapora el solvente, la concentración de dicha solución se incrementa hasta llegar al punto C del gráfico donde se encuentra supersaturada y el soluto debe precipitar iniciando un proceso de nucleación. Otra opción para cristalizar es el enfriamiento lento de la solución (ir del punto A al punto C del gráfico). Esta opción es usualmente preferida en la industria porque produce un mayor rendimiento que la evaporación de soluciones.

2.1.2. Evaporación rápida de soluciones

La evaporación lenta de una solución tiende a dar el polimorfo más estable y permite obtener buenos cristales para SC-XRD. En la evaporación rápida de la solución se busca obtener formas cristalinas metaestables. Como se mostró en la figura

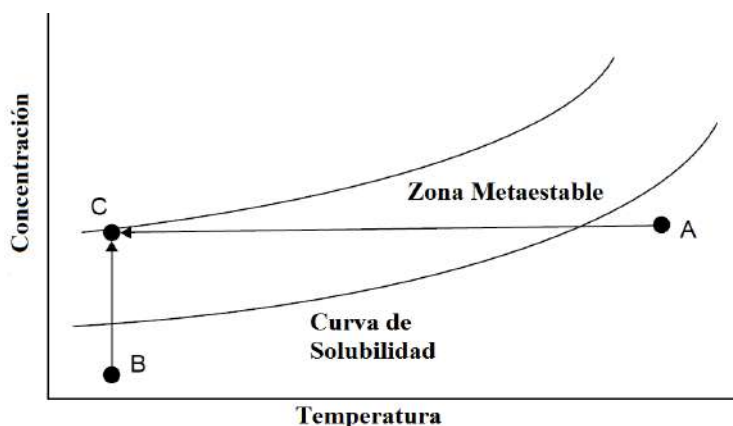


FIGURA 2.2: Gráfico de concentración de solución en función de la temperatura. El camino B-C muestra el camino realizado en la cristalización por evaporación isotérmica de la solución

2.1 los métodos de cristalización rápidos buscan generar formas fuera del equilibrio. Al supersaturar rápidamente una solución, el soluto se ve forzado a precipitar y de acuerdo a la regla de Ostwald este lo hará en el mínimo de energía más cercano que encuentre. En ocasiones este mínimo de energía puede incluso ser una forma amorfa.

Para lograr esto se vuelca lentamente la solución previamente formada en una platina calentadora con una temperatura levemente superior a la de ebullición del solvente (el solvente utilizado debe tener una temperatura de ebullición adecuada y la temperatura de la platina debe ser adecuada para que el soluto precipite en forma sólida y no se descomponga). De esta manera cuando una gota de solución entre en contacto con la platina el solvente se evapora y el soluto precipita en su mínimo de energía mas cercano. Por regla general, las muestras generadas de esta forma son polvos finos, inadecuados para realizar SC-XRD, pero se puede obtener un patrón de difracción de la misma por difracción de rayos X de polvo (PXRD).

2.1.3. *Slurry conversion*

Slurry conversion es un método en el que un material sólido queda suspendido por un largo período de tiempo en una cantidad de solvente que es insuficiente para disolverlo completamente. El objetivo es que el solvente provea un camino para que el material sólido puede llegar a su forma más estable. El proceso principal consiste en la disolución de la forma cristalina actual del soluto y la nucleación y formación de la forma más estable del mismo. Puesto que las formas más estables poseen menor solubilidad, la solución estará supersaturada de esta forma cristalina con menor concentración que de la forma original y por tanto se favorece la nucleación de la forma más estable.

Para implementarlo se realiza una solución supersaturada de la muestra y se procede a agitarlo con un agitador magnético y a producir ciclos de variación de temperatura lentos. Usualmente las variaciones de temperatura son de alrededor de 5°C con el objetivo de aumentar la concentración de la solución al aumentar la temperatura y precipitar el compuesto. Al realizar este proceso durante varios días

se espera obtener la forma cristalina más estable de dicho compuesto. Usualmente este procedimiento da lugar a polvos cristalinos, inadecuados para SC-XRD.

2.1.4. Método de fusión

Si bien termodinámicamente un líquido por debajo del punto de fusión debería cristalizar, la cinética de este proceso suele ser lenta, y por lo tanto es posible sobreenfriar el líquido de manera que este permanezca en un estado metaestable. Si el líquido sobreenfriado es dejado a una temperatura levemente inferior a la temperatura de fusión, la diferencia de energía libre entre el estado líquido y el estado cristalino debería ser pequeña, así como la barrera energética para formar núcleos. De acuerdo a la regla de Ostwald es esperable que el sistema vaya al mínimo de energía más cercano y por lo tanto cristalice. En general, dado suficiente tiempo para que crezcan los cristales, el método suele producir cristales grandes buenos para SC-XRD. En los casos en que el sistema tenga varios polimorfos, el método es sencillo de aplicar para el polimorfo más estable, aunque para los demás polimorfos puede no dar buenos cristales ya que la formación de núcleos de dos formas cristalinas compiten entre sí.

En la práctica, el método se ha realizado en un microscopio con platina calentadora (Kofler), en la cual se coloca un vidrio Pirex con la muestra. La temperatura se controla sobre la platina calentadora, con una termocupla tipo K. En primera instancia se calienta la muestra por encima de la temperatura de fusión y se espera a que la misma este completamente fundida. Luego se disminuye la temperatura por debajo de la temperatura de fusión (por regla general, alrededor de 5°C menor, aunque es relativo a cada sistema) y se espera a que el sistema evolucione. En ocasiones es posible agregar una semilla (un pequeño cristal del compuesto), o perturbar el líquido para que se forme dicha semilla. Una vez que se tiene una semilla, el cristal comenzará a crecer. El tamaño que pueda crecer un cristal estará limitado por la formación de otras semillas en el líquido. Otra limitación del método esta dado por la posibilidad de que el compuesto sea químicamente inestable en estado líquido, en dichos casos un análisis previo de termogravimetría puede mostrar si el proceso de fusión esta acompañado de una pérdida de masa típico de una descomposición.

2.1.5. Tratamiento térmico

Si un líquido es sobreenfriado lo suficientemente rápido suele suceder que el sistema pase por una transición vítrea y queda en forma amorfa. Posterior calentamiento del amorfo puede dar lugar a la recristalización del compuesto. Si este proceso es rápido, el sistema tratará de cristalizar en el polimorfo energéticamente más cercano de acuerdo a la ley de Ostwald y por lo tanto es de esperar que se obtengan polimorfos inestables.

En los casos en que el sistema sea enantiotrópico, es posible obtener una segunda forma cristalina a partir del calentamiento (o enfriamiento) de una primer forma cristalina del compuesto.

2.1.6. Desolvatación de solvatos

La desolvatación de solvatos es un método utilizado para descubrir y preparar formas polimórficas que de otra manera resultan inaccesibles. En ocasiones estos "solvatos desolvatados" retienen la estructura original del solvato con pequeños cambios en los parámetros de red. Sin embargo, existen casos en los que el solvente

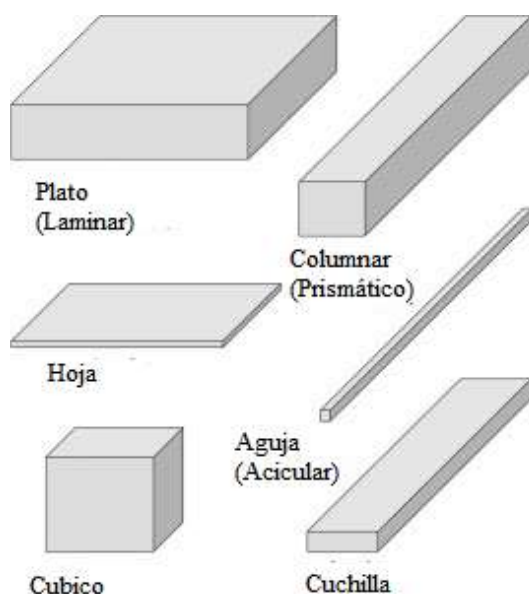


FIGURA 2.3: Diferentes formas externas observadas en los cristales.

juega un rol esencial en la estructura cristalina y al ser removido el solvente da lugar a una nueva forma cristalina o incluso a una forma amorfa. Una de las formas más habituales de desolvatación es la desolvatación térmica, que se induce incrementando la temperatura del material. Esto no siempre es factible de ser realizado puesto que existen solvatos que funden antes de ser desolvatados.

2.2. Microscopía óptica

El objetivo de una observación microscópica es maximizar la imagen de un objeto para obtener los detalles pequeños, invisibles al ojo humano. En el caso de los cristales, la microscopía óptica permite identificar el hábito cristalino y el tamaño del cristal. En general, el hábito cristalino se encuentra determinado por la estructura interna del cristal y se clasifican los hábitos cristalinos de acuerdo a la relación que se observa entre las caras del cristal. De forma práctica se han reconocido seis diferentes formas externas⁷⁵, las cuales pueden ocurrir en cualquier sistema cristalino, y tienen influencia en su desempeño como producto farmacéutico⁵³. En la figura 2.3 se muestra un diagrama esquemático de las diferentes formas externas que puede adoptar un cristal.

Las muestras con formas irregulares y ángulos con bordes que no muestran cli-vaje son típicamente amorfas. Las formas regulares son características de las formas cristalinas.

Muchas veces cristales que tienen distintas formas externas poseen la misma estructura interna y sus diferencias se deben a que ciertas caras tuvieron su crecimiento inhibido durante el crecimiento del cristal. Sin embargo, en muchas ocasiones las diferencias de formas en cristales de un mismo compuesto son indicativas de polimorfismo como en el caso de Ritonavir 2.4. En dicho caso los cristales de Ritonavir forma I tienen forma externa de cuchilla mientras que los de forma II tienen forma externa de aguja.

Al agregar filtros polarizadores un microscopio óptico puede convertirse en una herramienta analítica que permite determinar las propiedades ópticas de un cristal. Diferentes formas cristalinas de una molécula tienen propiedades ópticas distintas

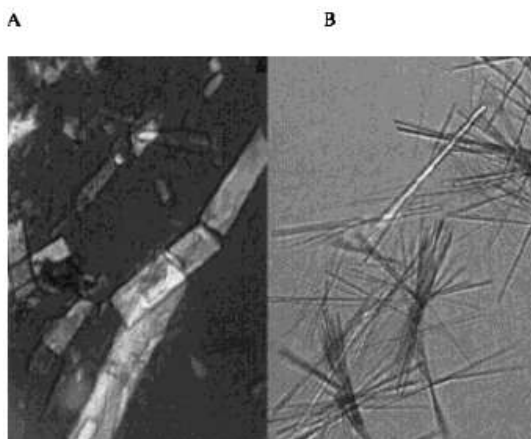


FIGURA 2.4: Cristales de Ritonavir. (A) Forma I (b) Forma II. Los cristales de forma I tienen una forma externa tipo cuchilla mientras que los de forma II tienen forma tipo aguja

como su color o su índice de refracción. Además la microscopía óptica es útil para la selección de monocristales para SC-XRD, ya que permite determinar su tamaño, su ángulo de extinción, posibles inclusiones y maclas⁷⁶.

Agregando una platina calentadora pueden observarse eventos inducidos térmicamente sobre la muestra como la fusión, desolvataciones o transiciones de fase sólido-sólido. Para calentar la muestra basta utilizar una resistencia calefactora, mientras que para el enfriamiento de la misma se hace circular nitrógeno líquido en forma controlada para enfriar la platina. En la figura 2.5 se muestra un esquema de un microscopio de transmisión de luz polarizada, con una platina calentadora.

La microscopía óptica de luz polarizada se basa en iluminar la muestra con luz polarizada (para esto se utiliza un polarizador) y luego colocar otro polarizador, llamado analizador, entre la muestra y el ocular. El analizador debe tener su eje óptico a 90° con respecto a la dirección de polarización de la luz incidente, de esta forma en ausencia de muestra se observa oscuridad total. Al colocar una muestra, si esta es isótropa, ya sea líquida, amorfa o de simetría cúbica y no presenta actividad óptica, entonces en el ocular se observa oscuridad independientemente de la orientación de la muestra. Existen otros casos donde el plano de la muestra puede ser isótropo, por ejemplo, el caso de una muestra tetragonal cuyo plano perpendicular a la luz incidente sea el plano (1,1,0). Otros sistemas cristalinos donde esto puede suceder son el hexagonal y el trigonal. En cambio si se tiene un cristal con direcciones anisotrópicas en el plano perpendicular a la dirección de propagación de la luz, este tendrá dos índices de refracción principales en dicho plano. A la diferencia entre ambos índices de refracción se la conoce como birrefringencia. Cuando la luz polarizada ingresa en dicho cristal con una dirección de polarización arbitraria, va a emerger con luz polarizada en dos direcciones perpendiculares que corresponden al eje rápido y al eje lento. A medida que avanzan dentro del cristal la luz que viaja polarizada con dirección en el eje lento va a sufrir un desfase con respecto a la que viaja polarizada con dirección en el eje rápido. La consecuencia de esto es que al recolectar la luz en el ocular del microscopio, uno de los haces tiene su eje de polarización rotado con respecto al otro haz, y por lo tanto se observarán colores por interferencia constructiva y destructiva de la luz blanca incidente. Las tablas de Michel-Levy⁷⁷ permiten relacionar los colores observados con la birrefringencia (la diferencia entre el índice de refracción más grande y el índice de refracción más chico en el plano de observación del cristal), el grosor del cristal y el retardo de la luz en el mismo. Además,

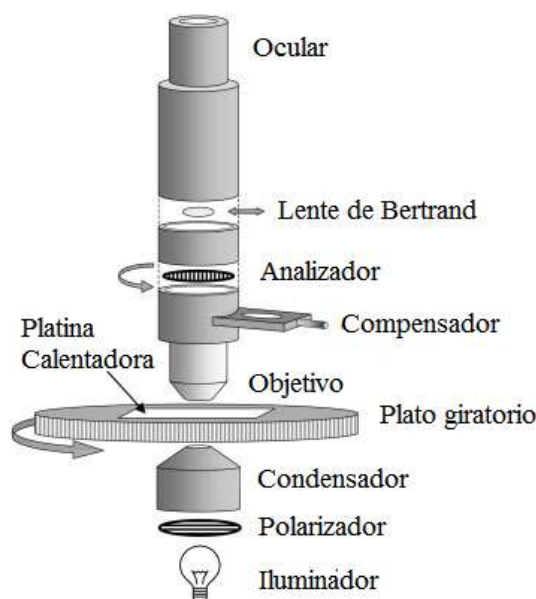


FIGURA 2.5: Esquema de los componentes básicos de un microscopio de transmisión de luz polarizada

estos colores de interferencia van a variar dependiendo de la orientación del cristal. Cuando una de las direcciones principales del cristal se alinea con la dirección del polarizador o del analizador, se observará oscuridad total, lo que se llama posición de extinción⁷⁶. De esta manera la microscopía de transmisión de luz polarizada permite identificar la calidad de monocristales para SC-XRD, con la excepción ya hecha de los cristales cúbicos.

Es por lo anterior que muchas veces se utiliza la microscopía óptica de luz polarizada como prueba de cristalinidad de una muestra⁷⁶. Sin embargo, como ya se ha dicho algunos cristales pueden fallar la prueba como pueden ser los cristales cúbicos. Por otra parte, muestras amorfas con múltiples fracturas, como las que se pueden producir en una desolvatación, pueden mostrar colores de interferencia porque la luz se despolariza por reflexión o dispersión.

Es por estos motivos que idealmente la cristalinidad debe ser verificada por difracción de rayos X.

2.3. Caracterización estructural: difracción de rayos X

2.3.1. Dispersión de Thomson

Cuando los rayos X interactúan con la materia pueden interactuar de dos formas distintas:

- Dispersión coherente o de Thompson: se caracteriza porque la longitud de onda de los rayos X incidentes y salientes son iguales, es decir que conserva su energía
- Dispersión inelástica o de Compton: la longitud de onda incidente y saliente son distintas

Por otra parte los rayos X pueden ser absorbidos por la materia con o sin fotoemisión.

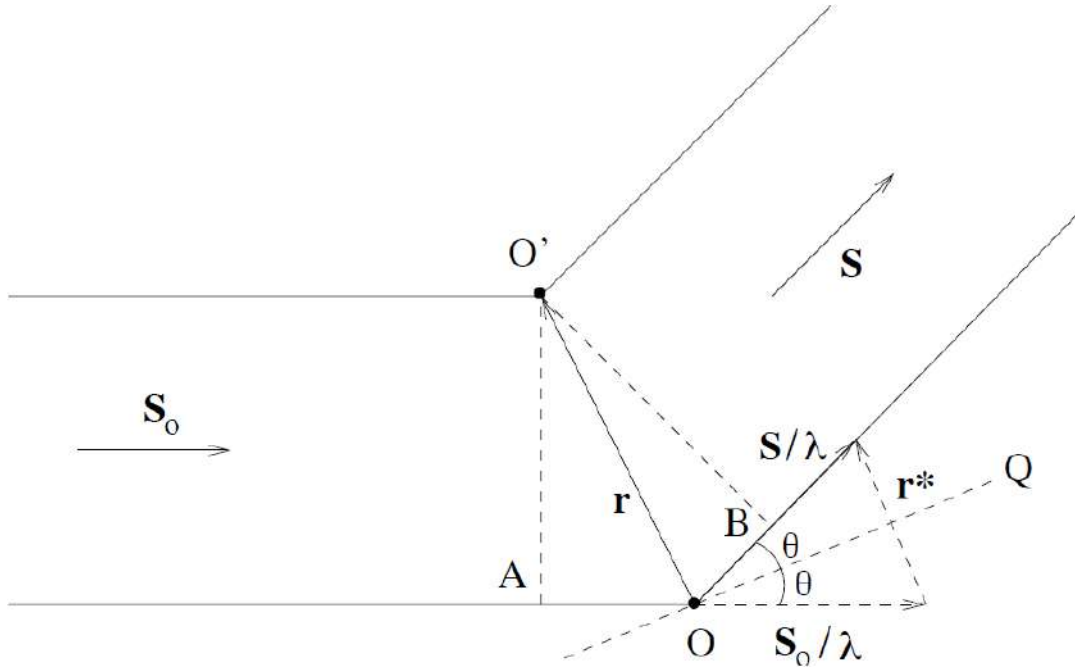


FIGURA 2.6: Esquema de la dispersión generada por dos centros de dispersión O y O'

La dispersión de Thomson es válida cuando la energía del fotón incidente (en este caso los rayos X) es menor que la energía de la partícula con que interactúa⁷⁸. En el caso de los rayos X y el electrón se puede estimar que la energía de los rayos X es dos órdenes de magnitud menor a la del electrón.

Se puede obtener una expresión para la intensidad dispersada por un centro de dispersión de Thomson I_e como la de la ecuación 2.1

$$I_e = I_{inc} \frac{e^4}{m^2 r^2 c^4} \frac{1 + \cos^2(2\Theta)}{2} \quad (2.1)$$

En dicha ecuación I_{inc} es la intensidad de los rayos X incidentes, e es la carga de la partícula en el centro de dispersión, m es la masa de dicha partícula y r es su tamaño característico. 2Θ es el ángulo entre el haz incidente y el haz dispersado. El término $\frac{1 + \cos^2(2\Theta)}{2}$ es un término que tiene en cuenta la polarización del haz incidente y el haz dispersado, donde Θ es el ángulo entre ellos. Dicho término implica que se va a observar un decaimiento en la intensidad para ángulos 2Θ grandes.

La dependencia inversamente proporcional al cuadrado de la masa tiene como consecuencia que la dispersión producida por un electrón sea 10^6 veces más intensa que la producida por un protón, haciendo la contribución de este último despreciable.

2.3.2. Interferencia

Si un haz incidente incide contra dos centros de dispersión, las ondas dispersadas interferirán entre sí. En la figura 2.6 se muestra un esquema de la situación, en que una onda incidente S es dispersada por dos centros de dispersión O y O' separados por una distancia r

Realizando un análisis trigonométrico de la figura 2.6 se puede deducir que la diferencia de fase δ entre ambos rayos dispersados esta dada por la ecuación 2.2

donde $r^* = \frac{\mathbf{S}-\mathbf{S}_0}{\lambda}$, y $\mathbf{S}$ y $\mathbf{S}_0$ son versores unitarios con la dirección indicada en la figura 2.6. De esta expresión surge que la longitud de onda utilizada debe ser del orden de la distancia entre los centros dispersores ya que si $\lambda \gg r$ entonces la diferencia de fase tiende a 0 y no habrá interferencia. Vale recordar que para dos haces de luz coherente que interfieren la intensidad será proporcional a $\cos^2(\frac{\delta}{2})$ ⁷⁹.

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda}(\mathbf{AO} + \mathbf{OB}) = \frac{2\pi}{\lambda} = 2\pi\mathbf{r}\mathbf{r}^* \quad (2.2)$$

Si A_0 es la amplitud de dispersión de la onda emitida por el centro de dispersión $\mathbf{O}$ en la figura 2.6 y $A_{0'}$ es la amplitud de la onda emitida por el centro $\mathbf{O}'$, entonces ambas van a estar relacionadas por la diferencia de fase de forma tal que $A_{0'} = A_0 e^{i\delta}$. Como a la amplitud de dispersión solo van a contribuir los electrones, A_0 y $A_{0'}$ dependen de la cantidad de electrones en cada uno de esos centros de dispersión. Definiendo como A_{Th} a la amplitud de dispersión producida por un electrón libre, se define el factor de forma $f = \frac{A}{A_{Th}}$ donde A es la amplitud de dispersión producida por un átomo.

Si en vez de 2 centros de dispersión tenemos N centros de dispersión, la dispersión total producida por los N centros de dispersión se puede escribir como en la ecuación 2.3

$$F(\mathbf{r}^*) = \sum_{j=1}^N f_j \exp^{2\pi i \mathbf{r}^* \mathbf{r}_j} = \int_V \rho(\mathbf{r}) \exp^{2\pi i \mathbf{r}^* \mathbf{r}_j} \quad (2.3)$$

La expresión 2.3 muestra que la amplitud de dispersión F es la transformada de Fourier de la densidad electrónica. Por lo tanto la densidad electrónica es la anti-transformada de Fourier de la amplitud de dispersión F .

Si asumimos que la densidad electrónica del átomo que funciona como centro de dispersión es esférica⁸⁰, entonces el factor de estructura de dicho átomo puede expresarse como en la ecuación 2.4. Esta expresión muestra que el factor de estructura decrece con $\frac{\sin \Theta}{\lambda}$ y para $\theta = 0$ el valor del factor de forma f_j debe ser igual al número de electrones del átomo Z . Una consecuencia directa de esto es que la intensidad de la dispersión es mayor para átomos pesados como los metales de transición y menor para elementos livianos como el hidrógeno.

$$f_j = \int_0^\infty 4\pi r^2 \frac{\sin 2\pi \mathbf{r} \mathbf{r}^*}{2\pi \mathbf{r} \mathbf{r}^*} \quad (2.4)$$

Otro parámetro que modifica al factor de forma es la temperatura. Un sólido a temperatura T sufre vibraciones de la red debido a la temperatura. dichas vibraciones provocan que el factor de forma a temperatura T este dado por la expresión 2.5

$$f_j(T) = f_j(0) \exp\left(-B \frac{\sin^2(\Theta)}{\lambda}\right) \quad (2.5)$$

El parámetro B es conocido como el factor de Debye-Waller. Dicho factor se puede escribir como $B = 8\pi^2 U$ donde U es conocido como el factor térmico isotrópico, y se interpreta como el desplazamiento del átomo promediado en todas las direcciones. Un mejor refinamiento de un modelo atómico se obtiene considerando la anisotropía del factor de desplazamiento en cuyo caso el desplazamiento en cada dirección sera distinto y estara dado por un tensor $\bar{U}$ de desplazamientos térmicos. Este tensor es simétrico ($U_{21} = U_{12}$) y su diagonalización da los ejes principales de desplazamiento térmico conforman las direcciones principales del elipsoide de desplazamiento térmico del átomo. En este caso el parámetro B se determina como

$B = 2\pi^2 r^* \bar{U} r^{*80}$. De la expresión 2.5 se observa que el efecto de las vibraciones es disminuir la intensidad de los picos de Bragg a alto ángulo.

2.3.3. Difracción por un cristal

Como se ha visto en el capítulo 1, un cristal puede ser descrito por una red infinitamente periódica. Por lo tanto el cristal puede ser visto como la repetición infinita de la celda unidad por un vector de traslación $\mathbf{R}_{u,v,w} = u\mathbf{a} + v\mathbf{b} + w\mathbf{c}$ donde $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$ y $\mathbf{c}$ son tres vectores no coplanares que describen la red cristalina.

En cada celda unidad tendremos una densidad electrónica ρ_c y podemos utilizar la ecuación 2.3 para describir la amplitud de dispersión producida por dicha celda unidad, donde j cuenta la cantidad de centros de dispersión que pueden ser átomos o moléculas. Por lo tanto la amplitud de scattering total dada por el cristal se puede describir como en la ecuación 2.6 donde δ es la delta de Dirac y $\mathbf{R}_{h,k,l} = h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*$ es el vector de traslación en el espacio recíproco.

$$F = \int_V \rho_c(\mathbf{r}) \exp^{2\pi i \mathbf{r}^* \cdot \mathbf{r}_j} \sum_{u,v,w=-\infty}^{\infty} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_{u,v,w}) = \frac{1}{V} F(\mathbf{R}_{h,k,l}^*) \sum_{h,k,l=-\infty}^{\infty} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_{h,k,l}^*) \quad (2.6)$$

De la ecuación 2.6 se pueden obtener las condiciones de difracción de Laue 2.7, que a su vez pueden ser sintetizadas en la conocida ecuación de Bragg 2.8 donde $d_{h,k,l} = \frac{n}{|\mathbf{R}_{h,k,l}|}$ con n algún número entero

$$\mathbf{a}(\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) = h\lambda \mathbf{b}(\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) = k\lambda \mathbf{c}(\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) = l\lambda \quad (2.7)$$

$$\lambda = 2d \sin(\theta) \quad (2.8)$$

2.3.4. Generación y detección de rayos X

En los equipos de laboratorio los rayos X son generados por tubos de rayos X donde un filamento, generalmente de Tungsteno, se pone incandescente en el lado del cátodo y del otro lado se coloca un ánodo de cobre o molibdeno de manera tal que se pueda generar una diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo. En la figura 2.7 se muestra el esquema experimental de un tubo de rayos X. En este tubo se generan los rayos X por dos mecanismos diferentes:

- Radiación Blanca: A medida que los electrones se mueven desde el cátodo hacia el ánodo van perdiendo energía a través de múltiples colisiones. La energía que lleva un electrón acelerado es $E = e.V$ donde V es la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo. Suponiendo que toda la energía se pierda siendo radiada como un fotón, esto impone que $e.V = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$ con h la constante de Planck, ν la frecuencia correspondiente al fotón, c la velocidad de la luz y λ la longitud de onda del mismo. Esto impone una longitud de onda mínima $\lambda_{min} = \frac{hc}{eV}$ que es menor a mayores voltajes. La consecuencia de esto es que el espectro de radiación blanca emitido arranca en λ_{min} , es decir, debajo de este valor no hay intensidad emitida. Los espectros tienen un máximo de intensidad a aproximadamente $1.5\lambda_{min}$ y luego vuelven a decrecer. En la medida que se aumenta el voltaje entre el ánodo y el cátodo, tanto el máximo de intensidad como λ_{min} sufren un corrimiento hacia valores más bajos⁸¹.
- Espectro discreto: Cuando se supera cierta energía de los electrones que chocan contra el ánodo aparece rayos X de espectro discreto. Estos se producen por la

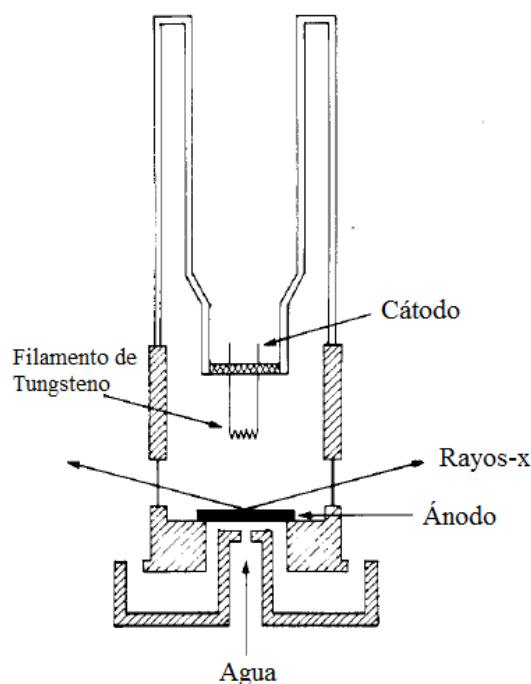


FIGURA 2.7: Esquema de un tubo de rayos X utilizado en el laboratorio

excitación de los electrones del material del ánodo desde el nivel fundamental a niveles de energía más alto. Eventualmente, estos electrones volverán a decaer a niveles de energía más bajos emitiendo fotones de frecuencia dada por la diferencia de energía entre los distintos niveles. De esta manera, eligiendo el material adecuado pueden producirse rayos X de longitud de onda bien definida. El evento más probable es un electrón del primer estado excitado que decae al fundamental, generando radiación denominada K_{α} . Cuando el electrón decae del segundo estado excitado al fundamental la radiación se llama K_{β} . En la figura 2.8 se muestra el espectro de energías observado para un cátodo de cobre, donde ambos tipos de espectros se encuentran superpuestos. Tanto la radiación K_{α} como la radiación K_{β} se encuentran subdivididas debido a las pequeñas diferencias de energía que producen los distintos estados de espín posibles del electrón. Es por esto que con mayor resolución se observa que el K_{α} se encuentra a su vez subdividido en un doblete K_{α_1} y K_{α_2} . Mientras que la línea K_{β} pueden ser eliminada mediante el uso de un monocromador, es más difícil lograr lo mismo con el doblete debido a la pequeña diferencia que tienen en longitud de onda, es por esto que en esta tesis todos los experimentos de difracción se han realizado con radiación K_{α_1} y K_{α_2} presentes. Típicamente en los experimentos se han utilizado tubos con radiación de Cobre ($K_{\alpha} = 1.5418\text{\AA}$) o de Molibdeno ($K_{\alpha} = 0.7107\text{\AA}$)⁸¹

Es importante hacer notar que este método de generación de rayos X va a generar radiación con polarización natural.

Hoy en día los detectores que se utilizan son detectores de área. Consisten en una matriz de detectores CCD (dispositivo de acoplamiento de carga) que convierten los rayos X incidentes en señales eléctricas permitiendo de esta manera la detección de la intensidad incidente.

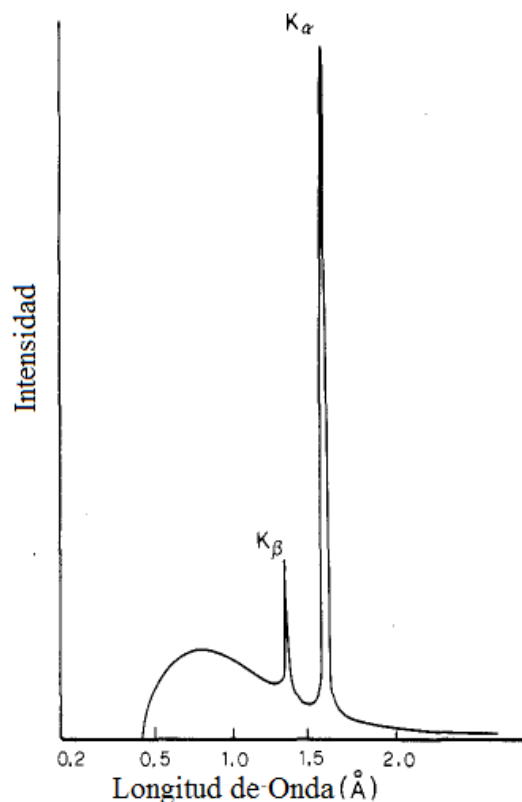


FIGURA 2.8: Intensidad de radiación en función de la longitud de onda para un cátodo de Cobre

2.3.5. Difracción de polvo

Varias geometrías han sido propuestas y utilizadas para las mediciones de difracción de rayos X. Para muestras de polvo (muestras compuestas de cristales de tamaños del μm o menor), se suele utilizar la geometría de Bragg-Brentano que proporciona una buena resolución angular y alta intensidad de los haces difractados. En la figura 2.9 se muestra un esquema de la configuración con la que se realiza esta geometría. La medición suele realizarse en condición bisectante (el ángulo entre la muestra y el detector es igual al ángulo entre la muestra y la fuente) y el difractómetro es alineado en forma tal que los haces difractados por la muestra hagan foco sobre el detector. Por otra parte, el haz de la fuente pasa por una abertura divergente de forma tal que irradie toda la muestra. Todos los puntos de la muestra que se encuentran a igual distancia de la fuente se encuentran enfocados, y son enfocados y recolectados en el detector. De esta manera se logra tener alta intensidad y alta resolución angular⁸². Tanto la fuente como el detector son desplazados con un motor paso a paso para poder realizar un barrido angular.

En el caso de tener un detector de área, se observarán anillos de Debye en la posición angular que corresponda y luego se podrán integrar los anillos sobre todo el ángulo para obtener el patrón de difracción como se muestra en la figura 2.10.

A partir de la ecuación de Bragg 2.8 y el difractograma para un dado compuesto se puede intentar indexar los picos de difracción observados de manera que se obtenga la celda de dicha estructura. Existen varios algoritmos desarrollados para la indexación^{84,85}, y una vez determinada la celda unidad se puede proceder a buscar el correspondiente sistema cristalino y grupo espacial. Si se tiene éxito, se puede intentar obtener una estructura cristalina, sin embargo, esto no suele ser fácil ya que al

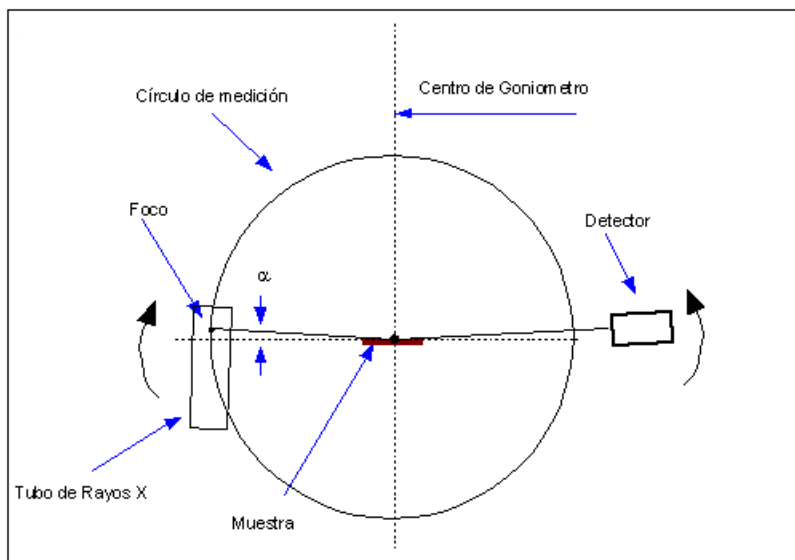


FIGURA 2.9: Esquema experimental de la configuración de Bragg-Brentano para medir difracción de polvos

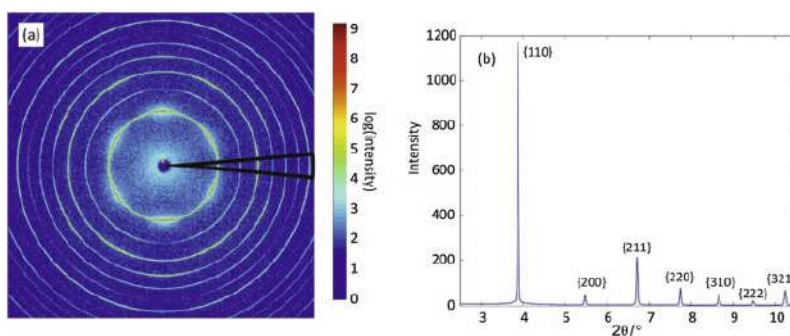


FIGURA 2.10: (a) Anillos de Debye observados en una muestra (b) Difractograma obtenido de la integración de los anillos de Debye. Extraído de Erinosho et.al.⁸³

problema de las fases se le agregan problemas generados por la configuración experimental. El problema principal que se enfrenta es que todos los haces difractados en el espacio han sido proyectados sobre una línea, de forma tal que se puede producir supeposición sobre una misma línea entre distintos haces difractados. Además, se pueden enfrentar problemas de orientación preferencial de la muestra, entre otros. Es por esto que usualmente se utiliza difracción de monocristal para resolver estructuras cristalinas.

Si se tiene un modelo conocido de la estructura cristalina del compuesto se puede utilizar el método de Rietveld para refinar parámetros tanto instrumentales como de la estructura⁸⁶. Se puede comparar la intensidad calculada y_c según el modelo con la intensidad medida y_o y minimizar por cuadrados mínimos el residuo S de la ecuación 2.9 donde w es un factor de peso que tiene en cuenta la intensidad del pico de difracción y el fondo.

$$S = w |y_o - y_c|^2 \quad (2.9)$$

La intensidad calculada se puede describir como en la ecuación 2.10 donde s es el factor de escala (depende de la masa de muestra irradiada), k cuenta sobre todos los haces difractados, m_k es la multiplicidad correspondiente a ese pico (cuantas reflexiones equivalentes por simetría contribuyen), F_k el factor de estructura, L_k el factor de polarización ($L_k = \frac{1+\cos^2(2\Theta)}{2}$ en el caso de que se utilice una fuente de laboratorio) y $G(\Delta\theta_{i,k})$ es la función con que se modela el pico (usualmente se utiliza una pseudo-Voight o Pearson VII, siendo esta última la utilizada en los ajustes de Rietveld de esta tesis) corregida por el corrimiento de cero que pueda tener el detector. y_b es la intensidad del fondo que usualmente se modela con un polinomio interpolador.

$$y_c = s \sum_k m_k |F_k|^2 L_k G(\Delta\theta_{i,k}) + y_b \quad (2.10)$$

Todos los parámetros involucrados directa o indirectamente en la ecuación 2.10 pueden ser refinados además de los parámetros de celda, las posiciones atómicas y los parámetros térmicos correspondientes a cada átomo.

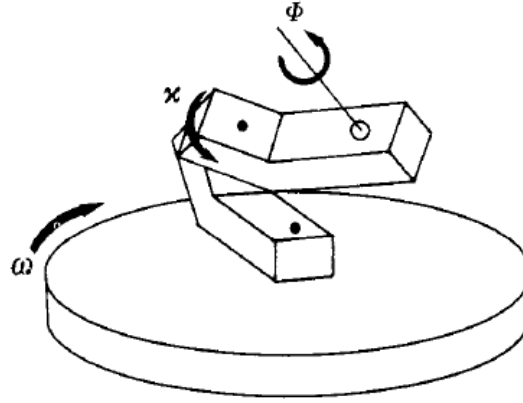
Por otra parte, en el caso de que la muestra contenga varias estructuras cristalinas, el método permite refinar dichos parámetros para cada una de las estructuras. Del cociente del factor de escala correspondiente a cada una de ellas se puede obtener la proporción de cada una de las fases.

El método se encuentra implementado en el programa Fulprof⁸⁷.

2.3.6. Difracción de monocristal

Un difractómetro de monocristal consiste en una fuente de rayos X, un detector y un goniómetro. Una muestra monocristalina del orden de 0.1mm de lado se monta sobre el goniómetro de forma tal que se pueda controlar la orientación del monocristal. Los difractómetros utilizan la geometría ecuatorial en la cual el detector se mueve en un plano horizontal definido por la línea de los rayos X incidentes y la rotación del detector alrededor de un eje que pasa por el cristal. Al utilizar detectores de área se pueden coleccionar todas las reflexiones correspondientes a la orientación del cristal en un amplio rango angular.

Existen múltiples geometrías posibles para el goniómetro, en particular una geometría muy utilizado es la geometría kappa mostrada en la figura 2.11. Como alcanza con dos ejes de rotación para obtener la orientación de cualquier plano cristalino

FIGURA 2.11: Esquema de un goniómetro con geometría κ

en un monocristal, es común la utilización de goniómetros con ángulo χ fijo como en el caso del difractómetro Bruker D8 Quest ECO utilizado en múltiples mediciones durante esta tesis.

El primer paso en una medición es determinar la matriz de orientación. Para esto se define un conjunto de vectores ortonormales, $\vec{a}_D$ es el eje paralelo al haz de rayos X, $\vec{b}_D$ es perpendicular a $\vec{a}_D$ y se encuentra en el plano ecuatorial con sentido positivo donde 2θ es positivo, mientras que $\vec{c}_D$ es perpendicular a estos dos de manera tal que los tres vectores formen una terna derecha, $\mathbf{A}_D$. Por otra parte se define el sistema de ejes cristalinos $\mathbf{A}_C$ que coincide con el sistema anterior cuando todos los ángulos del goniómetro son 0 y es solidario al cristal. Para relacionar ambos sistemas de referencia se define la matriz $\mathbf{F}$ tal que $\mathbf{A}_C = \mathbf{F} \cdot \mathbf{A}_D$.

Dado un vector del espacio recíproco $\vec{r}^*$, sus coordenadas en el sistema de referencia solidario al cristal son $\mathbf{X}_C = (x_C, y_C, z_C)$ mientras que en el sistema de laboratorio son $\mathbf{X}_D = (x_D, y_D, z_D)$. Se puede demostrar que $\mathbf{X}_C = \mathbf{F} \cdot \mathbf{X}_D$, y de esta manera sabiendo las coordenadas de un nodo del espacio recíproco en el sistema solidario al cristal sabemos automáticamente las coordenadas ω , ϕ y χ que le corresponden. Para calcular la posición de cualquier otro nodo de la red recíproca en el sistema solidario al cristal se utiliza la matriz de orientación $\mathbf{U}$ definida como $\mathbf{A}^* = \mathbf{U} \cdot \mathbf{A}_C$ donde $\mathbf{A}^*$ es la matriz de coordenadas con respecto al sistema de referencia correspondiente al espacio recíproco. De manera que conociendo la matriz $\mathbf{U}$ se puede determinar la posición en el sistema de laboratorio de cualquier nodo de la red recíproca.

Si medimos tres reflexiones, entonces sus posiciones en el sistema de laboratorio χ , ϕ y ω van a ser conocidas. A partir de esto se puede calcular las posiciones de los tres puntos nodales en el sistema de referencia solidario al cristal X_{C1} , X_{C2} y

X_{C3} . Definimos la matriz $\mathbf{X}_M = \begin{pmatrix} X_{C1} \\ X_{C2} \\ X_{C3} \end{pmatrix}$ y la matriz $\mathbf{H}_M$ de las correspondiente

a los índices de Miller de dichas reflexiones. De esta manera se puede probar que $\mathbf{U} = \mathbf{H}_M^{-1} \cdot \mathbf{X}_M$, de forma tal que a partir de tres reflexiones no coplanares se puede determinar $\mathbf{U}$.

Una propiedad importante de la matriz de orientación es que $\mathbf{U} \cdot \mathbf{U}^T = \mathbf{G}^*$ donde $\mathbf{G}^*$ es la matriz métrica del espacio recíproco⁸¹.

La matriz métrica $\mathbf{G}$ se define como en la ecuación 2.11 y tiene múltiples propiedades importantes. En primer lugar, sus elementos definen los parámetros de celda $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$ y $\mathbf{c}$ y los ángulos que forman entre ellos. De esta manera al obtener la matriz de orientación se puede obtener la celda correspondiente al cristal medido.

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} \vec{a} \cdot \vec{a} & \vec{a} \cdot \vec{b} & \vec{a} \cdot \vec{c} \\ \vec{b} \cdot \vec{a} & \vec{b} \cdot \vec{b} & \vec{b} \cdot \vec{c} \\ \vec{c} \cdot \vec{a} & \vec{c} \cdot \vec{b} & \vec{c} \cdot \vec{c} \end{pmatrix} \quad (2.11)$$

El determinante de la matriz $\mathbf{G}$ es el volúmen de la celda elevado al cuadrado. Para un dado vector $\vec{r}$ se obtiene que $\vec{r}^2 = \vec{r}^T \cdot \mathbf{G} \cdot \vec{r}$, y a partir de este resultado la matriz métrica se puede utilizar para calcular la distancia entre dos átomos.

Una vez obtenida la matriz métrica se pueden realizar todo tipo de cálculos de distancia interatómicas, ángulos entre tres átomos y ángulos de torsión entre cuatro átomos, los cuales se define como el ángulo formado entre el plano que conforman los primeros tres átomos y el plano que conforman los últimos tres.

2.3.7. Extinciones sistemáticas y determinación del grupo espacial

Las simetrías en el espacio directo se reflejan en el espacio recíproco. Si en el espacio directo existe una simetría de rotación de orden 2 alrededor del eje cristalográfico $\vec{b}$, entonces se cumple la relación entre intensidades $I_{hkl} = I_{\bar{h}\bar{k}l} = I_{h\bar{k}l} = I_{hkl}$. Todos los ejes de rotación y los planos especulares generarán simetrías en las intensidades de las reflexiones.

La ley de Friedel establece que el espacio recíproco siempre es centrosimétrico. Si bien esta ley no es exacta y su violación permite calcular la quiralidad de la estructura por medio del parámetro de Flack, el hecho de que el espacio recíproco sea siempre centrosimétrico impide determinar con facilidad la existencia o no de un centro de simetría en la estructura cristalina. Sin embargo, la presencia de un centro de simetría genera la restricción de que las posibles fases presentes deben ser 0 o π y la distribución estadística de intensidades que se espera es distinta para una estructura centrosimétrica que para una no centrosimétrica.

Si las moléculas que componen el cristal son quirales, los posibles grupos espaciales donde cristaliza quedan restringidos a los grupos espaciales quirales, aquellos que no poseen planos especulares ni centros de simetría.

En los demás casos, la distribución estadística de las intensidades normalizadas para estructuras centrosimétricas difiere con la distribución para estructuras no centrosimétricas. Las intensidades normalizadas se definen como en la ecuación 2.12 donde $\langle |F|^2 \rangle = \epsilon \sum_{j=1}^N F_j^2$, con ϵ un factor de peso dependiente de la simetría de la red recíproca.

$$|E_h| = \frac{|F_h|}{\sqrt{\langle |F|^2 \rangle}} \quad (2.12)$$

Se puede deducir que las distribuciones para la estructura centrosimétrica y la no centrosimétrica son las dadas por la ecuación 2.13⁸⁸.

$$P_{Centrosimétrico} = \sqrt{\frac{2}{\pi}} \exp\left(-\frac{|E|^2}{2}\right) \quad P_{NoCentrosimétrico} = 2|E| \exp(-|E|^2) \quad (2.13)$$

Comparando la distribución obtenida experimentalmente con la predicción teórica se puede decidir si hay un centro de simetría presente en la estructura o no.

Cuando las estructuras cristalinas poseen simetrías de traslación tales como centrados, planos con deslizamiento o ejes tornillo, estas producen extinciones sistemáticas. Las extinciones sistemáticas son un conjunto de intensidades que las simetrías

imponen que sean nulas. Por ejemplo un eje 2_1 paralelo al eje cristalográfico $\mathbf{b}$ impone que las reflexiones $0k0$ con k impar se anulen. Observando la existencia de dichas extinciones sistemáticas para el conjunto de reflexiones observadas en una dada estructura se puede determinar la posible existencia de simetrías traslacionales.

Utilizando todos los elementos anteriores es posible determinar los posibles grupos espaciales a los que puede pertenecer la estructura⁸⁰.

2.3.8. El problema de las fases

Como se mencionó anteriormente, la densidad electrónica puede ser obtenida como la anti-transformada de Fourier discreta de los factores de estructura. Sin embargo, en el proceso de medición no se puede obtener el factor de estructura F de la onda dispersada, solamente se puede obtener la intensidad de la misma $I_{h,k,l} = |F_{h,k,l}|^2$. De esta forma se obtiene la información sobre el valor absoluto del factor de estructura de la onda dispersada pero se pierde la información sobre las fases necesaria para obtener la densidad electrónica y poder resolver la estructura.

En principio, la magnitud de la fase y la amplitud de un vector de onda son cantidades independientes, pero en el caso de los rayos X interactuando con un cristal es importante notar ciertas características de la densidad electrónica:

- La densidad electrónica es siempre positiva
- La densidad electrónica esta compuesta de átomos discretos

Hauptman y Karle en 1948 encontraron relaciones matemáticas capaces de dar información sobre las fases, lo que les valió el premio Nobel en 1985⁸⁹. En 1953 Sayre se dió cuenta que para átomos iguales y bien resueltos la densidad electrónica ρ y la función ρ^2 son similares dando máximos en las mismas posiciones. Operando con transformadas de Fourier y convoluciones pudo llegar a la ecuación de Sayre 2.14⁹⁰.

$$F_{\mathbf{h}} = \frac{\Theta_{\mathbf{h}}}{V} \sum_{\mathbf{k}} F_{\mathbf{h}} F_{\mathbf{h}-\mathbf{k}} \quad (2.14)$$

Multiplicando ambos lados de la ecuación 2.14 por $F_{-\mathbf{h}}$ se obtiene la expresión $|F_{\mathbf{h}}|^2 = \frac{\Theta_{\mathbf{h}}}{V} \sum_{\mathbf{k}} |F_{\mathbf{h}} F_{\mathbf{k}} F_{\mathbf{h}-\mathbf{k}}| \exp(\phi_{-\mathbf{h}} + \phi_{\mathbf{k}} + \phi_{\mathbf{h}-\mathbf{k}})$ de donde se puede deducir que si $|F_{\mathbf{h}}|$ es grande, la fase debería ser cercana a 0, por lo que $(\phi_{-\mathbf{h}} + \phi_{\mathbf{k}} + \phi_{\mathbf{h}-\mathbf{k}}) \simeq 0$. En el caso de estructuras centrosimétricas, donde las fases solo pueden valer 0 o π , la relación se convierte en una relación de signos entre reflexiones $S(-\mathbf{h})S(\mathbf{k})S(\mathbf{h}-\mathbf{k}) \simeq +$. Las expresiones se cumplen en terminos probabilísticos ya que las igualdades no son exactas. Esto muestra la necesidad de utilizar métodos probabilísticos para el uso de los métodos directos.

Varias cantidades que contienen relaciones entre las amplitudes y las fases son llamadas invariantes de estructura (dependen solo de la estructura) y otros semi-invariantes de estructura porque permiten obtener invariantes de estructura al agregar fases equivalentes relacionadas por simetría. Todas estas cantidades se utilizan para determinar estructuras por métodos directos, que en su implementación comparten siempre una serie de pasos:

- Normalización: Las intensidades medidas se normalizan de acuerdo a la intensidad 2.12
- Definir relaciones de fase: Se seleccionan las reflexiones más intensas para determinar invariantes y semi-invariantes de estructura

- Dado el conjunto inicial de fases, las demás se van obteniendo en un proceso encadenado. El proceso se repite para varios conjuntos de fases iniciales y de acuerdo a las figuras de mérito se eligen las mejores soluciones

Como resultado de la resolución de la estructura se obtendrá la densidad electrónica del cristal. Por simetría, la misma es examinada solamente en la unidad asimétrica ya que a partir de esta se puede generar el resto del cristal. Los picos más intensos son interpretados como átomos de acuerdo a la estructura molecular esperada de las moléculas que componen el cristal y de esta manera se obtiene un modelo inicial a partir del cual refinar la estructura.

En los últimos tiempos se han avanzado con otros métodos para la resolución de estructuras. En particular el método de *intrinsic phasing* ha sido desarrollado e implementado en el programa *shelXT*⁹¹. Este método no requiere de la determinación previa del grupo espacial puesto que comienza uniendo los datos idénticos por simetría de acuerdo al grupo de Laue y luego utilizando métodos directos sobre dichas reflexiones en el grupo espacial P1. Una pequeña modificación puede ser introducida con respecto a los métodos directos en cuanto las fases iniciales que pueden ser elegidas por mínimos de la función de Patterson, en vez de hacer una elección inicial al azar. Luego se realiza un procedimiento llamado *dual space recycling* mediante el cual se refinan las fases en el espacio recíproco, se calcula el mapa de densidad electrónica correspondiente, en base a este mapa se deciden las posiciones de los átomos y con este modelo se vuelve a calcular las fases en el espacio recíproco. En el método de *Intrinsic Phasing* cada cierta cantidad de ciclos se realiza la omisión de ciertos máximos observados en el mapa de Fourier. Finalmente, se testean todos los posibles grupos espaciales para finalmente obtener la estructura resuelta y el grupo espacial correspondiente⁹¹.

2.3.9. Refinamiento de estructuras

Una vez que se obtuvo el modelo estructural inicial se procede a refinar la estructura: completar los fragmentos de una molécula que no se vieron en la solución, agregar los átomos de hidrógeno y refinar los parámetros térmicos. En algunos casos puede requerirse algún refinamiento adicional de algún desorden posicional y/o sustitucional, existencia de maclas, etc. El método que se utiliza para realizar estos refinamientos es el método de cuadrados mínimos. El método consiste en calcular un conjunto de factores de estructura a partir del modelo que se tiene aplicando la transformada de Fourier. Esta se lo compara con el conjunto de intensidades medido. Se realizan varios ciclos modificando los parámetros del modelo y se escoge como mejor modelo aquel que minimiza el parámetro $M = w \sum_i (F_{i,C}^2 - F_{i,O}^2)^2$. Eventualmente se puede utilizar el módulo de $\vec{F}_{i,O}$ y $\vec{F}_{i,C}$ en lugar de la intensidad. Históricamente los refinamientos se realizaban utilizando el módulo pero esto implica tomar la raíz cuadrada de las intensidades medidas lo cual introducía errores numéricos por los errores en las reflexiones débiles de manera que actualmente se realiza el refinamiento contra las intensidades.

En el refinamiento las reflexiones de alto ángulo tienen información relevante. Es por esto que se suele considerar a $d = \frac{\lambda}{2 \sin \Theta}$ como un parámetro que da la resolución de los datos. Es convención que esta resolución debe ser de al menos 0.83 Å que se corresponde con la distancia usual C-H. Para considerar que una reflexión fue observada se pide que se cumpla $\frac{I}{\sigma} \geq 2.0$ donde σ es el desvío standard de la reflexión. Además, para las reflexiones observadas a una dada resolución se considera que se debe cumplir $R_{int} \leq 0.45$ para considerar dichas reflexiones significativas, donde

$R_{int} = \sum_i \frac{|\sqrt{I_{i,O}} - \sqrt{I_{i,C}}|}{\sqrt{I_{i,O}}}$. Por otra parte, los estándares internacionales de la Unión Internacional de Cristalografía (IUCr) exigen que el conjunto de datos debe presentar al menos 98.5 % de completitud para la resolución observada.

Por cada estructura existe un factor de escala a ajustar (en caso de tener una macla existieran tantos factores de escala a ajustar como individuos), tres coordenadas por átomo, seis factores de desplazamiento anisotrópicos por átomo (excepto que sean hidrógenos, en cuyo caso no se ajustan dichos parámetros). Esto va a generar una cantidad de parámetros a refinar entre 9 y 10 veces la cantidad de átomos en la estructura, lo que da un requerimiento de una cantidad mínima de reflexiones por cantidad de parámetros. El cociente entre ambas cantidades debe ser de al menos 8 para estructuras no centrosimétricas y al menos 10 para estructuras centrosimétricas de acuerdo a la IUCr.

No todos los parámetros que se utilizan en un modelo son independientes. Existen parámetros que son fijados y al cual no se le permite variar su valor. Estos parámetros se los llama *constraints*. Un ejemplo de esto es el factor de ocupación de un átomo que en general vale 1. Este *constraint* puede ser removido en casos donde haya desorden sustitucional, y haya que refinar la ocupación de dos átomos distintos en una misma posición.

Otro caso de *constraints* importante es el de los átomos de hidrógeno. Los átomos de hidrógeno se colocan a la distancia esperada X-H la cual se deja constante a la vez que se fija el ángulo Y-X-H en la forma esperada. Luego se refina las posiciones de los átomos X e Y de forma tal que el átomo de hidrógeno se mueve con ellos.

Una manera de poner restricciones menos drásticas a un parámetro es utilizando *restraints*. Si existe un *restraint* la función a minimizar cambia por $M = w \sum_i (F_{i,C}^2 - F_{i,O}^2)^2 + \sum_t \frac{1}{\sigma^2} (R_t - R_O)^2$ donde σ es el desvío standard que se le asigna al *restraint*, R_t es el valor objetivo de dicho *restraint* y R_O es el valor que efectivamente se observa. Un *restraint* suele utilizarse para imponer al modelo información extra que se tiene de una molécula (por ejemplo, que cierto anillo es aromático y por tanto sus átomos deben estar contenidos en un plano)⁹².

2.4. Caracterización térmica

2.4.1. Termogravimetría

La termogravimetría es una técnica que consiste en medir las variaciones de masa que se producen en una muestra bajo estudio durante su calentamiento. En las ciencias farmacéuticas su uso ha sido acotado a la medición de la cantidad de agua perdida durante una deshidratación y el rango de temperatura en el que ocurre. En menor proporción, para determinar la temperatura en que un dado compuesto descompone.

Las mediciones pueden realizarse isotérmicamente o variando la temperatura a velocidad constante. Aunque es posible realizar las mediciones bajo distintos ambientes, todas las mediciones realizadas en esta tesis fueron hechas en atmósfera de N_2 .

En la figura 2.12 se muestra un esquema genérico de un dispositivo para realizar estudios de termogravimetría. Diferentes sistemas pueden ser utilizados para la microbalanza, aunque generalmente el sistema funciona utilizando una masa de referencia en un brazo de la balanza, estable en el rango de temperatura a utilizar y la muestra a medir en el otro brazo de la balanza de forma tal que se puedan medir los corrimientos del equilibrio. Para los distintos tipos de balance el desplazamiento

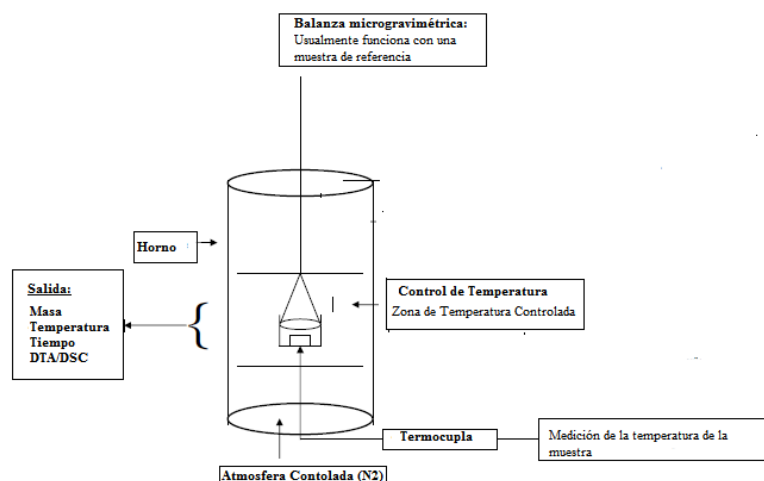


FIGURA 2.12: Esquema de un dispositivo para realizar mediciones de TG

que se puede producir en uno de los brazos es proporcional a la variación de masa. La mayoría de las balanzas que se utilizan usan un material magnético a través del cual se circula una corriente para restituir el equilibrio en ambos brazos. Midiendo la corriente que fue necesario entregar se obtiene una medición de la variación de masa. Simultáneamente la temperatura de la muestra es medida con una termocupla de forma tal que a distintos tiempos se obtienen mediciones de masa y temperatura de la muestra. Algunos equipos además incorporan mediciones de análisis térmico diferencial (DTA) o calorimetría diferencial de barrido (DSC)⁹³. Las mediciones de termogravimetría(TG) realizadas en esta tesis se realizaron en un equipo Shimadzu DTG 50 que permite realizar mediciones simultáneas de TG y DTA

2.4.2. Calorimetría diferencial de barrido y analisis térmico diferencial

La técnica de calorimetría diferencial de barrido se basa en la aplicación de un calentamiento o enfriamiento con una velocidad de variación constante de la temperatura y la medición de la temperatura y energía asociadas a cualquier evento térmico que sufra la muestra como puede ser una fusión, una descomposición una reacción química, una deshidratación, etc. También es posible realizar mediciones isotérmicas. En las mediciones realizadas en esta tesis se utilizó un equipo TA2000 de la empresa TA instruments que permite realizar mediciones entre -150°C y 400°C .

Para realizar mediciones de DSC usualmene se utiliza un crisol de aluminio vacío. Historicamente la técnica de DTA fue introducida antes que la técnica de DSC. En la figura 2.13 se muestra un esquema básico del funcionamiento de un equipo de DTA y un equipo de DSC.

En ambos casos se mide la temperatura de la muestra y la referencia con un par de termocuplas de manera tal que la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia permite observar la existencia de un evento térmico y determinar la temperatura en que ocurre. DSC se desarrolló en los años 60 para superar la incapacidad de DTA de obtener mediciones cuantitativas de la variación de Entalpía de la muestra durante el evento. En el caso de DTA se trata de que la capacidad calorífica de la muestra y de la referencia sea aproximadamente iguales. De esta manera, a medida que la temperatura del ambiente aumenta con el horno, la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia es practicamente nula. Cuando un evento térmico

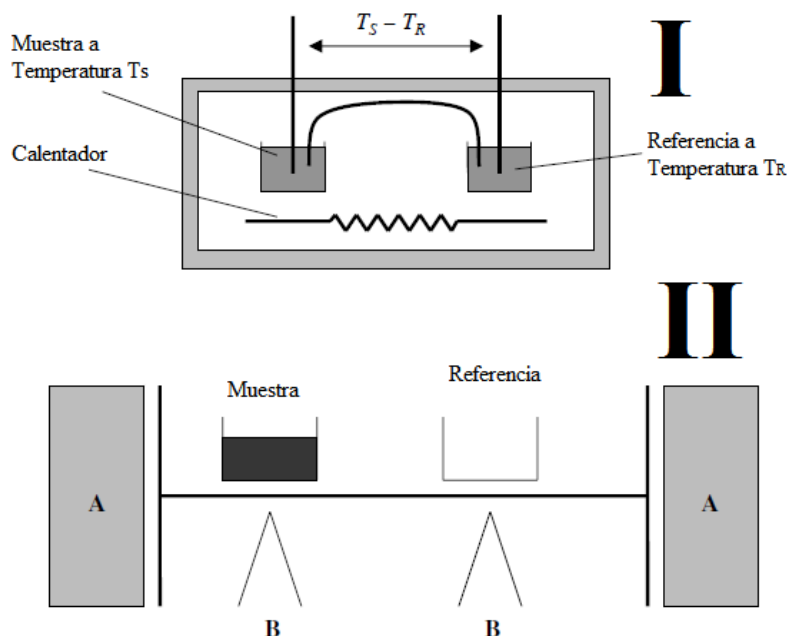


FIGURA 2.13: I) Esquema de un dispositivo para realizar mediciones de DTA. II) Esquema de un dispositivo para realizar mediciones de DSC por Flujo de Calor. A es el horno y B son termocuplas

ocurre en la muestra (por ejemplo, una fusión) esta mantendrá su temperatura prácticamente constante mientras que la referencia seguirá aumentando su temperatura. Cuando este evento culmine, la temperatura de la muestra volverá a equilibrarse con la del ambiente y la muestra. Esto formará un pico en la resta de temperaturas cuyo máximo se corresponde con el instante de máxima velocidad de ocurrencia del evento en la muestra. El comienzo de este evento se suele caracterizar con una temperatura donde se produce el quiebre entre la línea de base y el pico que se conoce como temperatura de *onset*⁹⁴.

El problema con la medición de DTA es que el área del pico en un evento se encuentra relacionada con la resistencia térmica entre el horno y la termocupla que se utiliza para medir temperatura. Esta resistencia térmica se encuentra influenciada por la muestra a medir. Para superar este problema en las mediciones de DSC existen dos métodos, el de compensación de potencia o el de flujo de calor. Como en esta tesis se utilizó un calorímetro por flujo de calor, solo se explicará este. En el caso de un calorímetro por flujo de calor, las termocuplas se conectan entre sí de forma tal que la medición de la termocupla sea una medición directa de la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia. El camino térmico con el que el horno calienta a la muestra y a la referencia están diseñados para ser idénticos, usualmente con una membrana metálica que sostiene el portamuestras. Como la referencia es un crisol de aluminio vacío y la muestra se coloca dentro de uno de estos antes de ser medida, la diferencia de calor entre la muestra y la referencia es una medición del flujo de calor de la muestra que se desea medir. Usualmente los crisoles de aluminio no son exactamente iguales, pero una medición de la masa de ambos previo a la medición, permite corregir la diferencia de resistencia térmica por la cantidad de masa.

En un experimento de DSC se puede variar la velocidad de la rampa de temperatura en la medición. Si la velocidad es lenta entonces en una fusión la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia va a ser chica, de forma tal que se

tendrá una alta resolución pero menor sensibilidad. En cambio, si la velocidad de medición es alta la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia durante una fusión es mayor de forma tal que se obtiene una mayor sensibilidad, con menor resolución. Existen procesos que a diferencia de la fusión su comportamiento se encuentra dominado por la cinética, por ejemplo la recrystalización. Además de las tradicionales mediciones de TG isotérmicas, se puede obtener información sobre velocidades de reacción realizando mediciones de DSC isotérmicas o a distintas velocidades para obtener información de la reacción^{94,95}.

En mediciones de DSC las transiciones de fase de segundo orden o las transiciones vitreas en los amorfos se detectan como un cambio en la línea de base ya que en estos casos hay un salto abrupto en la derivada segunda de la energía libre de la muestra, es decir, un cambio abrupto de pendiente en el calor específico de la muestra. En el caso de las transiciones vitreas en algunos casos se observa una transición endotérmica asociada a la transición relacionada con la relajación del sistema⁹⁴.

Como diferentes polimorfos de un dado compuesto suelen presentar diferentes temperaturas de fusión (o eventualmente transicionan entre ellas dando un evento térmico asociado), DSC es una técnica que permite la detección de distintos polimorfos⁹⁶. Además, las reglas de Burger y Ramberger del calor latente y del calor de fusión permiten estimar el carácter monotrópico o enantiotrópico de la relación entre ambos polimorfos^{45,97}.

Todos los estudios de DSC realizados en esta tesis se realizaron en un equipo Q2000 de TA instruments.

Bibliografía

37. M. Etter, D. Jahn, B. Donahue, R. Johnson y C. Ojala, *Journal of Crystal Growth* **76**, 645-655 (3 1986).
45. A. Burger y R. Ramberger, *Mikrochimica Acta* **II**, 259-271,273-316 (1979).
53. J. Halebian, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **64**, 1269-1288 (1975).
68. W. McCrone Jr, *Fusion Methods in Chemical Microscopy* (Interscience, Nueva York, 1957).
69. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Informa Healthcare USA, Inc., Nueva York, ed. 2, 2009), cap. 4.
70. W. Ostwald, *Z Phys. Chem.* **22**, 289 (1897).
71. J. Anwar y P. Boateng, *Journal of the Amercian Chemical Society* **120**, 9960 (1998).
72. M. Bavin, *Chemistry and Industry* **21**, 527 (1989).
73. S. Byrn y R. Pfeiffer, *Chemical Materials* **6**, 1148 (1994).
74. R Davey, K. Allen y N. Blagden, *CrystEngComm* **4**, 257 (2002).
75. N. Hartshorne y A. Stuart, *Crystals and the polarizing microscope* (Edward Arnold, Londres, ed. 4, 1970).
76. R. Hilfiker, ed., *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry* (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2006), cap. 7.
77. W. McCrone, L. McCrone y J. Delly, *Polarized Ligth Microscopy* (Ann Arbor Science Publishers, 1978).
78. *Classical Electrodynamics* (Wiley, ed. 3, 1998).
79. E. Hecht, *Optics* (Pearson, ed. 5).
80. C. Giacovazzo, ed., *Fundamentals of Crystallography* (Oxford Science Publications, Great Brittain, 1992), cap. 3.
81. C. Giacovazzo, ed., *Fundamentals of Crystallography* (Oxford Science Publications, Great Brittain, 1992), cap. 4.
82. C. Hammond, *The Basics of Crystallography and Diffraction* (Oxford University Press, Nueva York, ed. 3, 2009), cap. 10.
83. E. Erinosh, D. Collins, A. Wilkinson, R. Todd y F. Dunne, *International Journal of Plasticity* **83**, 1-18 (2016).
84. A. Boultif y D. Louer, *Journal of Applied Crystallography* **37**, 724-731 (2004).
85. P. Werner, L. Eriksson y M. Westdahl, *Journal of Applied Crystallography* **18**, 367-370 (1985).
86. C. Giacovazzo, ed., *Fundamentals of Crystallography* (Oxford Science Publications, Great Brittain, 1992), cap. 2.
87. D. Wiles e Y. R.A., *Journal of Applied Crystallography* **15**, 430 (1982).

88. C. Giacovazzo, ed., *Fundamentals of Crystallography* (Oxford Science Publications, Great Brittain, 1992), cap. 5.
89. H. Hauptman y J. Karle, *The solution of the phase problem. I. The centrosymmetric crystal*, ed. por A. monographs (Polycrystal Book Service, 1953), vol. 3.
90. D. Sayre, *Acta Crystallographica* **5**, 60 (1952).
91. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A* **71**, 3-8 (2015).
92. P. Muller, R. Herbst-Irmer, A. Spek, T. Schneider y S. M., *Crystal Structure Refinement: A crystallographer's guide to SHELXL*, ed. por P. Muller (OXFORD Science Publications, Oxford, 2006).
93. D. Craig y M. Reading, eds., *Thermal Analysis of Pharmaceuticals* (Taylor & Francis, 2007), cap. 5.
94. D. Craig y M. Reading, eds., *Thermal Analysis of Pharmaceuticals* (Taylor & Francis, 2007), cap. 1.
95. A. Khawam y D. R. Flanagan, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **95**, 472-498 (3 2006).
96. B. Perrenot y G. Widmann, *Termochimica Acta* **234**, 31-39 (1994).
97. L. Yu, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **84**, 966-974 (8 1995).

Capítulo 3

Polimorfismo en IFAs

En este capítulo se estudiarán tres IFAs que presentan polimorfismo. La primera sección habla sobre los IFAs que presentan relaciones monotrópicas entre las distintas formas cristalinas, Palmitato de Pipotiazina y Clorhidrato de Bendamustina. Sobre cada uno de estos compuestos se han realizado estudios estructurales y térmicos que permiten identificar y determinar las estabilidades relativas entre los distintos polimorfos.

En la segunda sección se muestra el caso de Clorhidrato de Tapentadol, un compuesto que presenta dos polimorfos relacionados enantiotrópicamente. Particular énfasis es puesto sobre las características de la transición entre ambas formas cristalinas en este caso.

3.1. Sistemas monotrópicos

3.1.1. Palmitato de Pipotiazina

Introducción

Palmitato de Pipotiazina es un IFA antipsicótico del tipo fenotiazina que se utiliza en el tratamiento de pacientes con esquizofrenia. Realizando una revisión sistemática del compuesto se ha encontrado que el compuesto tiene eficacia en el tratamiento contra la esquizofrenia, aunque no es necesariamente mejor que otros tratamientos⁹⁸. En Argentina Laboratorios Dosa tiene una patente sobre la síntesis de dicho compuesto que usualmente se administra de forma intravenosa⁹⁹. El compuesto se administra en solución y en algunos casos se observó la aparición de cristales. Para investigar el porqué de dicho comportamiento se decidió realizar un estudio de polimorfismo sobre el compuesto.

La molécula de Palmitato de Pipotiazina es un éster formado entre una molécula de Pipotiazina y una molécula de ácido Palmítico. Pipotiazina es una molécula derivada de la Fenotiazina, y como consecuencia de esto tiene un núcleo tricíclico con dos anillos bencénicos y un anillo central con un átomo de azufre y un átomo de nitrógeno que es la parte activa del IFA. En la figura 3.1 se muestra la molécula de Palmitato de Pipotiazina.

Caracterización estructural de Palmitato de Pipotiazina

Un rápido screening de solventes mostró que Palmitato de Pipotiazina era soluble en acetona, acetonitrilo (ACN), n-heptano y cloroformo mientras que resultaba insoluble en agua y etanol. Monocristales de Palmitato de Pipotiazina forma I adecuados para SC-XRD se pueden obtener por evaporación lenta en ACN, en acetona o n-heptano. Al disolver Pipotiazina en cloroformo, se observaba al cabo de unas

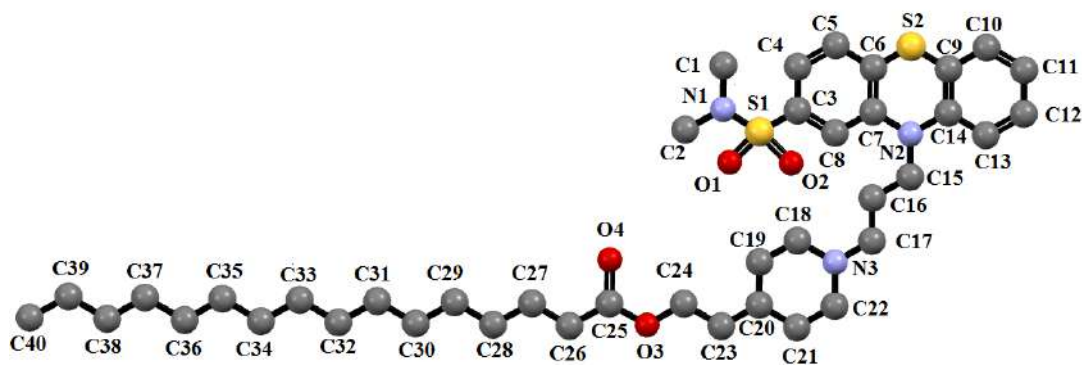


FIGURA 3.1: Molécula de Palmitato de Pipotiazina. Los átomos de hidrógeno se omitieron para mayor claridad del dibujo

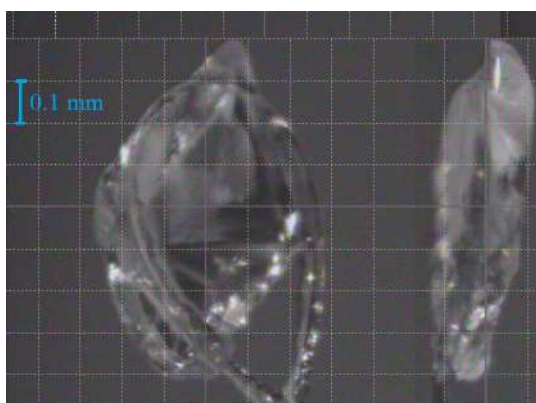


FIGURA 3.2: Monocristal de Palmitato de Pipotiazina Forma I

horas que la solución cambiaba de color transparente a rojo, por lo que es posible que exista alguna reacción química.

En la figura 3.2 se muestra el monocristal utilizado en la medición, los datos fueron tomados en un equipo Gemini E de Oxford Diffraction y los datos procesados con el software CrysAlisPro¹⁰⁰. En particular ese cristal fue obtenido por evaporación lenta en solución de n-heptano. La estructura fue resuelta utilizando métodos directos, implementados en el programa shelxs¹⁰¹ y posteriormente refinados utilizando cuadrados mínimos para el refinamiento implementado en el programa shelxtl¹⁰². Los átomos de hidrógeno fueron colocados en sus posiciones estereoquímicamente esperadas y refinados con *constraints* geométricos adecuados. Los hidrógenos correspondientes a $C - H_{Metil}$ se los fijó a una distancia $0.96\text{\AA}$ y parámetros de dispersión isotrópicos $U(H) = 1.5U_{equiv}(C)$. En el caso de los hidrógenos correspondientes a un grupo metileno se fijó una distancia $0.97\text{\AA}$ y $U(H) = 1.2U_{equiv}(C)$. En el caso de los hidrógenos correspondientes a grupos aromáticos se utilizó una distancia de $0.93\text{\AA}$ y $U(H) = 1.2U_{equiv}(C)$. En la tabla 3.1 se muestran los parámetros de celda obtenidos para la forma I de Palmitato de Pipotiazina. En esta forma, el compuesto cristaliza en el grupo espacial $P2_1/c$, con cuatro moléculas de Palmitato de Pipotiazina por celda unidad.

En la figura 3.3 se muestra la conformación molecular del Palmitato de Pipotiazina en la forma I. El grupo fenotiazina tiene una conformación de bote en su anillo central mientras que los otros dos anillos son planos como se espera para

Datos	Forma I	Forma II
Fórmula Química	C40 H63 N3 O4 S2	C40 H63 N3 O4 S2
M_r	714	714
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1/c$	Monoclínico $P2_1$
Temperatura de medición	Temperatura Ambiente	$-173(2)^\circ\text{C}$
a,b,c (Å)	22.612(5), 7.948(2), 23.732(5)	11.093(5), 9.908(2), 72.53(5)
$\beta(^\circ)$	106.61	92.94
Volumen	4087(1)	7958(1)
Z	4	8
Z'	1	4
Densidad (g/cm^3)	1.182	1.214
Radiación	MoK_α , 0.7107 Å	MoK_α , 0.7107 Å
$\mu(\text{mm}^{-1})$	0.17	0.17
Reflexiones medidas, observadas e independiente	714 5956,9250	— —
R_{int}	0.0378	—
$\sin(\theta)/\lambda_{mx}(\text{\AA}^{-1})$		
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.09, 0.1330, 1.045	—
# de Reflexiones	9250	—
# de parámetros	442	—
# de <i>restraints</i>	0	—
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(\text{e}/\text{\AA}^3)$	0.26, 0.17	—

TABLA 3.1: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de la estructura de Palmitato de Pipotiazina forma I y datos obtenidos de Palmitato de Pipotiazina forma II

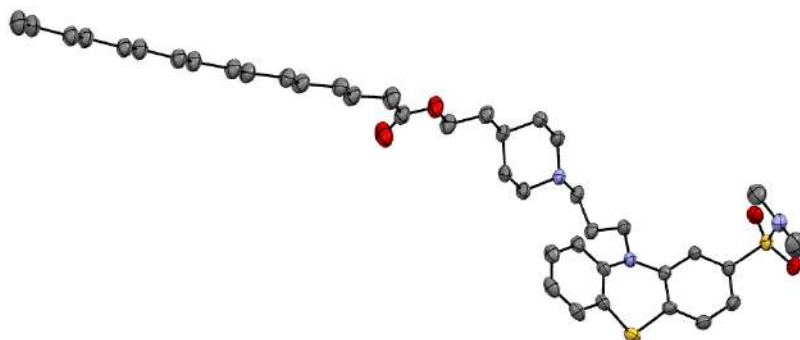


FIGURA 3.3: Conformación molecular de Palmitato de Pipotiazina en la Forma I. Por claridad se omitieron los nombres de los átomos los cuales coinciden con los mostrados en 3.1 y también se omitieron los hidrógenos por claridad. Los elipsoides fueron dibujados al 50 % de probabilidad

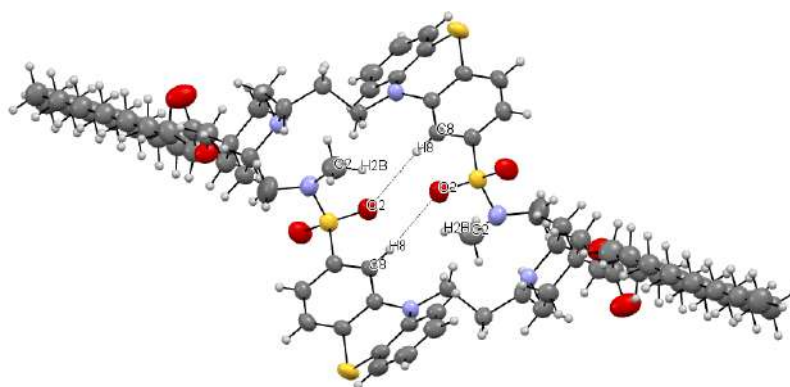


FIGURA 3.4: Dimeros de Palmitato de Pipotiazina en la estructura I

un anillo aromático. El ángulo que forman entre estos planos es de 33° . Los carbonos correspondientes al terminal palmítico se encuentran rígidos en una conformación casi lineal, aunque no se encuentran todos sobre un mismo plano. El ángulo de torsión C26-C27-C28-C29 $177.3(2)^\circ$ y el ángulo de torsión C37-C38-C39-C40 es $177.4(2)^\circ$, igual al anterior. Sin embargo, el ángulo de torsión C26-C27-C39-C40 es $18.8(4)^\circ$ mostrando que los átomos de la cadena de carbonos no se encuentran sobre el mismo plano. La máxima desviación al plano medio que forman los átomos C26-C27...-C39-C40 es la que muestra el átomo C28 de $0.10\text{\AA}$. El grupo piperidil tiene una conformación de silla, con el átomo de nitrógeno N3 y el carbono C20 a $0.67\text{\AA}$ y $0.66\text{\AA}$ del plano medio del anillo respectivamente. Las moléculas de Palmitato de Pipotiazina forman dímeros centrosimétricos en la estructura. Dichos dímeros determinan un "lazo" $R_2^2(10)$ que se forma a través de los puentes hidrógeno C8-H8...O2 y O2...H8-C8 como se observa en la figura 3.4. Estos dímeros se desplazan a través del eje cristalográfico **b** por medio de interacciones C23-H23A...S2 que forman una cadena en zig-zag a lo largo de dicho eje como se muestra en la figura 3.5. En la tabla 3.2 se muestran las características de los puentes hidrógenos encontrados en la forma I de Palmitato de Pipotiazina.

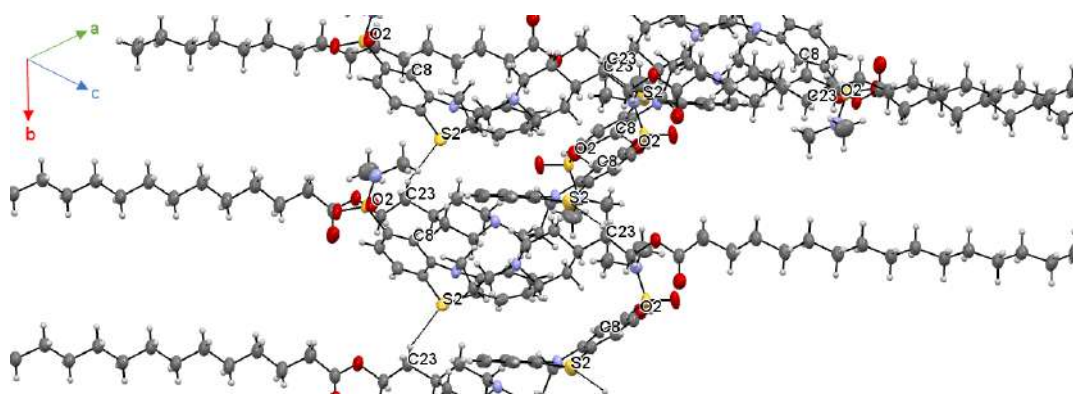


FIGURA 3.5: Expansión de las moléculas de Palmitato de Pipotiazina a través del eje cristalográfico **b** en la estructura **I**

Puentes Hidrógeno forma I					
D-H...A	D-H(Å)	H...A(Å)	D-A(Å)	$\angle D-H...A(^{\circ})$	Simetría
C8-H8...O2	0.93	2.533	3.456(3)	171.83	$-x,-y+1,-z$
C3-H23A...S2	0.97	2.913	3.816(2)	155.41	$-x,y-0.5,-z-0.5$

TABLA 3.2: Contactos intermoleculares en la forma **I** de Palmitato de Pipotiazina

Caracterización térmica de Palmitato de Pipotiazina

En la figura 3.6 se puede observar el gráfico de flujo de calor en función de la temperatura para un ensayo de DSC de la forma **I**. El mismo muestra un pico endotérmico a 61°C aproximadamente, el cual tiene el onset a 58°C aproximadamente y una variación de entalpía de $105(1)\frac{\text{J}}{\text{g}}$. El ensayo se realizó calentando la muestra a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Por microscopía óptica se confirmó que dicho evento corresponde a la fusión de la muestra. Una vez que la muestra llegó a 80°C , se realizó una isoterma de 3 minutos y luego se procedió a enfriar la muestra a razón de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta -50°C . En el enfriamiento se encontró una exoterma a -5°C con una variación de entalpía de $19(1)\frac{\text{J}}{\text{g}}$. Luego de esto se realizó una isoterma de 3 minutos a -50°C y se procedió a calentar la muestra hasta 80°C a razón de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Se observó una endoterma a 5°C con una variación de entalpía de $24(1)\frac{\text{J}}{\text{g}}$.

Para complementar el análisis de calorimetría se realizó microscopía óptica con platina calentadora aplicando el mismo protocolo de calentamiento y enfriamiento utilizado en la medición de calorimetría. Como la medición a baja temperatura condensaba agua en la tapa de la platina calentadora y dificultaba la observación, se decidió remover la tapa. Esto facilita la observación, aunque genera mayores gradientes de temperatura entre la muestra y la platina, por lo que las temperaturas en la descripción siguiente se refieren a la temperatura de la platina, sabiendo que la muestra puede mostrar diferencias con la misma.

En la figura 3.7 se muestran fotografías de la muestra de Palmitato de Pipotiazina en diferentes instantes. Se verificó la fusión de la muestra, y tras verificar la fluidez de la misma se la enfrió a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta -30°C . Alrededor de 1°C se observaron cambios en la muestra. Pequeñas partículas de amorfo se generan sobre el líquido, en un proceso relativamente lento. Al llegar a -30°C se comprobó que la muestra no mostraba birrefringencia, mostrando el carácter amorfo de las partículas. Posteriormente, se calentó la platina hasta 30°C a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y se observó que la muestra

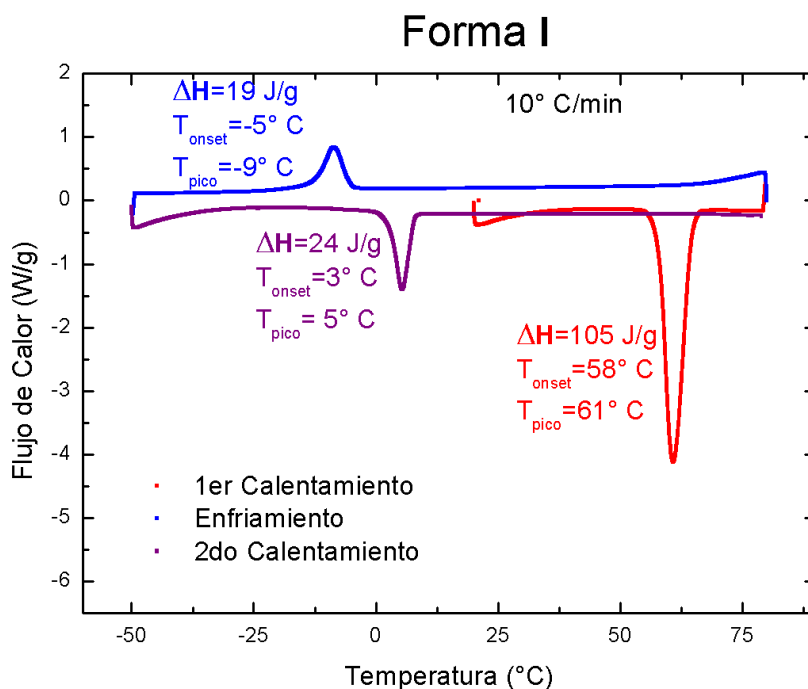


FIGURA 3.6: Resultados del DSC para la muestra de Palmitato de Pipotiazina forma I al realizar el siguiente proceso: 1)Calentamiento a 10°C/min 2)Isotherma de 3 minutos 3)Enfriamiento a 10°C/min 4)Isotherma de 3 minutos 5) Calentamiento a 10°C/min

recupera la homogeneidad en forma líquida.

El no observar birrefringencia en la muestra a baja temperatura es indicativo que la muestra no es cristalina, para verificarlo se llenó un capilar de 0.5mm de diametro con muestra de Palmitato de Pipotiazina forma I. Se fundió la muestra calentandola dentro del capilar y procedimos a medirla en el difractómetro de monocristal variando la temperatura de la muestra. Se dejó la muestra durante 1 hora a -23°C y no se observo ningún haz difractado ni anillo de difracción, indicando que la transición no se corresponde con una recrystalización.

Para poder obtener más información sobre esta transición de fase se procedió a recrystalizar Palmitato de Pipotiazina inicialmente en forma I por evaporación lenta en un freezer, a -15°C . La recrystalización de Palmitato de Pipotiazina en n-heptano volvió a dar cristales de forma I, en cloroformo se obtuvo una muestra amorfa de color transparente mientras que en acetona y tetrahidrofurano se obtuvieron diferentes formas cristalinas. La muestra obtenida en tetrahidrofurano funde a temperatura ambiente y es por lo tanto difícil de manipular. La muestra obtenida en acetona es distinta a la forma I como se puede comprobar en el difractograma de polvo obtenido para esta muestra (figura 3.8). Se observan claras diferencias en el difractograma obtenido para la muestra cristalizada en acetona a -15°C y el difractograma calculado de la forma I, indicando que ambos compuestos son distintos. En particular se observan picos en la forma II que no se encuentran en la forma I y viceversa.

Se ha intentado obtener monocristales adecuados para SC-XRD. Un típico cristal de Palmitato de Pipotiazina forma II se muestra en la figura 3.9, donde se ve que el cristal crece en forma de placa. Esto genera dificultades para tener intensidad en los haces difractados relacionados al plano de la placa. Un problema adicional que

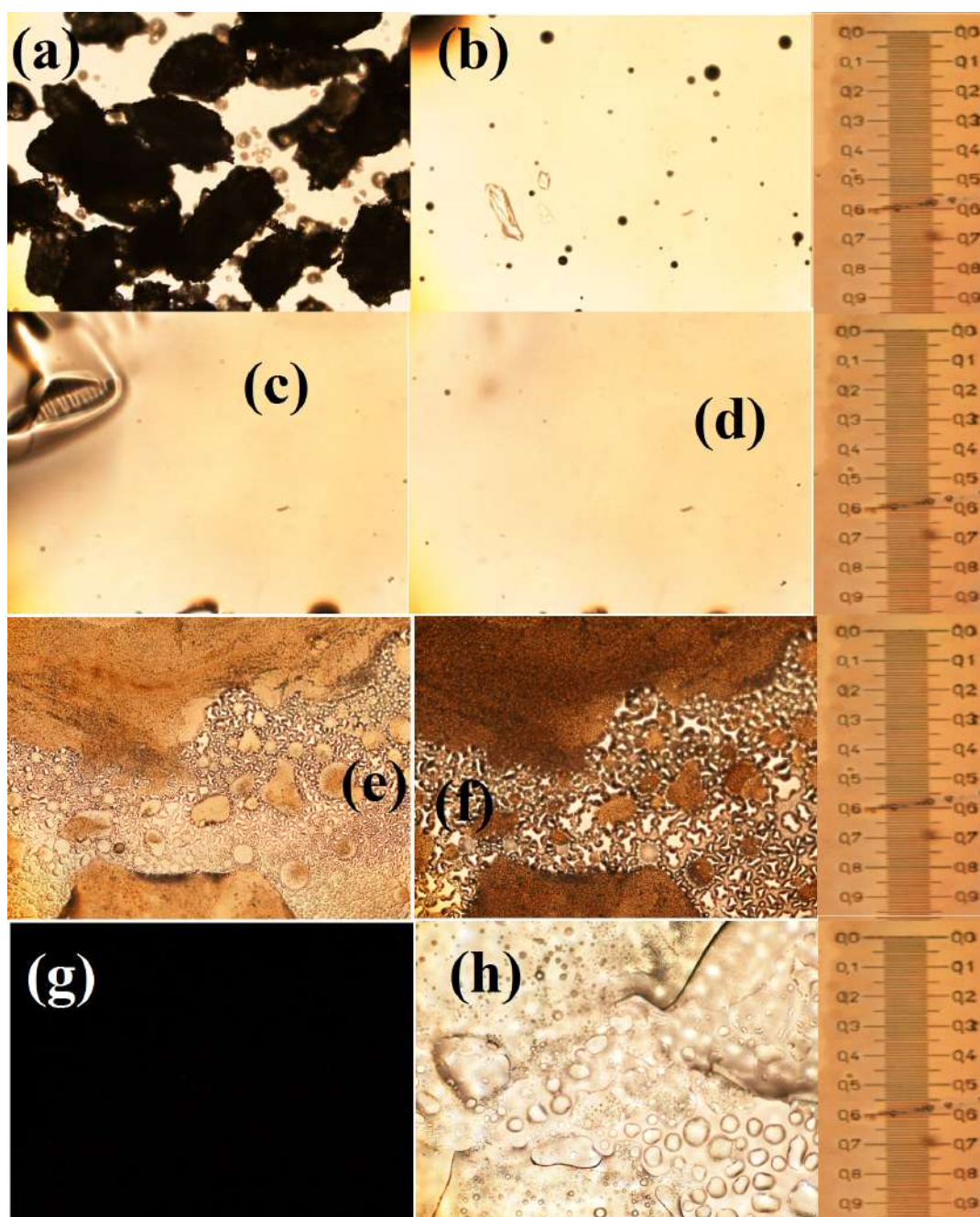


FIGURA 3.7: (a) Muestra inicial de Palmitato de Pipotiazina forma I (b) Misma muestra a 82°C donde se observa que fundió. (c) Líquido a 30°C perturbado. (d) Unos segundos después se observa que la muestra se comporta como un líquido, fluye y recobra la uniformidad. (e) Mismo líquido a 1°C , se observa que la muestra pierde homogeneidad y cambia su color. (f) A -7°C se observan pequeñas partículas amorfas anaranjadas formándose sobre el líquido. (g). Al observar la muestra con polarizadores cruzados a -30°C no se observa birrefringencia. (h) Al volver a subir a 30°C el líquido recupera su homogeneidad. La escala a la derecha se encuentra en mm

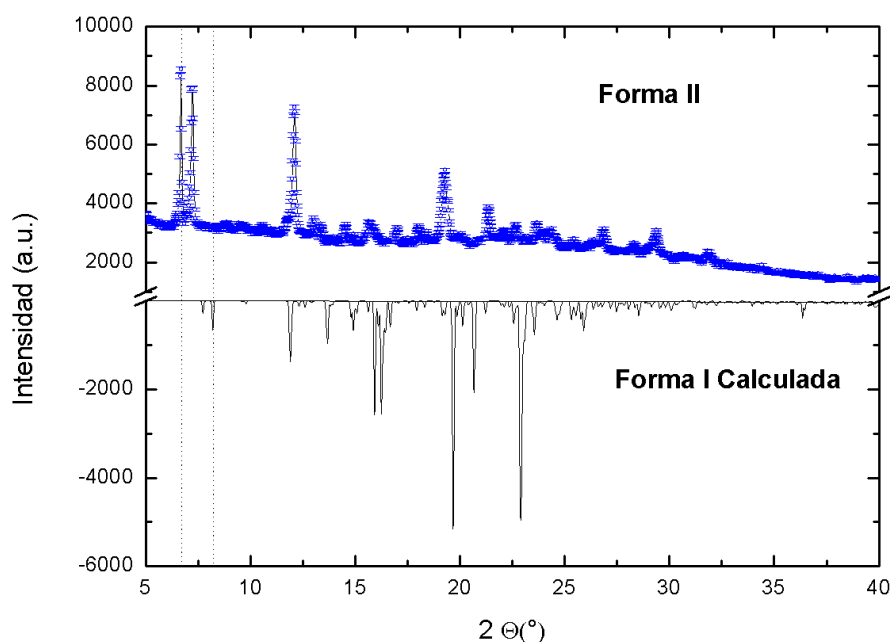


FIGURA 3.8: Difractograma de Palmitato de Pipotiazina en forma II, en el eje negativo se muestra el difractograma calculado para la forma I, el valor negativo de las intensidades es puesto adrede para mayor claridad del gráfico

tienen estos cristales es que se aglomeran en forma de micras, haciendo difícil su separación sin fracturar el monocristal. Además, se observó que los cristales después de cierto tiempo en condiciones ambiente se deterioran y pierden su calidad de monocristal. Los intentos por resolver esta estructura resultaron infructuosos, aunque proporcionaron una celda unidad y sistema cristalino resumidos en la tabla 3.1. Esta forma II parece cristalizar en un sistema cristalino monoclinico al igual que la forma I, pero no se observan extinciones sistemáticas compatibles con el grupo $P2_1/c$. De acuerdo a las reflexiones que si fueron observadas parece corresponder a un grupo $P2_1$. Del conjunto de reflexiones comprendidas entre $1.1\text{\AA}$ y $1.2\text{\AA}$ solo el 45 % de ellas fueron observadas. De acuerdo a los estudios realizados por Sheldrick¹⁰¹, se necesita entre el 85 % y el 90 % de estas reflexiones para obtener una solución de la estructura cristalina, lo cual explica porque no fue posible resolver la estructura.

Diferencias entre la forma I y la forma II también pueden observarse en mediciones de DSC. La forma II tiene un pico endotérmico correspondiente a la fusión a 58°C con una variación de Entalpía de $89\frac{\text{J}}{\text{g}}$. Posteriormente esto se comprobó por microscopía óptica. Al realizar el mismo procedimiento de enfriamiento y posterior calentamiento que se realizó en la muestra de forma I, se observó el mismo pico exotérmico a -5°C bajando la temperatura, esta vez con una variación de entalpía de $22\frac{\text{J}}{\text{g}}$ y un pico endotérmico a 5°C de $22\frac{\text{J}}{\text{g}}$ subiendo la temperatura. Esto es indicativo de que la muestra líquida corresponde a Palmitato de Pipotiazina y no sufrió ningún proceso químico durante la recristalización. Las temperaturas de la exoterma y la endoterma del amorfo coinciden con el observado al fundir Palmitato de Pipotiazina forma I, lo cual indicaría que el compuesto de la forma II es efectivamente Palmitato

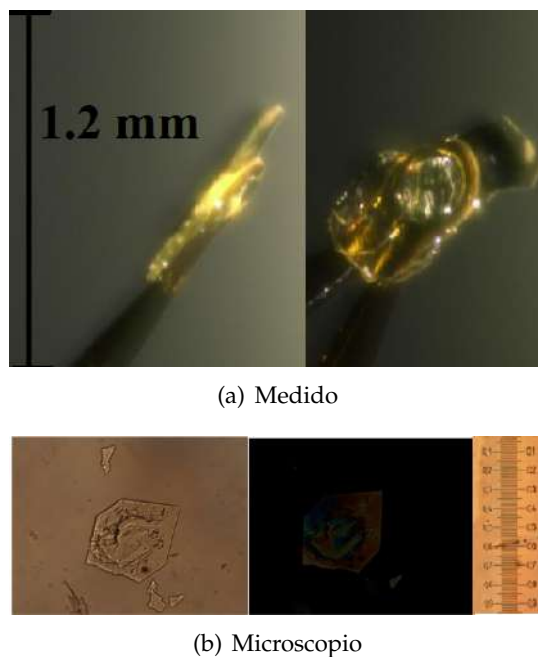


FIGURA 3.9: Cristales de Palmitato de Pipotiazina forma II. Arriba un cristal medido (el que dió mejores resultados), abajo un típico cristal observado por microscopía óptica. La escala esta en mm

de Pipotiazina. Las diferencias en la variación de la Entalpía pueden deberse a diferencias en la historia del amorfo que produce diferencias en el material, haciendo que la variación de energía en la transición sea distinta. En la figura 3.10 se muestra el gráfico del experimento de calorimetría realizado.

Por otra parte, las diferencias en el punto de fusión y en la variación de Entalpía de la fusión dan cuenta de que la forma I y la forma II son polimorfos diferentes. De acuerdo a las reglas de Burger y Ramberger⁴⁵ la relación entre ambas formas es monotrópica ya que la forma I, tiene mayor temperatura de fusión también tiene mayor variación de Entalpía.

Mediciones de TG de la muestra II hasta los 100°C no muestran pérdida de masa por lo que probablemente la forma II no sea un solvato. Además, al enfriar el fundido de la forma II se observa una curva similar a la observada para el fundido de la forma I, pudiendo concluir que efectivamente la forma II esta compuesta de moléculas de Palmitato de Pipotiazina solamente.

Conclusiones

Se obtuvieron dos formas cristalinas de Palmitato de Pipotiazina, forma I y forma II. Se ha resuelto la estructura cristalina de I observandose que se forma una estructura de dímeros ligados entre sí por débiles enlaces puentes hidrógeno, lo cual justifica su bajo punto de fusión.

La forma II no pudo ser resuelta al no encontrarse cristales de calidad suficiente para SC-XRD. Sin embargo, por medio de estudios de DSC se pudo demostrar que la forma I es la más estable de ambas de acuerdo a la regla del calor de fusión⁴⁵ y la relación entre ambas es monotrópica. La cercanía entre los puntos de fusión de ambas formas y la diferencia de $30 \frac{J}{g}$ entre los calores de fusión, hace pensar que esta relación monotrópica puede cambiarse al aplicarse presión sobre las muestras, sin embargo esto no se ha podido demostrar.

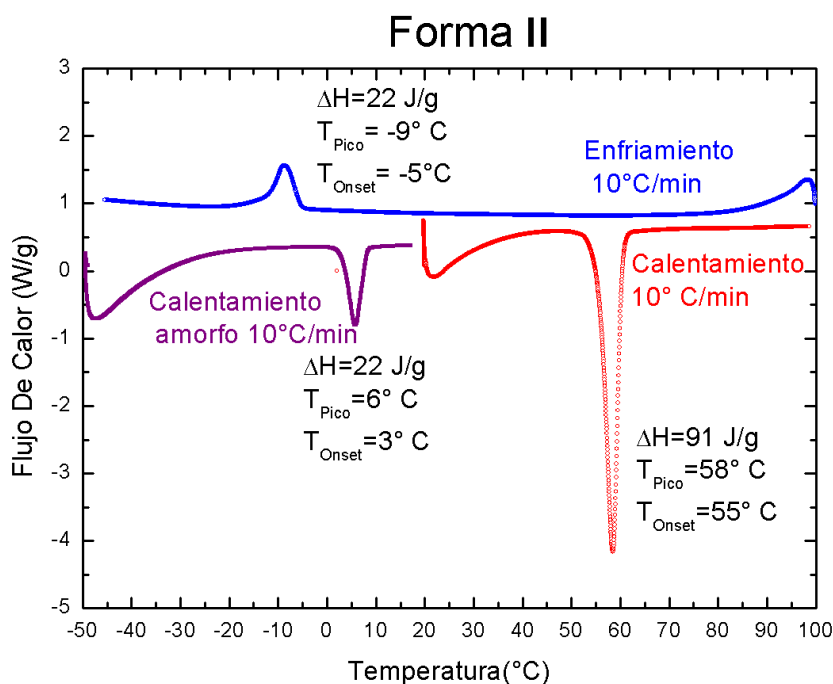


FIGURA 3.10: Resultados del DSC para la muestra de Palmitato de Pipotiazina forma II al realizar el siguiente proceso: 1)Calentamiento a 10°C/min 2)Isoterma de 3 minutos 3)Enfriamiento a 10°C/min 4)Isoterma de 3 minutos 5) Calentamiento a 10°C/min

Para el líquido de Palmitato de Pipotiazina sobreenfriado se ha observado una transición de primer orden a -5°C (con histéresis al calentar) y por la ausencia de haces difractados parece ser una transición líquido-amorfo.

3.1.2. Clorhidrato de Bendamustina

Introducción

Bendamustina fue sintetizada por primera vez en la década del 60 en la República Democrática de Alemania¹⁰³. Es un agente alquilante bifuncional, ya que contiene un anillo benzimidazol y es una mostaza nitrogenada. Se utiliza en el tratamiento de la Leucemia linfocítica crónica (LLC), en el tratamiento de linfomas no Hodgkinianos y de múltiples melanomas¹⁰⁴. La acción de la Bendamustina se basa en el entrecruzamiento de las cadenas simples y dobles de ADN, lo que lleva a la ruptura de la función matriz del ADN en la síntesis del ADN. En el año 2008 fue aprobado en EEUU por la administración federal de drogas y alimentos (FDA) para su utilización en tratamientos combinados para el LLC¹⁰⁵. A pesar de que se demostró su eficacia en comparación a otros agentes alquilantes como clorambuzil¹⁰⁶, es químicamente inestable en agua como suele suceder con otras mostazas nitrogenadas como Melfalano^{107,108}. La hidrólisis en las mostazas nitrogenadas conlleva dificultades técnicas en su preparación y administración. En vista de esto, Bendamustina es actualmente provista como la sal Clorhidrato de Bendamustina, la cual se provee como un liofilizado para inyección¹⁰⁹. Clorhidrato de Bendamustina tiene una clasificación III en la clasificación BCS, por lo que no se espera que la existencia

de polimorfismo tenga impacto en su biodisponibilidad¹⁰⁹. Sin embargo la existencia de un hidrato cristalino en el proceso de liofilización puede tener consecuencias prácticas. La dificultad en remover el agua en el proceso de secado puede limitar la velocidad del secado. Algunos hidratos pierden agua sin tener grandes cambios estructurales, lo que lleva a materiales altamente higroscópicos. El agua que no es removida durante el proceso de secado puede traer problemas de estabilidad en la etapa de almacenamiento del producto¹¹⁰. Es por esto que es necesario estudiar el polimorfismo de Clorhidrato de Bendamustina, y en particular la estabilidad del compuesto en presencia de humedad. Además, nuevas formas sólidas de Clorhidrato de Bendamustina podrían proporcionar nuevas formas de administración de la misma.

En vista de estos posibles beneficios, una patente fue presentada con diferentes formas cristalinas de Clorhidrato de Bendamustina¹¹¹. La estructura **I** fue resuelta por SC-XRD, mientras que las estructuras **III** y **IV** no fueron resueltas. La estructura **II** fue caracterizada como un monohidrato y si bien no fue resuelta, G. Reck reportó esta estructura en el año 2006¹¹², aunque la calidad de los datos no era óptima ya que reportó datos solamente hasta $d=1.09 \text{ \AA}$. Entendiendo que una mejor caracterización de este sistema polimórfico es necesaria, se procedió al estudio de los polimorfos de Clorhidrato de Bendamustina. El estudio de la fase monohidratada se presentará en el capítulo 4

Estudios Estructurales

Clorhidrato de Bendamustina monohidratado (**II**) fue generosamente provisto por Laboratorios Eriochem. A partir de la muestra monohidratada se obtuvo la estructura **I** por método de slurry conversion y posteriormente se obtuvieron cristales adecuados para SC-XRD por medio de evaporación lenta en isopropanol. Los cristales correspondientes a la estructura **III** utilizados para SC-XRD se obtuvieron por deshidratación térmica de los cristales de la forma **II**. No se logró obtener monocristales de la forma **IV**, pequeños cristales de esta forma cristalina fueron obtenidos fundiendo muestra de la forma **II** y rapidamente llevando a 50°C el Clorhidrato de Bendamustina líquido. Tras un día en estas condiciones se detectaron cristales de forma **IV** aunque tambien se observaron halos en el difractograma tomado que se corresponden con la existencia de muestra amorfa.

Las mediciones de SC-XRD se realizaron en el equipo Bruker D8 Quest-ECO con radiación de molibdeno $K_\alpha = 0.71073 \text{ \AA}$, los cristales se mantuvieron bajo un flujo de nitrógeno a 10 ml/min y a temperatura de -123°C utilizando un sistema de refrigeración 800 Series Cryostream Cooler fabricado por Oxford Cryosystems. Se midieron cristales de **I** y **III** y en la tabla 3.3 se muestran los resultados obtenidos.

Los datos fueron procesados con el software APEX 3¹¹³. Los modelos iniciales fueron obtenidos por métodos directos utilizando el programa shelxs¹⁰¹ y fueron posteriormente refinados con el programa shelxt⁹¹. Los átomos de hidrógeno fueron inicialmente encontrados en un mapa de Fourier de diferencias y posteriormente refinados con diferentes *restraints*: Los hidrógenos correspondientes al grupo hidroxilo y al nitrógeno protonado fueron refinados con distancia $O-H = N-H = 0.85(2) \text{ \AA}$ y parámetros térmicos isotrópicos un 20 % mas grandes que los correspondientes al átomo al que estan enlazados. En cambio los hidrógenos enlazados a carbonos fueron refinados con los siguientes *restraints*: $U(H)=x.U_{equiv}(C)$ [$d(C-H_{atom}) = 0.95 \text{ \AA}$, $x = 1.2$; $d(C-H_{metileno}) = 0.99 \text{ \AA}$, $x = 1.2$; $d(C-H_{metil}) = 0.98 \text{ \AA}$, $x = 1.5$]

En la figura 3.11 se muestran las conformaciones moleculares en ambas estructuras. Tanto la estructura de la forma **I** como la estructura de la forma **III** tienen el

anillo Benzimidazol de la molécula de Bendamustina planar. Las diferencias conformacionales entre ambas estructuras son claras, las más notorias la rotación en la cadena butírica de los átomos C4-C5 y la rotación del grupo carboxílico alrededor del eje C1-C2. También se observan diferencias en la mostaza nitrogenada, donde una de las ramas de la mostaza en la forma **I** adopta una conformación *gauche* (El ángulo torsional de N3-C13-C14-Cl3 es 66°) mientras que la otra rama adopta una conformación *anti* (El ángulo torsional de N3-C11-C12-Cl2 es 166.9°). Esta conformación permite la existencia de un puente hidrógeno C-H...Cl intra-molécula (En la tabla 3.5 se muestra una lista de los puentes hidrógenos encontrados). En cambio, en la forma **III** ambas ramas adoptan una conformación *anti*. (N3 – C11 – C12 – Cl2 : 179.1°, N3 – C13 – C14 – Cl3 : 175.7°). Un resumen de los ángulos torsionales más relevantes se muestra en la tabla 3.4

Se realizó una búsqueda en la base de datos de Cambridge¹¹⁴ de moléculas que presenten el mismo grupo mostaza nitrogenada. Se encontraron 38 moléculas en 35 estructuras cristalinas de las cuales 13 presentaban una conformación *anti-anti*, 5 *gauche-gauche* y las restantes 21 estructuras presentan una conformación *anti-gauche*. Solo 8 de estas estructuras muestran un puente hidrógeno intra-molecular como el observado en la estructura **I**.

Datos	Forma I	Forma III
Fórmula Química	C16 H22 N3 Cl2 O2 +:Cl-	C16 H22 N3 Cl2 O2 +:Cl-
M_r	394.71	394.71
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, C2/C	Monoclinico $P2_1/c$
Temperatura de medición	–123°C	–123°C
a,b,c (Å)	23.0502 (6), 6.7836 (2), 25.4596 (7)	4.722 (4), 45.671 (19), 8.798(7)
β°	114.262(1)	97.66(6)
Volumen(Å ³)	3629.33 (18)	1880(2)
Z	8	4
Z'	1	1
Densidad (g/cm ³)	1.445	1.385
Radiación	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å
μ (mm ⁻¹)	0.52	0.50
Reflexiones medidas, observadas e independiente	64102, 8857, 6634	34373, 3384, 2612
R_{int}	0.056	0.131
$\sin(\theta)/\lambda_{max}(\text{Å}^{-1})$	0.836	0.600
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.044, 0.112, 1.03	0.171, 0.379, 1.24
# de Reflexiones	8857	3384
# de parámetros	224	225
# de restraints	2	23
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(\text{e}/\text{Å}^3)$	0.79,-0.98	0.72,-0.81

TABLA 3.3: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de Clorhidrato de Bendamustina **I** y **III**

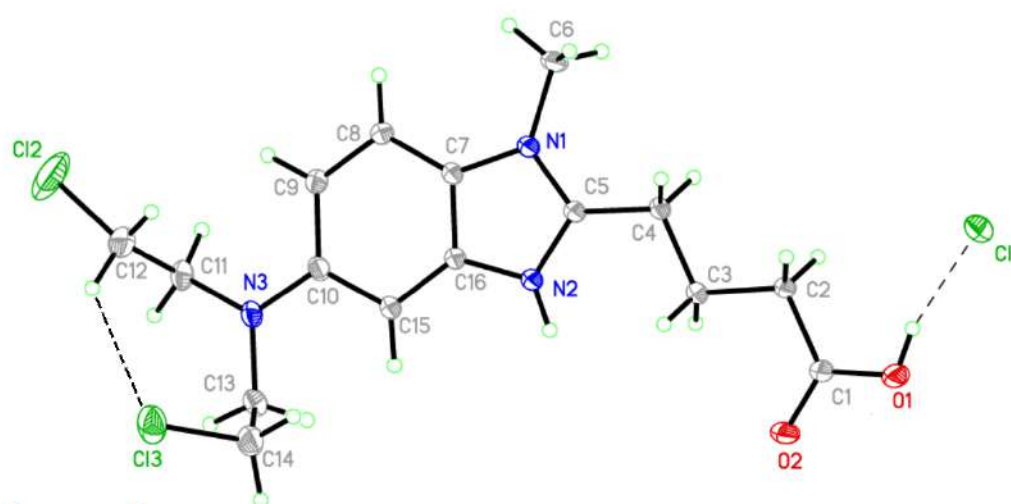
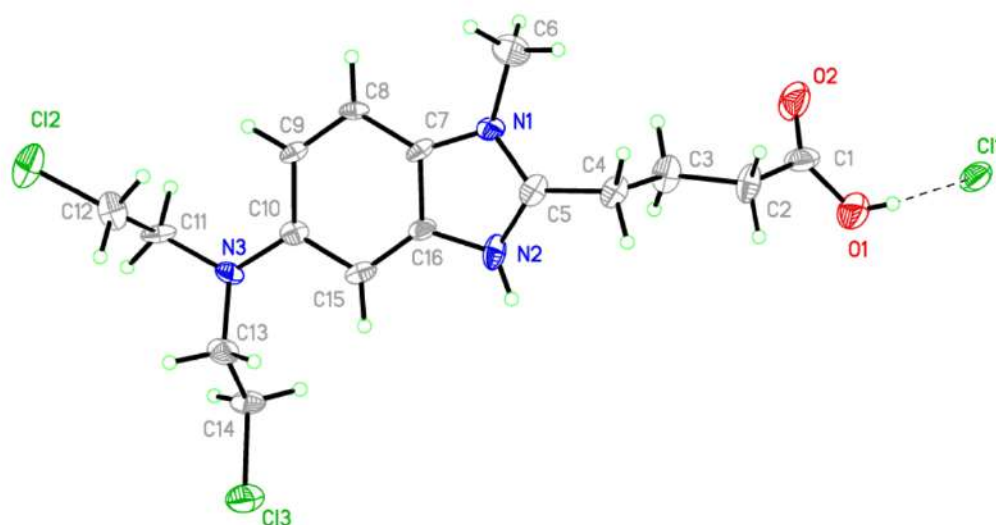
**Forma I****Forma III**

FIGURA 3.11: Moléculas de Clorhidrato de Bendamustina en forma I y forma III

Las diferencias conformacionales anteriormente mencionadas conllevan diferencias en el empaquetamiento cristalino de ambas estructuras. Al observar la densidad de ambas estructuras (se muestra en la tabla 3.3) se observa que la forma **I** tiene una densidad a -123°C mayor que la forma **III** a la misma temperatura. De acuerdo a la regla de la densidad⁴⁵, la forma **I** es la más estable a dicha temperatura.

El empaquetamiento cristalino contiene varios enlaces no covalentes que se muestran en la tabla 3.5. El empaquetamiento de la forma **I** se construye de la siguiente manera:

- Los enlaces $\text{N2-H2N}\dots\text{O2}$ y $\text{C15-H15}\dots\text{O1}$ son responsables de formar dímeros centrosimétricos de Bendamustina en lazos $R_2^2(8)$. Estos dímeros son planares y están paralelos al eje cristalino a como se muestra en la figura 3.12.
- A su vez estos dímeros se apilan a lo largo del eje cristalográfico **b** a través de interacciones donde el anión de Cl^- juega un rol clave. Se forman un doble puente entre dímeros $\text{O1-H1O}\dots\text{Cl1}\dots\text{H4B-C4}$, a la vez que las interacciones $\text{C3-H3A}\dots\pi$ y $\text{C6-H6A}\dots\text{Cl1}$ refuerzan este apilamiento
- Estas columnas de dímeros interactúan con las columnas vecinas a través de interacciones Cl1-Cl3 y de los restantes puentes hidrógenos que se mencionan en la tabla 3.5. En la figura 3.12 se muestra el empaquetamiento

Torsiones	Forma I ($^{\circ}$)	Forma III ($^{\circ}$)
O1-C1-C2-C3	175.5	128.1
O2-C1-C2-C3	5.2	47.4
C3-C4-C5-N1	178.5	81.2
C3-C4-C5-N2	0.3	93.2
C13-N3-C10-C9	179.5	156.6
C13-N3-C10-C15	0.5	22.3
C13-N3-C11-C12	103.4	79.2
C10-N3-C13-C14	74.7	96.8
N3-C11-C12-Cl2	166.9	179.1
N3-C13-C14-Cl3	66.6	175.7

TABLA 3.4: Distancias y ángulos característicos de las moléculas de Clorhidrato de Bendamustina en forma **I** y forma **III**

La forma **III** también presenta dímeros de Bendamustina, pero estos se encuentran ligados por interacciones $\text{O1-H1O}\dots\text{Cl1}$ y $\text{N2-H2N}\dots\text{O2}$. Estos dímeros se apilan a través del eje cristalográfico **b** por medio de interacciones $\text{C11-H11B}\dots\pi$ e interacciones $\pi - \pi$ más débiles que las observadas en la forma **I**. Finalmente, las columnas de dímeros interactúan entre sí por medio de las interacciones restantes mostradas en la tabla 3.5. En la figura 3.13 se muestra la estructura de los dímeros, la estructura de las columnas de dímeros y la interacción entre ellas en la forma **III**

No se pudieron obtener monocristales de forma **IV**, de manera que se tomó un difractograma de polvo de la muestra obtenida. Este patrón se lo comparó con difractogramas teóricos calculados de la forma **I** y la forma **III**. En el difractograma de **IV** se observan picos que no se encuentran presentes ni en la forma **I** ni en la **III**. A su vez hay picos de forma **I** que no se encuentran en el difractograma de **IV** y lo mismo sucede con picos correspondientes a la forma **III**. En la figura 3.14 se muestra el difractograma de la forma **IV** y en el eje negativo se muestran difractogramas teóricos correspondientes a las formas **I** y **III** para su comparación. Se puede concluir de lo observado que **IV** es una forma cristalina distinta a **III** y **I**.

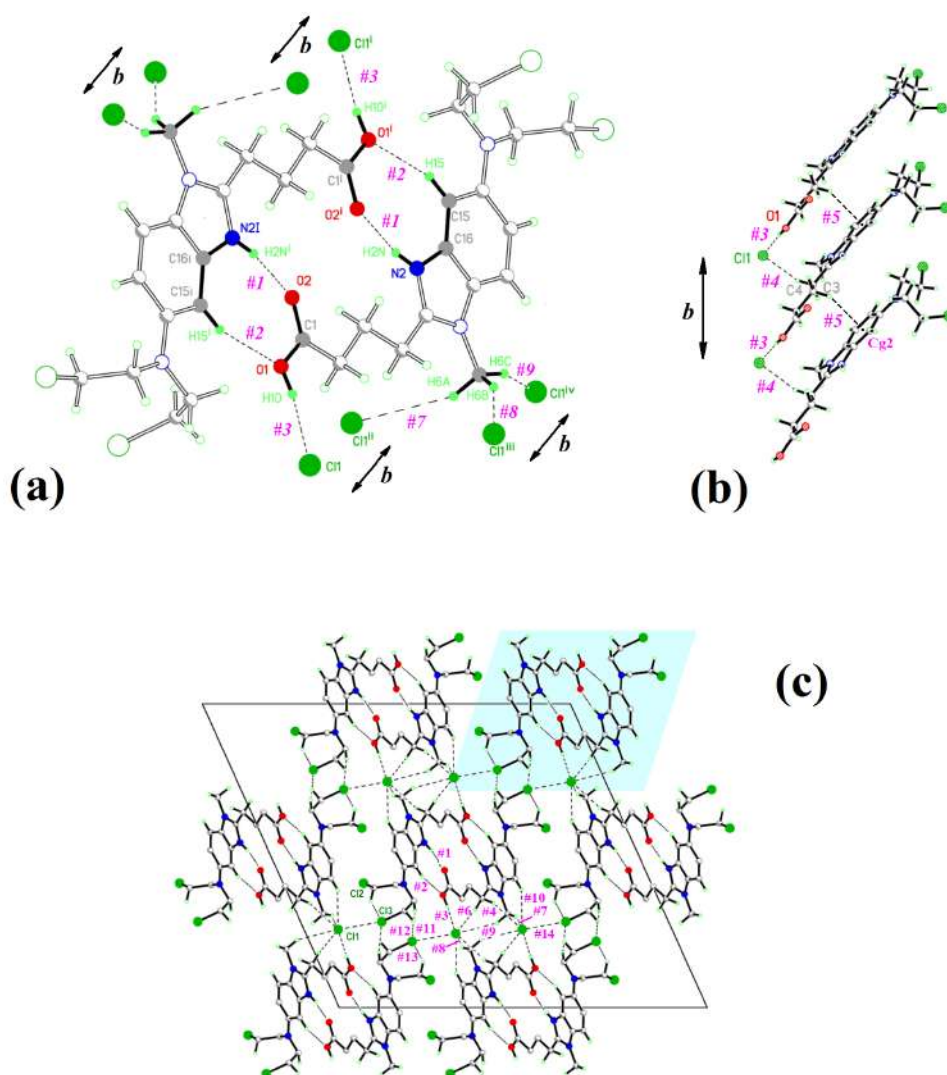


FIGURA 3.12: Empaquetamiento Cristalino de Clorhidrato de Bendamustina forma I. (a) Dímeros planares de Bendamustina formados por interacciones $N2-H2N...O2$ y $C15-H15...O1$. (b) Apilamiento de los dímeros de Bendamustina. (c) Empaquetamiento de las columnas de dímeros. En azul se marca una de dichas columnas

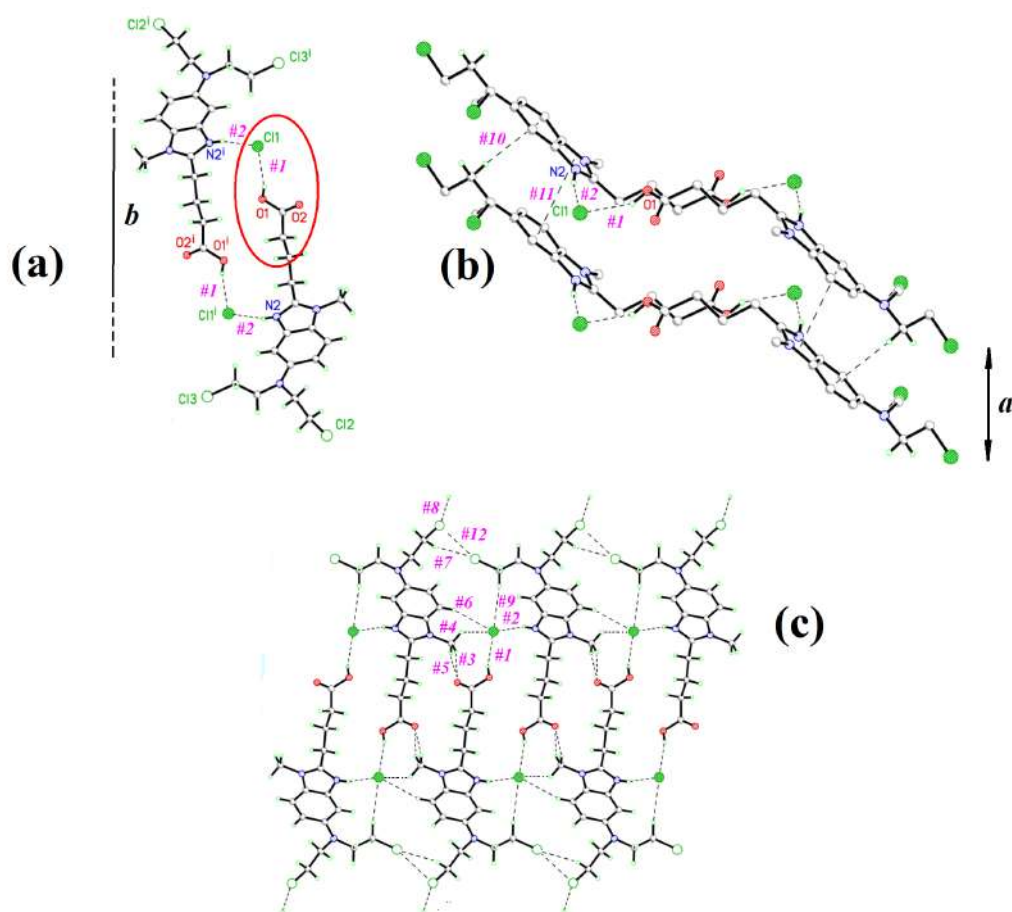


FIGURA 3.13: Empaquetamiento Cristalino de Clorhidrato de Bendamustina forma III. (a) Dímeros planares de Bendamustina formados por interacciones N2-H2N...O2 y O1-H1O...Cl1. (b) Apilamiento de los dímeros de Bendamustina. (c) Empaquetamiento de las columnas de dímeros. En azul se marca una de dichas columnas

Forma I						
#	D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	d(D-A)(Å)	∠ D-H...A(°)	Simetría
1	N2—H2N...O2	0.85(1)	1.89(1)	2.7293(13)	169(2)	-x+1,-y+2,-z+1
2	C15-H15...O1	0.95	2.42	3.3283(14)	159	-x+1,-y+2,-z+1
3	O1-H1O...Cl1	0.84(2)	2.07(2)	2.8994(10)	170(2)	
4	C4-H4B...Cl1	0.99	2.68	3.6325(11)	161	x,y-1,z
5	C3-H3A...Cg2	0.99	2.78	3.6325(11)	161	x,y-1,z
6	C4-H4A...Cl1	0.99	2.79	3.7105(11)	156	-x+0.5,-y+2.5,-z+1
7	C6-H6A...Cl1	0.98	2.96	3.8640(14)	154	x,y-1,z
8	C6-H6B...Cl1	0.98	2.82	3.7314(12)	156	-x+0.5,-y+2.5,-z+1
9	C6-H6C...Cl1	0.98	2.76	3.6510(12)	152	x+0.5,-y+1.5,-z+1
10	C8-H8...Cl1	0.95	2.93	3.7904(11)	151	x+0.5,-y+1.5,-z+1
11	C13-H13B...Cl1	0.99	2.87	3.8502(12)	169	-x+1.5,y-0.5,-z+1.5
12	C14-H14B...Cl1	0.99	2.96	3.6600(13)	128	-x+1.5,y+0.5,-z+1.5
13	C12-H12B...Cl1	0.99	2.79	3.5053(14)	130	
Contactos Cl-Cl			d(Cl-Cl)(Å)		Simetría	
14	Cl1-Cl3		3.4840(6)		x- 0.5, -y+1.5, z-0.5	
Forma III						
#	D-H...A	D-H(Å)	H...A(Å)	D-A(Å)	∠ D-H...A(°)	Simetría
1	O1-H1O...Cl1	0.85(2)	2.29(9)	2.036(10)	147(15)	
2	N2—H2N...Cl1	0.85(2)	2.18(3)	3.024(12)	171(14)	-x+1,-y,-z
3	C6-H6A...O2	0.98	2.49	3.438(18)	163	-x+1,-y,-z+1
4	C6-H6B...Cl1	0.98	3.026	3.651(19)	124	-x+1,-y,-z+1
5	C6-H6C...O2	0.98	2.41	3.329(18)	156	-x+2,-y,-z+1
6	C8-H8...Cl1	0.95	2.78	3.696(12)	162	-x+2,-y,-z+1
7	C12-H12B...Cl3	0.99	2.91	3.838(16)	156	x,y,z+1
8	C13-H13B...Cl2	0.99	2.95	3.743(14)	138	x, -y+0.5, z-0.5
9	C14-H14B...Cl1	0.99	2.84	3.824(15)	172	-x+2,-y,-z
10	C11-H11B...Cg2	0.99	2.83	3.612(5)	135	x+1,y,z
#	Contactos π - π	d(π - π)	Ángulo entre planos		Simetría	
11	Cg2-Cg1	3.581(3)	1.0(7)		x+1, y, z	
#	Contactos Cl-Cl		d(Cl-Cl)		Simetría	
12	Cl2-Cl3		3.544(4)		x+1, y, z+1	

TABLA 3.5: Contactos intermoleculares en las formas I y III de Clorhidrato de Bendamustina

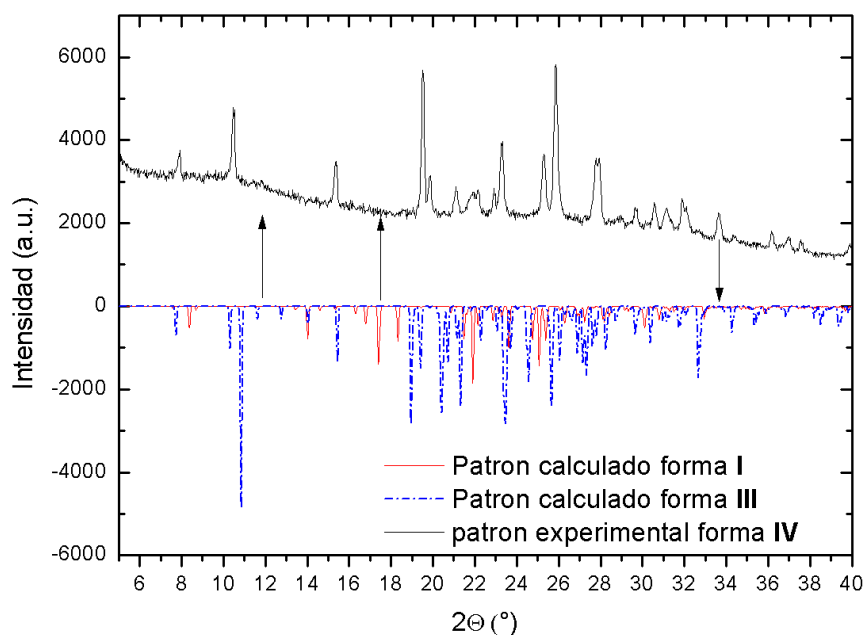


FIGURA 3.14: Difractograma medido para Clorhidrato de Bendamustina forma IV. En el lado negativo del eje y se muestran los difractogramas teóricos de las formas I y III

Estudios térmicos

Se realizaron estudios de TG y DSC para las formas I, II y IV. La forma monohidratada II transforma a la forma III tras su deshidratación. En el estudio de TG realizado en atmósfera de N_2 a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ y con un flujo de $10\text{ ml}/\text{min}$ se observa que la forma II muestra una pérdida de aproximadamente el 4.3 % de su masa comenzando a los 45°C . Posteriormente, esta muestra así como las muestras de las formas I y IV muestran pérdidas de masa a partir de los 200°C compatibles con una descomposición del Clorhidrato de Bendamustina. En la figura 3.15 se muestra el gráfico de variación de masa en función de la temperatura para las tres formas cristalinas.

Los estudios de DSC realizados a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ en un ambiente de N_2 con un flujo de $10\text{ ml}/\text{min}$, muestran eventos térmicos para la forma I y la forma IV a $168(1)^\circ\text{C}$ y $163(1)^\circ\text{C}$ respectivamente. Por microscopía óptica se confirmó que ambos eventos se corresponden con la fusión de ambas formas cristalinas. Por su parte la forma II muestra una deshidratación alrededor de 64°C y posteriormente la forma III tiene su punto de fusión a $155(1)^\circ\text{C}$. Utilizando la regla del calor de fusión⁴⁵ y el hecho de que las Entalpías de fusión obtenidas son $\Delta H_I = 105(1)\frac{\text{J}}{\text{g}}$ para la forma I, $\Delta H_{III} = 83(1)\frac{\text{J}}{\text{g}}$ para la forma III y $\Delta H_{IV} = 84(1)\frac{\text{J}}{\text{g}}$ para la forma IV se puede concluir que la relación entre las distintas formas es monotrópica y la forma más estable es la forma I, mientras que la menos estable es la forma III. Debido a la forma de obtención de la forma IV, es posible objetar que la muestra utilizada sea probablemente una mezcla de Clorhidrato de Bendamustina forma IV y amorfa. En este caso, el punto de fusión de la muestra no debería variar demasiado aunque su variación

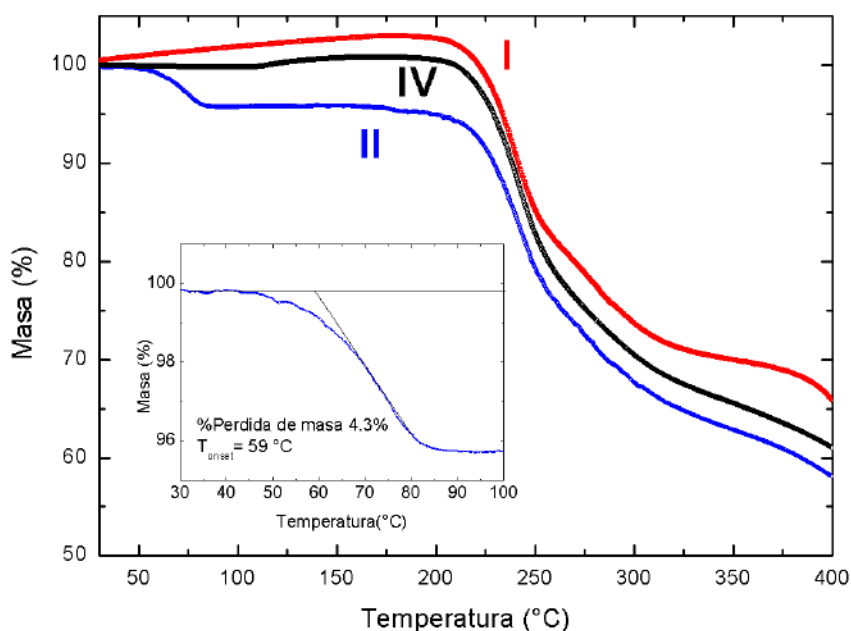


FIGURA 3.15: Variación de masa en función de la temperatura para las formas I, II y IV de Clorhidrato de Bendamustina

de Entalpía estaría subestimada. En cualquier caso, el argumento utilizado anteriormente seguiría siendo válido para afirmar la relación monotrópica entre las formas III y IV, mientras que la afirmación para las forma I y IV se mantiene siempre que la subestimación de la variación de Entalpía sea menor a $19 \frac{J}{g}$ aproximadamente. Se necesita un método de obtención de la forma IV que no mantenga forma amorfa para poder mejorar la evaluación de las estabildades. En la figura 3.16 se muestran los termogramas para las formas I,II y IV.

Inestabilidad química

Debido a la capacidad de hidrolizar de las mostazas nitrogenadas, se ha observado en muchos intentos de recrystalización la degradación de la muestra. En el caso particular de intentar recrystalizar en cloroformo, se ha observado que el Clorhidrato de Bendamustina reacciona para formar la sal Clorhidrato de *cido – butil4 – (1 – Metil – 4,6Dicloro – 5n – amino)Benzimidazol* cuya conformación se muestra en la figura 3.17. Los detalles sobre la reacción química no fueron estudiados pero puede observarse el hecho de que la mostaza nitrogenada se rompe en el proceso.

En la tabla 3.6 se muestra el resumen de la celda unidad observada para el compuesto y los datos referentes a la medición. En dicha estructura los cloros Cl2 y Cl3 se observan en el mismo plano que el grupo benzimidazol. El ángulo torsional O1-C1-C2-C3 adopta el valor de $154(1)^\circ$, distinto a lo observado en las estructuras de Clorhidrato de Bendamustina. Algo similar sucede con el ángulo O2-C1-C2-C3 que adopta un valor de $-23(2)^\circ$. Los ángulos correspondientes a C3-C4-C5-N1 y C3-C4-C5-N2 son similares a lo observado en la forma III adoptando valores de $-82.7(8)^\circ$ y $97.0(8)^\circ$ respectivamente.

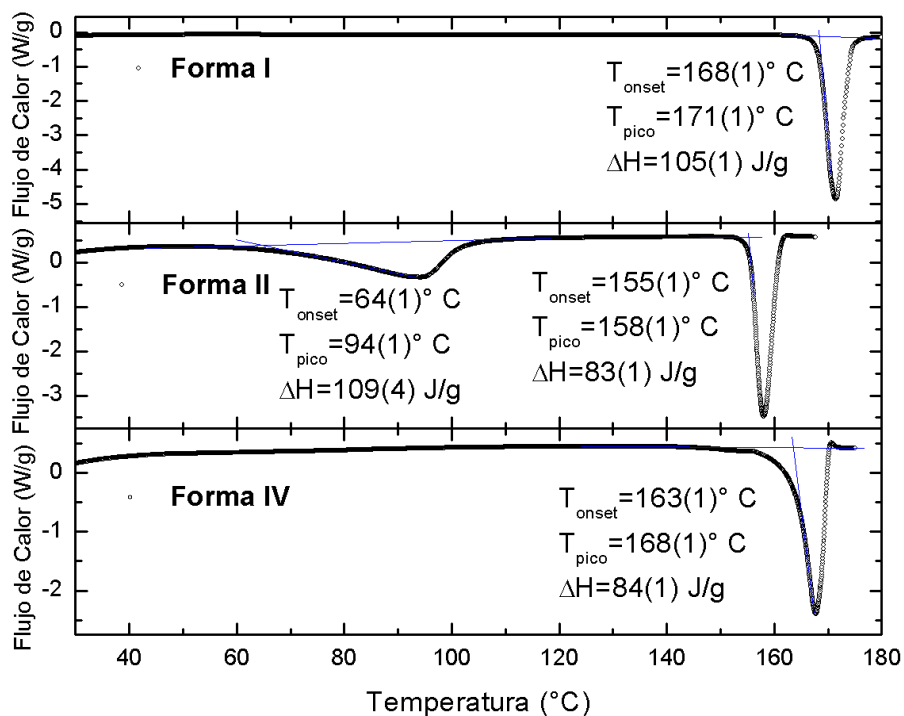


FIGURA 3.16: Flujo de Calor en función de la temperatura para las formas I, II y IV de Clorhidrato de Bendamustina

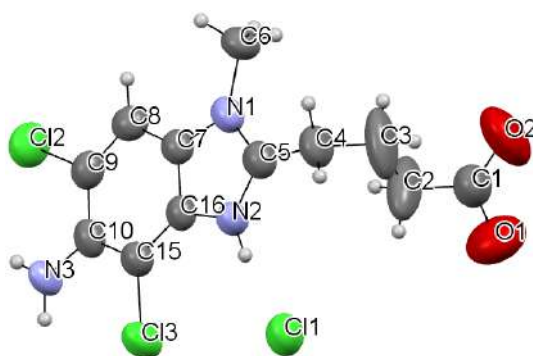


FIGURA 3.17: Conformación molecular observada en el compuesto Ácido-butil-4-(1-Metil-4,6 Dicloro-5n-amino)Benzimidazol en su estructura cristalina

Datos	Clorhidrato de <i>ácido – butil4 – (1 – Metil – 4,6Dicloro – 5n – amino)Benzimidazol</i>
Fórmula Química	C12 H14 N3 Cl2 O2 +:Cl-
M_r	338.62
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclinico $P2_1/n$
Temperatura de medición	Temperatura ambiente
a,b,c (Å)	7.206 (1), 14.637 (3), 13.818 (3)
β°	101.24(1)
Volumen(Å ³)	1429.4(4)
Z	4
Z'	1
Densidad (g/cm ³)	1.573
Radiación	CuK α , 1.5418Å
μ (mm ⁻¹)	5.858
Reflexiones medidas,observadas e independientes	15908,2414,1570
R_{int}	0.0638
$\sin(\theta)/\lambda_{mx}$ (Å ⁻¹)	0.587
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.0773, 0.2116, 1.047
# de parámetros	185
# de restraints	0
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e/Å ³)	1.20-0.19

TABLA 3.6: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de Clorhidrato de *Ácido – butil4 – (1 – Metil – 4,6Dicloro – 5n – amino)Benzimidazol*

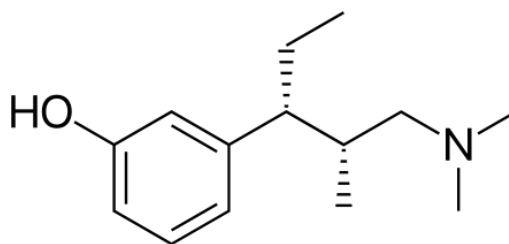


FIGURA 3.18: Diagrama molecular de Tapentadol

Conclusiones

Se han encontrado tres polimorfos de Clorhidrato de Bendamustina. Se ha determinado la estructura cristalina de la forma **I** y la forma **III** encontrándose diferencias conformacionales entre ambas, de forma tal que se puede clasificar al Clorhidrato de Bendamustina como un caso de polimorfismo conformacional. Las diferentes conformaciones entre ambas estructuras da lugar a diferentes empaquetamientos cristalinos. El análisis térmico por DSC muestra que la relación entre ambas es monotrópica de acuerdo a la regla del calor de fusión.⁴⁵

Para la forma **IV** no se pudo resolver la estructura cristalina, aunque se pudo demostrar por medio de su difractograma que es una estructura cristalina diferente a las de las formas **I** y **III**. El análisis térmico muestra que la relación con la estructura **I** es monotrópica y que dicha estructura es la más estable. Su relación con la forma **III** también es monotrópica siendo esta última forma cristalina la menos estable. Para confirmar estas conclusiones sobre la forma **IV**, sería necesario encontrar un método para producirlo que no genere muestra amorfa mezclada con la muestra **IV**.

3.2. Sistemas Enantiotrópicos

3.2.1. Clorhidrato de Tapentadol

Introducción

Tapentadol ((-)-(1R,2R)-3-(3-dimethylamino-1-ethyl-2-methylpropyl)-phenol) es una molécula con dos centros quirales que se utiliza en el tratamiento del dolor. En la figura 3.18 se muestra el diagrama molecular de la misma.

Es un IFA opioide que actúa sobre los receptores μ e inhibe la recaptación de Norepinefrina. A pesar de tener de dos a tres veces menos potencia analgésica que la morfina, su afinidad con los receptores μ es menor, produciendo menores efectos secundarios¹¹⁵. Actualmente, Tapentadol está siendo desarrollado tanto en formulaciones de liberación rápida como en formulaciones de liberación extendida¹¹⁶.

Si bien solo el isómero (R,R) se utiliza como IFA, Ravikumar et. al.¹¹⁷ realizaron la caracterización de los cuatro isómeros de Clorhidrato de Tapentadol. La estructura del estereoisómero (R,R) se determinó, perteneciendo al grupo espacial $P2_1$ y teniendo parámetros de red $a=7.1600(15)\text{\AA}$, $b=11.688(3)\text{\AA}$, $c=17.514(4)\text{\AA}$ y $\beta = 94.535^\circ$. Los estudios de DSC del compuesto determinaron la temperatura de fusión de la estructura en 209°C . Sin embargo, Fisher et. al. de la empresa Gruenenthal GmbH, presentaron una aplicación de patente¹¹⁸ en la cual muestran la existencia de dos formas cristalinas. A la estructura anterior la llaman forma A y además muestran que existe una nueva forma B que cristaliza en el grupo espacial $P2_12_12_1$ con parámetros de red $a=7.0882(3)\text{\AA}$, $b=11.8444(6)\text{\AA}$ y $c=17.6708(11)\text{\AA}$ a una temperatura de

70(1)°C. Los datos se obtuvieron por SC-XRD, y a pesar de la sugestiva temperatura utilizada para tomar los datos, en la patente no muestran datos de calorimetría que permiten estimar la estabilidad térmica relativa entre ambas formas. Para subsanar esta falta de información, se realizó un estudio más completo. Clorhidrato de Tapentadol en su forma A fue gentilmente provisto por Laboratorios Elea.

Estudios estructurales

Monocristales de la forma A fueron obtenidos por evaporación lenta de Clorhidrato de Tapentadol en metanol a temperatura ambiente. Monocristales de la forma B fueron obtenidos por evaporación lenta en solución de Etanol en una estufa a 60°C. Las mediciones de SC-XRD fueron realizadas en el equipo Bruker D8 Quest Eco con radiación de Molibdeno ($\lambda = 0.71073\text{\AA}$) a diferentes temperaturas reguladas con el soplador de nitrógeno Oxford CryoSystems. El cristal de forma A fue medido a -123°C , mientras que el cristal obtenido de forma B fue retirado de la estufa y rápidamente colocado bajo el flujo de nitrógeno a 52°C . Posteriormente a la medición de la estructura en su forma B se enfrió el monocristal y se procedió a medir la estructura resultante. En la tabla 3.7 se muestran los datos experimentales obtenidos. En particular se observa que al disminuir la temperatura la forma B convierte a la forma A.

La forma A cristaliza en el grupo espacial $P2_1$, y contiene dos moléculas por unidad asimétrica. Los parámetros de celda correspondientes son $a=7.1062(2)\text{\AA}$, $b=11.5821(3)\text{\AA}$ y $c=17.3894(5)\text{\AA}$ y $\beta = 94.9978(11)^\circ$. En la figura 3.19 se muestra la conformación molecular de ambas moléculas. Las dos moléculas independientes no presentan grandes diferencias entre sí, siendo la más notable de estas diferencias la orientación en C9B y C9A. Consecuentemente el ángulo torsional C1A-C7A-C8A-C9A es de 63.9° , y el correspondiente a los átomos C1B-C7B-C8B-C9B es casi planar, $172.1(2)^\circ$.

La forma B cristaliza en el grupo espacial $P2_12_12_1$ con parámetros de celda muy similares a la forma A como puede verse en la tabla 3.7, la mayor diferencia se observa en el cambio del ángulo β que cambia de $94.9978(11)^\circ$ a 90° . El aumento de simetría conlleva un cambio en la cantidad de moléculas por unidad asimétrica, donde en la forma B se pasa a tener una única molécula por unidad asimétrica. En la figura 3.19 puede verse la molécula de Clorhidrato de Tapentadol fase B. La conformación molecular del Tapentadol en esta fase es muy similar al observado en la fase A, donde el ángulo torsional C1-C7-C8-C9 es $62.0(4)^\circ$. Este ángulo es similar al observado en la molécula A de la forma A. La superposición entre las moléculas independientes de Clorhidrato de Tapentadol forma A y las moléculas de Clorhidrato de Tapentadol forma B puede verse en la figura 3.20. En la Tabla 3.8 se muestra las distancias, ángulos y ángulos torsionales más relevantes para las moléculas de Tapentadol A y B de la forma A a -123°C y la molécula de Tapentadol en la forma B a 52°C .

Estas similitudes conformacionales provocan estructuras cristalinas muy similares entre sí. No se han encontrado diferencias en los puentes hidrógenos observados en Clorhidrato de Tapentadol forma A y forma B, y esto resulta en una organización supramolecular similar en ambas estructuras. En la tabla 3.9 se puede ver los distintos puentes hidrógenos formados en las estructuras medidas. Los puentes hidrógeno N-H...Cl y O-H...Cl son los responsables de formar cadenas espiraladas de moléculas de Tapentadol y aniones cloro en la dirección [100]. En el caso de la forma A la cadena se construye con las moléculas independientes de Tapentadol en la forma A-B-A-B-... mientras que en la forma B existe una única molécula independiente de Tapentadol. En la figura 3.21 se muestra esta cadena para el caso de Clorhidrato

Datos	Forma A	Forma A	Forma B
Fórmula Química	C14 H24 N1 O1+:Cl-	C14 H24 N1 O1+:Cl-	C14 H24 N1 O1+:Cl-
M_r	257.79	257.79	257.79
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1$	Monoclinico $P2_1$	Ortorrombico $P2_12_12_1$
Temperatura de medición	-123°C	-23°C	52°C
a,b,c (Å)	7.1062(2) 11.5821(3) 17.3894(5)	7.1350(2) 11.6402(4) 17.4546(5)	7.0653(2) 11.8351(3) 17.6593(5)
$\beta(^\circ)$	94.9978(11)	94.7791(14)	90
Volumen (Å ³)	1425.79(7)	1444.61(8)	1476.64 (7)
Z	4	4	4
Z'	2	2	1
Densidad (g/cm ³)	1.201	1.185	1.160
Radiación	MoK $_{\alpha}$, 0.7107 Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107 Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107 Å
$\mu(\text{mm}^{-1})$	0.25	0.25	0.25
Reflexiones medidas, observadas e independiente	21367 11698, 10087	21544 11785, 9197	9587 3015, 2216
R_{int}	0.034	0.057	0.057
$\sin(\theta)/\lambda_{mx}(\text{Å}^{-1})$	0.813	0.810	0.624
$R[F^2] > 2\sigma(F^2), wR(F^2), S$	0.046, 0.113, 1.03	0.054, 0.136, 1.04	0.045, 0.103, 0.90
# de Reflexiones	11698	11785	3015
# de parámetros	319	319	164
# de restraints	5	5	2
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(\text{e}/\text{Å}^3)$	0.40, 0.32	0.34, 0.33	0.22, 0.19

TABLA 3.7: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de Clorhidrato de Tapentadol

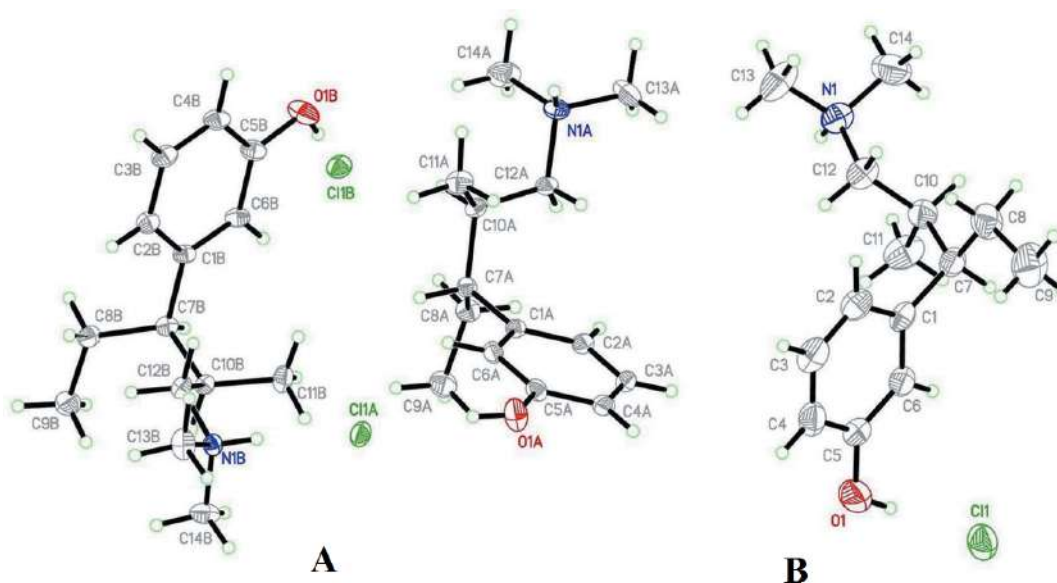


FIGURA 3.19: A) Moléculas de Clorhidrato de Tapentadol forma A en la unidad asimétrica B) Molécula de Clorhidrato de Tapentadol forma B en la unidad asimétrica

Distancias(Å)	Forma A (A)	Forma A (B)	Forma B
C8-C9	1.517(4)	1.514(4)	1.497 (5)
C12-N1	1.505(3)	1.509(3)	1.494 (4)
C10-C12	1.517(4)	1.526(3)	1.517 (4)
C5-O1	1.376(3)	1.368(3)	1.363 (4)
Angulos (°)			
C9-C8-C7	112.4(2)	114.5(2)	113.5 (3)
C8-C7-C10	111.3(2)	113.8(2)	111.7 (3)
C1-C7-C8	112.9(2)	111.5(2)	113.6 (3)
Torsiones (°)			
C1-C7-C8-C9	63.9(3)	172.1(2)	62.0 (4)
C10-C7-C8-C9	-166.6(2)	-57.2(3)	-167.3 (3)
C11-C10-C12-N1	-62.3(3)	-57.1(3)	-62.2 (4)
C7-C10-C12-N1	172.1(2)	177.2(2)	171.4 (3)

TABLA 3.8: Distancias y ángulos característicos de las moléculas de Clorhidrato de Tapentadol en forma A molécula A, forma A molécula B y forma B

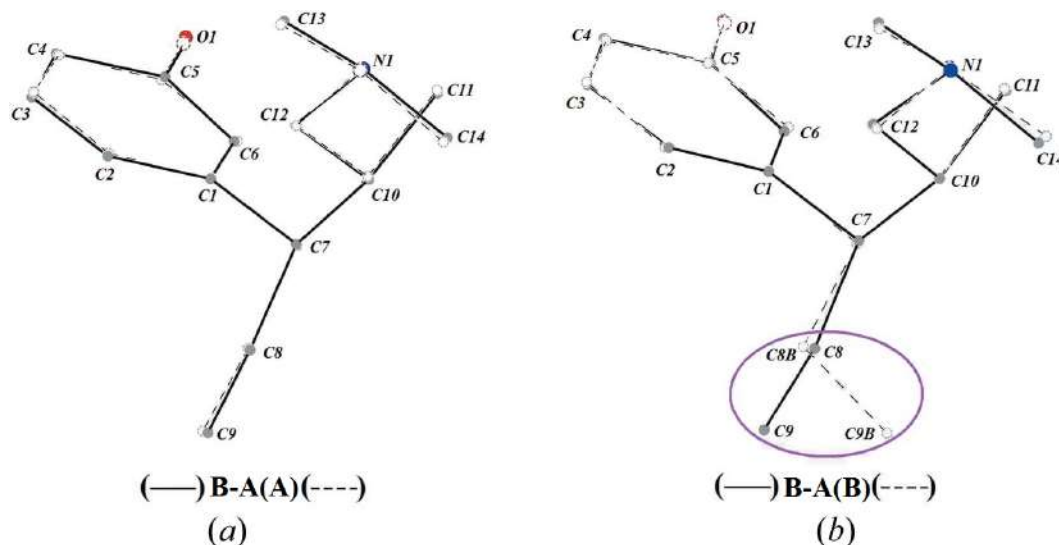


FIGURA 3.20: Superposición de las moléculas independientes de Clorhidrato de Tapentadol en forma A (molécula A, molécula B) con la molécula de Clorhidrato de Tapentadol en forma B. Se observa que la diferencia más significativa es el desplazamiento del átomo C9.

de Tapentadol forma A. La vista perpendicular a estas cadenas espiraladas se muestra en la figura 3.22. Se observa que en la forma A hay un pseudo eje 2_1 , la simetría entre las moléculas está rota por la posición del átomo C9 y otras diferencias conformacionales menores, con lo cual este pseudo eje 2_1 se convierte en un auténtico eje de simetría en la forma B.

Forma	Temperatura (°C)	D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	d(D...A)(Å)	$\angle$ D-H...A (°)
A	-123(2)	N1A-H1NA...Cl1B	0.86 (1)	2.24 (2)	3.0453(19)	156 (3)
A	-123(2)	O1A-H1OA...Cl1A	0.84 (1)	2.21 (1)	3.0481(19)	173(4)
A	-123(2)	N1B-H1NB...Cl1A	0.86 (1)	2.20 (2)	3.0396 (19)	163(3)
A	-123(2)	O1B-H1OB...Cl1B	0.85 (1)	2.25 (2)	3.0609 (19)	161(3)
A	-23(2)	N1A-H1NA...Cl1B	0.85 (1)	2.25 (2)	3.056(2)	159 (3)
A	-23(2)	O1A-H1OA...Cl1A	0.84 (1)	2.22 (2)	3.055(2)	172(4)
A	-23(2)	N1B-H1NB...Cl1A	0.87 (1)	2.22 (2)	3.048 (2)	161(3)
A	-23(2)	O1B-H1OB...Cl1B	0.85 (1)	2.25 (2)	3.070 (2)	163(4)
B	52(2)	N1-H1N...Cl1	0.86 (1)	2.24 (2)	3.054 (3)	159(3)
B	52(2)	O1-H1O...Cl1	0.85 (1)	2.19 (1)	3.037 (3)	177(5)

TABLA 3.9: Interacciones puente hidrógeno encontrados en la forma A y la forma B de Clorhidrato de Tapentadol

Se obtuvo mayor información sobre la transición de forma A a forma B midiendo los parámetros de celda de un monocristal por SC-XRD cada 5°C desde 27°C hasta 52°C. La celda se obtuvo tomando 24 frames en total con el detector en posición $2\theta = 5^\circ$ para los primeros 12 frames y $2\theta = -5^\circ$ para los siguientes 12 frames. Las posiciones en Ω y ϕ fueron arbitrarias y distintas para los primeros 12 frames en comparación a los últimos 12. El barrido se hizo en Ω cada 0.5° . Para cada temperatura se repitió el mismo procedimiento y para los frames obtenidos se obtuvo celda y se refinó a partir de las reflexiones observadas. Se consideró observada una reflexión cuando cumplía $I/\sigma \geq 10$. La obtención de la celda fue similar para todos

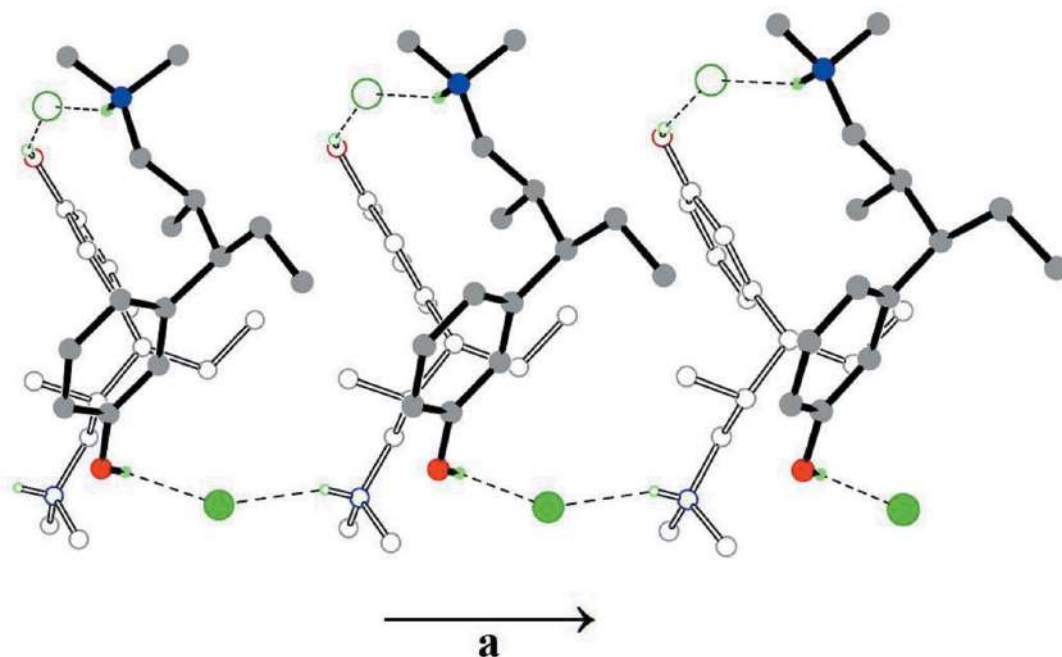


FIGURA 3.21: Arreglo supramolecular de Clorhidrato de Tapentadol forma A. Se observa la formación de cadenas espiraladas en la dirección del eje *a*, característica compartida con la estructura de la forma B

los métodos utilizados (Transformada de Fourier, Diferencia de Vectores y cuadrados mínimos) y se refinó para las reflexiones observadas en el lugar esperado del espacio recíproco. Para considerar que dicha reflexión estaba en un punto del espacio recíproco esperado se utilizó la mayor tolerancia que permitía el software¹¹³, de hasta 5 de diferencia en un índice de Miller. Luego de llegar a los 52°C se procedió a medir cada 5°C descendiendo la temperatura hasta 22°C. En la figura 3.23 se muestra el resultado para los distintos parámetros de celda.

Se observa que el volumen se incrementa como es esperado al aumentar la temperatura, y tiene un salto en su valor alrededor de 47°C compatible con la transición de fase. Los parámetros de celda *b* y *c* también incrementan su valor con el aumento de temperatura de acuerdo con un debilitamiento de los enlaces intermoleculares. Sin embargo, el parámetro de celda *a* muestra una disminución en su valor al incrementar la temperatura y pasar de la forma A a la forma B. Esta dilatación térmica negativa ha sido reportada previamente en materiales con efecto termosensible y reportada como una posible fuerza motriz que produce el efecto¹¹⁹. Posteriormente, junto con los resultados observados por microscopía óptica se dará una descripción del efecto termosensible.

Clyffe and Goodwin han propuesto calcular el tensor de deformaciones para describir como se deforma un material al variar su temperatura o aplicarle presión¹²⁰. Gráficamente esto se puede mostrar con el indicador de expansividad térmica, el cual los mismos autores implementaron en el programa PASCAL¹²⁰. Cuando los ejes cristalográficos son perpendiculares entre sí coinciden con los ejes principales del indicador de expansividad térmica. Si dos de los ejes de la celda unitaria no son ortogonales entre sí, como el caso de los ejes *a* y *c* en una estructura monoclinica, entonces la expansión térmica en una de las direcciones cristalográficas esta correlacionada con la otra¹²¹. Sin embargo para cualquier sistema existe un conjunto de direcciones ortogonales únicas en las que el material tiene una respuesta linealmente

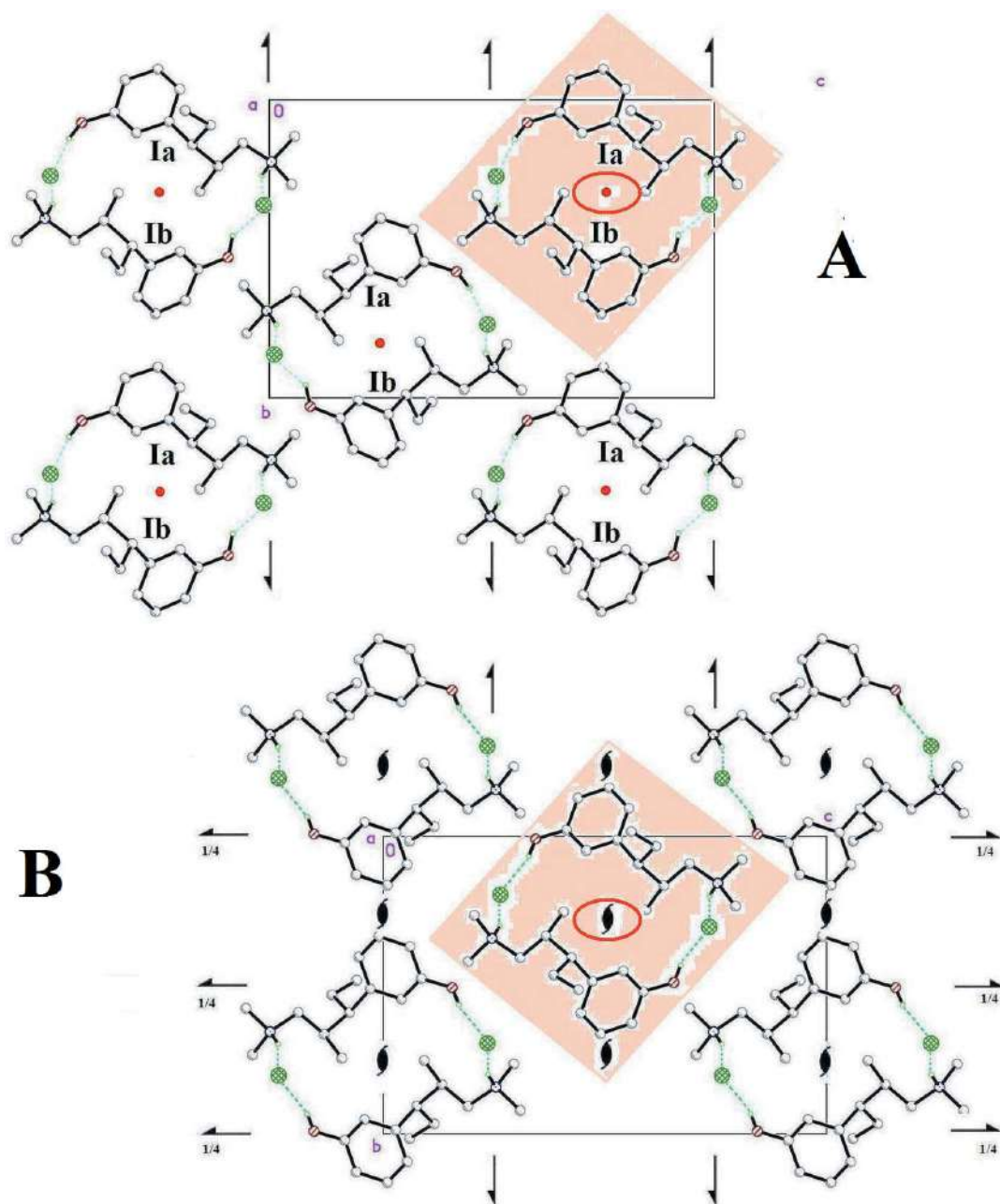


FIGURA 3.22: Arreglo supramolecular de Clorhidrato de Tapentadol forma A y B en el plano perpendicular a el eje cristalográfico a . Se observa que el pseudo eje 2_1 en la forma A se convierte en un auténtico eje 2_1 en B

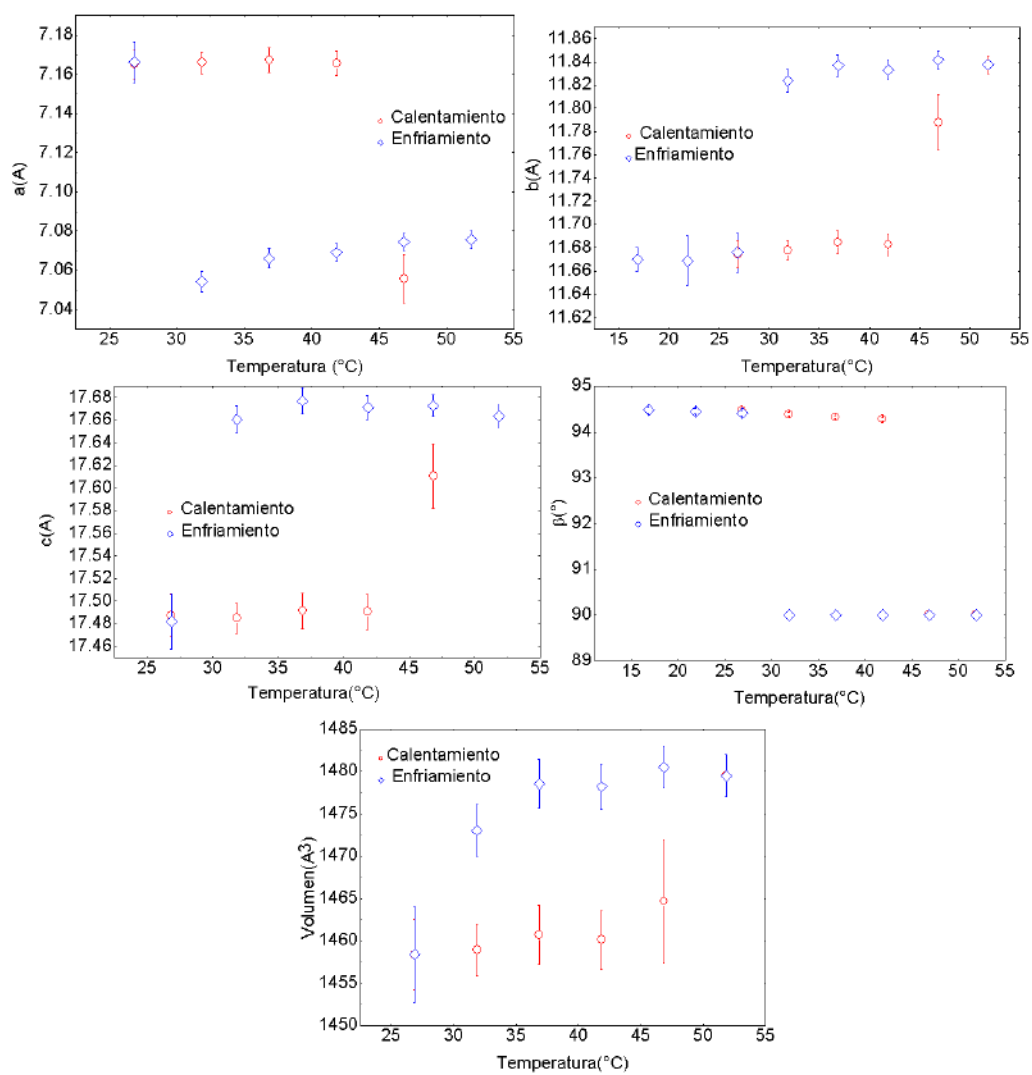


FIGURA 3.23: Gráfico de los parámetros de celda de Clorhidrato de Tapentadol en función de la temperatura

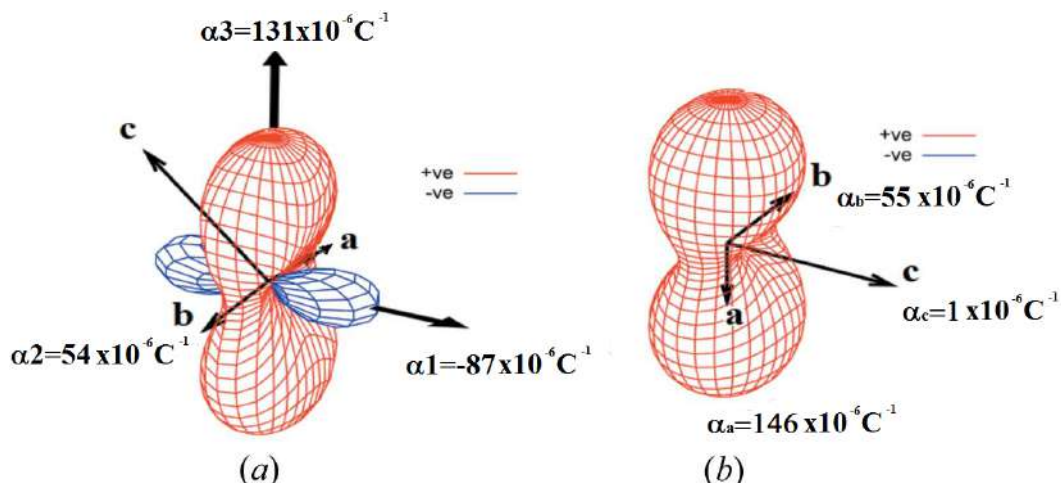


FIGURA 3.24: Indicador de expansividad térmica para (a) la forma A y (b) la forma B de Clorhidrato de Tapentadol

independiente, que en el caso de sistemas cristalinos con todos sus ejes ortogonales, dichos ejes coinciden con los ejes de la celda unitaria¹²⁰. En el caso de sistemas cristalinos monoclinicos los ejes en los que el sistema responde de forma linealmente independiente surge de diagonalizar el tensor de deformaciones¹²⁰. Utilizando PASCAL para obtener los indicadores de expansividad térmica de la forma A al calentar y de la forma B al enfriar se obtienen los gráficos de la figura 3.24. En el mismo se observa la expansividad térmica negativa en el eje $\vec{a}_1 = 0.9227\vec{a} - 0.3855\vec{c}$ con una amplitud de $-87 \times 10^{-6} \text{C}^{-1}$ para la forma A. Cuando ocurre la transición de la forma A a la forma B no se observan expansividades térmicas negativas, si bien la que corresponde al eje **a** es notoriamente menor a la de los otros ejes. A partir de esto se puede ver que la forma A acumula tensiones al incrementar su temperatura por el hecho de que uno de sus ejes decrece de tamaño mientras los demás crecen. Esta tensión creada dentro del material puede ser la fuerza motriz que genere la transformación de fase de la forma A a la forma B, donde estas tensiones se suavizan.

Estudios térmicos

Mediciones simultánea de TG y DTA fueron realizadas en un equipo Shimadzu DTG-50 sobre la muestra de Clorhidrato de Tapentadol forma A. En la figura 3.25 se muestra el resultado de las mismas, las cuales se realizaron en una atmósfera de nitrógeno y a una velocidad de barrido de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. La pérdida de masa de la muestra comienza aproximadamente a los 200°C siendo más pronunciada a partir de los 230°C . La curva del flujo de calor muestra un pico en 205°C , el cual se confirmó por microscopía óptica que corresponde a la fusión del compuesto. A los 44°C se observa un pequeño evento en la curva de flujo de calor, aunque la baja sensibilidad del DTA impide distinguir si se trata de una transición de segundo orden, o de una transición de primer orden pequeña. Para cuantificar los eventos térmicos se procedió a relizar mediciones de DSC sobre Clorhidrato de Tapentadol forma A, donde se observó que dicha transición se corresponde con la transición de la forma A a la forma B de Clorhidrato de Tapentadol.

Se realizaron mediciones de DSC sobre la muestra de Clorhidrato de Tapentadol forma A tal como se recibió. Para determinar la Entalpía de fusión se realizó una medición con un 1 mg de muestra donde se estabilizó el compuesto a 60°C y se mantuvo una isoterma durante 5 minutos y luego se subió la temperatura a $10^\circ\text{C}/\text{min}$

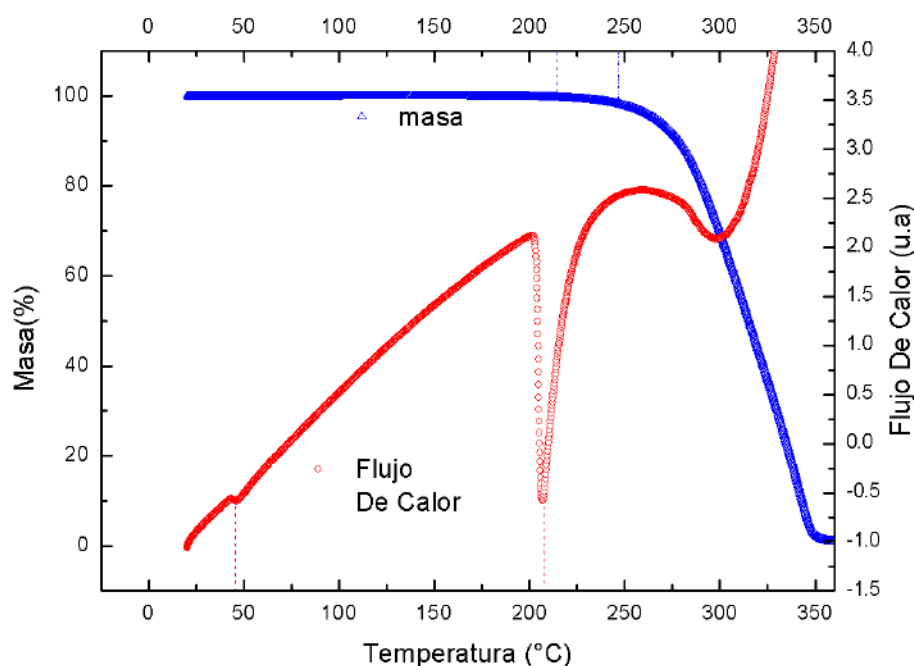


FIGURA 3.25: Gráfico de TG y DTA de Clorhidrato de Tapentadol forma A

hasta los 230°C. En la figura 3.26 se muestra el resultado de dicha medición. El pico de fusión se observa angosto, lo cual es indicativo de la alta pureza de la muestra. La variación de Entalpía observada en la fusión es de $141 \frac{J}{g}$ con un pico en 204°C y una temperatura de *onset* de 203°C. La pequeña diferencia entre la temperatura del pico y la del *onset* dan cuenta de la angostura del pico. Esta temperatura de fusión se corresponde a la forma B, ya que al realizar la calorimetría desde temperatura ambiente se observa un evento endotérmico alrededor de 45°C que se corresponde con la transición de la forma A a la forma B.

Para estudiar la transición endotérmica a 45°C, se realizó una medición sobre Clorhidrato de Tapentadol forma A donde, sobre una muestra de 2.304 mg, se realizó el siguiente procedimiento: una isoterma a 20°C durante 3 minutos, luego se calentó hasta 70°C a 10°C/min y tras una isoterma de 3 minutos a esa temperatura se bajó la temperatura hasta -100°C a 10°C/min. Luego de esto se realizó una isoterma de 3 minutos y se volvió a calentar hasta 70°C a 10°C/min. Este enfriamiento y calentamiento se repitió una vez más tras una isoterma de 3 minutos. Este protocolo se repitió para muestra del mismo lote molida durante 5 minutos previamente a la medición. Los resultados pueden verse en la figura 3.27.

Al calentar la muestra de Clorhidrato de Tapentadol sin molienda se observa la transición endotérmica a 43°C con una variación de entalpía de $5.137 \frac{J}{g}$. Es llamativo en esta curva la falta de suavidad de la transición, ya que sobre la endoterma se observa un pico ruidoso. En la curva de enfriamiento se observa una exoterma a 29°C, si bien la curva se suaviza en comparación a la del calentamiento, conserva algunos picos ruidosos. La variación de entalpía es de $4.912 \frac{J}{g}$, levemente inferior a la observada en la curva de calentamiento, probablemente debido al efecto de histéresis. Al volver a calentar por segunda vez se observa un pequeño corrimiento del pico en la

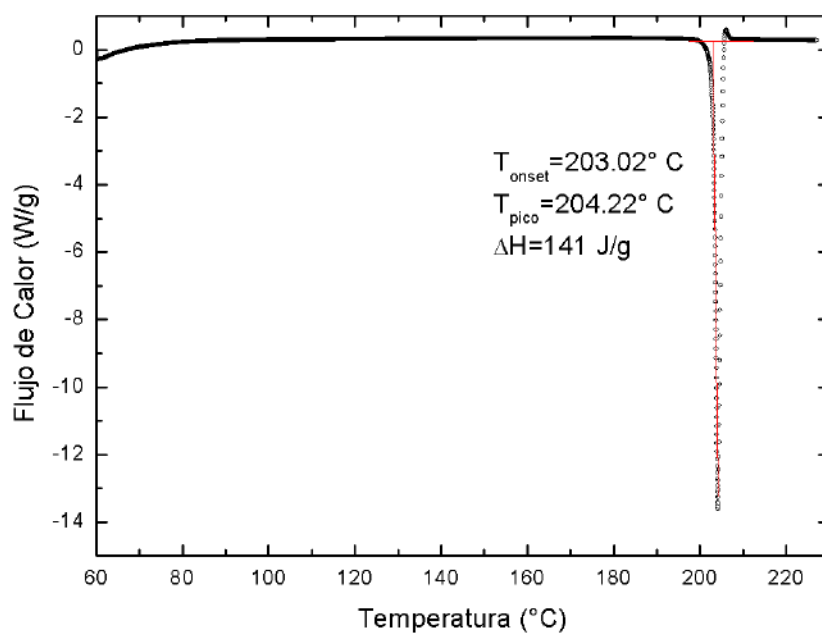


FIGURA 3.26: Gráfico de los resultados de DSC a temperaturas altas

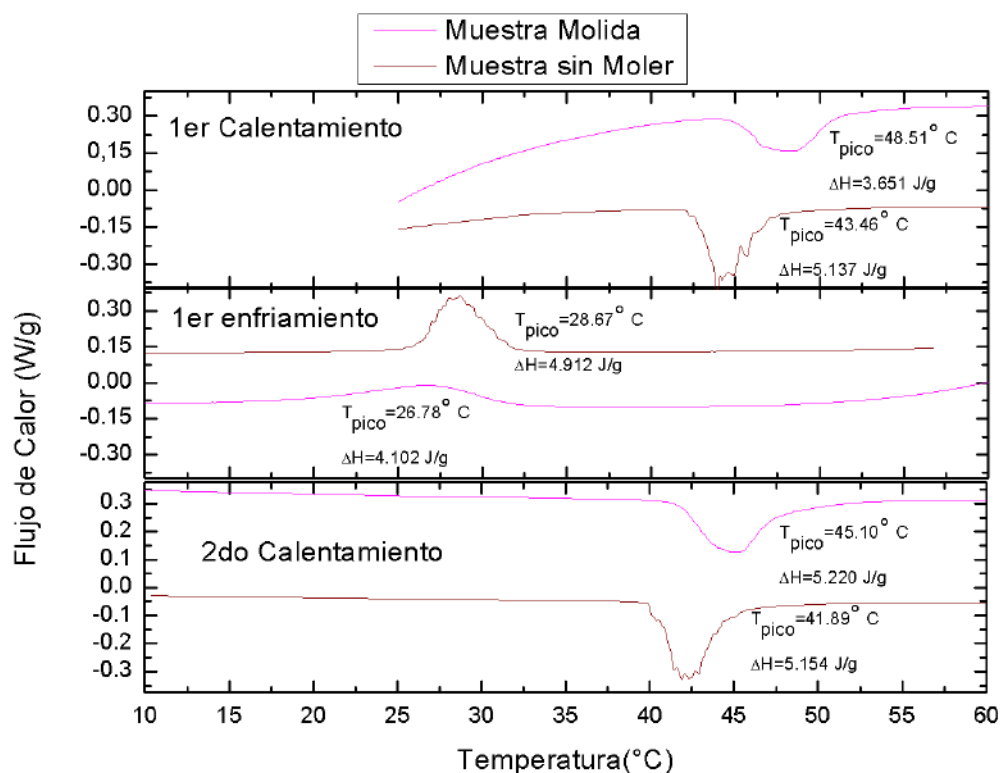


FIGURA 3.27: Gráfico de los resultados de DSC para la muestra molida y sin molienda de Clorhidrato de Tapentadol inicialmente en forma A. Arriba se muestra el calentamiento de esta muestra a $10^{\circ}\frac{\text{C}}{\text{min}}$, en el medio su posterior enfriamiento a la misma velocidad y finalmente un segundo calentamiento de la misma.

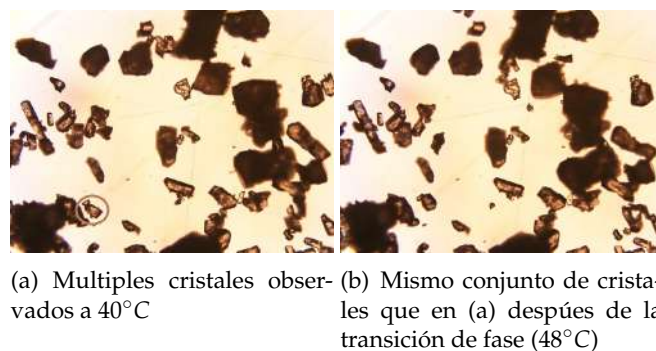


FIGURA 3.28: Observación por microscopía óptica de cristales de Clorhidrato de Tapentadol en función de la temperatura.

transición endotérmica a 42°C, manteniéndose una variación de Entalpía similar. Si bien la curva se suaviza, se siguen observando picos poco suaves en la transición.

Al realizar la misma secuencia de mediciones con la muestra molida se observa que los picos de las transiciones son suaves. Es claro que el tamaño de grano tiene influencia en la no suavidad de la curva durante la transición. Además, durante el calentamiento los picos de las transiciones sufren un corrimiento hacia mayores temperaturas. En el primer calentamiento se observa un pico a 49°C con una variación de entalpía de $3.65 \frac{J}{g}$ mientras que en el segundo calentamiento se observa el pico a 45°C con una variación de entalpía de $5.220 \frac{J}{g}$. En el enfriamiento se observa un corrimiento del pico hacia temperaturas más bajas, lo cual muestra que al disminuir el tamaño de grano se incrementa la histéresis térmica en la transición de la forma A a la forma B. En este caso el pico de la transición se encuentra a 27°C con una variación de entalpía de $4.102 \frac{J}{g}$.

La regla del calor de transición establecida por Burger y Ramberger⁴⁵ indica que si la transición entre las fases A, de baja temperatura y B, de alta temperatura es endotérmica, entonces la relación entre ambas formas polimórficas es enantiotrópica. La temperatura de transición entre ambas fases tiene que ser un valor entre la temperatura de transición encontrada al calentar la muestra (45°C) y el encontrado al enfriarla (29°C).

Microscopía óptica: El efecto termosensible

La transición de primer orden observada a 45°C fue también estudiada por microscopía óptica con platina calentadora. Se realizó un barrido de temperatura a $10^{\circ}C/min$ desde 20°C hasta 50°C. Al observar la transición en un conjunto de cristales de distinto tamaño, con un protocolo similar al utilizado en un único cristal, se observa que algunos cristales se mueven con respecto a su posición original. Este movimiento que parece implicar una rotación con respecto a algún eje propio. En la figura 3.28 se puede observar el campo visual para un conjunto antes y después de la transición donde se observa el movimiento de varios cristales. Uno de ellos se marco con un círculo como guía para el lector.

Al efecto de movimiento de los cristales al variar la temperatura se lo conoce como efecto termosensible. Los materiales que presentan este efecto termosensible son candidatos a ser elementos activos en el desarrollo de distintos dispositivos como dispositivos biomiméticos, actuadores y sensores entre otros¹²². Para el desarrollo

de un dispositivo práctico se necesita, entre otras cosas, reversibilidad, una respuesta rápida y una operación controlada¹²², condiciones que observamos en Clorhidrato de Tapentadol. Además el efecto en este compuesto se observa en temperaturas cercanas a la temperatura corporal, lo que es una ventaja para dispositivos médicos.

El efecto termosaliente fue reportado por primera vez en 1983¹²³ y posteriormente se le asignó el nombre de efecto termosaliente¹²⁴. Hasta el año 2018 se había observado que todos los materiales que mostraban efecto termosaliente compartían algunas características en común:

- Cristalinidad
- Expansión térmica negativa en al menos uno de sus ejes principales de deformación
- Una transición de fase con un cambio abrupto de uno de los parámetros de celda

Algunos estudios proponen que la compresibilidad negativa es la fuerza impulsora del efecto termosaliente¹¹⁹, e incluso se ha encontrado casos donde no se ha observado ninguna transición de fase asociada¹²⁵. En los casos donde existe una transición de fase asociada, se ha encontrado que esta es de primer orden y en general ambas fases tienen simetrías y grupos espaciales similares, donde se observa que existen pequeños cambios en el empaquetamiento cristalino^{122,126}.

Conclusiones

Se han observado dos polimorfos de Clorhidrato de Tapentadol, los cuales se encuentran relacionados enantiotrópicamente. Esta transición de fase se caracteriza por ser de primer orden aunque la variación de Entalpía es relativamente pequeña. Posiblemente debido a la pequeña variación de Entalpía que presenta la transición es posible realizar una transición monocristal-monocristal pudiendo pasar de la fase B a la fase A manteniendo una buena calidad de monocristal. Al observar ópticamente cristales que atraviesan esta transición se observa movimiento en algunos de ellos. Claramente tanto el tamaño de los cristales como la orientación del mismo afecta a su capacidad de moverse, puesto que no todos los cristales observados por microscopía óptica se mueven. Además la molienda suaviza las curvas de DSC, mostrando que posiblemente el movimiento de los cristales al pasar por la transición sea menor tras la molienda. Para cuantificar este fenómeno se requeriría la posibilidad de obtener muestras de tamaño de grano homogéneo y cuantificable.

La caracterización estructural de ambas formas de Clorhidrato de Tapentadol mostro que las diferencias conformacionales de la molécula de Tapentadol en ambas formas es pequeña. La transición de A a B implica un incremento de la simetría al pasar de una estructura $P2_1$ a una estructura $P2_12_12_1$, sin embargo la pseudo-simetría 2_1 en el eje a ya existe en la forma A. Las pequeñas diferencias conformacionales entre las dos moléculas independientes en la forma A son las que impiden que esta sea una simetría. Al seguir los parámetros de celda en función de la temperatura se pudo observar que en la forma A existe un eje de expansión térmica negativo. Es posible que las tensiones que genera en el material esta expansión térmica negativa sean la fuerza motriz de la transición termosaliente de la forma A a la forma B.

Bibliografía

45. A. Burger y R. Ramberger, *Mikrochimica Acta* **II**, 259-271,273-316 (1979).
91. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A* **71**, 3-8 (2015).
98. M. Dinesh, A. David y S. Quraishi, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, CD001720 (3 2004).
99. A. Moglioni, G. Sarmiento y G. Moltrasio, *A process for the preparation pipotiazine and their salts or pharmaceutically acceptable derivatives*, AR056066A1, 2006.
100. D. Oxford, *CrysAlis PRO*, Oxford Ltd. Yarnton, Oxfordshire, England.
101. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A* **64**, 112-122 (2008).
102. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section C* **71**, 3-8 (2015).
103. W. Ozegowski y D. Krebs, *Zbl. Pharm* **110**, 1013-1019 (1971).
104. B. Cheson y M. Rummel, *Clinical Oncology* **27**, 1492-1501 (2009).
105. H. Leong y M. Ellen Bonk, *Pharmacy and Therapeutics* **34**, 73-76 (2009).
106. W. Knauf y col., *Blood* **110**, 2043 (2007).
107. S. Chang y col., *Journal of Pharmaceutical Sciences* **67**, 682-684 (1978).
108. S. Stout y C. Riley, *International Journal of Pharmaceutics* **37**, 257 (3 1987).
109. M. Ravikanth, P. S. Babu, B. Rao, M.V. y A. Y., *International Journal of Pharmaceutical sciences Review and Research* **23**, 89-93 (2 2013).
110. L. Yu, N. Milton, G. E., D. Mishra y R. Vansickle, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **88**, 196 (2 1999).
111. M. Cooper, L. Courvoisier, M. Eddleston y R. McKean, *Novel Solid Forms of Bendamustine Hydrochloride*, US Patent US2009/001956, 2008, (<https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=W02009120386>).
112. G. Reck, CCDC 615914, 2006, (DOI:10.5517/ccnnx6d).
113. B. A. Inc., APEX3, Madison, Wisconsin, USA, 2015.
114. CCDC, *Cambridge Structural Database* 5.40, 2018.
115. T. Tzschentke y col., *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **323**, 265-276 (2007).
116. M. S. Etropolski, A. Okamoto, D. Y. Shapiro y C. Rauschkolb, *Pain Physician* **13**, 61-70 (2010).
117. K. Ravikumar, B. Sridhar, N. Pradhanb y M. Khunt, *Acta Crystallographica Section C* **67**, 71-76 (2011).
118. A. Fischer, H. Buschmann, M. Gruss y D. Lischke, *CRYSTALLINE FORMS OF (-)-(1R,2R)-3-(3-DMETHYLAMINO-1-ETHYL-2-METHYLPROPYL)-PHENOL HYDROCHLORIDE*, US 2007/0213405 A1, 2007, (<https://patentimages.storage.googleapis.com/ff/79/46/efdbb5108fa307/US20070213405A1.pdf>).
119. I. Loncaric y col., *Crystal Growth and Design* **17**, 4445-4453 (2017).

120. M. J. Cliffe y A. L. Goodwin, *Journal of applied Crystallography* **45**, 1321-1329 (2012).
121. A. Goodwin, D. Keen y M. Tucker, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 18708.
122. N. Nath, M. Panda, S. Sahoo y P. Naumov, *Crystal Engineering Communications* **16**, 1850-1858 (10 2014).
123. M. Etter y A. Siedle, *Journal of the American Chemical Society* **105**, 641-643 (3 1983).
124. J. Gigg, R. Gigg, S. Payne y R. Conant, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1**, 2411 (0 1987).
125. T. Klaser y col., *Crystals* **8**, 301 (2018).
126. S. Sahoo, M. Panda, N. K. Nath y P. Naumov, *Journal of the American Chemical Society* **135**, 12241-12251 (2013).

Capítulo 4

Hidratos

Los hidratos son el tipo de solvato más frecuente como se comentó en el capítulo 1. Es importante determinar la estabilidad relativa de los hidratos en distintas condiciones de humedad relativa para de esta manera garantizar en que forma se encontrará el IFA al momento de ser utilizado. La capacidad de un dado hidrato para hidratarse esta relacionado a sus propiedades estructurales. Como ya se comentó en el capítulo 1, una clasificación usual es la clasificación estructural donde se dividen a los hidratos en tres clases distintas: Hidratos de canal, hidratos de sitio aislado e hidratos asociados a un ión.⁵⁹

En este capítulo se estudiará un compuesto representativo de cada clase: Clorhidrato de Bendamustina presenta un monohidrato con características de hidrato de canal. Pridinol Mesilato es el IFA estudiado como caso de hidrato de sitio aislado e *Pregabalina* : $MnCl_2$: H_2O es el caso estudiado de hidrato asociado a un ión. En todos los casos se han realizado estudios térmicos y estructurales que confirman la clase de hidrato y su estabilidad relativa.

4.1. Hidratos de canal: El caso de Clorhidrato de Bendamustina

4.1.1. Estudios estructurales y térmicos

En el capítulo 3 se estudió el polimorfismo en Clorhidrato de Bendamustina. Se observó que posee tres polimorfos y un monohidrato. En particular el polimorfo **III** se obtuvo a partir de la deshidratación del monohidrato al calentar la muestra. En la tabla 4.1 se muestran los datos de ambas estructuras resueltas.

Las diferencias entre la celda unidad del polimorfo **III** y del monohidrato son pequeñas. Ambas estructuras cristalizan en el grupo espacial $P2_1/c$, en el caso de la forma **III** los parámetros de red son $a=4.7301(5)\text{\AA}$, $b=45.587(5)\text{\AA}$, $c=8.805(1)\text{\AA}$ y $\beta=97.581(7)^\circ$ lo que da un volumen de $1882.1(4)\text{\AA}^3$. En la estructura monohidratada los parámetros de red a esa misma temperatura son $a=4.660(2)\text{\AA}$, $b=47.22(2)\text{\AA}$, $c=8.931(5)\text{\AA}$ y $\beta=96.11(3)^\circ$ con un volumen de $1954(2)\text{\AA}^3$. En ambos casos la estructura tiene $Z=4$, siendo la diferencia de volumen normalizada por Z de $18(2)\text{\AA}^3$, dentro de la diferencia esperada para una molécula de agua⁵⁹. Además las diferencias en los parámetros de red son menores al 5 %, esta similitud entre los parámetros es típica de un hidrato de canal, donde la deshidratación del hidrato deja la misma estructura con leves modificaciones. La mejor resolución de la estructura del monohidrato se obtuvo a $-173(2)^\circ\text{C}$, mientras que la estructura **III** fue resuelta a $-123(2)^\circ\text{C}$ por lo que la estructuras comparadas no fueron resueltas a la misma temperatura. Sin embargo, no se espera que el cambio en las estructuras con la temperatura sea significativo, de forma tal que la comparación entre ambas estructuras es valida.

Datos	Monohidrato	Monohidrato	III
Fórmula Química	(C16 H22 N3 O2 Cl2)+:Cl-: H2 O	(C16 H22 N3 O2 Cl2)+:Cl-:H2 O	(C16 H22 N3 O2 Cl2)+:Cl-
M_r	412.73	412.73	394.71
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1/c$	Monoclínico $P2_1/c$	Monoclínico, $P2_1/c$
Temperatura de medición	$-173(2)^\circ\text{C}$	$-123(2)^\circ\text{C}$	$-123(2)^\circ\text{C}$
a,b,c (Å)	4.6490(6) 47.213(5) 8.9051(10)	4.6623(8) 47.350(7) 8.923(2)	4.7301(5) 45.587(5) 8.805(1)
$\beta(^\circ)$	96.222(7)	96.250(7)	97.581(7)
Volumen(Å ³)	1943.1(4)	1958.1(6)	1882.1(4)
Z	4	4	4
Z'	1	1	1
Densidad (g/cm ³)	1.414	1.400	1.395
Radiación	MoK $_{\alpha}$, 0.7107Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107Å
$\mu(\text{mm}^{-1})$	0.492	0.488	0.501
Reflexiones medidas, observadas e independiente	20495,3968, 2273	3722,3722,2163	35952,3748,2731
R_{int}	0.2025	0.1492	0.1375
$\sin(\theta)/\lambda_{max}(\text{Å}^{-1})$	0.625	0.610	0.625
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.0872,0.1685,1.069	0.1166,0.2261,1.149	0.22,0.3974,1.338
# de parámetros	233	234	214
# de <i>restraints</i>	3	3	0
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(\text{e}/\text{Å}^3)$	0.54-0.35	0.82-0.37	0.72-0.53

TABLA 4.1: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de la estructura de Clorhidrato de Bendamustina **III** y su monohidrato

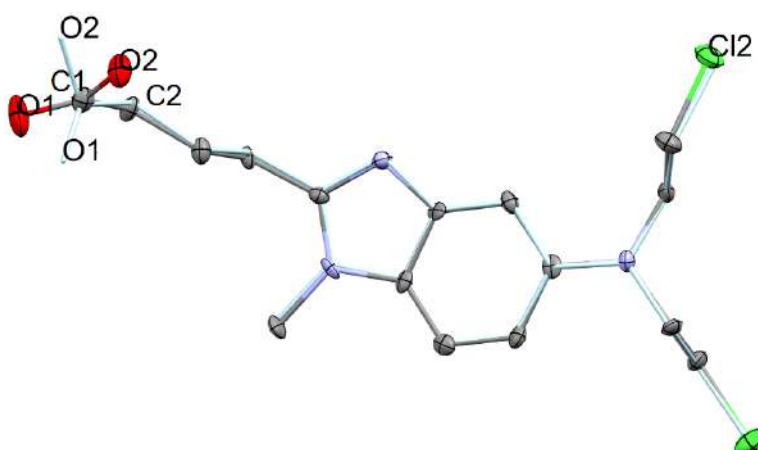


FIGURA 4.1: Superposición de las moléculas de Bendamustina en la estructura **III** (dibujada en celeste) y la estructura Monohidratada. Se observa la diferencia conformacional en los átomos O1 y O2.

En la figura 4.1 se muestra la superposición de la molécula de Clorhidrato de Bendamustina en la estructura **III** (se dibujaron sólo los enlaces en celeste) y la estructura monohidratada. En la misma se observa que a pesar de la conformación molecular similar en ambas estructuras, el grupo carboxilo se encuentra rotado con respecto al eje formado por los átomos C1-C2. Además el anión de cloro cambia su posición en la estructura **III** con respecto a la fase monohidratada. Observando las interacciones de puente hidrógeno en ambas estructuras es posible darse cuenta de que estos cambios conformacionales están relacionados a cambios en las interacciones puente hidrógeno, que se pueden ver en la tabla 4.2.

Se observa que el monohidrato tiene mayor cantidad de puentes hidrógeno que la estructura **III**, en particular la molécula de agua forma dos puentes hidrógenos con el anión de cloro actuando como donador, mientras que también forma un puente hidrógeno con el O2 de la molécula de Bendamustina. El anión cloro Cl1 en la estructura monohidratada le provee cohesión al canal de aguas a través del puente hidrógeno que formará con las moléculas de agua como se muestra en la figura 4.2. El resultado de estas interacciones es una cadena de aguas mediada por el anión en forma de zig-zag, si bien las aguas no estén enlazadas directamente entre sí, estas se encuentran alineadas a través de un canal lo cual es característico de los hidratos de canal. Las mediciones de TG y DSC muestran características que confirman que el monohidrato es un hidrato de canal.

En la estructura **III**, la pérdida de las moléculas de agua desestabiliza el anión cloro que debe migrar y cambia su posición relativa a la molécula de Bendamustina de forma tal que se maximizan las interacciones estabilizantes de la estructura.

En la figura 4.3 se muestra el gráfico resultante de las mediciones de TG y DSC. La medición de TG hecha a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, muestra una pérdida de masa del 4.3 % entre 45°C y 80°C , lo que equivale a 17.75 g/mol, es decir casi una molécula de agua por mol. El rango de temperatura de la pérdida de agua es ancho, compatible con un hidrato de canal, donde las aguas van teniendo distintos entornos energéticos y por lo tanto van saliendo a distintas temperaturas según la energía que necesiten⁵⁴. Esto se confirma en la medición de DSC de dicha deshidratación donde se observa un

Monohidrato					
D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	∠D-H...A (°)	d(D...A)(Å)	Simetría
N1-H1...Cl1	0.88	2.172	171.61	3.046	
C10-H10...Cl1	0.95	2.814	167.31	3.747	x+1, y, z+1
C12-H12B...Cl3	0.99	2.88	139.48	3.689	-x, y+0.5, z-0.5
C13-H13B...Cl1	0.99	2.8	170.08	3.779	x+1,y,z
C15-H15B...Cl2	0.99	2.982	151.81	3.883	x,y,z+1
C16-H16A...Cl1	0.98	2.726	165.82	3.684	x+1, y, z+1
C16-H16B...O1	0.98	2.529	133.72	3.283	-x+1,-y+1,-z+2
C16-H16C...Cl1	0.98	2.862	137.77	3.647	x,y,z+1
O2-H2...O1W	0.84	1.832	167.12	2.657	
O1W-H1WA...Cl1	0.875	2.26	166.8	3.118	-x, -y+1,-z+1
O1W-H1WB...Cl1	0.874	2.485	148.16	3.26	-x+1, -y+1,-z+1
III					
N1-H1...Cl1	0.88	2.185	158.38	3.02	
C10-H10...Cl1	0.95	2.78	162.52	3.698	x-1, y, z-1
C12-H12B...Cl3	0.99	2.945	138.2	3.741	x, -y+0.5, z+0.5
C13-H13B...Cl1	0.99	2.85	172.57	3.834	x-1,y,z
C15-H15B...Cl2	0.99	2.912	156.18	3.839	x,y,z-1
C16-H16A...O1	0.98	2.512	159.75	3.448	-x+1, -y, -z
C16-H16C...O1	0.98	2.389	161.41	3.333	-x,-y,-z

TABLA 4.2: Puentes hidrógenos observados para las estructuras de Clorhidrato de Bendamustina **III** y Monohidratado

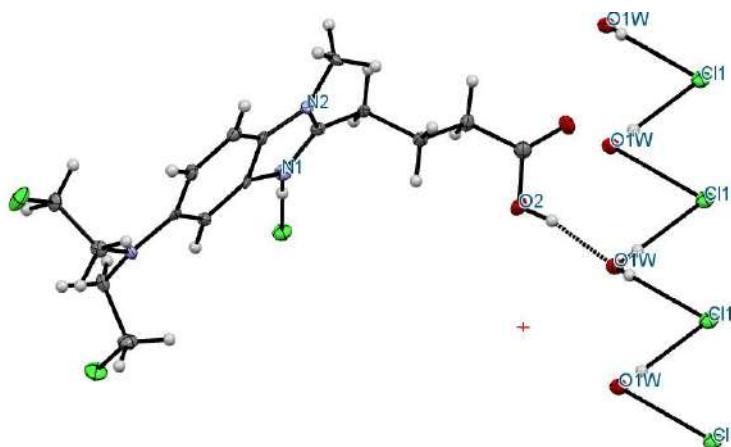


FIGURA 4.2: Enlace entre aguas que se forma en la estructura de Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado

pico ancho con una temperatura de *onset* de 64.4°C y un pico en 94.4°C. La variación de Entalpía en esta deshidratación es de $\Delta H = (109 \pm 5) \frac{J}{g}$.

Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado presenta las características típicas de un hidrato de canal. Debido a esto y a la baja temperatura de *onset* que muestra la deshidratación, es esperable que bajo las condiciones de humedad adecuadas esta forma se rehidrate y transforme a Clorhidrato de Bendamustina **III** a temperatura ambiente. Con distintas humedades relativas este experimento no pudo realizarse. Sin embargo, se logró estudiar la deshidratación del monohidrato en un ambiente seco (humedad relativa aproximadamente nula). Esto se consiguió dejando la muestra en un desecador con silica gel y un portamuestras con la muestra de Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado. El silica gel permaneció celeste durante toda la medición indicando que la humedad ambiente fue prácticamente nula. Periodicamente se tomaron difractogramas de polvo para verificar la forma en que se encontraba la muestra. Diferenciar ambas formas es dificultoso, puesto que los difractogramas de Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado y Clorhidrato de Bendamustina **III** son similares, las diferencias sutiles en los difractogramas teóricos se solapan con los anchos de pico experimentales. A pesar de esto se han observado cambios en la intensidad de los picos a lo largo del tiempo, demostrando que las condiciones del ambiente afectaban a la estructura. En la figura 4.4 se muestran los difractogramas obtenidos para distintos instantes de tiempo. Simultáneamente, antes de la medición de cada difractograma se pesó la muestra. De esta manera se observó la variación de masa de la misma en función del tiempo. En la misma figura se observa que dicha variación de masa es del orden del 1 %, 4 veces menor que la variación correspondiente a 1 molécula de agua por mol. Este experimento no permite determinar el estado final de la muestra aunque si permite observar que leves cambios ocurren en la misma. Es posible que haya una coexistencia entre la estructura **III** y el monohidrato aunque mejores datos de difracción son necesarios para poder determinarlo con certeza.

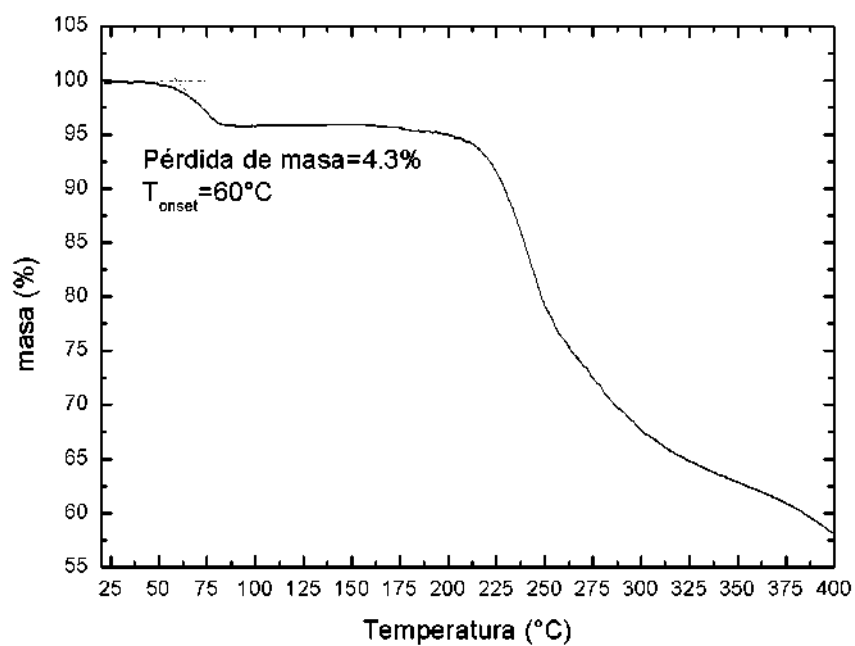
4.1.2. Conclusiones

Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado presenta todas las características típicas de un hidrato de canal. La deshidratación presenta una endoterma ancha en los estudios de DSC que da cuenta de los distintos entornos energéticos de las aguas en la estructura. Variando la temperatura de la forma monohidratada lentamente es posible obtener la forma **III** en una transición monocristal-monocristal ya que las agua se van de la estructura secuencialmente y la estructura cristalina cambia levemente, principalmente en la posición de los oxígenos y del anión Cl1. Se ha visto que fácilmente la muestra puede convertir de la estructura monohidratada a la estructura **III** bajo las condiciones de humedad relativa adecuadas.

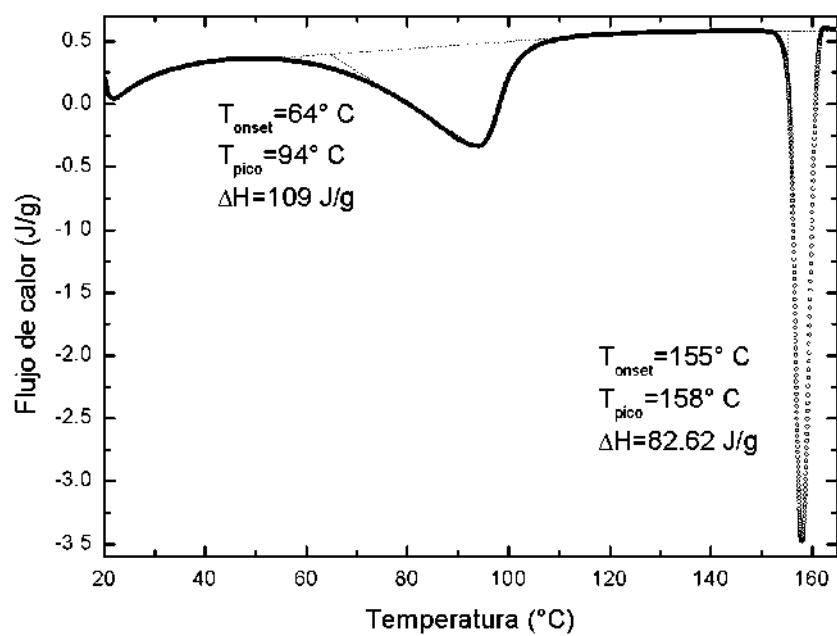
4.2. Hidratos de sitio aislado: El caso de Pridinol Mesilato

4.2.1. Introducción

Pridinol es un relajante muscular de acción central que amortigua los reflejos polisinápticos. El compuesto actúa principalmente sobre las motoneuronas espinales donde inhibe la propagación del estímulo transmitido por el receptor. El IFA está indicado para el tratamiento relajante de la musculatura del aparato locomotor, tanto de origen central, como en el caso del mal de Parkinson, como de origen periférico, por ejemplo en el caso de la Artrosis.



(a) TG



(b) DSC

FIGURA 4.3: Mediciones de TG y DSC de Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado

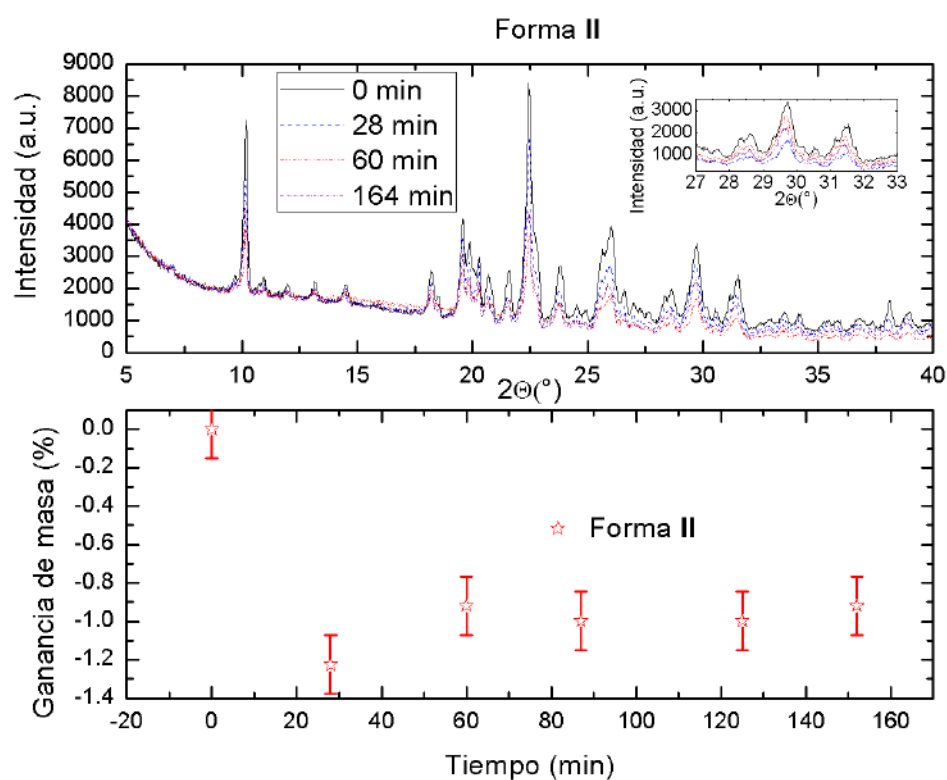


FIGURA 4.4: Difractogramas de Clorhidrato de Bendamustina Monohidratado en función de la cantidad de tiempo expuesto a un ambiente de baja humedad relativa. Debajo de los difractogramas se muestra la variación de masa a lo largo del tiempo

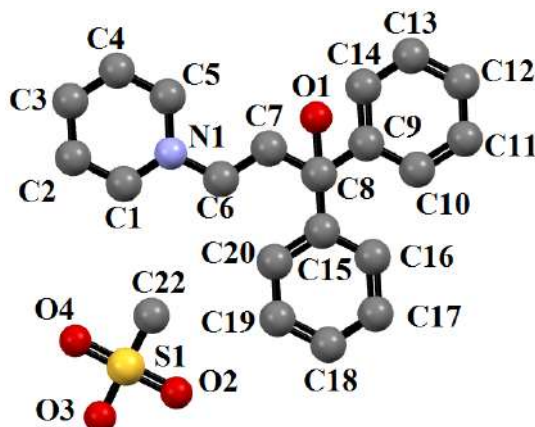


FIGURA 4.5: Moléculas de Pridinol y de ácido Metanosulfónico. La nomenclatura de los átomos se mantendrá durante todo el texto.

El compuesto es usualmente provisto como una sal producida por la combinación con el ácido Metanosulfónico, el Pridinol Mesilato. El compuesto presenta buenas propiedades farmacocinéticas, ya que tras su administración vía oral o intramuscular alcanza su máxima concentración después de 30-40 minutos en tests en animales. En la figura 4.5 se muestra la molécula de Pridinol y del ácido Metanosulfónico. Por claridad, se omitieron los hidrógenos en la figura. Al formarse la sal entre ellos, el O2 del ácido pierde su hidrógeno quedando el N1 del Pridinol protonado. Al ocurrir esto, los tres oxígenos del ácido Metanosulfónico quedan enlazados en forma resonante.

En este trabajo se encontró que Pridinol Mesilato posee una estructura anhidra (I) y una estructura monohidratada (II). Para entender la estabilidad relativa de las formas cristalinas y su posible impacto en los procesos de formulación de Pridinol Mesilato es necesario realizar una caracterización estructural y térmica de las distintas formas. Pridinol Mesilato en su forma deshidratada fue provista por Laboratorios Raffo.

La estructura cristalina y molecular de Pridinol fue previamente reportada¹²⁷, habiendo resuelto la estructura por SC-XRD. En la tabla 4.3 se puede ver los datos de la resolución de esta estructura (III) junto con la resolución de las estructuras cristalinas de Pridinol Mesilato resueltas en este trabajo.

4.2.2. Estudios estructurales

Los cristales de la forma II se obtuvieron por evaporación lenta en acetona, aunque varios solventes miscibles con agua dieron el mismo resultado. Los cristales de la forma I se obtuvieron por método de fusión. Al realizar el método de fusión, fue necesario tomar la precaución de retirar el cristal en alta temperatura una vez formado, ya que a temperatura ambiente el Pridinol Mesilato líquido amorfizaba, quedando pegado al cristal el amorfo. En la figura 4.6 se muestran los cristales utilizados en la medición de SC-XRD. Ambos cristales presentan un hábito prismático y son translúcidos, lo que hace difícil la diferenciación visual entre ellos. Los cristales utilizados dieron buenos resultados de SC-XRD como muestra la tabla 4.3 en los factores de acuerdo obtenidos. Los datos de SC-XRD fueron obtenidos en el equipo Oxford Gemini ACCD utilizando radiación de Molibdeno K_{α} , $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$. Además, en la tabla 4.3 se muestran los datos de la resolución de Pridinol base libre obtenida de la base de datos de Cambridge¹¹⁴.

Datos	Pridinol Mesilato I	Pridinol Mesilato Monohidrato II	Pridinol III
Fórmula Química	(C ₂₀ H ₂₆ N ₁ O ₁)+(C ₁ H ₃ O ₃ S ₁)-	(C ₂₀ H ₂₆ N ₁ O ₁)+(C ₁ H ₃ O ₃ S ₁)-: H ₂ O	C ₂₀ H ₂₅ N ₁ O ₁
M_r	391.51	409.53	295.4
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1/c$	Monoclinico $P2_1/n$	Monoclínico, $P2_1/c$
Temperatura de medición	Temperatura ambiente	Temperatura ambiente	Temperatura ambiente
a,b,c (Å)	8.7198(2) 20.996(8) 10.9186(3)	8.2086(2) 17.9355(6) 15.0983(5)	5.859(2) 15.798(5) 18.029(7)
$\beta(^{\circ})$	94.357(2)	94.770(2)	90.31(6)
Volumen(Å ³)	1993.2(8)	2215.2(1)	1669(1)
Z	4	4	4
Z'	1	1	1
Densidad (g/cm ³)	1.305	1.228	1.18
Radiación	MoK $_{\alpha}$, 0.7107Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107Å	CuK $_{\alpha}$, 1.54178Å
$\mu(mm^{-1})$	0.19	0.18	4.8
Reflexiones medidas,observadas e independiente	8157,4393, 3300	9717,4896,3559	n.a., n.a., 2189
R_{int}	0.018	0.022	n.a.
$\sin(\theta)/\lambda_{mx}(\text{\AA}^{-1})$	0.666	0.667	n.a.
$R[F^2] > 2\sigma(F^2), wR(F^2), S$	0.045, 0.117,1.04	0.051,0.133,1.03	0.07,n.a, n.a
# de parámetros	252	261	299
# de <i>restraints</i>	0	3	n.a.
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(e/\text{\AA}^3)$	0.31-0.29	0.33,0.30	n.a.

TABLA 4.3: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras I, II y III

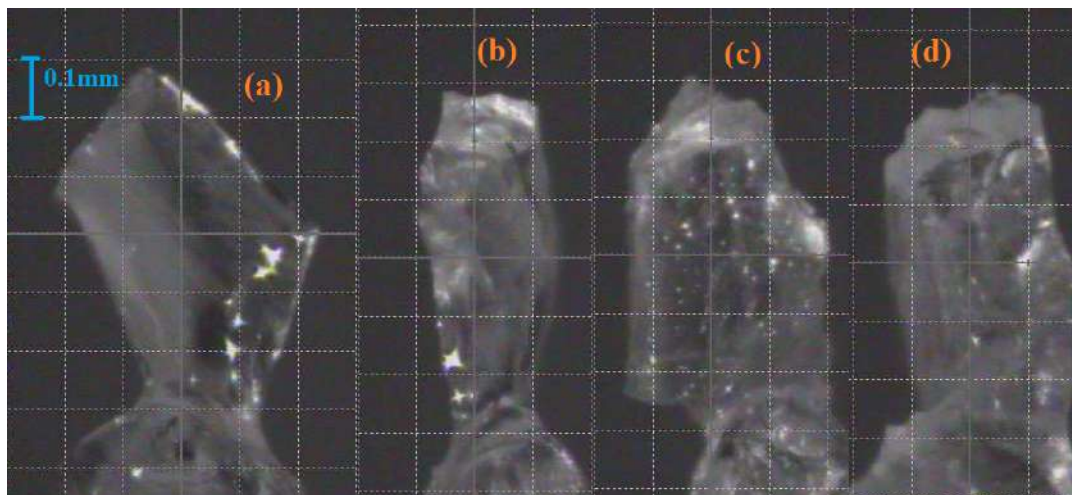


FIGURA 4.6: Cristales de Pridinol Mesilato utilizados en la medición de SC-XRD. (a) Pridinol Mesilato monohidratado **II**. (b) Mismo cristal que en (a), rotado 90° . (c) Pridinol Mesilato deshidratado **I**. (d) Mismo cristal que en (c) rotado 90°

En la figura 4.7 se muestran las unidades asimétricas obtenidas para **I** y **II** y en la tabla 4.4 se muestran las distancias y ángulos torsionales más relevantes para **I**, **II** y **III**. Tanto en **I** como en **II** se observó que al encontrarse protonado el nitrógeno, en estas estructuras se produce un estiramiento del enlace C-N de aproximadamente un 2 % con respecto al valor del mismo enlace en la estructura **III**. Por lo demás, la conformación del Pridinol protonado es similar a la de Pridinol base libre, las mayores diferencias se encuentran en los residuos vinculados esqueleto C8-O1-C7-C9-C15, donde varios ángulos torsionales son diferentes en las estructuras de Pridinol protonado a la ya reportada **III** de Pridinol base libre. Esto queda claro en la figura 4.8, donde se forzó a coincidir dicho esqueleto y se superpuso las moléculas de las distintas estructuras **I**, **II** y **III**.

Distancias(Å)	I	II	III
N1-C1	1.499(3)	1.500(2)	1.4684 (6)
N1-C5	1.491(3)	1.497(3)	1.4686 (6)
N1-C6	1.498(3)	1.494(2)	1.4655 (6)
Torsiones(°)			
N1-C6-C7-C8	129.81(18)	174.87(15)	62.0
C6-C7-C8-O1	-63.3(2)	-59.0(2)	-56.3
C6-C7-C8-C9	54.3(2)	58.27(19)	65.7
C6-C7-C8-C15	173.84(16)	-179.19(15)	-173.8
O1-C8-C9-C10	143.99(17)	174.59(16)	-172.7
C7-C8-C9-C10	24.7 (2)	56.4 (2)	65.6
C15-C8-C9-C10	-96.6 (2)	-67.5 (2)	-56.7
O1-C8-C15-C16	-3.4 (2)	45.3 (2)	47.0
C7-C8-C15-C16	117.43 (19)	165.47 (17)	166.5
C9-C8-C15-C16	-118.68 (19)	-71.5 (2)	-71.4

TABLA 4.4: Distancias y ángulos torsionales característicos de las moléculas de Pridinol en las estructuras **I**, **II** y **III**

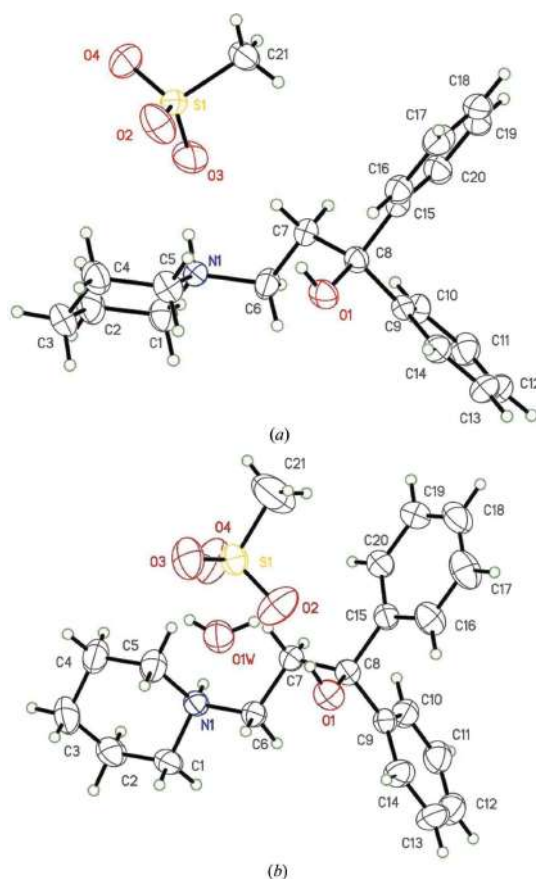


FIGURA 4.7: Representación molecular de (a) Estructura de Pridinol Mesilato **I** y (b) Pridinol Mesilato Monohidratado **II**. Los elipsoides térmicos se encuentran graficados al 40 % de probabilidad

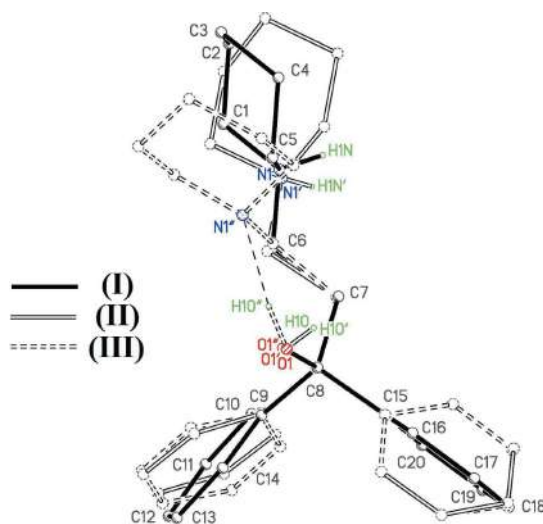


FIGURA 4.8: Superposición de la molécula de Pridinol obtenidas en las estructuras **I**, **II** y la obtenida de la base de datos CDS **III**¹¹⁴. C8-O1-C7-C9-C15 fueron forzados a coincidir en las tres moléculas. Los nombres sin primar se refieren a **I**, los nombres primados a **II** y los doblemente primados a **III**

La rotación de los anillos fenilo alrededor de los átomos C8-C9 y C8-C15 muestra diferencias entre las estructuras **I** y **II** mientras que estas diferencias son menores entre **II** y **III**. Esto se ve reflejado en los ángulos torsionales que involucran a estos átomos como se observa en la tabla 4.4. Es posible que estas diferencias conformacionales se deban a las distintas necesidades que impone el empaquetamiento cristalino.

En la tabla 4.5 se muestran las distintas interacciones puente hidrógeno presentes en las estructuras **I**, **II** y **III**. En la estructura **III**, el enlace O1-H1O...N1 es un enlace intramolecular que le da a la molécula un aspecto más cerrado, aislandola del entorno de manera que no queda ningún dador ni donador de hidrógeno disponible para formar enlaces. Esto tiene como consecuencia su baja densidad ($1.18 \frac{g}{cm^3}$) en comparación con las otras estructuras ($1.305 \frac{g}{cm^3}$, $1.228 \frac{g}{cm^3}$ para **I** y **II** respectivamente).

I						
#	D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	∠D-H...A(°)	d(D...A)(Å)	Simetría
1	O1-H1O...O2	0.82(3)	2.20(3)	167(3)	3.006(3)	-x+1,-y+1,-z+1
2	N1-H1N...O3	0.86(2)	2.18(2)	149.1(2)	2.948(2)	
3	N1-H1N...O2	0.86(2)	2.48(2)	150.0(2)	3.249(2)	
4	C5-H5C...O2	0.97	2.45	171	3.407(3)	-x+1,-y+1,-z+1
5	C1-H1C...O4	0.97	2.57	161	3.504(3)	x+1,y,z
II						
1	O1-H1O...O2	0.85(2)	1.91(2)	168(2)	2.745(2)	
2	N1—H1N...O1W	0.86(2)	1.87(2)	176(2)	2.728(2)	
3	O1W—H1WA...O3	0.85(2)	1.88(2)	174(2)	2.732(2)	x-1,y,z
4	O1W—H1WB...O4	0.85(1)	1.89(1)	174(2)	2.734(2)	-x+1,-y+2,-z+1
5	C7—H7A...O4	0.97	2.52	168	3.476(2)	
6	C17—H17...O1	0.93	2.59	156	3.458(3)	0.5 + x, 1.5 -y, -0.5 +z
III						
1	O1-H1O...N1	0.82	2.05	141	2.738(1)	

TABLA 4.5: Puentes hidrógenos observados para las estructuras de Pridinol Mesilato **I**, **II** y **III**

A diferencia de la forma **III**, la sal Pridinol Mesilato en su forma anhidra **I** forma dímeros centrosimétricos con el ácido Metanosulfónico actuando como enlace entre las moléculas de Pridinol. En la figura 4.9 se muestra dicho dímero. La estructura cristalina se describe en el grupo espacial $P2_1/c$, al igual que la estructura **III**, aunque los parámetros de celda son diferentes como se observa en la tabla 4.3.

La presencia de la molécula de agua proporciona interacciones múltiples en la estructura monohidratada **II** generando una estructura más compleja. Perpendicular al eje **a** se forma un lazo centrosimétrico $R_4^4(16)(Mesilato : H_2O)_2$ que actúa como enlace entre dos pares de moléculas de Pridinol relacionadas entre sí por un centro de inversión. En la figura 4.10 puede verse dicha estructura. Todos los enlaces puente hidrógeno se forman con el ácido o el agua, de forma que no existe ninguna interacción directa entre las moléculas de Pridinol. Además las moléculas de agua no presentan interacciones entre sí por lo cual este hidrato puede ser categorizado como un hidrato de sitio aislado. La estructura cristalina se describe en el grupo espacial $P2_1/n$, con parámetros de red que no guardan una relación directa con los de la estructura **I**.

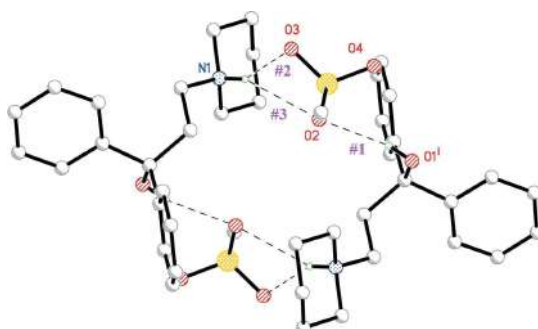


FIGURA 4.9: Dimeros formados en la estructura de Pridinol Mesilato anhidro I

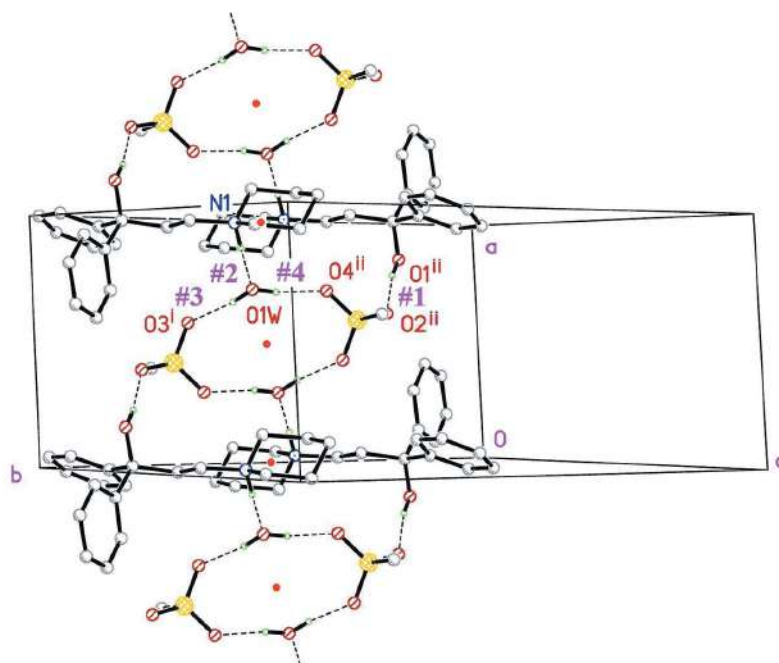


FIGURA 4.10: Dimeros formados en la estructura de Pridinol Mesilato monohidratado II

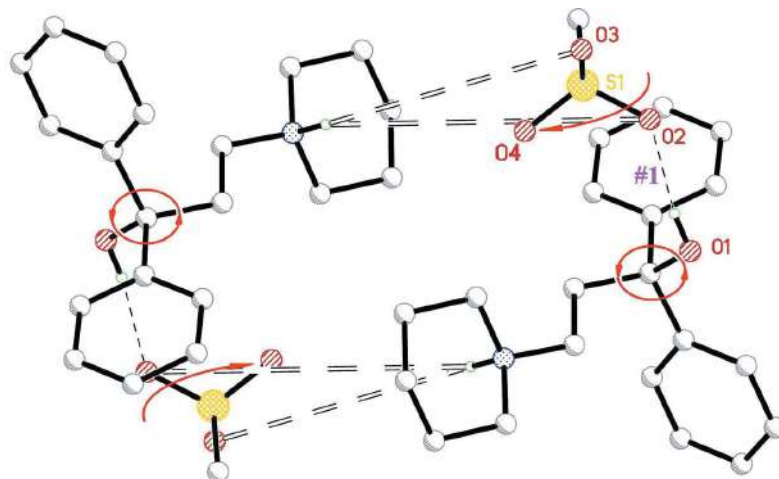


FIGURA 4.11: Esquema de una deshidratación de **II** convirtiéndose en **I**. Las flechas rojas indican los movimientos necesarios de las moléculas en **II** necesarios para convertirse en **I** al remover las aguas. Las líneas simples indican los mismos enlaces puente hidrógeno que en 4.9 mientras que las líneas dobles marcan las distancias en **II** entre los átomos (no-interactuantes)

La estructura hidratada y la estructura anhidra de Pridinol Mesilato no muestran ninguna relación estructural obvia entre sí, aunque puede observarse que al quitar las aguas de la estructura monohidratada, el dímero formado entre las moléculas de Pridinol y los ácidos Metanosulfónico se parecen al observado en la estructura deshidratada. Pequeñas rotaciones y desplazamientos de las moléculas en la estructura, como se muestran en la figura 4.11 permiten convertir los dímeros de la forma hidratada en los de la forma anhidra.

Pridinol Mesilato bajo condiciones de alta humedad

Se observó que algunos lotes de muestra de Pridinol Mesilato forma **I** evolucionaban en el tiempo convirtiéndose parcialmente a forma **II**. A partir de esto se decidió estudiar Pridinol Mesilato forma **I** en un ambiente con alta humedad. Para esto se colocó la muestra en un portamuestra utilizado para PXRD (previamente se pesó la muestra en una balanza microanalítica), la muestra fue colocada en un desecador con abundante agua y con cierta periodicidad se procedió a pesar la muestra y tomar difractogramas de polvo de la misma. De esta manera, se estudió la estabilidad del compuesto en un ambiente de alta humedad y se pudo obtener la proporción de muestra en forma **I** y en forma **II** por medio de PXRD. Al realizar ajustes de Rietveld sobre los difractogramas se obtiene la proporción de masa de la forma **I** (y **II**) sobre la masa total, asumiendo que el total de la muestra se compone únicamente de cristales de forma **I** y forma **II**. En la figura 4.12 se muestra el ajuste de Rietveld realizado para el patrón de difracción a 18 minutos de comenzado el experimento como muestra de la calidad de dichos ajustes.

Estas proporciones también pueden determinarse mediante la variación de masa de la muestra, asumiendo que la muestra solo se compone de cristales **I** y **II** y despreciando la higroscopicidad de la muestra. De esta manera, la variación de masa observada es la masa de agua que se incorpora a la muestra, y dividiendo esta cantidad por el peso molecular del agua ($M_r(H_2O) = 18.02 \frac{g}{mol}$) se obtiene la cantidad de moles de agua absorbidos. Si se considera que la totalidad de las moléculas de

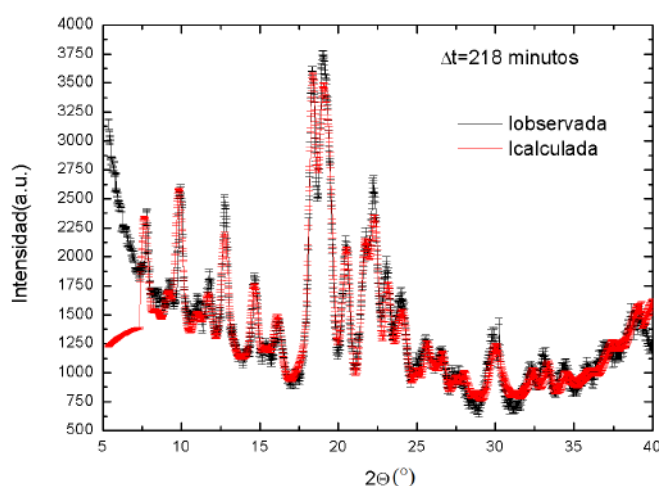


FIGURA 4.12: Patrón de difracción medido y patrón calculado por ajuste de Rietveld para la muestra a 218 minutos de exposición en un ambiente de alta humedad

agua interaccionan con moléculas de Prdinol y ácido Metanosulfónico para transicionar de la forma **I** a la forma **II**, entonces la cantidad de moles de agua absorbidos es igual a la cantidad de moles de forma **II** formados. Consecuentemente el cociente masa en masa de forma **II** se calcula a partir de las mediciones de masa como $\frac{M_{II}}{M_I + M_{II}} = \frac{\Delta M \cdot M_r(II)}{M \cdot M_r(H_2O)}$ donde M es la masa de la muestra, ΔM la variación de masa de la muestra con respecto a la masa inicial y $M_r(II)$ el peso molecular de la forma **II** que se encuentra en la tabla 4.3. En la figura 4.13 se muestra el resultado obtenido por ambos métodos para la fracción masa en masa de forma **II** en función del tiempo.

El hecho de que las curvas no coincidan quiere decir que alguna hipótesis ha fallado. Si la muestra tiene higroscopicidad, no todas las aguas interaccionan con cristales de forma **I** para generar forma **II**. Pero en este caso, la fracción de muestra **II** calculada a partir del peso de la muestra por el método previamente descrito se encontraría sobreestimada. Por lo tanto, la higroscopicidad no explica las diferencias observadas en el gráfico 4.13. Una explicación plausible de dichas diferencias es que las aguas en la muestra rompan la estructura **I** generando Pridinol Mesilato amorfo. De esta forma, el método de Rietveld sobreestima el cociente masa en masa de la forma **II** porque solamente considera las formas cristalinas en el cálculo del porcentaje de cada fase presente en la muestra. Después de un día entero se volvió a medir la misma muestra, la cual había incrementado levemente su masa manteniendo un 80 % de fase hidratada en los ajustes de Rietveld, de manera que parece estabilizar en relación 80/20 con la fase anhidra.

Pridinol Mesilato bajo condiciones de baja humedad

Como se vió anteriormente la forma **I** puede transformarse en la forma **II** bajo condiciones de alta humedad con rapidez. Esta transformación no se produce a la inversa con la misma velocidad. Para estudiar este proceso se procedió a realizar un experimento similar al de la sección anterior pero el desecador donde se depositaba la muestra de forma **II** fue llenado con abundante sílica-gel seca en lugar de agua.

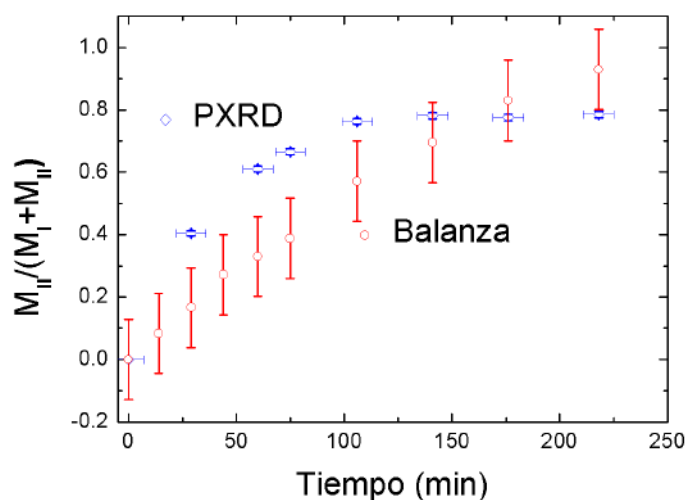


FIGURA 4.13: Los triángulos azules muestran la fracción de masa de **II** obtenida por ajustes de Rietveld. Los círculos rojos muestran la misma fracción de masa obtenida por el pesaje de la muestra.

De esta manera se garantizaba que el ambiente tuviera baja humedad relativa. Los resultados obtenidos para la medición de masa se muestran en la figura 4.14 donde se gráfica el cociente de moles de agua perdidos por número de moles de **II** en función de la cantidad de días de exposición de la muestra a un ambiente de baja humedad. En la misma se observa que el proceso de pérdida de masa de la muestra **II** dura varios días a diferencia del observado para la ganancia de agua en **I** en un ambiente con alta humedad que en pocas horas transformaba la muestra en **II**.

Además de las mediciones de masa se realizaron mediciones de PXRD y se realizaron ajustes de Rietveld a los patrones de difracción obtenidos para distintos tiempos de exposición de la muestra en un ambiente de baja humedad. En todos los casos el ajuste se pudo realizar con un modelo donde solo la forma **II** se encontraba presente, por lo que se concluyó que la pérdida de agua observada al medir la masa se correspondía con aguas superficiales. En la figura 4.15 se muestra la medición y el ajuste de Rietveld hecho para 9 días de exposición como muestra de la calidad de los ajustes.

Efectos térmicos: *Quenching* de forma **II**

Si bien la forma **II** no se deshidrata en condiciones ambiente, incluso en ambientes de baja humedad relativa, si se puede deshidratar aumentando su temperatura. Para observar dicha conversión se procedió a tomar un difractograma de muestra en la forma **II**, tras molerla durante 5 minutos. Se observó que la molienda no cambia la estructura cristalina. Luego, se realizaron tres experimentos consecutivos: En primer lugar, se colocó la misma muestra en una estufa a 100°C durante 10 minutos, se retiró la muestra y se volvió a tomar un difractograma. Posteriormente, se volvió a colocar la muestra en la estufa 20 minutos más a 100°C y se tomó un nuevo difractograma. Finalmente se dejó la muestra a 130°C durante 30 minutos y se tomó un nuevo difractograma. En la figura 4.16 se muestran los ajustes de Rietveld realizados en las 4 mediciones explicadas.

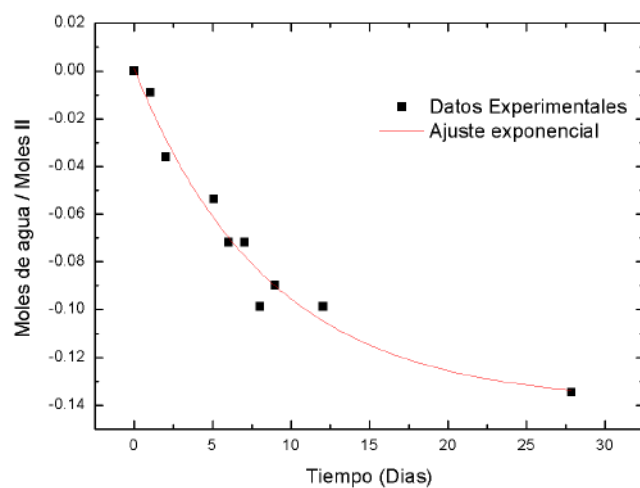


FIGURA 4.14: Cociente de moles de agua perdidos sobre moles de forma II en función del tiempo. La línea roja es una guía visual.

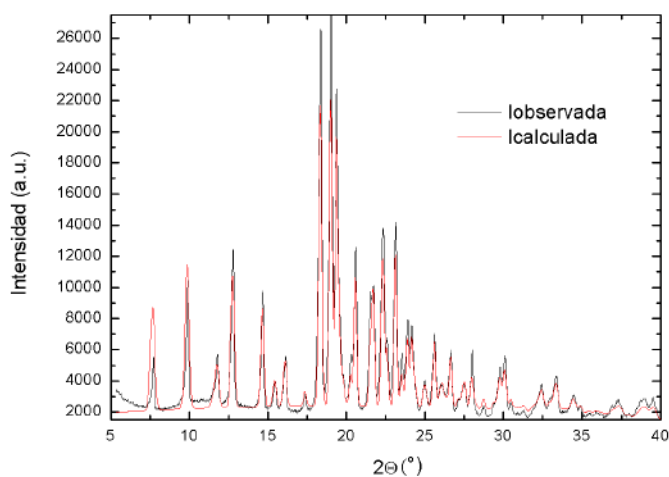


FIGURA 4.15: Patrón de difracción medido y patrón calculado por ajuste de Rietveld para la muestra a 9 días de exposición en un ambiente de baja humedad

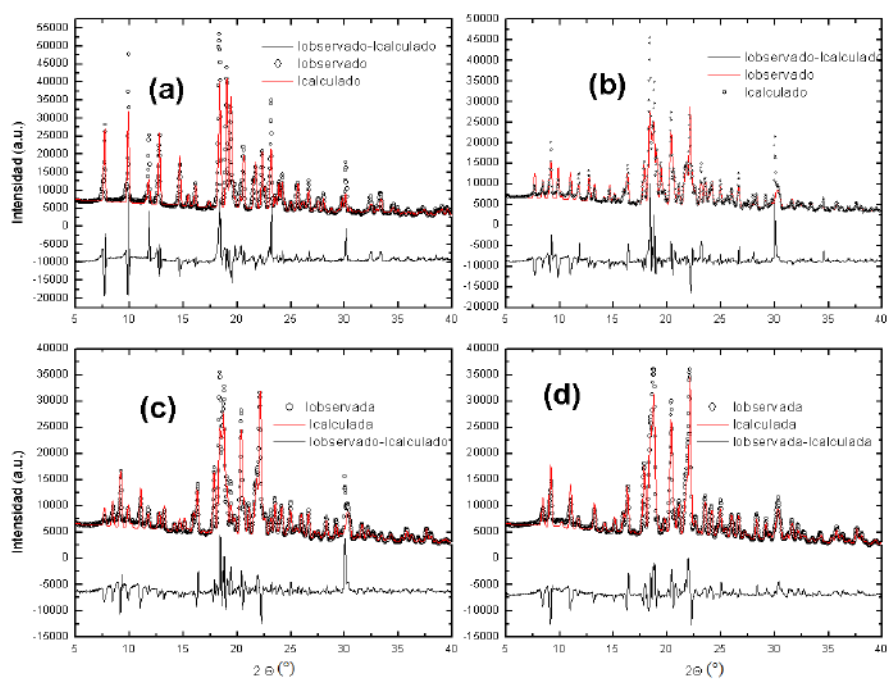


FIGURA 4.16: Ajustes de Rietveld realizado para las mediciones de forma II expuesta a distintas temperaturas. (a) II molida (b) II expuesta a 100°C por 10 minutos (c) II expuesta a 100°C por 30 minutos (d) II expuesta a 130°C por 10 minutos

En el primero de los difractogramas tomados, a pesar de la molienda se continuó observando diferencias de magnitud entre algunos picos observados y los correspondientes al modelo obtenido por el ajuste de Rietveld. En el ajuste se utilizó la estructura **II** como modelo y se refinó el fondo, el corrimiento de cero, el factor de escala y el ancho constante del pico. Para este ajuste se obtuvieron $R_{Bragg} = 21.6$ y $R_f = 16.0$, al intentar mejorar el ajuste refinando la orientación preferencial no se observó mejora visual en el ajuste.

Al calentar durante 10 minutos a 100°C , se observaron picos que no se corresponden a la estructura **II** sino a la estructura **I**. Se realizó un ajuste similar al anterior considerando ambas estructuras y refinando el factor de escala en cada forma para obtener el contenido relativo de cada forma. Para este caso se obtuvo que la composición de la muestra es 30(1) % de forma **II** y 70(1) % de forma **I**. Al mantener 30 minutos a 100°C la composición medida varió a 20.5(8) % para la forma **II** y 79.4(14) % para la forma **I**. Al subir la temperatura a 130°C durante 30 minutos la proporción cambió a 7(1) % para la forma **II** y 93(2) % para la forma **I**. Es posible que la componente de **II** observada se deba a la rehidratación producida al retirar la muestra de la estufa, pero el hecho de que la composición sea distinta que la obtenida en la muestra a 100°C durante 30 minutos muestra que la conversión de forma **II** a forma **I** no fue completa a 100°C .

Para caracterizar mejor la conversión de la forma **II** a **I** al calentar la muestra se realizaron estudios de TG y DSC.

4.2.3. Estudios térmicos

Los estudios de TG y DTA simultáneos confirmaron la pérdida de masa de la forma **II** alrededor de los 100°C y su posterior transformación a la forma **I**. La medición se realizó en una atmósfera de N_2 variando la temperatura de la muestra a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. En la figura 4.17 se muestran estos resultados junto a los obtenidos en una muestra de la forma **I** en condiciones similares. En el caso de la muestra **I** se utilizaron 5.5068(5) mg de muestra inicial mientras que en la medición de **II** se utilizaron 4.2545(5) mg de muestra inicial. En ambos casos los crisoles utilizados de portamuestras no eran herméticos permitiendo que los gases generados en la muestra fluyan.

En la figura 4.17 se observa que la muestra **II** presenta una pérdida de masa, comenzando alrededor de 94°C , de 3.7 % de su masa inicial, lo que equivale a la pérdida del 84 % de las moléculas de agua estructurales. Además, la pendiente abrupta de la pérdida de masa se corresponde con la pérdida de aguas estructurales y se corresponde con el pico en la curva de flujo de calor a 110°C , el cual presenta un ancho característico de las deshidrataciones. Al continuar el calentamiento de ambas muestras se observa la similitud en la pérdida de masa de la muestra **I** y la muestra **II** con una descomposición en dos etapas: primero una pérdida de masa alrededor de 212°C de poco más del 8 % de su masa inicial y finalmente una segunda pérdida de masa alrededor de 302°C . El primer paso de pérdida de masa parece corresponderse con un pico endotérmico de DTA en $231(1)^{\circ}\text{C}$ en ambas muestras. Además ambas muestras presentan un pico endotérmico de DTA a $159(1)^{\circ}\text{C}$ que no correlaciona con ninguna pérdida de masa. Posteriormente se observó por microscopía óptica que dicho pico se corresponde con la fusión de la forma **I**.

Además de lo ya descrito, la forma **II** muestra un pico endotérmico de DTA a $136(1)^{\circ}\text{C}$. La magnitud de dicho pico parece depender del tamaño de grano de la muestra. A pesar de que no se encontraron diferencias estructurales entre la muestra **II** obtenida por evaporación lenta y la misma muestra tras ser molida durante 5

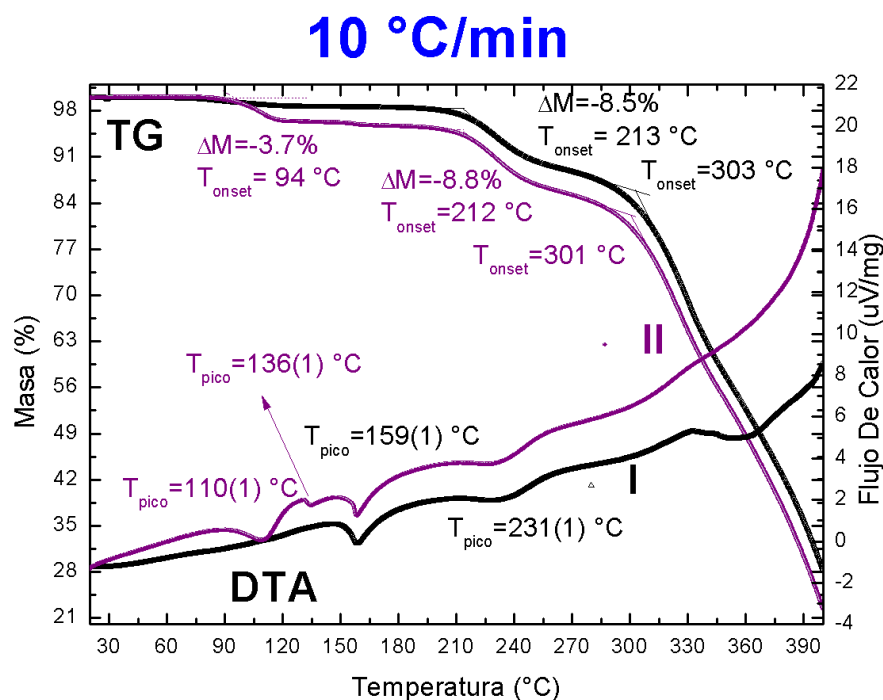


FIGURA 4.17: Gráficos de TG y DTA para la forma I (Curvas negras) y II (curvas violetas).

minutos, el comportamiento en ambos casos al ser calentados con velocidad constante difiere. Repitiendo el análisis de TG bajo las mismas condiciones, se observó que el pico endotérmico de DTA a 136°C se suprime tras la molienda como se ve en la figura 4.18.

Un proceso complejo se observa para la deshidratación de la forma II por microscopía óptica en platina calentadora. Al calentar la muestra inicial, sin proceso de molienda, a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ se observa que la aparente deshidratación alrededor de 100°C esta acompañada de un proceso de fusión del material. En la figura 4.19 se muestran las fotografías del material a distintas temperaturas. En la foto 1 se observa el material a 96°C , cerca de la endoterma de deshidratación observada por TG y DTA. En ese instante la muestra es cristalina. Poco tiempo después, a 105°C de temperatura se observa la fotografía 2, donde parte de la muestra se la observa en estado líquido. La conversión no es total como puede verse en la fotografía 3, tomada a 112°C con polarizador. El hecho de que se observe algo de birrefringencia en el material muestra que parte del material se encuentra en estado cristalino. Hasta los 135°C (Fotografía 4) se observa que algunos cristales decrecen de tamaño mientras que otros crecen. En la fotografía 5, a 152°C se observa como finalmente el material vuelve a ser cristalino y finalmente funde completamente como se ve en la fotografía 6 tomada a 178°C .

El proceso de deshidratación se encuentra superpuesto con el proceso de fusión del hidrato como se ha observado. Al realizar la misma medición de microscopía óptica sobre una muestra previamente molida durante 5 minutos se ha observado cualitativamente el mismo proceso, aunque el tamaño de los cristales observado alrededor de 120°C , en medio líquido es menor que el observado para la muestra sin molienda.

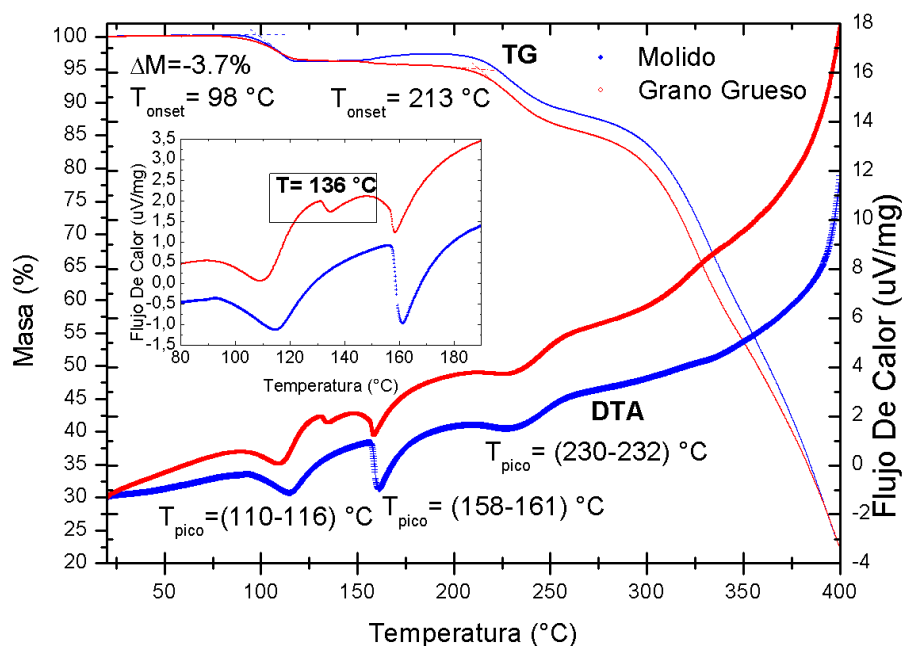


FIGURA 4.18: Gráficos de TG y DTA para la forma II obtenido por evaporación lenta (Curvas rojas) y la misma forma tras 5 minutos de molienda (curvas azules).

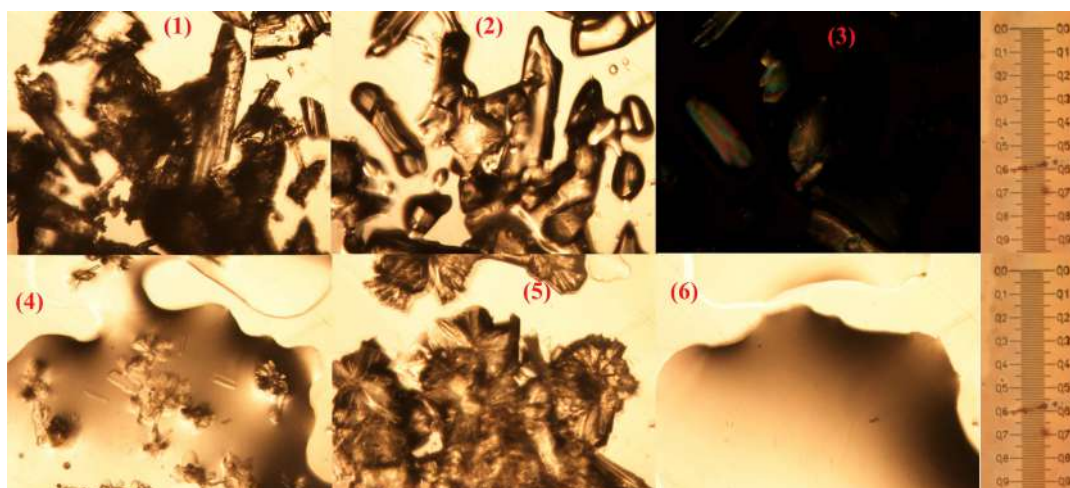


FIGURA 4.19: Fotografías tomadas en microscopio con platina calentadora con un barrido de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ sobre muestra de forma II sin molienda (1) 96°C (2) 105°C (3) 112°C (Con Polarizador) (4) 135°C (5) 152°C (6) 178°C

A pesar de esto el comportamiento observado por DSC es cualitativamente distinto. Para la forma **II**, si la muestra no esta molida, los resultados no son repetitivos. En algunos casos se observa una endoterma ancha, con un *onset* cercano a los 87°C, seguido de una endoterma cerca de 135°C mas angosta y una endoterma alrededor de 160°C similar a lo observado por DTA (primer caso de la figura 4.20). Al realizar DSC de la muestra **I** se observa que el pico de fusión esta a 161(1)°C y tiene una Entalpía de $\Delta H = 84.5(5) \frac{J}{g}$. Comparando las mediciones para la forma **I** y la forma **II**, se puede concluir que el evento observado a 161°C en la medición de forma **II** es la fusión de la forma **I** por lo que el valor de ΔH de dicha fusión esta relacionado con la cantidad de muestra de forma **II** que transforma a la forma **I**. El valor de ΔH se obtiene realizando la integral temporal del flujo de calor y dividiendo por la masa inicial por lo que el valor de ΔH obtenido para la forma **II** dividido la Entalpía de fusión de la forma **I** $101(1) \frac{J}{g}$ es igual a la fracción de masa inicial convertida a forma **I**. Para este caso la fracción obtenida es $\chi = 0.39(1)$.

En otras ocasiones no se observa el pico ancho de deshidratación, el primer evento térmico es la endoterma a 137°C, seguido de algunos eventos térmicos pequeños pero con el evento endotérmico a 160°C suprimido. Una interpretación posible de los distintos comportamientos es que el pico de 136°C se corresponde con la fusión de la forma **II**. En ocasiones esta forma funde sin deshidratar (segundo caso en la figura 4.20 y en ocasiones deshidrata parcialmente formando cristales de forma **I** que coexisten con cristales de forma **II** y material amorfo, de forma tal que ambos puntos de fusión son observados (primer caso de la figura 4.20). El hecho de que el resultado no sea repetitivo puede estar relacionado a la dependencia con el tamaño de grano. Como la muestra recristalizada tiene una gran dispersión en los tamaños de grano, los resultados varían para distintas corridas. Moliendo la muestra durante 5 minutos se obtiene mayor homogeneidad en el tamaño de grano y resultados más repetibles. Una burda estimación se realizó en base a las imágenes de microscopía óptica. En una muestra de forma **I** molida se tomaron diez cristales en el campo visual y se midió el área perpendicular al eje óptico de cada uno de estos cristales (se utilizó el programa imageJ 1.50 para analizar las imágenes¹²⁸.) Se obtuvo un área promedio de $0.01 mm^2$ con una dispersión similar. Aun cuando la dispersión observada es alta, en la muestra sin molienda se observaban cristales de tamaños mayores al milimetro (no se observa el cristal completo en el campo visual) y otros de tamaños 10 veces menor, mostrando que esta muestra contiene cristales de tamaño medio mayor y con una dispersión de tamaños aún mayor a la observada en la muestra molida.

Al realizar un ensayo de DSC a $10^\circ C/min$ en un ambiente de nitrógeno con un flujo de $10 \frac{mL}{min}$ sobre la muestra molida de **II** se observa un evento endotérmico con un *onset* alrededor de 100°C y un pico en 131°C. En la figura 4.21 se muestra la curva de flujo de calor en función de la temperatura para dicha medición. Antes del primer evento endotérmico se observa un pequeño evento exotérmico con un pico aproximadamente en 91.5°C y con un $\Delta H = 3.2 J/g$ aproximadamente. La línea de base en este caso se encuentra montada sobre la deshidratación. Posteriormente se observa un evento endotérmico alrededor de 162°C, angosto, como corresponde a una fusión y de $\Delta H = 102.5 J/g$ lo cual estaría indicando una fusión del total de la muestra.

Para obtener una caracterización mejor de este proceso complejo se realizaron mediciones de DSC a distintas velocidades, $1^\circ C/min$, $5^\circ C/min$, $10^\circ C/min$, $15^\circ C/min$, $20^\circ C/min$ y $40^\circ C/min$. Para las primeras cuatro velocidades el comportamiento es similar al descrito anteriormente. En las mediciones a $20^\circ C/min$ y $40^\circ C/min$ se observa un comportamiento cualitativamente distinto, en la figura 4.21 se muestran los

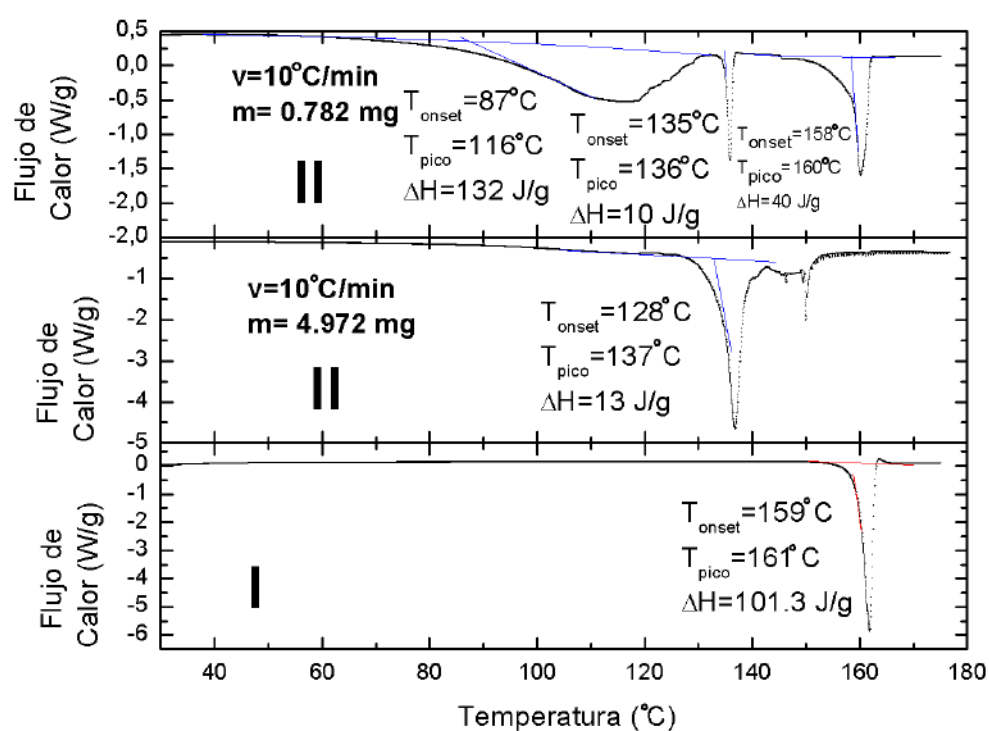


FIGURA 4.20: DSC de Pridinol Mesilato a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, los dos gráficos de arriba se corresponden a mediciones de forma **II** sin molienda, mientras que la de abajo corresponde a la forma **I**

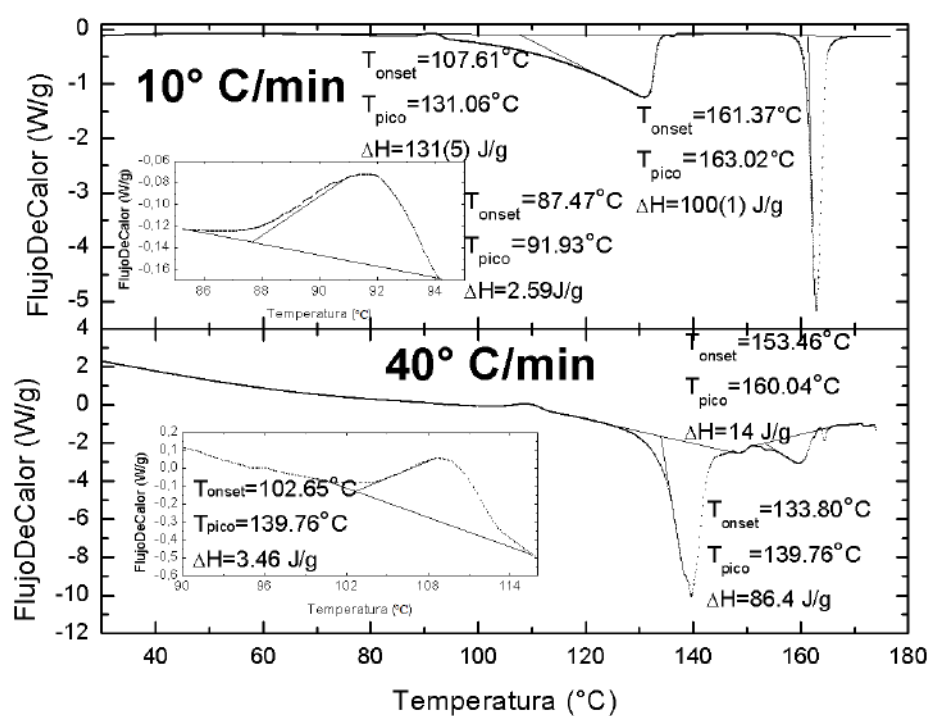


FIGURA 4.21: DSC de Pridinol Mesilato a $10^\circ\text{C}/\text{min}$, los dos gráficos de arriba se corresponden a mediciones de forma **II** tras una molienda de 5 minutos, mientras que la de abajo corresponde a la forma **II** medido a $40^\circ\text{C}/\text{min}$

resultados obtenidos a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $40^{\circ}\text{C}/\text{min}$ para mostrar ambos comportamientos. En este último caso la línea de base no es recta, al igual que sucede a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Para evitar problemas de inercia térmica en la medición se comenzó la medición a -100°C y se midió hasta 175°C con la velocidad correspondiente en un ambiente de N_2 a $10\text{ ml}/\text{min}$. En la curva de flujo de calor en función de la temperatura se vuelve a observar un proceso exotérmico en temperaturas algo mayores a las observadas en las mediciones a velocidades más bajas. Posteriormente se observa un pico angosto alrededor de 136°C y finalmente un pico de menor magnitud alrededor de 160°C . Estos dos últimos picos pueden ser interpretados como la fusión de la forma **II** y la forma **I** respectivamente. Si la velocidad con la que se varía la temperatura es lo suficientemente rápida, la forma **II** funde antes de permitir la deshidratación completa de la misma. Cierta cantidad del material (del orden del 10 %) si puede ser deshidratado y por eso se observa también la fusión del anhidro. La magnitud de la Entalpía observada permite estimar la cantidad de material que transformó a **I** como el cociente entre dicha Entalpía y la Entalpía obtenida para la muestra **I** pura. Para las mediciones con velocidades $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ la variación de Entalpía en el evento a 160°C es aproximadamente igual a la observada en la muestra **I** pura demostrando que la conversión de la muestra de forma **II** a **I** es prácticamente total.

Es sabido que los procesos cinéticamente controlados (recristalizaciones, reacciones químicas, deshidrataciones, etc) poseen una mayor dependencia en las temperaturas de *onset* y en la temperatura del pico que los eventos dominados por la termodinámica (como puede ser una fusión) con respecto a la velocidad de variación de la temperatura (β)⁹⁴. A medida que se incrementa β el proceso dominado por la cinética puede ser inhibido de forma tal que se pueden observar eventos térmicos de una forma intrínsecamente inestable como en este caso la fusión de **II**.

Para caracterizar eventos cinéticos conviene utilizar la fracción convertida α la cual para mediciones de DSC puede definirse como en la ecuación 4.1 donde $\Delta H(t)$ es la variación de entalpía a tiempo t y ΔH_{inf} es la variación de entalpía total del proceso⁹⁵.

$$\alpha(t) = \frac{\Delta H(t)}{\Delta H_{\text{inf}}} \quad (4.1)$$

En la figura 4.22 se muestra el diagrama de α en el proceso de deshidratación en función de la temperatura obtenido para distintos β . A medida que la velocidad β se incrementa, las curvas se corren hacia mayores temperaturas de acuerdo a lo esperado. Al comienzo de las curvas se observa un pequeño quiebre que corresponde al evento exotérmico.

Sin asumir ningún modelo en particular para la deshidratación, solo asumiendo que su dependencia en temperatura esta dada por la ecuación de Arrhenius, existen métodos isoconversionales que permiten estimar la energía de activación de un dado proceso con datos obtenidos al variar la temperatura de forma constante⁹⁵. En este caso se utilizó el método de Ozawa, Flynn y Wall (OFW) que consiste en obtener la pendiente de la recta que se obtien al graficar $\log(\beta)$ en función de $\frac{1}{T}$ para un dado valor de fracción convertida y de acuerdo a la ecuación 4.2 se obtiene de la pendiente el valor de la energía de activación (E_a). R es la constante de los gases y C una constante arbitraria. La ordenada el origen mantiene una dependencia con el modelo correspondiente a dicha deshidratación y por ende no aporta información relevante^{129,130}.

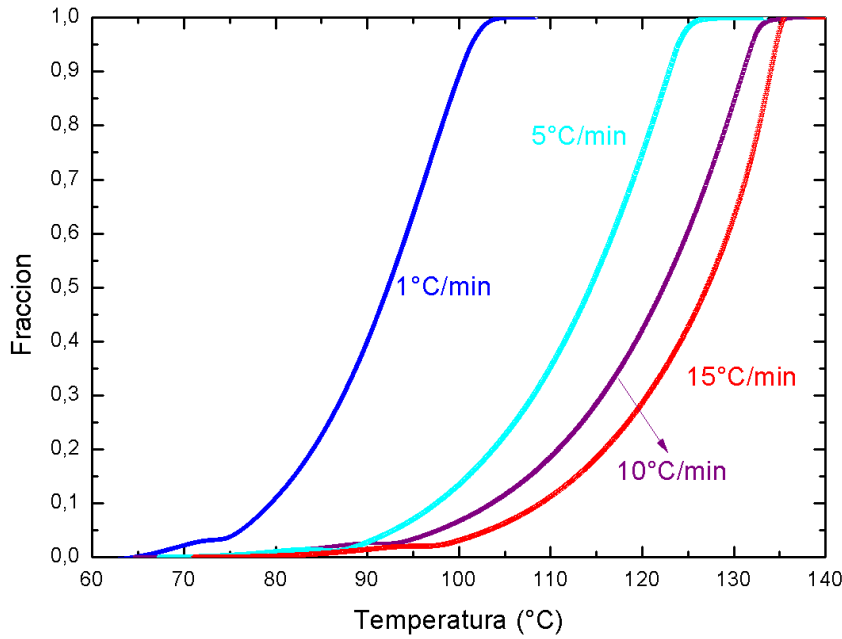


FIGURA 4.22: Gráfico de la fracción convertida en función de la temperatura para el proceso de deshidratación de la forma II a distintas velocidades

$$\log \beta = C - 0.457 \frac{E_a}{RT} \quad (4.2)$$

Otro método equivalente para obtener la energía de activación sin imponer ningún modelo es el propuesto por Burnam y Braun, que modificaron el método previamente propuesto por Coats y Redfern¹³¹. A partir de las mismas mediciones se propone realizar un ajuste de la recta $\ln \frac{\beta}{T^2}$ en función de $\frac{1}{T}$ lo cual debería dar la energía de activación de acuerdo a la ecuación 4.3 donde C es una constante arbitraria distinta de la de la ecuación 4.2

$$\ln \frac{\beta}{T^2} = C - \frac{E_a}{RT} \quad (4.3)$$

Con los datos de las curvas α vs T se calculó E_a por ambos métodos para distintos valores de α . Los valores de E_a por ambos métodos coinciden al igual que los valores a distintos α de manera que la deshidratación del Pridinol Mesilato forma II cumple con la dependencia de Arrhenius y su energía de activación $E_a = (89 \pm 9) \frac{KJ}{mol}$. Como comparación el valor de variación de Entalpía de dicha deshidratación es del orden de $57 \frac{KJ}{mol}$. En la figura 4.23 se muestra el gráfico de las energías de activación obtenidas en función de los distintos valores de α .

El gráfico 4.23 sugiere una dependencia de la energía de activación con la fracción convertida. Un largo debate se ha dado en la literatura con respecto a la posibilidad de que exista tal dependencia de la energía de activación o que sea un *artifact* de los métodos isoconversionales¹³²⁻¹³⁵. En reacciones homogéneas esta variación no podría suceder pero en un sólido los puntos de reacción no están aislados sino que interactúan fuertemente con el vecino, por lo tanto la reactividad puede variar por la

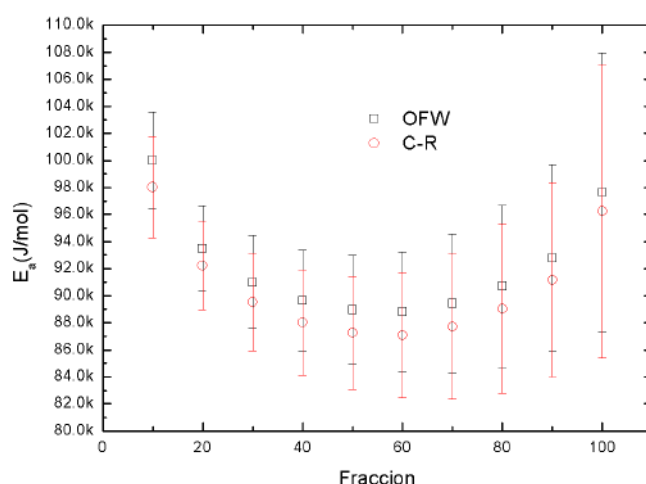


FIGURA 4.23: Gráfico de la energía de activación obtenida para el proceso de deshidratación de la forma **II** por los métodos Ozawa-Flynn-Wall(OFW) Y Coats-Redfern modificado (C-R) a partir de los datos de DSC a distintas velocidades de variación de temperatura

formación de defectos, tensiones o efectos similares¹³².

Cuando una reacción se produce en uno o más pasos, se considera que la reacción es compleja. Este tipo de reacciones puede dar lugar a una energía de activación que varía con la fracción convertida. Por otra parte los distintos tamaños de partículas tendrán distinta reactividad teniendo distintas energías de activación⁹⁵.

La exoterma observada al comienzo de la deshidratación es indicativo de tener una reacción compleja. Como esta exoterma se observa para todas las velocidades de calentamiento utilizadas, se intentó hacer el mismo análisis isoconversional que se realizó para la deshidratación. Al observar las rectas dadas por las ecuaciones 4.2 y 4.3 se observa que en ambos casos la pendiente para las velocidades de $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $40^{\circ}\text{C}/\text{min}$ difiere de las demás, lo cual permite suponer que el proceso exotérmico es distinto en ambas condiciones. En la figura 4.24 se muestra esto para el caso en que $\alpha = 0.6$ y la energía de activación obtenida en ambos casos. La energía de activación obtenida para el caso de una baja velocidad de barrido de temperatura es de $E_a = (126 \pm 6) \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$ superior a la obtenida para el proceso de deshidratación. Esto permite suponer que una vez superada la barrera energética que inhibe que ocurra el proceso exotérmico, el sistema tiene suficiente energía para deshidratarse y por ende inmediatamente ocurre la deshidratación. El estado intermedio que se obtiene al superar dicha exoterma es difícil de obtener pues la conversión a la forma anhidra es inmediata. En los casos donde la velocidad de variación de temperatura es lo suficientemente rápida, la deshidratación no logra terminar de producirse dando paso a la fusión del hidrato inmediatamente después de la exoterma.

4.2.4. Conclusiones

Pridinol Mesilato presenta un caso de monohidrato en que las moléculas de agua se encuentran aisladas entre sí en la estructura cristalina. Las estructuras cristalinas del monohidrato y de la forma anhidra pudieron ser caracterizadas por SC-XRD observándose que las estructuras cristalinas de la fase hidratada (**II**) y la fase deshidratada(**I**) no tienen una relación entre ellas. Dichas características estructurales

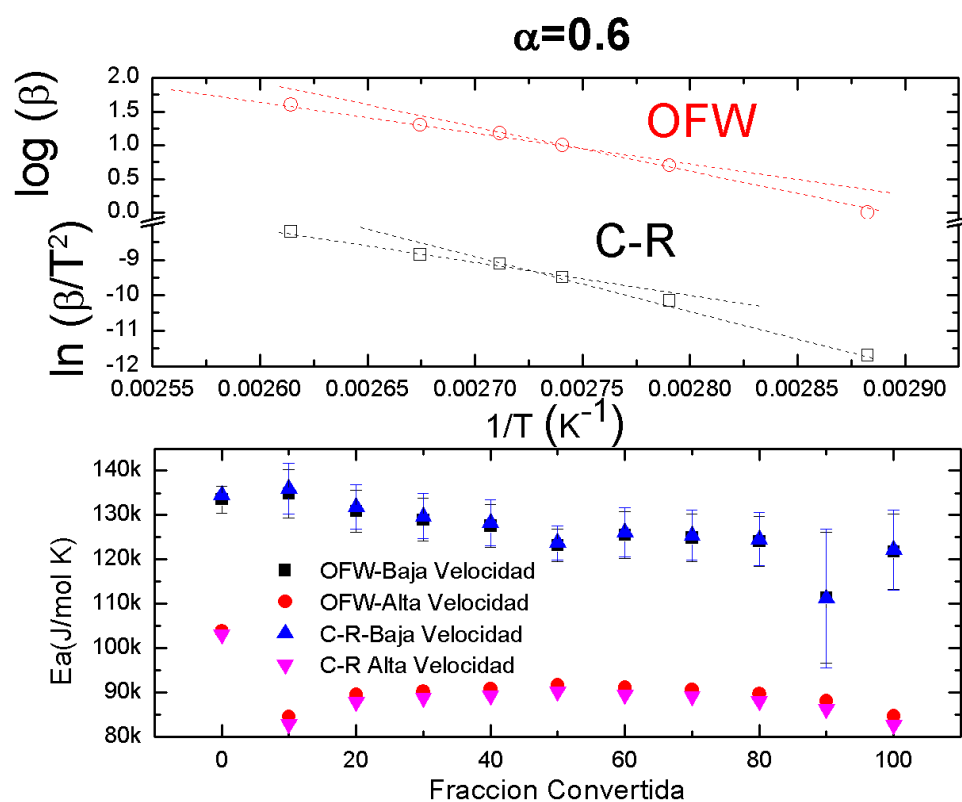


FIGURA 4.24: Arriba: Gráfico de $\log(\beta)$ y $\ln(\frac{\beta}{T^2})$ en función de $\frac{1}{T}$ para $\alpha = 0.6$ para el proceso exotérmico. Las líneas punteadas son guías para los ojos. Abajo: Gráfico de la energía de activación obtenida para el proceso exotérmico de la forma II por los métodos Ozawa-Flynn-Wall (OFW) Y Coats-Redfern modificado (C-R) a partir de los datos de DSC a distintas velocidades de variación de temperatura.

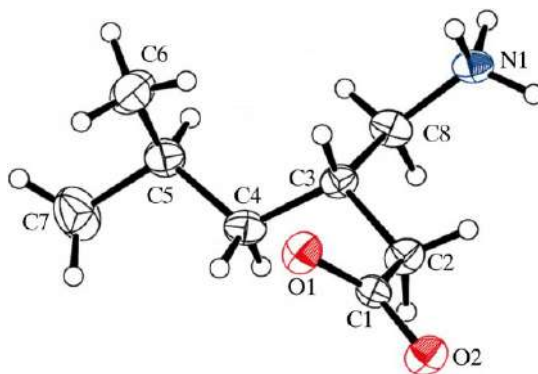


FIGURA 4.25: Conformación molecular de la molécula de Pregabalina reportada por Venu et.al.¹³⁹

dan lugar a un proceso de deshidratación que al ser observado por DSC presenta características complejas, lo cual está de acuerdo con las observaciones estructurales que implican la necesidad de una transición de fase reconstructiva para pasar de una estructura cristalina a la otra. La complejidad del proceso de deshidratación para este compuesto es particularmente grande, puesto que se observa un proceso exotérmico previo al proceso de deshidratación al cual no fue posible encontrarle explicación. Por otra parte la energía de activación necesaria para comenzar el proceso de deshidratación pudo ser estimada utilizando métodos no isotérmicos. Su valor relativamente alto permite estimar que la forma hidratada es la más estable, lo cual parece ser confirmado por los estudios de larga exposición de la forma II en ambiente seco y de la forma I en ambiente de alta humedad.

4.3. Hidratos asociados a un ión: El caso de Pregabalina : $MnCl_2 : H_2O$

4.3.1. Introducción

Las redes extendidas de metal-ligando han atraído gran atención en los últimos años. El uso de sólidos porosos para aplicaciones biomédicas requiere de metales y ligandos biológicamente compatibles¹³⁶. Se cree que el mejor enfoque para utilizar estos complejos en aplicaciones biomédicas es utilizar el IFA como ligando ya que de esta manera la liberación de la droga se logra a partir de la degradación del sólido sin los efectos secundarios producidos por la liberación de un ligando biológicamente inactivo¹³⁷.

Pregabalina es un IFA utilizado en el tratamiento del dolor que posee baja solubilidad en agua¹³⁸. Es por esto que nuevos compuestos con Pregabalina que mejoren la solubilidad son buscados. Por otra parte, para las imágenes por resonancia magnética se utilizan átomos paramagnéticos como agentes de contraste. Surge entonces naturalmente el enfoque de utilizar materiales paramagnéticos y biocompatibles como metal y la Pregabalina como ligando.

La estructura cristalina de Pregabalina libre ha sido determinada y publicada en el año 2007, encontrándose que la Pregabalina existe como un Zwitter-ion, en su forma sólida¹³⁹. En la figura 4.25 se muestra la conformación de la molécula.

4.3.2. Estructura Cristalina a Temperatura Ambiente

El compuesto fue obtenido por evaporación lenta de una solución en proporción 1:1 de MnCl_2 y Pregabalina. Como solvente se utilizó una mezcla de etanol y agua. Al evaporarse el líquido se formaron unos cristales traslucidos en forma de placa adecuados para el análisis por SC-XRD. Las mediciones de SC-XRD fueron realizadas en el equipo Bruker D8 Quest Eco con radiación de Molibdeno ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) a diferentes temperaturas reguladas con el soplador de nitrógeno Oxford CryoSystems.

Al resolver la estructura a temperatura ambiente se observó que era un monohidrato con el agua ligada al catión metálico, de manera que este monohidrato entra dentro de la categoría de hidratos asociados a un Ion. El compuesto cristaliza en el grupo espacial $P2_1$ teniendo cuatro moléculas de Pregablina con parámetros de red $a=9.7162(5) \text{ \AA}$ $b=7.8979(3) \text{ \AA}$ $c=18.292(1) \text{ \AA}$ y $\beta = 101.346(6)^\circ$. En la figura 4.26 se muestra una figura con los elipsoides de probabilidad al 50 % de la unidad asimétrica donde se destaca que los átomos C5B, C6B y C7B presentan parámetros de desplazamiento anisotrópicos inusualmente grandes. La unidad asimétrica se compone de dos centros metálicos unidos entre sí por dos átomos de cloro (Cl2A y Cl2B). Estos dos átomos de cloro y los átomos metálicos determinan un cuadrante con un pseudo centro de inversión en el centro. Cada centro metálico se encuentra hexacoordinado, de forma tal que la esfera de coordinación puede describirse como un octaedro con tres átomos de cloro y un oxígeno de Pregablina en el plano ecuatorial, y una molécula de agua y un oxígeno de otra Pregabalina en la dirección axial.

A pesar de estar relacionados por un pseudo centro de inversión, existen diferencias en los entornos octaédricos de cada centro metálico. Cada átomo de manganeso está enlazado a dos Pregabalinas distintas. Dichos enlaces son levemente diferentes en ambos centros metálicos, mientras que el átomo Mn1A tiene un enlace con el átomo O1A de $2.152(5) \text{ \AA}$ y de $2.786(4) \text{ \AA}$ con el O2B', el átomo Mn1B tiene distancias de enlace de $2.164(5) \text{ \AA}$ y $2.143(4) \text{ \AA}$ con los átomos O1B y O2A' respectivamente. Por otra parte el ángulo O1B(A)-Mn1B(A)-O2A'(B') es de $87.6(2)^\circ$ ($84.3(2)^\circ$) mostrando pequeñas diferencias entre ambos átomos de manganeso. Además los ángulos que forma con los átomos de cloro son levemente distintos, formando un ángulo Cl1A(B)-Mn1A(B)-Cl2A(B) de $95.84(7)^\circ$ ($92.69(7)^\circ$). Ambos átomos de manganeso completan su entorno octaédrico enlazándose con un átomo de agua, con distancia de enlace Mn1A(B)-OWA(B) de $2.187(4) \text{ \AA}$ ($2.193(4) \text{ \AA}$). Los mayores corrimientos de la pseudosimetría se dan para los átomos C7 ($0.1 \text{ \AA}$) y C5 ($0.1 \text{ \AA}$) aunque estos átomos presentan un alto desplazamiento térmico. Por otra parte la molécula de Pregabalina posee un centro quiral en el átomo C3, de forma tal que no puede respetar la simetría de un centro de inversión.

En la tabla 4.6 se muestra el resumen de las distancias, ángulo y ángulos torsionales más relevantes de la estructura. La estructura cristalina de Pregabalina libre fue previamente reportada¹³⁹, en esa estructura la molécula presentaba un ángulo C1-C2-C3-C8 de $161.7(2)^\circ$ (ver capítulo 5). En la estructura de Pregabalina : MnCl_2 : H_2O , ambas Pregabalinas en la unidad asimétrica tienen ángulos torsionales C1-C2-C3-C8 distintos en dicha sucesión de átomos siendo para una $96.7(7)^\circ$ y para la otra molécula de Pregabalina $-60.0(9)^\circ$. Por otra parte, en la estructura de Pregabalina : MnCl_2 : H_2O el ángulo de torsión C4-C5-C6-C7 para la molécula de Pregabalina A es de $118(1)^\circ$ mientras que para la molécula de Pregabalina B es de $148(3)^\circ$. El error alto en la determinación del valor del ángulo se debe a los inusualmente altos parámetros anisotrópicos de desplazamiento que presentan los átomos C5, C6 y C7.

Distancias(Å)	T_{amb}	$-30^{\circ}C$	$-100^{\circ}C$	$-173^{\circ}C$
Mn1A-OWA	2.187(4)	2.192(8)	2.203(7)	2.207(7)
Mn1A-O1A	2.152(5)	2.140(9)	2.140(7)	2.140(8)
Mn1A-O2B'	2.186(4)	2.186(8)	2.197(7)	2.200(8)
Mn1A-Cl1A	2.488(3)	2.486(4)	2.472(3)	2.468(4)
Mn1A-Cl2A	2.539(2)	2.533(4)	2.530(3)	2.525(3)
Mn1A-Cl2B	2.642(2)	2.635(4)	2.610(3)	2.603(4)
Mn1B-OWB	2.193(4)	2.182(8)	2.174(7)	2.182(7)
Mn1B-O1B	2.164(5)	2.16(1)	2.163(7)	2.165(8)
Mn1B-O2A'	2.143(4)	2.127(9)	2.128(7)	2.126(8)
Mn1B-Cl1B	2.505(2)	2.506(4)	2.508(3)	2.513(4)
Mn1B-Cl2A	2.673(2)	2.659(4)	2.654(3)	2.649(4)
Mn1B-Cl2B	2.530(2)	2.522(4)	2.526(3)	2.522(3)
OWB-O2B	2.864(7)	2.85(1)	2.89(1)	2.89(1)
HWBB-O2B	2.52	2.463	2.56	2.47
Ángulos(°)	T_{amb}	$-30^{\circ}C$	$-100^{\circ}C$	$-173^{\circ}C$
O1A-Mn1A-OWA	88.6(2)	88.9(4)	87.5(3)	87.3(3)
O1A-Mn1A-O2B'	84.3(2)	84.1(3)	83.9(3)	83.8(3)
O1A-Mn1A-Cl1A	92.0(1)	91.9(3)	92.5(2)	93.1(2)
O1A-Mn1A-Cl2B	87.2(1)	87.2(3)	86.8(2)	86.4(2)
O1B-Mn1B-OWB	87.0(2)	86.8(3)	87.5(3)	87.4(3)
O1B-Mn1B-O2A'	87.6(2)	87.6(4)	87.4(3)	87.4(3)
O1B-Mn1B-Cl1B	94.4(1)	94.6(3)	95.6(2)	96.3(2)
O1B-Mn1B-Cl2A	88.5(1)	88.4(3)	90.0(2)	90.3(2)
OWB-HWBB-O2B	104.7	108.6	103.6	111.3
Torsiones(°)	T_{amb}	$-30^{\circ}C$	$-100^{\circ}C$	$-173^{\circ}C$
C1A-C2A-C3A-C8A	96.7(7)	98(1)	101(1)	102(1)
N1A-C8A-C3A-C4A	-172.4(6)	-172(1)	-174.3(8)	-175(1)
C4A-C5A-C6A-C7A	118(1)	120(2)	124(2)	124(2)
C1B-C2B-C3B-C8B	-60.0(9)	-57(2)	-56(1)	-56(1)
N1B-C8B-C3B-C4B	-165.1(7)	-164(1)	-167.3(9)	-166(1)
C4B-C5B-C6B-C7B	148(3)	142(5)	-126(2)	-126(2)
Mn1A-Cl2A-Mn1B-Cl2B	0.89(7)	0.8(1)	2.4(1)	2.8(1)

TABLA 4.6: Distancias, ángulos de enlace y ángulos torsionales característicos de las moléculas de Pregabalina : $MnCl_2 : H_2O$

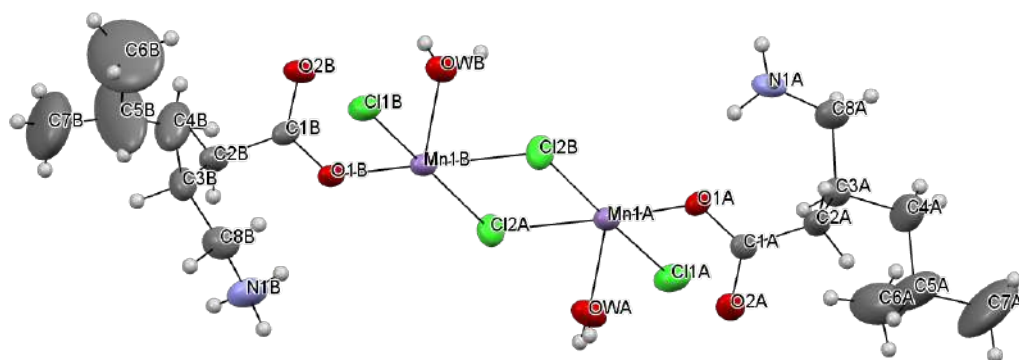


FIGURA 4.26: Representación elipsoidal de la unidad asimétrica del complejo de Pregabalina : $MnCl_2 \cdot H_2O$. Los elipsoides fueron dibujados al 50 % de probabilidad

Las estructuras que componen la unidad asimétrica se enlazan entre sí a través de las uniones de coordinación de los centros metálicos con el oxígeno de la Pregabalina. Estas uniones forman cadenas en las direcciones (1,1,0) y (1,-1,0) debido a la combinación de los enlaces $Mn1B-O2A...O1A-Mn1A$ y $Mn1B-O1B...O2B-Mn1A$ como se muestra en la figura 4.27. En esta estructura los grupos isobutil de las Pregabalinas quedan orientados en forma paralela al eje *c*, de forma tal que la estructura tiene interacciones más débiles en la dirección *c*, determinando una estructura bidimensional.

Al igual que en la molécula de Pregabalina libre, ambas moléculas de Pregabalina conservan el grupo amida protonado determinando un zwitter-ión. Los tres hidrógenos del grupo participan de enlaces puente hidrógeno similares en ambas moléculas: dos enlaces $N-H...Cl$ intermoleculares que ayudan a estabilizar el empaquetamiento previamente descrito formado por las uniones de coordinación, y un enlace $N-H...O$ intramolecular posiblemente responsable de las diferencias conformacionales de la molécula de Pregabalina con respecto a la estructura de Pregabalina libre. En la molécula B existe un enlace puente hidrógeno $C2B-H2BA...Cl1B$ que no existe en la molécula A, posiblemente responsable de la diferencia en los ángulos torsionales $C1-C2-C3-C8$ observadas entre las moléculas A y las moléculas B. Tanto las aguas como las Pregabalinas forman otros enlaces puente hidrógeno con los átomos de cloro que ayudan a estabilizar la estructura ya descrita. En la tabla 4.7 se muestran los distintos enlaces puente hidrógeno que conforman la estructura.

Existen diferencia en los enlaces puente hidrógeno que forman las moléculas de Pregabalina A y B. El nitrógeno de la Pregabalina A forma cuatro enlaces puente hidrógeno ya que el mismo hidrógeno es compartido para formar un enlace $N1A-H1AA...O1A$ con otra Pregabalina A y para formar un enlace $N1A-H1AA...O2B$. En el caso de la Pregabalina B esto no sucede ya que la distancia $N1B-O2A$ es de $3.43(1)\text{\AA}$ mucho mayor a la distancia $N1A-O2B$ es de $3.098(9)\text{\AA}$. Algo similar ocurre con la molécula de agua B que utiliza el hidrógeno HWBA para formar un enlace puente hidrógeno con el átomo $Cl2A$ y con el átomo $O1B$ mientras que el agua A solo forma enlaces puente hidrógeno con los átomos de cloro.

4.3.3. Estudios térmicos

Las mediciones de TG realizadas a $10^\circ C/min$ en una atmósfera de N_2 muestran una pérdida de masa del 6 % de la masa inicial comenzando alrededor de $100^\circ C$ y

<i>Pregabalina : $MnCl_2 : H_2O$</i>						$T=T_{amb}$
#	D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	$\angle$ D-H...A(°)	d(D...A)(Å)	Simetría
1	N1A-H1AA...O2B	0.89	2.345	142.37	3.098	-x+2,y+0.5,-z+1
2	N1A-H1AA...O1A	0.89	2.092	133.74	2.782	
3	N1A-H1AB...Cl1B	0.89	2.275	169.85	3.155	-x+2,y+0.5,-z+1
4	N1A-H1AC...Cl2A	0.89	2.389	160.94	3.244	x,y+1,z
5	C2A-H2AA...Cl1B	0.97	2.768	155.56	3.673	-x+1,y+0.5,-z+1
6	C8-H8AA...Cl1A	0.97	2.816	144.42	3.649	x, y+1, z
7	N1B-H1BA...Cl1B	0.89	2.754	158.48	3.597	x,y-1,z
8	N1B-H1BB...Cl1A	0.89	2.278	169.59	3.157	-x+1,y-0.5,-z+1
9	N1B-H1AC...O1B	0.89	2.156	136.39	2.866	
10	C2B-H2BA...Cl1B	0.97	2.955	128.10	3.634	x,y-1,z
11	C2B-H2BB...Cl1A	0.97	2.899	154.46	3.798	-x+2, y-0.5, -z+1
12	OWA-HWAA...Cl2A	0.86	2.555	151.30	3.335	-x+1,y+0.5,-z+1
13	OWA-HWAB...Cl2B	0.842	2.656	139.13	3.339	-x+1,y-0.5,-z+1
14	OWB-HWBA...Cl2A	0.858	2.830	120.98	3.353	-x+2,y+0.5,-z+1
15	OWB-HWBB...Cl2B	0.86	2.624	148.13	3.385	-x+2,y-0.5,-z+1
16	OWB-HWBA...O1B	0.858	2.582	132.83	3.227	-x+2,y+0.5,-z+1

TABLA 4.7: Puentes hidrógenos observados para la estructura de *Pregabalina : $MnCl_2 : H_2O$* a temperatura ambiente

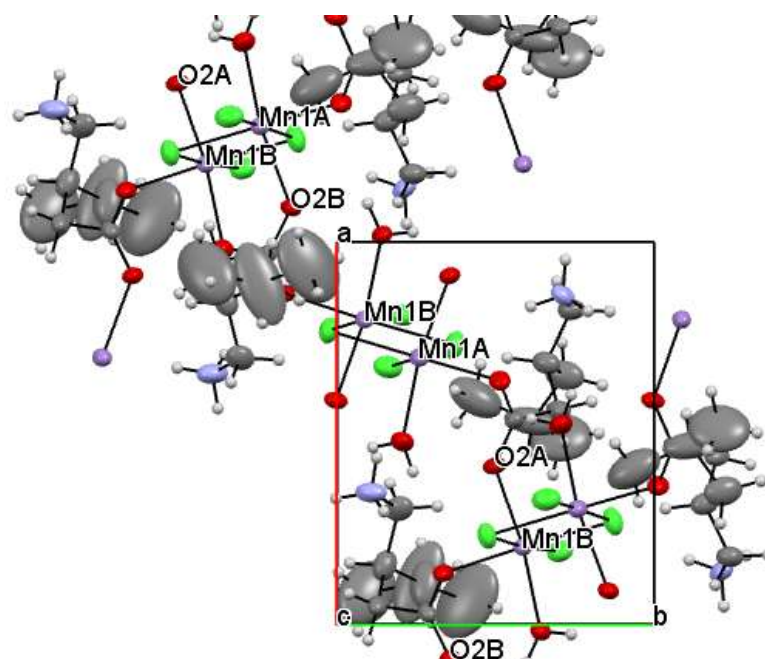


FIGURA 4.27: Empaquetamiento del complejo visto perpendicular al eje c

culminando alrededor de 160°C . Posteriormente se observa una pérdida de masa del orden del 40 % de la masa inicial comenzando a los 220°C y culminando alrededor de 330°C . Simultáneamente a la medición de TG se midió DTA. Ambas pérdidas de masa coinciden con eventos térmicos, el primero es un pico ancho con una temperatura de 154°C en el pico, mientras que el segundo evento es más angosto, con una temperatura de 234°C . En la figura 4.28 se muestran estos resultados. El primero de los eventos muestra una pérdida de masa compatible con la deshidratación del complejo, mientras que el segundo evento parece ser la descomposición del complejo. La alta temperatura de deshidratación es típica de un hidrato asociado a un ión⁵⁹.

Como es esperable para este tipo de hidratos, al calentar un monocristal del compuesto a 150°C , con un barrido de $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$, dio como resultado una transición en la que el cristal se rompe en múltiples partes, por lo que no fue posible determinar la estructura cristalina del compuesto deshidratado.

Realizando una medición de DSC en una atmósfera de N_2 calentando a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 180°C se observó que el proceso de deshidratación es un proceso en dos pasos, comenzando a 111°C el primero de ellos y culminando el proceso térmico alrededor de 165°C . La variación de Entalpía asociada a ambos procesos es de $177(11) \frac{\text{J}}{\text{g}}$, donde la alta incerteza se debe a la variación de masa durante el proceso. Este valor alto de variación de Entalpía en una deshidratación también es compatible con lo esperado para un hidrato asociado a un ión⁵⁹.

Enfriando el compuesto deshidratado a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ no se observa ningún evento térmico como puede verse en la figura 4.29. De esta manera se puede asumir que al calentar una muestra de la estructura hidratada a 150°C en el horno durante una hora y luego dejando enfriar se obtiene un polvo con la estructura de la estructura deshidratada de *Pregabalina* : MnCl_2 . Después de dejar termalizar la muestra a temperatura ambiente, se tomó un difractograma de polvo desde 5° hasta 40° obteniéndose el difractograma de la figura 4.30. En un difractograma previo se tomó desde 3° observándose medio pico de reflexión 10 veces más intenso que los demás picos. No se realizaron mediciones a menor ángulo por cuidado de no saturar el

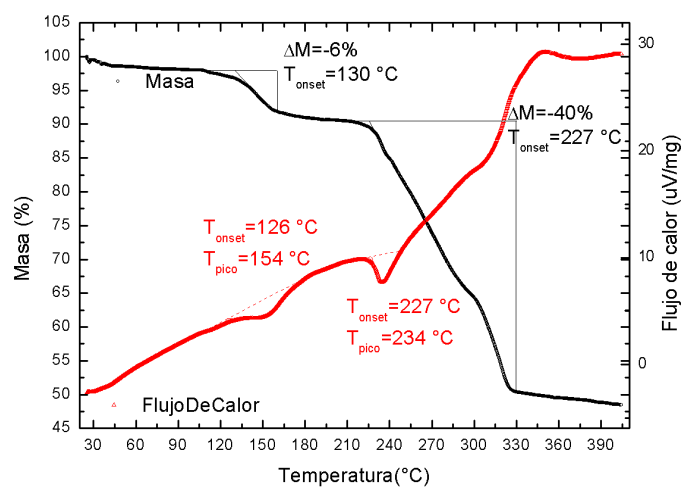


FIGURA 4.28: Gráfico de la variación de masa y el flujo de calor medidos sobre la muestra de Pregabalina : $MnCl_2 \cdot H_2O$

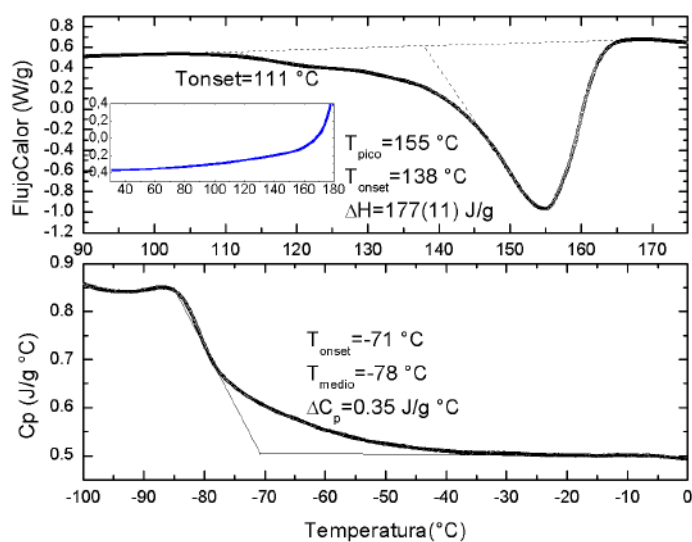


FIGURA 4.29: Arriba: Gráfico del flujo de calor medido por DSC sobre la muestra de Pregabalina : $MnCl_2 \cdot H_2O$ al calentar a $10^\circ C/min$ en una atmósfera de N_2 . En el inset se muestra el posterior enfriamiento donde no se observa ningún evento térmico. Abajo: Gráfico del calor específico en función de la temperatura al enfriar la muestra a $10^\circ C/min$ en la misma atmósfera

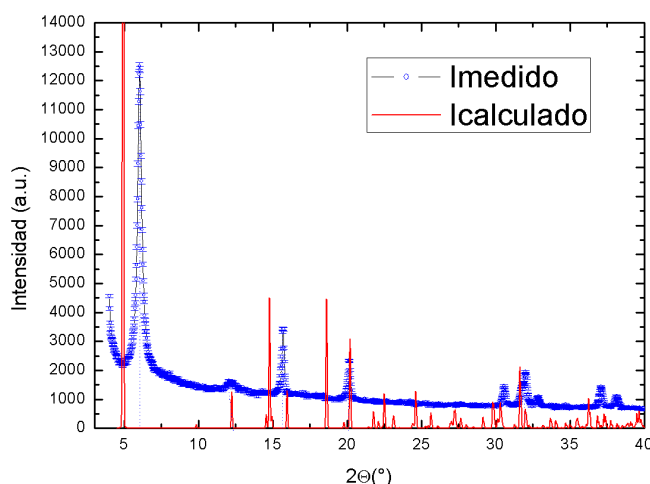


FIGURA 4.30: Difractograma de la estructura de *Pregabalina* : $MnCl_2$ obtenida al deshidratar *Pregabalina* : $MnCl_2$: H_2O y difractograma calculado de la estructura a temperatura ambiente de *Pregabalina* : $MnCl_2$: H_2O

detector con el haz directo. Este pico debe coincidir con un $d = 29.3\text{\AA}$ de acuerdo a la ecuación 2.8. El difractograma no coincide con el esperado para la estructura de *Pregabalina* : $MnCl_2$: H_2O confirmando que la estructura es distinta. En el difractograma se observan 9 picos de Bragg los cuales sumados al pico en 3° pueden servir para buscar celda con el programa TREOR⁸⁵. Una búsqueda de celda permite encontrar que la celda $a=8.7998\text{\AA}$, $b=8.7998\text{\AA}$, $c=29.4414\text{\AA}$ y $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ es compatible con los haces difractados observados. Una mejor medición realizada hasta altos ángulos y sin problemas de orientación preferencial sería necesaria para poder determinar la estructura cristalina.

4.3.4. Polimorfismo

El compuesto monohidratado presenta una segunda estructura a baja temperatura relacionada con la estructura previamente descrita. Realizando experimentos de DSC donde se disminuye la temperatura del compuesto a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta llegar a -100°C se observa una transición de fase de segundo orden a -77.52°C . Dicha transición tiene asociado un cambio de calor específico $\Delta C_p = 0.35(2) \frac{J}{g\cdot C}$. En la figura 4.29 puede verse el calor específico en función de la temperatura para dicha medición.

Realizando mediciones de SC-XRD pudo observarse que dicha transición es monocristal-monocristal. La estructura medida a -173°C cristaliza en el mismo grupo espacial pero tiene parámetros de red $a=9.6902(7)\text{\AA}$, $b=7.8848(6)\text{\AA}$, $c=17.7627(14)\text{\AA}$ y $\beta = 104.996(3)^\circ$ siendo este parámetro el que mayor variación sufre con respecto a lo observado en la estructura de alta temperatura. Para que el refinamiento converja y evitar parámetros de desplazamiento anisotrópicos con determinante negativo fue necesario utilizar un *constraint* obligando al átomo O1B a tener parámetros de desplazamiento térmico anisotrópico similares al Mn1B. Lo mismo se realizó con el átomo C2A el cual fue forzado a tener los mismos parámetros de desplazamiento que el C1A. En esta estructura a -173°C se observa una menor violación del pseudo centro

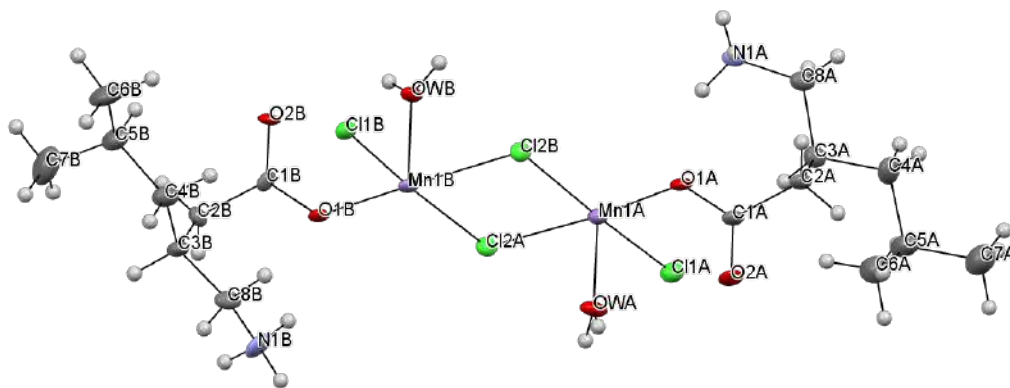


FIGURA 4.31: Representación elipsoidal de la unidad asimétrica del complejo de Pregabalina y Manganeso obtenida a -173°C . Los elipsoides fueron dibujados al 50 % de probabilidad

de simetría, donde los mayores apartamientos de las posiciones esperadas se observan para los cloros ($0.025\text{\AA}$) y los átomos C7A y C7B ($0.025\text{\AA}$). Como consecuencia el ángulo de torsión C4-C5-C6-C7 es similar en ambas moléculas de Pregabalina en la unidad asimétrica (tabla 4.6) a diferencia de lo que sucedía en la estructura a temperatura ambiente. Sin embargo el ángulo de torsión C1-C2-C3-C8 es diferente para ambas Pregablinas. Por otra parte se observa que los parámetros de dispersión en los átomos C6 y C7 son mucho menor que en la estructura a temperatura ambiente como puede verse en la figura 4.31.

Además de las diferencias en las conformaciones de las moléculas de Pregabalina se observa un alargamiento significativo en el enlace Mn1A-OWA en la estructura de baja temperatura. Esto es llamativo ya que normalmente se espera que la distancia de enlaces sea menor a medida que se disminuye la temperatura. A su vez algo similar es observado para la distancia Mn1A-O2B y la distancia OWB-O2B. Al observar los enlaces puente hidrógeno para esta estructura se observan los mismos enlaces que en la estructura a temperatura ambiente. Sin embargo en la estructura de baja temperatura se observa que se forma un debil enlace OWB-HWBB...O2B debido a un mayor acercamiento del átomo de hidrógeno al O2B y un incremento del ángulo de enlace. Se volvió a medir las estructuras a -30°C y -100°C para confirmar dichos cambios antes y después de la transición de fase. En la tabla 4.6 se da cuenta de la evolución de las distancias ángulos de enlaces y torsionales en las temperaturas de medición.

4.3.5. Conclusiones

Se ha observado que el complejo de Pregabalina estudiado presenta la estructura de un hidrato asociado a un ión. Su comportamiento térmico es acorde al esperado para un hidrato de este tipo⁵⁹ donde se observa la deshidratación a alta temperatura del hidrato. También se observó que al deshidratar un monocristal este se rompe, confirmando que las aguas se encuentran fuertemente cohesionadas a la estructura. Si bien no se pudo determinar la estructura, se observó a través de un difractograma de polvo que dicha estructura es diferente a la obtenida de *Pregabalina* : MnCl_2 : H_2O .

Bibliografía

54. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Informa Healthcare USA, Inc., Nueva York, ed. 2, 2009), cap. 7.
59. H. Brittain, ed., *Polymorphism in Pharmaceutical Sciences* (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, ed. 1, 1999), cap. 4.
85. P. Werner, L. Eriksson y M. Westdahl, *Journal of Applied Crystallography* **18**, 367-370 (1985).
94. D. Craig y M. Reading, eds., *Thermal Analysis of Pharmaceuticals* (Taylor & Francis, 2007), cap. 1.
95. A. Khawam y D. R. Flanagan, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **95**, 472-498 (3 2006).
114. CCDC, *Cambridge Structural Database* 5.40, 2018.
127. R. Tacke y col., *Chemische Berichte Jahrgang* **113**, 1962-1980 (1980).
128. W. Rasband, *ImageJ*, Bethesda, Maryland, USA, 1997-2018, (<https://imagej.nih.gov/ij/>).
129. T. Ozawa, *Bulletin of the chemical Society of Japan* **38**, 1881-1886.
130. J. Flynn y L. Wall, *J Polym Sci Part B: Polym Lett*, 323-328.
131. A. Burnham y B. R.L., *Energy Fuels*, 1-22.
132. A. Galwey, *Termochimica Acta* **397**, 249-268 (2003).
133. S. Vyazovkin, *Termochimica Acta* **397**, 269-271 (2003).
134. A. Khawam y D. Flanagan, *Termochimica Acta* **429**, 93-102 (2005).
135. A. Khawam y D. Flanagan, *Termochimica Acta* **436**, 101-112 (2005).
136. P. Horcajada y col., *Chemical Communications* **112**, 1232-1268 (2 2012).
137. R. Kuroda, T. Sato e Y. Imai, *Crystal Engineering Communications* **10**, 1881-1890 (12 2008).
138. C. Plata Salaman, N. Tesson, M. Trilla Castano y L. Cardenas Romana, *Crystalline forms of pregabalin and co-formers in the treatment of pain*, EP 2 527 319 A1, 2011, (<https://patentimages.storage.googleapis.com/d2/3e/9b/1ac0b9219ee906/EP2527319A1.pdf>).
139. N. Venu, P Vishweshwar, T Ram, D. Suryaa y B Apurbac, *Acta Crystallografica Section C* **63**, 306-308 (2007).

Capítulo 5

Sales y cocristales de Pregabalina

Se han intentado obtener polimorfos de Pregabalina, sin éxito hasta el momento. Para poder realizar formulaciones farmacéuticas de este IFA que permiten una formulación farmacéutica de rápida acción o de liberación controlada es necesario poder modificar la solubilidad del compuesto.

En pos de lograr este objetivo en este capítulo se estudiarán las propiedades térmicas y estructurales de sales y cocristales de Pregabalina.

5.1. Introducción

El compuesto (S)-3-(aminometil)-5-ácido methylhexanoico, también conocido como Pregabalina o Lyrica es un IFA utilizado como analgésico en el dolor neuropático y en el trastorno generalizado de ansiedad.¹⁴⁰ El compuesto es un análogo del ácido γ -aminobutírico (GABA), el principal neurotransmisor inhibitor en el sistema nervioso central de los mamíferos.¹⁴¹ No obstante esto, Pregabalina no presenta actividad en GABA.¹³⁸

Su estructura cristalina ha sido determinada y publicada en el año 2007, encontrándose que la Pregabalina existe como un Zwitter-ion, en su forma sólida.¹³⁹ En la figura 5.1 se muestra la conformación de la molécula. Los ángulos de torsión alrededor de las uniones C-C alrededor del grupo carboxilato y de la amida protonada se desvían significativamente de los valores ideales. El ángulo de torsión C1-C2-C3-C8 y el ángulo N1-C8-C3-C4 se desvían del valor ideal de 180° por 18° y 11° respectivamente. Al ser un Zwitter-ion es esperable que las distancias C1-O1 y C2-O2 sean similares. En efecto, las distancias son $1.244(3)\text{\AA}$ y $1.254(3)\text{\AA}$ respectivamente. El ángulo O1-C1-O2 es de $125.0(2)^\circ$ mientras que los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 y O2-C1-C2-C3 valen $-5.0(3)^\circ$ y $177.8(2)^\circ$ respectivamente.

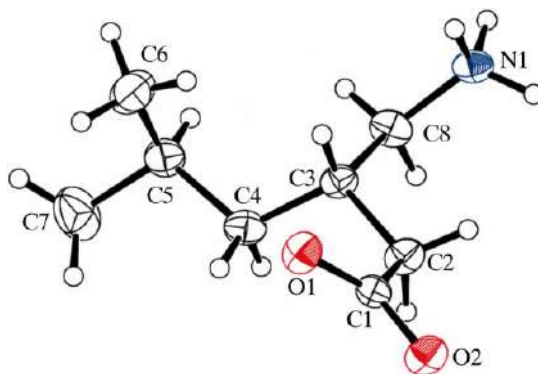


FIGURA 5.1: Conformación molecular de la molécula de Pregabalina reportada por Venu et.al.¹³⁹

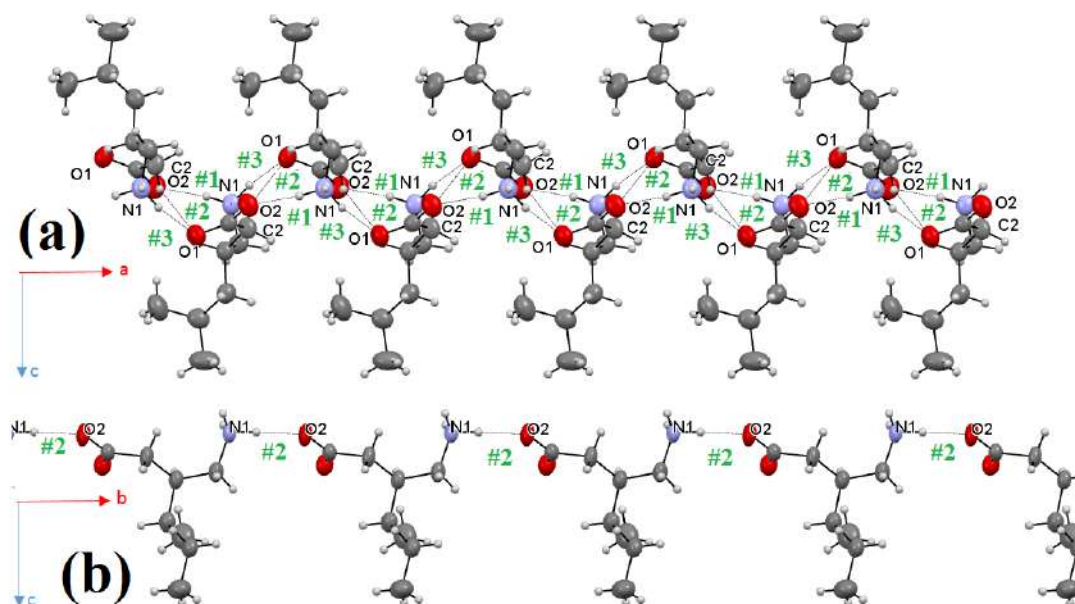


FIGURA 5.2: (a) Diagrama del empaquetamiento cristalino de Pregabalina en el plano perpendicular al eje **b** (b) Diagrama del empaquetamiento cristalino en el plano perpendicular al eje **a**. Los números en verde refieren a los enlaces de la tabla 5.1

Pregabalina cristaliza en el grupo espacial $P2_12_12_1$ con parámetros de red $a = 6.4641(4)\text{\AA}$ $b = 7.8224(5)\text{\AA}$ $c = 18.6122(13)\text{\AA}$. En esta estructura cristalina, cada molécula de Pregabalina se encuentra unida a otras tres moléculas de Pregabalina por medio de tres interacciones $N^+-H\cdots O^-$ y un enlace más débil $C2-H2B\cdots O1$. En la tabla 5.1 se muestran las características de estos enlaces. Dímeros de Pregabalina se forman relacionados entre sí por un eje 2_1 a lo largo de $[100]$ y formando una cadena unidimensional que corre paralela a $[100]$, enlazados entre sí por interacciones $N1C-H1C\cdots O1$ y $N1B-H1A\cdots O2$. Estas cadenas unidimensionales se conectan entre sí en la dirección $[010]$ a través de interacciones $N1B-H1B\cdots O2$ de forma tal que se forman capas paralelas al plano cristalográfico $(0,0,1)$ donde el grupo isobutyl queda perpendicular a estas hacia ambos lados de dicha capa. En la figura 5.2 se muestra un esquema de las interacciones intermoleculares que forman la Pregabalina.

#	D-H...A(Å)	D-H(Å)	H...A(Å)	D-A(Å)	$\angle$ D-H...A(°)	Simetría
1	N1-H1A...O2	0.94 (3)	1.83 (3)	2.764 (3)	169 (2)	$x+0.5, -y+0.5, -z$
2	N1-H1B...O2	0.949 (16)	1.811 (17)	2.736 (3)	164 (2)	$x, y+1, z$
3	N1-H1C...O1	0.94 (2)	1.85 (3)	2.768 (3)	164 (3)	$x-0.5, -y+0.5, -z$
4	C2-H2B...O1	0.95	2.57	3.439 (3)	152	$x-0.5, -y+0.5, -z$

TABLA 5.1: Puentes hidrógeno formados en la estructura de Pregabalina libre

Hasta el momento no se han encontrado formas polimórficas del compuesto. Sin embargo, recientemente se ha encontrado una forma monohidratada, intrínsecamente

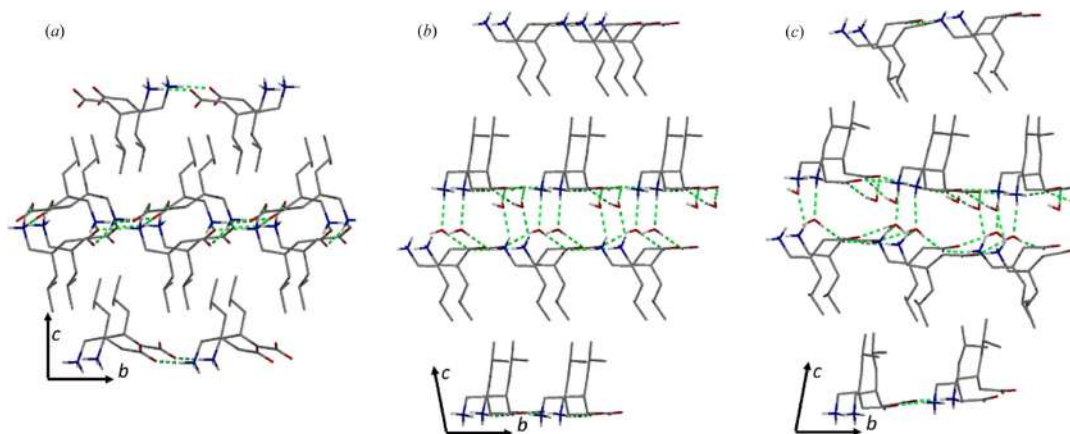


FIGURA 5.3: (a) Diagrama del empaquetamiento cristalino de Pregabalina (b) Diagrama del empaquetamiento cristalino de la estructura de Pregabalina monohidratada a temperatura ambiente (c) Diagrama del empaquetamiento cristalino de la estructura de Pregabalina Monohidratada a -123°C .¹⁴²

inestable a temperatura ambiente en aire, transformando a la forma anhidra completamente en menos de 4 horas.¹⁴² En dicho trabajo monocristales adecuados para SC-XRD fueron obtenidos al recrystalizar en agua a 7°C . La estructura del monohidrato medida a temperatura ambiente cristaliza en el grupo espacial $C2$, con parámetros de red $a=9.566(7)\text{\AA}$ $b=7.440(6)\text{\AA}$ $c=15.911(12)\text{\AA}$ y $\beta = 101.54(3)^{\circ}$. En esta estructura las moléculas de agua se intercalan entre las pregabalinas, evitando la formación de dímeros. Se forman cadenas unidimensionales en la dirección $[010]$ de pregabalinas que se conectan entre sí en la dirección $[100]$ por medio de enlaces $N^+-H\cdots O^-$ y por enlaces mediados por la molécula de agua $O-H\cdots O^-$. Al igual que en la estructura de Pregabalina en esta estructura el grupo isobutyl está orientado en la dirección $[001]$. La conformación de la molécula de Pregabalina parece relajarse ya que los ángulos torsionales $C1-C2-C3-C8$ y $N1-C8-C3-C4$ se acercan a 180° , tomando valores $178.3(3)^{\circ}$ y $177.5(4)^{\circ}$ respectivamente.

El monohidrato de Pregabalina muestra una transición de fase al bajar la temperatura a -123°C , donde la fase de baja temperatura pertenece al grupo espacial $P2_1$ con parámetros de red $a=9.6559(2)\text{\AA}$ $b=29.8416(6)\text{\AA}$ $c=30.1248(7)\text{\AA}$ y $\beta = 98.540(1)^{\circ}$. Los parámetros de red se relacionan con la fase de alta temperatura por una cuadruplicación del eje b y una duplicación del eje c además de una pequeña variación del ángulo β . Como consecuencia de esto, la estructura de baja temperatura tiene 16 moléculas independientes de Pregabalina por celda asimétrica. El empaquetamiento cristalino es similar a la estructura de alta temperatura, mientras que los ángulos torsionales son distintos en cada molécula independiente: el ángulo torsional $N1-C8-C3-C4$ varía entre $169.8(2)^{\circ}$ y $179.2(2)^{\circ}$ mientras que el ángulo torsional $C1-C2-C3-C8$ varía entre $179.9(2)^{\circ}$ y $169.5(2)^{\circ}$. En la figura 5.3 se muestra un esquema del empaquetamiento en las estructuras hidratadas.

El hecho de poder pasar de la estructura de alta temperatura a la de baja temperatura en una transición monocristal-monocristal es evidencia de la alta plasticidad de ambas fase. En efecto los cristales de Pregabalina monohidratado se doblan al aplicarse una fuerza perpendicular al eje c , como se muestra en la figura 5.4, y mantienen esta deformación plástica en el tiempo. Esto no sucede en los cristales de Pregabalina.

A un PH de 7.4, Pregabalina ha mostrado tener una solubilidad de 32 mg/ml, con

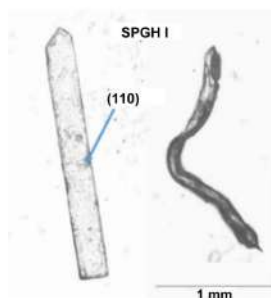


FIGURA 5.4: Monocristales de Pregabalina Monohidratado antes y después de aplicar una fuerza perpendicular al eje c. El índice marcado corresponde a la cara más grande del cristal.

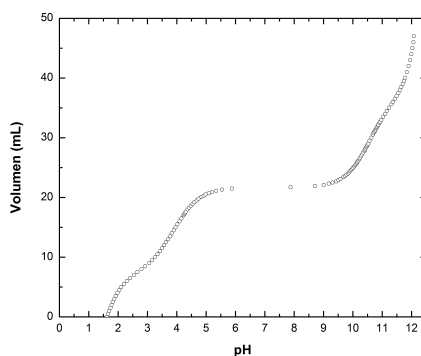


FIGURA 5.5: Curva de volúmen de agua destilada agregado a una solución de Pregabalina en función del PH medido. A partir de la curva se estimó $Pka=4.27$ y $Pkb=10.41$

lo cual puede considerarse al compuesto como moderadamente soluble. Es deseable tener sales o cocristales de Pregabalina que permitan mejorar la solubilidad del compuesto para formulaciones de liberación inmediata.¹³⁸ Es por esto que se trabajó en la búsqueda de Sales y cocristales de Pregabalina que permitan lograr este objetivo. Para determinar si un determinado coformador dará como resultado una sal o un cocrystal se suele considerar la diferencia de Pka entre el compuesto y su coformador. Si esta diferencia es mayor a 3 se espera que se forme una sal mientras que si es menor se espera que se forme un cocrystal. La regla es cualitativa, de manera que el valor de 3 es una estimación arbitraria.²⁷

Con el objetivo de elegir coformadores adecuados para obtener sales o cocristales se midió el Pka de la Pregabalina obteniendos los valores de $Pka = 4.27$ y $Pkb = 10.41$. En la figura 5.5 se muestra la curva de volúmen de la solución valorante (NaOH 0.1 M) agregada a una solución de Pregabalina (179.6 mg), 30ml de H_2O y 1.5 ml de HCl en función del PH de la solución medido.

Conociendo el Pka de la Pregabalina se seleccionaron ácidos de Pka cercanos a 4.27 para formar cocristales. Con este objetivo diferentes coformadores se utilizaron: ácido Benzoico, ácido Trans-Cinámico, ácido Crotónico, ácido Oxálico, ácido Maleico, ácido Salicílico, ácido Octanoico, ácido Decanoico y ácido Dodecanoico. Para todos ellos se obtuvieron compuestos con Pregabalina. Sin embargo compuestos con Pka menor a 4 han formado sales, mostrando que la diferencia de Pka debe ser pequeña entre la Pregabalina y su coformador para generar un cocrystal. En la tabla 5.2 se muestra un resumen de las sales y cocristales obtenidos. Se obtuvieron

3 sales: una con ácido Maléico (en donde se ha observado polimorfismo) , una con ácido Salicílico y otra con ácido Oxálico. Además se obtuvieron 9 cocristales: con los 6 conformadores restantes con estequiometría 1:1. Con los ácidos grasos también se obtuvieron cocristales donde hay 2 pregabalinas por cada ácido graso realizando un procesamiento térmico de los cocristales con estequiometría 1:1. El Pka de los coformadores fue tomado de la bibliografía¹⁴³⁻¹⁴⁶. En el caso que el compuesto tuviera Pka_1 y Pka_2 solo se consideró Pka_1 .

Coformador	Pka	¿Sal o Cocrystal?
Oxálico	1.25	Sal
Maleico	1.92	Sal
Salicilico	2.97	Sal
Crotónico	4.17	Cocrystal
Benzoico	4.20	Cocrystal
<i>trans</i> -Cinámico	4.44	Cocrystal
Octanoico	4.89	Cocrystal
Decanoico	4.90	Cocrystal
Dodecanoico	5.3	Cocrystal

TABLA 5.2: Compuestos con Pregabalina obtenidos en este trabajo.

Los coformadores seleccionados son todos ácidos carboxílicos. Previo a seleccionar los coformadores se realizó un análisis de los Synthons más significativos que se podrían formar entre una molécula que contenga una amida protonada y un carboxilato con un grupo carboxílico. En la figura 1.16 se muestran algunos synthons posibles, utilizados para evaluar la utilización de ácidos carboxílicos como coformadores de Gabapentin.

Una búsqueda en la base de datos CSD¹¹⁴ permitió encontrar 365 estructuras con una molécula que contenga una amida protonada y un grupo carboxilato junto con algún grupo carboxílico (tanto en la misma molécula como en alguna otra), aunque muchas de ellas resultaron ser la misma estructura medida a diferentes temperaturas o por grupos de investigación distintos. Al eliminar las estructuras repetidas se redujo el resultado a 279 estructuras. En las condiciones de búsqueda se puso que las estructuras no tuvieran errores, que estuvieran determinadas las posiciones atómicas, que no hubiera desorden y que estuvieran resueltas con $R \leq 0.1$.

De las 279 estructuras encontradas, 244 presentan el synthon I de la figura 1.16 siendo este el synthon más frecuente. A pesar de esto los Synthons que involucran al grupo Carboxílico son frecuentes, el Synthon II de la figura 1.16 aparece en 135 de las estructuras y el synthon que involucra al grupo amida protonado con el grupo carboxílico aparece en 185 de las estructuras.¹¹⁴

La molécula de Pregabalina es quiral, siendo la molécula con quiralidad S la que tiene actividad farmacológica. Para su separación, se cocrystaliza Pregabalina con ácido Mandélico ya que solo las moléculas S podrán formar parte del cocrystal. Este cocrystal fue resuelto por SC-XRD, para esto se coloca pregabalina y ácido Mandélico en proporción 1:2 en solución. Los cocristales obtenidos tienen estequiometría 1:1 y cristalizan en el grupo espacial $P2_1$ con parámetros de red $a=6.2922(13)\text{\AA}$ $b=27.423(6)\text{\AA}$ $c=10.009(2)\text{\AA}$ y $\beta = 90.84(3)^\circ$.¹⁴⁷ En este cocrystal tanto los anillos aromáticos del ácido Mandélico como los grupos isobutil de las Pregabalinas se orientan paralelos al eje b , en ambos sentidos. Comparte con el resto de las estructuras de Pregabalina el tener el grupo isobutyl orientado paralelo al eje más largo. Además la conformación de ambas Pregabalinas es similar a la observada en la estructura

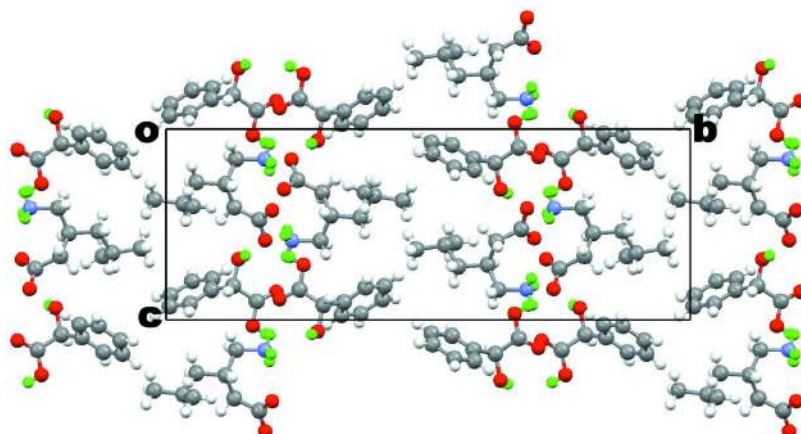


FIGURA 5.6: Esquema del empaquetamiento cristalino en el cocrystal de Pregabalina con ácido Mandélico.

de Pregabalina sola. A pesar de haber dos moléculas de Pregabalina y dos de ácido mandélico por celda unidad, las moléculas presentan interacciones intermoleculares similares. Se forman dímeros de Pregabalina, similares a los de la estructura de Pregabalina sola por medio de enlaces N-H...O entre las moléculas pertenecientes a la unidad asimétrica. Estos dímeros se trasladan paralelo al eje **a** a través de interacciones N-H...O en forma similar a la estructura de Pregabalina libre. La interacción entre el ácido y la pregabalina se da por interacciones O-H...O que trasladan la cadena de pregabalina por el eje **c**. Es notorio que en dicha estructura uno de los oxígenos del carboxilato actúa como aceptor de tres hidrógenos. En la figura 5.6 se muestra un esquema del empaquetamiento cristalino de dicha estructura, similar al encontrado en las estructuras cristalinas de los cocrisales aquí desarrollados y resueltos por SC-XRD.

Algunos otros cocrisales y sales fueron desarrollados en una patente propiedad de Laboratorios del Dr. Esteve S.A.¹³⁸. En la tabla 5.3 se muestra un resumen de los compuestos obtenidos con Pregabalina en dicho trabajo. En los casos donde se determinó si el compuesto es una sal o un cocrystal, la determinación fue realizada por SC-XRD. En dicha patente también se muestran resultados de TG, DSC resonancia magnética, espectroscopía infrarroja y XRPD para los 11 compuestos de la tabla. La comparación de los resultados de SC-XRD y XRPD lleva a la conclusión de que los compuestos 1,3,7,9,10 y 11 son idénticos a algunos de los obtenidos en este trabajo, de manera que se han obtenido 5 cocrisales y 2 sales de Pregabalina originales.

En la mayoría de los casos los cristales utilizados para SC-XRD se obtuvieron por evaporación lenta de una solución con agua y etanol como solventes. Las excepciones son la forma **II** del Maleato de Pregabalina que se obtuvo de la recristalización de la forma **I** obtenida anteriormente en una solución con agua como único solvente y los cocrisales con estequiometría 2:1 que se obtuvieron por medio del tratamiento térmico de los cocrisales con estequiometría 1:1 del mismo coformador. Todas las estructuras de este capítulo fueron resueltas utilizando métodos directos¹⁰¹, excepto algunos casos como las estructuras de baja temperatura del cocrystal con ácido Octanóico que fue resuelta por *intrinsic phasing*⁹¹. Posteriormente las estructuras fueron refinadas por cuadrados mínimos utilizando el programa SHELXL¹⁰². Los átomos de hidrógeno ligados a átomos de carbono fueron refinados en sus posiciones estereoquímicamente esperadas utilizando *constraints* (Rango C-H=0.93-0.99 Å). Los parámetros de desplazamiento de los hidrógenos fueron fijados

Etiqueta	Coformador	Estequiometría	¿Sal o cocrystal?
1	Maleico	1:1	Sal
2	Maleico:H ₂ O	1:1:0.5	
3	Maleico	1:1	
4	L-Tartárico	1:1	
5	L-Tartárico:H ₂ O	1:1:1	Sal
6	L-Málico	1:1	Sal
7	Benzoico	1:1	Cocrystal
8	Prolina:HCl	1:1:1	Cocrystal
9	Octanoico	1:1	Cocrystal
10	Decanoico	1:1	Cocrystal
11	Laurico	1:1	Cocrystal

TABLA 5.3: Compuestos con Pregabalina reclamados en la patente de Laboratorios del. Dr. Esteve, S.A.

$U_{iso}(H) = 1.5U_{eq}(X)$ para los terminales metil y $U_{iso}(H) = 1.2U_{eq}(X)$ para los demás casos. Los Hidrogenos ligado a Nitrógenos y Oxígenos fueron encontrados en un mapa de Fourier de diferencias y posteriormente refinados utilizando *restraints* de $X-H = 0.82 \text{ \AA}$. Los parámetros de desplazamiento de estos Hidrógenos fueron fijados $U_{iso}(H) = 1.5U_{eq}(X)$

5.2. Aspectos estructurales de sales de Pregabalina

5.2.1. Oxalato de Pregabalina

La sal de Pregabalina con ácido Oxálico fue obtenida de una solución de etanol y agua. En la misma se colocó una proporción 1:1 Pregabalina y ácido Oxálico. Se dejó evaporar la solución lentamente en ambiente obteniéndose monocristales transparentes de tamaño adecuado para realizar SC-XRD. La medición de SC-XRD fue realizada a $27(2)^\circ\text{C}$ con radiación de $MoK_\alpha = 0.71073 \text{ \AA}$. Los detalles de la medición pueden verse en la tabla 5.4

La estructura del Oxalato de Pregabalina resulta tener dos Pregabalinas protonadas por cada ión Oxalato. La estructura cristaliza en el grupo espacial C2 con el eje cristalográfico de orden 2 coincidente con el eje de orden 2 del ión Oxalato (El cual se encuentra perpendicular al enlace C-C), de forma tal que en la unidad asimétrica se encuentra una molécula de Pregabalina protonada y medio ión Oxalato, la molécula de Pregabalina queda con carga +1 y el grupo carboxilato se convierte en un grupo carboxílico. Por otra parte el ión Oxalato queda con carga -2. En la figura 5.7 se muestra la unidad asimétrica (el ión Oxalato se muestra completo aunque en la unidad asimétrica solo se encuentran los átomos C9, O3 y O4). La estructura preserva poca relación con la estructura de Pregabalina libre, los parámetros de red de esta sal son $a = 11.7270(4) \text{ \AA}$ $b = 6.1231(2) \text{ \AA}$ $c = 16.0553(7) \text{ \AA}$ y $\beta = 99.645(2)^\circ$. En esta estructura el ángulo torsional de la Pregabalina protonada C1-C2-C3-C8 es $89.7(2)^\circ$ fuertemente apartado del valor ideal 180° . Posiblemente este fuerte cambio en el valor del ángulo torsional se deba a la formación del grupo carboxílico. El ángulo torsional N1-C8-C3-C4 es $173.8(2)^\circ$ incluso más cercano al valor ideal que en la estructura de Pregabalina libre. Por otra parte, al encontrarse el átomo O1 protonado las distancias C1-O1 y C1-O2 varían con respecto a lo observado en la molécula de Pregabalina neutra, en cuyo caso valen $1.316(2) \text{ \AA}$ y $1.205(2) \text{ \AA}$ respectivamente. Esta

Datos	Oxalato de Pregabalina	Maleato de Pregabalina forma I	Maleato de Pregabalina forma II	Salicilato de Pregabalina
Fórmula Química	2(C ₈ H ₁₈ N ₁ O ₂)+(C ₂ O ₄)-2	(C ₈ H ₁₈ N ₁ O ₂)+(C ₄ H ₃ O ₄)-	(C ₈ H ₁₈ N ₁ O ₂)+(C ₄ H ₃ O ₄)-	(C ₈ H ₁₈ N ₁ O ₂)+(C ₇ H ₅ O ₃)-
M_r	204.24	275.30	275.30	297.34
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, C2	Ortorrómbico $P2_12_12_1$	Monoclínico, C2	Ortorrómbico, $P2_12_12$
Temperatura de medición	27(2)°C	-173(2)°C	-123(2)°C	-173(2)°C
a,b,c (Å)	11.7270(4) 6.1231(2) 16.0553(7)	7.3724(5) 10.1598(7) 36.347(3)	22.739(4), 5.634(1), 11.380(2)	30.728(1), 9.5416(4), 10.8569(5)
β (°)	99.645(2)	90	92.900(8)	90
Volumen (Å ³)	1136.56(7)	2722.5(3)	1456.1(4)	3286.1(6)
Z	2	8	4	8
Z'	0.5	2	1	2
Densidad (g/cm ³)	1.194	1.343	1.256	1.241
Radiación	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å
μ (mm ⁻¹)	0.093	0.107	0.100	0.093
Reflexiones medidas, observadas e independientes	9533, 3258, 2198	14530, 5145, 3814	14850, 2660, 1907	46839, 18370, 12202
R_{int}	0.0718	0.0980	0.0841	0.0691
$\sin(\theta)/\lambda_{mx}$ (Å ⁻¹)	0.700	0.625	0.603	0.600
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, $wR(F^2)$, S	0.0453, 0.0987, 0.924	0.0670, 0.1339, 1.024	0.0669, 0.1628, 1.025	0.0642, 0.1439, 1.015
# de parámetros	131	353	177	389
# de restraints	1	0	1	0
$\Delta\rho_{max}$, $\Delta\rho_{min}$ (e/Å ³)	0.30-0.10	0.31-0.21	0.32-0.19	0.45-0.30

TABLA 5.4: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las sales de Pregabalina

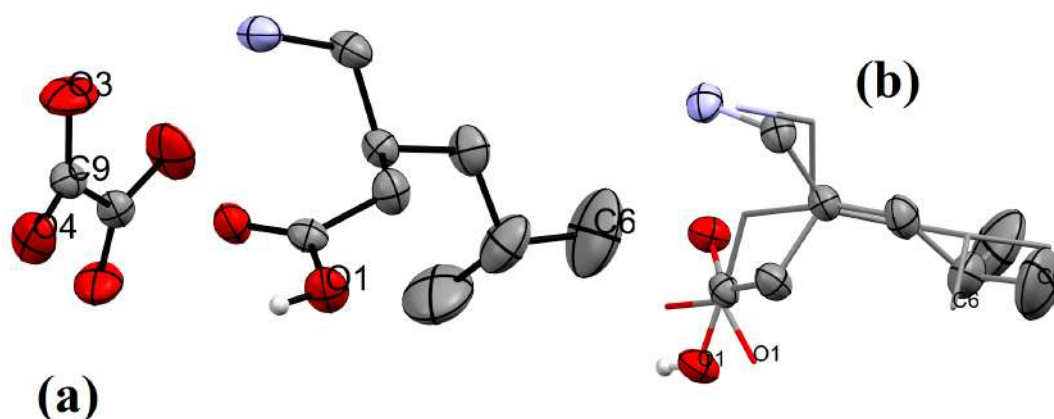


FIGURA 5.7: (a) Conformación molecular de ambos iones en Oxalato de Pregabalina. Los elipsoides térmicos fueron graficados al 40 %. Por claridad no se graficaron los hidrógenos, excepto el que protona a la Pregabalina. (b) Superposición por cuadrados mínimos de la molécula de Pregabalina protonada observada en Oxalato de Pregabalina y la molécula observada en la estructura de Pregabalina libre. De esta última se grafican solo los enlaces para diferenciarla de la anterior.

diferencia de más de $0.1\text{\AA}$ en dichas distancias de enlaces es indicativa de que se ha producido la transferencia de carga del ácido a la Pregabalina. Como consecuencia, los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 y O2-C1-C2-C3 cambian con respecto a la estructura de Pregabalina libre, tomando valores $164.2(2)^\circ$ y $-15.5(3)^\circ$ respectivamente. En la tabla 5.8 se muestran las distancias, ángulos y ángulos torsionales más relevantes en las distintas sales de Pregabalina. En la figura 5.7 se muestran ambos iones que forman la sal y la superposición por cuadrados mínimos de la molécula de Pregabalina protonada con la molécula de Pregabalina neutra observada en la estructura de Pregabalina libre.

El empaquetamiento cristalino es completamente distinto al observado en Pregabalina libre, la amida protonada forma puentes hidrógeno con el ión Oxalato en lugar de hacerlo con otras Pregabalinas. Como consecuencia, en esta estructura no se forman dímeros de Pregabalina, sin embargo, si se forman dímeros estructurales mediados por el ión Oxalato. En la figura 5.8 se muestra el esquema de estos dímeros. En la tabla 5.5 se muestran las interacciones puente hidrógeno en el Oxalato de Pregabalina. Las interacciones entre la Pregabalina protonada y el ión Oxalato $\text{N1-H1C}\cdots\text{O4}$ y $\text{O1-H1}\cdots\text{O3}$ sumado a la simetría de rotación del ácido forman un anillo $R_4^4(24)$ que genera un dímero de la sal.

El eje de orden 2 del ión Oxalato tiene el efecto de propagar los dímeros anteriormente mencionado en la dirección **b**. Un esquema del empaquetamiento cristalino de esta sal puede verse en la figura 5.9. La mayor parte de los restantes puentes hidrógeno participan en la formación de una cadena que traslada la estructura a lo largo del eje $(1,1,0)$ como se muestra en la misma figura, de manera que a pesar de las diferencias con la Pregabalina libre conserva sus interacciones más fuertes en el plano $(0,0,1)$ con los grupos isobutiles de la Pregabalina protonada en la dirección del eje **c**.

5.2.2. Maleato de Pregabalina

Cristales adecuados para SC-XRD de la sal formada por ácido Maleico y Pregabalina (Maleato de Pregabalina) fue obtenida por evaporación lenta en una solución

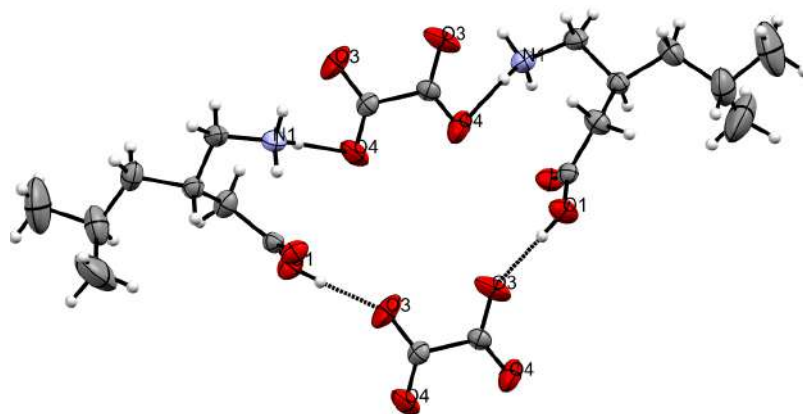


FIGURA 5.8: Dímeros de Oxalato de Pregabalina.

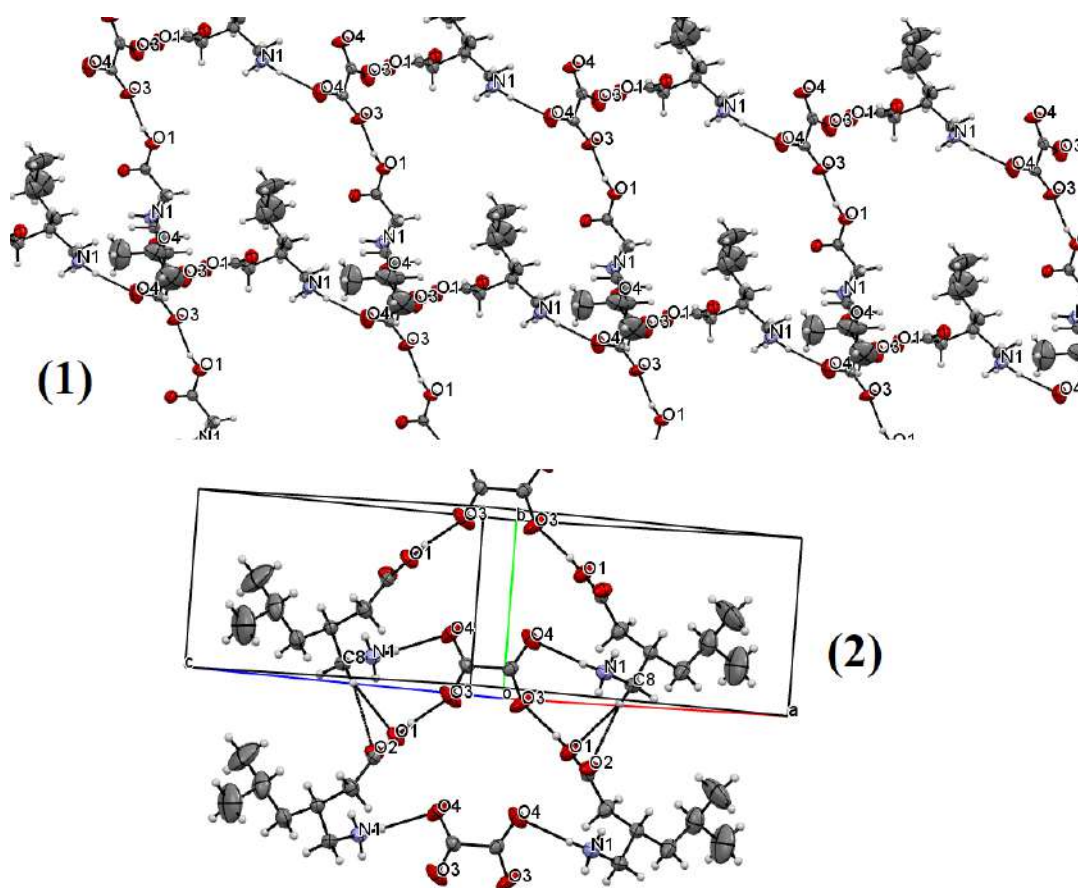


FIGURA 5.9: Esquema del empaquetamiento cristalino del Oxalato de Pregabalina. (1) Cadena formada en la dirección (1,1,0). (2) Cadena formada por los dímeros mostrados en la figura 5.8 en la dirección del eje **b**

Oxalato de Pregabalina						
#	D-H(Å)	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	$\angle$ D-H...A(°)	d(D...A)(Å)	Simetría
1	C8-H8A...O1	0.97	2.653	164.60	3.597	x, y-1, z
2	C8-H8B...O1	0.97	2.609	128.99	3.307	x+0.5, y-0.5, z
3	C8-H8A...O2	0.97	2.625	121.30	3.237	x, y-1, z
4	O1-H1...O3	0.82	1.745	169.20	2.555	-x+0.5, y+0.5, -z+1
5	N1-H1A...O3	0.89	2.257	138.61	2.984	
6	N1-H1A...O3	0.89	2.375	149.80	3.176	-x+1, y, -z+1
7	N1-H1B...O4	0.89	2.039	168.98	2.917	x, y-1, z
8	N1-H1C...O4	0.89	2.229	177.12	3.118	-x+0.5, y-0.5, -z+1

TABLA 5.5: Puentes hidrógenos observados para Oxalato de Pregabalina

de agua y etanol a temperatura ambiente. Al evaporarse el líquido, se observa en el frasco un amorfo transparente que no fluye y tiene consistencia de gel. De dicho compuesto crecieron lentamente los cristales que fueron denominados forma I.

Dicha estructura cristaliza en el grupo espacial $P2_12_12_1$ y tiene 2 moléculas de ión Maleato y de Pregabalina por unidad asimétrica. Cada molécula de Pregabalina se encuentra protonada en forma similar a lo observado en Oxalato de Pregabalina, mientras que cada molécula de ácido Maleico pierde un protón, quedando con carga -1. Las moléculas de Pregabalina protonada en la unidad asimétrica presentan diferencias entre ellas, mientras la primera de ella presenta un ángulo de torsión C1A-C2A-C3A-C8A de $166.6(4)^\circ$ similar al observado en la estructura de Pregabalina libre, la segunda molécula muestra un ángulo torsional C1B-C2B-C3B-C8B de $63.8(6)^\circ$ más cercano al observado en la estructura de Oxalato de Pregabalina. La primera molécula de Pregabalina protonada también muestra valores más cercanos a los ideales en el ángulo N1A-C8A-C3A-C4A de $179.6(4)^\circ$ mientras que la segunda molécula se desvía fuertemente con un ángulo N1B-C8B-C3B-C4B de $-74.3(5)^\circ$. Si bien en ambas moléculas de Pregabalina protonada se verifica que la diferencia entre las distancias O1-C1 y O2-C1 es mayor a 0.1Å , los ángulos torsionales O1A-C1A-C2A-C3A y O2A-C1A-C2A-C3A toman valores de $157.4(4)^\circ$ y $-25.7(7)^\circ$ apartándose de lo observado en la estructura de Pregabalina libre incluso más que lo observado en el Oxalato de Pregabalina. Los ángulos O1B-C1B-C2B-C3B y O2B-C1B-C2B-C3B valen $-176.1(4)^\circ$ y $6.0(8)^\circ$ similares a lo observado en la estructura de Pregabalina libre. Por su parte las moléculas independientes de ión Maleato no muestran diferencias significativas entre sí, manteniendo ambas una conformación planar. El hidrógeno del ión Maleato participa de la formación de un puente hidrógeno intra-molecular O6-H6O...O3 responsable de la conformación cerrada que adoptan ambos iones independientes en la estructura. En la figura 5.10 se puede observar la conformación de las moléculas en la unidad asimétrica así como la superposición por cuadrados mínimos de ambas moléculas de Pregabalina protonada independientes.

Hay dos cadenas de ión Maleato a lo largo del eje **b**, una de iones A y la otra de iones B. En la figura 5.11 se observa las cadenas formadas por los iones A y los iones B a lo largo del eje **b**. Los iones A se conectan entre sí por medio del enlace C11A-H11A...O3A formando una cadena $C_1^1(5)$ mientras que los iones B lo hacen con un enlace C11B-H11B...O6B formando una cadena $C_1^1(4)$. Las cadenas de iones Maleato A interactúan con una Pregabalina protonada A principalmente por el enlace O1A-H1A...O4. A su vez esta Pregabalina protonada interactúa con dos

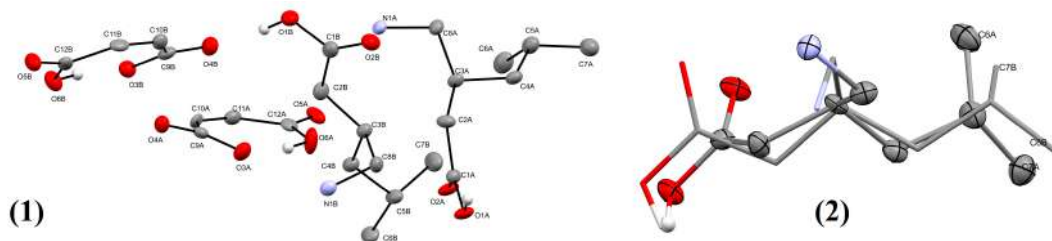


FIGURA 5.10: (1) Unidad asimétrica de la forma I de Maleato de Pregabalina. (2) Superposición por cuadrados mínimos de las moléculas de Pregabalina protonada en la unidad asimétrica.

iones consecutivos de la cadena por medio de interacciones N1-H1AA...O5A y C2-H2AB...O6A. Como dos iones Maleato consecutivos se encuentran rotados 180° alrededor del eje **b**, dos Pregabalinas protonadas A consecutivas mantienen su grupo isobutil en dirección **c** con sentidos opuestos.

Las moléculas de ión Maleato B forman una cadena diferente a los iones Maleato A. A su vez, su interacción con las Pregabalinas protonadas B es levemente diferente. Del lado del grupo carboxilato, interacciona con Pregabalinas protonadas B por medio de enlaces O1B-H1B...O4B similar al observado para las cadenas de iones Maleato A. Sin embargo, debido a las diferencias de conformación de estas Pregabalinas con las A, el átomo C2 queda alejado del ión Maleato y por lo tanto no forma un enlace similar al observado en la cadena de iones A. Una segunda molécula de Pregabalina protonada B interactúa con el mismo ión Maleato a través de un enlace N1B-H1BB...O5B. Como consecuencia de la diferente conformación con respecto a las moléculas A, esta Pregabalina protonada no interactúa con el ión Maleato consecutivo de la cadena sino que conecta cadenas paralelas a lo largo del eje **a**.

En el caso de las moléculas de Pregabalina protonada A, si bien las interacciones con el ión Maleato A se encuentran sobre el plano [100], forma una cadena $C_1^1(7)$ a lo largo del eje **a** por medio de interacciones N1A-H1AB...O2A. En la figura 5.12 puede verse la cadena de Pregabalinas protonadas A a lo largo del eje **a**.

Por otra parte, existen enlaces entre Pregabalinas protonadas A y B que conectan las cadenas anteriormente mencionadas. Ambas Pregabalinas protonadas en la unidad asimétrica se conectan entre sí por medio de interacciones N1A-H1AA...O2B, C3A-H3A...O2B y C8B-H8BB...O2A formando un dímero de Pregabalinas protonadas con enlaces más débiles que los observados en la estructura de Pregabalina libre. En este caso solo un enlace N-H...O se preserva entre Pregabalinas. Los otros dos hidrógenos de la amida protonada se encuentran ocupados en la interacción con el ión Maleato por medio de enlaces N1A-H1AB...O5B y N1A-H1AC...O3B que conectan la Pregabalina protonada A con dos moléculas consecutivas de ión Maleato B de la cadena previamente descrita. Algo similar sucede con la Pregabalina protonada B que se conecta por medio de interacciones N1B-H1BA...O5A y N1B-H1BC...O4A con dos iones Maleato A consecutivos. En la figura 5.13 se muestra un esquema de dichas interacciones. En la tabla 5.6 se muestra un resumen de las interacciones puente hidrógeno presentes en Maleato de Pregabalina forma I. Aunque hay más interacciones presentes que en la estructura de Pregabalina libre, algunas características de esa estructura se preservan: Las interacciones se encuentran principalmente en el plano [001], donde la amida protonada juega un rol fundamental en las interacciones de puente hidrógeno que cohesionan la estructura. A su vez, los grupos isobutyl de la Pregabalina se encuentran en la dirección de un eje largo **c**.

Se recrystalizó el compuesto obtenido de la forma I en H_2O con el objetivo de

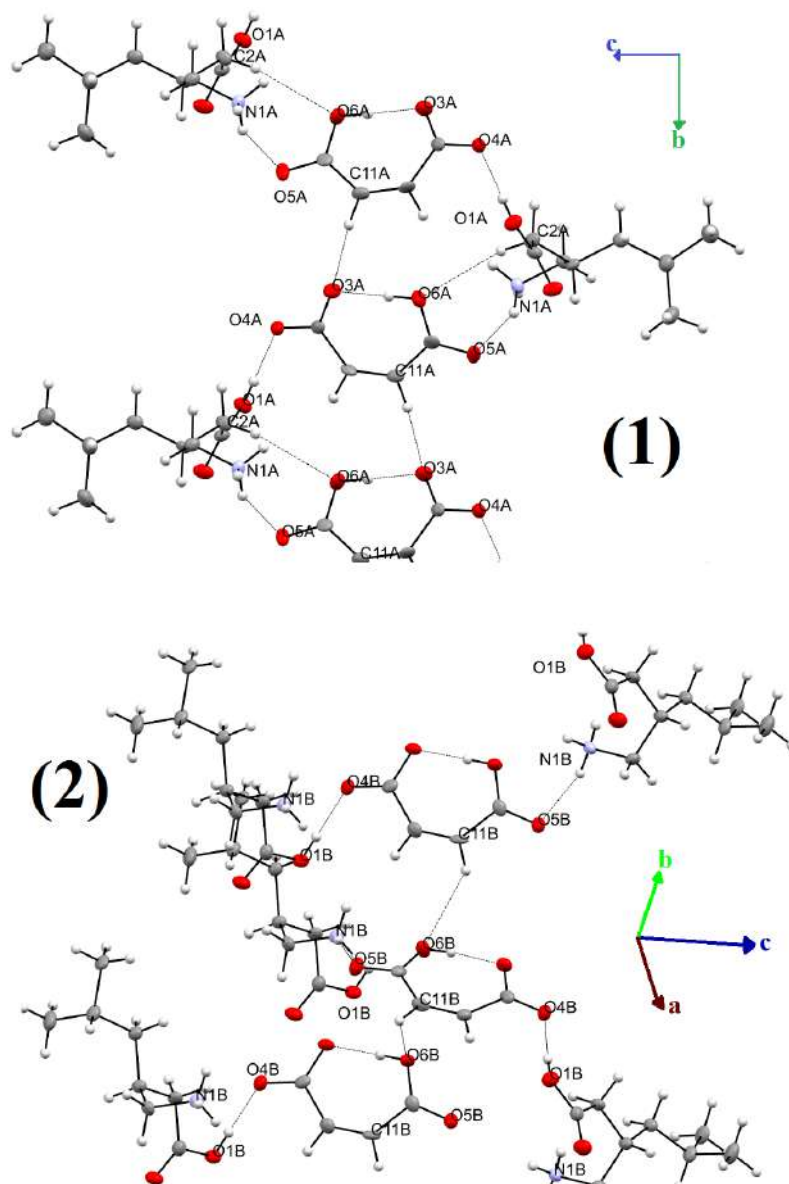


FIGURA 5.11: Cadenas a lo largo de **b** en Maleato de Pregabalina forma I (1) Cadena de ión Maleato A y Pregabalina protonada A a lo largo del eje **b** (2) Cadena de ión Maleato B a lo largo del eje **b** y sus puentes hidrógenos con la Pregabalina protonada B

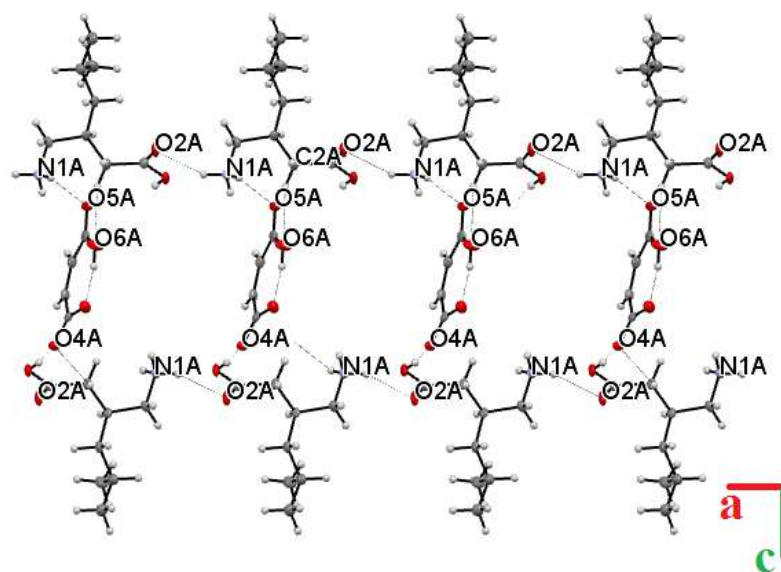


FIGURA 5.12: Cádena de ión Maleato A y Pregabalina protonada A a lo largo del eje **a** en la forma I de Maleato de Pregabalina

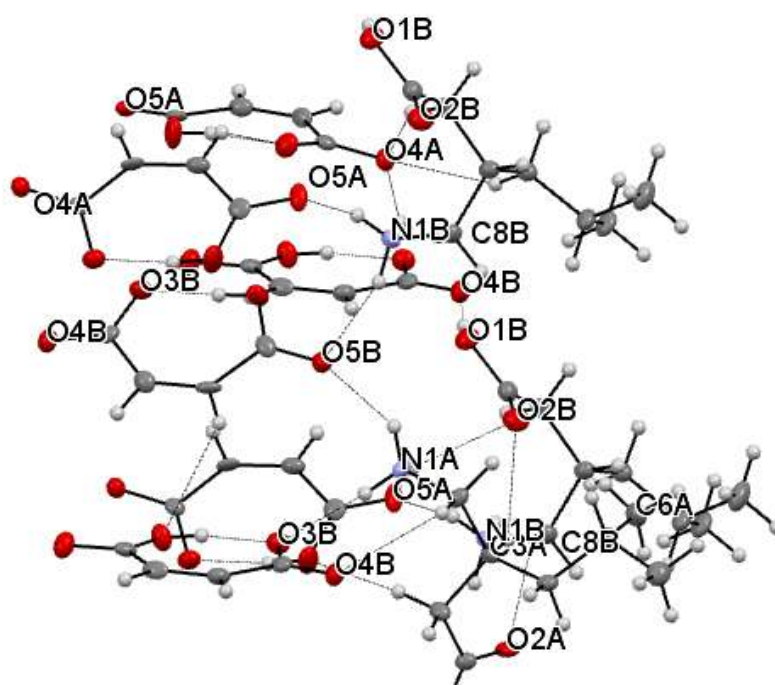


FIGURA 5.13: Interacción entre moléculas A y moléculas B en de Maleato de Pregabalina forma I

D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	d(D-A)(Å)	∠ D-H...A(°)	Simetría
O6A-H6OA...O3A	0.84	1.617	2.450	171.12	
C11A-H11A...O3A	0.95	2.49	3.169	128.46	-x,y+0.5, -z +0.5
O1A-H1A...O4A	0.84	1.736	2.569	170.75	-x, y-0.5, -z+0.5
N1A-H1AA...O5A	0.91	2.148	2.974	150.55	
C2A-H2AB...O6A	0.99	2.65	3.584	157.23	
N1A-H1AB...O2A	0.91	2.128	2.951	150.03	x+1, y, z
N1A-H1AA...O2B	0.91	2.501	3.117	125.26	
C3A-H3A...O2B	1.000	2.631	3.378	131.59	
N1A-H1AB...O5B	0.91	2.343	2.869	116.66	-x+1, y-0.5,-z+0.5
N1A-H1AC...O3B	0.91	2.15	3.044	167.16	x,y-1,z
O6B-H6OB...O3B	0.84	1.612	2.447	171.88	
C11B-H11B...O6B	0.95	2.646	3.371	133.49	-x+1, y-0.5,-z+0.5
O1B-H1B...O4B	0.84	1.76	2.597	174.19	
N1B-H1BB...O5B	0.91	1.99	2.853	157.56	-x, y-0.5, -z+0.5
C8B-H8BB...O2A	0.99	2.532	3.125	118.25	
N1B-H1BA...O5A	0.91	2.002	2.824	149.47	
N1B-H1BC...O4A	0.91	2.092	2.942	154.98	-x, y+0.5, -z+0.5

TABLA 5.6: Puentes hidrógeno formados en la estructura de la forma I de Maleato de Pregabalina

obtener cristales sin material amorfo. El objetivo no se logró ya que se volvió a formar material amorfo desde el cual crecieron cristales de la forma cristalina **II**. En la tabla 5.4 se muestran los datos de la medición así como los datos de la celda obtenida. A diferencia de la forma **I**, esta forma tiene solo una molécula de Pregabalina protonada y un ión Maleato en la unidad asimétrica. Sin embargo, la estructura cristalina mantiene algunas características en común con la forma **I**: En primer lugar el ión Maleato forma un puente hidrógeno intramolecular $O6 - H6...O3$ adoptando una conformación similar a la observada en la forma **I**. La molécula de Pregabalina protonada adopta una conformación similar a la observada en las Pregabalinas protonadas **B** de la forma **I**, como muestran los valores de los ángulos de torsión $C1-C2-C3-C8$ de $68.8(6)^\circ$ y $N1-C8-C3-C4$ de $68.4(6)^\circ$ cercanos a los observados en dichas moléculas. La transferencia de carga parece ser menor en esta estructura ya que la diferencia entre las distancias $C1-O1$ y $C1-O2$ es de $0.08(2)\text{\AA}$, menor a lo observado en la forma **I**. Sin embargo, esta diferencia es significativa, y mayor a la que se observa entre $C9-O3$ y $C9-O4$ de $0.03(2)\text{\AA}$ de manera que se asume que hay transferencia de carga entre el ácido y la Pregabalina. El grupo carboxílico de la Pregabalina se diferencia de lo observado en las Pregabalinas protonadas **B** de la forma **I**, ya que los ángulos torsionales $O1-C1-C2-C3$ y $O2-C1-C2-C3$ de $147.2(5)^\circ$ y $-31.7(8)^\circ$ respectivamente. Esta fuerte desviación en la conformación con respecto a lo observado en la estructura de Pregabalina libre esta relacionada a la aparición de la interacción intramolecular $C8-H8A...O2$ que acerca la amida protonada de la Pregabalina protonada con su grupo carboxílico.

En la figura 5.14 se muestra el esquema del empaquetamiento cristalino. El empaquetamiento cristalino muestra similitudes con el observado en la forma **I**, aunque también diferencias: Los iones Maleato forman una cadena a lo largo del eje **b**, aunque en este caso es una cadena $C_1^1(4)$ donde dos iones consecutivos interactúan por medio de enlaces $C10-H10...O3$ y $C11-H11...O6$. El átomo $O5$ de cada ión Maleato interactúa con una molécula de Pregabalina protonada por medio de interacciones $C2-H2B...O5$. Además, se conecta con una segunda Pregabalina protonada por medio de enlaces $N1-H1C...O4$, $N1-H1C...O3$ y $C3-H3...O4$. Cada molécula de Pregabalina protonada interacciona con el ión Maleato consecutivo de la cadena por medio de interacciones $N1-H1A...O4$ y las moléculas de Pregabalina protonada interactúan entre sí por medio de enlaces $N1-H1B...O2$ formando una cadena $C_1^1(7)$ de Pregabalinas protonadas en la dirección del mismo eje. En este caso las Pregabalinas protonadas están todas orientadas con el grupo isobutyl en el mismo sentido en la dirección **a**. De esta forma la molécula de Pregabalina adopta una conformación tal que media la interacción de las cadenas previamente descritas a lo largo de la dirección $(1,0,1)$ por una cadena $C_2^2(10)$ conformada por los enlaces $C2-H2B...O5$ y $C3-H3...O4$ principalmente. En la tabla 5.7 se muestra un resumen de los puentes hidrógenos encontrados con sus respectivas características. A diferencia de lo observado en la forma **I**, no se observan enlaces $O-H...O$.

5.2.3. Salicilato de Pregabalina

Al igual que el Maleato de Pregabalina forma **I**, este compuesto tiene dos moléculas de Pregabalina protonadas y dos iones Salicilato por unidad asimétrica. Tras haber realizado mediciones de SC-XRD en las condiciones que se describe en la tabla 5.4 la muestra se dejó en condiciones ambientales. Tras dos meses de estar en esas condiciones se observó que los cristales transicionaban a la estructura de Pregabalina libre descrita en la introducción, de forma tal que se observa que no es una estructura estable.

D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	d(D...A)(Å)	∠ D-H...A(°)	Simetría
O6-H6O...O3	0.84	1.593	2.432	176.70	
C11-H11...O6	0.95	2.482	3.262	139.35	x,y-1,z
C10-H10...O3	0.95	2.577	3.517	169.86	x,y-1,z
C8-H8A...O2	0.99	2.277	2.996	128.56	
N1-H1C...O3	0.91	2.121	2.932	147.79	
N1-H1C...O4	0.91	2.444	3.288	154.44	
C3-H3...O4	1.000	2.582	3.483	149.83	
C2-H2B...O5	0.990	2.475	3.338	145.55	x-0.5,y+0.5,z
N1-H1A...O4	0.91	1.906	2.799	166.43	x,y+1,z
N1-H1B...O2	0.91	1.974	2.803	150.55	-x+0.5,y+0.5,-z

TABLA 5.7: Puentes hidrógeno formados en la estructura de la forma II de Maleato de Pregabalina

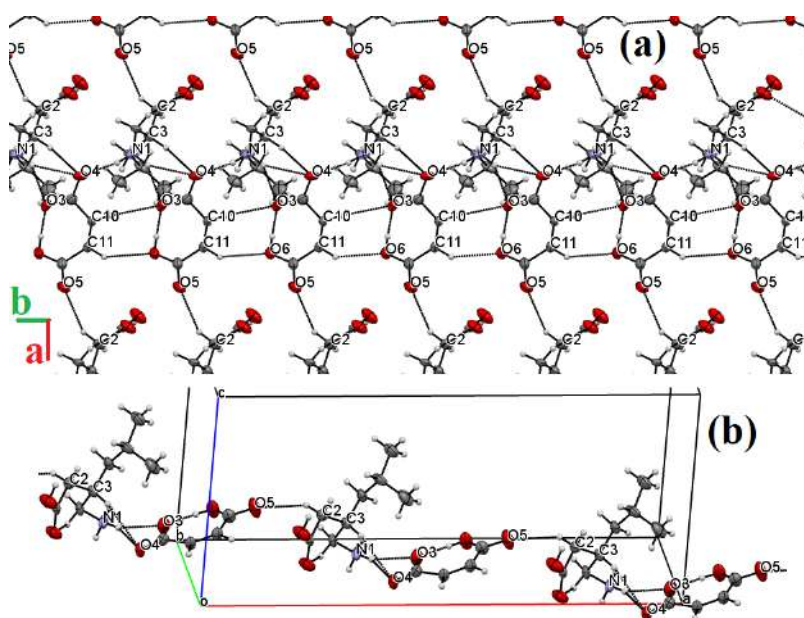


FIGURA 5.14: (a) Empaquetamiento en el plano (0,0,1) de la forma II de Maleato de Pregabalina. (b) Cadenas formadas en la dirección (1,0,1)

Las distancias C-O en ambas Pregabalinas indican que la estructura de Pregabalina se encuentra protonada. Sin embargo, a diferencia de lo observado en Maleato de Pregabalina los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 y O2-C1-C2-C3 son similares a los observados en la estructura de Pregabalina libre, tomando valores de $-172.6(1)^\circ$ y $8.0(2)^\circ$ respectivamente en las Pregabalinas protonadas A y $-178.0(2)^\circ$ y $3.0(1)^\circ$ respectivamente en las B. En la tabla 5.8 se muestra un cuadro comparativo de las distancias, ángulos de enlace y ángulos de torsión más relevantes para las distintas estructuras de sales de Pregabalina. En el caso de esta sal, las diferencias más grandes entre ambas moléculas de Pregabalina protonadas pueden observarse en el ángulo torsional correspondiente a C1-C2-C3-C8, el cual vale $-60.3(2)^\circ$ para la molécula A y $87.1(2)^\circ$ para la molécula B, en ambos casos fuertemente apartado del valor observado en la estructura de Pregabalina libre. De hecho, en la molécula A se forma un enlace intra-molecular C8A-H8A1...O2A similar al observado en la forma II de Maleato de Pregabalina.

	Pregablina libre	Oxalato de Pregabalina	Maleato de Pregabalina I molécula A	Maleato de Pregabalina I molécula B	Maleato de Pregabalina II	Salicilato de Pregabalina molécula A	Salicilato de Pregabalina molécula B
Distancias (Å)							
C1-O1	1.254(3)	1.316(2)	1.329(6)	1.339(6)	1.289(8)	1.329(2)	1.312(2)
C1-O2	1.244(3)	1.205(2)	1.218(6)	1.202(6)	1.205(7)	1.205(2)	1.215(2)
Ángulos ($^\circ$)							
O1-C1-O2	125.0(2)	123.5(2)	118.3(4)	120.3(4)	121.5(5)	122.8(2)	123.9(2)
Torsiones($^\circ$)							
O1-C1-C2-C3	177.8(2)	164.2(2)	157.4(4)	-176.1(4)	147.3(5)	-172.6(1)	-178.0(1)
O2-C1-C2-C3	-5.0(3)	-15.5(3)	-25.7(7)	-176.1(4)	-31.7(8)	8.0(2)	3.2(2)
N1-C8-C3-C4	169.3(2)	173.8(2)	179.6(4)	-74.3(5)	68.4(6)	178.9(1)	167.7(1)
C1-C2-C3-C8	161.7(2)	89.7(2)	166.6(4)	63.8(6)	68.8(6)	-60.3(8)	87.1(2)
C4-C5-C6-C7	123.6(3)	-123.4(4)	-122.7(6)	120.4(6)	122.4(8)	123.7(2)	-124.8(3)

TABLA 5.8: Distancias, ángulos de enlace y ángulos torsionales de Pregabalina en las distintas sales de Pregabalina obtenidas

En la figura 5.15 se muestra la unidad asimétrica de Salicilato de Pregabalina. Los iones Salicilato también presentan una interacción intra-molecular O5-H5...O4. Esto es similar a lo que se observa en la estructura de ácido Salicílico en la base de datos CDS (SALIAC¹¹⁴). Como el ión Salicilato pierde un átomo de hidrógeno, las distancias C9-O3 y C9-O4 se modifican en esta estructura con respecto a lo observado en la estructura del ácido Salicílico, sin embargo, por lo demás la conformación es similar en ambas estructuras, observándose una conformación planar tanto del ión como del ácido. No se observan diferencias conformacionales entre los iones Salicilato etiquetadas A y B dentro de la estructura de la sal, se puede observar que el

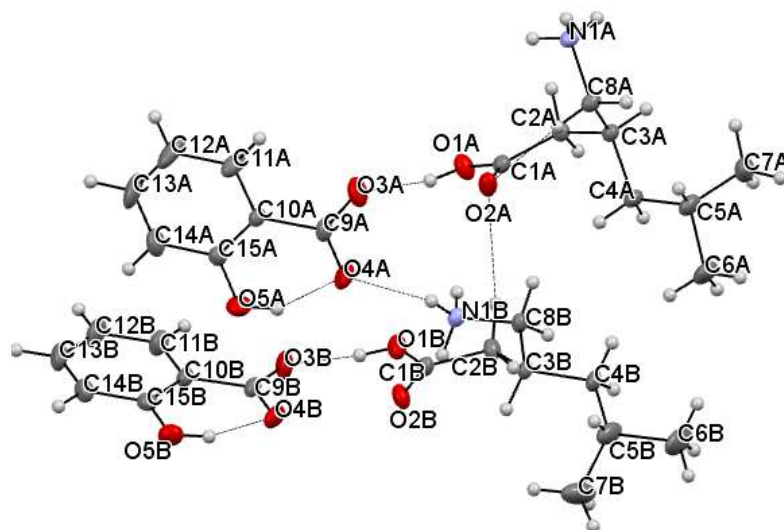


FIGURA 5.15: Unidad asimétrica de la estructura de Salicilato de Pregabalina. En líneas punteadas se muestran enlaces puente hidrógeno.

plano medio del anillo de cada una de estos iones se encuentran con un ángulo de 88.97° , cerca de ser perpendiculares entre sí en la unidad asimétrica. Dicha rotación esta dada por un eje cercano al eje **a**.

Las Pregabalinas protonadas A se conectan con los iones A a través de enlaces $O1A-H1A...O3A$. El átomo $O3A$ también es aceptor del enlace $N1A-H1A2...O3A$, formando una cadena en zig-zag que corre a través del eje **b** en un eje tornillo 2_1 y se caracteriza por la secuencia Pregabalina A-ión Salicilato A-Pregabalina A...

Las Pregabalinas B también interactúan con los iones Salicilato B a través de interacciones $O1B-H1B...O3B$, sin embargo debido a la diferencia conformacional de esta Pregabalina protonada con la Pregabalina protonada A, se forma una cadena similar a la anteriormente descrita por medio de interacciones $C2B-H2B1...O5B$ donde solo participan moléculas B. Entre dos moléculas de Pregabalina protonadas de dicha cadena, existe una tercera molécula de Pregabalina protonada que interactúa con estas por medio de enlaces $N1B-H1B2...O2B$ trasladando dichas cadenas a través del eje **c**. En la figura 5.16 se muestran las cadenas a lo largo del eje **b**.

Las moléculas de Pregabalina protonada B interactúa con las Pregabalinas protonadas A por medio de enlaces débiles $C2B-H2BA...O2A$. Más fuerte es la interacción con el ión Salicilato A que se unen por enlaces $N1B-H1B3...O4A$. De esta manera se conectan las cadenas anteriormente comentadas. Las restantes interacciones N-H...O entre Pregabalinas protonadas A y B y entre una Pregabalina A y el ión Salicilato conectan ambas cadenas de forma tal que también las moléculas A se conectan a lo largo del eje **c**. No hay interacciones puente hidrógeno que enlacen moléculas a lo largo del eje **a**, lo cual explica el alto valor de dicho parámetro de red. En este sentido el eje **a** es similar al eje **c** en la estructura de Pregabalina libre. En la tabla 5.9 se muestra una tabla con las interacciones puente hidrógeno encontradas.

5.3. Comportamiento térmico de sales de Pregabalina

Para todas las sales (excepto Maleato de Pregabalina forma II), se realizaron mediciones de TG y DTA simultáneos en un ambiente de N_2 con un flujo de 10 ml/min y variando la temperatura a $10^\circ C/min$. En la figura 5.17 se muestra los resultados

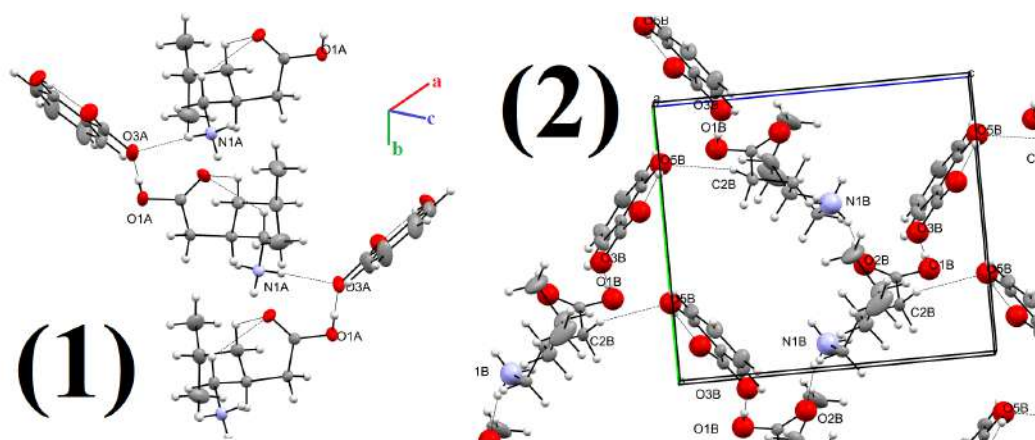


FIGURA 5.16: (1) Cadena formada a lo largo del eje **b** por las moléculas A en el Salicilato de Pregabalina (2) Cadena formada a lo largo del eje **b** por las moléculas B en el Salicilato de Pregabalina, además se observa que dichas cadenas se trasladan por el eje **c** por enlaces N1B-H1B2...O2B

D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	d(D...A)(Å)	∠ D-H...A°	Simetría
O5A-H5A...O4A	0.84	1.773	2.522	147.51	
C8-H8A1...O2A	0.99	2.496	3.277	135.57	
O1A-H1A...O3A	0.84	1.678	2.506	167.80	
N1A-H1A2...O3A	0.91	1.995	2.807	147.74	-x+1.5,y+0.5,-z
N1A-H1A1...O5B	0.91	2.262	3.074	148.32	-x+1.5, y+1.5, -z
N1A-H1A1...O1B	0.91	2.601	3.230	126.87	x, y+1, z
N1A-H1A3...O4B	0.91	1.861	2.768	174.42	x, y+1, z
O5B-H5B...O4B	0.84	1.761	2.510	147.48	
O1B-H1B...O3B	0.84	1.660	2.497	174.67	
C2B-H2B1...O5B	0.99	2.496	3.277	135.57	-x+1.5,y+1.5,-z+1
N1B-H1B2...O2B	0.91	1.894	2.749	155.74	-x+1.5,y+0.5,-z+1
N1B-H1B3...O4A	0.91	1.986	2.744	139.73	
C2B-H2B2...O2A	0.99	2.653	3.632	170.23	
N1B-H1B1...O1A	0.91	2.014	2.887	160.33	-x+1.5,y-0.5,-z+1
C8B-H8B1...O5A	0.99	2.591	3.135	114.60	-x+1.5,y+0.5,-z+1

TABLA 5.9: Puentes hidrógeno formados en la estructura de Salicilato de Pregabalina

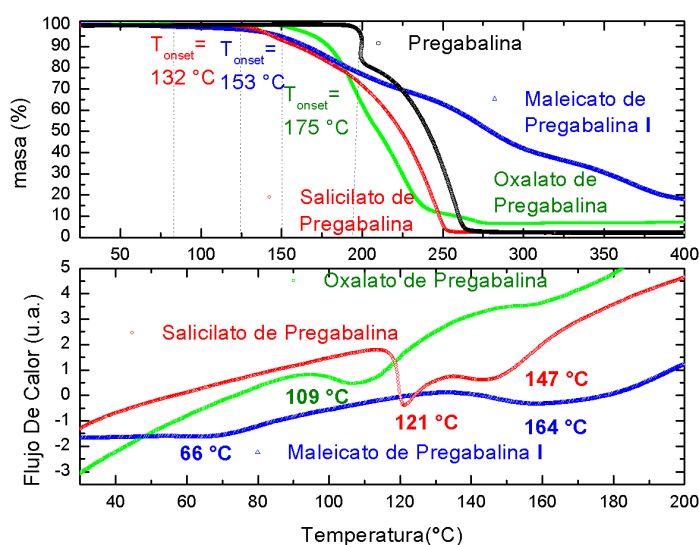


FIGURA 5.17: Arriba se muestran los resultados de TG para las sales de Pregabalina, mientras que abajo se muestran los resultados del DTA realizado simultáneamente

de la medición de TG. Los tres compuestos analizados tienen una pérdida de masa a temperaturas menores que la Pregabalina libre y la forma de las curvas es diferente a la observada en Pregabalina libre. Salicilato de Pregabalina muestra pérdidas de masa a partir de los 130°C aproximadamente, en una curva suave indicativa de un proceso homogéneo. Maleato de Pregabalina forma I también muestra pérdidas de masa alrededor de la misma temperatura aunque la curva de pérdida de masa es mas lenta y más compleja. Cabe recordar que al sintetizar la muestra los cristales se encontraban embebidos en un líquido altamente viscoso y parte de la respuesta observada puede deberse a este líquido. Por otra parte Oxalato de Pregabalina muestra pérdidas de masa a partir de los 150°C con una curva de pérdida de masa suave similar a la observada en Salicilato de Pregabalina.

Los resultados de DTA muestran un pico endotérmico alrededor de 110°C para Oxalato de Pregabalina. Por medio de microscopia óptica se confirmó que dicho pico se corresponde con la fusión del compuesto. Sin embargo, se observa que el compuesto líquido a 137°C muestra múltiples burbujas en el mismo, lo que puede ser indicativo de otro proceso ocurriendo simultáneamente. En la figura 5.18 se muestran las imágenes antes y después de la fusión. Especulativamente, se puede pensar que tras la fusión las moléculas de ácido y/o de Pregabalina subliman produciendo el burbujeo en el líquido fundido.

Se realizó una medición de DSC de Oxalato de Pregabalina en un ambiente de Nitrógeno con un flujo de 10 ml/min. La medición de DSC muestra una endoterma compleja, con un pico en 114°C seguido por un segundo proceso endotérmico inmediatamente. Todo este proceso tiene una entalpía de $\Delta H = 131.5 \frac{\text{J}}{\text{g}}$. En la figura 5.19 se muestra el resultado de la medición.

En la figura 5.17 se observa en la curva de DTA que el Salicilato de Pregabalina también muestra un comportamiento complejo. Existe un claro pico endotérmico a 121°C seguido de un segundo pico a 147° antes de que se recupere la línea de base. En este caso el segundo proceso endotérmico se encuentra acompañado de la pérdida de masa. La observación por microscopía óptica mostró que algunos cristales

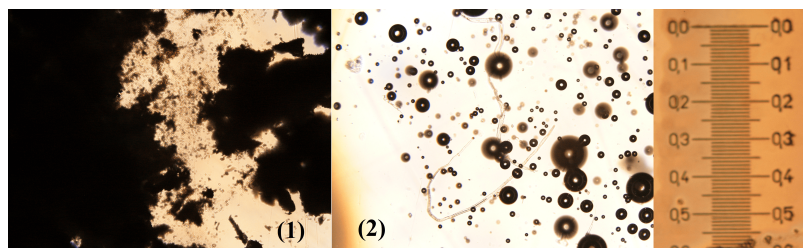


FIGURA 5.18: (1) Muestra de Oxalato de Pregabalina a 25°C (2) Muestra de Oxalato de Pregabalina a 137°C Tras haber observado la fusión alrededor de 110°C se observa una inusual cantidad de burbujas en el líquido

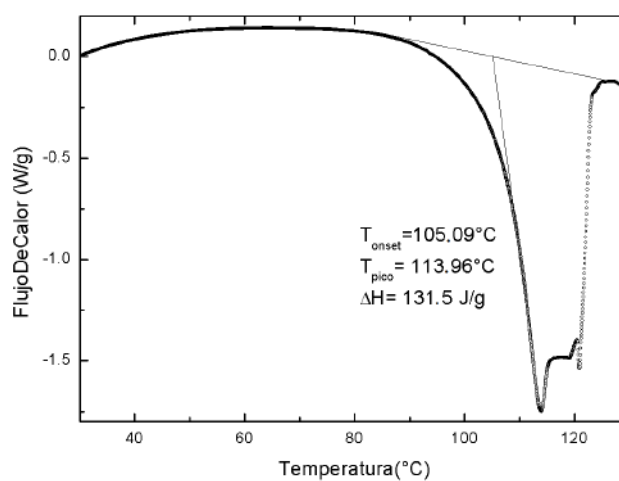


FIGURA 5.19: Medición de DSC de Oxalato de Pregabalina

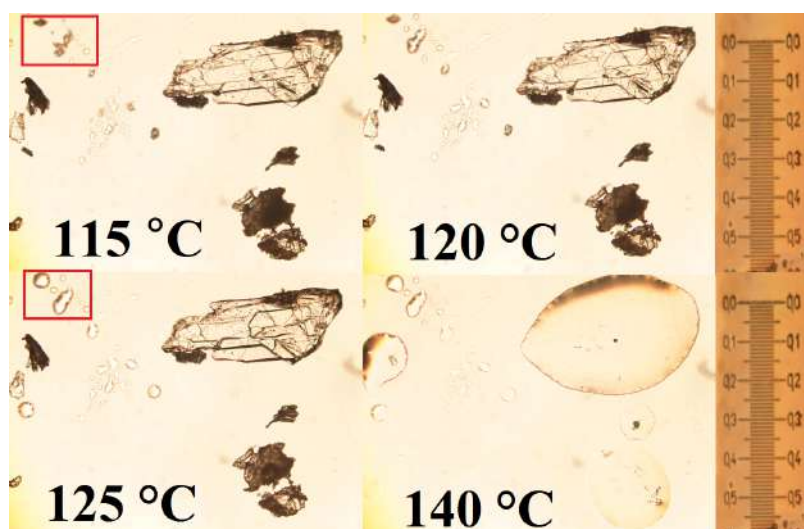


FIGURA 5.20: Fotografías tomadas a distintas temperaturas de Salicilato de Pregabalina. Se observa que algunos cristales fusionan alrededor de 120°C y otros alrededor de 140°C, lo que muestra la presencia de impurezas en la muestra.

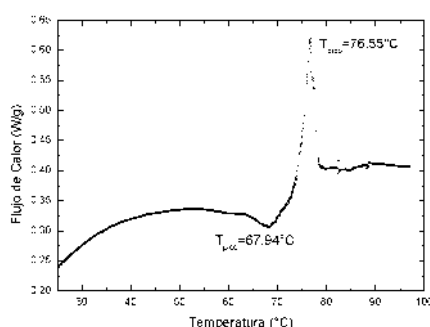


FIGURA 5.21: Resultados de las mediciones de DSC realizado sobre la muestra de Maleato de Pregabalina forma I

funden a 121°C mientras que otros funden a temperaturas más cercanas a 140°C, lo cual demuestra que la muestra contiene otros cristales además de la estructura determinada. Como los cristales grandes funden a 140°C y son similares morfológicamente al utilizado para SC-XRD, es razonable pensar que la estructura determinada funde a 140°C a la vez que se descompone, como muestra la pérdida de masa en la medición de TG. En la figura 5.20 se pueden ver las imágenes de la fusión del compuesto. En este caso no se han observado burbujas en el líquido.

Maleato de Pregabalina I muestra un termograma complejo en la figura 5.17. En este caso, se había observado a simple vista la presencia de material amorfo, por lo que se sabía que la señal que se iba a observar no era de la muestra pura. Sin embargo de la señal observada es difícil distinguir eventos térmicos. Se realizó una medición de DSC para obtener mayor resolución en la señal. Se observó una pequeña endoterma a 68°C seguido de una exoterma a 77°C y un importante cambio en la línea de base. En la figura 5.21 se muestran los resultados de dicha medición.

Por medio de microscopía óptica se confirmó que dicho proceso está relacionado al material amorfo. Toda la muestra fue colocada en vaselina y al pasar los 70°C se observó un desplazamiento de la muestra y los cristales, probablemente debido a un

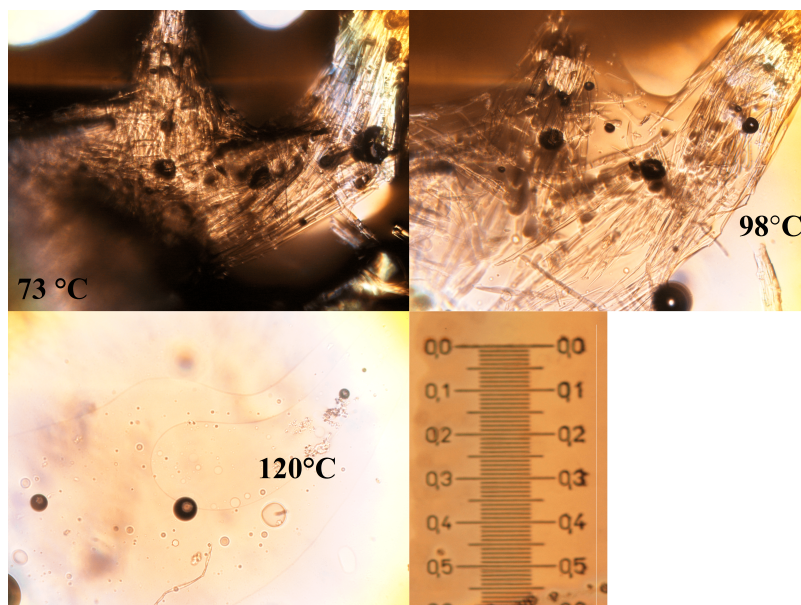


FIGURA 5.22: Resultados de las mediciones de DSC realizado sobre la muestra de Maleato de Pregabalina forma I

aumento de la fluidez del medio. Es por esto que se puede suponer que el proceso observado por DSC es la transición vítrea del amorfo y los procesos asociados se corresponden con una entalpía de relajación. Posteriormente, entre 100°C y poco antes de 120°C se observa la fusión de los cristales, cercanos a la temperatura donde se observó la pérdida de masa por TG. En la figura 5.22 se muestran las fotografías a distintas temperaturas del compuesto. Algunas burbujas son observadas sobre el líquido.

En la forma II de Maleato de Pregabalina solo se realizaron estudios de microscopía óptica sobre platina calentadora debido a la mezcla de cristales y amorfo encontrada. En la figura 5.23 se muestra una imagen del material obtenido. Al calentar este compuesto se observa que alrededor de 60°C se funden parte de los cristales. Finalmente alrededor de 120°C se observa que funden la gran mayoría de los mismos. A partir de estos resultados se puede concluir que en el conjunto de la muestra hay más de una forma cristalina presente. Sin embargo, de esta muestra solo se ha podido medir cristales de la forma II de Maleato de Pregabalina por SC-XRD. Mediciones de XRPD se realizaron para confirmar la posible presencia de otras formas cristalinas como se puede observar en la figura 5.24. Los problemas de orientación preferencial y la diferencia de temperatura entre la muestra medida y la estructura a partir de la cual se calcula el difractograma hacen difícil realizar un ajuste de Rietveld de la muestra, pero la inspección visual permite observar que los principales picos corresponden a la forma II. La estructura de Pregabalina libre tiene un pico principal en 9.5°, por lo que en la muestra se puede descartar la presencia de Pregabalina libre cristalina. También parece poder descartarse la presencia de Maleato de Pregabalina forma I debido a la ausencia del pico principal que debería estar en 4.8°.

Sin embargo al observar picos menores en la región entre 25° y 35° se observan picos que no se corresponden con la forma II. A su vez algunos picos de la forma II no se observan en dicho difractograma, una posible explicación es la diferencia de temperatura entre la muestra medida y la estructura a partir de la cual se calculó el difractograma teórico. Sin embargo, también es posible que haya presencia de ácido Maleico libre.

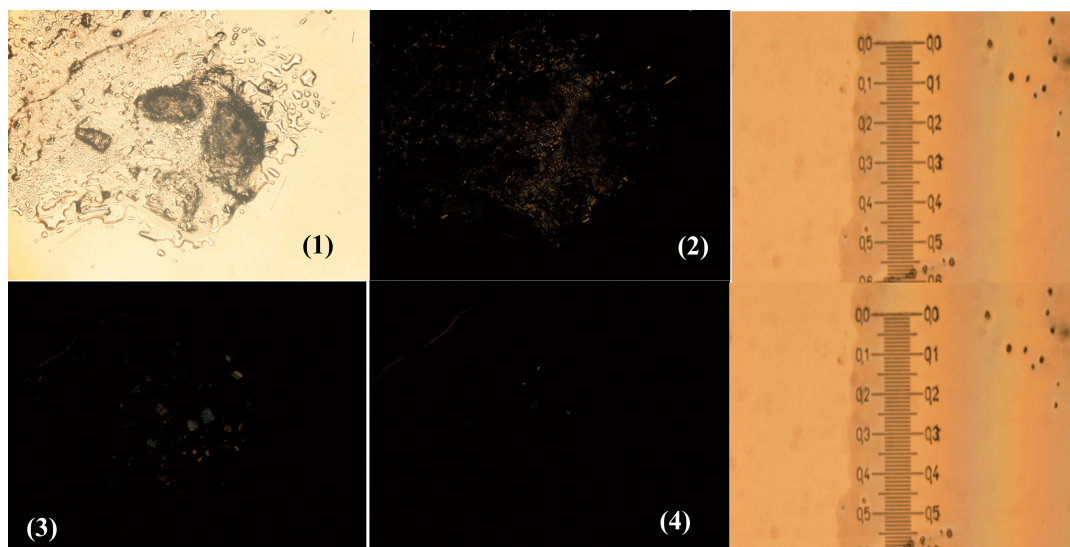


FIGURA 5.23: (1) Muestra de lo obtenido al recrystalizar por evaporación lenta de una solución de Maleato de Pregabalina forma II en agua (2) Misma muestra observada por polarización cruzada a 30°C. (3) Misma muestra a 70°C (4) Misma muestra a 123°C

En la base de datos se han encontrado dos estructuras distintas de ácido Maleico (MALIAC13¹⁴⁸, MALIAC14¹⁴⁹)¹¹⁴. Los picos de Bragg principales en dicha estructura se encuentran en 28° y 29° respectivamente. La presencia de ácido Maleico cristalino en pequeñas proporciones podría explicar las diferencias observadas.

Para la forma cristalina MALIAC14 se han reportado puntos de fusión entre 130°C y 145°C¹⁵⁰ por lo que de las observaciones de microscopía óptica podría descartarse la presencia de dicha forma cristalina. En cuanto a la forma cristalina MALIAC13, quienes reportaron la estructura no pudieron volver a obtener cristales de dicha forma¹⁴⁸. Aunque posteriormente se han encontrado métodos para obtener dicha forma cristalina¹⁵¹, no se han encontrado reportes de su temperatura de fusión. Sin embargo, cálculos de DFT han sugerido una muy pequeña diferencia de energía entre ambas estructuras^{148,151}, por lo que es esperable que dicha estructura tenga un punto de fusión similar a la forma MALIAC14, en cuyo caso las mediciones de microscopía óptica realizadas descartan la posibilidad de que se encuentre ácido Maleico libre en la muestra.

A partir del análisis anterior no es posible determinar la temperatura de fusión de la forma II del Maleato de Pregabalina. Los estudios térmicos de TG y DTA no fueron posibles de realizar por la pequeña cantidad de muestra cristalina obtenida, dentro de una gran cantidad de material amorfo.

En general los métodos de recrystalización de las sales no han dado muestras de alta pureza, lo que dificulta obtener conclusiones a partir de los análisis térmicos.

5.4. Aspectos estructurales de cocrystalos de Pregabalina

La tabla 5.10 se muestran los resultados de las mediciones de SC-XRD para los cocrystalos con ácido Octanoico (PGB:8, estructura I), ácido Decanoico (PGB:10, estructura II) y ácido Dodecanoico (PGB:12, estructura III) como coformadores en proporción 1:1. Los cristales utilizados en dichas mediciones se obtuvieron mezclando

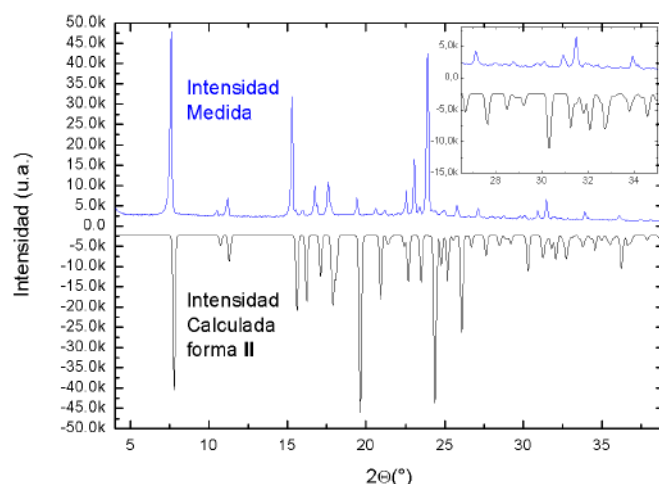


FIGURA 5.24: En los valores positivos del eje de intensidad se muestra el difractograma medido de la muestra de Maleato de Pregabalina recristalizado en agua (forma II). En el eje negativo se muestra el difractograma calculado para la forma II de Maleato de Pregabalina. Las pequeñas diferencias podrían ser explicadas por la presencia de ácido Maleico libre cristalino o por las diferencias de temperatura en ambos difractogramas.

en una proporción molar 1:1 Pregabalina y el ácido graso en una solución de Etanol a temperatura ambiente. Para mejorar la disolución se agitó la solución con un agitador magnético durante 10 minutos, hasta que la misma se observó homogénea. Luego se dejó evaporar dicha solución a temperatura ambiente, obteniéndose cocrisales de Pregabalina con los distintos coformadores. Los resultados obtenidos son similares a los ya reportados en la patente de Laboratorios del Dr. Esteve, S.A.¹³⁸. Es notable la similitud de los parámetros **a** y **b** con los que se observan en Pregabalina libre así como la constancia del grupo espacial $P2_12_12_1$, reflejo de que las interacciones entre las moléculas de Pregabalina son similares en estas estructuras y en las de Pregabalina libre.

Otro punto en común entre estas estructuras y la estructura de Pregabalina libre es la similitud en la conformación de la molécula de Pregabalina. Los ángulos torsionales adquieren valores similares a los que se muestran de la estructura de Pregabalina libre en la tabla 5.8, siendo la mayor diferencia observada el ángulo torsional O1-C1-C2-C3 en la estructura II ($-9^\circ \pm 1^\circ$). Por otra parte, en las estructuras I, II y III, las cadenas alifáticas de los coformadores se alinean aproximadamente al eje **c** en ambos sentidos, en forma similar a lo que sucedía con el grupo isobutil en la estructura de Pregabalina.

En la figura 5.25 se muestra la unidad asimétrica de la estructura III, con el plano medio de la cadena alifática marcada en rosa. Las etiquetas de los átomos de ácido Dodecanoico es similar a la usada para los ácidos Octanoico y Decanoico en las estructuras I y II respectivamente. (C9 es el átomo del grupo carboxílico y la numeración crece al recorrer la cadena alifática). Las cadenas alifáticas tienden a orientarse aproximadamente en la dirección **c**.

Debido a esta orientación de las cadenas alifáticas se observa un incremento del parámetro **c** con respecto a la estructura de Pregabalina libre. Como la orientación del ácido es similar en las tres estructuras, con el aumento de tamaño del coformador

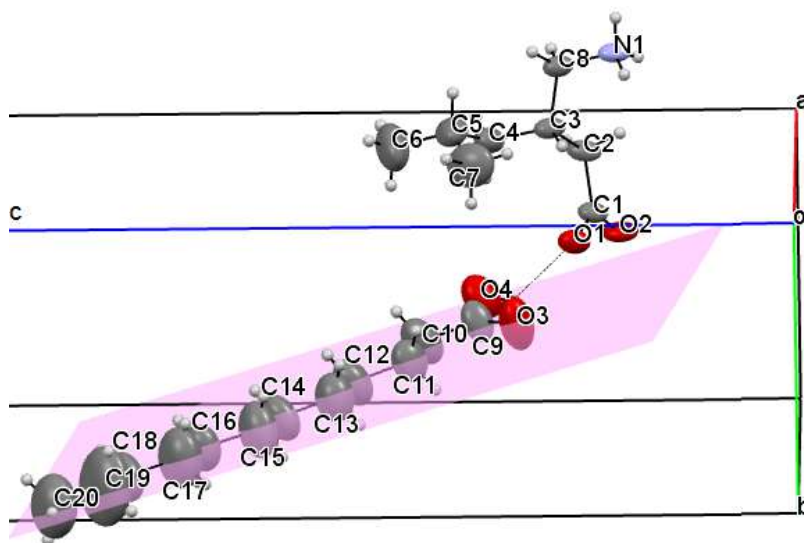


FIGURA 5.25: Unidad asimétrica correspondiente a la estructura **III**. En rosa se marca el plano medio de la cadena alifática del ácido Dodecanoico. En línea punteada se marca el puente hidrógeno O4-H4...O1

también incrementa el parámetro **c**. Algo similar sucede con el parámetro **b**, aunque sorprendentemente el parámetro **a** de la estructura **I** es mayor al parámetro **a** de la estructura **II**. La estructura **III** mantiene el mayor tamaño de parámetro **a** como puede verse en la tabla 5.10.

Estos cocrystal obtenidos presentan un empaquetamiento cristalino similar al cocrystal de Pregabalina con ácido Mándelico. Las interacciones entre Pregabalinas son preservadas en forma similar a lo observado en Pregabalina libre (ver figura 5.2), mientras que la interacción con el coformador se da por interacciones O4-H4...O1 como se muestra en la figura 5.25. Se observó que en estas estructuras la distancia O4...O1 del enlace puente hidrógeno es similar entre ellas (2.640(7) Å, 2.65(2) Å y 2.642(9) Å para las estructuras **I**, **II** y **III** respectivamente), aunque el ángulo disminuye de 172° en la estructura **I** a 126° en la estructura **III**, valiendo 131° en la estructura **II**. Como este ángulo depende de la posición del hidrógeno, es arriesgado concluir sobre el comportamiento del mismo en las distintas estructuras, pero teniendo en cuenta esto, se puede observar la tendencia del ángulo de enlace a disminuir al tener ácidos grasos de mayor cantidad de carbonos como coformador. Por otra parte, se ha observado que en condición ambiente, la muestra de **III** convierte a Pregabalina libre, mientras que en la de **II** presenta cristales de estequiometría diferente que se describirán posteriormente (estructura **VIII**). La estructura **I** se la ha observado estable en el transcurso de varios meses. Especulativamente, se puede suponer que el debilitamiento del enlace O4-H4...O1 entre el ácido y la Pregabalina debido al alejamiento del ángulo de los 180° hace que las estructuras **II** y **III** sean más inestables que la estructura **I**.

Por otra parte, es notable el hecho de que estos cristales en forma similar al monohidrato de Pregabalina, muestran deformación elástica perpendicular al eje **c**. Sin embargo, en este caso la deformación no es plástica como en el caso del monohidrato. Estos cristales crecen poco en la dirección **c**, por lo que es difícil colocarlos de forma tal que se les pueda aplicar una tensión paralela a dicho eje. Es por esta razón que no se pudo registrar el fenómeno. Una vez deformado, el cristal vuelve a su posición de equilibrio lo que dificulta registrar el fenómeno.

Datos	PGB:8 I	PGB:10 II	PGB:12 III
Fórmula Química	C8 H17 N1 O2:C8 H16 O2	C8 H17 N1 O2:C10 H20 O2	C8 H17 N1 O2:C12 H24 O2
M_r	303.43	331.48	359.54
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$
Temperatura de medición	27(2)°C	27(2)°C	27°C
a,b,c (Å)	6.6139(5), 7.7706(6), 37.099(3)	6.5756(14), 7.7767(15), 40.927(8)	6.742(2), 7.7773(8), 43.959(12)
Volumen (Å ³)	1906.6(3)	2092.8(7)	2304(1)
Z	4	4	4
Z'	1	1	1
Densidad (g/cm ³)	1.057	1.052	1.037
Radiación	MoK $_{\alpha}$, 0.7107 Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107 Å	MoK $_{\alpha}$, 0.7107 Å
μ (mm ⁻¹)	0.074	0.073	0.070
Reflexiones medidas, observadas e independiente	59869, 3912, 3362	9293, 3489, 2250	16147, 4151, 2065
R_{int}	0.0266	0.0795	0.1563
$\sin(\theta)/\lambda_{max}$ (Å ⁻¹)	0.625	0.602	0.600
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.0876, 0.2310, 1.109	0.1687, 0.4379, 1.667	0.1073, 0.2204, 1.040
# de parámetros	195	213	231
# de restraints	0	0	0
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e/ Å ³)	0.23, 0.13	0.37-0.37	0.20-0.23

TABLA 5.10: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de Pregabalina con ácidos grasos como coformadores y estequiometría 1:1 obtenidos a temperatura ambiente

Los restantes cocristales con estequiometría 1:1 obtenidos se obtuvieron con ácido *trans*-Cinámico (estructura **IV**), con ácido Benzoico (estructura **V**) y con ácido Crotónico (estructura **VI**) como coformadores. En todos estos casos se realizó una solución con Etanol y Agua como solventes donde se disolvió Pregabalina y el correspondiente ácido en proporción molar 1:1. Estas soluciones fueron agitadas con agitador magnético a 50°C durante algunos minutos hasta observar que la solución es homogénea. Finalmente se dejó la solución en evaporación lenta hasta obtener los cristales correspondientes a cada una de las estructuras.

Estos muestran características similares en su empaquetamiento cristalino. Los ejes cristalinos **a** y **b** son similares a lo observado en Pregabalina libre mientras que para el caso del ácido *trans*-Cinámico y del ácido Benzoico el anillo aromático se orienta en ambos sentidos del eje **c**. En el caso del ácido Crotónico lo mismo sucede con el Metil terminal. El cocrystal con el ácido Crotónico presenta dos diferencias con los anteriores: cristaliza en el grupo $P2_1$ y tiene dos moléculas de ácido Crotónico y dos moléculas de Pregabalina en la unidad asimétrica. En este aspecto es similar al cocrystal con ácido Mandélico ya reportado. En la tabla 5.11 se muestran los resultados para las estructuras obtenidas en estos 3 cocristales.

La conformación de la molécula de Pregabalina es similar a la observada en la estructura de Pregabalina libre en las estructuras **IV** y **V**. La mayor diferencia observada es el ángulo N1-C8-C3-C4 en la estructura **IV** que toma el valor de 171.0(3)°. La estructura **VI** presenta mayores diferencias. Las moléculas de Pregabalina A y B no muestran diferencias significativas entre sí. Haciendo una superposición por cuadrados mínimos se obtuvo una buena coincidencia entre ellas con un error cuadrático medio de 0.0391Å y una desviación máxima de 0.0942Å. La coincidencia es aun mejor para las moléculas de ácido Crotónico que muestran un error cuadrático medio de 0.007Å con una desviación máxima de 0.0093Å. La mayor diferencia observada con la estructura de Pregabalina libre está en los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 y O2-C1-C2-C3 los cuales valen 169.3(3)° y -8.2(4)° respectivamente para las moléculas A y 169.5(3)° y -7.8(4)° para las moléculas B.

En todos los casos mencionados de cocristales se preservan las interacciones intermoleculares entre Pregabalinas similares a lo observado en Pregabalina libre, mientras que la interacción entre la Pregabalina y el ácido se da por medio de interacciones O4-H4...O1. Las distancias O4...O1 son distintas a las observadas en las estructuras **I**, **II** y **III**. En la estructura **IV** dicha distancia es de 2.601(7)Å y forma un ángulo de 164.8°. La estructura **V** tiene una distancia levemente mayor de 2.614(5)Å y un ángulo de enlace de 169.2°. Tampoco se han encontrado diferencias significativas entre las moléculas A y B en los enlaces puente hidrógeno de la estructura **VI**. La distancia O...O observada es de 2.635(3)Å y 2.629(4)Å para las moléculas A y B respectivamente. Los ángulos de enlace son de 167.4° y 170° respectivamente. En estas últimas tres estructuras si se aprecian diferencias en las longitudes de enlace O4...O1 entre el ácido y la Pregabalina, siendo menor la variación del ángulo del mismo.

Por medio del calentamiento de la estructura **I** hasta 70°C a 1° $\frac{C}{min}$ y el posterior enfriamiento a 27°C se obtuvo el cocrystal con estequiometría 2:1(PGB2:81, estructura **VII**). La mitad de las moléculas de ácido Octanóico se desprende del material en una transición monocristal-monocristal. Esta estructura presenta dificultades en su refinamiento, puesto que a pesar de observarse un $R_{int} = 0.0685$, no se pudo refinar bien la estructura, obteniéndose $R_1 = 0.1819$. La estructura mantiene similares parámetros de red que la estructura **I** excepto por el eje **c** que disminuye a 27.742(3)Å. Por otra parte la simetría cambia, el eje 2_1 paralelo a **a** desaparece en esta estructura, y es reemplazado por un eje de orden 2. En la unidad asimétrica la molécula se encuentra desordenada en dos posiciones vinculadas por dicho eje de orden 2.

Datos	Pregabalina/ácido <i>trans</i> -Cinámico IV	Pregabalina/ ácido Benzoico V	Pregabalina/ácido Crotónico VI
Fórmula Química	C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂ :C ₉ H ₈ O ₂	C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂ :C ₇ H ₆ O ₂	C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂ :C ₄ H ₆ O ₂
M_r	307.38	281.34	245.31
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$	Monoclínico, $P2_1$
Temperatura de medición	20(2)°C	20(2)°C	-123(2)°C
a,b,c (Å)	6.4559(9), 7.7642(12), 34.794(7)	6.6037(4), 7.7157(4), 31.831(2)	7.6467(5), 6.4446(5), 28.908(2)
β (°)	90	90	95.110(2)
Volumen(Å ³)	1744.0(5)	1621.86(15)	1418.95(17)
Z	4	4	4
Z'	1	1	2
Densidad (g/cm ³)	1.171	1.092	1.148
Radiación	CuK $_{\alpha}$, 1.54184Å	MoK $_{\alpha}$, 0.71073Å	MoK $_{\alpha}$, 0.71073Å
μ (mm ⁻¹)	0.673	0.075	0.085
Reflexiones medidas,observadas e independiente	4482,2988, 1977	8967,3145, 2723	38565,7697, 6860
R_{int}	0.0366	0.0304	0.0411
$\sin(\theta)/\lambda_{m\acute{a}x}$ (Å ⁻¹)	0.615	0.615	0.725
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.0675, 0.1655, 1.030	0.0617, 0.0859, 1.094	0.0607, 0.1435, 1.158
# de parámetros	203	186	317
# de <i>restraints</i>	0	0	1
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e/ Å ³)	0.14,-0.12	0.33,-0.21	0.27,-0.28

TABLA 5.11: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de Pregabalina con ácido Benzoico, *trans*-Cinámico y Crotónico como coformadores y estequiometría 1:1

Haciendo uso de la utilidad para superponer estructuras del programa Mercury¹⁵², se observó que las moléculas en la unidad asimétrica de **I** superponen con la Pregabalina y el ácido Octanoico de la estructura **VII** con un RMS de 0.0245. Esto muestra que en la transición de **I** a **VII**, la estructura **I** permanece prácticamente intacta en **VII**. De las dos moléculas de ácido Octanoico por celda unidad que se encuentran enlazadas al plano de Pregabalinas, se ha perdido 1 molécula de ácido Octanoico de forma tal que el eje 2_1 desaparece y aparece un eje de orden 2 desplazado en la dirección **c** a la altura del átomo C12. Dicha molécula puede ligarse a cualquiera de los planos de Pregabalinas contiguos en la dirección **c**. En la figura 5.26 puede verse la comparación entre las estructuras **I** y **VII**. Se puede observar que las estructuras planares de Pregabalina se trasladan a través de **c** como consecuencia del eje 2 al pasar de la estructura **I** a la estructura **VII**. Esta particularidad hace que los grupos isobutiles de las Pregabalinas queden alineados y enfrentados, lo cual no ocurriría en otras estructuras. Es decir que hubo un desplazamiento relativo de $0.5\vec{b}$ entre dos planos de Pregabalinas consecutivos.

Las mayores diferencias conformacionales observadas en la estructura **VII** con respecto a la estructura **I** se encuentran en las distancias C1-O1 y C1-O2. Estas toman valores de 1.20(1) Å y 1.26(1) Å respectivamente en la estructura **VII**, levemente diferente a lo observado en la estructura **I** donde ambas distancias valen 1.254(5) Å. Como en el ácido Octanoico las distancias C9-O3 y C9-O4 son de 1.17(4) Å y 1.33(4) Å respectivamente en la estructura **VII**, es razonable suponer que no se produjo transferencia de carga en dicha estructura. En cuanto a la molécula de Pregabalina en esta estructura, la mayor desviación de un ángulo torsional con respecto al observado en Pregabalina libre son los ángulos C1-C2-C3-C8 de 164.9° y C4-C5-C6-C7 de 127(2)°. El enlace puente hidrógeno entre la molécula de Pregabalina con el ácido muestra una distancia O4...O1 que se mantiene en 2.65(3) Å. El ángulo de enlace obtenido es de 169°. Posiblemente otros estudios, o mejores datos sean necesarios para determinar mejor las características del enlace entre la Pregabalina y el ácido Octanoico en esta estructura.

Cocristales con estequiometría 2:1 también se han encontrado con ácido Decanoico y ácido Dodecanoico, aunque en estos casos se obtuvieron del mismo lote de muestra que las estructuras **II** y **III** respectivamente. Es por esto que se puede suponer que las estructuras **II** y **III** se degradan con el tiempo en condiciones ambiente. En el caso del cocrystal con ácido Decanoico y estequiometría 2:1 (PGB2:101, estructura **VIII**), se observan parámetros **a** y **b** similares a los de la estructura **II** mientras que el parámetro **c** pasa de 40.927(8) Å en **II** a 30.053(2) Å en **VIII**. También se observó en esta última estructura una pérdida de simetría con respecto a la estructura **II**. Esta estructura cristaliza en el grupo espacial $P2_1$, manteniendo el eje 2_1 paralelo a **b**. Como consecuencia de esto, en esta estructura hay dos Pregabalinas independientes por unidad asimétrica y una molécula de ácido. Dichas Pregabalinas superponen bien entre ellas al utilizar la herramienta de superposición de moléculas por cuadrados mínimos del Mercury¹⁵² con un RMS de 0.0607 y una desviación máxima de 0.1184 correspondiente a la diferencia entre los átomos O1A y O1B. Las principales diferencias entre las Pregabalinas A y B son las distancias C1-O1 y C1-O2. Mientras que en la molécula A dichas distancias toman valores 1.260(9) Å y 1.250(9) Å respectivamente, similar a lo observado en la estructura de Pregabalina libre, en la Pregabalina B dichas distancias valen 1.276(8) Å y 1.236(9) Å respectivamente.

Los enlaces puente hidrógeno de la estructura de Pregabalina libre (Tabla 5.1) tienden a estabilizar el eje 2_1 paralelo a **a**. En esta estructura los enlaces #1, #3 y #4 de la tabla 5.1 se forman entre las moléculas independientes de Pregabalina A y B. Como consecuencia existe un eje de Pseudosimetría 2_1 paralelo a **a** que relaciona

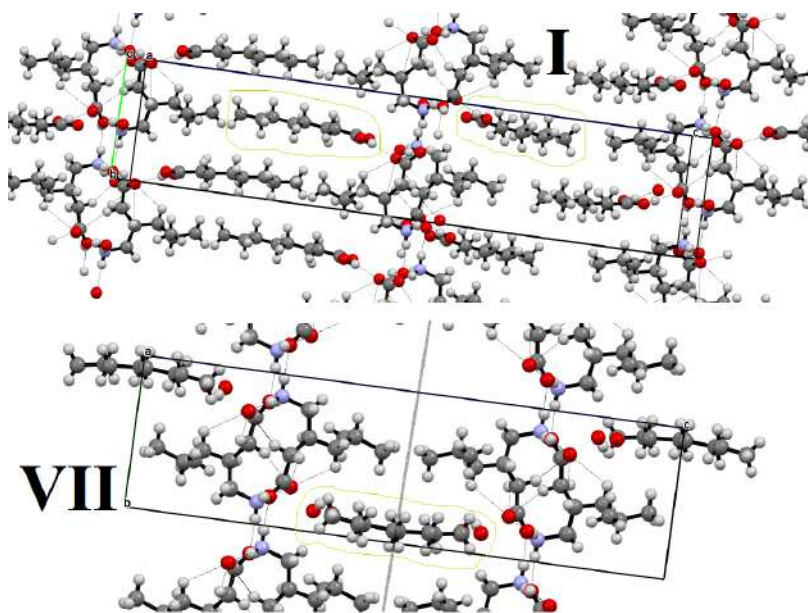


FIGURA 5.26: Arriba se muestra la estructura **I**, dos ácidos Octanoicos por celda unidad (marcados en verde) se enlazan a un mismo plano de Pregabalinas. Abajo se muestra la estructura **VII**, la pérdida de una de moléculas de ácido Octanoico de lugar a la aparición de un eje de orden 2 (marcado con la línea gris)

Pregabalinas A y B. Una diferencia notable entre las Pregabalinas A y B es que las Pregabalinas A muestran un enlace puente Hidrógeno con el ácido Decanoico O4-H4...O1A, mientras que las Pregabalinas B no se enlazan a ningún ácido. La distancia O4...O1A es de 3.31(2) Å, claramente menor a los 2.65(2) Å observado en **II**. El ángulo de este enlace es de 140°. En la figura 5.27 se muestra la superposición por cuadrados mínimos de las estructuras **II** y **VIII** realizadas con el programa Mercury¹⁵². El acuerdo es de RMS=0.71, y se observa que la molécula de Pregabalina A de la estructura **VIII** superpone a la Pregabalina de **II** en la mejor superposición de las estructuras. Al observar la superposición realizada, se observa que el ácido Decanoico en la estructura **VIII** está rotado 180° alrededor de su cadena alifática con respecto a lo observado en la estructura **II**. Esta rotación es responsable del alejamiento del átomo O4 con respecto al átomo O1, lo que produce el debilitamiento del enlace puente hidrógeno previamente descrito.

Por otra parte, se forma un aparente enlace O4-H4...N1B que no ha sido observado en otras estructuras. Dado el debilitamiento del enlace O4-H4...O1A, el enlace con el nitrógeno podría explicar la estabilidad de la estructura **VII**, aunque parece inusual que el nitrógeno protonado actué como aceptor. Más probable es que se produzca un desbalance de carga en el O4, debido al alejamiento del hidrógeno para formar el enlace con el O1. Como consecuencia de este desbalance, una interacción electrostática podría producirse con la amida protonada. La distancia N1B...O4 es de 3.13(1) Å, que estrictamente no es menor que la suma de los radios de Van der Waals, aunque es muy similar. Por otra parte, los enlaces a través del eje **b** #2 relacionan Pregabalinas idénticas y trasladan la estructura en dicha dirección.

En la figura 5.28 se muestran ambas estructuras en el plano (1,0,0), allí se ve claramente que la pérdida de 2 moléculas de ácido por celda unidad en la estructura **VII** con respecto a la estructura **II**, implica el acercamiento de dos planos consecutivos de Pregabalina, de forma tal que los ácidos Decanoico se ubican a ambos lados

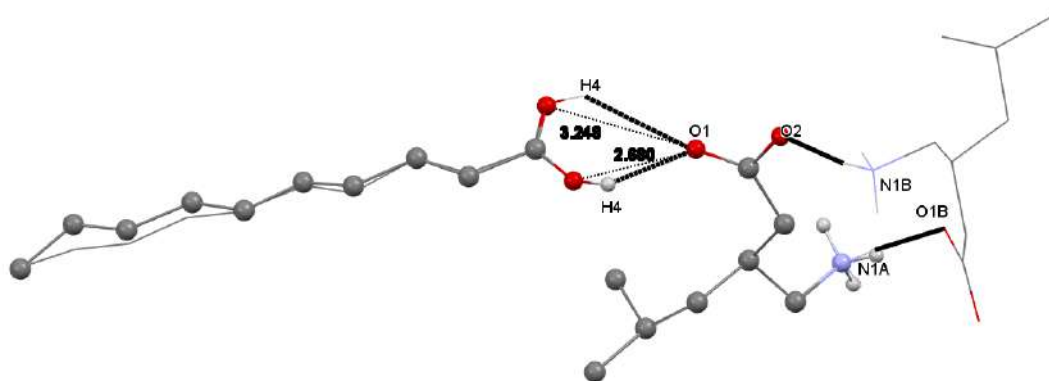


FIGURA 5.27: Superposición por cuadrados mínimos de las estructuras **II** y **VIII**. En la primera estructura se muestran los átomos como esferas, mientras que en la última solo se muestran los enlaces. Las líneas gruesas marcan los enlaces puente hidrógeno. Se observa que los grupos carboxílicos del ácido están rotados 180° en las distintas estructuras

de dichos planos en el eje *c*. Esto es diferente a lo observado en **VII**, donde las Pregabalinas y los ácidos forman una cadena alternada Pregabalina-ácido Octanóico-Pregabalina... en el eje *c*.

Como se comentó anteriormente, cristales de la estructura **VIII** se obtuvieron de la misma recrystalización en la que se obtuvo la estructura **II**. Sobre un cierto volumen de lo obtenido se realizó difracción de polvo observando la presencia de picos de Bragg correspondientes a ambas estructuras. El hecho de que los cristales tienen orientación preferencial dificulta el refinamiento de Rietveld, sin embargo en la figura 5.29 se muestra el difractograma experimental junto al ajuste realizado con la presencia de ambas formas cristalinas. El mismo no fue lo suficientemente bueno como para confirmar la proporción de ambas formas en la muestra.

A diferencia de las estructuras **VII** y **VIII** la estructura de Pregabalina y ácido Dodecanóico de estequiometría 2:1 (PGB2:121, estructura **IX**) fue obtenida una única vez, por casualidad, a partir de un lote donde se creía tener muestra de la estructura **III**. Es por esta razón que solo se realizó una única medición de un cristal a $-123(2)^\circ\text{C}$.

Se ha observado que la estructura **VIII** sufre una transición de fase a bajas temperaturas (ver sección **Polimorfismo en PGB2:101**), por lo cual es posible que la mala calidad de los datos de la estructura **IX** se deba a que haya sufrido una transición de fase similar que degradó la calidad del monocristal. A pesar de esto se pudo resolver la estructura, pero no se pudieron refinar los parámetros de desplazamiento anisotrópico. La estructura es triclinica y la similitud de los ejes *a*, *b* y *c* con los de las estructuras **VII** y **VIII** es notable como se ve en la tabla 5.12.

En la unidad asimétrica de la estructura **IX** hay cuatro moléculas de Pregabalina y dos de ácido Dodecanóico. La molécula de ácido A se encuentra enlazada a la molécula de Pregabalina A por medio de un enlace puente hidrógeno O4A-H4A...O1A. De la misma forma el ácido B se encuentra enlazado a la Pregabalina C por medio del enlace O4-H4B...O1C. Las moléculas de Pregabalina B y D no se encuentran enlazadas a ningún ácido. La superposición por cuadrados mínimos de las moléculas de Pregabalina hecha con Mercury¹⁵² muestra que todas las moléculas de Pregabalina tienen gran similitud conformacional entre sí. Las de menor similitud son las Pregabalinas A y B (RMS=0.0741) mientras que la de mayor similitud entre sí

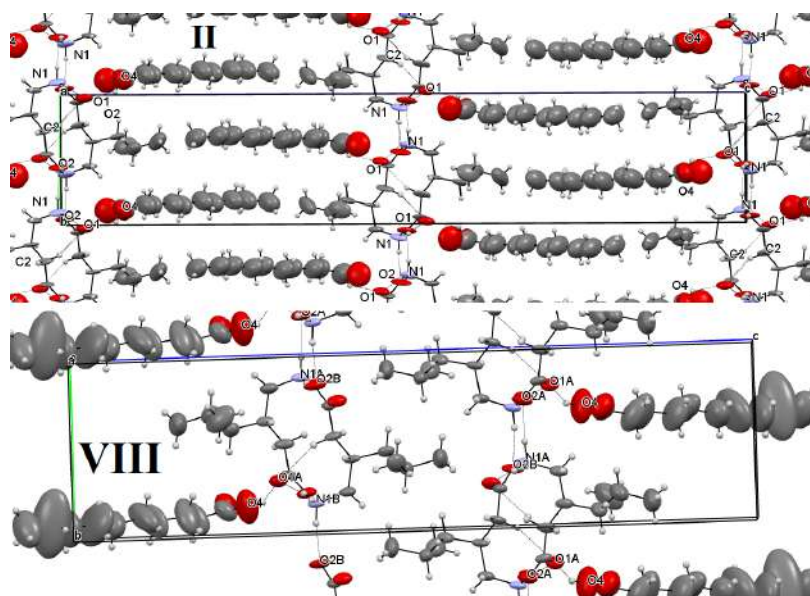


FIGURA 5.28: Arriba se muestra la estructura **II**, los ácidos Decanoico se ubican en ambos sentidos del eje *c* con respecto al plano de Pregabalinas. Abajo se muestra la estructura **VIII**, la pérdida de una de las moléculas de ácido Decanoico acerca los planos de Pregabalina.

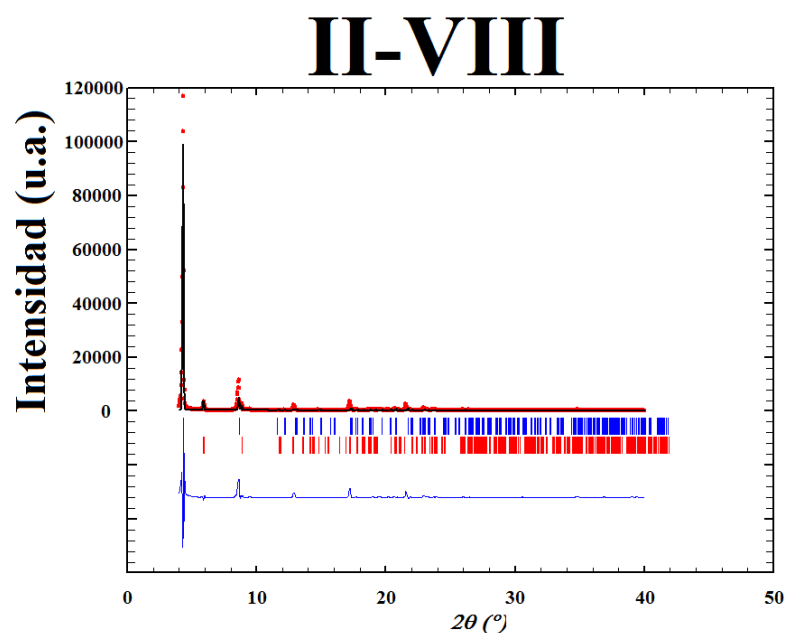


FIGURA 5.29: Difractograma de polvo de la muestra que contiene cristales de **II** y **VIII**. En azul se marcan las posiciones de los picos correspondientes a la forma **II** y en rojo los que corresponden a la forma **VIII**

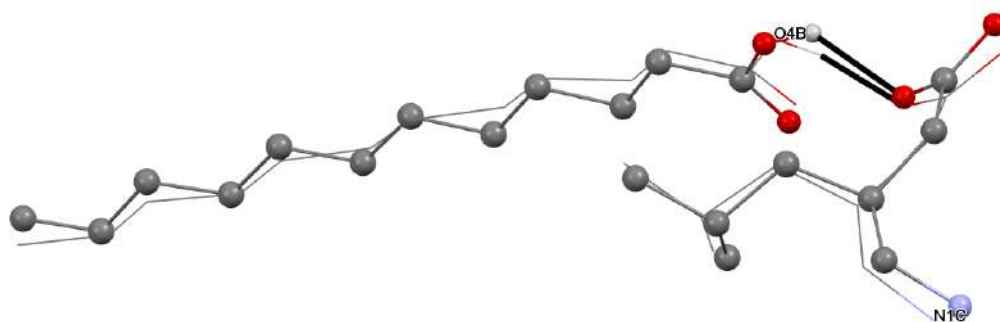


FIGURA 5.30: Superposición por cuadrados mínimos de las estructuras **III** y **IX**. En la primera estructura se muestran los átomos como esferas, mientras que en la última solo se muestran los enlaces. Las líneas gruesas marcan los enlaces puente hidrógeno. Las mayores diferencias se observan en la cadena alifática del ácido Dodecanoico

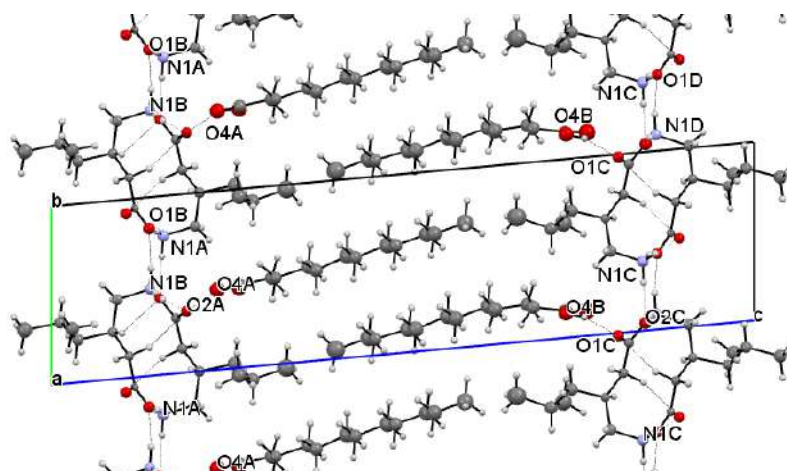


FIGURA 5.31: Esquema del empaquetamiento cristalino en la estructura **IX**.

son las Pregabalinas B y D (RMS=0.0388). Mayores son las diferencias al superponer las moléculas de ácido que tienen un RMS=0.3393. La superposición por cuadrados mínimos de la estructura **IX** con la estructura **III** muestra sus mayores diferencias en las cadenas alifáticas de las moléculas de ácido. La superposición del ácido de la estructura **III** con las moléculas de ácido A o B de la estructura **IX** da un acuerdo entre las estructuras similar (RMS=0.361 y RMS=0.342 respectivamente). En la figura 5.30 se muestra el gráfico con el resultado de dicha superposición.

En cuanto a la ubicación de los ácidos y las Pregabalinas, la estructura se asemeja a la estructura **VIII**, donde dos planos de Pregabalinas se acercan y los ácidos se ubican en ambos sentidos del eje c. En la figura 5.31 se muestra el empaquetamiento de dicha estructura. En la tabla 5.12 se muestra el resumen de los resultados experimentales para estas tres estructuras.

En el caso del ácido Dodecanoico no fue posible obtener un monocristal del cocrystal con Pregabalina de estequiometría 2:1 por tratamiento térmico de un monocristal de estructura **III** ya que si bien en la misma se observa una transición de fase alrededor 65°C, dicha transición destruyó el monocristal en múltiples cristales más

pequeños. Sin embargo, debido a la similitud estructural de la estructura **IX** con estructuras de PGB2:101 es posible suponer que la estructura **III** también transiciona a una estructura de diferente estequiometría a 65°C, pero otros estudios serán necesarios para corroborarlo.

Datos	PGB2:81 VII	PGB2:101 VIII	PGB2:121 IX
Fórmula Química	2(C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂):C ₈ H ₁₆ O ₂	2(C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂):C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2(C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂):C ₁₂ H ₂₄ O ₂
M_r	461.65	490.71	-
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Ortorrómbico, $P2_122_1$	Monoclínico, $P2_1$	Triclinico, $P1$
Temperatura de medición	27(2)°C	20(2)°C	-123(2)°C
a,b,c (Å)	6.641(2), 7.781(2), 27.773(8)	6.5534(5), 7.7974(6), 30.053(2)	6.6641(9), 7.7334(11), 30.502(4)
α, β, γ	90 90 90	90 95.119(4) 90	84.759(8) 87.828(8) 89.786(7)
Volumen	1435.2(7)	1529.6(2)	1564.2(4)
Z	2	2	2
Z'	0.5	1	2
Densidad (g/cm ³)	1.068	1.065	1.101
Radiación	MoK $_{\alpha}$, 0.71073Å	MoK $_{\alpha}$, 0.71073Å	MoK $_{\alpha}$, 0.71073Å
μ (mm ⁻¹)	0.075	0.074	0.076
Reflexiones medidas, observadas e independiente	15971, 2611, 1973	34106, 5558, 4151	40437, 11071, 5762
R_{int}	0.0687	0.0970	0.2309
$\sin(\theta) / \lambda_{max}$ (Å ⁻¹)	0.696	0.603	0.628
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.1763, 0.4604, 1.978	0.1074, 0.2892, 1.084	0.1844, 0.4178, 1.372
# de parámetros	158	311	305
# de restraints	0	1	3
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e/Å ³)	0.43, -0.53	0.38, -0.24	1.09, -0.81

TABLA 5.12: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de Pregabalina con ácidos grasos como coformadores y estequiometría 2:1

5.5. Estudios térmicos de cocrisales de Pregabalina

Para todos los cocrisales con estequiometría 1:1 se realizaron mediciones de TG y DTA. En el gráfico 5.32 se muestran los resultados obtenidos para los cocrisales con ácido *Trans*-Cinámico (en estructura **IV**), Benzoico (en estructura **V**) y Crotónico (en estructura **VI**). No se observan eventos térmicos antes de las respectivas pérdidas de masa. El perfil de la curva de pérdida de masa tiene similitud con el de Pregabalina libre en los dos primeros casos, siendo más lento para el caso del ácido Crotónico.

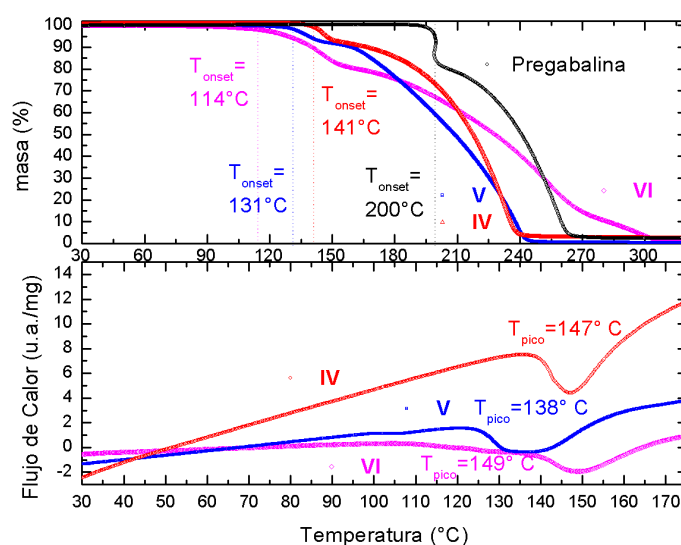


FIGURA 5.32: Gráficos de TG y DTA de las muestras de cocrystal en estructuras IV V y VI

Por microscopia óptica se observó que alrededor de 140°C los cristales de V sufren una transición sólido-sólido, donde se observa una sublimación parcial de la muestra. En la figura 5.33 se muestran las imágenes de dicho proceso. Como el punto de fusión informado para ácido Benzoico es de 123°C , es razonable suponer que ocurre una segregación del ácido Benzoico y la Pregabalina, permaneciendo esta última en estado sólido. Desde el punto de vista estructural, es posible pensar en esta segregación a partir de la similaridad en el empaquetamiento en el plano (0,0,1) con el de Pregabalina libre. Una vez que sublima el ácido, estos planos se acercan y se unen por interacciones de Van der Waals. Un comportamiento similar ha sido observado para los eventos térmicos de los compuestos IV y VI. Además, se ha observado que la muestra de VI transiciona a cristales de Pregabalina libre, en el lapso de un mes expuestos a condiciones ambiente.

En el caso de las muestras de PGB:8 (en estructura I), PGB:10 (en estructura II) y PGB:12 (en estructura III) se observan eventos térmicos previos a la pérdida de masa. En los casos de PGB:8 y PGB:10 la pérdida de masa comienza poco después de los 100°C mientras que en el caso PGB:12 comienza cerca de los 120°C . Previo a la pérdida de masa, los tres compuestos muestran eventos térmicos pequeños en la medición de DTA. Luego, los tres compuestos muestran un gran evento térmico alrededor de 145°C como se ve en la figura 5.34. Como se comentó en la sección anterior la muestra de PGB:10 contiene también muestra de PGB2:101 debido a la transformación espontánea que sufre PGB:10. En forma similar la muestra de PGB:12 puede contener cristales de Pregabalina libre dentro de la muestra.

Los eventos térmicos previos a la pérdida de masa fueron estudiados por DSC para los tres compuestos. Las mediciones se realizaron a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. En el caso de los compuestos PGB:8 y PGB:10 se realizó una isoterma a 20°C , luego se subió a 110°C (120°C para PGB:10 a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Finalmente se bajó la temperatura a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 20°C . (En el caso PGB:10 previamente se mantuvo la isoterma a 120°C por 5 minutos). Los experimentos se realizaron bajo un flujo de Nitrógeno de $10\text{ ml}/\text{min}$. Al calentar los cocrystal PGB:8 y PGB:10 se observa un comportamiento similar,

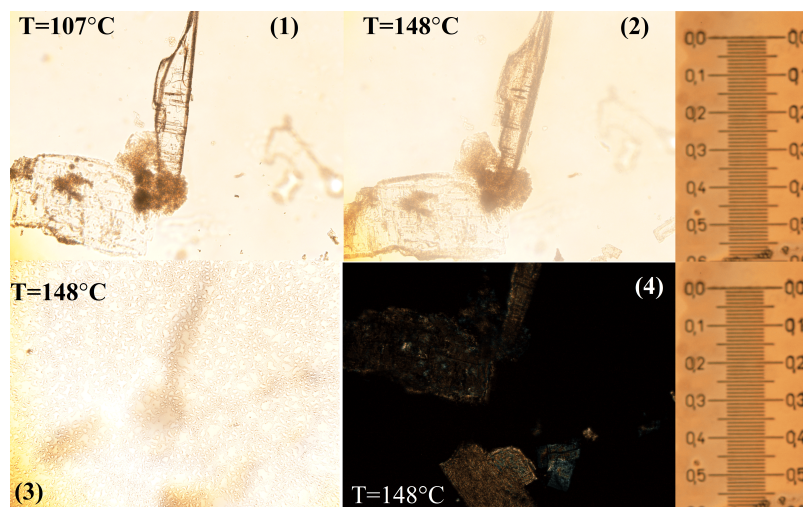


FIGURA 5.33: (1) Cristales del cocrystal de Pregabalina con ácido Benzoico (2) Mismos cristales a 148°C , se ve que los mismos han sufrido degradación. (3) Sobre la tapa superior de la platina calentadora se observan porciones de líquido. (4) Mismos cristales observados con polarizadores cruzados.

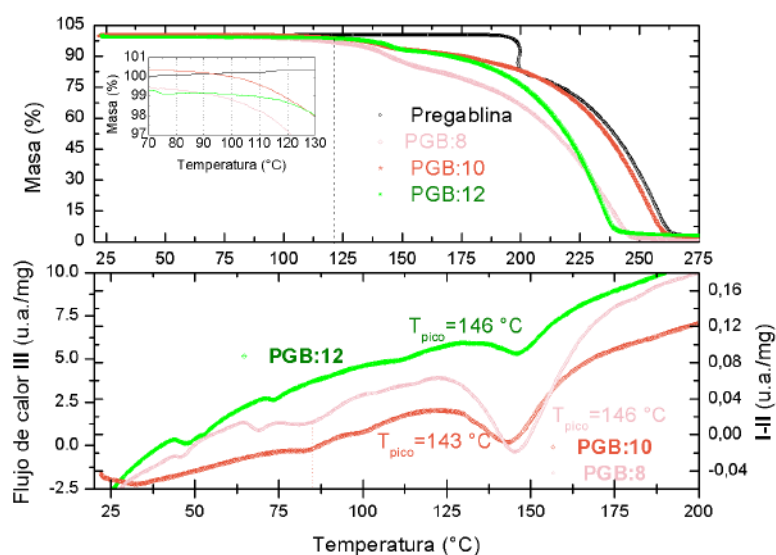


FIGURA 5.34: Gráficos de TG y DTA de los compuestos PGB:8,PGB:10 y PGB:12

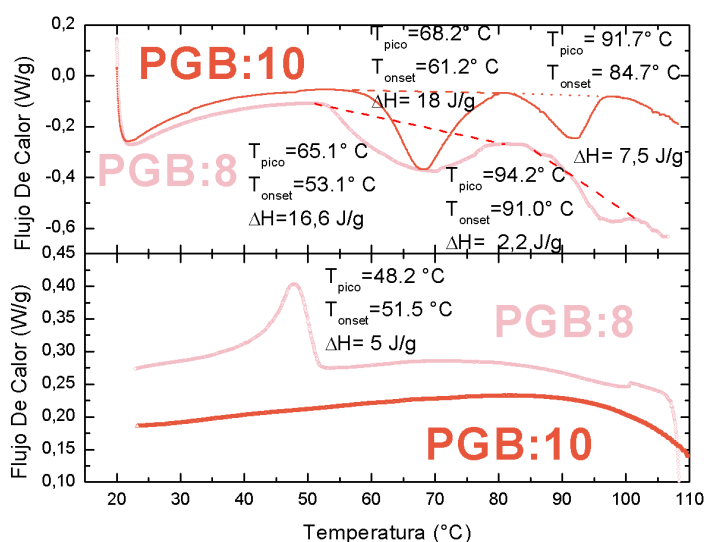


FIGURA 5.35: Comparación de experimento de DSC en las muestras PGB:8 y PGB:10. Arriba se muestra el calentamiento de la muestra, abajo el enfriamiento.

con una primer endoterma alrededor de 65°C seguido por un segundo evento alrededor de 90°C como se muestra en la figura 5.35. El posterior enfriamiento de la muestra PGB:8 exhibe una exoterma a 48°C , incompatible con la recrystalización del ácido que tiene punto de fusión a 17°C . Como el ácido Octanoico se encuentra en estado líquido alrededor de 48°C es posible pensar que existe una recombinación del cocrystal o alguna reacción química con la Pregabalina. Se requiere mayor estudio sobre este último evento para confirmarlo.

Intentos de realizar mediciones de DSC sobre la muestra PGB:12 fueron infructuosos ya que siempre se observó un gran evento térmico alrededor de 44°C probablemente correspondiente a la fusión del ácido Dodecanoico. Es posible que algún paso de la preparación de la muestra (como la compresión para cerrar el crisol donde se la deposita) induzca a la segregación del compuesto.

Los eventos térmicos de estos tres últimos cocrystal se estudiaron también por SC-XRD. En el caso de la muestra PGB:8 se tomó un cristal correspondiente a la estructura I y se procedió a tomar 24 imágenes a una temperatura fija, 12 con el detector centrado en $2\theta = 20^{\circ}$ y 12 con el detector centrado en $2\theta = -20^{\circ}$ y distinta posición del cristal (ϕ rotado 120° y ω rotado 10° con respecto a las primeras 12). Al finalizar dicha medición se subió la temperatura a $1^{\circ}\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{min}}$ volviendo a tomar la misma medición a una temperatura superior. De esta manera se obtuvieron los parámetros de celda en función de la temperatura. La transición del compuesto PGB:8 en la estructura I al compuesto PGB2:81 en la estructura VII se observó a los $(62.5 \pm 2.5)^{\circ}\text{C}$ y la transición de esta última estructura a la estructura de Pregabalina libre a los $(87.5 \pm 2.5)^{\circ}\text{C}$. Del estudio de los parámetros térmicos de la estructura I se observa que los parámetros de celda a y c tienen compresibilidad térmica negativa. El parámetro de celda restante tiene una compresibilidad térmica muy pequeña, lo que redundaría en que la estructura tiene en el rango de 0°C hasta 60°C una expansión térmica volumétrica negativa. Este comportamiento térmico es altamente inusual y se muestra en la figura 5.36.

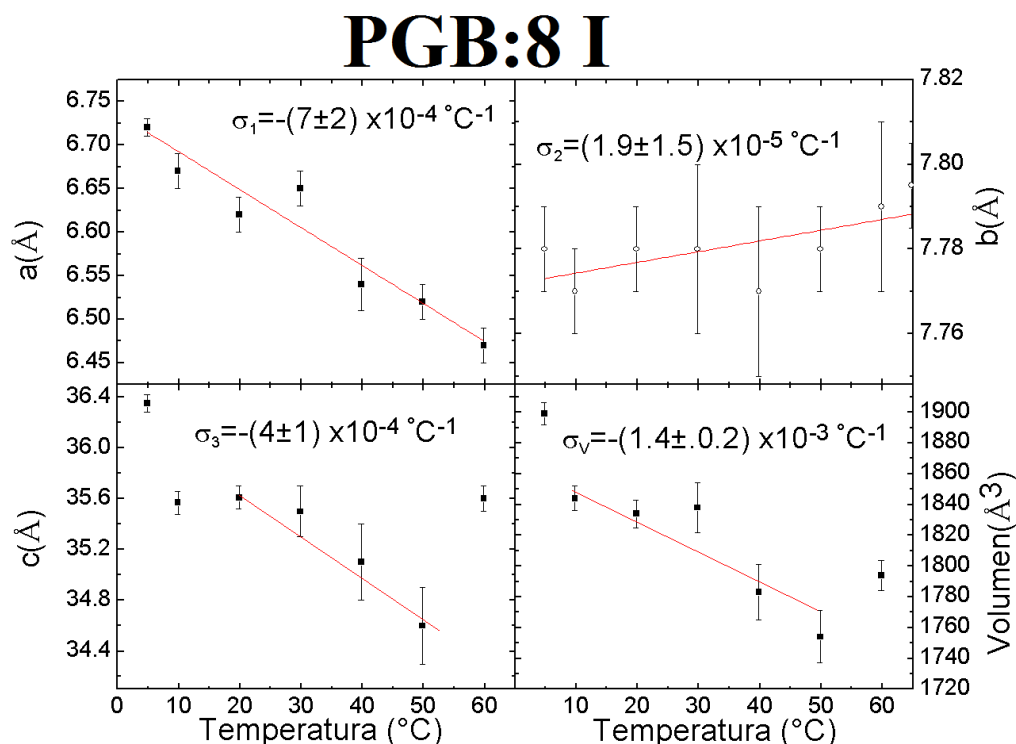


FIGURA 5.36: Evolución de los parámetros de red de la estructura I al incrementar la temperatura

La secuencia de imágenes de la misma posición del cristal y el detector a distintas temperaturas da cuenta de un cambio abrupto en la transición observada a 60°C. Sin embargo la interpretación de estas imágenes es compleja. En la figura 5.37 se observan dos posiciones distintas del cristal, con el detector centrado en $2\theta = 20^\circ$. Todas las imágenes tienen la misma escala de intensidad, donde negro es intensidad nula y el color blanco implica máxima intensidad. En las imágenes I, las cuales corresponden a una misma posición del cristal, se marca en verde una línea de haces difractados. En dicha línea, los haces se corresponden de abajo hacia arriba con las reflexiones $(-4,-4,-10)$ a $(-4,-4,-20)$ de la estructura I. Al incrementar la temperatura algunos de ellos se siguen observando a 60°C pero a 70°C los mismos han desaparecido. Esto está de acuerdo con el cambio del parámetro c observado en la figura 5.36. Por otra parte la reflexión indexada como $(-1,-1,4)$ disminuye su intensidad a 60°C y luego vuelve a recuperar intensidad a 70°C, aunque ahora indexa como $(-1,-1,5)$. La disminución de intensidad a 60°C puede deberse al desplazamiento de los átomos cerca de la transición, mientras que el posterior incremento se corresponde con la estabilización de la estructura VII. Los demás cambios observados también son consistentes con pensar que a 60°C el cristal presenta la estructura I. Sin embargo en la serie de imágenes II, las cuales corresponden a una posición del cristal distinta, se observa en la imagen a 70°C una línea de haces difractados que de abajo hacia arriba se indexan desde $(-2,-1,-5)$ a $(-2,-1,-20)$, correspondientes a la estructura VII (marcados en verde en la figura 5.37). En la imagen a 60°C se observan algunos de estos haces mientras que a 50°C donde el cristal mantiene la estructura I dichos haces no se observan. Cada imagen fue tomada durante 30 segundos, y transcurrieron 2 minutos entre que se tomó la imagen I y la imagen II. Antes de tomar la imagen I,

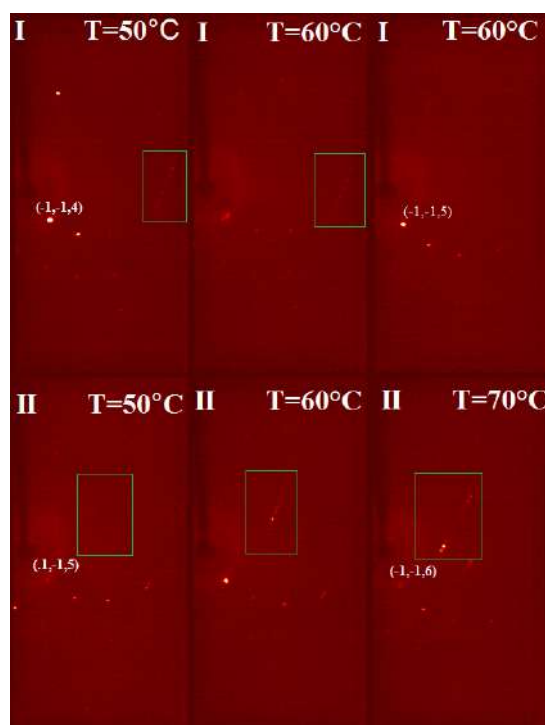


FIGURA 5.37: Imágenes de SC-XRD, las imágenes I fueron tomadas todas en la misma posición, al igual que las II que corresponden a una orientación distinta del cristal. A 50°C la celda medida corresponde a la estructura I mientras que a 70°C corresponde a la estructura VII

se tomaron otras imágenes por lo que el cristal estuvo a la misma temperatura durante al menos 9 minutos antes de que se tomó dicha imagen. Esto muestra que la transición de I a VII ocurre lentamente, consistente con el ancho pico endotérmico observado por DSC como se ve en la figura 5.35.

El comportamiento térmico anómalo de la estructura I durante el calentamiento no se observa en la estructura VII durante el posterior calentamiento. Todos los parámetros de expansividad térmica resultan positivos, aunque el parámetro α muestra una variación muy pequeña. En la figura 5.38 se muestran los resultados obtenidos para la evolución de los parámetros de red de la estructura VII en función de la temperatura. A partir de los 85°C se observa un cambio de comportamiento que estaría indicando la cercanía de una transición de fase, por lo que solo las primeras cuatro temperaturas fueron consideradas para el cálculo de la expansividad térmica.

No se ha observado coexistencia de fase entre la estructura VII y la estructura de Pregabalina libre en imágenes de SC-XRD a distintas temperaturas. En la medición de DSC 5.35 se observaba que este segundo evento térmico era más angosto que el correspondiente a la transición de I a VII, por lo que es esperable que ocurra en un tiempo menor. Posteriormente a dicha medición se volvió a bajar la temperatura a 27(2)°C, se tomó un conjunto de datos completo y se comprobó que la estructura corresponde a Pregabalina libre, aunque el cristal mostraba daños. Se obtuvo un valor de $R_{int} = 0.3612$ y tras el refinamiento $R_1 = 0.1249$. Todas las distancias $D_{...A}$ son similares a los valores reportados, aunque la desviación standard es mayor por la peor calidad de los datos. Esto muestra un deterioro de la calidad del monocristal.

Para el compuesto PGB:10, estructura II no se realizó un estudio detallado de los parámetros de celda en función de la temperatura, pero si se observó por SC-XRD que transiciona a PGB2:101, estructura VIII a los $(57 \pm 15)^\circ\text{C}$ y luego transiciona a

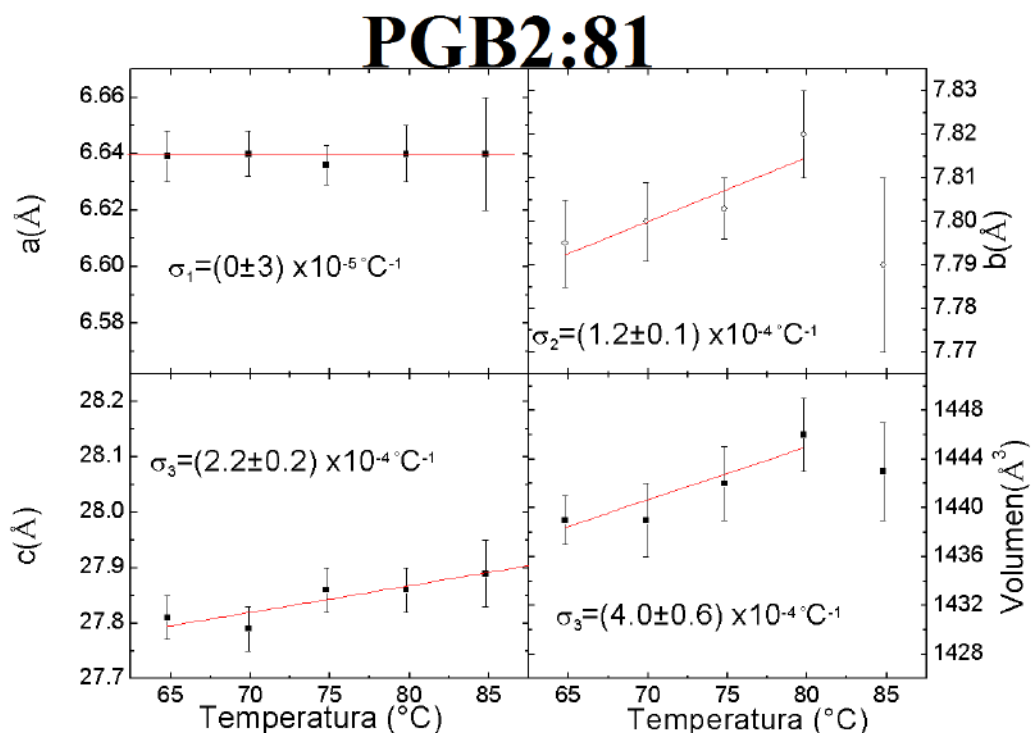


FIGURA 5.38: Evolución de los parámetros de red de la estructura VII al incrementar la temperatura

la estructura de Pregabalina libre. Tras calentar por encima de los 100°C se bajó la temperatura a $(-173 \pm 2)^\circ\text{C}$ y se tomó un conjunto de datos completos para resolver la estructura. En este caso se obtuvo un $R_{int} = 0.2331$ y se pudo resolver la estructura de Pregabalina libre, aunque no refinarla, lo que da cuenta del daño sufrido por el monocristal.

En el caso de los cristales de PGB:12, estructura III, se verificó que el monocristal se rompe alrededor de 65°C. Al intentar obtener celda en función de la temperatura, resulto difícil obtener un valor del parámetro *c* acorde al observado en la determinación de la estructura. Mejores mediciones, ya sea con mayor cantidad de reflexiones observadas, mayor distancia entre detector y muestra o una orientación del cristal más eficaz son necesarias para estimar dichos parámetros correctamente.

En la figura 5.39 se muestra el seguimiento de las transiciones de fase en cristales de PGB:12. A partir de los 50°C el comportamiento es similar al observado en cristales de PGB:8 y PGB:10. En las imágenes se observa cierto movimiento de los cristales a distintas temperaturas. Sutiles diferencias se observan alrededor de 60°C y alrededor de 100°C. El resultado final muestra que el tratamiento térmico mantiene el estado cristalino hasta 110°C Posteriormente a la medición se observaron gotas en la tapa de la platina, posiblemente correspondiente al ácido Dodecanoico líquido segregado de los cristales, posiblemente de Pregabalina libre.

5.6. Polimorfismo en PGB:8

Las mediciones de DSC de la muestra PGB:8, estructura I muestran una gran complejidad al disminuir la temperatura. En la figura 5.40 se muestra el resultado de

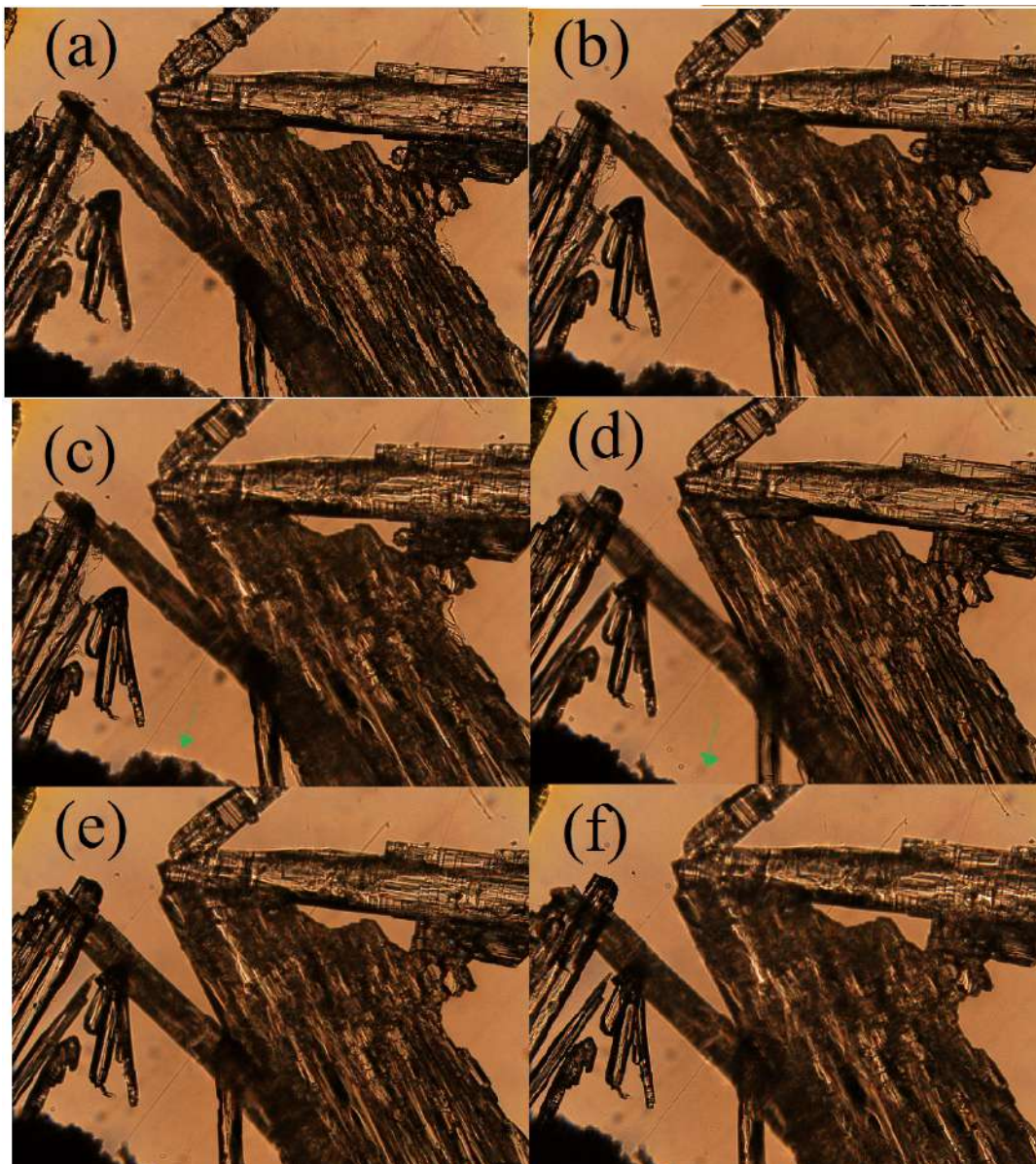


FIGURA 5.39: (a) Cristales de PGB:12, estructura **III** a 20°C (b) Mismos cristales a 40°C (c) Mismos cristales a 50°C. Leves movimientos de los cristales se observaron (d) Mismos cristales a 60°C. Se observan movimientos de los cristales, la flecha verde marca un conjunto que se observó a 50°C y no se observa a esta temperatura. (e) Mismos cristales 10 segundos después (61°C). Los movimientos de los cristales son mayores (f) Cristales a 110°C, mantienen el estado cristalino aunque el deterioro de los mismos es mayor

una medición al mantener una isoterma a 20°C durante 5 minutos y luego disminuir la temperatura a 10°C/min hasta -130°C. Al llegar a esta temperatura se mantuvo una isoterma durante 5 minutos y luego se calentó la muestra hasta los 110°C a 10°C/min, el resultado de esta medición se muestra en el mismo gráfico.

Al comenzar la medición, la muestra se encuentra en la forma I. Al disminuir la temperatura se observa una transición exotérmica de primer orden a los -21°C, la cual posee una variación de Entalpía de $\Delta H = 9.7 \frac{J}{g}$. Al seguir disminuyendo la temperatura, se observa un cambio en el calor específico, compatible con una transición de segundo orden a -70°C. Al continuar la disminución de temperatura, se observa un evento exotérmico ancho a -101°C, donde la variación de Entalpía de este evento es mucho menor que el de -21°C siendo de $\Delta H = 3.2 \frac{J}{g}$. Al volver a calentar la muestra desde los -130°C, se observa un cambio abrupto del calor específico a partir de los -113°C y antes de que el calor específico estabilice en un valor se observa un evento endotérmico con temperatura de onset -107°C y una temperatura de pico en -101°C. Por los valores de temperatura y la magnitud de la variación de entalpía se puede estimar que este proceso es la reversión del observado al disminuir la temperatura a -101°C, aunque en la disminución de temperatura no se observa un cambio tan grande de calor específico como si se observa en el aumento de temperatura. Posteriormente se mostrará que esta transición corresponde a un cambio de fase entre dos estructuras cristalinas de PGB:8, lo cual explica el evento en la curva de calorimetría como un transición de primer orden entre estas dos estructuras. Sin embargo no queda en claro el motivo para el cambio abrupto de calor específico al calentar la muestra.

Al continuar subiendo la temperatura de la muestra, se vuelve a observar un cambio del calor específico a -84°C, seguido de un segundo cambio abrupto de calor específico a -70°C. El segundo cambio de calor específico corresponde a la reversión de la transición observada a esa misma temperatura al enfriar la muestra. El hecho de que la transición consista en un cambio abrupto del calor específico muestra que la transición de fase es de segundo orden. Las mediciones de SC-XRD que se muestran posteriormente revelan que esta transición de fase corresponde a la transición entre dos estructuras de PGB:8, aunque no se observaron cambios significativos que expliquen el significado del cambio a -84°C. Durante el posterior calentamiento continúa disminuyendo el calor específico hasta los -4°C, donde hay un evento endotérmico. Este proceso parece ser la reversión del pico observado en el enfriamiento a -22°C. SC-XRD no muestra grandes cambios estructurales al variar la temperatura alrededor de esta transición, ya que los parámetros de red obtenidos antes y después de la misma son muy similares y el grupo espacial para ambas estructuras es el mismo.

Los eventos observados a 52°C y 90°C implican la transición de PGB:8 a PGB2:81 y de PGB2:81 a Pregabalina libre respectivamente, como fue analizado previamente.

Para determinar la estructura de cada uno de los polimorfos por SC-XRD, se tomó un monocristal de la estructura I, se lo colocó en el difractómetro y se disminuyó la temperatura a -173(2)°C. Posteriormente se procedió a realizar una colección de datos completa. Luego se aumentó la temperatura tomando algunos frames a temperaturas intermedias para poder determinar la celda, hasta llegar a los -80(2)°C donde se volvió a tomar un conjunto de datos completos. El mismo procedimiento se repitió hasta llegar a -53(2)°C donde se volvió a tomar el conjunto de datos completos y finalmente se volvió a repetir hasta llegar a 27°C donde se tomó un conjunto de datos completos y se volvió a obtener la estructura I. En esta última estructura, no se observan grandes diferencias con la estructura medida a -53(2)°C, pero en

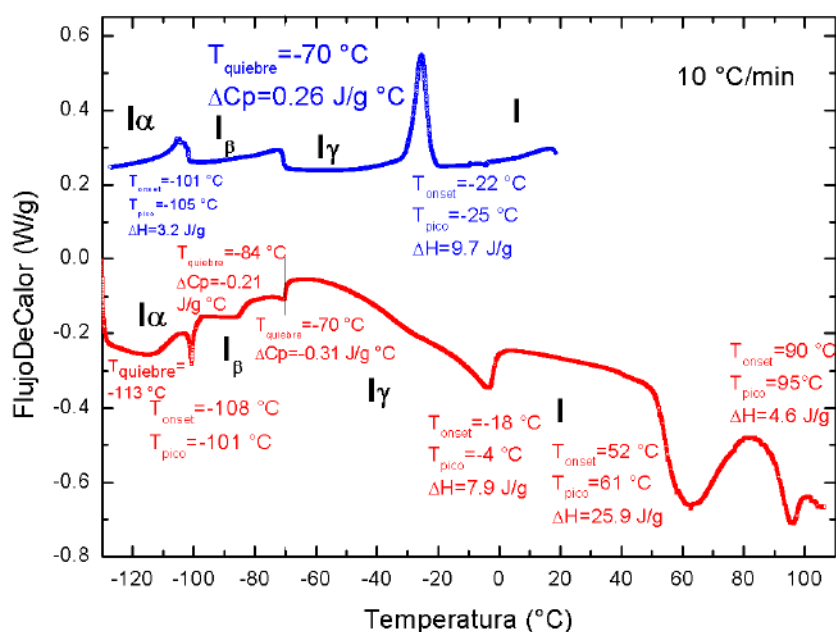


FIGURA 5.40: Experimento de DSC realizado en la muestra PGB:8, inicialmente en estructura I. Se realizó una isoterma de 5 minutos a 20°C tras la cual se enfrió la muestra a 10°C/min hasta -130°C (Curva azul), luego se realizó una isoterma de 5 minutos y finalmente se volvió a calentar la muestra a 10°C/min hasta 110°C (Curva roja)

base al claro evento endotérmico observado a -4°C al calentar la muestra en las mediciones de DSC se decidió considerar a la estructura medida a $-53(2)^{\circ}\text{C}$ como un polimorfo distinto I_{γ} .

La estructura medida a $-173(2)^{\circ}\text{C}$ se la nombra I_{α} . Esta estructura es monoclinica y cristaliza en el grupo espacial $P2_1$ con parámetros de red $\mathbf{a} = 7.6571(6)$, $\mathbf{b} = 35.413(3)$, $\mathbf{c} = 13.2170(9)$ y $\beta = 90.488(2)$. La estructura presenta cuatro moléculas de Pregabalina y cuatro moléculas de ácido en la unidad asimétrica.

Entre las cuatro moléculas de Pregabalina presentes en la unidad asimétrica de la estructura I_{α} no se observan grandes diferencias conformacionales. Lo mismo sucede con las cuatro moléculas de ácido Octanóico. Cada una de las Pregabalinas se encuentra unida a un ácido por medio de un enlace $\text{O4-H4}\cdots\text{O1}$, de manera que a cada uno de estos pares de moléculas de Pregabalina y ácido se los denominó A, B, C y D arbitrariamente. Las diferencias conformacionales entre las moléculas de Pregabalina independientes más significativas se observan en los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 y O2-C1-C2-C3 donde se pueden observar diferencias de hasta 7° .

Al incrementar la temperatura a $-80(2)^{\circ}\text{C}$ se midió la estructura I_{β} , cuya mayor diferencia con la estructura I_{α} es que el parámetro $\mathbf{c}$ de esta última estructura se reduce a la mitad valiéndose en la estructura I_{β} $6.6887(3)\text{\AA}$. Este cambio en la simetría se corresponde con la transición de fase de primer orden observada a -101°C . Para respetar la convención cristalográfica, a este parámetro de red se lo renombró $\mathbf{a}$ en la estructura I_{β} , mientras que el parámetro $\mathbf{a}$ de la estructura I_{α} se lo renombró $\mathbf{c}$. La cantidad de moléculas independientes en la unidad asimétrica de la estructura I_{β} es de dos moléculas de Pregabalina y dos moléculas de ácido Octanóico. Por otra parte, en la estructura I_{β} la similitud entre las dos moléculas de Pregabalina independientes es muy alta y no se han encontrado diferencias significativas entre ellas. En las estructuras I_{α} y I_{β} , las distintas moléculas de Pregabalina tienen los átomos O1, C1, C2 y C3 tienen un ángulo torsional levemente distinto de 0° .

la estructura medida a $-53(2)^{\circ}\text{C}$, I_{γ} muestra una ganancia de simetría con respecto a la estructura I_{β} , ya que cristaliza en el grupo espacial $P2_12_12_1$, con dos ejes tronillo que no se encontraban presentes en la estructura I_{β} . Esta ganancia de simetría esta asociada a la transición de fase de segundo orden observada a -70°C . Para preservar la convención cristalográfica el eje $\mathbf{b}$ de la estructura I_{β} pasa a ser el eje $\mathbf{c}$ de la estructura I_{γ} y viceversa.

En la unidad asimétrica de la estructura I_{γ} solo se observan una molécula de Pregabalina y una molécula de ácido Octanóico. En la molécula de Pregabalina llama la atención que los átomos O1, C1, C2 y C3 se encuentran en un mismo plano. De forma similar, en la estructura I los átomos O2, C1, C2 y C3 se encuentran sobre el mismo plano. Por otra parte se observa que ha medida que se incrementa la temperatura, la tendencia en las distintas estructuras es a incrementar el valor del ángulo torsional N1-C8-C3-C4 . A modo de resumen en la figura 5.14 se muestran las distancias, ángulos de enlace y ángulos torsionales más relevantes de las moléculas de Pregabalina en las distintas estructuras de PGB:8, los cuales pueden ser comparados con los valores observados en la estructura de Pregabalina libre que se muestran en la figura 5.8. En la tabla 5.13 se muestran los parámetros de celda y los datos experimentales en las estructuras medidas del compuesto PGB:8.

El hecho de que las mayores diferencias torsionales entre las Pregabalinas de distintas estructuras se observa en ángulos torsionales que relacionan al nitrógeno o alguno de los oxígenos, es un indicio de que los cambios en las estructuras pueden estar relacionados al cambio en las interacciones puente hidrógeno que mantienen la cohesión del cristal. Similar a lo ya comentado de la estructura I , en la estructura I_{γ} la distancia $\text{O4}\cdots\text{O1}$ del enlace puente hidrógeno que mantiene unido al ácido con

Datos	I_α	I_β	I_γ	I
Fórmula Química	C8 H17 N1 O2:C8 H16 O2	C8 H17 N1 O2:C8 H16 O2	C8 H17 N1 O2:C8 H16 O2	C8 H17 N1 O2:C8 H16 O2
M_r	303.43	303.43	303.43	303.43
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1$	Monoclinico $P2_1$	Ortorrombico, $P2_12_12_1$	Ortorrombico, $P2_12_12_1$
Temperatura de medición	$-173(2)^\circ\text{C}$	$-80(2)^\circ\text{C}$	$-53(2)^\circ\text{C}$	27°C
a,b,c (Å)	7.6571(6) 35.413(3) 13.2170(9)	6.6887(3) 35.9693(16) 7.6777(4)	6.6880(4) 7.7107(5) 36.261(2)	6.6139(5) 7.7706(6) 37.099(3)
$\beta(^\circ)$	90.488(2)	90.132(2)	90	90
Volumen(Å ³)	3583.8(4)	1847.2(2)	1870.0(2)	1906.6(3)
Z	8	4	4	4
Z'	4	2	1	1
Densidad (g/cm ³)	1.125	1.091	1.078	1.057
Radiación	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å	MoK α , 0.7107Å
$\mu(\text{mm}^{-1})$	0.079	0.077	0.076	0.074
Reflexiones medidas, observadas e independiente	60217, 20831, 18082	27079, 7401, 6548	34822, 3822, 3092	59869, 3912, 3362
R_{int}	0.0465	0.0464	0.0729	0.0266
$\sin(\theta) / \lambda_{\text{máx}}(\text{Å})$	0.7459	0.6255	0.6255	0.6259
$R[F^2] > 2\sigma(F^2), wR(F^2), S$	0.0615, 0.1554, 1.079	0.0775, 0.1919, 1.076	0.1084, 0.2556, 1.143	0.0876, 0.2310, 1.109
# de parámetros	777	389	195	195
# de restraints	1	1	0	0
$\Delta\rho_{\text{máx}}, \Delta\rho_{\text{mín}}(\text{e}/\text{Å}^3)$	0.36, -0.30	0.28, 0.19	0.30, -0.30	0.23, 0.13

TABLA 5.13: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras de los distintos polimorfos encontrados de PGB:8

	$I_{\alpha}A$	$I_{\alpha}B$	$I_{\alpha}C$	$I_{\alpha}D$	$I_{\beta}A$	$I_{\beta}B$	I_{γ}	I
Distancias(Å)								
C1-O1	1.260(3)	1.260(3)	1.260(3)	1.262(3)	1.259(9)	1.24(1)	1.272(7)	1.254(5)
C1-O2	1.262(3)	1.261(3)	1.260(3)	1.255(3)	1.273(9)	1.261(9)	1.261(7)	1.254(5)
Ángulos de enlace (°)								
O1-C1-O2	123.5(2)	123.6(2)	124.3(2)	123.5(2)	122.6(7)	125.0(7)	122.2(5)	123.3(4)
Torsiones (°)								
O1-C1-C2-C3	-8.7(4)	-5.4(4)	-2.0(4)	-9.5(4)	6(1)	3(1)	-0.3(8)	-4.6(6)
O2-C1-C2-C3	169.0(2)	172.1(2)	175.6(2)	168.3(2)	- 171.2(6)	- 174.9(6)	176.7(5)	- 179.5(4)
N1-C8-C3-C4	- 168.6(2)	- 168.6(2)	- 170.7(2)	- 167.9(2)	168.2(6)	168.8(6)	- 170.5(5)	170.6(4)
C1-C2-C3-C8	- 158.0(2)	- 156.4(2)	- 158.5(2)	- 155.9(2)	158.8(6)	157.5(6)	- 160.2(5)	162.5(4)
C4-C5-C6-C7	123.4(3)	123.8(4)	122.1(4)	122.1(4)	-119(1)	-122(1)	121(1)	-124(1)

TABLA 5.14: Distancias, ángulos de enlace y ángulos de torsión de Pregabalina en las distintas estructuras del PGB:8

la Pregabalina es de 2.637(8) Å, mientras que el ángulo del enlace es de 110°, lejano al enlace casi lineal observado en I. Este cambio en el enlace es compatible con los cambios ya observados en los ángulos torsionales, el debilitamiento del enlace O4-H4...O1 permite que se relaje la posición del O1, quedando en el mismo plano que los átomos C1, C2 y C3. Aunque es posible que este cambio en el enlace sea la razón de la transición de fase de primer orden observada por DSC (5.40), se requiere otros análisis para poder confirmar la posición del átomo de H4 en las distintas estructuras. Los demás enlaces que involucran al O1 (#3 y #4 en la tabla 5.1) no muestran diferencias significativas entre ambas estructuras en la distancia D...A, ni tampoco grandes diferencias en el ángulo de enlace. Sin embargo los enlaces que involucran al O2 muestran diferencias significativas. El enlace #2 de la tabla 5.1, responsable de la traslación de las cadenas de Pregabalina a través del eje **b** (ver figura 5.2), muestra una distancia D...A de 2.756(4) Å en la estructura I_{α} mientras que en la estructura I_{β} disminuye a 2.741(6) Å. Es esperable que el enlace aumente la distancia D...A al incrementar la temperatura, sin embargo el caso opuesto ocurre con el enlace #1 de la misma tabla, donde la distancia D...A disminuye de un valor de 2.813(7) Å en el polimorfo I_{γ} a 2.793(5) Å en el polimorfo I. Al incrementar la temperatura disminuye la distancia entre el donador y el aceptor del enlace. Este comportamiento anómalo de dicho enlace correlaciona con la disminución observada del parámetro **a** en la estructura I con respecto a la estructura I_{γ} como se observa en la tabla 5.13.

A pesar de que no se han encontrado diferencias conformacionales significativas entre ambas Pregabalinas en la unidad asimétrica de I_{β} , existen diferencias sutiles entre los enlaces que las unen con sus respectivos ácidos Octanoicos. La distancia O1...O4 para las moléculas A es de 2.622(6) Å, significativamente menor a lo observado en las estructuras I_{γ} y I. En el caso de las moléculas B, dicha distancia es de 2.634(6) Å. Esta diferencia sutil hace pensar que las diferencias pequeñas en los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 entre ambas moléculas de Pregabalina pueden ser

significativas y estar relacionado con dichos cambios. A pesar del cambio de simetría entre ambas estructuras, todos los enlaces puente hidrógeno que la generaban siguen estando. Al observar los restantes enlaces puente hidrógeno, se observa que los enlaces #2 de la tabla 5.1, en la estructura I_β se forman entre moléculas de Pregabalina idénticas (A-A o B-B) mientras que los demás enlaces de la tabla 5.1 en esta estructura se forman entre Pregabalinas distintas (A-B). Estos últimos enlaces son los responsables en la estructura de Pregabalina libre (así como en los polimorfos I_γ y I) de la formación de un eje tornillo paralelo al eje **a**. El enlace #2 mantiene un comportamiento esperado en el polimorfo I_β disminuyendo la distancia D...A a 2.728(5)Å y 2.735(5)Å respectivamente para las moléculas A y las moléculas B con ángulos de enlace similares a los observados en otras estructuras de Pregabalina (176° y 170° respectivamente). En la estructura I_β el único enlace que muestra diferencias entre ambas Pregabalinas independientes es el enlace #1, el cual muestra en un caso una distancia N1A...O2B de 2.804(5)Å, y en el otro una distancia N1B...O2A de 2.789(5)Å. Aparentemente, el cambio en dicho enlace es el responsable de la transición de fase a la estructura I_γ , ya que dicho cambio impide que se forme el eje tornillo paralelo al eje **a** presente en la estructura I_γ . Para la estructura I_β , el enlace #1 disminuye la distancia entre los átomos con respecto a lo observado en I_γ , en un comportamiento térmico habitual. Sin embargo, al observar la evolución de los parámetros de red en la tabla 5.13, es claro que el parámetro **a** varía en forma menos pronunciada que los demás. Por otra parte los enlaces #3 y #4 de la tabla 5.1 muestran una nueva disminución en la distancia D...A pasando de valores de 2.837(5)Å(2.839(5)Å) y 3.491(6)Å(3.502(6)Å) respectivamente en la estructura I_β a 2.823Å y 3.483Å respectivamente en la estructura I_γ .

En la estructura I_α , los enlaces entre la Pregabalina y el ácido Octanoico son similares, con distancias O1...O4 que valen 2.634(3)Å, 2.639(3)Å, 2.655(3)Å y 2.616(3)Å para los distintos pares de moléculas independientes. Es interesante notar que mientras las moléculas de Pregabalina A y B mantienen distancias de enlace con el ácido Octanoico similares a las observadas a temperatura ambiente, la Pregabalina C muestra una distancia de enlace claramente mayor y la Pregabalina D una distancia claramente menor. Esto correlaciona claramente con los valores de los ángulos torsionales O1-C1-C2-C3 y O2-C1-C2-C3 como se observa en la tabla 5.14. En cuanto a los enlaces entre Pregabalinas, los enlaces #2 siguen produciéndose entre moléculas idénticas. En este enlace las moléculas A muestran un debilitamiento de dicho enlace con una distancia D...A de 2.745(3)Å, un valor incluso mayor al observado en la estructura I_γ . El enlace en los átomos D es similar con una distancia D...A de 2.743(3)Å. En los átomos B y C se observa una clara disminución siendo las distancias D...A en dicho enlace de 2.728(3)Å y 2.709(3)Å respectivamente. En los enlaces restantes, el nitrógeno de las moléculas A de Pregabalina son donores de enlaces con moléculas D (#1) y a su vez esta molécula presta donores en interacciones con las moléculas C (#3 y #4). Lo inverso sucede con las moléculas B que interaccionan con moléculas C a través del átomo de nitrógeno que es donador de enlaces #1 y con moléculas D a través de los restantes enlaces donde sus átomos son donores. Por otra parte, el nitrógeno de las moléculas C funciona como donador de enlaces #1 con moléculas A y sus átomos funcionan como donores en interacciones #3 y #4 con moléculas B. Lo inverso sucede con las moléculas D. De esta manera se forman dímeros A-C y B-D similares a los observados en la estructura de Pregabalina libre que se conectan entre sí a través de las interacciones #1, formando el plano de Pregabalina en el plano (0,1,0) con los grupos isobutyl de las Pregabalinas C y D apuntando en la dirección **b** y los grupos isobutyl de las Pregabalinas A y B en la dirección **-b**. La variación de

las distancias de enlace para los distintos pares de moléculas de Pregabalina y ácido es dispar, aumentando en algunos casos, mientras que en otros disminuye.

A pesar de las anomalías observadas con respecto al parámetro **a** al disminuir la temperatura, se puede observar en la tabla 5.13 que el volumen por formula unidad disminuye con la temperatura y consecuentemente aumenta la densidad de acuerdo a lo esperado. Para estudiar mejor el comportamiento térmico se tomó un monocristal del compuesto en condiciones ambiente y se realizaron mediciones de 24 imágenes de SC-XRD en distintas posiciones para determinar la celda unidad. Luego se fue disminuyendo la temperatura a $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y se procedió a tomar las mismas imágenes a distintas temperaturas. Una vez alcanzado los $-133,2^{\circ}\text{C}$ se volvió a subir la temperatura a $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta alcanzar los $-73,2^{\circ}\text{C}$ en función de comprobar la posibilidad de que exista histéresis. Todos los parámetros de expansividad térmica fueron calculados con el software PASCAL.¹²⁰ En los casos donde se tenían datos de enfriamiento y calentamiento de la muestra, no se observó histéresis por lo que los parámetros de expansividad térmica se calcularon usando todos los datos.

En el rango de temperatura correspondientes al polimorfo **I**, se confirmó la expansividad térmica negativa en la dirección **a**. En la dirección **b** se observó una expansividad térmica positiva, aunque se detectó un comportamiento anómalo del parámetro de red alrededor de 10°C . Si bien el valor numérico no coincide, hasta aquí el comportamiento es acorde a lo observado en la figura 5.36. Sin embargo la mayor diferencia se observa en el comportamiento del parámetro **c**, que se observa con una expansividad térmica positiva a diferencia de lo visto en la figura 5.36. Los valores del parámetro **c** aquí observados se corresponden con los parámetros reportados en 5.13, por lo que se cree que estos resultados son más precisos que los vistos anteriormente, donde la diferencia puede estar dada por la calidad del monocristal. Los datos obtenidos para los distintos parámetros de red en la forma **I** se muestran en la figura 5.41. Las grandes diferencias de expansividad térmica observada entre el eje **c** y los restantes ejes cristalográficos pueden explicar la deformación elástica observada en el cristal.

Como las diferencias estructurales son pequeñas, se tomó como referencia las temperaturas de transición observadas por DSC (Figura 5.40) para determinar a que forma cristalina correspondía la celda y elegir el sistema cristalino en que refinar la celda. Los datos para la estructura I_{γ} , si bien son cualitativamente similares a los de la estructura **I**, muestran un incremento en la expansividad térmica del eje **a** y un decrecimiento en las expansividades térmicas de **b** y **c** como se observa en la figura 5.42. Si bien es menor, la expansividad térmica volumétrica continúa siendo positiva.

En la estructura I_{β} se tiene un parámetro de red más a refinar, el ángulo β . Como este valor está indirectamente dado en el volumen no se lo muestra en el gráfico 5.43. Por otra parte, dicho parámetro nunca llega a desviarse 0.1° de los 90.0° . El estrecho rango de temperatura en que esta estructura es estable hace difícil determinar las expansividades térmicas. Se ha intentado realizar dicha determinación, pero debido a las altas incertezas en los parámetros de red es difícil la correcta determinación de las mismas. Como tendencia general se observa que la expansividad térmica en el eje **a** permanece negativa o cercana a 0, la expansividad térmica en **c** (en el polimorfo I_{γ} , el eje **b**) permanece pequeña y la expansividad térmica en la dirección **b** (el eje largo) sigue siendo positiva aunque menor a lo visto en los polimorfos I_{γ} y **I**. Si bien no es correcto equiparar los ejes de expansividad térmica con los ejes cristalográficos, al ser los ejes cristalográficos casi perpendiculares son casi idénticos a los ejes de expansividad térmica. La expansividad térmica volumétrica presenta valores negativos, pero la alta incerteza en la determinación del volumen hace que

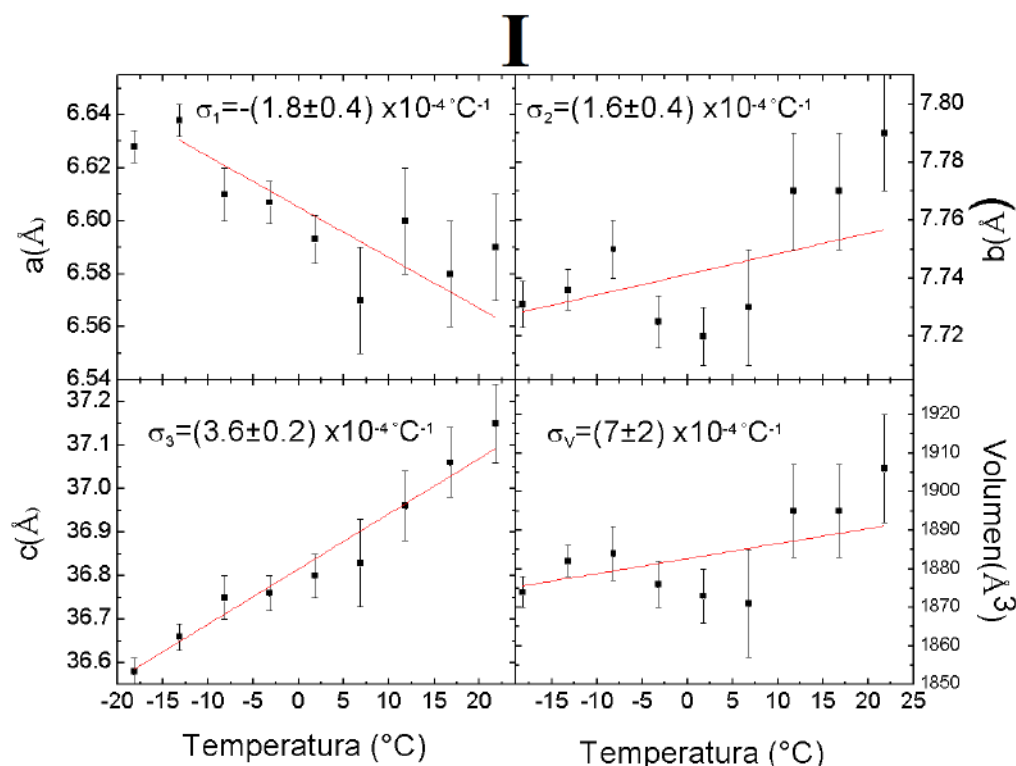


FIGURA 5.41: Evolución de los parámetros de red del polimorfo I al disminuir la temperatura

dicho resultado no difiera significativamente del valor nulo. En este rango de temperaturas se dispone también de los datos del posterior calentamiento del material que no muestra diferencias con el enfriamiento. A diferencia de las demás transiciones, la transición de la estructura I_β a la estructura I_α tiene un claro cambio estructural en la duplicación del parámetro a de la estructura I_β (parámetro c en el polimorfo I_α). Al enfriar el cristal dicha transición se encontró a $(-105.7 \pm 2.5)^\circ\text{C}$ mientras que al calentar la muestra se la encontró a $(-103.6 \pm 1.5)^\circ\text{C}$, no pudiendo observarse una histéresis significativa. Además, los parámetros de red obtenidos al calentar la muestra coinciden con los obtenidos al enfriarla por lo que no se observa histéresis en dicha transición de fase. Esto está de acuerdo con lo observado previamente por DSC en 5.40.

En la estructura I_α , se observa la duplicación del parámetro a de la estructura I_β , el cual en esta estructura pasa a llamarse c . A diferencia de lo observado en las estructuras anteriores, en esta estructura dicho parámetro muestra una expansividad térmica positiva de $(1.3 \pm 0.2) \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$. En las sucesivas transiciones, parece ser que la estructura trata de adaptarse a la compresión que sufre en dicho eje, primero rompiendo la simetría de rotación paralela a dicho eje y finalmente duplicando el tamaño para tener una expansividad térmica positiva. En el eje a se continua observando una expansividad térmica muy pequeña, cercana a 0, mientras que el eje b muestra una expansividad térmica de magnitud similar al eje c . En la figura 5.44 se puede observar el resultado de dichas mediciones junto con las realizadas al calentar la muestra. En el mismo gráfico no se observa histéresis de la muestra.

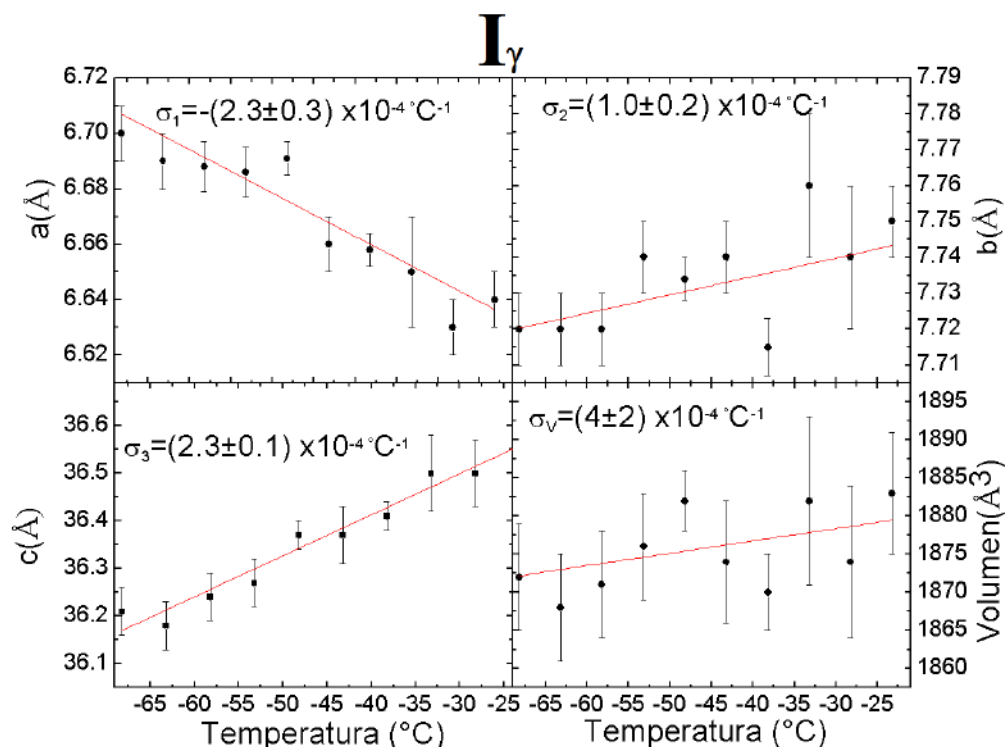


FIGURA 5.42: Evolución de los parámetros de red de la estructura I_γ al disminuir la temperatura

5.7. Aspectos estructurales de cocrystal de Pregabalina a baja temperatura

Para poder realizar comparaciones se realizaron mediciones de los compuestos PGB:10 y PGB:12 a bajas temperatura. La estructura **II** se volvió a medir a $-123(2)^\circ\text{C}$ y $-173(2)^\circ\text{C}$. De la primer medición se muestran los datos en la tabla 5.15. Además se midió la estructura **III** a $-123(2)^\circ\text{C}$ cuyos datos se muestran en la misma tabla, junto con los datos de la estructura I_α del compuesto PGB:8 a $-123(2)^\circ\text{C}$.

A $-123(2)^\circ\text{C}$ las densidades mantienen el orden esperado, aumentando la densidad a medida que se utiliza un ácido graso más pequeño. Esto también se cumplía a temperatura ambiente como puede verse en la tabla 5.10, aunque en ese caso se observa que la diferencia de densidad entre **I** y **II** es muy pequeña ($0.005 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ de diferencia) mientras que a baja temperatura esa diferencia se cuadruplica. Esto es indicativo de un empaquetamiento más compacto de la estructura I_α con respecto a la estructura **I**. Lo contrario sucede entre **II** y **III**: a temperatura ambiente la diferencia de densidad es el doble de la observada a $-123(2)^\circ\text{C}$. Esto muestra que existe una mayor expansividad térmica volumétrica de la estructura **III** que en la estructura **II**.

Comparando los parámetros **a** en las tablas 5.10 y 5.15 es claro que tanto la estructura **II** como la estructura **III** mantienen expansividad térmica negativa en la dirección del eje **a** similar a la observada en el compuesto PGB:8. A su vez, la variación del parámetro **b** es pequeña en comparación con la del parámetro **c**, lo cual puede explicar la deformación elástica observada en estos compuestos. A diferencia de lo observado a temperatura ambiente, el parámetro **a** en la estructura I_α (es el parámetro **b** de la estructura **I**) es mayor que la variación del parámetro **b** observada en

Datos	I _α	II	III
Fórmula Química	C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂ :C ₈ H ₁₆ O ₂	C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂ :C ₁₀ H ₂₀ O ₂	C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂ :C ₁₂ H ₂₄ O ₂
M_r	303.43	331.48	359.54
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1$	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$	Ortorrómbico, $P2_12_12_1$
Temperatura de medición	$-123(2)^\circ\text{C}$	$-123(2)^\circ\text{C}$	$-123(2)^\circ\text{C}$
a,b,c (Å)	7.6803(4) 35.6087(17) 13.2637(7)	6.7841(5), 7.6096(6), 39.059(3)	6.8029(7), 7.6105(8), 42.564(4)
$\beta(^\circ)$	90.323(2)	90	90
Volumen (Å ³)	3627.4(3)	2016.4(3)	2203.7(4)
Z	8	4	4
Z'	4	1	1
Densidad (g/cm ³)	1.111	1.092	1.084
Radiación	MoK _α , 0.7107 Å	MoK _α , 0.7107 Å	MoK _α , 0.7107 Å
$\mu(\text{mm}^{-1})$	0.078	0.075	0.074
Reflexiones medidas, observadas e independiente	27492, 14774, 10526	14306, 3839, 2993	13350, 3960, 2889
R_{int}	0.0627	0.0794	0.0745
$\sin(\theta)/\lambda_{max}(\text{Å}^{-1})$	0.625	0.611	0.603
$R[F^2] > 2\sigma(F^2), wR(F^2), S$	0.1107, 0.3194, 1.060	0.1284, 0.3039, 1.102	0.1158, 0.2958, 1.048
# de parámetros	777	213	231
# de restraints	1	0	0
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(\text{e}/\text{Å}^3)$	0.42, -0.49	1.60, -0.67	1.05, -0.80

TABLA 5.15: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento de las estructuras I_α, II y III a baja temperatura

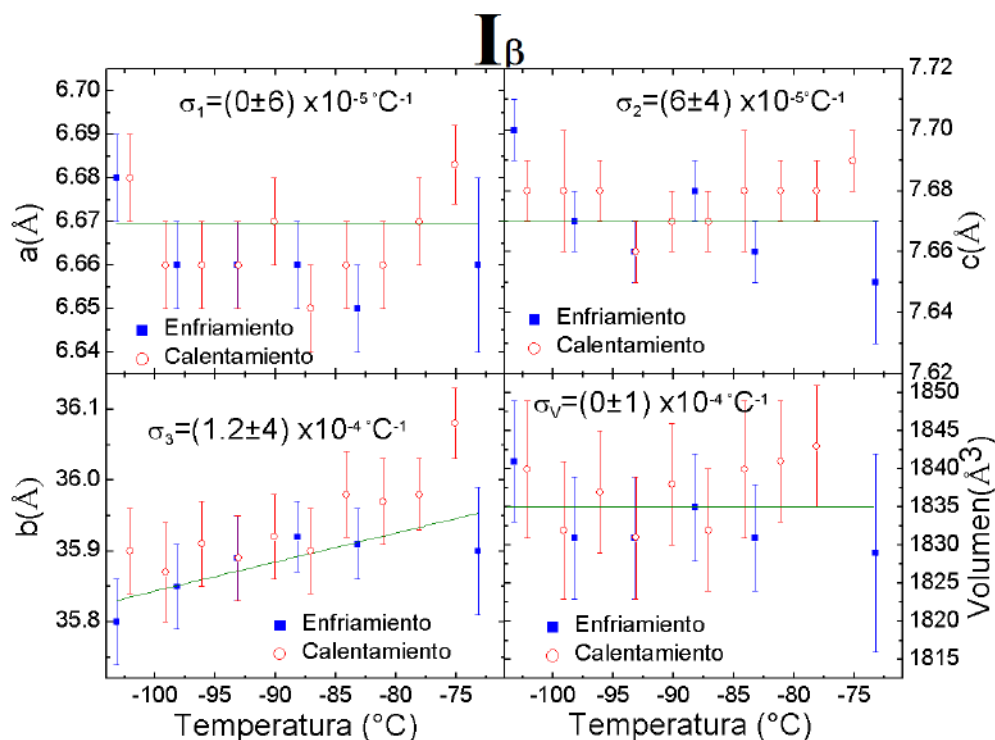


FIGURA 5.43: Evolución de los parámetros de red de la estructura I_{β} en función de la temperatura

II y **III**, al contrario de lo que se observó a temperatura ambiente. Esto es compatible con la idea de una relajación de los enlaces entre Pregabalinas en las transiciones de fase sufrida por **I**. Para poder establecer una comparación con las estructura **II** y **III**, vale observar que la mitad del parámetro c de la estructura I_{α} vale $6.6319(4)\text{\AA}$ (es similar al parámetro a de la estructura **I**), y es menor que el parámetro a observado en las estructuras **II** y **III** a la misma temperatura. De nuevo, esto muestra un cambio con respecto a las tendencias observadas a temperatura ambiente, donde llamativamente el parámetro a de la estructura **I** era mayor al parámetro a de la estructura **II**. De forma más regular, se mantienen las diferencias en el parámetro c entre los tres compuestos, lo cual es compatible con la idea de que la presión del ácido graso en la dirección del eje c al expandirse generan tensiones en el plano de Pregabalinas cuyos enlaces varían tratando de adaptarse a dicha tensión.

La estructura **II** a temperatura ambiente muestra un enlace puente hidrógeno entre el ácido y la Pregabalina con una distancia $O1...O4$ de $2.65(2)\text{\AA}$ y un ángulo de enlace 131° . Este enlace aparenta ser muy rígido, ya que a $-123(2)^{\circ}\text{C}$ muestra una distancia $O1...O4$ similar, $2.637(9)\text{\AA}$, y un ángulo de enlace de 129° . Esta rigidez del enlace debe estar relacionada con el mayor tamaño del ácido Decanóico con respecto al ácido Octanóico, que le impide reacomodarse en la estructura. Misma rigidez es observada en la estructura **III** que a temperatura ambiente tiene una distancia $O1...O4$ de $2.642(9)\text{\AA}$, con un ángulo de enlace de 126° y a $-123(2)^{\circ}\text{C}$ muestra una distancia $O1...O4$ de $2.639(9)\text{\AA}$ y un ángulo de enlace de 119° . Si bien no es concluyente por involucrar la posición de un átomo de hidrógeno, el ángulo de enlace tiende a disminuir al bajar la temperatura, pero más lentamente que en PGB:8. Las tendencias observadas en los puentes hidrógeno que unen las Pregabalinas en las

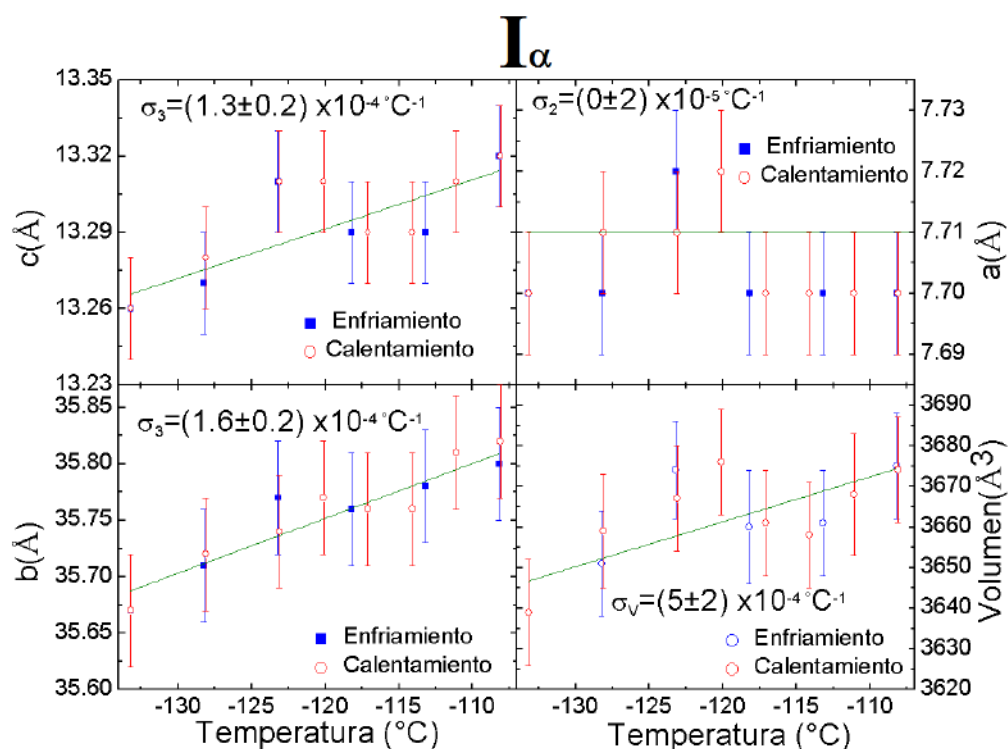


FIGURA 5.44: Evolución de los parámetros de red del polimorfo I_{α} en función de la temperatura

estructura **II** y **III** son similares a las vistas en PGB:8. En la estructura **II** a temperatura ambiente, dichos enlaces (ver tabla 5.1) son similares a los observados en **I**. Los ángulos de enlace son algo diferentes, pero esto puede deberse a la baja calidad de los datos para la resolución de la estructura. La distancia D...A del enlace #2 de la tabla 5.1 decrece en la estructura **II** al disminuir la temperatura ya que a temperatura ambiente dicha distancia vale 2.740(9) Å y a $-123(2)^{\circ}\text{C}$ vale 2.729(8) Å. Esto es similar a lo observado en PGB:8. En forma análoga, en la estructura **III**, dicha distancia pasa de valer 2.751(6) Å a temperatura ambiente a 2.723(8) Å a $-123(2)^{\circ}\text{C}$.

El enlace #1 de la tabla 5.1 varía muy poco en la estructura **II** pasando de 2.81(1) Å a temperatura ambiente a un valor de 2.785(9) Å a $-123(2)^{\circ}\text{C}$. En la estructura **III** dicho cambio ni siquiera es significativo, pasando de un valor de 2.795(7) Å a 2.794(9) Å. Tampoco es significativa la variación del enlace #3 de la misma tabla en ninguna de estas dos estructuras. Si se observan leves cambios en el enlace #4, en la estructura **II** donde pasa de tener una distancia D...A de 3.46(1) Å a temperatura ambiente a una distancia de 3.51(1) Å a $-123(2)^{\circ}\text{C}$. Dicho enlace incrementa su distancia D...A al disminuir la temperatura. Además el ángulo de enlace pasa de 147°C a temperatura ambiente a 158° al disminuir la temperatura, cambio similar al observado en PGB:8. En forma similar, dicho enlace en la estructura **III** pasa de un valor de 3.479(8) Å a temperatura ambiente a un valor de 3.52(1) Å a baja temperatura, e incrementa el valor del ángulo de enlace de 150° a 158° al disminuir la temperatura.

Como conclusión, los tres enlaces relacionados al eje tornillo 2_1 paralelo al eje **a** en las estructuras **II** y **III** muestran pequeñas variaciones e incluso incrementos al disminuir la temperatura en la distancia D...A. Esto está relacionado a la expansión térmica negativa en el eje **a**, mientras que el enlace relacionado con la expansión en

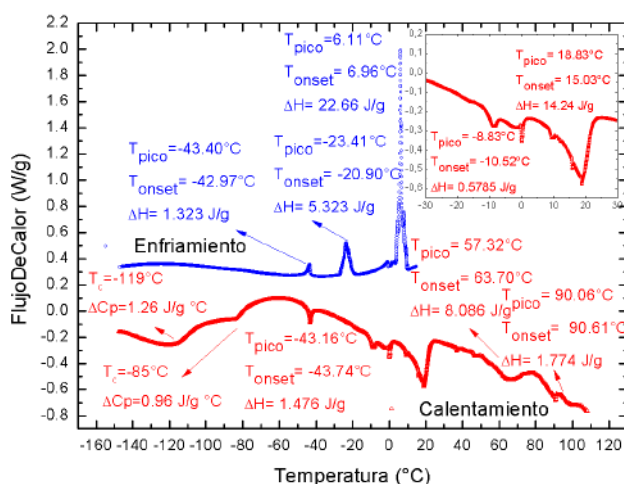


FIGURA 5.45: Medición de DSC realizada sobre una mezcla de cristales de estructuras PGB:10 y PGB2:101. En azul se muestra el primer enfriamiento mientras que en rojo se observa el calentamiento.

el eje **b**(#2) muestra una disminución la disminuir la temperatura, de acuerdo con una expansión térmica positiva. Como el enlace puente hidrógeno del ácido con la Pregabalina no muestra grandes variaciones, es razonable pensar que la expansión térmica en el eje **c** esta relacionado con las interacciones de Van der Waals de las cadenas alifáticas de los ácidos y los grupos isobutiles de las Pregabalinas. En el caso del compuesto PGB:8, el comportamiento es similar para las estructuras I_γ y I_α , aunque la ruptura de simetría en las estructuras I_β y I_α parece permitir la disminución de la expansividad térmica negativa y la reversión de este comportamiento en la estructura I_α .

5.8. Polimorfismo en PGB2:101

Como se ha descripto anteriormente, la recrystalización de Pregabalina y ácido Decanóico dio como resultado una mezcla de cristales de PGB:10 y PGB2:101. Sobre esta mezcla se realizó una medición de DSC, con un flujo de nitrógeno de $10 \frac{ml}{min}$, donde primero se enfrió hasta $-140^\circ C$ a $10^\circ C/min$. Luego de una isoterma de 3 minutos se volvió a calentar la muestra a $10^\circ C/min$ hasta $110^\circ C$. En la figura 5.45 se muestra el resultado de dicha medición.

En el enfriamiento se observan tres eventos térmicos: un primer evento exotérmico que comienza alrededor de $7^\circ C$ de $\Delta H = 22.66 \frac{J}{g}$. Posteriormente a esto, se observa un evento exotérmico alrededor de $-21^\circ C$ de $\Delta H = 5.323 \frac{J}{g}$ y finalmente un tercer evento exotérmico a $-43^\circ C$ de $\Delta H = 1.323 \frac{J}{g}$. Esta secuencia de eventos térmicos es diferente a la observada en PGB:8 por varios motivos: en primer lugar la temperatura de los eventos es mayor. El primer evento observado aquí al disminuir la temperatura tiene una mayor variación de Entalpía que el observado en PGB:8 en la transición de la estructura I a I_γ . Por otra parte, el segundo evento observado aquí al disminuir la temperatura es de primer orden mientras que en PGB:8 era una transición de segundo orden (correspondiente a la transición de I_γ a I_β). Por último, el tercer evento muestra una diferencia en la temperatura y menor variación de

Entalpía, aunque al igual que lo observado en PGB:8 al volver a calentar la muestra se observa un proceso endotérmico similar a la misma temperatura. Al igual que lo observado en PGB:8, se observa una extraña variación en el calor específico cuando se calienta la muestra a baja temperatura con dos temperaturas donde cambia la pendiente, -119°C y a -85°C . Luego se observa el evento endotérmico a 43°C y posteriormente existe un complejo evento endotérmico a -10°C de muy baja variación de Entalpía, seguido de un evento alrededor de 15°C con $\Delta H = 14.24 \frac{\text{J}}{\text{g}}$, menor a la observada en el evento a 7°C al disminuir la temperatura. Finalmente se observan dos eventos endotérmicos alrededor de 60°C y 90°C que se corresponden a las transiciones de PGB:10 a PGB2:101 y PGB2:101 a Pregabalina libre respectivamente, como ya se observó en la figura 5.35.

El hecho de que la estructura **II** del compuesto PGB:10 fue medida a 27°C (Tabla 5.10) y a -123°C (Tabla 5.15) lleva a pensar que las transiciones observadas a baja temperatura deben estar relacionadas con el compuesto PGB2:101. Para confirmar si esto es cierto se realizó una medición de SC-XRD de un cristal con estructura **VIII** a -10°C . El cristal no sufrió daños visibles y la estructura pudo ser medida sin mayores problemas, por lo que la duda sobre las características de la transición observada a 7°C permanece. En la tabla 5.16 se muestran los datos de la medición.

Datos	VIII	VIII_α
Fórmula Química	2(C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂):C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2 (C ₈ H ₁₇ N ₁ O ₂):C ₁₀ H ₂₀ O ₂
M_r	490.71	490.71
Sistema Cristalino y Grupo Espacial	Monoclínico, $P2_1$	Triclinico, $P1$
Temperatura de medición	$-10(2)^{\circ}\text{C}$	$-123(2)^{\circ}\text{C}$
a,b,c (Å)	6.5884(6) 7.7836(7) 29.731(3)	6.6286(8), 7.7307(9), 28.801(3)
$\alpha, \beta, \gamma (^{\circ})$	90 96.214(5) 90	87.515(5) 84.564(5) 89.989(5)
Volumen (Å ³)	1515.7(2)	1467.9(3)
Z	2	2
Z'	1	2
Densidad (g/cm ³)	1.075	1.110
Radiación	MoK _α , 0.7107Å	MoK _α , 0.7107Å
$\mu(\text{mm}^{-1})$	0.075	0.077
Reflexiones medidas, observadas e independiente	22694, 5421, 3964	30781, 9886, 8332
R_{int}	0.0833	0.0819
$\sin(\theta)/\lambda_{mx}(\text{Å}^{-1})$	0.603	0.668
$R[F^2] > 2\sigma(F^2), wR(F^2), S$	0.1089, 0.2816, 1.110	0.1608, 0.4154, 1.752
# de parámetros	315	459
# de restraints	1	3
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}(\text{e}/\text{Å}^3)$	0.34 -0.38	0.66, -1.13

TABLA 5.16: Datos de la determinación de celda, resolución y refinamiento del compuesto PGB2:101

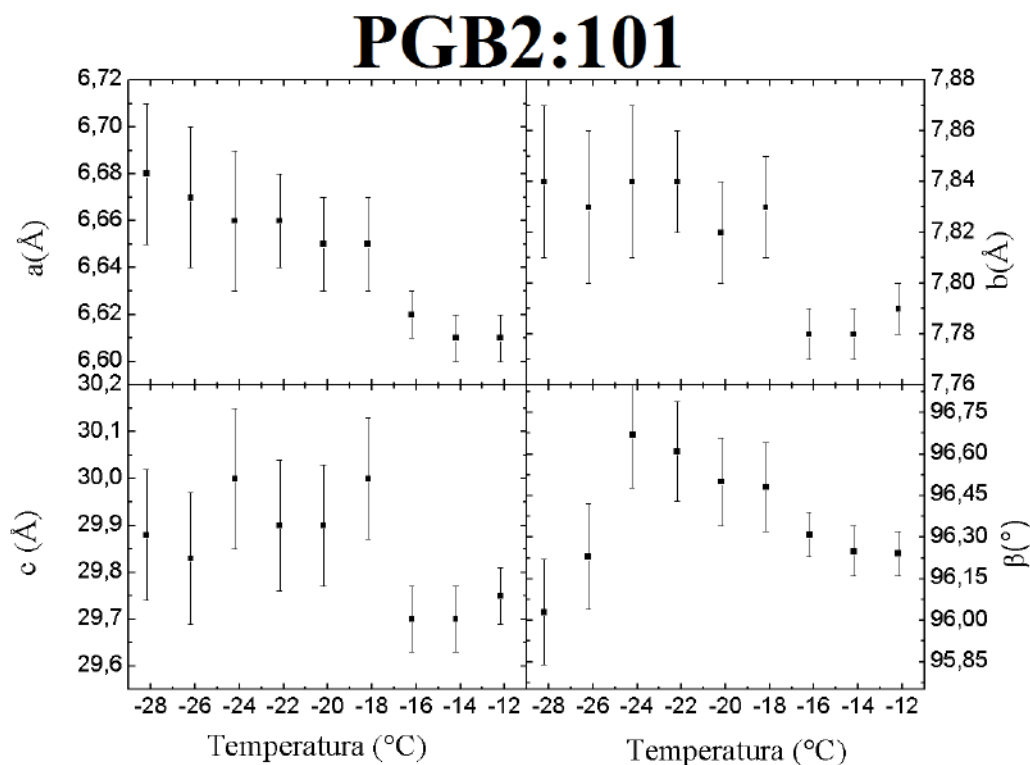


FIGURA 5.46: Evolución de los parámetros de red del compuesto PGB2:101 al disminuir la temperatura

A partir de dicha medición se siguió bajando la temperatura del monocristal. Se tomaron mediciones de 24 frames, 12 a $2\theta = 20^\circ$ variando de a 0.5° la posición del monocristal y 12 a $2\theta = -20^\circ$ variando la posición del monocristal de forma similar desde una posición inicial distinta. De esta manera se obtuvo los parámetros de celda cada 2°C . En la figura 5.46 se muestra un gráfico de dichas mediciones. A simple vista parece que la celda no presenta grandes cambios, sin embargo, a $-17(1)^\circ\text{C}$ se observa un abrupto cambio en los parámetros **a**, **b**, **c** y el volumen del compuesto. Luego, $-25(1)^\circ\text{C}$ se observa un salto en el ángulo β . Estos cambios en los parámetros son consistentes con los dos primeros eventos térmicos observados por DSC al disminuir la temperatura (ver figura 5.45). A $-58.3(3)^\circ\text{C}$ se observó una celda similar de $a = 6.70(2)\text{\AA}$, $b = 7.78(3)\text{\AA}$, $c = 29.2(1)\text{\AA}$ y $\beta = 95.9(2)^\circ$. El parámetro **a** muestra que el cristal continua manteniendo una expansividad térmica negativa, aunque no se observan grandes diferencias con las celdas anteriores. Para corroborar si había diferencias al final de dicho proceso, se realizó una colección de datos completa a $-123(2)^\circ\text{C}$.

Sorpresivamente, la medición a $-123(2)^\circ\text{C}$ dio una estructura triclinica cuyos parámetros de red se muestran en la tabla 5.16. La principal diferencia entre las estructuras **VIII** y **VIII_α** del compuesto es el cambio del parámetro α que cambia de 90° a $87.515(5)^\circ$. La similitud entre los parámetros de la estructura **VIII_α** y la estructura **IX** llevan a pensar que es posible la existencia de una estructura distinta de PGB2:121 a temperatura ambiente, aunque nunca se consiguió un nuevo monocristal para comprobarlo.

En la estructura **VIII_α** se observan desplazamientos relativos de las moléculas

de ácido Decanoico y de Pregabalina. Esencialmente la estructura de puentes hidrógenos es la misma que la observada en **VIII**, aunque parece ser que los dos planos consecutivos de Pregabalina interactúan entre ellos, se observa un acercamiento de los grupos isobutil con los oxígenos de la Pregabalina. Mejores datos serán necesarios, para confirmar esto.

Se pudo confirmar la existencia de polimorfismo a baja temperatura para el compuesto PGB2:101, sin embargo, para un mejor estudio del mismo será necesario obtener muestra de la estructura **VIII**_{pura} con el objetivo de lograr mejores datos de calorimetría. Como las transiciones observadas por DSC son de primer orden, es esperable que un monocristal sufra daños al pasar por la transición de fase. Esta puede ser la razón de los altos valores observados en los índices de acuerdo de la resolución de la estructura **VIII**_α. Como los cambios en la estructura son sutiles, mejores datos serán necesarios para determinar los cambios estructurales en la transición.

5.9. Conclusiones

Diferentes sales y cocristales de Pregabalina se han obtenido, los cuales pueden servir para nuevas formulaciones farmacéuticas de Pregabalina. Claras diferencias estructurales se han observado entre las sales y los cocristales, mientras que los primeros muestran estructuras cristalinas con fuertes enlaces puente hidrógeno entre la amida protonada de la Pregabalina y el ácido, los cocristales preservan la estructura de la Pregabalina en un plano (0,0,1) y se enlazan a las Pregabalinas por enlaces puente hidrógeno O-H...O.

Estas diferencias estructurales llevan a distintos comportamientos térmicos: mientras que al calentarlas las sales funden, los cocristales muestran una tendencia a segregar, sublimando el ácido y permaneciendo la Pregabalina en estado sólido. Particular interés muestran los cocristales de Pregabalina con ácido Octanoico, Decanoico y Dodecanoico. La sublimación se produce en dos etapas, permitiendo obtener cocristales de distinta estequiometría, estables (o meta-estables) en condiciones ambiente. Esto se pudo observar por SC-XRD para los primeros dos casos ya que dichas transiciones suceden monocristal-monocristal, mientras que esto no pudo probarse para el cocrystal con Dodecanoico ya que la transición destruye el monocristal inicial. Sin embargo la obtención de cocristales con ácido Dodecanoico con distinta estequiometría dan un indicio de que hay cierta similitud en el comportamiento. La sublimación en estas transiciones no se observan por TG, posiblemente porque el peso del ácido graso hace que el mismo permanezca dentro del crisol durante la transición. Sin embargo la misma transición pudo ser observada por DTA, y en el caso del ácido Octanoico y Decanoico por DSC. Se observa la tendencia a una mayor inestabilidad de los compuestos con ácidos de cadenas alifáticas más largas.

Sútiles transiciones de fase se han observado en los cocristales con ácido Octanoico (Estequiometría 1-1) y ácido Decanoico (Estequiometría 2-1) al disminuir la temperatura. Si bien estas transiciones mostraron ser monocristal-monocristal, parece ser que la responsable de la misma son sutilezas en la estructura electrónica, difíciles de observar por rayos X. Técnicas complementarias son necesarias para obtener una mejor caracterización de las mismas.

En muchos casos se ha observado la expansividad térmica negativa en el eje **a**, debido a la fortaleza del enlace puente Hidrógeno entre las Pregabalinas. Aunque es un efecto raro, esto ha sido previamente reportado en otros cocristales orgánicos¹⁵³.

En el caso de cocristales de Pregabalina con ácidos Octanóico, Decanóico y Dodecanóico, esta expansividad térmica negativa parece explicar la observación de deformación elástica en monocristales de estos cocristales.

Bibliografía

27. L. Queré y J. Wouters, eds., *Pharmaceutical Salts and Co-crystals* (The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2012), cap. 1.
91. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A* **71**, 3-8 (2015).
101. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section A* **64**, 112-122 (2008).
102. G. Sheldrick, *Acta Crystallographica Section C* **71**, 3-8 (2015).
114. CCDC, *Cambridge Structural Database* 5.40, 2018.
120. M. J. Cliffe y A. L. Goodwin, *Journal of applied Crystallography* **45**, 1321-1329 (2012).
138. C. Plata Salaman, N. Tesson, M. Trilla Castano y L. Cardenas Romana, *Crystalline forms of pregabalin and co-formers in the treatment of pain*, EP 2 527 319 A1, 2011, (<https://patentimages.storage.googleapis.com/d2/3e/9b/1ac0b9219ee906/EP2527319A1.pdf>).
139. N. Venu, P Vishweshwar, T Ram, D. Suryaa y B Apurbac, *Acta Crystallografica Section C* **63**, 306-308 (2007).
140. R. Huckle, *Current opinions on investigational drugs* **5**, 82-89.
141. M. Watanabe, K. Maernura, K. Kanbara, T. Tamayama y H. Hayasaki, *GABA and GABA Receptors in the Central Nervous System and Other Organs. A survey of Cell Biology* (Academic Press, Osaka, Japan), págs. 1-47.
142. U. Khandavilli, M. Lusi y P. Frawley, *IUCr journals* **6**, 630-634 (2019).
143. D. Perrin, *Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution* (Butterworths, Londres, 1972).
144. E. Serjeant, *Ionization Constants of Organic Acids in Aqueous Solution* (Pergamon, Oxford, 1979).
145. H. Sober, ed., *CRC Handbook of Biochemistry* (CRC Press, Boca Raton, Florida, 1968).
146. M. O'Neil, ed., *The Merck Index* (Merck y Co., Nueva Jersey, ed. 14, 2006).
147. B. Samas, W. Wang y D. Godrej, *Acta Crystallographica Section E* **63**, 3938 (2007).
148. G. Day, A. Trask, W. Motherwell y W. Jones, *Chemical Communications*, 54-56 (2006).
149. D. Rychkov, S. Arkhipov y E. Boldyreva, *Acta Crystallographica Section B* **72**, 160 (2016).
150. Y. Suzuki, *Termochimica acta* **211**, 171-180 (1992).
151. I. D. H. Oswald, I. Chataigner, S. Elphick, F. Fabbiani y et.al., *Crystal Engineering Communications* **11**, 359-366 (2 2009).
152. CCDC, *Mercury* 4.1.2, 2001-2019, (<http://www.ccdc.cam.ac.uk/mercury/>).
153. A. D. Fortes, E. Suard y K. S. Knight, *Science* **331**, 742-746 (6018 2011).

Capítulo 6

Conclusiones

A lo largo de esta tesis se han explorado diferentes formas de modificar propiedades fisicoquímicas de un IFA, la búsqueda de diferentes polimorfos y la obtención de sales y cocristales de un IFA, probando la viabilidad de las distintas estrategias para modificar las propiedades fisicoquímicas de un IFA. En distintos procesos utilizados en la industria para el desarrollo de formas cristalinas de un dado IFA puede suceder que se obtengan hidratos del IFA. En estos casos es importante establecer la capacidad de este de transformar al compuesto anhidro (y la rehidratación del anhidro) así como contemplar la posibilidad de la conversión entre distintos estados de hidratación. La combinación de técnicas de difracción de rayos X y técnicas de calorimetría ha sido provechosa para estudiar la estabilidad relativa de distintos polimorfos, caracterizar diferentes transiciones de fase y realizar estudios de cinética de transformaciones demostrando que estas técnicas tienen un gran potencial para el estudio de distintas propiedades en IFAs.

Se han estudiado diferentes casos de polimorfismo en IFAs. Las diferentes estructuras cristalinas pudieron ser caracterizadas en general por medio de SC-XRD. En los casos que no fue posible crecer monocristales adecuados para la realización de esta técnica, PXRD fue una técnica adecuada para permitir la diferenciación de distintos polimorfos.

De esta forma se estudió el caso de Palmitato de Pipotiazina, un IFA antipsicótico utilizado en algunos casos de esquizofrenia, del cual se obtuvieron dos polimorfos distintos. Uno de ellos pudo ser resuelto por SC-XRD, mientras que la segunda forma cristalina no pudo ser resuelta. PXRD fue una valiosa herramienta para permitir establecer claramente que ambos polimorfos tienen estructuras cristalinas distintas. Por medio de DSC también se pudo determinar que ambas formas tienen puntos de fusión distinto, demostrando que son formas cristalinas diferentes. Esta técnica permitió también establecer la relación monotrópica entre ambas formas cristalinas.

La estabilidad relativa de los distintos polimorfos pudo ser establecida exitosamente por medio de la técnica de DSC y se pudo establecer el carácter enantiotrópico o monotrópico de la relación entre distintos polimorfos de un IFA. Además del ya mencionado caso de Palmitato de Pipotiazina, se abordó el estudio de Clorhidrato de Bendamustina, un IFA utilizado en el tratamiento de múltiples linfomas, donde se encontraron tres polimorfos relacionados monotrópicamente entre sí. Por último, se estudió el caso de Clorhidrato de Tapentadol, un IFA utilizado en el tratamiento del dolor, en el cual se encontraron dos formas cristalinas relacionadas enantiotrópicamente entre sí. Además del interés de dicho compuesto desde el punto de vista farmacéutico, el estudio de este IFA permitió encontrar el efecto Termosaliente en la transición de fase entre ambas formas cristalinas, fenómeno que podría tener múltiples aplicaciones.

Por medio de SC-XRD se pudo estudiar las características estructurales de distintas formas hidratadas y sus correspondientes formas anhidras. La relación estructural entre los hidratos y la forma anhidra resulta importante para conocer la posibilidad de que una fase convierta a otra bajo las condiciones de almacenamiento. Se ha logrado estudiar un caso de cada clase de hidrato que puede surgir: en el caso de Clorhidrato de Bendamustina se obtuvo un hidrato de canal, que posee gran facilidad de convertir a la forma anhidra con mayor similaridad estructural al monohidrato. A su vez, esta forma anhidra puede rehidratarse fácilmente en condiciones ambiente.

También se estudió Pridinol Mesilato, un IFA utilizado como relajante muscular, donde se encontró una forma anhidra que fácilmente se hidrata y transforma a un monohidrato de Pridinol Mesilato. Este hidrato es de la clase de hidratos de sitio aislado, donde las moléculas de agua se encuentran fuertemente cohesionadas a la estructura. En general en esta clase de hidratos la temperatura de deshidratación es alta debido a la fuerte cohesión. Particularmente complejo resulta el comportamiento térmico de Pridinol Mesilato monohidratado, donde el proceso de deshidratación puede verse superpuesto con la fusión del mismo. Se mostró que el compuesto anhidro puede hidratarse fácilmente, pero es muy difícil que se vuelva a la forma deshidratada. Particular cuidado debe tenerse sobre este punto en el almacenamiento.

El caso del complejo de *Pregabalina* : $MnCl_2 : H_2O$ pertenece a la clase de hidratos asociados a un ión. Como suele suceder en esta clase de hidratos el compuesto presenta una alta temperatura de deshidratación debido a la fuerte cohesión que provee la unión de coordinación a la molécula de agua. Si bien se ha podido deshidratar el hidrato por métodos térmicos, los monocristales se rompieron en este proceso de forma tal que no fue posible resolver la estructura de la forma anhidra.

En el caso de Pregabalina, un IFA utilizado como analgésico, no se han encontrado polimorfos y es necesario mejorar la solubilidad. Se ha demostrado la viabilidad de generar sales y/o cocristales para poder mejorar dicha propiedad. Las sales y cocristales han mostrado generar estructuras claramente disímiles, donde la estructura cristalina de los cocristales preserva muchas características de la estructura cristalina de la Pregabalina libre. La elección del coformador adecuado para el IFA que se utiliza se basa en la elección de coformadores con los grupos funcionales adecuados para obtener synthons con alta probabilidad de formación. La cercanía del P_{ka} del coformador con el IFA es crítico para obtener un cocrystal en vez de una sal. Pequeñas diferencias de P_{ka} dan como resultado cocristales mientras que grandes diferencias de P_{ka} dan como resultado la formación de sales. Las propiedades térmicas en ambos casos han mostrado ser distintas; mientras que las sales de Pregabalina funden al aumentar su temperatura, los cocristales tienden a disociar la Pregabalina de su coformador, quedando la primera en estado sólido. Esta transición pudo ser estudiada por SC-XRD en los casos que la misma se producía de forma monocristal-monocristal y a pesar de la aparente similitud entre las transiciones observadas en el cocrystal con ácido Octanoico y con ácido Decanoico se han encontrado diferencias estructurales que permiten pensar que los procesos son distintos.

Además de las posibilidades que dan los distintos cocristales y sales de Pregabalina para el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas, los cocristales de Pregabalina con ácidos grasos han mostrado propiedades térmicas y mecánicas inusuales como la deformación elástica y la expansividad térmica negativa. La elección de distintos coformadores permite pensar a futuro en la posibilidad de controlar estas propiedades con la elección del coformador adecuado.