

INICIACIÓN A LAS TÉCNICAS DE CRISTALIZACIÓN DE MOLÉCULA PEQUEÑA

CRECIENDO CRISTALES PARA DIFRACCIÓN DE RAYOS X



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Raúl Angel Orenes Martínez. SUIC

1

- Determinación de la estructura paso a paso
- Objetivo: obtener *buenos* cristales
- ¿Por qué se necesitan *buenos* cristales?
- Factores que afectan al proceso de cristalización
- Consideraciones generales
- Técnicas de cristalización
- Consejos prácticos
- Cuestión de *actitud*
- Selección y montaje del monocristal
- Conclusiones

2

Determinación de la estructura paso a paso

Tiempo necesario	Operación	Información
?	Seleccionar un cristal adecuado y montarlo para su estudio por rayos X	
minutos/horas	Obtener la geometría de la celda unidad e información preliminar sobre la simetría	$a b c \alpha \beta \gamma$ sistema cristalino, grupo espacial, simetría molecular?
horas/días	Toma de datos de intensidad	listado de: $h k l I \sigma(I)$
minutos	Reducción de datos (se aplican varias correcciones a los datos)	listado de: $h k l F \sigma(F)$ ó $h k l F^2 \sigma(F^2)$

Determinación de la estructura paso a paso

Tiempo necesario	Operación	Información
de minutos en adelante	Resolución de la estructura: Método de Patterson, directos, otros	alguna o todas las posiciones atómicas excepto H
minutos/horas	Completar la estructura (encontrar todos los átomos)	todas las posiciones atómicas (aproximadamente)
minutos/días	Refinado del modelo de la estructura	posiciones atómicas y parámetros de desplazamiento
?	Interpretar los resultados	geometría molecular, empaquetamiento, etc.

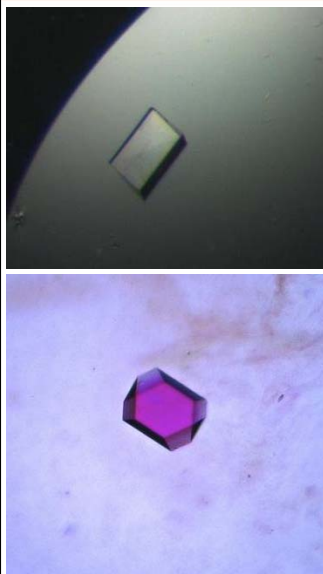
Objetivo: obtener *buenos* cristales

- Primer paso para determinar la estructura de un compuesto
- La mayoría de determinaciones fracasan por falta de buen cristal
- No hay suficiente información en libros de texto

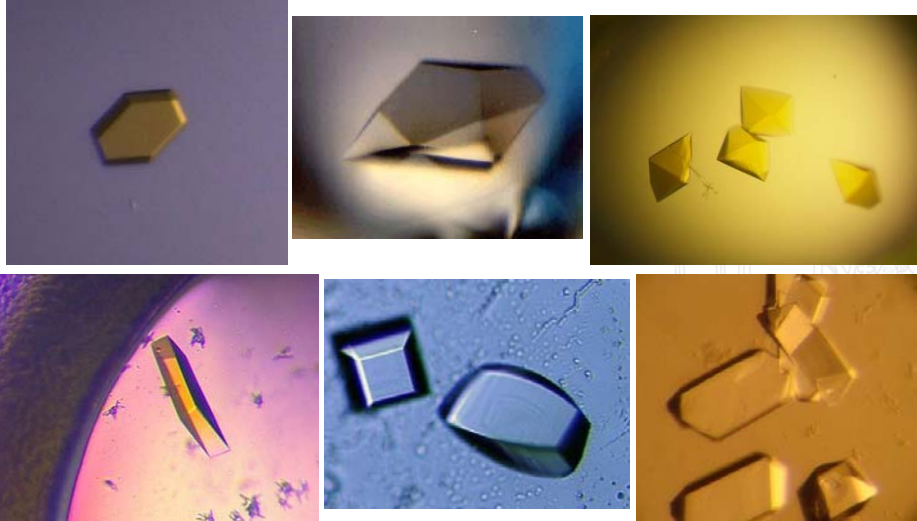


Características de un *buen* cristal

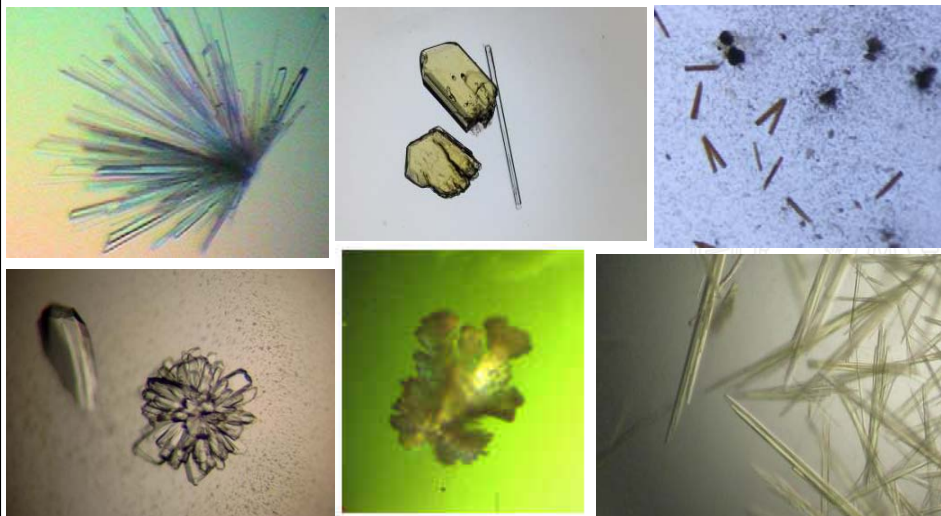
- Tamaño adecuado depende de átomos (0.1-0.4 mm)
- Todas las celdas unidad idénticas y orientadas en la misma dirección
- Alto grado de orden interno (*buen* patrón de difracción de rayos X)
- Cristal sencillo, no aglomerados
- Caras bien definidas y transparentes y bordes regulares. Forma de prisma
- Sin grietas, defectos o maclas aparentes



Un *buen* cristal es



Un *buen* cristal **no** es

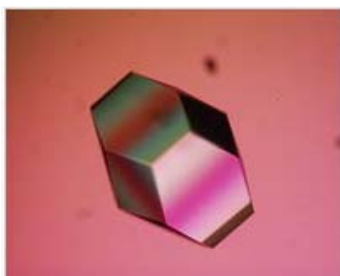


¿Por qué se necesita un *buen* cristal?

La calidad de los datos depende de la calidad del cristal

La precisión con la que se determinan las coordenadas atómicas y los parámetros geométricos depende directamente de la calidad del cristal

Cristal *malo* → Datos *malos* → Estructura no publicable



VS



9

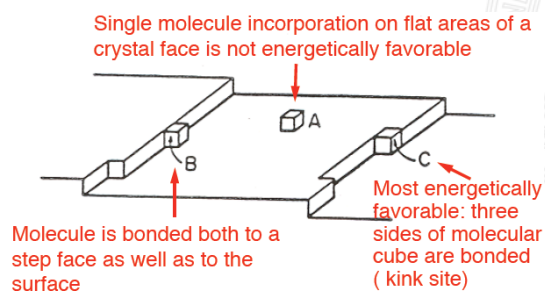
Para obtener *buenos* cristales...

Recristalización

Síntesis/purificación

Difracción de rayos X de monocristal

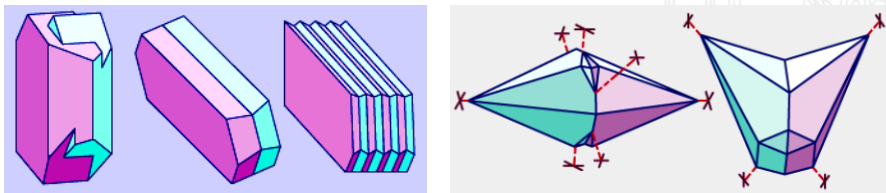
- Crecimiento lento y sin perturbaciones: moléculas pueden orientarse



10

Para obtener *buenos* cristales...

- No variar las condiciones de cristalización
- Cambios en las condiciones: conducen a maclas
- Maclas: crecimiento interpenetrado de dos cristales que compartirán puntos de la red cristalina



11

Proceso de cristalización

Nucleación

Siembra de cristales, partículas de polvo o imperfecciones del vial

Crecimiento

Deposición ordenada del material desde la disolución hacia la superficie

Factores que afectan al proceso de cristalización

- Disolvente
- Agitación
- Nucleación
- Tiempo

12

Factores que afectan al proceso de cristalización: Disolvente

- Influye en el mecanismo de crecimiento de cristales
- Puede incorporarse a la red cristalina
- Solubilidad sólo moderada (evitar supersaturación)
- Emplear la menor cantidad de disolvente
- *Semejante disuelve a semejante*
- Chequear varios disolventes y mezclas (diclorometano, éter dietílico, hexano, tolueno y THF)
- Presencia de disolventes aromáticos puede ayudar a la cristalización
- Evita disolventes con largas cadenas alquílicas (hexano, heptano)
- Mejor disolventes con geometría rígida (tolueno)

13

Factores que afectan al proceso de cristalización: Nucleación

- Cuantos menos sitios mejor (menos cristales y más grandes)
- Recipientes limpios: minimizar partículas de polvo y suciedad
- Filtrar para eliminar partículas insolubles
- Recipientes usados suelen estar rayados y presentar defectos superficiales: proporcionan múltiples sitios de nucleación
- Recipientes nuevos pueden presentar paredes demasiado lisas para que se produzca la nucleación

14

Factores que afectan al proceso de cristalización: Agitación

- La agitación no es deseable: conduce a cristales de pequeño tamaño y maclados
- Mantener cristales alejados de fuentes de agitación mecánica y vibraciones (bombas de vacío, rotavapores, vitrinas, puertas, zonas de paso, etc)
- No chequear cristales con demasiada frecuencia (una vez al día)

Factores que afectan al proceso de cristalización: Tiempo

- Cristalizaciones lentas proporcionan mejores cristales

15

Consideraciones generales

- Purificar el compuesto (cristalización convencional y/u otros métodos)
- Tener en cuenta las propiedades físicas del compuesto (sensibilidad, estabilidad térmica, etc)
- Elaborar un perfil de solubilidad del compuesto
- Emplear material de vidrio limpio para crecer cristales
- Poner varias cristalizaciones en paralelo con diferentes condiciones
- No se puede predecir cuál es la mejor técnica, depende de características del compuesto

16

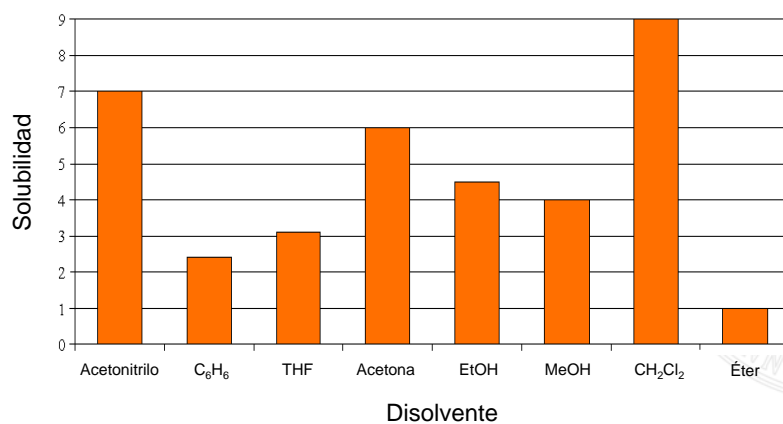
Consideraciones generales: Purificar el compuesto

- Las muestras impuras no cristalizan tan bien como las puras
- Emplear producto recristalizado para crecer cristales: la recristalización minimiza la presencia de partículas extrañas insolubles
- Las impurezas pueden aumentar el número de sitios de nucleación y/o adherirse a los cristales formados



17

Consideraciones generales: Perfil de solubilidad



18

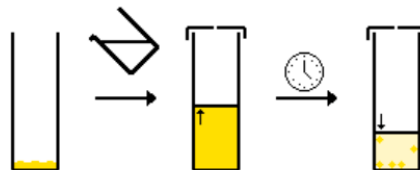
Técnicas de cristalización

- 1) Evaporación lenta del disolvente
- 2) Enfriamiento lento de disoluciones saturadas
- 3) Evaporación lenta de mezcla de disolventes
- 4) Difusión de líquidos
- 5) Difusión de vapor
- 6) Difusión de disoluciones de reactivos. Geles
- 7) Siembra de cristales
- 8) Sublimación
- 9) Gradientes térmicos
- 10) Enfriamiento de sólido fundido

19

Evaporación lenta del disolvente

- Método más sencillo
- Adecuado para compuestos de elevada solubilidad
- Necesaria cantidad de muestra suficiente
- Se prepara disolución saturada, se filtra, se lleva a vial adecuado y se tapa permitiendo salida lenta de disolvente



20

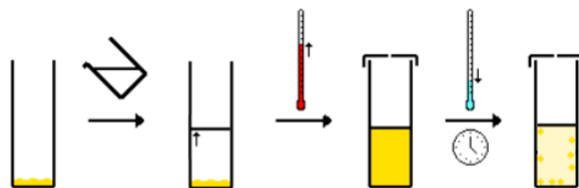
Evaporación lenta del disolvente

- No dejar que llegue a sequedad (pérdida de disolventes de cristalización, impurezas, formación de agregados, etc)
- Mejor tubos estrechos
- Tubos de RMN proporcionan unas condiciones adecuadas
- Cristales se adhieren a las paredes de vial dificultando su extracción

21

Enfriamiento lento de disoluciones saturadas

- Procedimiento muy sencillo que proporciona buenos resultados
- Sustancias que son más solubles a alta temperatura
- Útil cuando compuesto es soluble en la mayoría de disolventes (no se puede aplicar difusión de líquidos)
- Se prepara disolución saturada, se calienta casi a ebullición, se filtra, se lleva a vial adecuado y se deja enfriar lentamente



22

Enfriamiento lento de disoluciones saturadas

Para enfriamiento lento:

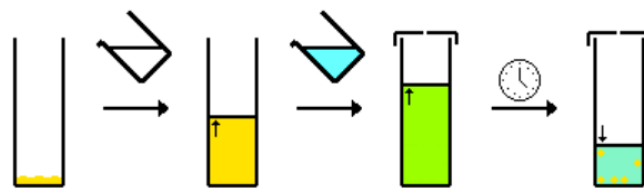
- Llevar disolución a un dewar con agua a temperatura pocos grados por debajo de ebullición durante varios días
- Dejar en reposo sobre la superficie caliente
- Si disolvente muy volátil retirar y colocarla sobre material aislante (corcho, etc)
- si a temperatura ambiente es muy soluble llevar a frigorífico

Evaporación lenta de una mezcla de 2 disolventes

- Para sustancias que son muy solubles en un disolvente (*buen disolvente*) e insolubles en un segundo disolvente (*disolvente pobre*)
- También se puede emplear: difusión de líquidos o difusión de vapor
- Disolventes deben ser miscibles
- *Buen* disolvente debe ser más volátil que disolvente *pobre*
- *Buenos* disolventes: cloroformo, diclorometano, éter dietílico, pentano
- Disolventes *pobres*: metanol, etanol, tolueno, heptano, acetonitrilo

Evaporación lenta de una mezcla de 2 disolventes

- Se prepara disolución saturada en el *buen* disolvente y se añade un pequeño volumen del disolvente *pobre* (si se enturbia se puede añadir un poco de *buen* disolvente)
- Se mezcla y se tapa dejando evaporar lentamente el disolvente



25

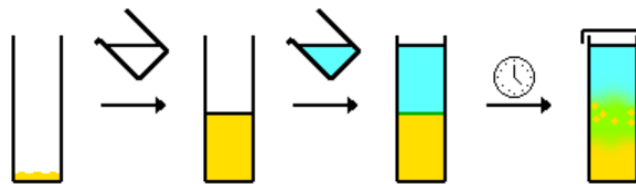
Difusión de líquidos

- Método de mayor éxito
- Para sustancias que son muy solubles en un disolvente (*buen* disolvente) e insolubles en un segundo disolvente (disolvente *pobre*)
- También se puede emplear: mezcla de 2 disolventes o difusión de vapor
- Disolventes deben ser miscibles. *Buen* disolvente debe ser más denso que disolvente *pobre*
- Adecuado con pequeñas cantidades de producto (miligramos)
- Mezclas de disolventes: aromáticos/alcanos, aromáticos/alcoholes o THF/hexano (THF tiende a desorden). Relación 1:4 o 1:5 en volumen disolvente/precipitante

26

Difusión de líquidos

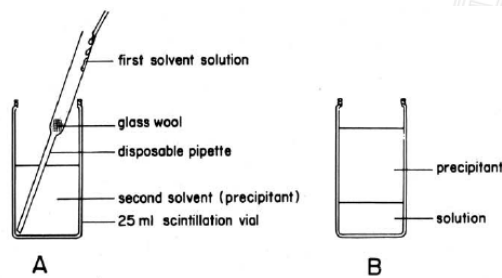
- Se coloca pequeña cantidad de disolución en un vial estrecho y se hace resbalar cuidadosamente por las paredes el precipitante
- Emplear una jeringa para que la adición sea lenta (no romper la interfase). Cuanto más estrecho sea el vial mejor (tubos de RMN)
- Se tapa y se deja en reposo al menos 24 horas
- Se forman cristales en la interfase a medida que difunde



27

Difusión de líquidos: Alternativa

- Poner primero el precipitante
- Adicionar después la disolución con pipeta Pasteur
- Hay menos mezcla en interfase
- Mezcla más lenta



28

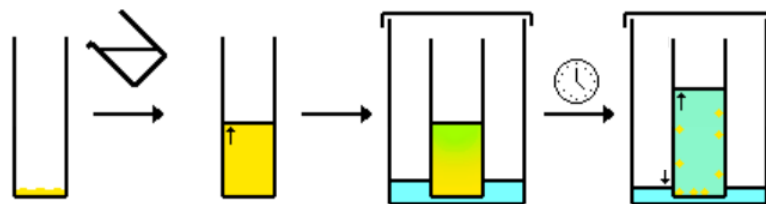
Difusión de vapor

- Para sustancias que son muy solubles en un disolvente (*buen disolvente*) e insolubles en un segundo disolvente (*disolvente pobre*)
- También se puede emplear: mezcla de 2 disolventes o difusión de líquidos
- El mismo principio que difusión de líquidos pero precipitante difunde en fase vapor
- Es el método que proporciona mejores resultados
- Adecuado con pequeñas cantidades de producto (miligramos)
- Se pueden poner varias cristalizaciones dentro del mismo recipiente
- Disolvente *pobre* debe ser relativamente volátil (pentano, hexano, éter dietílico)

29

Difusión de vapor

- Se coloca pequeña vial que contiene disolución en otro recipiente de mayor tamaño que contiene el disolvente *pobre*
- *Buenos* disolventes: diclorometano, cloroformo, benceno, tolueno, THF, metanol, acetonitrilo
- Mezclas de disolventes: cloroformo/éter, acetona/pentano, etc.



30

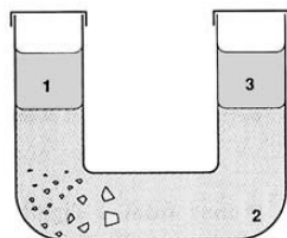
Difusión de reactivos

- Cuando la reacción entre dos disoluciones da lugar a precipitación del producto
- Adecuado para productos insolubles que una vez formados no vuelven a la disolución
- Montaje similar al de difusión de líquidos con reactivos en diferentes capas
- Cantidades de muestra pequeñas (miligramos)
- Se puede emplear tercer disolvente como capa intermedia para regular la concentración de reactivos

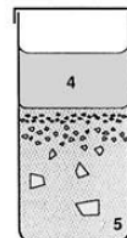
31

Cristalización con geles

- Se ha empleado para obtener cristales de productos insolubles obtenidos por reacción de dos disoluciones que difunden entre sí
- Típicamente un tubo en forma de U relleno del gel y por cada extremo se adiciona la disolución de un reactivo



Difusión de reactivos

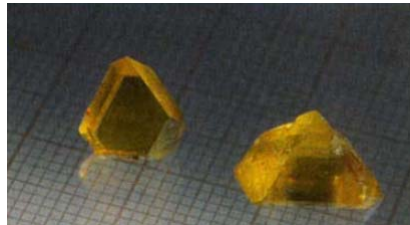


Difusión de líquidos

32

Cristalización con geles

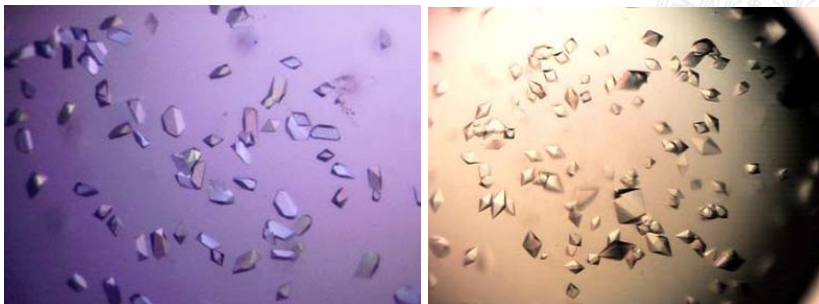
- Medio muy viscoso que favorece la cristalización lenta
- Las fases se mezclan principalmente por difusión (crecimiento de cristales dentro de un gel mediante transporte de masa controlado por difusión)
- Se minimizan los efectos de convección y sedimentación
- Se buscan condiciones que se aproximen a ausencia de gravedad



33

Siembra de cristales

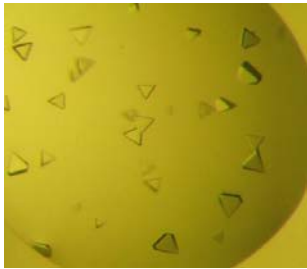
- Cuando tenemos cristales *buenos* pero muy pequeños
- Se pueden sembrar para obtener cristales por el método de evaporación lenta de disolvente o enfriamiento lento de disoluciones saturadas



34

Siembra de cristales

- Recoger los cristales junto con aguas madres con una pipeta
- Llevar a disolución saturada caliente



- Dejar enfriar lentamente
- Se pretende que el crecimiento del cristal ocurra preferentemente sobre el cristal sembrado
- A menor número de semillas mayor tamaño de cristales

Sublimación

- Se pueden obtener cristales de muy buena calidad
- Método poco empleado
- Para compuestos estables térmicamente
- Se requiere que compuesto tenga presión de vapor suficiente
- Calentar lo menos posible aplicando mayor vacío
- Se pueden emplear pequeñas cantidades
- Ejemplos: cafeína, ácido salicílico, ferroceno, etc.

Enfriamiento de sólido fundido

- No suele proporcionar buenos resultados
- Se obtiene sólido muy grande sin caras definidas
- Difícil prevenir la formación de maclas: a menudo resulta imposible separar cristales
- Cristales de baja calidad
- Es la única opción para algunos materiales inorgánicos
- Se funde el sólido y al enfriar cristaliza el sólido puro quedando las impurezas en la fase líquida
- Ejemplo: fabricación de semiconductores (Si ultrapuro)

37

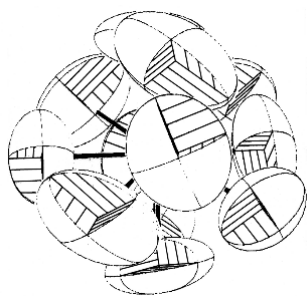
Gradiente térmico (convección)

- Crear un gradiente térmico en el vial donde crecerán los cristales
- La disolución se satura en la región caliente y el soluto emigra a la zona fría
- En la zona fría tiene lugar la nucleación y el crecimiento del cristal
- La velocidad de convección es proporcional a la magnitud del gradiente térmico
- Velocidades de convección elevadas inhiben la cristalización
- Calentamiento o enfriamiento local

38

Algunos consejos prácticos: Desorden

- Reducir desorden (contenido de todas las celdas unidad debe ser idéntico)
- Desorden proviene de grupos que rotan libremente u ocupan diferentes posiciones en diferentes celdas (se observa promedio)



- Iones pequeños de elevada simetría no participan en interacciones intensas y se desordenan: BF_4^- , ClO_4^- , PF_6^-
- Iones voluminosos son menos propensos a rotar libremente: picrato, BPh_4^- , $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{N}^+$

39

Algunos consejos prácticos: Desorden

- Grupos torsionalmente simétricos tienden al desorden: CH_3 y CF_3 unidos a carbonos sp^2
- Cadenas alquílicas largas se desordenan con frecuencia
- Sustituyente fenilo es la mejor opción
- Disolvente puede desordenarse: no participa en interacciones intensas (diclorometano, cloroformo)
- Disolvente puede incorporarse en la red cristalina (benceno, tolueno)

40

Algunos consejos prácticos: **Modificación Química**

- Compuestos iónicos: cambiando el contraión cambia la solubilidad y otras características del compuesto
- Los iones de tamaño semejante tienden a empaquetarse juntos mejor
- Emplear contraiones de geometrías rígidas: triflato, BPh_4^- , Me_4N^+ , $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{N}^+$
- Iones con elevada tendencia al desorden: Et_4N^+ , Bu_4N^+ , BF_4^- , PF_6^-
- Asegurarse de que el nuevo contraión no reacciona con el compuesto

Algunos consejos prácticos: **Modificación Química** (ionización de compuestos neutros)

- Compuesto neutro: si tiene grupos aceptores o dadores de protones considerar su ionización (protonación/desprotonación)
- La formación de puentes de hidrógeno mejora la formación de cristales
- Cambiar el contraión para optimizar el crecimiento del cristal
- Útil únicamente para confirmar la estructura (se alteran las propiedades electrónicas del compuesto)

Algunos consejos prácticos: **Cocrystalización**

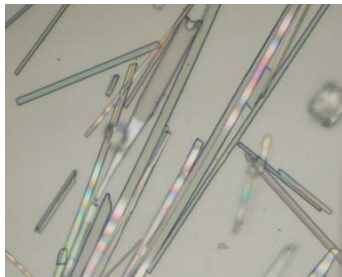
- A veces dos o más compuestos diferentes cocrystalizan (lo más habitual es una molécula de disolvente)
- Se puede recurrir a auxiliar de cristalización
- Ejemplo: evaporación lenta con óxido de trifenilfosfina para moléculas dadoras de protones

Cuestión de *actitud*

- Crecimiento de cristales es un *arte*, difícil, impredecible, lleva mucho tiempo y no se garantiza éxito
- No se conocen de antemano las mejores condiciones
- Probar diferentes técnicas de cristalización
- Anotar detalladamente las condiciones empleadas
- Calidad de cristales mejora con la experiencia: primeros intentos no satisfactorios
- Crecer cristales de calidad para rayos X requiere concentración, cuidado y atención a los detalles. Debe considerarse como parte del proyecto de investigación
- No escatimar en la cantidad de muestra

Selección y montaje del monocristal

- Retirar cristales de aguas madres
- Riesgo de pérdida de disolventes de cristalización o rotura de cristales
- Sumergir cristales en aceite inerte

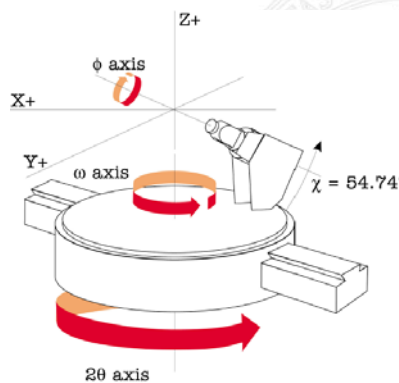
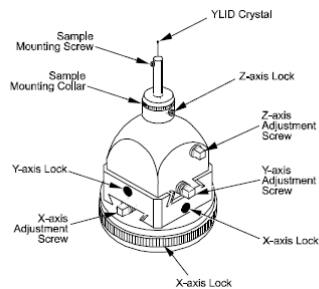


- Observar cristales con microscopio
- Luz polarizada permite identificar maclas
- Cortar cristal al tamaño adecuado

45

Selección y montaje del monocristal

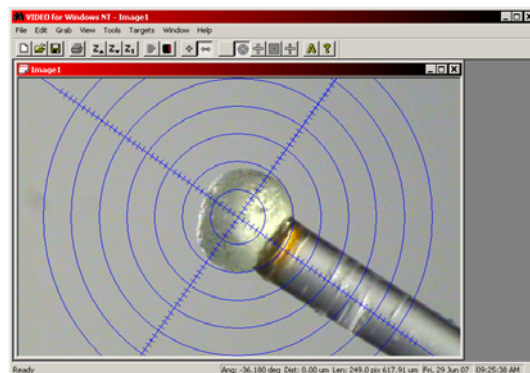
- Montar el cristal en un *pin*
- Situar el *pin* en la cabeza goniométrica y llevar al equipo
- Riesgo de caída del cristal



46

Selección y montaje del monocristal

- Centrado del cristal
- Medida de celda unidad y toma de datos



47

Conclusiones

- La calidad y precisión de los resultados depende directamente de la **calidad de los cristales**
- Se puede obtener información de una estructura cristalina *mala* pero será **difícil de publicar**
- El crecimiento de cristales es una parte muy importante del trabajo de investigación. Para tener éxito se necesita **tiempo y esfuerzo**
- Existen muchos disolventes y muchas técnicas de cristalización disponibles. **Úsalas**
- Cualquier **información** puede ser útil para la determinación de la estructura

48