

SCUOLA DI SCIENZE

Dipartimento di Chimica Industriale “Toso Montanari”

Corso di Laurea Magistrale in

**Chimica Industriale**

Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

**Il polimorfismo del paracetamolo:  
indagine mediante spettroscopia Raman  
e metodi computazionali**

Tesi di laurea sperimentale

**CANDIDATA**

Arianna Rivalta

**RELATORE**

**Chiar.mo Prof. Raffaele Guido Della Valle**

**CORRELATORE**

**Prof. Aldo Brillante**  
**Prof.ssa Elisabetta Venuti**  
**Dott. Tommaso Salzillo**

Sessione I



# Indice

<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>11</b>
1.1	Il polimorfismo . . . . .	11
1.2	Il polimorfismo in campo farmaceutico . . . . .	14
1.3	Il paracetamolo . . . . .	17
1.4	Il polimorfismo del paracetamolo . . . . .	18
1.5	Scopo della tesi . . . . .	20
<b>2</b>	<b>Metodi sperimentali e strumentazione</b>	<b>23</b>
2.1	Spettroscopia Raman . . . . .	23
2.1.1	Regole di selezione vibrazionali . . . . .	24
2.2	Spettroscopia dei cristalli molecolari . . . . .	25
2.2.1	Schema dello strumento . . . . .	26
2.2.2	Configurazione strumentale . . . . .	27
2.2.3	Raman mapping . . . . .	29
2.3	Metodi di crescita dei cristalli . . . . .	30
2.3.1	Metodi di cristallizzazione da soluzione . . . . .	32
2.3.2	Metodi di cristallizzazione da fuso . . . . .	32
2.3.3	Metodi di cristallizzazione da fase gas: sublimazione . . . . .	33
2.3.4	Metodi di cristallizzazione da fase gas: Trasporto di vapore fisico . . . . .	34
<b>3</b>	<b>Metodi e programmi di calcolo</b>	<b>35</b>
3.1	Metodi <i>ab-initio</i> : GAMESS . . . . .	35
3.2	Analisi cristallografica: PLATON . . . . .	36
3.3	Minimizzazione dell'energia reticolare per molecole rigide: WMIN . . . . .	37
3.4	Minimizzazione dell'energia reticolare per molecole flessibili: GULP . . . . .	37
3.5	Strategia di collaudo del modello di potenziale . . . . .	37
3.6	Calcolo delle frequenze reticolari: IONIC . . . . .	38
<b>4</b>	<b>Analisi delle informazioni di letteratura</b>	<b>41</b>
4.1	Strutture cristallografiche sperimentali in assi convenzionali . . . . .	41
4.1.1	Analisi del gruppo fattore . . . . .	43

4.1.2	Modello di potenziale . . . . .	44
<b>5</b>	<b>Risultati e discussione</b>	<b>47</b>
5.1	Cristallizzazione di paracetamolo da soluzione . . . . .	47
5.2	Cristallizzazione di paracetamolo da fuso . . . . .	50
5.3	Cristallizzazione di paracetamolo per sublimazione . . . . .	54
5.4	Campioni di amorfo e dell'elusiva forma III . . . . .	57
5.5	Spettri polarizzati . . . . .	67
5.5.1	Forma I . . . . .	67
5.5.2	Forma II . . . . .	69
5.5.3	Forma III . . . . .	71
<b>6</b>	<b>Risultati Computazionali</b>	<b>73</b>
6.1	Geometrie sperimentali nei cristalli . . . . .	73
6.2	Geometria <i>ab-initio</i> . . . . .	73
6.3	Vibrazioni intramolecolari <i>ab-initio</i> . . . . .	75
6.4	Cariche <i>ab-initio</i> . . . . .	76
6.5	Strutture cristallografiche di minima energia per molecole rigide . . . . .	76
6.6	Energia reticolare . . . . .	77
6.7	Frequenze vibrazionali dei modi reticolari . . . . .	78
6.8	Collaudo del modello di potenziale intramolecolare . . . . .	78
6.9	Barriere torsionali <i>ab-initio</i> . . . . .	80
<b>7</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>83</b>
	Bibliografia . . . . .	84



**Acronimi utilizzati**

API	Active Pharmaceutical Ingredients
CCD	Charge Coupled Devices
CIF	Crystallographic Information File
CSD	Cambridge Structural Database
DFT	Density Functional Theory
ESP	Electro-Static Potential
FDA	Food and Drug Administration
GAMESS	General Atomic and Molecular Electronic Structure System
GULP	General Utility Lattice Program
IUCr	International Union of Crystallography
LJ	Lennard-Jones
MC	Monte Carlo
MD	Molecular Dynamics
PVT	Physical Vapor Transport
RMA	Rigid Molecule Approximation
WMIN	W (potential) minimization
XRD	X-Ray Diffraction



# Abstract

The study of polymorphism has an important role in several fields of materials science, with relevant applications in technology and pharmaceuticals, due to the considerable differences in physico-chemical properties of the different structures. This work is focused on the study of polymorphism in paracetamol, a common active pharmaceutical ingredient (API), by means of micro-Raman spectroscopy. Confocal Raman Microscopy is a powerful, yet simple, technique for the investigation of crystal polymorphism in organic and inorganic materials, being capable of monitoring physical modifications, chemical transformation and phase inhomogeneities in crystal domains at the micrometer scale. Different crystalline polymorphs may be conveniently probed by their Raman spectra in the region of the lattice phonons ( $10 - 150 \text{ cm}^{-1}$ ), whose frequencies, probing the inter-molecular interactions, are very sensitive to even slight differences in the molecular packing. With this technique we characterized the form I, II, III (the elusive one) and several phase mixings of paracetamol on samples obtained with a variety of crystal growth techniques.

Structures and phonons of all the investigated polymorphs have been computed by lattice dynamics methods, to compare theoretical and experimental results and to assess the relative stability of the polymorphs. In our computational approach, we have tested whether a literature potential model (Dreiding force field [1]) could be used to describe the paracetamol molecule, the structures of its polymorphs and their vibrational spectra. Density functional theory (DFT) methods have been used for isolated molecule properties, while energy minimization and lattice dynamics methods have been employed for the crystal structures.



# Riassunto

Lo studio del polimorfismo gioca un ruolo fondamentale in diversi ambiti di ricerca, con applicazioni importanti nel campo dei semi conduttori organici e dei farmaci, dovuto al fatto che i diversi polimorfi di una sostanza presentano proprietà chimico-fisiche distinte. Questo lavoro di tesi si è focalizzato sullo studio del polimorfismo del paracetamolo, principio attivo (API) di diversi farmaci molto utilizzati, attraverso l'utilizzo della microscopia Raman. La microscopia Raman è una tecnica efficace per l'indagine del polimorfismo di materiali organici ed inorganici, in quanto permette di monitorare la presenza di diverse fasi solide e le loro trasformazioni su scala micrometrica. Le differenze di struttura cristallina che caratterizzano i polimorfi vengono analizzate attraverso gli spettri Raman nella regione dei modi reticolari ( $10 - 150 \text{ cm}^{-1}$ ), le cui frequenze sondano le interazioni inter-molecolari, molto sensibili anche a lievi differenze di impaccamento molecolare. Con questa tecnica abbiamo caratterizzato le forme I, II, III (quella elusiva) e diverse miscele di fase di paracetamolo su campioni ottenuti con numerose tecniche di crescita dei cristalli.

Per questa tesi è stato svolto anche uno studio computazionale, attraverso metodi *Density Functional Theory* (DFT) per la molecola isolata e metodi di minimizzazione dell'energia e di dinamica reticolare per i sistemi cristallini. È stato inoltre verificato se il modello di potenziale di letteratura scelto (Dreiding [1]) fosse adatto per descrivere la molecola di paracetamolo, le strutture dei suoi polimorfi e i relativi spettri vibrazionali.



# Capitolo 1

## Introduzione

### 1.1 Il polimorfismo

Il termine polimorfismo (dal greco *πολυ* “molto” e *μορφη* “forma”, quindi “avere molte forme”) è usato in diverse discipline. In campo cristallografico apparve per la prima volta agli inizi del 1800 per identificare e classificare le possibili diverse strutture cristalline dei sali di arseniato e fosfato.

Con lo scopo di ottenere una definizione onnicomprensiva, Walter McCrone (1965) [2] lavorò sull’enunciato e sulle sue relative eccezioni, valide tutt’oggi, definendo un polimorfo come “una fase solida cristallina di un dato composto, derivante dalla possibilità di avere almeno due diverse disposizioni delle molecole, di quel composto, allo stato solido” [3].

Siccome molto spesso le molecole sono caratterizzate da flessibilità, i polimorfi possono esistere sia come conseguenza di una diversa disposizione delle molecole nella cella elementare (*packing polymorphism*) che di una diversa conformazione molecolare (*conformational polymorphism*). Nel primo caso le molecole possiedono diverse disposizioni all’interno della cella cristallina, nel secondo caso invece presentano anche conformazioni differenti.

Di fatto, nell’identificazione di un sistema come polimorfico, un criterio affidabile potrebbe essere che le sue diverse strutture cristalline siano riconducibili tutte allo stesso stato liquido (o gassoso).

Anche i diversi tautomeri (o isomeri, diastereoisomeri, zwitterioni etc) di una molecola possono dar luogo a forme cristalline diverse con punti di fusione distinti e pertanto, di principio, assimilabili a polimorfi [4]. Tuttavia per la classificazione entrano in gioco fattori di tempo [5]. Infatti, solo cristalli di tautomeri che si interconvertono rapidamente nel fuso o in soluzione saranno classificati come polimorfi, mentre quelli la cui cinetica di interconversione è più lenta saranno classificati come composti chimicamente distinti. È evidente come in questa definizione ci sia una forte componente di soggettività e ambiguità, anche perché sia la composizione di equilibrio che la velocità con cui esso viene raggiunto

dipendono dalla temperatura dell'esperimento.

Sulla base di quanto detto, è chiaro come le opinioni su una definizione esaustiva del polimorfismo possano essere tuttora divergenti, tuttavia la formulazione iniziale di McCrone rimane sicuramente la più soddisfacente.

Prima di chiudere questa discussione sulla definizione del termine polimorfismo, è necessario chiarire la differenza tra polimorfismo e allotropia. Con il termine allotropia (dal greco *αλλοσ* "altro" e *τροπος* "modo") [6] si intende infatti la proprietà per cui alcuni elementi chimici possono esistere in diverse forme, note come allotropi. Coniata da Jons Jacob Berzelius, questa denominazione identifica specificamente la struttura del legame chimico esistente fra atomi dello stesso tipo. Comunemente si parla quindi di allotropia quando ci si riferisce a elementi puri allo stato solido, mentre il polimorfismo generalmente riguarda i composti. L'esempio forse più conosciuto, tra gli elementi che presentano forme allotropiche, è il carbonio nelle sue forme grafite, diamante, grafene, fullerene e nanotubi, per cui è facile percepire quanto possano differire le proprietà da una forma allotropica all'altra.

Esattamente come per le forme allotropiche, polimorfi diversi di un dato composto possono esibire importanti differenze nelle caratteristiche termodinamiche, chimico-fisiche e meccaniche.

Il polimorfismo è molto comune nei materiali di composti organici, dove le molecole essendo tenute insieme da forze di Van der Waals, deboli e non-direzionali, tendono a presentare numerose disposizioni alternative, con piccole differenze di struttura ed energia, che favoriscono il fenomeno.

L'interesse per il "material engineering" è particolarmente accentuato per quanto riguarda lo sviluppo di composti farmaceutici e dei nuovi dispositivi elettronici basati sui semiconduttori organici. Questi, quali aceni, oligotiofeni e rubrene, avrebbero il potenziale per sostituire i semiconduttori a base di silicio in diverse applicazioni; sebbene ancora troppo inefficienti, offrono diversi vantaggi e sono molto più economici. In questo campo è però richiesta, oltre a una elevata purezza chimica, anche una purezza "fisica", parametro importante per poter ottenere una fase omogenea e controllare le proprietà intrinseche del materiale, raggiungendo così prestazioni ottimali e riproducibili del dispositivo.

Il controllo del polimorfismo diventa quindi un argomento cruciale nei materiali per applicazioni di elettronica molecolare e fotonica (come transistor, diodi emettitori di luce, fotovoltaici, etc.) [7], in cui, pur in un sistema chimicamente puro, il polimorfismo può facilmente produrre phase mixing, ovvero la coesistenza di domini di fase diverse nello stesso campione sotto forma di cristallo o film sottile. Questo tipo di disordine produce effetti negativi sul trasporto di carica ed altre proprietà.

Un altro fenomeno che dobbiamo menzionare è il cosiddetto pseudo-polimorfismo. Definito anch'esso da McCrone nel 1965 [2], si verifica quando le diverse strutture cristalline di un determinato solido differiscono o nella natura o nella stechiometria delle molecole di



solvente incluse nel reticolo. Per quanto anche questa definizione abbia aperto un dibattito circa l'esatta distinzione fra i termini pseudo-polimorfo, co-cristallo e solvato, è stata fatta chiarezza su questi punti da Bernstein [5]. Secondo questo autore, quando più di una specie chimica è coinvolta nella formazione di una fase cristallina, si adottano nomi diversi per la fase in funzione dello stato fisico e della natura di uno dei componenti a temperatura ambiente. In particolare: se tutti i componenti si trovano puri allo stato solido in tale condizione, la fase sarà classificata come co-cristallo; se almeno uno dei componenti invece si trova come liquido la fase sarà classificata come solvato, o, più comunemente, come pseudo-polimorfo.

Recentemente c'è stato un crescente interesse per lo pseudo-polimorfismo dei cristalli solvati [8]. Sotto molti punti di vista, il confine fra pseudo-polimorfismo e polimorfismo è piuttosto labile, perché spesso solvente e composto formano una struttura chimica di natura supra-molecolare con proprietà specifiche. Modificando il rapporto stechiometrico fra i due si può provocare il collasso della struttura da ordinata ad una amorfa, oppure generarne una nuova, stabile o metastabile, in relazione al tipo e alla forza dell'interazione tra le specie coinvolte nonché a una serie complessa di parametri termodinamici e cinetici.

Attualmente è comunque comune che nella definizione più ampia di polimorfismo vengano comprese non solo le diverse forme cristalline di un composto, ma anche la possibilità che cristallizzi con molecole di solvente dando idrati e solvati, o in ultimo, una fase condensata amorfa e cioè non cristallina. I diversi casi sono illustrati in figura 1.1.

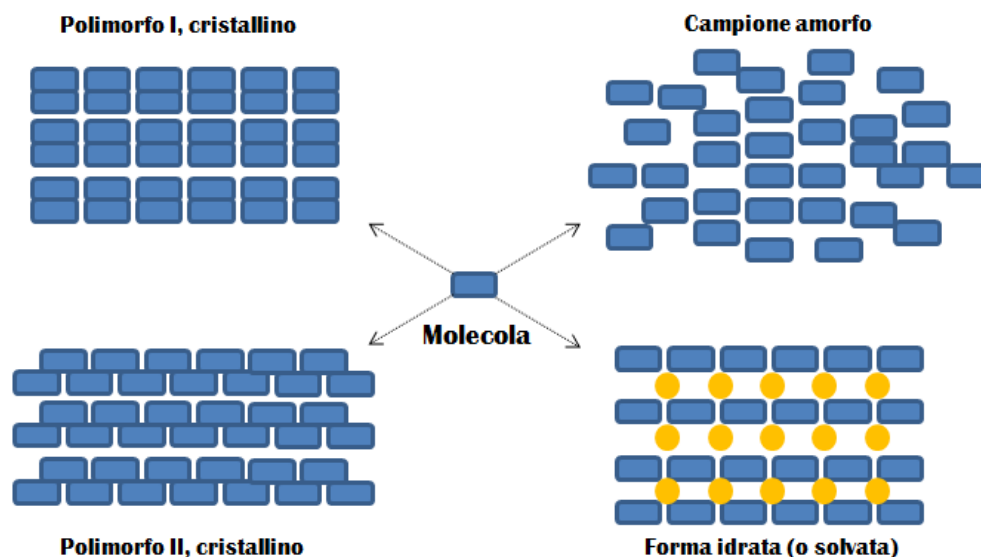


Figura 1.1: Esempio di possibili polimorfi e pseudo-polimorfi di un composto.

Un ulteriore fenomeno interessante, e contemporaneamente frustrante, legato al polimorfismo è l'elusività, ovvero la "scomparsa" del polimorfo. Si ritiene infatti che generalmente qualsiasi autentica forma cristallina dovrebbe essere riproducibile, anche se la selezione delle giuste condizioni sperimentali può richiedere tempo e fatica. L'elusività del polimorfismo si riferisce invece ad una situazione in cui la forma precedentemente pre-

parata non compare più dopo aver ottenuto la forma più stabile, fenomeno di cui si trovano numerosi esempi in letteratura. Nonostante una possibile spiegazione sia che l'ambiente venga contaminato da piccoli "micro-semi" [5], non è ancora chiaro quale ruolo svolga esattamente la nucleazione nella cristallizzazione e, successivamente, nella scomparsa del polimorfo [9].

## 1.2 Il polimorfismo in campo farmaceutico

Sebbene studiato da tempo, il polimorfismo dei cristalli molecolari rimane uno dei fenomeni più affascinanti della chimica dello stato solido. Esso rappresenta una sfida aperta all'idea stessa di poter progettare e costruire, in modo razionale, solidi cristallini con architetture e proprietà definite, partendo dalla conoscenza dei componenti molecolari utilizzati (*crystal engineering*) [10].

Allo stadio attuale la nostra capacità di controllare l'insorgenza e l'evoluzione del fenomeno è ancora relativamente aleatoria e in molti casi l'ottenimento di una forma cristallina piuttosto che un'altra è un risultato lasciato al caso e non il frutto di un processo sotto completo controllo umano. Questo controllo è importante in quanto, come accennato nel paragrafo precedente, il polimorfismo ha la prerogativa di influenzare drasticamente le proprietà meccaniche, fisiche e chimiche del materiale, quali solubilità, biodisponibilità [11, 12], igroscopicità, stabilità chimica, durezza, conducibilità termica ed elettrica, etc. Questa variabilità ha conseguenze notevoli sui possibili utilizzi del composto di interesse e per questo il fenomeno gioca un ruolo fondamentale in diversi ambiti scientifici quali quello dei semiconduttori organici, dei prodotti farmaceutici e dei coloranti e pigmenti. In aggiunta, va considerato che la struttura ottenuta può essere metastabile e trasformarsi in un'altra struttura termodinamicamente favorita in funzione di variabili ambientali quali temperatura, pressione e umidità, tutti fattori che influenzano anche il grado di solvatazione. La possibile interconversione fra le diverse forme di un prodotto ne influenza il tempo di vita e con esso il mantenimento delle caratteristiche desiderate, quali l'efficacia terapeutica nel caso di un farmaco o le proprietà cromatiche nel caso di un pigmento, poiché la forma cristallina di arrivo può avere proprietà drammaticamente diverse da quella di partenza.

Ottenere un particolare polimorfo in condizioni controllate e riproducibili non è sempre facile, come riporta un'ampia letteratura scientifica [5]. In campo farmaceutico l'esempio probabilmente più emblematico dell'impatto del polimorfismo è quello del Ritonavir (Norvir), farmaco per la cura dell'AIDS. Messo in commercio in una forma cristallina denominata forma I, ne è stato rimosso a causa della sua trasformazione in una fase termodinamicamente più stabile e molto meno solubile (forma II) [13]. Il cambiamento di fase avviene in modo repentino e in assenza di segnali premonitori. A parità di purezza chimica, la minore solubilità della forma II e le diverse caratteristiche di cinetica di solubilizzazione

ne influenzano drammaticamente la biodisponibilità [11, 12]. La società farmaceutica produttrice (Abbott) lavorò all'identificazione, l'isolamento e la caratterizzazione della forma II, e solo con il tempo fu chiaro il ruolo giocato dal polimorfismo, di fatto mai osservato precedentemente in quel contesto. L'impossibilità di ottenere una fase stabile con la voluta solubilità costrinse la Abbott a ritirare il farmaco dal mercato per un lungo periodo, per poi sostituire il Norvir con una formulazione diversa.

A seguito dell'episodio del Ritonavir, infatti, la comunità internazionale ha pienamente recepito l'importanza del fenomeno del polimorfismo. La Food and Drug Administration (FDA) richiede alle industrie farmaceutiche sia la mappatura il più possibile completa dei polimorfi (*polymorph screening*) dei principi attivi dei farmaci sottoposti a test clinici (e successivamente immessi sul mercato), che un monitoraggio continuo del processo di produzione. Lo European Patent Office (EPO) impone la caratterizzazione per diffrazione ai raggi X (XRD) per il brevetto su un farmaco che si presenti sotto forma di polvere cristallina. È evidente come il polimorfismo rappresenti un problema se si manifesta alla fine del percorso di valutazione di un farmaco, mentre costituisce un criterio di scelta se analizzato nelle fasi iniziali, perché permette di identificare la forma cristallina più adatta ai test clinici e quindi, in prospettiva, al mercato. Un cambio di forma cristallina in corso di sperimentazione fa ovviamente lievitare i costi e impone in genere nuovi test di biodisponibilità, termine di cui abbiamo parlato ma sul cui significato è necessario soffermarci.

Il fenomeno è di fatto molto comune in campo organico e farmaceutico (il 70% dei barbiturati, il 60% dei sulfamidici ed il 23% degli steroidi esistono in diverse forme polimorfe o solvate). Come dire che la termodinamica governa tutta l'industria farmaceutica e ciò che sembra più preoccupante è l'apparente scarso controllo che si può esercitare sui processi. Questa è la ragione per cui la ricerca e la caratterizzazione di polimorfi di una molecola, o degli aggregati della medesima con altre sostanze (cioè solvati e co-cristalli), riveste una particolare importanza in campo farmaceutico, consentendo la scelta razionale della forma solida più adatta di un nuovo farmaco.

La biodisponibilità è una delle principali proprietà farmacocinetiche del principio attivo. In farmacologia, il termine viene utilizzato per descrivere la frazione di farmaco somministrato che entra in circolazione nel sistema, senza subire alcuna modificazione chimica rispetto al totale somministrato, ma anche la velocità con cui il farmaco è reso disponibile all'organismo, vedi figura 1.2.

Svariati fattori fisiologici possono ridurre la biodisponibilità di un farmaco, ma entrano in gioco anche le sue proprietà chimico-fisiche come per esempio la solubilità, e la formulazione del medicinale, con gli eccipienti usati e i processi produttivi a cui è stato sottoposto. Concettualmente è importante sottolineare che mentre polimorfi e solvati sono diversi, differendo in struttura ed altre caratteristiche chimico-fisiche, sono tuttavia indistinguibili da un punto di vista farmacologico, contenendo lo stesso principio attivo. È tuttavia necessario verificare se fra i vari polimorfi sussiste un'equivalenza terapeutica o se

le differenze sono tali da modificare la biodisponibilità del farmaco. Questa informazione è essenziale perché la FDA approvi un nuovo farmaco.

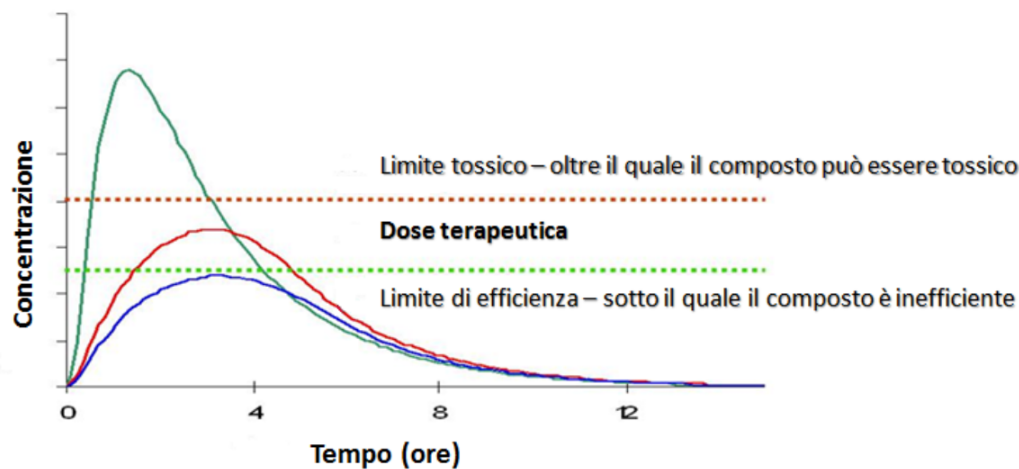


Figura 1.2: Effetti della biodisponibilità per un caso generico.

Riassumendo, lo studio del polimorfismo in campo farmaceutico ha molteplici finalità:

- completa la conoscenza delle caratteristiche chimiche e fisiche di un principio attivo;
- evita l'incremento del prezzo del prodotto dovuto alla scoperta tardiva di una forma cristallina non prevista;
- evita rischi sulla salute delle persone;
- motivi brevettuali, perché ciascun polimorfo è brevettabile indipendentemente.

Quando si parla di studio, o mappa, del polimorfismo (*polymorph screening*) si intende una ricerca attiva delle forme cristalline, solvate ed amorfe di un determinato principio attivo con lo scopo duplice di individuarne, possibilmente, la forma termodinamicamente più stabile e di raccogliere quante più informazioni sulla esistenza di forme cristalline enantiotropiche (che si interconvertono attraverso una transizione di fase reversibile) o monotropiche (che si interconvertono in modo irreversibile) e di forme amorfe e solvate.

Il *polymorph screening* richiede l'utilizzo combinato di diverse tecniche per lo studio dello stato solido. La tecnica di elezione è spesso la diffrazione a raggi X che fornisce una conoscenza esatta della stereo-geometria e della distribuzione delle molecole nel cristallo, ma è più dispendiosa in termini di tempo. Fondamentali sono anche altri tipi di misure, come microscopia, calorimetria a scansione differenziale (DSC), termogravimetria (TGA), spettroscopia Raman e infrarosso (IR) e spettroscopia di risonanza magnetica allo stato solido (SSNMR), volte alla caratterizzazione strutturale e allo studio del diagramma di fase della sostanza. Fra le variabili del sistema in grado di influenzare o determinare il processo di cristallizzazione ci sono ovviamente temperatura, pressione, solventi da cui si separa la fase solida ma anche condizioni di formazione del precipitato, permanenza di una

fase solida in atmosfera controllata del vapore di un solvente e sollecitazione meccaniche quali la macinazione e lo stress. Il modo più efficace di procedere è quello di valutare l'effetto sulle diverse fasi variando ed analizzando una variabile alla volta.

Tutti i protocolli di *screening* richiedono in primo luogo l'identificazione delle relazioni enantiotropiche tra polimorfi e successivamente la ricerca di forme cristalline monotropiche che possano essere ottenute mutando le condizioni di cristallizzazione, in particolare il solvente o la miscela di solventi. I risultati sono spesso inaspettati e il quadro che ne deriva è complesso, dando ragione di nuovo a McCrone [2] che sullo studio del polimorfismo disse:

*“It is at least this author’s opinion that every compound has different polymorphic forms and that, in general, the number of forms known for each compound is proportional to the time and money spent in research on that compound.”*

### 1.3 Il paracetamolo

Il paracetamolo (o acetaminofene o N-acetil-para-amminofenolo), rappresentato in figura 1.3, è un'ammide aromatica acilata utilizzata in medicina come analgesico e antipiretico di largo impiego. Costituisce il principio attivo (API) di prodotti con nomi commerciali quali la Tachipirina e l'Efferalgan e viene inoltre utilizzato in numerosi preparati, anche in associazione ad altre sostanze, per il trattamento di forme virali da raffreddamento o del dolore acuto e cronico [14].

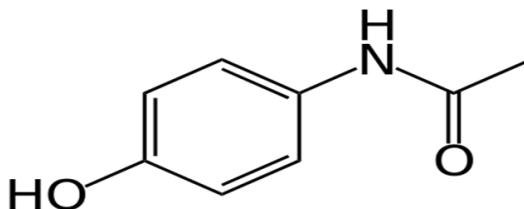


Figura 1.3: Molecola del paracetamolo.

Il paracetamolo viene sintetizzato per riduzione di *p*-nitrofenolo ad opera dello stagno in acido acetico anidro e la molecola di *p*-amminofenolo che si forma viene immediatamente acetilata.

La sintesi ad opera di Harmon Northrop Morse risale al 1878, ma solo dopo diversi anni ne è cominciato l'uso in campo medico. Inizialmente infatti si usavano come antipiretici i derivati dell'anilina acetanilide e fenacetina, entrambi piuttosto tossici per l'uomo, i cui effetti benefici derivavano proprio dal fatto di essere trasformati dall'organismo in paracetamolo. Il paracetamolo era dunque il cosiddetto metabolita attivo dei precursori acetanilide e fenacetina [15]. Rispetto a questi, il paracetamolo non presenta gastrolesività e nefrotossicità ed è anche più facile da sintetizzare. In commercio dal 1949, è il farmaco più utilizzato dopo l'Aspirina e, ad oggi, l'unico analgesico derivato dall'anilina che

si continui ad usare in clinica. Inoltre, si può assumere attraverso diverse vie presentando sempre una elevata biodisponibilità.

Nonostante sia notevolmente sicuro in dosi standard, non è raro trovare in letteratura casi di overdose [16], causati dalla sua facile reperibilità. A livello del fegato la molecola viene trasformata in un metabolita che si è rivelato tossico per il tessuto epatico ma alle dosi comunemente impiegate i rischi di epatotossicità sono nulli, e la sua assunzione non ha di fatto controindicazioni.

La molecola del paracetamolo è costituita da un'ammina e un gruppo ossidrilico, entrambi forti donatori nei legami ad idrogeno, nonché un gruppo carbonilico, che è considerato un buon accettore. Il gruppo ossidrilico è però allo stesso tempo anche un debole accettore. Anche sulla base della sua natura chimica, per questo API è facile ipotizzare la formazione di diversi polimorfi [17].

## 1.4 Il polimorfismo del paracetamolo

Del paracetamolo sono attualmente noti tre polimorfi denominati rispettivamente forma I, II e III. Le celle elementari delle tre forme sono mostrate in figura 1.4 e rappresentano casi di packing polymorphism (disposizioni diverse di un unico conformero) [9].

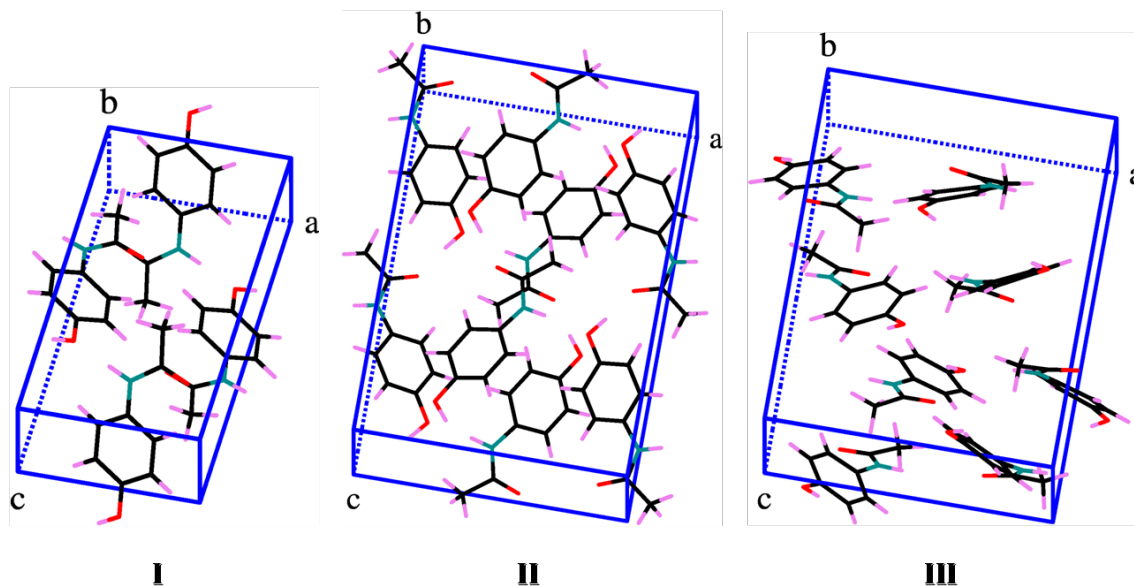


Figura 1.4: Strutture cristallografiche dei tre polimorfi noti del paracetamolo.

La *forma I*, termodinamicamente la più stabile a temperatura ambiente, è utilizzata abitualmente per le formulazioni in campo farmaceutico nonostante le sue scarse proprietà di densificazione che richiedono un processo di granulazione umido per creare la compressa (tableting) [17]. Questo è dovuto alla mancanza di piani di sfaldatura nella sua struttura cristallina, prerequisito per la deformazione plastica nella compattazione. La necessaria

aggiunta di eccipienti alla compressa di forma I ne aumenta il costo in termini di consumo di tempo e di materiali [18].

La *forma II* è invece la fase metastabile ottenuta per la prima volta da Haisa nel 1974 [19] (con metodo però poco riproducibile) tramite lenta evaporazione da soluzione di etanolo. In questo polimorfo non vi sono molecole interposte tra i piani paralleli, che potrebbero pertanto comportarsi come piani di sfaldatura, rendendo così possibile la deformazione plastica. La maggiore densità rispetto alla forma I e i piani di sfaldatura ne facilitano la frammentazione a bassa pressione e il basso recupero elastico durante la decompressione, favorendone la compressione, passo fondamentale nel processo di ottenimento della compressa. La maggiore densità rende la forma II anche facilmente riproducibile per applicazione di alta pressione, che indirizza verso un'efficiente disposizione delle molecole nella cella cristallina [17, 20].

Per tutti questi motivi, il polimorfo II può avere numerosi vantaggi di lavorazione rispetto alla forma I ed essendo metastabile presenta anche una maggiore solubilità in acqua.

La *forma III* è il polimorfo più instabile finora trovato. Scoperto nel 1982, si tratta di una forma elusiva che fin dai primi studi è apparsa come instabile all'aria, in quanto sintetizzata in atmosfera inerte, per cui necessitava di essere formata ed analizzata in situ nello strumento utilizzato. Mentre per le forme I e II, più stabili e conosciute da più tempo, esiste un'ampia letteratura, per questa forma rimangono ancora diverse perplessità sia sulle metodologie di ottenimento che sulle caratteristiche chimico-fisiche. Mentre la sua densità è nota, non lo è la sua solubilità in acqua e il suo punto di fusione è stato fino a poco tempo fa oggetto di discussione [17], in quanto questa forma subisce una transizione solido-solido durante al riscaldamento per passare dall'amorfo alla forma II [21]. La struttura cristallina è stata determinata solo nel 2009 in uno studio in cui si sono utilizzate sia PXRD (powder X-ray diffraction) che strategie di predizione delle strutture cristalline [21]. Lo stesso studio ha dimostrato che le strutture cristalline delle forme II e III sono topologicamente equivalenti e sono costituite da strati bidimensionali di molecole interagenti tramite legami a ponte di idrogeno. Le due strutture differiscono tuttavia per gli angoli di inclinazione fra gli anelli benzenici e altre caratteristiche strutturali. Tramite queste strategie è stata inoltre ipotizzata una possibile forma IV di transizione tra la I e la II [22, 23].

Il comportamento del paracetamolo, come spesso accade nel fenomeno del polimorfismo, dipende fortemente da minime variazioni nelle condizioni sperimentali che possono portare alla formazione delle varie forme. La figura 1.5 riassume le possibili transizioni di fase.

Oltre alle tre forme elencate, il paracetamolo presenta forme idrate: una fase monoidrata, una diidrata (ottenuta sotto pressione) e una triidrata, oltre a moltissimi co-cristalli. La co-cristallizzazione è stata infatti utilizzata come strategia per generare forme stabili di paracetamolo contenenti piani di sfaldatura, in modo da riprodurre proprietà simili, in fase

di tableting, a quelle del polimorfo II [17].

Nonostante sia molto studiato, ci sono aspetti del polimorfismo del paracetamolo che devono ancora essere delucidati, come ad esempio le condizioni della trasformazione della forma II nella I, importante per il suo grande potenziale commerciale e rimane pertanto un argomento di ricerca ancora molto interessante, con domande ancora senza risposta.

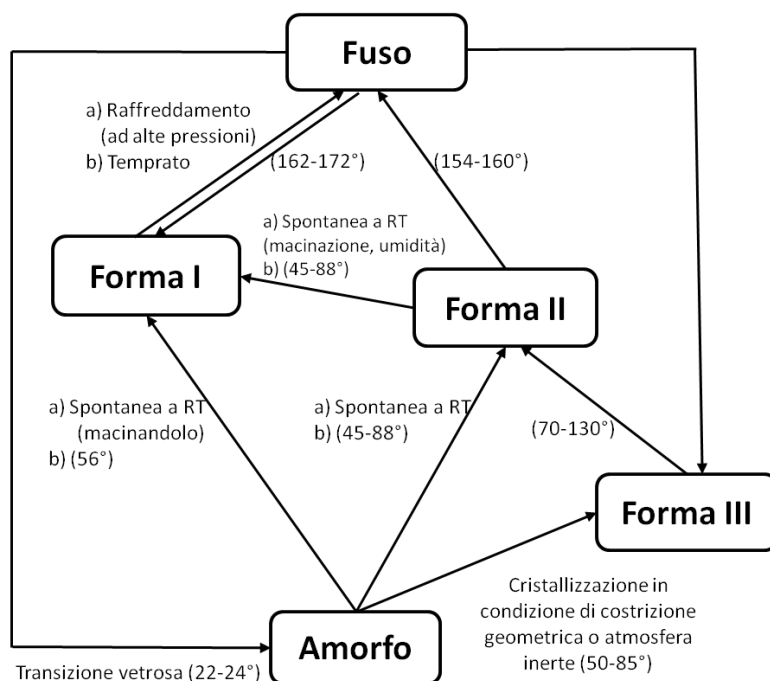


Figura 1.5: Schema riassuntivo di alcune delle trasformazioni dei polimorfi del paracetamolo.

## 1.5 Scopo della tesi

La presente tesi è dedicata a un'indagine sperimentale e computazionale del polimorfismo del paracetamolo. Dal punto di vista sperimentale ci siamo dedicati a collaudare e a mettere a punto le metodiche di preparazione dei cristalli (da soluzione, da fusso, per sublimazione da vapore), utilizzando in modo intensivo la microscopia Raman per identificare le varie forme (I, II, III e amorfo), per studiarne le proprietà e per seguire i processi con cui si trasformano una nell'altra. L'analisi dello spettro Raman costituisce un metodo veloce e non invasivo per l'identificazione non ambigua della fase e, attraverso la mappatura spaziale dei campioni permette di individuare l'eventuale presenza nello stesso campione di domini di fasi diverse ("phase mixing") con una risoluzione spaziale fino a 1  $\mu\text{m}$  [7].

Dal punto di vista computazionale ci siamo dedicati a verificare se un modello di potenziale di letteratura (il campo di forze DREIDING [1]) in grado di descrivere la geometria della molecola di paracetamolo, la struttura dei suoi vari polimorfi e i loro spettri vibrazionali, utilizzando calcoli con metodi *Density Functional Theory* (DFT) per la molecola isolata, e metodi di minimizzazione dell'energia e di dinamica reticolare per i sistemi cristallini. Modelli e metodi in grado di prevedere le proprietà di un materiale cristallino stanno



acquistando un peso sempre maggiore in campo scientifico e industriale, perché permettono di predire il comportamento di una specie chimica ancor prima di averla sintetizzata e studiata, con un notevole risparmio di costi e tempo.



# Capitolo 2

## Metodi sperimentali e strumentazione

### 2.1 Spettroscopia Raman

Nella spettroscopia Raman si misura lo scattering anelastico di una radiazione monocromatica che interagisce con il campione. A seguito di questo evento, definito effetto Raman, una porzione molto piccola della radiazione incidente (ca  $10^{-5}$  %) subisce uno shift in energia dovuto all'interazione fra il campo elettromagnetico e i livelli vibrazionali del sistema. L'analisi della radiazione diffusa produce un profilo spettrale caratteristico del composto esaminato.

Questa spettroscopia si differenzia dalla spettroscopia vibrazionale di assorbimento IR in quanto la radiazione (nell'intervallo delle lunghezze d'onda da UV-Vis al vicino IR) non viene assorbita dal sistema promuovendolo direttamente a uno stato eccitato, bensì raggiunge uno stato virtuale, da cui viene diffusa in modo anelastico.

L'interazione luce-materia può essere descritta come la collisione tra un fotone incidente e la molecola o un reticolo cristallino che vibrano. Il processo di diffusione può essere schematizzato nel modo seguente:

- se la diffusione avviene per interazione *elastica*, l'energia del fotone si conserva: questo fenomeno è noto come *diffusione o scattering Rayleigh* e costituisce l'evento più probabile.
- se la diffusione è conseguenza di una interazione di tipo *anelastico*, si ha un trasferimento di energia dal fotone al sistema pari a un quanto vibrazionale del sistema stesso: questo fenomeno è appunto la *diffusione (scattering) o effetto Raman* e avviene su un numero assai limitato di eventi ( $10^{-5}$  %) [24].

Nelle collisioni anelastiche, quindi, la variazione in energia dei fotoni diffusi corrisponderà esattamente alla differenza in energia fra due livelli vibrazionali della molecola o del solido cristallino. Se in seguito alla collisione l'energia del sistema materiale è aumentata l'energia dei fotoni scatterati risulterà diminuita della stessa quantità. Le corrispondenti

linee spettrali vengono definite *Stokes*. Se in seguito alla collisione l'energia del sistema materiale è invece diminuita, l'energia dei fotoni scatterati risulterà incrementata della stessa quantità. Le linee corrispondenti spettrali vengono definite *anti-Stokes*. Questi processi sono schematizzati nella figura 2.1, dove mostriamo anche lo spettro Raman che ne risulta. Si noti che lo spettro è plottato rispetto alla frequenza della riga eccitatrice, in modo tale che la banda Rayleigh cade a  $0 \text{ cm}^{-1}$ . Su questa scala la posizione delle bande si colloca a numeri d'onda che corrispondono a quelli della transizione vibrazionale.

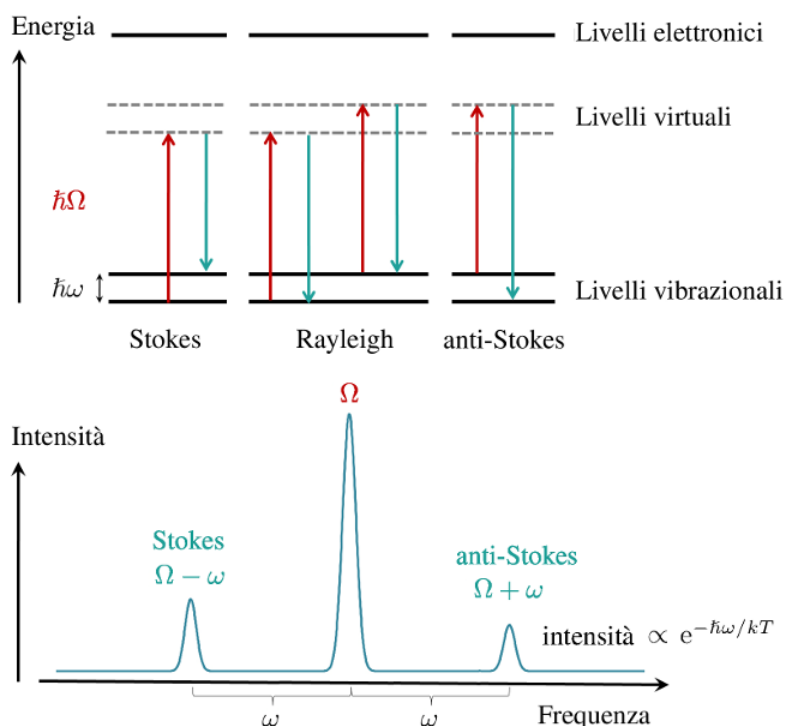


Figura 2.1: In alto: Rappresentazione delle diverse interazioni possibili nello scattering Raman. La luce diffusa è spostata verso energie minori (bande Stokes) o maggiori (bande anti-Stokes) rispetto alla radiazione incidente. In basso: spettro Raman che ne risulta. Le bande Stokes e anti-Stokes hanno posizione simmetrica rispetto alla banda Rayleigh.

### 2.1.1 Regole di selezione vibrazionali

Le regole di selezione sono criteri, basati sulla simmetria dei modi vibrazionali, grazie ai quali è possibile prevedere se un modo è attivo in Raman o in IR. Un modo è attivo in IR se comporta una variazione del momento di dipolo e attivo in Raman se comporta una variazione della polarizzabilità. Le spettroscopie IR e Raman sono caratterizzate da regole di selezione differenti e, di conseguenza, spesso restituiscono informazioni complementari.

Nel caso molto comune di sistemi appartenenti a gruppi di simmetria con centro di inversione, i modi vibrazionali di tipo *gerade* o *g* (simmetrici rispetto al centro di inversione) risultano permessi in Raman e proibiti in IR, e viceversa i modi antisimmetrici di tipo *ungerade* o *u* sono permessi in IR e proibiti in Raman. Questa regola viene definita principio di mutua esclusione IR/Raman e illustra il caso in cui le due spettroscopie sono

complementari. In tutti gli altri casi può esserci una parziale o totale sovrapposizione delle bande dei due tipi di spettri.

## 2.2 Spettroscopia dei cristalli molecolari

La spettroscopia Raman può essere utilizzata sia in modo qualitativo che quantitativo fornendo informazioni di natura chimica che vanno dall'identificazione dei gruppi funzionali di una struttura molecolare fino a più complesse applicazioni nella scienza dei materiali [25, 26].

Per gli scopi di questa tesi siamo interessati solo alle applicazioni nello studio dei cristalli molecolari organici. Questi sono cristalli in cui le molecole costituiscono unità ben riconoscibili e in cui le interazioni intermolecolari (legami a idrogeno e forze di Van der Waals) sono meno intense di quelle intramolecolari (legami covalenti). A questa classificazione tra interazioni inter- e intra-molecolari corrisponde la distinzione dei modi di vibrazione del cristallo in due gruppi: modi "reticolari", tipicamente a frequenze tra 10 e  $150\text{ cm}^{-1}$ , e modi "intramolecolari" a frequenze generalmente più alte. I modi reticolari originano dai gradi di libertà traslazionali e rotazionali delle molecole nel cristallo, cioè sono modi in cui, per effetto delle interazioni intramolecolari, le molecole traslano e ruotano in modo organizzato, senza praticamente deformarsi. I modi intramolecolari, invece, corrispondono ai modi di vibrazione della molecola isolata, combinati e leggermente perturbati dalle interazioni nel cristallo. Per questo motivo i modi intramolecolari normalmente variano pochissimo tra polimorfi diversi della stessa molecola, mentre i modi reticolari sono particolarmente sensibili ai dettagli dell'impacchettamento cristallografico e quindi differiscono in modo evidente tra i vari polimorfi, molto di più di quanto facciano i modi intramolecolari.

Di conseguenza, gli spettri nella regione dei modi intramolecolari permettono di identificare con sicurezza le specie molecolari coinvolte, mentre gli spettri nella regione dei modi reticolari permettono di distinguere tra loro i vari polimorfi. In conclusione, tra le molte applicazioni che offre la spettroscopia, per l'analisi del polimorfismo ci siamo focalizzati principalmente sulle seguenti:

- Informazioni di natura chimica - dall'analisi dei modi vibrazionali dei modi intramolecolari;
- Informazioni su dinamica e struttura del reticolo cristallino - dall'analisi dei modi reticolari [7, 27];
- Informazioni su ordine molecolare, anisotropia, allineamento e auto-organizzazione molecolare in domini cristallini - da misure in luce polarizzata [7, 28];

- Informazioni su distribuzione spaziale delle disomogeneità strutturali chimiche e fisiche - per mezzo di Raman mapping con risoluzione spaziale micrometrica [7, 29].

### 2.2.1 Schema dello strumento

Per la registrazione del segnale Raman è necessario un apparato sperimentale (figura 2.2) composto da:

- una sorgente eccitatrice;
- un sistema di filtraggio della riga Rayleigh;
- un elemento dispersivo (uno o più reticoli di diffrazione);
- un sistema di focalizzazione sul campione;
- un rivelatore;
- un sistema di analisi dati.

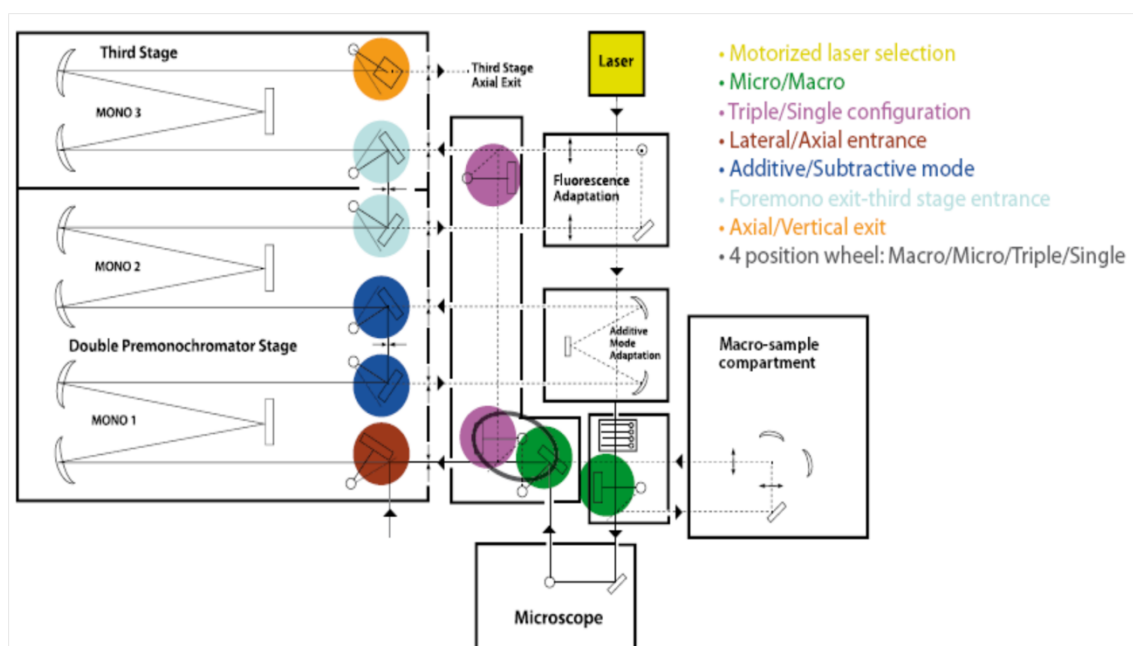


Figura 2.2: Schema di uno spettrometro Raman basato su un triplo monocromatore con reticoli di diffrazione.

La scelta della sorgente eccitatrice è dettata dalla necessità di massimizzare il segnale Raman, intrinsecamente debole e per questa ragione è necessario l'uso della radiazione monocromatica di un sistema laser. Un fattore importante che condiziona la scelta della lunghezza d'onda è la presenza di emissione di fluorescenza, che può sovrapporsi alle bande Raman. Per evitare questo fenomeno è necessario utilizzare sorgenti con energie di eccitazione inferiori rispetto alle transizioni elettroniche della molecola in esame. Sono comunemente utilizzate sorgenti nella regione del visibile come laser ad  $\text{Ar}^+$  (verde/blu), o

a  $\text{Kr}^+$  (rosso/giallo), oppure nel vicino infrarosso come ad esempio laser a diodi ( $\lambda = 800$  nm). L'intensità del segnale Raman è proporzionale alla quarta potenza della frequenza della radiazione incidente. La situazione ideale prevede quindi di scegliere la minore lunghezza d'onda laser che non venga assorbita, limitando anche altri processi quali la degradazione del campione per effetto termico o fotochimico. Con questo criterio nei nostri esperimenti abbiamo scelto di usare prevalentemente un laser a  $\text{Kr}^+$  con  $\lambda = 647.1$  nm raffreddato ad acqua (Coherent, Innova 90 C). Scelte diverse vengono dettate dalla necessità di lavorare in condizioni di Raman risonante o pre-risonante per aumentare l'intensità di alcune bande.

L'elemento disperdente permette la risoluzione in lunghezza d'onda della radiazione diffusa. La maggior parte degli strumenti Raman è di tipo dispersivo e utilizza uno o più reticoli di diffrazione olografici, eventualmente associati a diversi tipi di filtri dielettrici o Notch olografici per eliminare la banda Rayleigh. Un requisito importante del sistema è la luminosità, ovvero la quantità di luce trasmessa.

I rivelatori di segnale definiti Charge-Coupled Devices (CCD) sono stata una grande innovazione nella spettroscopia Raman in quanto rispetto ai precedenti presentano un rumore minore con un'elevata efficienza quantica. Gli ultimi modelli in commercio hanno prestazioni eccezionali, con un rapporto segnale/rumore di circa un fotoelettrone/pixel/ora.

Il loro funzionamento si basa sulla raccolta delle cariche fotogenerate dalla superficie sensibile del rivelatore su una serie di pixel. La carica viene accumulata e trasportata sequenzialmente durante la lettura in un sensore e in un amplificatore d'uscita. Gli elementi sensibili possono essere disposti in matrici sia unidimensionali che bidimensionali, con un elevato numero di pixel. Il picco di efficienza quantica copre l'intero intervallo spettrale normalmente utilizzato in Raman.

Fra i numerosi vantaggi che offrono questi rivelatori, rispetto ai fotomoltiplicatori utilizzati in passato, vi è che questa configurazione permette non solo di acquisire simultaneamente tutte le lunghezze d'onda di interesse, ma anche spettri da campioni differenti con un solo strumento.

### 2.2.2 Configurazione strumentale

Come accennato nel paragrafo precedente, gli spettrometri Raman possono differenziarsi nella configurazione ottica e nei componenti, in funzione del tipo di analisi che si deve condurre. Attualmente le categorie più diffuse in commercio sono strumenti con singolo monocromatore + filtro notch e camera CCD (usati comunemente per applicazioni analitiche, anche in configurazione portatile) e strumenti con triplo monocromatore con CCD.

Lo strumento impiegato in questo lavoro di tesi per ottenere gli spettri Raman a bassi numeri d'onda ( $10\text{-}150\text{ cm}^{-1}$ ) è uno spettrofotometro Horiba Jobin-Yvon T64000 (vedi figura 2.3) interfacciato a un microscopio Olympus BX40 e con rivelatore CCD. Lo spet-

trometro è configurato con un sistema di tre monocromatori in modalità doppio sottrattivo + additivo, per permettere un'efficiente sottrazione dello scattering Rayleigh della riga eccitatrice (vedi figura 2.4). Come sorgente eccitatrice si è usata la riga a 647.1 nm di un laser a ioni kripton. Per la misura degli spettri dei modi intramolecolari, a più elevati numeri d'onda, si è preferito l'uso di un microspettrometro Renishaw SYSTEM 1000, dotato di un monocromatore + filtro Notch. In questo caso si è usata la riga eccitatrice a 514.5 nm di un laser a ioni argon.

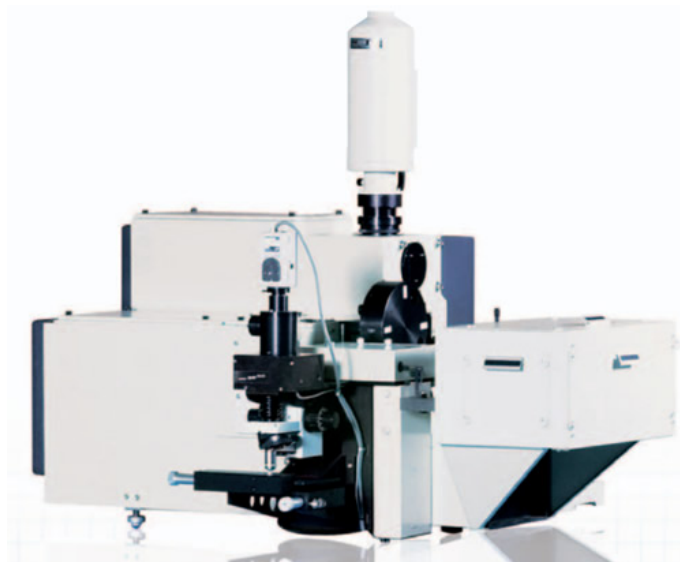


Figura 2.3: Spettrometro Raman Horiba Jobin Yvon T64000.

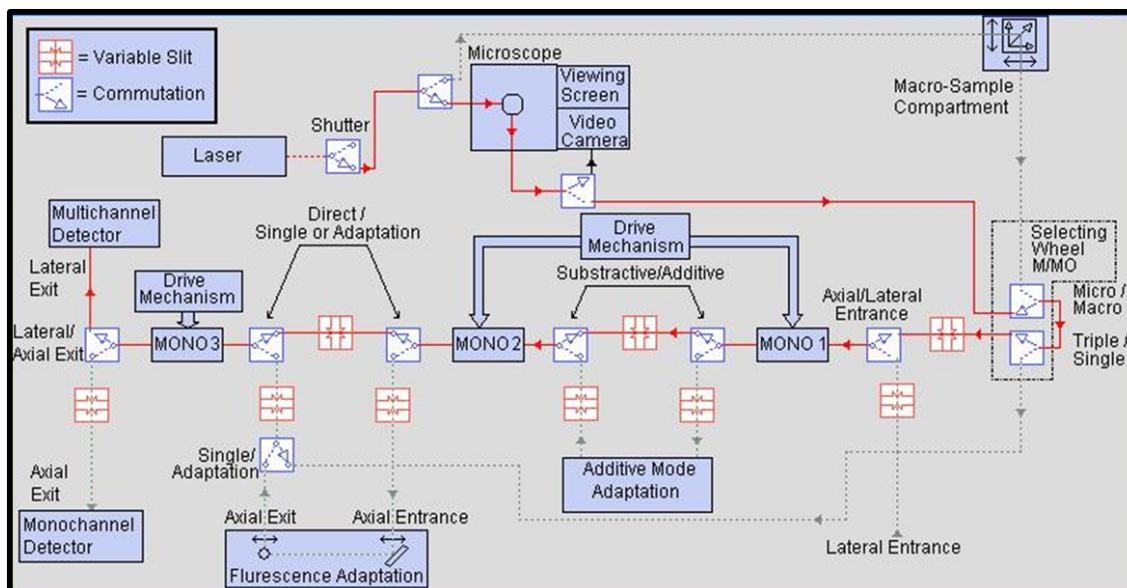


Figura 2.4: Schema dello spettrometro Raman T64000 (Horiba Jobin-Yvon): triplo monocromatore in configurazione sottrattiva + doppio additiva.

Lo spettrometro T64000 non solo ci ha permesso di lavorare molto vicino alla riga eccitatrice ma ha anche un'elevata risoluzione e versatilità per esperimenti di micro spettroscopia ottica.



Un ulteriore vantaggio dello strumento è la possibilità di lavorare in microscopia confocale grazie all'accoppiamento con il microscopio ottico Olympus corredato da quattro obiettivi (10×, 20×, 50×, 100×). Gli spettri Raman vengono così registrati a risoluzioni spaziali  $\leq 1\mu\text{m}$ . L'effetto della configurazione confocale, ottenuta tramite l'introduzione di un pinhole (figura 2.5), è l'eliminazione della luce diffusa dai piani al di fuori di quello focale XY. Di fatto il campione viene eccitato in uno spot di dimensioni micrometriche generando un'immagine spettrale che idealmente è puntiforme sulla superficie del detector. Questo si traduce quindi nella possibilità di discriminazione del segnale lungo l'asse Z (risoluzione verticale, lungo lo spessore del campione), a cui si accompagna la discriminazione sul piano XY.

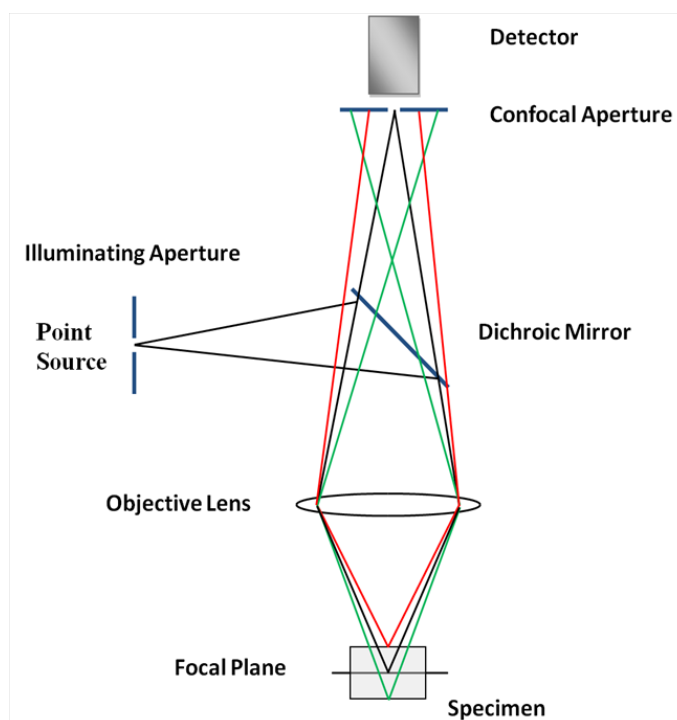


Figura 2.5: Schema ottico di un microscopio confocale ed effetto dell'ottica confocale sulla profondità di campo. Lo scattering viene raccolto esclusivamente dal piano focale (raggio di colore nero), mentre viene bloccato il segnale proveniente dai punti al di fuori del piano focale (raggi di colore rosso e verde).

### 2.2.3 Raman mapping

Il Raman mapping o imaging è una tecnica che permette la costruzione di un'immagine Raman 1D, 2D o 3D di un campione mediante l'acquisizione di spettri su una griglia ad alta risoluzione spaziale, trasformata quindi in una mappa a falsi colori basata sulla composizione chimica del materiale, sulla distribuzione delle fasi o sulle condizioni di stress. Grazie a questa tecnica è pertanto possibile analizzare le impurezze dei materiali, e l'omogeneità di fase.

Lo scopo dell'utilizzo di questa tecnica negli esperimenti di questa tesi è stato proprio quello di mappare la distribuzione dei diversi polimorfi in sistemi fisicamente non

omogenei. Nell'analisi dello spettro Raman di un campione eterogeneo e, in particolare, nell'analisi della mappa di un campione tridimensionale, bisogna tener conto che la profondità di campo del raggio laser varia notevolmente in funzione dell'apertura numerica (NA) dell'obiettivo utilizzato durante la misura: quanto più alta è l'apertura numerica tanto minore, a parità di tutte le altre condizioni, è la profondità di campo. Inoltre, la dimensione minima dello spot del laser,  $\frac{4}{3} \frac{\lambda}{NA}$ , risulta inversamente proporzionale a NA e direttamente proporzionale alla lunghezza d'onda del laser, dati di cui bisogna tener di conto nell'analisi su scala micrometrica. Nella tabella 2.1 sono riportati i parametri ottici nominali associati agli obiettivi utilizzati, forniti dal costruttore dello strumento e ricavati sperimentalmente analizzando il segnale Raman di un campione di ossido di silicio.

Tabella 2.1: Caratteristiche degli obiettivi.

Ingrandimento	Apertura numerica N.A.	Profondità di campo	Dimensione dello spot ( $\lambda = 647.1 \text{ nm}$ )
10×	0.25	442 $\mu\text{m}$	3.15 $\mu\text{m}$
20×	0.40	486 $\mu\text{m}$	2.16 $\mu\text{m}$
50×	0.75	25 $\mu\text{m}$	1.05 $\mu\text{m}$
100×	0.90	7.4 $\mu\text{m}$	0.88 $\mu\text{m}$

L'uso di diverse profondità di campo è utile nell'analisi di campioni che presentano differenze strutturali e/o di composizione tra superficie e strati sottostanti: diminuendo l'apertura si può andare sempre più in profondità e analizzare il campione per strati.

## 2.3 Metodi di crescita dei cristalli

Un cristallo è un sistema condensato caratterizzato dalla disposizione periodica, nelle tre direzioni dello spazio degli atomi, molecole o ioni di cui è costituito.

Tipicamente i cristalli vengono ottenuti da vapore, per evaporazione da soluzione o raffreddamento e solidificazione dallo stato fuso. Il processo di ottenimento delle fasi cristalline riveste un ruolo importante in diversi campi ed è oggetto di numerosissimi studi. Nel caso specifico di questa tesi ha costituito un passo fondamentale nella ricerca dei polimorfi.

Nel processo di formazione del solido cristallino è necessario distinguere fra i fenomeni della nucleazione e quelli della crescita. Nella fase di nucleazione si crea un piccolo nucleo contenente il cristallo di nuova formazione. Durante la nucleazione avviene, in modo relativamente lento, la ricerca dell'orientamento e della disposizione preferenziale degli elementi costituenti il cristallo in relazione alle condizioni a cui è sottoposto. I meccanismi del processo di nucleazione non sono ancora chiari [30], ma la trattazione classica standard descrive la nucleazione come un processo attivato, che condiziona la formazione di un nucleo cristallino stabile al superamento di una barriera di energia libera corrispondente a una dimensione minima critica, ma non fa nessuna ipotesi sulla disposizione ordinata degli elementi costituenti il nucleo stesso. Il processo può avvenire per via omogenea o eterogenea,

intendendo come tale una nucleazione che avviene in presenza di un'interfaccia solida o di impurezze. L'aggiunta di quantità controllata di cristalliti della fase solida desiderata al sistema sovrassaturo, una soluzione o un fuso, è nota come semina o insemminazione cristallina e innesca direttamente la crescita dei microcristalli introdotti, limitando la formazione di nuovi centri di nucleazione.

La seconda fase vede la crescita del cristallo a partire dal sito di nucleazione. In questo stadio gli elementi costituenti crescono in un sistema predisposto, il reticolo cristallino, nato nella fase di nucleazione. Di fatto la crescita può essere suddivisa in due momenti distinti: la diffusione delle specie dalla fase originale alla superficie del cristallo e la loro integrazione nel reticolo. I cristalli perfetti sono idealmente cresciuti in condizioni termodinamiche e cioè molto lentamente in modo che gli atomi o le molecole abbiano il tempo di disporsi ordinatamente sulla nuova fase. Nei cristalli reali, cresciuti in condizioni relativamente rapide, si formano difetti di punto (vacanze e difetti interstiziali) di linea (dislocazioni), di piano (twinning e bordi di grano) e di fase (inclusione di fasi distinte solide, liquide e gassose). I difetti accrescono l'energia libera di volume, ma diminuiscono quella interfacciale e complessivamente costituiscono siti preferenziali di accrescimento, fungendo da catalizzatori, anche per la trasformazione in nuove disposizioni strutturali.

I processi di nucleazione e accrescimento in presenza di polimorfi multipli costituiscono un campo di indagine molto attivo [31].

Per sostanze con più di un polimorfo non c'è modo di prevedere quale di questi apparirà per primo, ovvero quale avrà una nucleazione più rapida o crescerà più velocemente a spese degli altri. Oltre 100 anni fa Ostwald ha postulato che non è la fase termodinamicamente stabile che nuclea per prima, bensì quella caratterizzata da un'energia libera più vicina a quella di partenza. Pertanto, per esempio, se esiste una fase con energia libera intermedia fra quella del liquido e la fase di equilibrio termodinamico nella condizioni di temperatura e pressione dell'esperimento, sarà quella che darà inizio alla nucleazione e avrà una più alta probabilità di accrescersi. Sperimentalmente si verifica che questo non è sempre vero, ma il postulato mette in rilievo il fatto che non è possibile assumere che si otterrà necessariamente la fase di equilibrio.

Si consideri per esempio una soluzione satura che chiameremo A. Per raffreddamento o evaporazione A diventa sovrassatura rispetto al solido B. Questo cristallo costituisce la fase di equilibrio. Se un aumento delle condizioni di sovrassaturazione non produce la nucleazione di B significa che esistono una o più barriere di energia fra le fasi A e B, e che eventualmente possono esistere diverse vie in competizione tra loro che collegano le due fasi. Quando, all'aumentare della sovrassaturazione, B finalmente si forma, il processo può essere interpretato come il superamento della barriera di energia lungo uno delle possibile vie di trasformazione. Niente prova tuttavia che la via che si è aperta sia quella della formazione diretta di B da A. Come Ostwald aveva compreso 100 anni fa, la trasformazione potrebbe prevedere l'intervento di una terza fase solida C che si forma da A e su cui (o

in cui) può avvenire la nucleazione di B. In questo meccanismo a due stadi è altamente probabile che entrambi gli stadi siano processi attivati, con energie di attivazione diverse, ed è soltanto l'interazione fra queste che determina lo stadio lento della trasformazione, che condiziona e limita la velocità dell'intero processo e le quantità relative delle fasi B e C.

I processi in fase eterogenea (di fatto, la maggior parte) possono essere ulteriormente complicati dall'intervento delle superfici e delle impurezze che, come è stato sperimentalmente verificato, guidano verso la formazione di polimorfi diversi da quelli di equilibrio, nonché da fattori esterni come la fluidodinamica, che regola la velocità con cui le varie specie raggiungono il cristallo in formazione.

Per quanto questa trattazione sia incompleta e non esaustiva, e si rimanda quindi alla vasta letteratura in proposito, ci serve per capire che l'ottenimento concomitante di polimorfi, o la selezione di uno di essi, è il risultato di una serie di complessi fattori termodinamici e cinetici.

### **2.3.1 Metodi di cristallizzazione da soluzione**

Un metodo molto usato per l'ottenimento di cristalli singoli (e adatti all'analisi XRD) di molecole organiche è attraverso evaporazione lenta di soluzioni. Questi composti sono spesso ben solubili in numerosi solventi o miscele di essi in un ampio intervallo di temperature e pressioni [32].

Spesso vengono utilizzati solventi organici quali etanolo, metanolo, diclorometano e cloroformio, ed il metodo consiste nell'evaporazione di una soluzione satura fino al lento raggiungimento della sovrasaturazione, dove il cristallo inizia una spontanea nucleazione e, quando il processo è molto lento, i semi inizialmente formati possono maturare in cristalli più grandi. Processi quali l'Ostwald ripening, che prevede la dissoluzione di cristalli piccoli e con molti difetti a vantaggio della crescita di altri più grandi, contribuiscono alla formazione di un numero minore di cristalli singoli di dimensioni maggiori.

Le principali variabili di questo metodo sono la solubilità della sostanza e la volatilità del solvente. Siccome alcuni dei solventi comunemente utilizzati hanno elevata volatilità, la loro velocità di evaporazione può essere rallentata coprendo il campione con un tappo forato quando si vogliono ottenere cristalli singoli di grandi dimensioni.

### **2.3.2 Metodi di cristallizzazione da fuso**

Questo metodo di crescita viene più frequentemente utilizzato per composti inorganici, caratterizzati da un'elevata stabilità ad alte temperature e pressioni di vapore molto bassi, tuttavia viene utilizzato anche per l'ottenimento di cristalli di composti organici che non si decompongono alla fusione. Se necessario è possibile lavorare in condizioni di atmosfere-

ra controllata per evitare processi di ossidazione o evaporazione di materiali con elevata tensione di vapore [32].

### 2.3.3 Metodi di cristallizzazione da fase gas: sublimazione

I metodi di sublimazione sfruttano l'equilibrio solido-gas per la crescita di cristalli. Lo schema del sublimatore utilizzato è riportato in figura 2.6, ma esistono numerose varianti di questa tecnica. Una piccola quantità di campione viene posta sotto vuoto in un tubo di pyrex, eventualmente dopo aver condizionato il sistema con un numero di cicli vuoto/gas inerte. Il materiale viene riscaldato dal basso con una resistenza o con un bagno di olio siliconico per assicurare un distribuzione omogenea del calore. Il vapore formatosi si deposita in forma cristallina sul dito freddo, raffreddato ad acqua, collocato nella parte superiore del tubo pyrex. Se il gradiente di temperatura tra l'estremità calda e quella fredda del sublimatore risulta troppo elevato si ottengono cristalli agglomerati o staticamente disordinati, mentre giocando sulle condizioni del processo (ad esempio diminuendo la temperatura oppure la pressione) si possono ottenere cristalli di buona qualità.

Con questa configurazione si producono, in ore o anche settimane (seconda della volatilità del campione e l'entità del vuoto), cristalli di buona qualità. Il metodo è applicabile anche a composti con bassa pressione di vapore o molto sensibili all'aria e diventa uno dei metodi di elezione per composti difficilmente solubili.

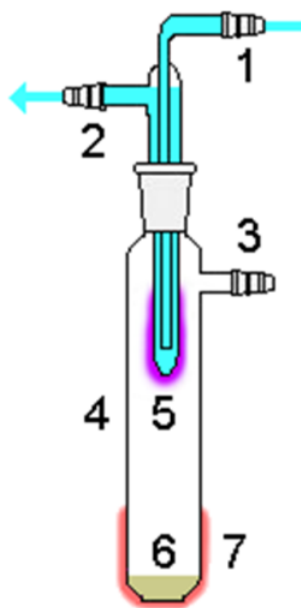


Figura 2.6: Schema di un sublimatore: 1) Ingresso acqua per il raffreddamento, 2) Uscita acqua, 3) Linea gas/vuoto, 4) Camera di sublimazione, 5) Dito freddo con campione sublimato, 6) Campione da sublimare, 7) Riscaldamento esterno.

Nel dettaglio, in questo lavoro di tesi per il vuoto si è usata una pompa da vuoto rotativa ( $p$  massima  $10^{-3}$  bar) ed  $N_2$  o Ar come gas inerti. Durante la fase di riscaldamento sono state applicate condizioni diverse: in alcuni casi abbiamo impostato la temperatura dell'olio con il sublimatore già inserito (*lento riscaldamento*), in altri casi il sublimatore è stato messo a bagno quando l'olio è già caldo (*rapido riscaldamento*).

Lo stesso schema è stato usato per quanto riguarda il raffreddamento una volta terminata la procedura: se l'apparecchiatura è stata lasciata raffreddare all'interno del bagno il raffreddamento è lento, se è stata estratta e lasciata raffreddare in aria è rapido.

### **2.3.4 Metodi di cristallizzazione da fase gas: Trasporto di vapore fisico**

Il metodo di crescita di cristalli tramite trasporto di vapore fisico è una tecnica che si basa sullo stesso principio fisico del metodo della sublimazione in vuoto. Questa tecnica (Physical Vapor Transport, PVT), comunemente usato per composti con basso punto di fusione quali gli organici, utilizza un'ampolla di quarzo sigillata sotto vuoto in atmosfera inerte di argon o azoto. L'ampolla viene poi sottoposta a diverse temperature alle due estremità in modo tale che il composto inserito all'interno, una volta vaporizzato, possa muoversi da un'estremità all'altra sotto l'influenza del gradiente termico applicato.

L'ampolla viene posta in una fornace a tubo orizzontale e l'estremità contenente la polvere di partenza è posta a temperatura superiore rispetto all'altra dove avviene la crescita dei cristalli. La polvere di partenza sublima all'estremità più calda e il gradiente di temperatura genera la sovrasaturazione e la conseguente deposizione del composto vaporizzato all'estremità fredda. Questo metodo è utilizzato per l'ottenimento di cristalli con un alto grado di purezza grazie al contemporaneo processo di purificazione che avviene durante la crescita in gradiente di temperatura lungo l'ampolla.

# Capitolo 3

## Metodi e programmi di calcolo

### 3.1 Metodi *ab-initio*: GAMESS

Partendo dalle leggi fondamentali della meccanica quantistica, i metodi *ab-initio* predicono l'energia  $\Phi_{\text{intra}}$ , la geometria, e molte altre proprietà di molecole isolate e di sistemi molecolari. Per i calcoli *ab-initio* noi abbiamo scelto il programma GAMESS [33] con la combinazione B3LYP/6-31G(d) di funzionale densità e set di base, che rappresenta il miglior compromesso disponibile tra accuratezza e applicabilità a molecole di grandi dimensioni [34]. Tra le molte proprietà molecolari calcolate da GAMESS, abbiamo utilizzato quelle che seguono.

1. **Le cariche atomiche.** Come vedremo nella sezione 4.1.2, il potenziale  $\Phi_{\text{inter}}$  utilizzato come modello per le interazioni inter-molecolari nei sistemi cristallini contiene un contributo Coulombiano  $q_i q_j / r_{ij}$  descritto da un insieme di cariche atomiche  $q_i$ , ottenute con calcoli *ab-initio* sulla molecola isolata, a una specifica geometria data. Invece delle cariche di Mulliken [35], che derivano dai coefficienti degli orbitali molecolari (popolazione elettronica), abbiamo scelto le cariche “ESP” (Electro-Static Potential) [36]. Queste cariche sono aggiustate in modo da riprodurre, con lo scarto quadratico minimo, il potenziale elettrostatico *ab-initio* valutato attorno alla molecola isolata e sono quindi più adatte come modello per le interazioni Coulombiane. Il potenziale elettrostatico è calcolato con la combinazione B3LYP/6-31G(d), precedentemente menzionata. Questa è una scelta ben validata [37], che viene generalmente giustificata notando che gli effetti di polarizzazione nelle fasi condensate tendono ad aumentare il momento di dipolo rispetto alla fase gas. La combinazione B3LYP/6-31G(d) sovrastima sistematicamente il dipolo molecolare e quindi può produrre cariche atomiche più appropriate di quelle ottenute con set di base più grandi e apparentemente migliori [37].
2. **Geometrie d'equilibrio.** Partendo da una geometria iniziale, il programma GAMESS è in grado di determinare una geometria d'equilibrio. Come discuteremo

nella sezione 6.9, noi abbiamo utilizzato due tipi di geometrie d'equilibrio: quelle d'equilibrio stabile, che rappresentano minimi locali dell'energia potenziale, e quelle instabili, che corrispondono a punti di sella (*saddle points*) della ipersuperficie dell'energia potenziale. A una geometria d'equilibrio (sia stabile che instabile) le derivate prime dell'energia potenziale sono tutte zero per definizione. Minimi locali e punti di sella si distinguono per le derivate seconde, o meglio per le frequenze vibrazionali, che discuteremo a breve. In un minimo locale le frequenze sono tutte reali non negative, cioè la curvatura della superficie è non negativa in tutte le direzioni: se perturbato, il sistema manifesta delle forze di richiamo che lo riportano verso la geometria del minimo. In un punto di sella almeno una frequenza è immaginaria, cioè la curvatura della superficie è negativa almeno in una direzione: se perturbato in quella direzione, il sistema tende ad allontanarsi ulteriormente (a cadere via dal punto di sella). In effetti, è proprio "inseguendo" le coordinate con curvatura negativa che GAMESS localizza i punti di sella.

3. **Frequenze e intensità vibrazionali.** Come nella sezione 6.3, noi utilizziamo le frequenze e le intensità IR e Raman calcolate *ab-initio* per la molecola isolata per interpretare gli spettri intramolecolari dei cristalli. A una geometria d'equilibrio data (in genere a un minimo locale, ma anche a un punto di sella) GAMESS calcola l'Hessiano, cioè la matrice formata dalle derivate seconde dell'energia molecolare rispetto alle coordinate cartesiane degli atomi. Diagonalizzando numericamente l'Hessiano si ottengono le frequenze vibrazionali e i corrispondenti autovettori (cioè gli spostamenti atomici associati ai vari modi di vibrazione). Per una molecola non lineare con  $N$  atomi si trovano  $3N - 6$  frequenze non zero, che descrivono i modi vibrazionali intramolecolari, e 6 frequenze zero, corrispondenti alle traslazioni e rotazioni della molecola rigida. Dopo aver determinato frequenze e autovettori, GAMESS calcola le derivate del momento di dipolo  $\mu$  e della polarizzabilità  $\alpha$  rispetto agli spostamenti atomici e, quindi, le intensità IR e Raman nella molecola isolata.

## 3.2 Analisi cristallografica: PLATON

Il programma PLATON [38] è stato creato dalla IUCr (International Union of Crystallography) per decodificare i file in formato CIF (Crystallographic Information File), che è lo standard per la pubblicazione delle strutture cristallografiche sperimentali. Noi lo abbiamo utilizzato per controllare le informazioni contenute nei CIF, trasformarli in formati più semplici e standardizzarli negli assi cristallografici convenzionali. Un CIF contiene sia le condizioni sperimentali, che i dati cristallografici veri e propri come gli assi, gli angoli, il gruppo di simmetria della cella cristallografica e le coordinate degli atomi nell'unità asimmetrica. Quest'ultima è il più piccolo insieme di atomi che, sfruttando la simmetria, è



sufficiente a generare l'intera cella elementare, e di conseguenza l'intero cristallo. Nei solidi cristallini infatti, oltre alle operazioni puntuali comuni alle molecole (assi, piani, centri di simmetria o assi di rotazioni proprie e improprie) abbiamo le traslazioni pure e operazioni più complesse che coinvolgono rotazioni e traslazioni (slittopiani, *glide planes*, o assi di roto-traslazione, *screw axes*), possibili solo in uno spazio infinito periodico. Il gruppo di simmetria di un cristallo, come per le molecole, è definito quindi come l'insieme delle operazioni geometriche che portano il cristallo in se stesso.

### **3.3 Minimizzazione dell'energia reticolare per molecole rigide: WMIN**

Partendo da una struttura iniziale e da un modello di potenziale per le interazioni intermolecolari, il programma WMIN [39] determina la struttura cristallografica di minima energia. Il programma considera le molecole come corpi rigidi, ignorando quindi tutte le interazioni intramolecolari, e varia in maniera sistematica i parametri strutturali (assi e angoli della cella unitaria, posizione e orientazione delle molecole). Poiché le strutture cristallografiche sperimentali (soprattutto quelle a bassa temperatura) devono essere molto vicine a un minimo dell'energia potenziale (quindi a una struttura d'equilibrio meccanico), il confronto fra strutture calcolate e sperimentali costituisce un'ottima verifica del modello di potenziale per le interazioni intermolecolari.

### **3.4 Minimizzazione dell'energia reticolare per molecole flessibili: GULP**

Partendo da una struttura iniziale e da un modello di potenziale per le interazioni inter- e intramolecolari, il programma GULP [40] determina la struttura cristallografica di minima energia, variando sistematicamente la posizione di tutti gli atomi, insieme agli assi e agli angoli della cella unitaria. Poiché la flessibilità molecolare è trattata in modo completo, il confronto tra strutture calcolate e sperimentali consente una verifica del modello per le interazioni intramolecolari.

### **3.5 Strategia di collaudo del modello di potenziale**

Nella nostra strategia per collaudare il modello di potenziale, partendo dalle strutture cristallografiche sperimentali dei vari polimorfi, minimizziamo l'energia potenziale rispetto a tutti i parametri strutturali permessi dalla simmetria cristallografica, prima utilizzando molecole rigide con la geometria sperimentale e poi molecole flessibili. La qualità delle

strutture calcolate fornisce un buon collaudo per diversi aspetti del modello di potenziale. I nessi logici tra i due metodi di calcolo sono illustrati nello schema in figura 3.1.

Il confronto tra le strutture sperimentali e le strutture calcolate con molecole rigide con la geometria sperimentale sottopone a collaudo il solo potenziale *intermolecolare* (perché le interazioni intramolecolari sono congelate e la geometria molecolare è, per costruzione, in accordo con gli esperimenti).

Dopo aver verificato che il potenziale intermolecolare è accurato possiamo valutare la qualità del modello intramolecolare analizzando le strutture calcolate con molecole flessibili. Le differenze con i risultati già ottenuti con molecole rigide (e quindi le differenze con le strutture sperimentali, se il modello intermolecolare è accurato) dipendono solamente dal potenziale *intramolecolare*.

Se il modello intermolecolare non è accurato, i calcoli con molecole flessibili non hanno alcuna possibilità di restituire strutture cristallografiche corrette. Ciò nonostante, questi calcoli possono ancora essere utili a fini diagnostici, perché eventuali deviazioni significative della geometria molecolare calcolata rispetto alla geometria sperimentale ci possono permettere di individuare con precisione i difetti del potenziale intramolecolare.

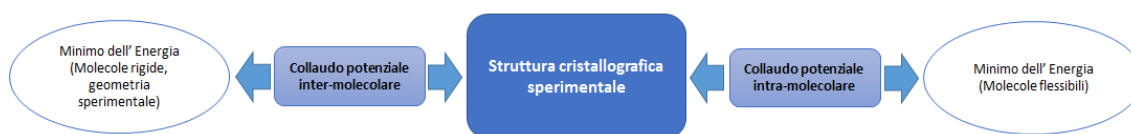


Figura 3.1: Nessi logici tra i vari metodi di calcolo delle strutture cristallografiche: confronto tra i risultati e loro significato.

### 3.6 Calcolo delle frequenze reticolari: IONIC

Dati il modello di potenziale e una struttura cristallografica, il programma IONIC [41] calcola, in approssimazione armonica, le frequenze vibrazionali nei cristalli molecolari. L'idea centrale del metodo si basa sull'osservazione che, poiché le molecole in un cristallo compiono piccole oscillazioni attorno alla loro posizione media di equilibrio, l'energia potenziale si può espandere nella serie di potenze degli spostamenti molecolari. L'approssimazione armonica consiste nell'interrompere le serie al secondo ordine, consentendo la soluzione analitica dell'Hamiltoniano [27].

Il programma, dunque, calcola l'energia potenziale e le sue derivate prime e seconde rispetto agli spostamenti degli atomi. Le derivate prime possono essere utilizzate per verificare se il programma di minimizzazione ha realmente trovato una struttura di equilibrio (tutte le derivate prime devono essere uguali a zero). Le derivate seconde costituiscono la matrice "dinamica", diagonalizzando la quale si ottengono gli autovalori (cioè le frequenze vibrazionali del cristallo in funzione del vettore d'onda  $\mathbf{k}$ ) e gli autovettori

corrispondenti (cioè gli spostamenti Cartesiani associati ai vari modi di vibrazione). Frequenze e autovettori sono utili nell'interpretazione delle misure di spettroscopia ottica (IR e/o Raman).



# Capitolo 4

## Analisi delle informazioni di letteratura

### 4.1 Strutture cristallografiche sperimentali in assi convenzionali

Il primo passo è stato cercare le strutture del paracetamolo in formato CIF (Cristallographic Information File) presenti nell'archivio CSD (Cambridge Structural Database) [42], nel quale sono state trovate 34 strutture con codici di riferimento (REFCODE) HXACAN, HXACAN01,  $\dots$ , HXACAN34 e COTZAN02,  $\dots$ , COTZAN04 e classificate in tre polimorfi, indicati come forma I, II e III. Nella tabella 4.1 riportiamo i principali dati presenti nei CIF cioè polimorfo, tipo di reticolo, numero  $Z$  di molecole per cella, numero  $Z'$  di molecole nell'unità asimmetrica, gruppo spaziale, REFCODE, assi ( $a$ ,  $b$ ,  $c$ ), angoli ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), volume  $V$  della cella elementare, temperatura  $T$  e pressione  $p$  a cui è stata effettuata la misura.

Come abbiamo già accennato (sezione 3.2) e come si può osservare dai dati della tabella 4.1, gli assi cristallografici possono esser scelti in più modi. Per il polimorfo I troviamo le scelte  $P2_1/a$  e  $P2_1/n$  che differiscono per la scelta dell'asse principale della cella, mentre per il II troviamo  $Pcba$  e  $Pbca$  che differiscono per uno scambio nell'assegnazione degli assi. A causa di questa molteplicità di possibili scelte, le differenze tra i parametri cristallografici di due strutture potrebbero essere dovute semplicemente a diverse definizione degli assi, anziché a genuine differenze tra fasi cristallografiche distinte. Per ovviare a questo inconveniente, la IUCr ha adottato delle regole che specificano un sistema di assi convenzionale, essenzialmente arbitrario ma privo di ambiguità, e inserito queste regole nel programma PLATON, già menzionato. I parametri reticolari di tutte le strutture pubblicate su Cambridge, così trasformate negli assi convenzionali, sono riportati nella tabella 4.2. L'analisi dei dati strutturali (gruppo spaziale, numero  $Z$  di molecole per cella e somiglianza dei parametri reticolari convenzionali) conferma, senza alcuna eccezione, l'attribuzione di ognuna delle 34 strutture pubblicate al polimorfo indicato nel CIF corrispondente.

Tabella 4.1: Dati principali e parametri reticolari di tutte le strutture pubblicate. In tutti i casi  $\alpha = \gamma = 90^\circ$ , perché tutte le strutture sono monocline oppure ortorombiche. Se non indicato diversamente, le misure sono a temperatura ambiente e pressione atmosferica.

Forma	Reticolo	$Z$	$Z'$	Gruppo spaziale	REFCODE	$a$ (Å)	$b$ (Å)	$c$ (Å)	$\beta$ (°)	$V$ (Å <sup>3</sup> )	$T$ (K)	$p$ (GPa)	
I	monoclinico	4	1	$C_{2h}^5$	$P2_1/a$	HXACAN13	12.667	9.166	7.073	115.51	741.156	20	–
						HXACAN14	12.698	9.173	7.073	115.51	743.537	50	–
						HXACAN15	12.709	9.173	7.077	115.57	744.229	80	–
						HXACAN06	12.763	9.250	7.082	115.52	754.512	100	–
						HXACAN16	12.769	9.240	7.079	115.54	753.606	150	–
						HXACAN17	12.815	9.278	7.084	115.57	759.777	200	–
						HXACAN18	12.833	9.315	7.086	115.60	763.903	250	–
						COTZAN02	12.8863	9.38162	7.10158	115.7008	773.606	–	–
						COTZAN03	12.8870	9.3819	7.10150	115.7013	773.660	–	–
						COTZAN04	12.8856	9.3812	7.10114	115.6974	773.504	–	–
				HXACAN26	12.88559	9.38013	7.10096	115.7002	773.377	–	–		
				HXACAN01	12.93	9.40	7.10	115.9	776.272	–	–		
				HXACAN19	12.872	9.370	7.085	115.62	770.511	330	–		
				$P2_1/n$	HXACAN28	7.077	9.173	11.574	97.90	744.222	85	–	
					HXACAN27	7.0915	9.2149	11.6015	97.865	750.997	100	–	
					HXACAN30	7.0907	9.2114	11.5972	97.844	750.387	100	–	
					HXACAN07	7.0941	9.2322	11.6196	97.821	753.977	123	–	
					HXACAN04	7.0939	9.2625	11.657	97.672	759.093	150	–	
					HXACAN34	11.71439	9.38544	7.101660	82.587856	774.266	298	–	
					HXACAN09	6.980	8.915	11.566	98.54	711.734	–	1	
HXACAN10	6.885	8.5819	11.519		99.12	672.012	–	2					
HXACAN11	6.820	8.374	11.559		99.32	651.428	–	3					
HXACAN12	6.625	7.985	11.916		99.41	621.881	–	4					
II	ortorombico	8	1	$D_{2h}^{15}$	$Pcab$	HXACAN21	7.1986	11.782	17.183	90	1457.357	100	–
						HXACAN32	7.2028	11.7764	17.1677	90	1456.217	100	–
						HXACAN22	7.2927	11.806	17.169	90	1478.210	200	–
						HXACAN	11.805	17.164	7.393	90	1497.977	–	–
						HXACAN23	7.4057	11.837	17.162	90	1504.443	300	–
				HXACAN24	7.4807	11.853	17.160	90	1521.556	360	–		
				$Pbca$	HXACAN31	11.7652	7.1877	17.1679	90	1451.799	100	–	
					HXACAN08	17.1657	11.7773	7.212	90	1458.018	123	–	
					HXACAN25	11.7636	7.2863	17.1041	90	1466.046	220	–	
					HXACAN33	11.8237	7.3971	17.1526	90	1500.185	293	–	
III	ortorombico	8	2	$C_{2v}^5$	$Pca2_1$	HXACAN29	11.8352	8.5601	14.8199	90	1501.411	300	–

Il *polimorfo I* appartiene al gruppo spaziale  $P2_1/n$  ( $C_{2h}^5$ ), con inversione  $i$ , un asse elicogiro  $C_2$  e uno slittopiano  $\sigma_h$  come operazioni non banali; la cella elementare contiene quattro molecole ( $Z = 4$ ) su siti generici: l'unità asimmetrica è quindi una molecola ( $Z' = 1$ ), le altre tre molecole sono generate dalle tre operazioni non banali.

Il *polimorfo II* appartiene al gruppo  $Pbca$  ( $D_{2h}^{15}$ ) con inversione  $i$ , tre assi elicogiri  $C_2$  e tre slittopiani  $\sigma$  come operazioni non banali; la cella elementare contiene otto molecole ( $Z = 8$ ) su siti generici: l'unità asimmetrica è quindi una molecola ( $Z' = 1$ ), le altre sette molecole sono generate dalle operazioni non banali.

Il *polimorfo III* ha gruppo  $Pca2_1$  ( $C_{2v}^5$ ) con un asse elicogiro  $C_2$  e due slittopiani  $\sigma_v$  come operazioni non banali; la cella elementare contiene otto molecole ( $Z = 8$ ) su siti generici: l'unità asimmetrica quindi contiene due molecole ( $Z' = 2$ ), le altre molecole sono generate dalle operazioni non banali.

Tabella 4.2: Dati principali e parametri reticolari convenzionali di tutte le strutture pubblicate.

Forma	Reticolo	$Z$	$Z'$	Gruppo spaziale	REFCODE	$a$ (Å)	$b$ (Å)	$c$ (Å)	$\beta$ (°)	$V$ (Å <sup>3</sup> )	$T$ (K)	$p$ (GPa)
I	monoclinio	4	1	$C_{2h}^5 P2_1/n$	HXACAN13	7.0730	9.1660	11.5460	98.050	741.164	20	—
					HXACAN14	7.0730	9.1730	11.5720	97.970	743.547	50	—
					HXACAN15	7.0770	9.1730	11.5740	97.900	744.222	80	—
					HXACAN06	7.0820	9.2500	11.6260	97.830	754.501	100	—
					HXACAN16	7.0790	9.2400	11.6280	97.780	753.586	150	—
					HXACAN17	7.0840	9.2780	11.6640	97.650	759.797	200	—
					HXACAN18	7.0860	9.3150	11.6750	97.590	763.869	250	—
					COTZAN02	7.1016	9.3816	11.7096	97.425	773.603	—	—
					COTZAN03	7.1015	9.3819	11.7102	97.422	773.662	—	—
					COTZAN04	7.1011	9.3812	11.7095	97.428	773.504	—	—
					HXACAN26	7.1010	9.3801	11.7091	97.424	773.383	—	—
					HXACAN01	7.1000	9.4000	11.7200	97.100	776.195	—	—
					HXACAN19	7.0850	9.3700	11.7050	97.460	770.476	330	—
					HXACAN28	7.0770	9.1730	11.5740	97.900	744.222	85	—
					HXACAN27	7.0915	9.2149	11.6015	97.865	750.997	100	—
					HXACAN30	7.0907	9.2114	11.5972	97.844	750.387	100	—
					HXACAN07	7.0941	9.2322	11.6196	97.821	753.937	123	—
					HXACAN04	7.0939	9.2625	11.6570	97.672	759.093	150	—
HXACAN34	7.1017	9.3854	11.7144	97.412	774.267	298	—					
HXACAN09	6.9800	8.9150	11.5660	98.540	711.734	293	1					
HXACAN10	6.8850	8.5819	11.5190	99.120	672.012	293	2					
HXACAN11	6.8200	8.3740	11.5590	99.320	651.428	293	3					
HXACAN12	6.6250	7.9850	11.9160	99.410	621.881	293	4					
II	ortorombico	8	1	$D_{2h}^{15} Pbca$	HXACAN21	11.7820	7.1986	17.1830	90.000	1457.36	100	—
					HXACAN32	11.7764	7.2028	17.1677	90.000	1456.22	100	—
					HXACAN22	11.8060	7.2927	17.1690	90.000	1478.21	200	—
					HXACAN	11.8050	7.3930	17.1640	90.000	1497.98	—	—
					HXACAN23	11.8370	7.4057	17.1620	90.000	1504.44	300	—
					HXACAN24	11.8530	7.4807	17.1600	90.000	1521.56	360	—
					HXACAN31	11.7652	7.1877	17.1679	90.000	1451.8	100	—
					HXACAN08	11.7773	7.2120	17.1657	90.000	1458.02	123	—
					HXACAN25	11.7636	7.2863	17.1041	90.000	1466.05	220	—
					HXACAN33	11.8237	7.3971	17.1526	90.000	1500.19	293	—
III	ortorombico	8	2	$C_{2v}^5 Pca2_1$	HXACAN29	11.8352	8.5601	14.8199	90.000	1501.41	300	—

### 4.1.1 Analisi del gruppo fattore

Come già discusso [27, 41], i modi vibrazionali dei cristalli possono essere rappresentati in termini di onde identificate dal vettore d'onda  $\mathbf{k}$  che descrive come cambia la fase degli spostamenti atomici al passare da una cella all'altra. Dato che la lunghezza d'onda  $\lambda = 2\pi/|\mathbf{k}|$  della radiazione elettromagnetica (visibile o IR) è molto maggiore delle dimensioni delle celle elementari, i soli modi osservabili otticamente sono quelli in cui tutte le celle si muovono in fase ( $\mathbf{k} = 0$ ). Questo significa che, dal punto di vista della simmetria, le operazioni di traslazione non hanno alcun effetto e che possiamo classificare i modi vibrazionali in base al *gruppo fattore* [43] (la simmetria della cella elementare), invece del *gruppo spaziale* [44] (la simmetria del cristallo).

Ai fini di questa classificazione, anche se il paracetamolo è una molecola flessibile è comunque utile iniziare l'analisi nell'approssimazione della molecola rigida (RMA), in cui trascuriamo le deformazioni molecolari e consideriamo solamente traslazioni e rotazioni rigide delle molecole, ovvero assumiamo una completa separazione tra modi intramolecolari e reticolari. Le previsioni per i modi reticolari con  $\mathbf{k} = 0$  dei vari polimorfi del parace-

tamolo ottenute dall'analisi del gruppo fattore nell'approssimazione della molecola rigida sono riportate nella tabella 4.3, dove sono elencati i polimorfi, il gruppo spaziale, il numero  $Z$  di molecole nella cella elementare, e il numero, la simmetria, l'attività IR/Raman e la polarizzazione dei modi reticolari. Polarizzazioni  $aa, bb, cc, ab, bc, ac$  indicano modi attivi in Raman, polarizzazioni  $a, b, c$  modi attivi in IR, mentre "acu." indica modi acustici con frequenza zero, otticamente inattivi. Modi con polarizzazioni diverse sono distinguibili con misure Raman o IR in luce polarizzata. Per quello che riguarda la nomenclatura delle rappresentazioni irriducibili, ricordiamo solamente che quando il gruppo prevede un centro di inversione, come succede per i polimorfi I e II, i suffissi  $g$  e  $u$  indicano modi pari (*gerade*) rispetto all'inversione, attivi solo in Raman, e dispari (*ungerade*), attivi solo all'IR.

Tabella 4.3: Analisi del gruppo fattore per i modi reticolari con  $k = 0$  nella approssimazione della molecola rigida.

Polimorfo	$Z$	Vibrazioni (attività e polarizzazione in parentesi)
I ( $C_{2h}^5$ )	4	$6A_g(aa, bb, cc, ac) + 6B_g(ab, bc) + 5A_u(b) + 4B_u(a, c) + A_u(\text{acu.}) + 2B_u(\text{acu.})$
II ( $D_{2h}^{15}$ )	8	$6A_g(aa, bb, cc) + 6B_{1g}(ab) + 6B_{2g}(ac) + 6B_{3g}(bc) + 5B_{1u}(c) + 5B_{2u}(b) + 5B_{3u}(a) + 6A_u(\text{inattivi}) + B_{1u}(\text{acu.}) + B_{2u}(\text{acu.}) + B_{3u}(\text{acu.})$
III ( $C_{2v}^5$ )	8	$11A_1(aa, bb, cc, c) + 12A_2(ab) + 11B_1(ac, a) + 11B_2(bc, b) + A_1(\text{acu.}) + B_1(\text{acu.}) + B_2(\text{acu.})$

Per una molecola altamente flessibile come il paracetamolo sappiamo che le previsioni dell'analisi del gruppo fattore nella approssimazione della molecola rigida (tabella 4.3) difficilmente possono essere corrette. Probabilmente dobbiamo aspettarci un piccolo numero di modi in più dovuti alle vibrazioni intramolecolari a bassa frequenza, che interagiranno e si mescoleranno con i modi intramolecolari.

Oltre ai modi reticolari (eventualmente mescolati con i modi intramolecolari a bassa frequenza) troveremo anche i modi intramolecolari ad alta frequenza, essenzialmente separati dai modi reticolari. Ricordiamo che ogni cella primitiva contiene  $Z$  molecole ( $Z = 4$  oppure 8, a seconda dei casi). Come mostrato da Davydov [45], quando queste molecole interagiscono all'interno del cristallo, ogni modo intramolecolare si divide in  $Z$  componenti a frequenze leggermente diverse (*splitting* di Davydov). Le varie componenti differiscono anche per la simmetria e, almeno in teoria, possono essere sperimentalmente distinte in base alla loro polarizzazione. Nella pratica gli *splitting* possono essere più piccoli della larghezza delle bande e della risoluzione sperimentale e spesso sono inosservabili.

## 4.1.2 Modello di potenziale

Come già discusso in precedenza, le strutture cristallografiche d'equilibrio e le frequenze reticolari dipendono dal modello di potenziale utilizzato per il calcolo. Per questo studio abbiamo utilizzato il modello DREIDING [1], adatto a molecole flessibili ed utilizzato con un discreto successo in lavori precedenti. Abbiamo sperimentato anche un modello svi-



luppato da Williams [46, 47, 48], poi abbandonato in quanto adatto solamente a molecole rigide e di cui non discuteremo.

Il modello DREIDING [1] contiene una parte di “legame”, che descrive le interazioni di valenza, e una parte di “non legame”. Questa parte descrive coppie  $i$ - $j$  di atomi *non legati* che interagiscono attraverso un potenziale dipendente soltanto dalla distanza inter-atomica  $r_{ij}$  e contenente termini Coulombiani e di Lennard-Jones, che rappresentano rispettivamente le interazioni elettrostatiche e di Van der Waals:

$$\Phi_{\text{inter}} = \frac{1}{2} \sum_{ij} \left\{ \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right\} \quad (4.1)$$

La somma è estesa a tutte le coppie  $i$ - $j$  di atomi in molecole diverse oppure nella stessa molecola ma senza legami diretti  $i$ - $j$  o indiretti  $i$ - $j$ - $k$  e  $i$ - $j$ - $k$ - $l$ . Le cariche atomiche  $q_i$  sono le cariche ESP (Electro-Static Potential) [36] già discusse nella sezione 3.1, mentre i parametri  $\epsilon_{ij}$  e  $\sigma_{ij}$ , che rappresentano rispettivamente la profondità del potenziale di LJ e la distanza a cui il potenziale è zero, dipendono dal tipo di atomi  $i$ - $j$ . Il modello contiene solamente i parametri  $\epsilon_{ii}$  e  $\sigma_{ii}$  elencati nella tabella 4.4, per coppie  $i$ - $i$  di atomi dello stesso tipo. I parametri per coppie  $i$ - $j$  di atomi di tipi diversi si ottengono con le regole di *mixing* (mescolamento) [49], ossia calcolando la media geometrica per le energie  $\epsilon_{ij}$  e la media aritmetica per le distanze  $\sigma_{ij}$ , cioè  $\epsilon_{ij} = (\epsilon_{ii}\epsilon_{jj})^{1/2}$  e  $\sigma_{ij} = (\sigma_{ii} + \sigma_{jj})/2$ .

Tabella 4.4: Parametri del potenziale di Lennard-Jones  $V_{ij}(r) = 4\epsilon_{ij}[(\sigma_{ij}/r)^{12} - (\sigma_{ij}/r)^6]$ , tra atomi della stessa specie  $i$ .

$i$ Specie	$\epsilon_{ii}$ kcal/mol	$\sigma_{ii}$ Å
C	0.0951	3.4730
H	0.0152	2.8464
N	0.0774	3.2626
O	0.0957	3.0332

Le interazioni di valenza all’interno di una molecola sono rappresentate da tre termini di potenziale,  $E_{ij}(\mathbf{R})$ ,  $E_{ijk}(\phi)$  e  $E_{ijkl}(\theta)$ , che coinvolgono rispettivamente due, tre e quattro atomi e che descrivono stretching, bending e torsioni dei legami. I parametri di questi termini dipendono dai “tipi atomici”  $i, j, \dots$ , che identificano la specie chimica e l’ibridizzazione dei nuclei coinvolti. I tipi atomici di interesse per il paracetamolo sono elencati nella tabella 4.5. Il carbonio del metile ha ibridizzazione  $sp^3$  ed è carbonio C3 nella nomenclatura DREIDING, il carbonio carbonilico ha ibridizzazione  $sp^2$  (C2), i carboni dell’anello e l’azoto sono tutti risonanti (CR oppure NR), mentre gli idrogeni sono tutti “normali” (H1). Infine l’ossigeno carbonilico ha ibridizzazione  $sp^2$  (O2), mentre quello del sostituito OH ha ibridizzazione  $sp^3$  (O3).

La forma analitica dei tre termini di potenziale e i necessari parametri appaiono nelle tabelle 4.6, 4.7 e 4.8, e nelle loro didascalie. Nelle tabelle, per coerenza con la parametriz-

Tabella 4.5: Tipi atomici necessari per il paracetamolo, come descritti dal modello di potenziale DREIDING.

Tipo atomico	Descrizione (coordinazione o ibridizzazione)
C2	Carbonio sp <sup>2</sup>
C3	Carbonio sp <sup>3</sup>
CR	Carbonio risonante (ad esempio benzene)
H1	Idrogeno normale (non coinvolto in legami a idrogeno)
NR	Azoto risonante (ad esempio piridina)
O2	Ossigeno sp <sup>2</sup>
O3	Ossigeno sp <sup>3</sup>

zazione di fatto utilizzata da GULP [40], abbiamo mantenuto gli eV come unità di energia (1 eV = 23.06055 kcal/mol). La parametrizzazione originale [1] è espressa in kcal/mol.

Tabella 4.6: Parametri del potenziale armonico  $E_{ij}(R) = \frac{1}{2}K_{ij}(R - R_{ij}^0)^2$ , che descrive lo stretching per due atomi  $i$ - $j$  legati a distanza  $R$ . I tipi atomici  $i$  e  $j$  sono descritti nella tabella 4.5,  $R_{ij}^0$  è la distanza d'equilibrio,  $K_{ij}$  la costante di forza.

Tipi atomici		$K_{ij}$	$R_{ij}^0$
$i$	$j$	(eV/Å <sup>2</sup> )	(Å)
C2	C3	30.4	1.43
C2	NR	60.7	1.31
C2	O2	60.7	1.22
C3	H1	30.4	1.09
CR	CR	45.5	1.39
CR	H1	30.4	1.02
CR	NR	45.5	1.34
CR	O3	30.4	1.35
NR	H1	30.4	0.97
O3	H1	30.4	0.98

Tabella 4.7: Parametri del potenziale armonico  $E_{ijk}(\phi) = \frac{1}{2}K_{ijk}(\phi - \phi_{ijk}^0)^2$ , che descrive il bending per tre atomi legati  $i$ - $j$ - $k$ , con un angolo  $\phi$ . La lettera X indica un tipo atomico qualsiasi,  $\phi_{ijk}^0$  è l'angolo d'equilibrio,  $K_{ijk}$  la costante di forza.

Tipi atomici			$K_{ijk}$	$\phi_{ijk}^0$
$i$	$j$	$k$	(eV/deg <sup>2</sup> )	(deg)
X	C3	X	4.336	109.471
X	C2	X	4.336	120.000
X	CR	X	4.336	120.000
X	NR	X	4.336	120.000
X	O3	X	4.336	104.510

Tabella 4.8: Parametri del potenziale trigonometrico  $E_{ijkl}(\theta) = \frac{1}{2}K_{ijkl}[1 - \cos n_{ijkl}(\theta - \theta_{ijkl}^0)]$ , per quattro atomi legati  $i$ - $j$ - $k$ - $l$ , con un angolo di torsione  $\theta$ .  $\theta_{ijkl}^0$  è l'angolo d'equilibrio,  $n_{ijkl}$  (un intero) identifica la periodicità angolare  $2\pi/n_{ijkl}$ ,  $K_{ijkl}$  è l'altezza della barriera che impedisce la rotazione. Per i due parametri indicati in grassetto, che presentano problemi che discuteremo nella sezione 6.8, riportiamo anche le altezze delle barriere ottenute dai calcoli *ab-initio*, che discuteremo nella sezione 6.9.

Tipi atomici				$K_{ijkl}$	$n_{ijkl}$	$\theta_{ijkl}^0$	Barriera <i>ab-initio</i>
$i$	$j$	$k$	$l$	(eV)		(deg)	(eV)
X	CR	CR	X	0.54210	2	0	
X	NR	CR	X	0.54210	2	0	
NR	C2	C3	X	0.02168	6	0	
O2	C2	C3	X	0.02168	6	0	
X	CR	O3	X	<b>0.04336</b>	2	0	0.14970
X	NR	C2	X	<b>0.10840</b>	2	0	0.81918

# Capitolo 5

## Risultati e discussione

L'obiettivo per questa tesi è stato lo studio del polimorfismo del paracetamolo, sia da un punto di vista sperimentale che computazionale. In questo capitolo vengono riportati e discussi i risultati ottenuti nella parte sperimentale della ricerca.

Il lavoro ha visto in primo luogo la preparazione di campioni con diverse tecniche di ricristallizzazione e purificazione. I campioni così preparati sono stati poi sottoposti all'analisi di micro-spettrometria Raman. Grazie a questa tecnica, come spiegato nella sezione 2.2, possiamo discriminare i vari polimorfi, e anche verificare se la molecola ha mantenuto la sua identità chimica. Attraverso l'analisi spettroscopica in configurazione confocale abbiamo anche mappato, con una risoluzione spaziale micrometrica sui singoli campioni, i processi di trasformazione fisica che avvengono intrinsecamente in modo non omogeneo.

Di seguito forniamo una descrizione dettagliata della metodica di preparazione dei campioni e riportiamo gli spettri registrati. Per verificare la riproducibilità dei risultati, gli esperimenti sono stati condotti su più campioni.

### 5.1 Cristallizzazione di paracetamolo da soluzione

Lo spettro Raman della polvere commerciale di paracetamolo (4-Acetamidophenol 98%, Sigma-Aldrich) è stato scelto come punto di partenza per effettuare il confronto con campioni cristallini ottenuti per mezzo di vari metodi di purificazione/ricristallizzazione. Questo procedimento permette di monitorare la purezza del campione e di individuare un eventuale cambio di fase rispetto al prodotto iniziale. La polvere commerciale è costituita dalla forma I, come il paracetamolo presente nelle preparazioni farmaceutiche.

Secondo la letteratura, la forma II ortorombica è stata ottenuta per la prima volta tramite lenta evaporazione da una soluzione di etanolo [19]. Con questa procedura, tuttavia, noi non siamo riusciti a ottenere questa modificazione cristallina, così come, nonostante notevoli sforzi, anche osservato da altri ricercatori [18, 50]. Questa via è stata comunque

tentata, poiché i metodi di cristallizzazione da soluzione sono i preferiti per processi su scala industriale, in quanto più controllabili e adatti per lo *scale-up*.

Dalla soluzione in etanolo abbiamo ottenuto delle laminette cristalline, bianche trasparenti, per lo più sotto forma di agglomerati, con dimensioni variabili dai  $\mu\text{m}$  ai mm. In figura 5.1 sono confrontati lo spettro della polvere commerciale e uno spettro rappresentativo dei campioni ottenuti per ricristallizzazione da soluzione etanolica, nella regione spettrale dei modi reticolari. I due spettri presentano essenzialmente le stesse bande, a meno di differenze nelle intensità relative, ascrivibili ad effetti orientazionali dati dall'anisotropia del campione ("effetti di polarizzazione"). I cristalli cresciuti da etanolo sono ben formati ed anche chimicamente più puri della polvere microcristallina di partenza. Come conseguenza lo spettro del cristallo può avere tutte o solo alcune delle bande della polvere, e le bande comuni non presentano le stesse intensità relative, come nel caso di figura 5.1, che chiaramente dimostra che da etanolo si è ottenuta di nuovo la forma monoclina I.

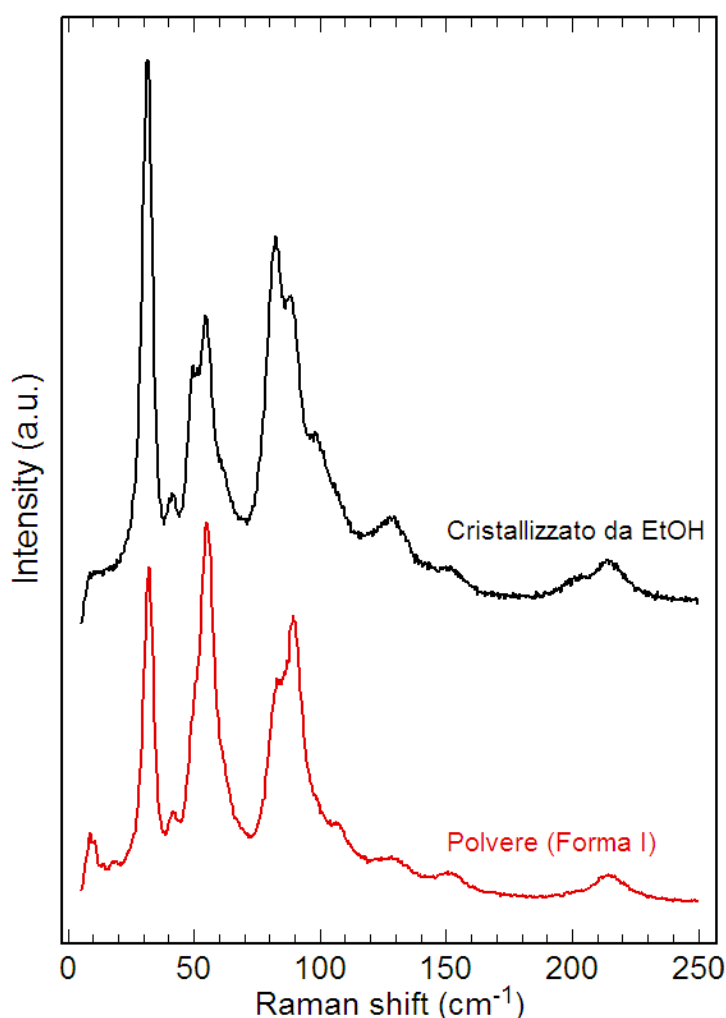


Figura 5.1: Spettri Raman della polvere commerciale (rosso) e di un campione ricristallizzato da soluzione di etanolo (nero).

Il processo di ricristallizzazione in etanolo è stato modificato utilizzando il metodo della semina. Partendo dalla polvere commerciale abbiamo preparato una nuova soluzione

in etanolo lasciata quindi evaporare lentamente. Nei giorni successivi abbiamo notato la formazione di cristallini sulle pareti del recipiente. Alcuni di questi sono stati utilizzati come germi di nucleazione in una soluzione fresca dello stesso solvente. Dopo poco più di due settimane è stato possibile estrarre dalla soluzione un cristallo della lunghezza di circa 1 cm, a forma di parallelepipedo.

In alternativa, abbiamo utilizzato il metanolo come solvente (senza la semina del microcristallo). L'indagine Raman dei campioni ottenuti da soluzione ha rivelato che, in tutti questi casi, abbiamo ottenuto solo la forma I monoclinica con gli spettri dei modi reticolari sostanzialmente simili, tenuto conto delle diverse orientazioni dei campioni, come mostrato in figura 5.2. Abbiamo ottenuto cristalli con una gran varietà di morfologie differenti, vedi figura 5.3.

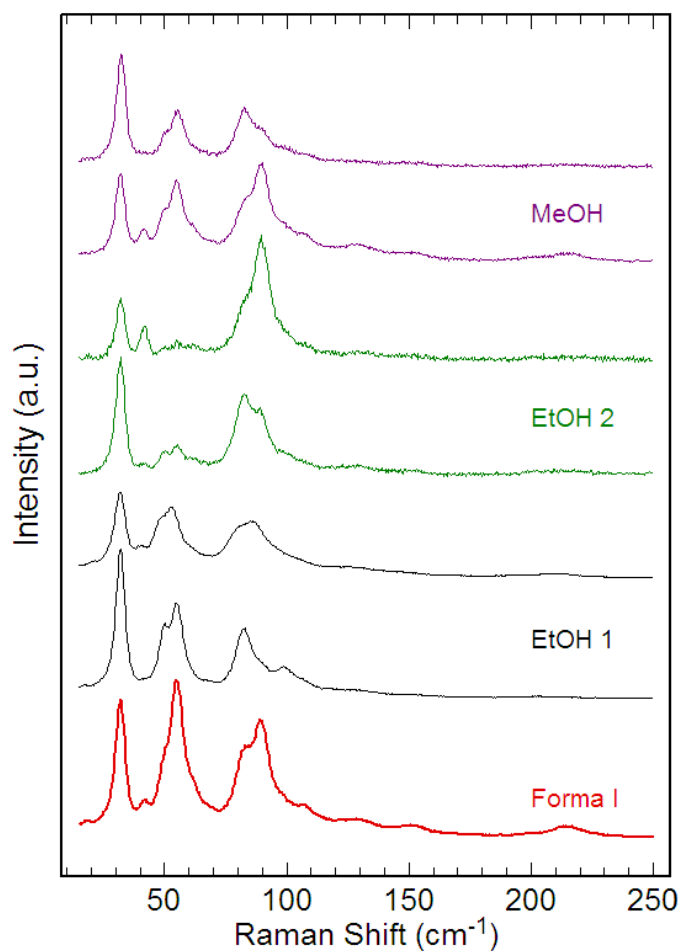


Figura 5.2: Spettri Raman ottenuti da etanolo: prima soluzione (in nero, EtOH 1), seconda soluzione con semina (in verde, EtOH 2). In viola spettri ottenuti da metanolo (viola, MeOH), in rosso polvere di riferimento.

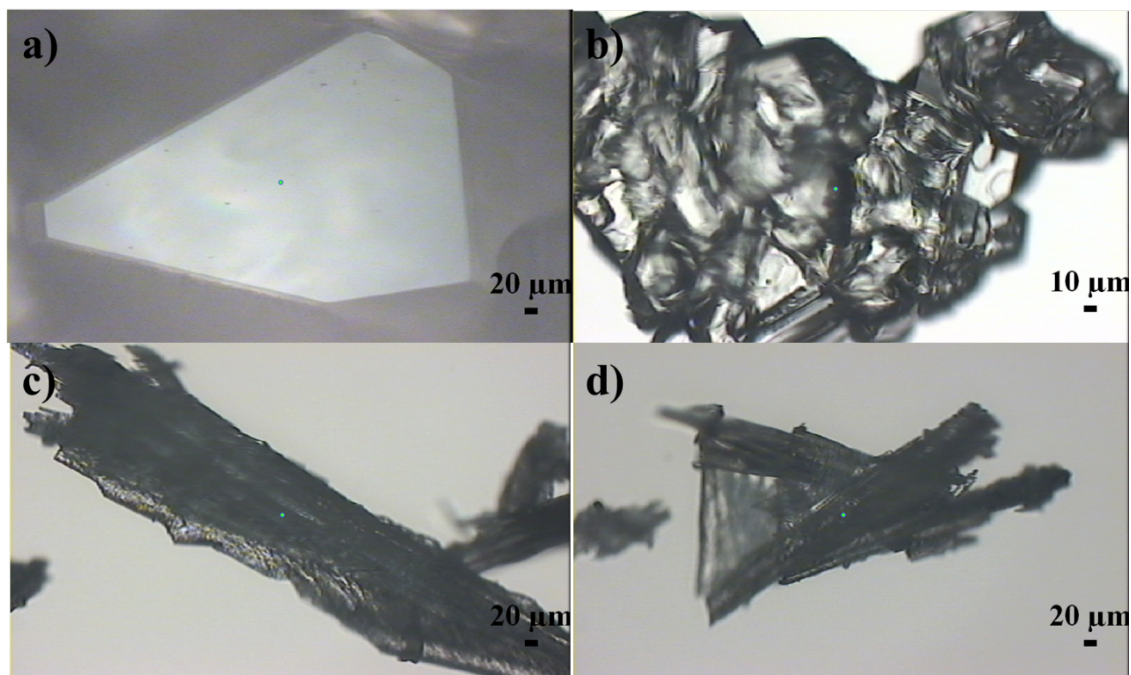


Figura 5.3: Cristalli della forma I del paracetamolo ottenuti per cristallizzazione da soluzione (a e b da EtOH, c e d da MeOH).

## 5.2 Cristallizzazione di paracetamolo da fuso

Secondo i dati di letteratura [18], la cristallizzazione del paracetamolo da fuso costituisce una via riproducibile per l'ottenimento della forma cristallina II. Nella nostra procedura, la polvere commerciale è stata posizionata su un vetrino, in parte coperto da un secondo vetrino, e posta su piastra riscaldante a 190 °C fino ad osservarne la fusione. Il fuso è stato lasciato raffreddare in aria a temperatura ambiente fino a solidificazione completa.

Lo spettro Raman nella regione dei modi reticolari (figura 5.4) è chiaramente diverso da quello della forma I riportata come riferimento e questo ci fa pensare che la struttura ottenuta direttamente dal fuso sia effettivamente la forma II.

Sugli stessi campioni abbiamo registrato anche lo spettro delle vibrazioni molecolari, riportato in figura 5.5 insieme a quello della forma I. Invece delle nette differenze negli spettri delle vibrazioni reticolari osserviamo spettri delle vibrazioni intramolecolari sostanzialmente identici. Questo ci conferma che è stato ottenuto un polimorfo della stessa molecola. Le piccole differenze osservate (vedi per esempio l'intervallo 1550-1650  $\text{cm}^{-1}$ ) sono attribuibili ad effetti di polarizzazione e ai diversi effetti di "Davydov splitting" nelle due diverse strutture.

Rispettando le condizioni utilizzate precedentemente, la polvere di paracetamolo è stata posizionata su un vetrino, in modo tale da fonderne solo una parte, ottenendo così un punto di innesco nella solidificazione del fuso. I risultati indicano che nonostante il fronte di crescita fosse della forma I nel fuso, il cristallizzato mostra la formazione della forma II con piccoli domini di forma I [51]. Gli spettri ottenuti sono riportati in figura 5.6.a.

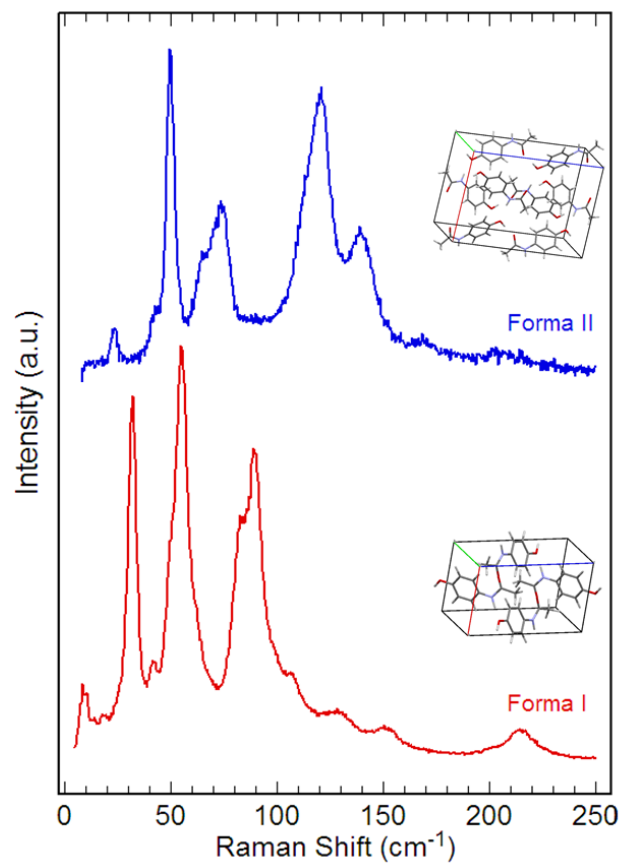


Figura 5.4: Spettri Raman della polvere commerciale (rosso) e del ricristallizzato da fuso (blu), con le corrispondenti strutture cristalline, monoclina ed ortorombica rispettivamente.

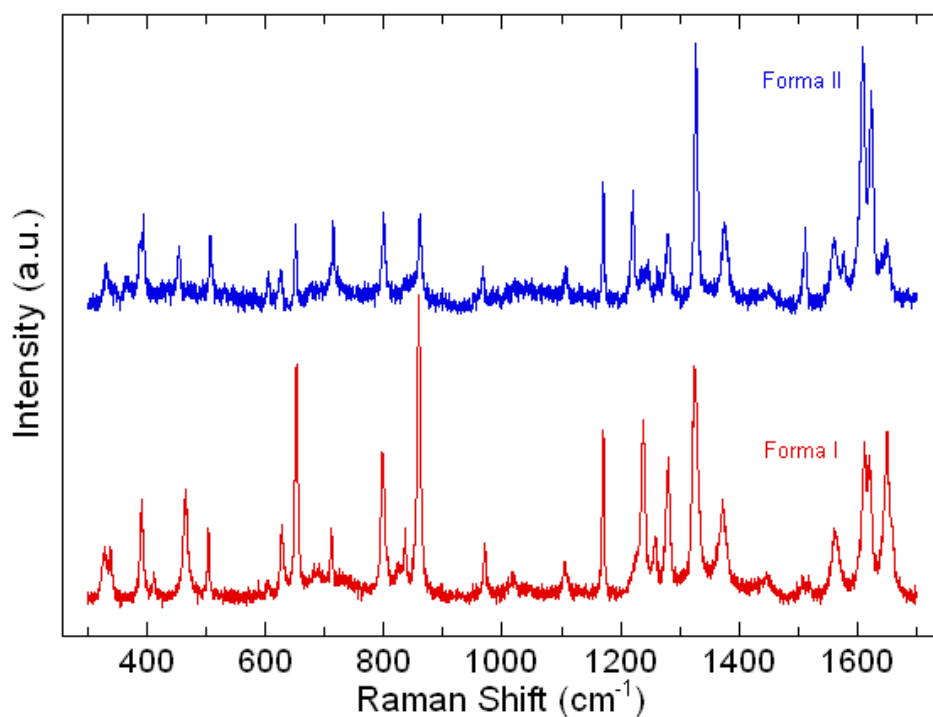


Figura 5.5: Spettri Raman della polvere commerciale (rosso) e del ricristallizzato da fuso (blu) nella zona delle vibrazioni intramolecolari.

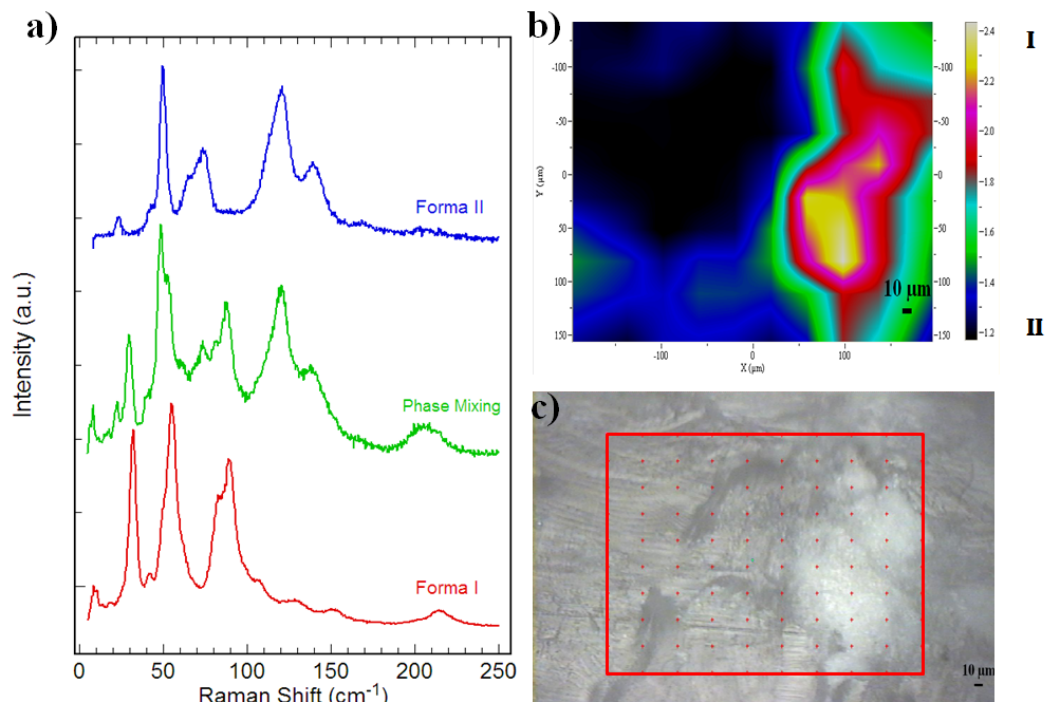


Figura 5.6: a) Spettri Raman acquisiti mesi dopo, b) mappa, c) porzione in cui è stata registrata la mappa. Polvere commerciale (rosso), mixing (verde) e ricristallizzato da fuso (blu).

Nelle condizioni di preparazione del campione, con il fuso mantenuto in contatto con la forma I, era prevedibile che solo quest'ultima si formasse per raffreddamento. Invece lo spettro di color verde (mediano) di figura 5.6 presenta chiaramente picchi caratteristici di entrambe le forme polimorfiche I e II, mostrando come nella zona di contatto si abbia, su scala micrometrica, una regione interfacciale dove le due fasi coesistono. In questa zona abbiamo fatto una mappa Raman del campione. Per ottenerla sono stati registrati spettri Raman in ogni punto della griglia precedentemente tracciata su una porzione di campione di interesse (figura 5.6.c). Nella successiva analisi abbiamo scelto un'opportuna finestra spettrale per la forma I (il modo reticolare a numero d'onda più basso, a  $32 \text{ cm}^{-1}$ ) e una per la forma II (a  $120 \text{ cm}^{-1}$ ), su cui abbiamo calcolato il rapporto di intensità  $R$ , codificato su una scala di falsi colori. Questo genera una mappa quale quella riportata in figura 5.6.b. Un elevato valore di  $R$  è stato mappato nei colori giallo-rosso e identifica concentrazioni elevate della forma I. Un basso valore di  $R$  (dal blu al nero) individua la zona in cui la forma II appare di fatto come pura.

Una nota molto interessante: eseguendo di nuovo l'analisi Raman dello stesso campione dopo qualche mese, abbiamo verificato che le estese aree (un paio di  $\text{cm}^2$ ) in cui era presente solo la fase II presentavano anche bande caratteristiche della forma I, totalmente assenti in precedenza. Una nuova mappatura Raman (figura 5.7) ha confermato che nel campione conservato in condizioni ambiente è presente una coesistenza di fase (o phase mixing) su larghe porzioni e non più confinata a un'interfaccia, come conseguenza del fatto che la fase cinetica II si sta lentamente trasformando nella più stabile fase I.



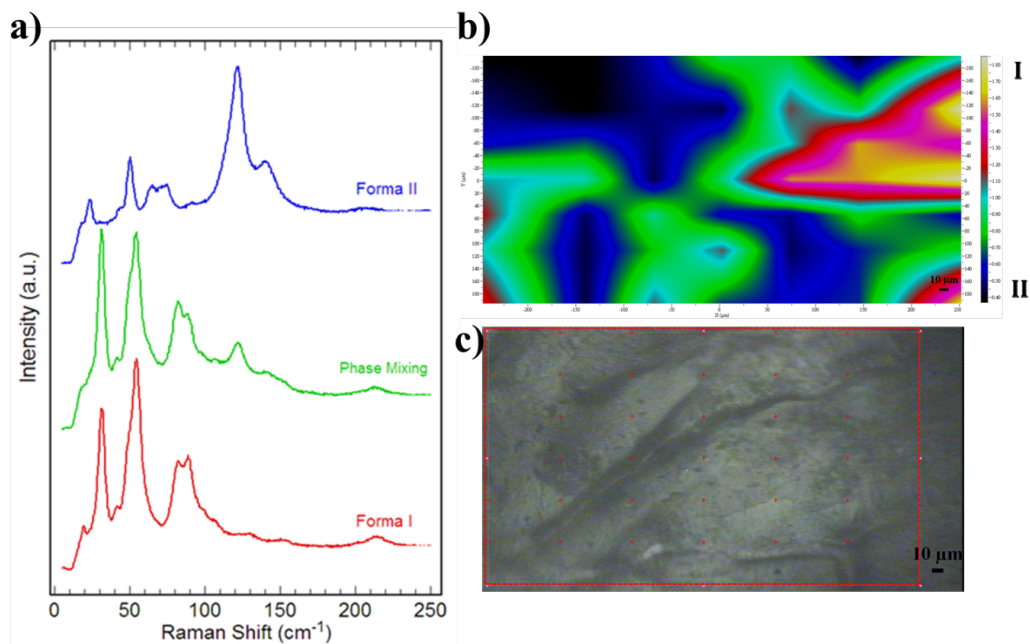


Figura 5.7: a) Spettri Raman acquisiti mesi dopo, b) mappa, c) porzione in cui è stata registrata la mappa.

In figura 5.7.a sono riportati gli spettri registrati su una porzione del campione (riportato in figura 5.7.c) già analizzato in figura 5.6. Lo spettro verde, mediano, rappresenta il phase mixing dove precedentemente era stata osservata forma II pura. La mappa Raman è stata effettuata sulla regione mostrata nella foto e nei punti su essa indicati, ed elaborata con le bande caratteristiche delle forme I e II scelte in precedenza. Anche la codifica dei colori è stata mantenuta identica. Un'occhiata alla mappa ci rivela immediatamente che le aree di coesistenza, in cui le bande caratteristiche hanno intensità comparabile, sono molte estese ma la trasformazione completa alla forma I ha già avuto luogo su qualche porzione.

Nel tentativo di ottenere strutture cinematicamente stabili, diverse cioè da quella termodinamicamente stabili in definite condizioni di  $p$ ,  $T$ , la polvere di paracetamolo commerciale inserita in un vial di vetro, è stata fusa e mantenuta a circa 190 °C per 10 minuti e quindi immersa in azoto liquido.

Come riportato in letteratura [17, 52], un raffreddamento veloce da fuso su superficie di vetro porta alla formazione della struttura I o di un amorfo, ottenendo l'uno o l'altro con minime variazioni sperimentali. La formazione dell'amorfo non stupisce, in quanto il raffreddamento veloce impedisce l'organizzazione delle molecole dallo stato disordinato del fuso a quello ordinato del cristallo. Più sorprendente risulta invece l'ottenimento della stabile forma I. Abbiamo quindi eseguito questa prova per verificare se nelle nostre condizioni sperimentali il processo di quenching permettesse di ottenere anche altre fasi metastabili. Si sono formati agglomerati dall'aspetto più o meno cristallino, come nella foto di figura 5.8. L'analisi Raman di questi aggregati, sia nelle zone di aspetto più cristallino, che in quelle che appaiono come polvere, mostra modi reticolari caratteristici della forma I.

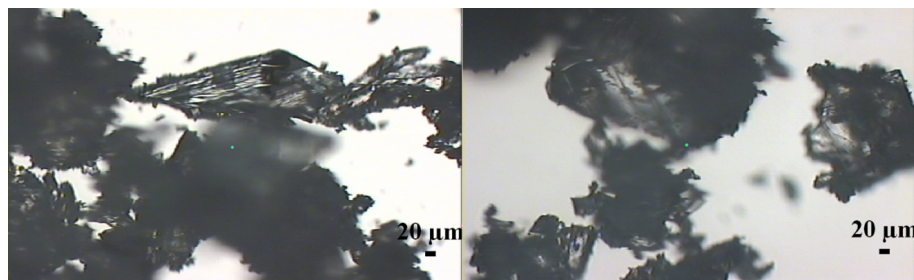


Figura 5.8: Foto di un cristallo ottenuto dal quench in azoto liquido.

### 5.3 Cristallizzazione di paracetamolo per sublimazione

La polvere commerciale di paracetamolo è stata sottoposta a sublimazione in diverse condizioni, quasi sempre in atmosfera inerte di  $N_2$ . Non essendo note le condizioni ottimali di sublimazione abbiamo impostato il vuoto finale della pompa e siamo partiti da temperature piuttosto basse per diversi giorni consecutivi, con aumenti progressivi di temperatura (70, 80, 107 °C). Solo a 126 °C il campione ( $\approx 100$  mg) è sublimato, in parte sul dito freddo ed in parte sulle pareti del sublimatore, dopo circa 6 ore.

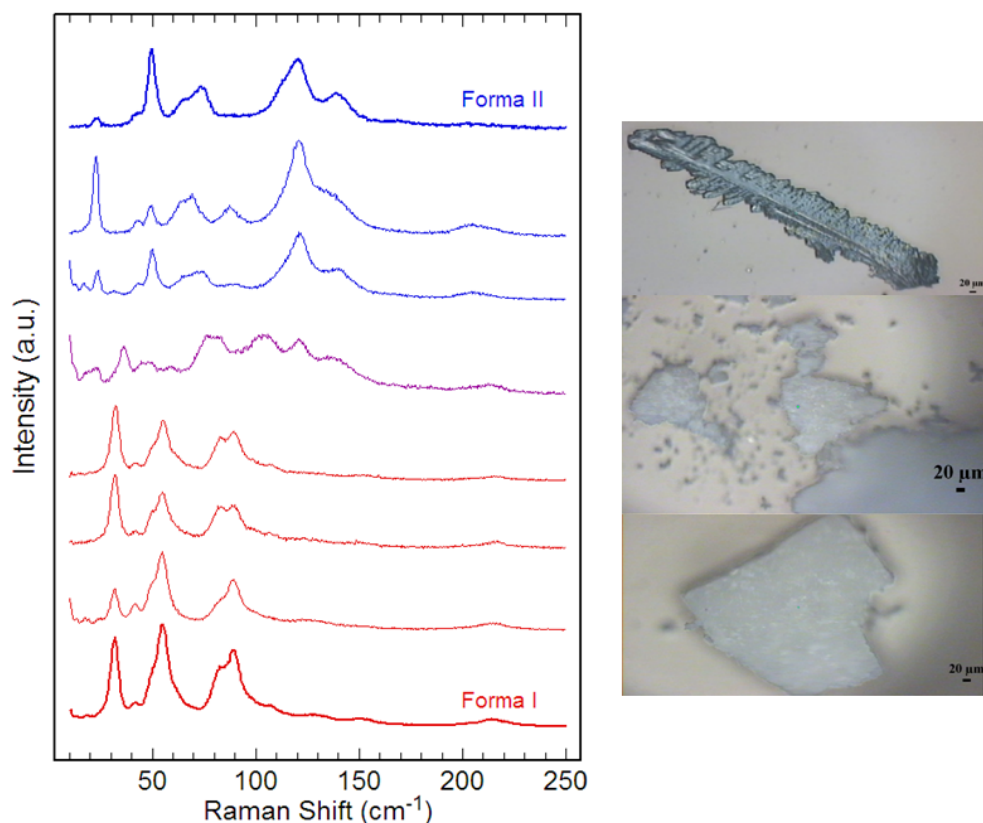


Figura 5.9: Spettri Raman su vari campioni ottenuti da sublimazione lenta e confrontati con i riferimenti di forma I e II. Gli spettri rossi corrispondono alla forma I, quelli blu alla forma II, mentre per l'assegnazione dello spettro viola verranno effettuate nuove analisi. A destra foto di alcuni cristalli analizzati.

L'analisi Raman del campione (in figura 5.9), condotta in punti distinti del sublimato, ha mostrato che si sono ottenuti cristalli della forma I (spettri in rosso) e della forma II (spettri in blu), dove però, contrariamente a quanto spesso accade, né la morfologia del

campione e nemmeno il punto da cui è stato raccolto ci ha guidato nell'identificazione delle diverse forme. Sorprendentemente notiamo che lo spettro viola, raccolto dalle pareti del sublimatore, non corrisponde a nessuna delle due forme. Un confronto con la letteratura non ci ha permesso di stabilire con certezza se avessimo ottenuto una nuova forma oppure l'elusiva forma III con un metodo (la sublimazione) non ancora riportato. Ulteriori indagini che mostreremo in seguito ci hanno permesso di chiarire l'origine di questo spettro.

Al fine di identificare le condizioni per l'ottenimento dell'una o dell'altra forma pura, nonché di eventuali altri polimorfi, si sono effettuate sublimazioni, su quantità circa uguali di prodotto ( $\approx 100$  mg), nelle seguenti condizioni:

- Prova 1) Lento riscaldamento fino a  $146$  °C (sublimato in due ore);
- Prova 2) Rapido riscaldamento fino a  $165$  °C (sublimato in due ore);
- Prova 3) Rapido riscaldamento fino a  $190$  °C (sublimato in un'ora);
- Prova 4) Lento riscaldamento fino a  $167$  °C (sublimato in tre ore). È stata utilizzata un'atmosfera di Argon ed un rapido raffreddamento al termine della prova.

Quando non specificato diversamente, si intende atmosfera di  $N_2$  e raffreddamento lento.

Nel caso della prova 1 durante il raffreddamento dalla parete del sublimatore si è staccato del materiale. Questo è stato prelevato, tenuto separato dalla porzione principale di sublimato (porzione 1), e indicato di seguito come porzione 2. Presumibilmente è quello che si è depositato per ultimo e si è separato perché disomogeneo rispetto all'altro.

Morfologicamente, le due porzioni appaiono ben distinte: come si può notare dalle foto in figura 5.10 la porzione 1 si presenta sotto forma di laminette sottili e estese (foto c e d, figura 5.10), mentre la porzione 2 come aghetti (foto a e b, figura 5.10). Gli spettri Raman dei modi reticolari sono anch'essi riportati in figura 5.10.

Gli spettri in colore rosso in figura sono delle piattine e, come si evince dal confronto con il riferimento, appartengono alla forma I. Le tracce blu invece si riferiscono alla porzione 2 e risultano appartenere alla forma II.

Anche nel caso prove 2 e 3 durante il raffreddamento del sublimato si è osservata una separazione, mentre ciò non si è verificato nella prova 4. Tuttavia diverse porzioni di sublimato non presentano morfologie distinte e l'unica fase identificata in tutti i casi è la forma I, come verificabile negli spettri riportati in figura 5.11. Quello che possiamo concludere da queste prove di sublimazione è che solo nel caso di riscaldamento lento in atmosfera di azoto a una  $T$  inferiore a  $150$  °C si ottengono entrambe le forme I e II, distinguibili sulla base delle diverse morfologie e quindi fisicamente separabili (coesistenza di fase).

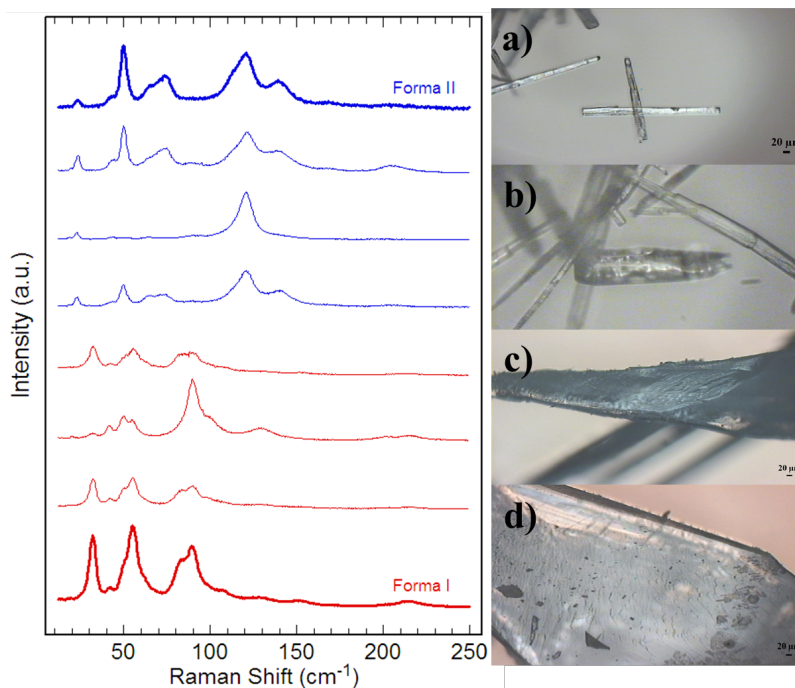


Figura 5.10: Spettri Raman su campioni ottenuti dalla seconda sublimazione e confrontati con i riferimenti della forma I e II. Gli spettri rossi (derivanti dalla porzione 1) corrispondono alle foto a e b, mentre quelli blu (porzione 2) alle foto c e d.

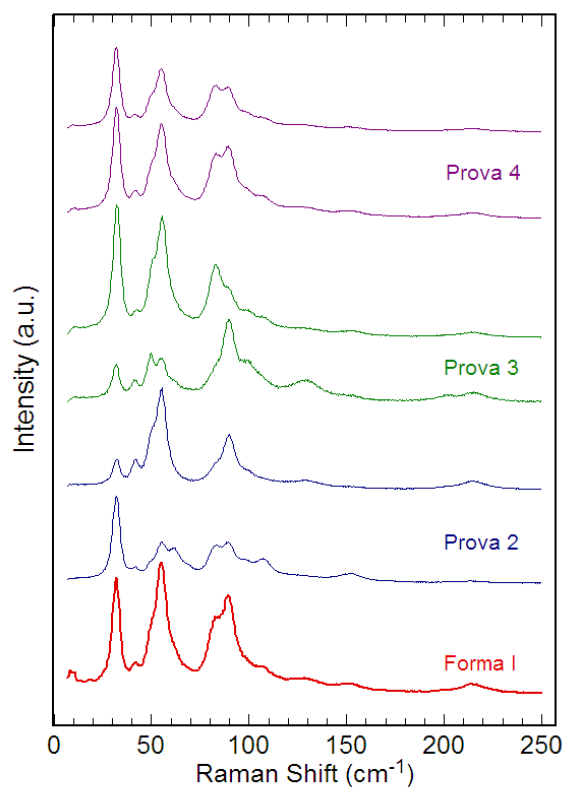


Figura 5.11: Spettri Raman su campioni ottenuti da sublimazione a 165 °C (blu, prova 2), a 190 °C (verde, prova 3), a 167 °C con Argon (viola, prova 4), confrontati con il riferimento della forma I (rosso).

I risultati ottenuti dalle prove di sublimazione sono in un certo senso controintuitivi, poiché nella prova condotta a temperatura più bassa e in condizioni di lento riscaldamento otteniamo anche la forma II, termodinamicamente meno stabile a  $p$ ,  $T$  ambiente, mentre nelle sublimazioni veloci come la 2 e la 3, o a  $T$  più alta come la 4, si ottiene solo la forma I. Ma questo sembra essere abbastanza tipico del diagramma di fase del paracetamolo, per il quale anche dal fuso l'ottenimento della fase è regolato da una complicata convergenza di condizioni, quali temperatura di quenching, velocità di raffreddamento, segregazione del fuso, cicli di riscaldamento/raffreddamento e così via [17]. D'altra parte la difficoltà di ottenere la forma II separatamente dalla forma I è conseguenza del fatto che le due forme, per quanto ben distinte per architetture di impaccamento molecolare, sono di fatto energeticamente molto vicine, tanto che fonti diverse danno persino  $\Delta H_{\text{tran}}$  di segno opposto [53]. Inoltre è ancora in discussione la relazione che lega i due polimorfi che in alcuni casi è data come monotropica [53], mentre al contrario si stimano temperature di transizione da II a I variabili fra  $-10$  °C e  $-123$  °C [53], fortemente influenzate dalla presenza di difetti nelle strutture.

## 5.4 Campioni di amorfo e dell'elusiva forma III

Come detto nei capitoli precedenti, la forma ortorombica III del paracetamolo è la meno stabile finora identificata e in letteratura sono riportati alcuni metodi che consentono di riprodurla. Esiste un unico lavoro [21] per il quale gli autori hanno depositato i dati strutturali nel database CSD. In questo lavoro si propone un particolare ciclo di temperatura che prevede la fusione della forma I seguita da un processo di tempra, con l'ottenimento del campione amorfo, e dalla digestione del campione a  $72$  °C, temperatura inferiore alla fusione della forma I, per ottenere infine la forma III. Nell'articolo in questione si sottolinea come la caratteristica fondamentale per l'ottenimento di questa struttura sia l'assenza di ossigeno.

Seguendo il procedimento suddetto, la polvere di paracetamolo commerciale è stata trasferita in un capillare mantenuto verticale grazie ad un vial e riscaldato fino a  $177$  °C, in atmosfera di  $N_2$  e in condizioni di vuoto pari a  $0.5 \times 10^{-3}$  Torr. Lasciato in queste condizioni per 20 minuti, il campione avrebbe dovuto presentarsi come completamente fuso. Ciò non si è tuttavia verificato, perché, probabilmente a causa dell'effetto combinato dello spessore creato dal vial e dal capillare, di fatto la temperatura nel campione era sensibilmente minore, e siamo dovuti arrivare a un valore misurato di  $390$  °C per osservarne la fusione. Il composto è stato lasciato raffreddare in forno chiuso in atmosfera inerte, per cui il raggiungimento della temperatura ambiente è stato molto lento, ed in questo la procedura è diversa da quella proposta in letteratura. Il giorno successivo il campione è stato portato ad una temperatura stimata di  $285$  °C e, dopo un'ora, riportato a temperatura ambiente.

In questa procedura sono stati riscontrati diversi problemi, infatti il nostro setup sperimentale non garantisce un preciso controllo della  $T$ , in particolare durante il raffreddamento, e si è anche supposto che la differenza fra la  $T$  misurata e reale fosse costante, assunzione in realtà poco giustificabile. Tutte queste ragioni sono state probabilmente causa del mancato ottenimento dell'amorfo come stato intermedio, e quindi del mancato conseguimento del risultato sperato. L'analisi Raman eseguita direttamente sul capillare ha infatti identificato in tutti i punti osservati solo la forma I.

Per le prove successive abbiamo quindi utilizzato uno stage riscaldante, inserito direttamente sulla piattaforma dello spettrometro, in modo da seguire per via spettroscopica le variazioni del campione durante i processi di riscaldamento/raffreddamento. Abbiamo quindi tentato il metodo proposto da Di Martino *et al.* [50], seguendolo alla lettera, nonostante gli autori ammettessero che la loro messa a punto fosse del tutto fortuita e non basata su considerazioni di tipo termodinamico come nel lavoro di Perrin [21].

La polvere commerciale è stata posizionata tra due vetrini da microscopio e il tutto è stato mantenuto a 54 °C per 10-15 minuti. Si è poi raggiunta la temperatura di 173 °C in circa 1 ora e 20 minuti e la fusione è stata osservata a 149 °C. La temperatura è stata quindi riportata a 54 °C e mantenuta tale per 90 minuti. In questo caso la morfologia del campione, ricristallizzato in seguito alla fusione, non permette di acquisire spettri Raman ben definiti, ma, eseguendo una normalizzazione in intensità, si osservano, dopo la permanenza a 54 °C, i picchi caratteristici della forma II riportati in figura 5.12.

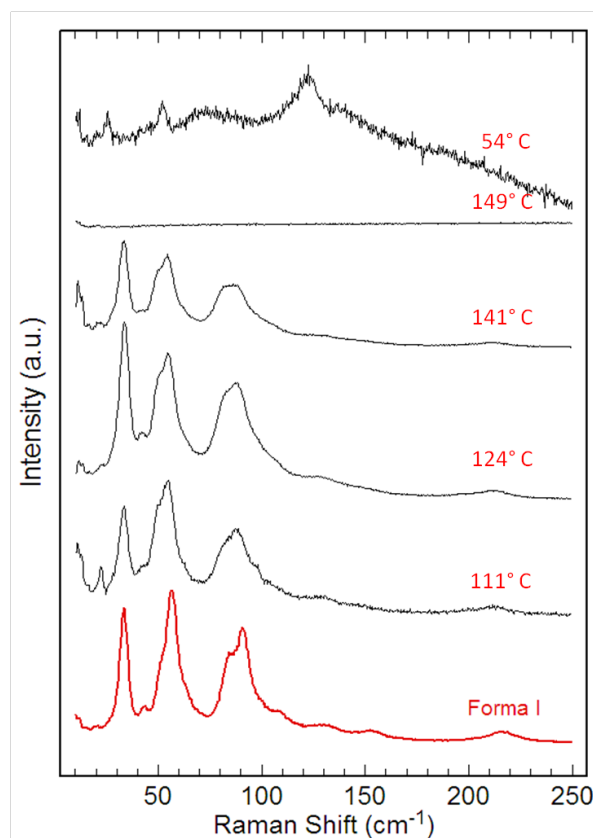


Figura 5.12: Spettri Raman ottenuti da ciclo di temperatura e confrontati con riferimento di forma I (rosso).

Dal confronto con lo spettro di riferimento si può notare come le bande della forma I subiscano un allargamento all'aumentare della temperatura fino a completa fusione, mentre durante il raffreddamento compaiono le bande caratteristiche della forma II.

Altri lavori [54], hanno dimostrato che la temperatura alla quale si mantiene inizialmente il campione, prima della fusione, è inessenziale e per una prova successiva siamo passati dalla temperatura ambiente fino a completa fusione in 6 ore, in modo da provare a monitorare possibili trasformazioni di fase che si verificano in questo intervallo. Terminata la rampa di riscaldamento, i vetrini con il prodotto sono stati velocemente raffreddati a temperatura ambiente. Sicuramente non si osserva nessuna transizione di fase prima della fusione, e questo è chiaramente confermato dagli spettri registrati durante il riscaldamento di figura 5.13 (sinistra).

Il totale raffreddamento del fuso, che teoricamente doveva portare all'ottenimento dell'amorfo, in realtà produce la forma I con particolari polarizzazioni, come si osserva dagli spettri riportati nella figura 5.13 (destra).

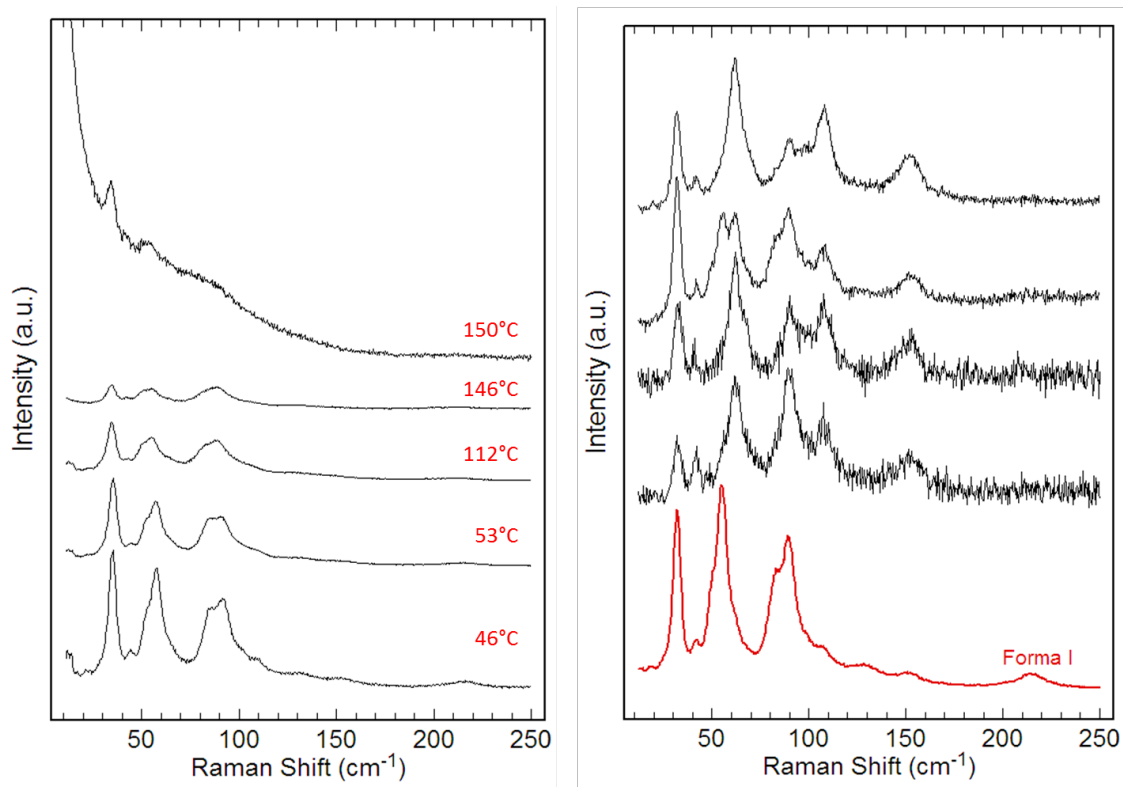


Figura 5.13: Spettri Raman acquisiti in rampa di temperatura (sinistra) e dopo due giorni a temperatura ambiente (destra). Lo spettro rosso è il da riferimento.

La prova è stata eseguita, rispettando l'ultima procedura, anche su un cristallo singolo, che dovrebbe, più della polvere, essere esente da quelle impurezze chimiche che potrebbero influenzare il processo di nucleazione da fuso. Abbiamo quindi posizionato il campione direttamente sullo stage scaldandolo fino a 153 °C (fusione completa) in 5 ore e gli spettri sono riportati a destra in figura 5.14. Una volta completato il raffreddamento all'aria, il campione è stato nuovamente analizzato (risultati a sinistra in figura 5.14).



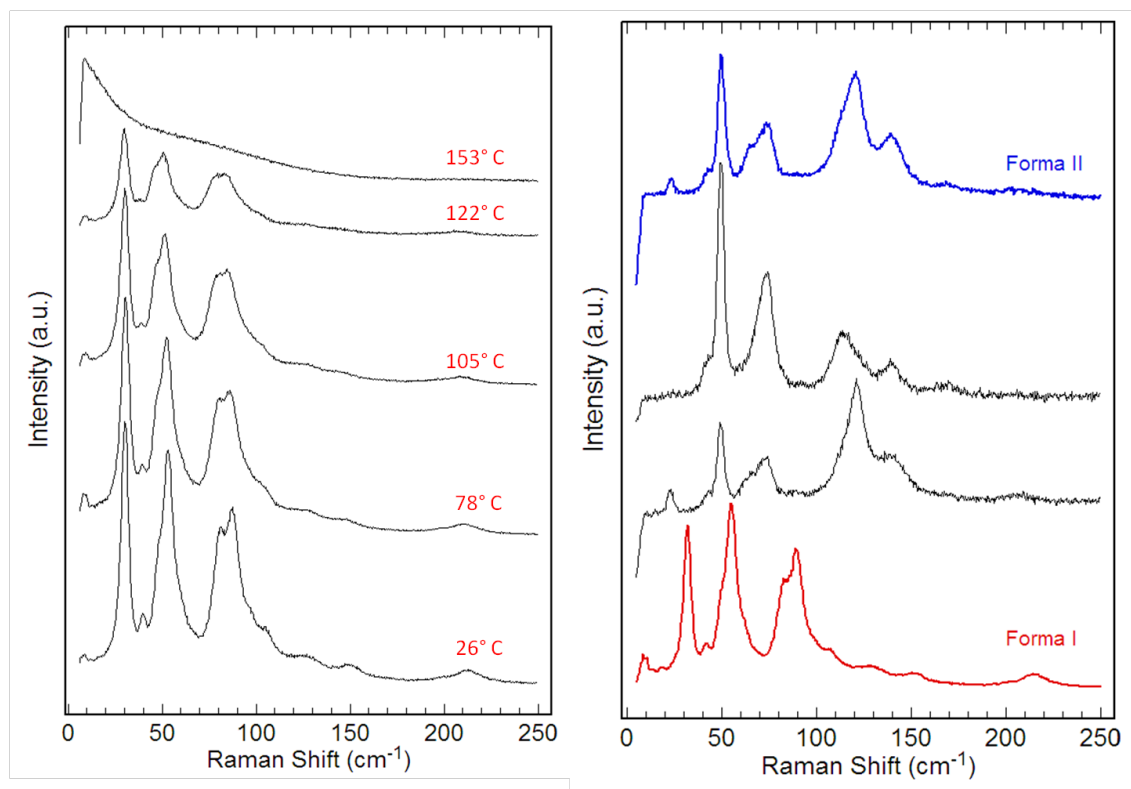


Figura 5.14: Spettri Raman acquisiti in rampa di temperatura (sinistra) e dopo alcuni giorni a temperatura ambiente (destra). Le tracce rosso e blu fungono da riferimento.

Dai risultati riportati in figura 5.14 si osserva la formazione della forma II dalla ricristallizzazione. Per la modalità con cui è stato disposto il campione, il raffreddamento è avvenuto più lentamente, portando così all'ottenimento della forma II.

L'approccio successivo è stato assicurarsi che da fuso si ottenesse una forma amorfa che non contenesse domini cristallini di altre fasi. Termodinamicamente la fase amorfa è più instabile [17] di qualunque fase cristallina ed è plausibile ipotizzare che essa si trasformi spontaneamente nella fase cristallina con energia libera più vicina e quindi nel polimorfo meno stabile, in accordo con il postulato di Ostwald. Il processo può anche avvenire se l'amorfo viene mantenuto per un tempo sufficientemente lungo nel range di  $p$ ,  $T$  in cui la fase ad alta energia libera risulta nondimeno stabile, se il polimorfo in questione è in relazione enantiotropica con gli altri polimorfi. Una ragione ulteriore per ottenere l'amorfo è di assicurarsi che non siano presenti, almeno nel limite di rilevazione a nostra disposizione, semi di dimensioni anche nanometriche che possano innescare la nucleazione di una fase diversa da quella desiderata (Capitolo 2).

L'ottenimento della forma amorfa richiede un processo di tempra del fuso a temperatura ambiente, ma in condizioni controllate in quanto, come già osservato, se il passaggio è troppo rapido si ottiene la forma I, mentre se troppo lento la forma II.

Seguendo la letteratura [52], abbiamo allestito tre campioni di prova con 4-5 mg del composto:



- Campione 1) Cristalli ottenuti con tecnica PVT tra due vetrini di quarzo;
- Campione 2) Cristalli ottenuti con tecnica PVT tra un vetrino e un coprivetrino;
- Campione 3) Polvere commerciale tra un vetrino e un coprivetrino.

La tecnica di Physical Vapor Transport (PVT) ci ha permesso di crescere da vapore e in condizioni di gradiente di temperatura noto cristalli singoli molto puri di paracetamolo forma I. Il coprivetrino è una lamina sottile di dimensioni di  $21 \times 26$  mm, posto a protezione del campione.

I campioni preparati sono stati portati a fusione sulla piastra (tra 160 e 180 °C), poi raffreddati a 23 °C.

Lo spettro Raman dei campioni raffreddati non mostra bande nella zona delle vibrazioni reticolari, condizione ovviamente attesa per l'amorfo. Lo spettro delle vibrazioni molecolari è molto debole e di fatto analizzabile solo nelle porzioni più spesse del campione. Questa è una caratteristica frequentemente osservata in campioni amorfi, ove lo spettro Raman dei modi intramolecolari risulta molto più debole a causa del minor scattering rispetto ai campioni cristallini. D'altra parte le blande condizioni operative assicuravano che l'identità chimica del composto si sarebbe preservata. Nel campione 2 si osservava tuttavia la progressiva formazione, in particolare sui bordi esterni, della forma II.

Abbiamo quindi deciso di selezionare il campione 3, ottenuto dalla polvere, per un ciclo di riscaldamento che lo ha portato da  $T$  ambiente a 85 °C in 3 ore. Arrivata a temperatura, il campione è stato raffreddato fino a temperatura ambiente senza rimuovere il coprivetrino. Il giorno successivo il campione è apparso morfologicamente molto diverso e con un diverso spettro nell'intervallo dei bassi numeri d'onda, che è risultato corrispondere ad una nuova struttura, ovvero l'elusiva forma III [55], come riportato in figura 5.15. Un'analisi attenta degli spettri registrati il giorno precedente, anch'essi mostrati in figura, ha messo in luce che in realtà la forma III già stava nucleando in un preciso punto del campione, identificabile anche dal suo aspetto, durante il riscaldamento dell'amorfo.

Nei giorni successivi il campione è stato ulteriormente analizzato e si è osservato che la crescita della forma III ha generato domini non isorientati, come si può dedurre dai diversi spettri riportati in figura 5.16, dove chiaramente si osservano effetti orientazionali. La figura 5.16.d rappresenta la zona della foto 5.16.c, ma acquisita con il microscopio polarizzatore. Questa immagine conferma quanto suggerito dagli spettri, poiché il campione di forma III presenta effetti di polarizzazione variabile. Il campione presenta comunque ancora zone amorfe (spettro verde in figura 5.17), mentre ai bordi tracce di forma II (spettri blu in figura 5.17).

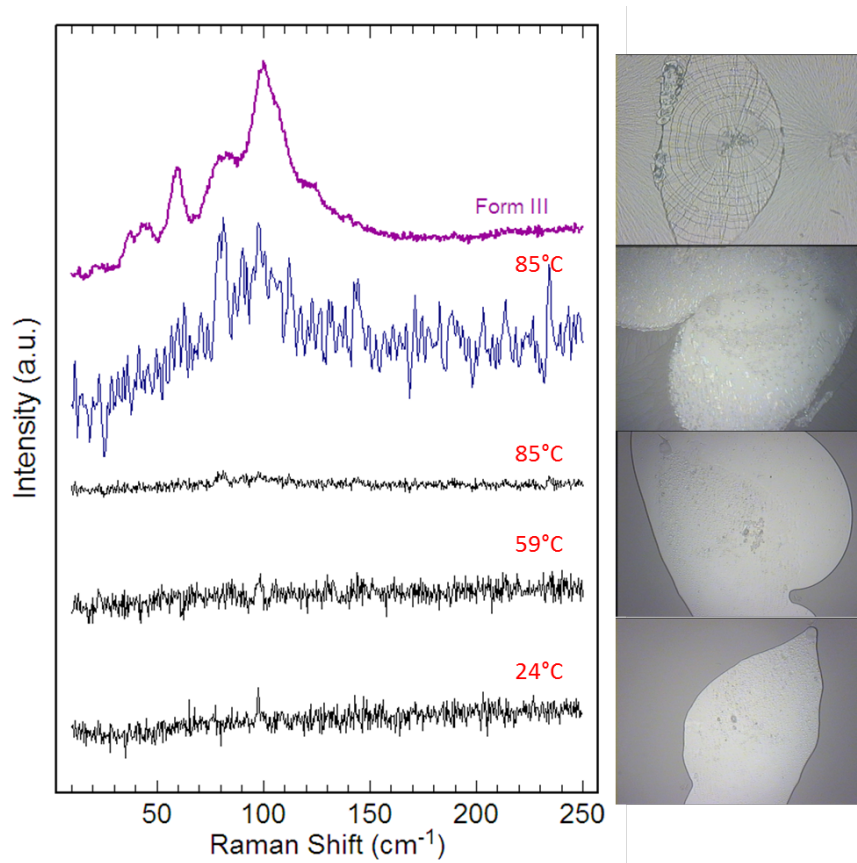


Figura 5.15: Spettri Raman acquisiti in rampa di temperatura (neri), con intensità aumentata di un fattore 10 da software (blu) e forma III analizzata il giorno successivo (viola).

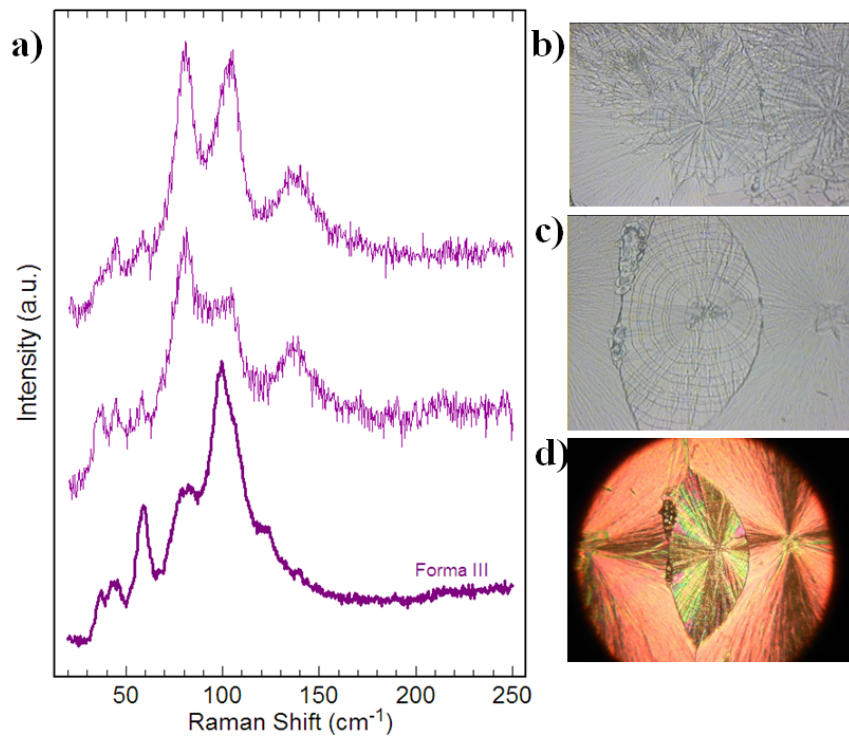


Figura 5.16: Spettri Raman della forma III acquisiti nei giorni successivi affiancati alle foto del zone analizzate.

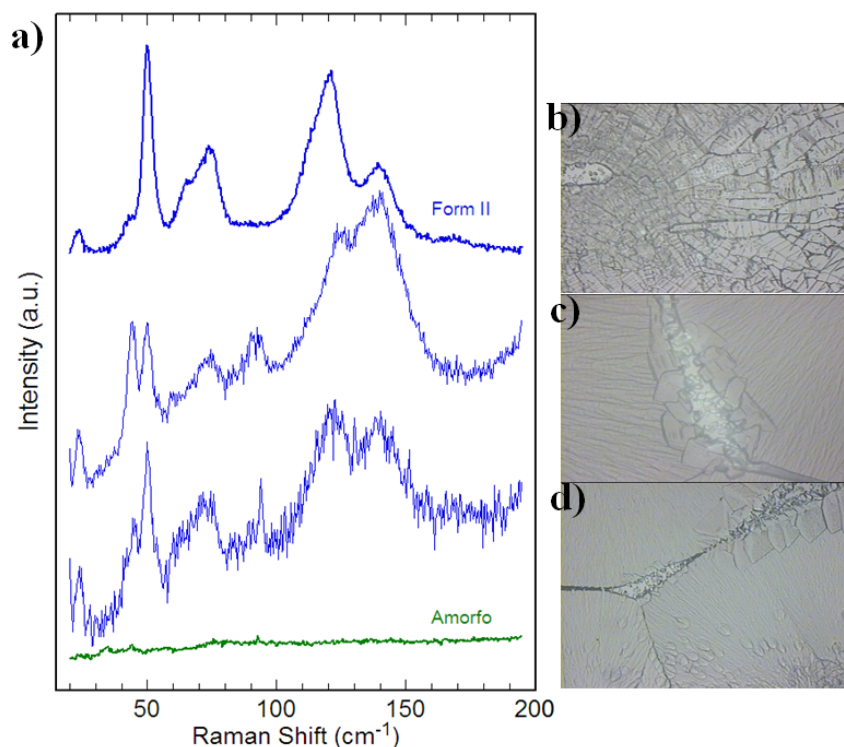


Figura 5.17: Gli spettri Raman della forma II, con il suo relativo riferimento, sono riportati in blu, mentre quelli dell'amorfo in verde. Le foto b e c corrispondono alle zone di forma II, mentre la foto d all'amorfo.

Grazie alle nuove informazioni ottenute possiamo ora affermare che lo spettro viola ottenuto nella prima sublimazione (figura 5.9) corrispondeva, sorprendentemente, alla forma III. Questo importante risultato sarà il punto di partenza per ulteriori accertamenti.

Come riportato in letteratura [52], un campione amorfo, lasciato coperto da coprivetrino in condizioni ambiente, dopo tre settimane tende a trasformarsi spontaneamente in forma III+II. Il campione 2 infatti, inizialmente scartato, dopo un mese ha subito una parziale cristallizzazione alla struttura III insieme alla II. La mappa registrata su questo campione è riportata in figura 5.18.

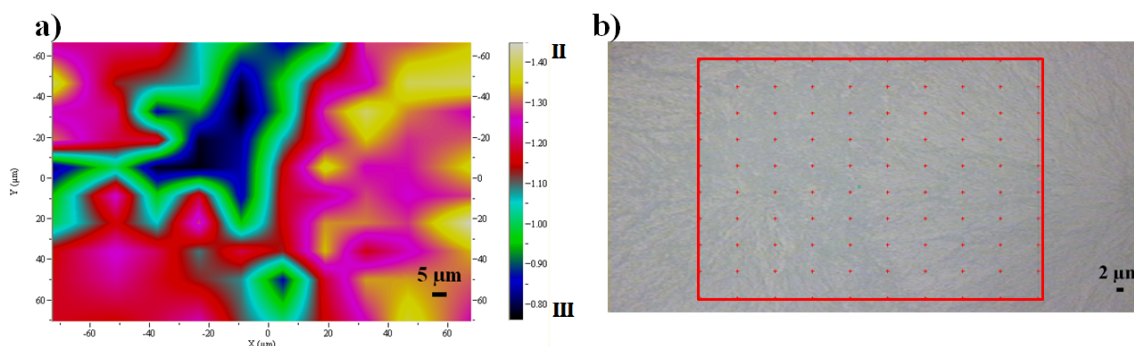


Figura 5.18: Mappa Raman effettuata sul campione 2 lasciato un mese, con coprivetrino, in condizioni ambiente su cui si osserva la formazione di forma II e III dal campione amorfo.

Per quanto riguarda il campione 1 invece, ha presentato anch'esso la trasformazione, ma essendo tra due spessi vetrini di quarzo sono stati registrati spettri meno definiti.

Il ruolo del coprivetrino (o comunque della presenza di una superficie che isola il campione dall'atmosfera) è stato ampiamente discusso in letteratura [52]. Nell'articolo citato, gli autori ipotizzano che il vetrino annulli l'effetto dell'umidità ambientale sul processo di cristallizzazione, ma indicano come fattore più importante l'inibizione dei moti molecolari indotta dall'interfaccia solida, che comporterebbe una dinamica di cristallizzazione diversa da quella del bulk. Noi possiamo aggiungere la considerazione che la presenza di una seconda interfaccia (in aggiunta al substrato su cui si colloca il fuso) e probabilmente la formazione di uno spessore più sottile di fuso confinato, rendono in generale più importanti i meccanismi di nucleazione eterogenea. Fenomeni di velocità di cristallizzazione diverse all'interfaccia rispetto a quelle in fase bulk non possono essere trascurati.

Di fatto è stato dimostrato recentemente [56] che le superfici di amorfi presentano velocità di cristallizzazione nettamente distinte e maggiori da quelle dell'interno, per così dire, congelato. Inoltre la nucleazione sulla superficie è molto selettiva e può indirizzare alla formazione di un polimorfo specifico la cui crescita successivamente si estende all'intero campione. D'altra parte è intuitivo pensare che in un campione solido i fenomeni di nucleazione inizino dalla superficie. Per verificare se nel caso della forma III, ottenuta con copri vetrino e quindi teoricamente in condizioni di mobilità superficiale inibita, la formazione del cristallo fosse iniziata dalla superficie o, viceversa, dal bulk, abbiamo registrato una serie di spettri variando l'apertura numerica NA dell'obiettivo, in modo da modificare la profondità di campo ai valori (nominali) dati nella tabella 2.1. Ricordiamo che quanto minore è la NA (che nella sequenza degli obiettivi utilizzati aumenta con il fattore di magnificazione) tanto maggiore è la profondità di campo. Per quanto l'esperimento non possa considerarsi esaustivo, dato che l'informazione completa si otterrebbe con la registrazione di una mappa 3D del campione, gli spettri riportati in figura 5.19 sembrano indicare che la formazione della fase III (spettro con traccia viola) è un fenomeno che si innesca sulla superficie, che appare più nettamente cristallina del "core" del materiale.

I migliori spettri delle forme ottenute sono confrontati in figura 5.20. Si noti che le tre strutture presentano picchi molto diversi tra loro, mentre nei campioni con disomogeneità di fase sono presenti picchi caratteristici delle diverse forme. Per quanto riguarda le zone di campione amorfo, esso ovviamente non presenta modi reticolari non essendo cristallino.

In figura 5.21 vengono mostrati gli spettri dei modi intramolecolari dei campioni ottenuti, in corrispondenza degli spettri reticolari di figura 5.20. Per gli scopi di questa tesi un'analisi dettagliata dei modi intramolecolari non è necessaria. È però importante notare che, a meno di differenze nell'intensità di alcune bande (effetti di orientazione o polarizzazione), tutti gli spettri manifestano la stessa impronta molecolare, a prova che sono tutti polimorfi genuini e miscela. Nella figura 5.21 riportiamo anche lo spettro per il paracetamolo in fase gas previsto in base alle frequenze e intensità *ab-initio* (con larghezza a metà altezza  $10 \text{ cm}^{-1}$  stimata approssimativamente dagli spettri sperimentali) calcolato come discuteremo nella sezione 6.3. Lo spettro calcolato per il gas è in buon accordo con gli

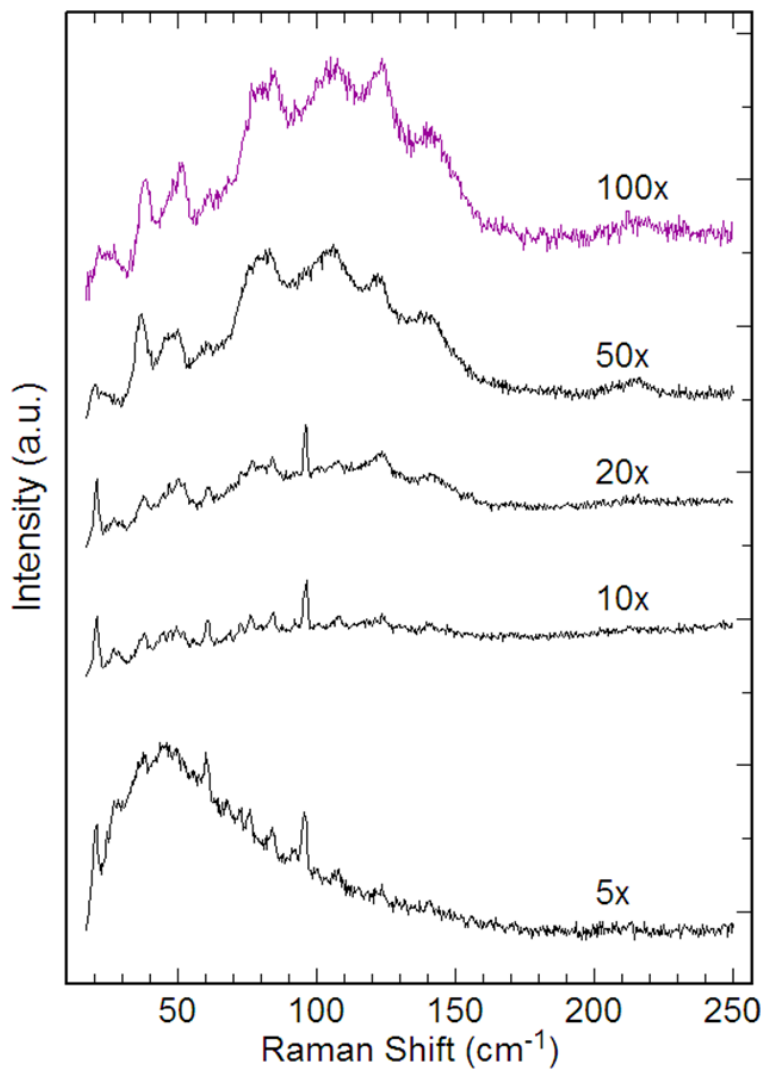


Figura 5.19: Spettri Raman a varie aperture numeriche in cui si osserva l'effetto della penetration depth. Lo spettro viola rappresenta la forma III.

spettri sperimentali del paracetamolo solido (forme I, II, III e amorfo).

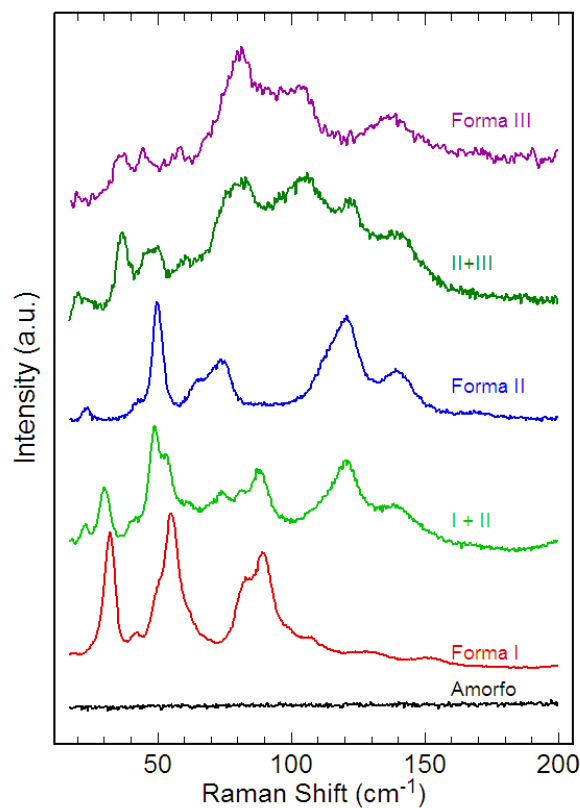


Figura 5.20: Spettri Raman dei modi reticolari dei diversi polimorfi e delle miscele ottenuti.

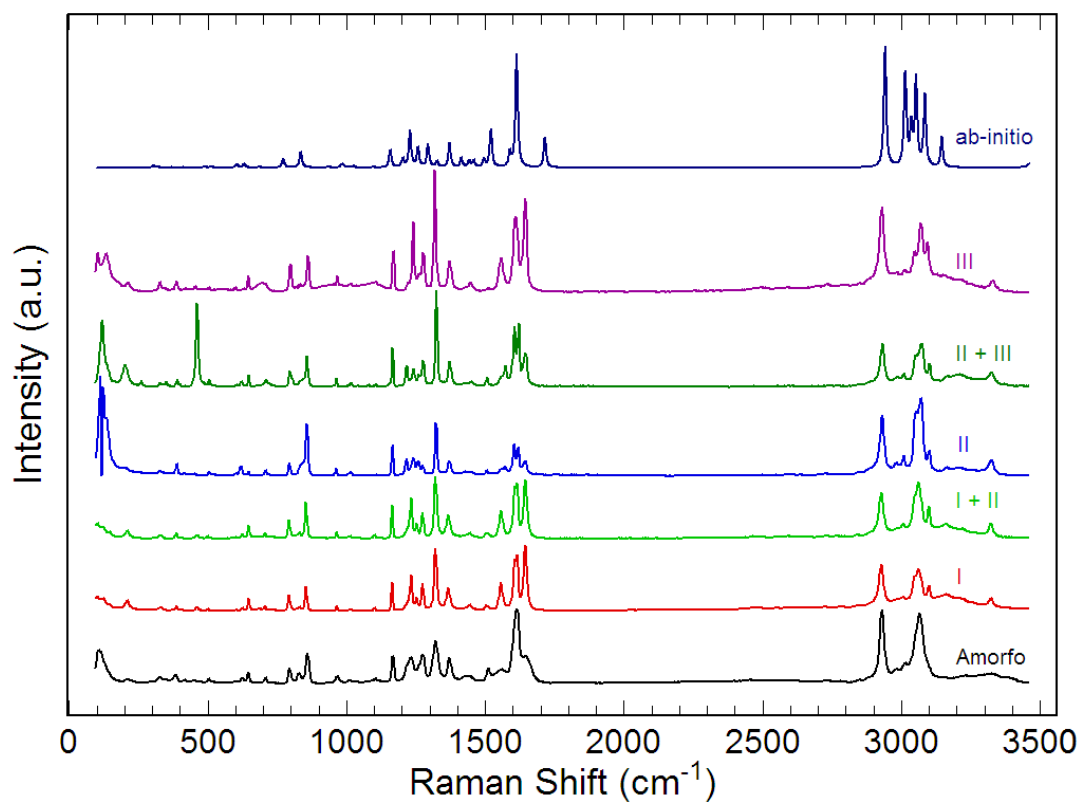


Figura 5.21: Spettri Raman delle forme e delle miscele ottenuti, nella regione dei modi intramolecolari. Riportiamo anche lo spettro intramolecolare simulato in base ai risultati *ab-initio*, come discusso nel testo.

## 5.5 Spettri polarizzati

Per quanto non direttamente legato al problema del polimorfismo, l'assegnamento degli spettri Raman fornisce informazioni sulla simmetria e sulle caratteristiche dei modi reticolari e, quindi, è comunque d'interesse. Tutte le frequenze misurate per le varie forme del paracetamolo, con la loro simmetria sperimentale quando disponibile, sono riportate nella tabella 5.3. Nella tabella riportiamo anche le frequenze e le simmetrie ottenute dal calcolo, con le procedure descritte nella sezione 3.6. A causa della cattiva qualità del modello di potenziale, e come discuteremo nella sezione 6.7, le frequenze calcolate non sono affidabili, e vanno pertanto interpretate come puramente orientative. Tutti i dati presentati in questa sezione, sia sperimentali che teorici, dovranno essere rivisti, rimisurati e ricalcolati. Abbiamo deciso di riportarli perché possono essere utili come base per il lavoro futuro. Nelle sezioni che seguono presentiamo l'analisi dettagliata degli spettri sperimentali dei vari polimorfi.

### 5.5.1 Forma I

Come già riportato, la struttura cristallina è monoclinica, gruppo spaziale  $C_{2h}^5$  con  $Z = 4$ . L'analisi del gruppo fattore nella approssimazione della molecola rigida (tabella 4.3) prevede 12 modi reticolari con  $k = 0$  attivi in Raman, di simmetria  $6A_g + 6B_g$ .

Allo scopo di determinare il numero massimo di bande reticolari, abbiamo analizzato lo spettro a temperatura ambiente di un aghetto orientato senza una direzione preferenziale. Il profilo spettrale è mostrato nella figura 5.22, assieme alla sua deconvoluzione come somma di bande pseudo-Voigt, che risultano essere di tipo prevalentemente lorentziano. Questa deconvoluzione dello spettro porta ad evidenziare 11 delle 12 bande attese.

Per ottenere indicazioni assolutamente certe sulla simmetria delle bande dovremmo indicizzare i cristalli con i raggi X (cosa al di là delle nostre possibilità sperimentali) e poi registrare gli spettri in luce polarizzata.

Nel nostro caso questo non è necessario, perché i campioni si presentano come cristalli singoli con la forma di aghetti che, analizzati al microscopio polarizzatore, presentano trasmissione massima quando l'asse dell'aghetto è circa a  $45^\circ$  rispetto ai polarizzatori e minima (estinzione) quando è parallelo (o perpendicolare). La rotazione dell'aghetto attorno al proprio asse non modifica l'angolo di estinzione. Morfologia ad aghetto con estinzione parallela all'aghetto, in effetti, è il comportamento atteso per un cristallo monoclinico nel caso frequentissimo in cui l'asse di simmetria  $b$  è un asse di crescita preferenziale [57]. Ricordiamo che i cristalli monoclinici sono cristalli biassiali con due assi d'estinzione perpendicolari tra loro. Uno degli assi è necessariamente lungo l'unico asse di simmetria del cristallo (asse  $b$ , per convenzione), mentre l'altro può essere ovunque nel piano  $ac$ , ortogonale a  $b$ .

Avendo dedotto che l'asse  $b$  è lungo l'aghetto, allo scopo di determinare la simmetria delle bande abbiamo registrato gli spettri in luce polarizzata, riportati in figura 5.22 e ottenuti orientando l'aghetto sulla piattaforma del microspettrometro lungo le sue direzioni di estinzione (parallela e perpendicolare a  $b$ , quindi). Vediamo che gli spettri sono molto diversi tra loro e, quindi, vale la pena di approfondire l'analisi per dedurre le simmetria dei modi.

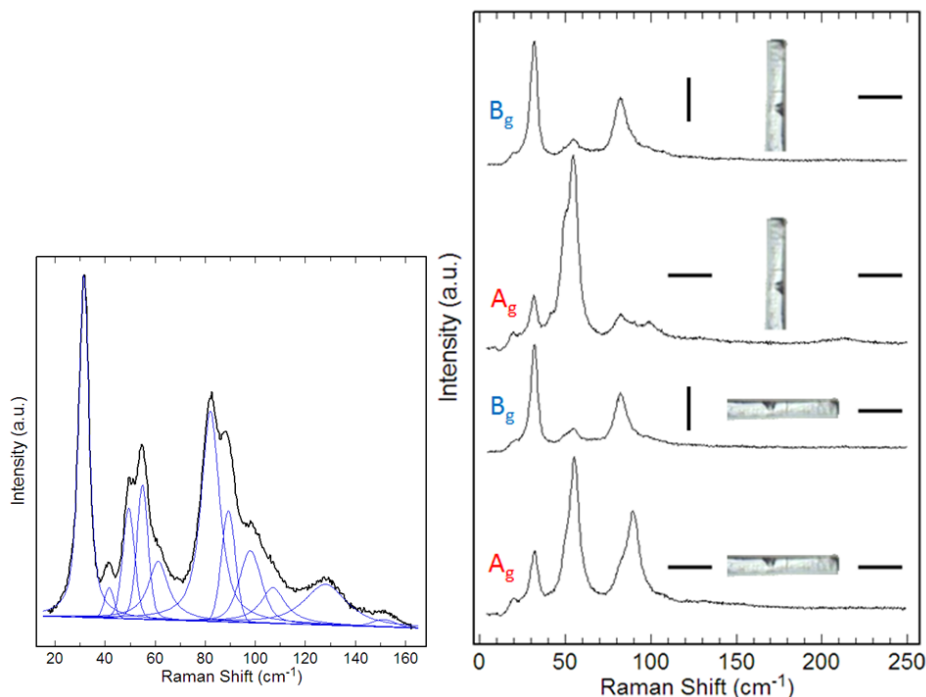


Figura 5.22: A sinistra: Spettro Raman non polarizzato di un cristallo della forma I di paracetamolo. Sottostante, in blu, la scomposizione dello spettro come somma di bande lorentziane. A destra: Spettri Raman polarizzati per ampioni della forma I (aggetti). La polarizzazione del laser e l'aghetto sono orizzontali (—) oppure verticali (|), come indicati nel grafico. L'analizzatore è sempre orizzontale (—).

Seguendo le regole di Porto [58], gli elementi del tensore polarizzabilità coinvolti nelle diverse geometrie degli spettri polarizzati sono etichettati sulla base di una coppia di indici relativi alla polarizzazione della radiazione incidente sul cristallo e a quella dello scattering, rispettivamente. Nel nostro caso uno dei due assi è sicuramente  $b$ , ma l'altro può essere ovunque nel piano  $ac$ . Ciò nonostante, possiamo comunque arrivare a un indicazione della simmetria  $A_g/B_g$  delle bande in esame. Infatti se esaminiamo le matrici riportate nella tabella 5.1 per il tensore di polarizzabilità  $\alpha$  relativo alle rappresentazioni irriducibili del gruppo di simmetria  $C_{2h}$  (il gruppo fattore del gruppo spaziale  $C_{2h}^5$ ), notiamo una mutua esclusione degli elementi di matrice.

Siamo ora in grado di analizzare la figura 5.22. La prima cosa che si osserva è che i due spettri con polarizzatori incrociati (| — oppure — |) sono praticamente coincidenti, qualunque sia la orientazione dell'aghetto, orizzontale o verticale, essendo comunque una delle due direzioni l'asse  $b$  e l'altra nel piano  $ac$  perpendicolare a  $b$ . Come si vede dalla struttura del tensore di polarizzabilità (tabella 5.1), queste sono appunto le condizioni in cui



Tabella 5.1: Componenti non zero del tensore di polarizzabilità per i modi Raman del gruppo  $C_{2h}$  (il gruppo fattore per il polimorfo I).

$$\begin{array}{c} A_g \\ \hline \begin{pmatrix} \alpha_{aa} & 0 & \alpha_{ac} \\ 0 & \alpha_{bb} & 0 \\ \alpha_{ac} & 0 & \alpha_{cc} \end{pmatrix} \end{array} \quad \begin{array}{c} B_g \\ \hline \begin{pmatrix} 0 & \alpha_{ab} & 0 \\ \alpha_{ab} & 0 & \alpha_{bc} \\ 0 & \alpha_{bc} & 0 \end{pmatrix} \end{array}$$

appaiono solo le componenti di simmetria  $B_g$ , e come tali vengono assegnate nella tabella 5.3. Gli altri due spettri, con polarizzatori paralleli (— —) e cristallo orizzontale oppure verticale, vengono conseguentemente attribuiti ai modi con simmetria  $A_g$ . Si noti che in quest'ultimo caso le frequenze delle bande devono coincidere, mentre i profili spettrali possono variare perché, a differenza del caso precedente, si riferiscono ad elementi di matrice sempre totalsimmetrici, ma diversi ( $aa$ ,  $bb$ ,  $cc$ ,  $ac$ ).

### 5.5.2 Forma II

Lo spettro Raman non polarizzato dalla forma II (cristalli ottenuti dalla sublimazione a 146 °C) è mostrato nella 5.23, con sottesa la deconvoluzione del profilo spettrale come somma di bande di tipo prevalentemente lorentziano (pseudo-Voigt). Come spesso succede a temperatura ambiente, la deconvoluzione porta ad evidenziare un numero estremamente limitato di bande molto larghe, presumibilmente con ampie sovrapposizioni.

La forma II è ortorombica, gruppo spaziale  $D_{2h}^{15}$  con  $Z = 8$ . L'analisi del gruppo fattore (tabella 4.3) prevede 24 modi reticolari con  $k = 0$  attivi in Raman, di simmetria  $6A_g + 6B_{1g} + 6B_{2g} + 6B_{3g}$ . Le matrici per il tensore di polarizzabilità  $\alpha$  relativo al gruppo di simmetria  $D_{2h}$  (il gruppo fattore appropriato in questo caso) sono riportate nella tabella 5.2. Troviamo che i modi  $A_g$  sono visibili attraverso gli elementi diagonali del tensore di polarizzabilità ( $aa$ ,  $bb$ ,  $cc$ ), mentre i modi restanti sono visibili attraverso gli elementi fuori diagonale ( $ab$ ,  $ac$ ,  $bc$ ).

Anche in questo caso l'identificazione degli assi d'estinzione col microscopio polarizzatore è sufficiente a orientare i cristalli e una indicizzazione con i raggi X non è necessaria. Anche i cristalli ortorombici sono biassiali con due assi d'estinzione perpendicolari tra loro. In questo caso i due assi ottici coincidono con due qualsiasi degli assi cristallografici  $a$ ,  $b$  e  $c$ .

Una analisi delle simmetrie dei 28 fononi ottici attesi si rivela oggettivamente difficile. Tuttavia, come vedremo, maggiori informazioni si potranno trarre dagli spettri polarizzati, che vengono riportati nella figura 5.23. I cristalli sono orientati lungo i loro assi d'estinzione e quindi, in base a quello che abbiamo appena detto, lungo due qualunque degli assi cristallografici  $a$ ,  $b$  oppure  $c$ . Le diverse scansioni Raman sono etichettate secondo la falsariga usata per la forma I, fatte salve le diverse simmetrie delle rappresentazioni irriducibili nel sistema monoclinico ( $C_{2h}$ ) e in quello ortorombico ( $D_{2h}$ ).

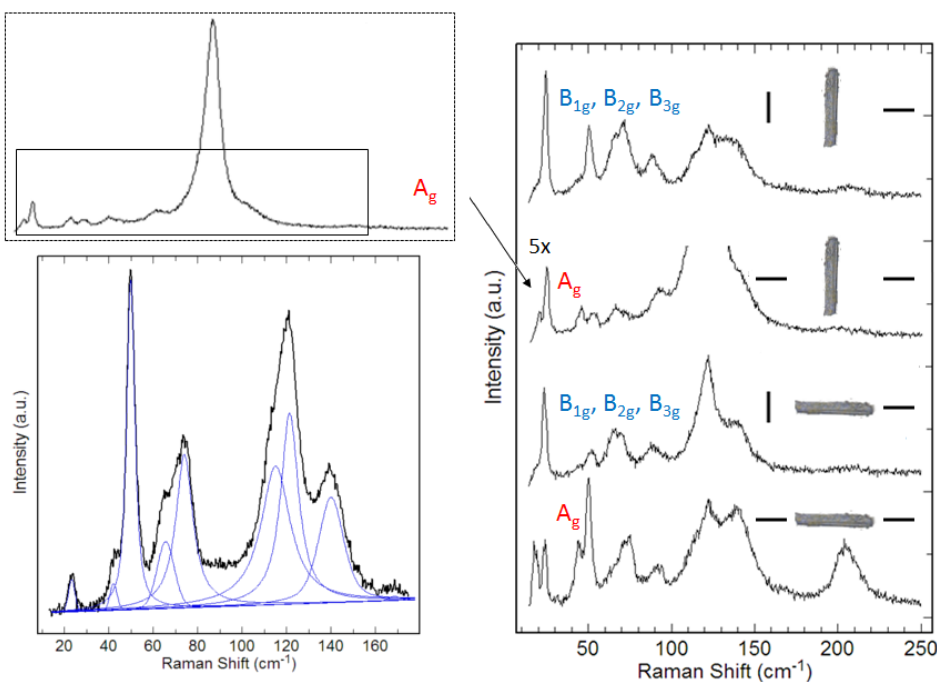


Figura 5.23: A sinistra: Spettro Raman della forma II con delle sottesa la deconvoluzione in lorentziane. A destra: Spettri Raman polarizzati della forma II, per aghetti orizzontali e verticali, come indicati nel grafico. La polarizzazione del laser e l'aghetto sono orizzontali (—) oppure verticali (|), come indicati nel grafico. L'analizzatore è sempre orizzontale (—). L'originale non scalato del secondo spettro dall'alto è mostrato a sinistra in alto.

Anche in questo caso, i due spettri con con polarizzatori incrociati (| — oppure — |) sono sostanzialmente identici, una volta scalata l'intensità della banda a 122 cm<sup>-1</sup> che è talmente intensa rispetto alle altre da generare un forte residuo di polarizzazione nelle due geometrie sperimentali. Le altre due configurazioni sperimentali (— —), pur mostrando grandi differenze nella distribuzione delle intensità, presentano le stesse frequenze, come mostrato in figura 5.23 amplificando opportunamente l'intensità dello spettro, in modo da evidenziare anche i picchi sovrastati dalla banda a 122 cm<sup>-1</sup>. Tutte queste bande sono assegnate alla simmetria  $A_g$ , originandosi da elementi diagonali della matrice polarizzabilità. Interessante notare che attraverso l'esame selettivo del cristallo in luce polarizzata si possono identificare molto meglio le bande che nello spettro in luce non polarizzata sono visibili solo per deconvoluzione. Da questa analisi è stato possibile identificare i modi vibrazionali riportati in tabella 5.3.

Tabella 5.2: Componenti non zero del tensore di polarizzabilità per i modi Raman del gruppo  $D_{2h}$  (il gruppo fattore per il polimorfo II).

$A_g$	$B_{1g}$	$B_{2g}$	$B_{3g}$
$\begin{pmatrix} \alpha_{aa} & 0 \\ 0 & \alpha_{bb} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{cc} \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0 & \alpha_{ab} & 0 \\ \alpha_{ab} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0 & 0 & \alpha_{ac} \\ 0 & 0 & 0 \\ \alpha_{ac} & 0 & 0 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{bc} \\ 0 & \alpha_{bc} & 0 \end{pmatrix}$

### 5.5.3 Forma III

Per il polimorfo III, non avendo ottenuto dei cristalli singoli su cui registrare spettri Raman polarizzati, presentiamo in figura 5.24 solo lo spettro non polarizzato, e la corrispondente deconvoluzione come somma di bande di tipo prevalentemente lorentziano. Le frequenze così ottenute sono riportate nella tabella 5.3. In questo caso, poiché non conosciamo la simmetria dei modi sperimentali, la corrispondenza con le frequenze calcolate e basata solamente sul loro valore numerico che, come abbiamo già menzionato, non sono affidabili.

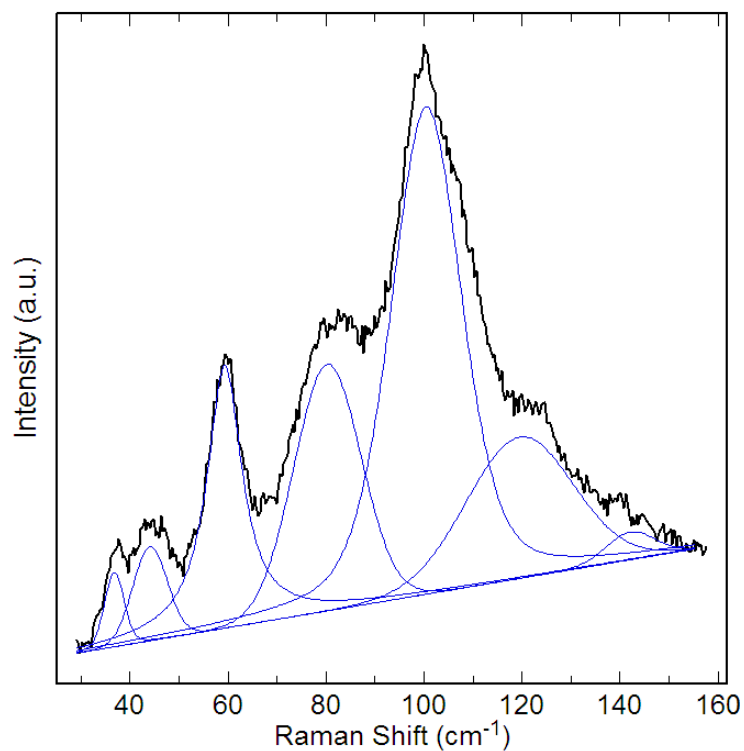


Figura 5.24: fitting bande.

Tabella 5.3: Frequenze ( $\text{cm}^{-1}$ ) e simmetria dei modi reticolari calcolate e misurate (dove disponibili) per i polimorfi I, II e III.

Polimorfo I				Polimorfo II				Polimorfo III		
Calc.		Sperim.		Calc.		Sperim.		Calc.	Sperim.	
Freq.	Simm.	Freq.	Simm.	Freq.	Simm.	Freq.	Simm.	Freq.	Simm.	Freq.
42.2	$B_g$	31.5	$B_g$	14.4	$A_g$			21.3	$A_2$	
43.2	$A_g$	41.6	$A_g$	25.4	$B_{3g}$	23.3	$B_g$	23.9	$A_1$	
48.1	$A_g$	49.4	$A_g$	27.3	$B_{2g}$			24.7	$A_1$	
60.3	$B_g$	54.9	$A_g?$	30.1	$A_g$			27.7	$A_2$	
86.4	$B_g$	61.2		33.8	$B_{3g}$			32.6	$B_1$	
90.2	$B_g$	82.1	$B_g$	38.0	$B_{2g}$			37.4	$B_2$	36.8
93.7	$A_g$	89.2	$A_g$	43.6	$B_{1g}$	42.1	$A_g?$	41.2	$A_1$	
114.5	$A_g$	98.0	$A_g$	46.8	$A_g$	49.9	$A_g$	41.6	$A_2$	
117.9	$A_g$	107.1	$A_g$	73.2	$A_g$	74.0	$A_g$	42.0	$B_1$	44.1
123.2	$B_g$	128.1		76.2	$B_{3g}$	65.6	$B_g$	46.7	$B_2$	
161.7	$B_g$	151.3		80.2	$B_{1g}$			52.6	$B_1$	
163.0	$A_g$			95.3	$B_{2g}$			53.4	$B_2$	
				97.1	$B_{1g}$			54.4	$A_1$	
				103.9	$B_{2g}$			61.4	$B_1$	59.3
				110.7	$B_{1g}$			63.7	$A_2$	
				112.6	$B_{3g}$	115.1	$B_g$	66.7	$A_1$	
				121.0	$B_{2g}$	121.4	$A_g?$	76.2	$A_2$	
				128.1	$B_{1g}$			79.6	$B_2$	
				136.3	$B_{3g}$			80.8	$A_2$	80.3
				139.3	$A_g$	140.0	$A_g$	85.4	$B_2$	
				155.8	$B_{3g}$			88.5	$A_1$	
				155.9	$B_{1g}$			88.9	$B_1$	
				155.9	$B_{2g}$			95.7	$B_2$	
				157.4	$A_g$	168.5		98.8	$A_2$	
								101.2	$B_1$	100.5
								102.2	$A_1$	
								104.8	$B_2$	
								106.9	$A_2$	
								113.3	$B_1$	
								115.3	$B_2$	
								115.7	$B_1$	
								121.8	$A_2$	119.5
								122.0	$A_1$	
								123.0	$B_2$	
								123.7	$B_1$	
								127.4	$A_1$	
								129.1	$B_2$	
								129.8	$A_2$	
								136.6	$A_2$	
								138.1	$B_1$	
								142.8	$A_2$	142.1
								147.0	$A_1$	
								149.0	$B_1$	
								161.6	$B_2$	
								165.9	$A_1$	

# Capitolo 6

## Risultati Computazionali

### 6.1 Geometrie sperimentali nei cristalli

L'analisi delle geometrie molecolari sperimentali restituisce informazioni sulle deformazioni indotte dal cristallo e, quindi, fornisce qualche indizio sull'importanza della flessibilità molecolare. Per questa analisi abbiamo scelto per ogni polimorfo una singola struttura misurata recentemente a temperatura ambiente, cioè rispettivamente HXACAN34, HXACAN33 e HXACAN29 per le fasi I, II e III (tabella 4.2), e estratto tutte le geometrie molecolari. Le geometrie molecolari non equivalenti estratte dalle strutture sperimentali sono mostrate nella figura 6.1. Nella sezione 4 avevamo notato che in tutti i polimorfi le molecole risiedono in siti generici e, in effetti, tutte le molecole sono senza alcuna simmetria. Inoltre, troviamo che le geometrie molecolari nei polimorfi I, II e le due geometrie inequivalenti nel III sono tutte molto diverse tra loro. La molecola evidentemente non si può considerare rigida. Ciò nonostante tutti i polimorfi contengono lo stesso conformero, ovvero le varie geometrie molecolari non sono separate da barriere di energia.

### 6.2 Geometria *ab-initio*

Dato che tutti i polimorfi contengono lo stesso conformero, per trovare la geometria molecolare d'equilibrio *ab-initio* abbiamo scelto la struttura alla temperatura più bassa disponibile (HXACAN13, polimorfo I a 20 K) ed estratto la geometria molecolare che, come tutte le geometrie sperimentali mostrate nella figura 6.1 e appena discusse, è leggermente non planare, senza simmetria. Partendo da questa geometria abbiamo utilizzato il programma GAMESS (sezione 3.1) per minimizzare l'energia molecolare, con la combinazione B3LYP/6-31G(d) di funzionale densità e set di base, che generalmente restituisce geometrie *ab-initio* in ottimo accordo con le vere geometrie in fase gas [59]. La minimizzazione converge a una struttura planare con simmetria  $C_s$ , mostrata nella figura 6.2. Confrontando questa geometria *ab-initio* con le geometrie molecolari sperimentali (figura 6.1) no-

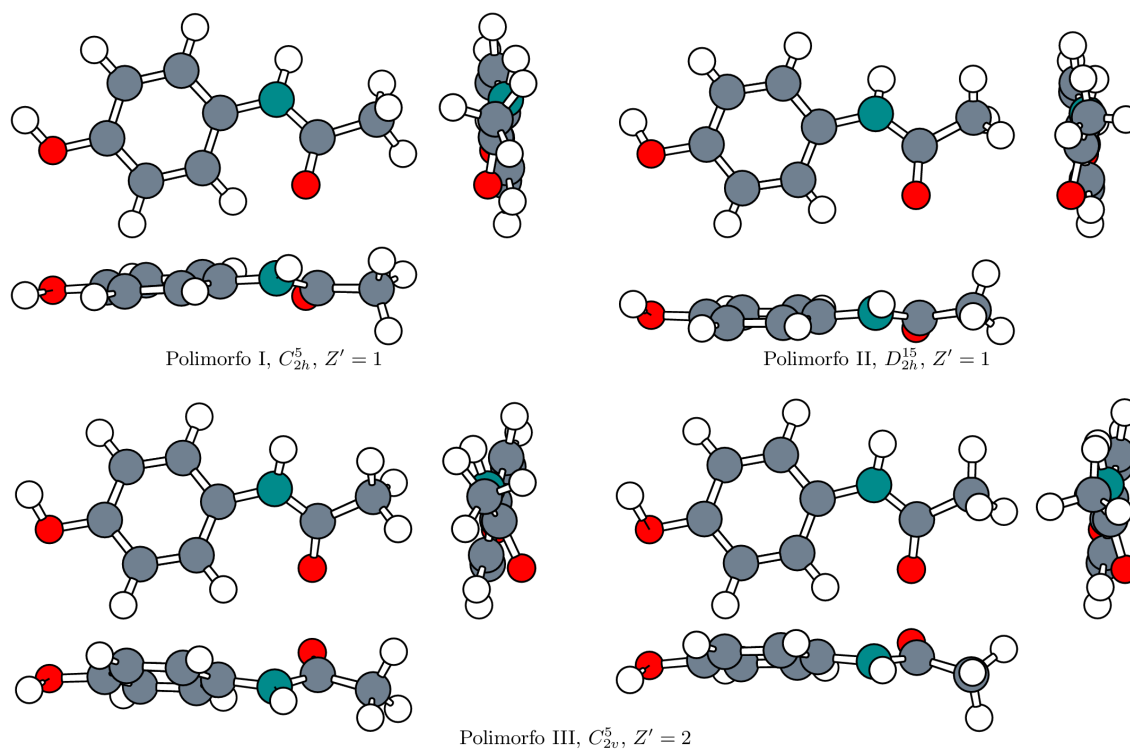


Figura 6.1: Geometrie molecolari sperimentali nei tre polimorfi di paracetamolo, ognuna vista lungo i tre assi di inerzia  $N$ ,  $M$ ,  $L$  della molecola (nell'ordine: asse normale al piano, asse mediano in piano, asse lungo in piano). Si noti che la cella cristallografica del polimorfo III contiene due molecole inequivalenti ( $Z' = 2$ ).

tiamo deformazioni significative, ovviamente indotte dalle interazioni nel cristallo. È una ulteriore dimostrazione della flessibilità del paracetamolo.

Nella figura 6.2 indichiamo anche le cariche atomiche, che verranno discusse tra breve, e i tipi atomici definiti dal modello DREIDING e assegnati sulla base della coordinazione chimica (tabella 4.5). Come abbiamo discusso nella sezione 4.1.2, cariche e tipi atomici definiscono completamente il modello di potenziale.

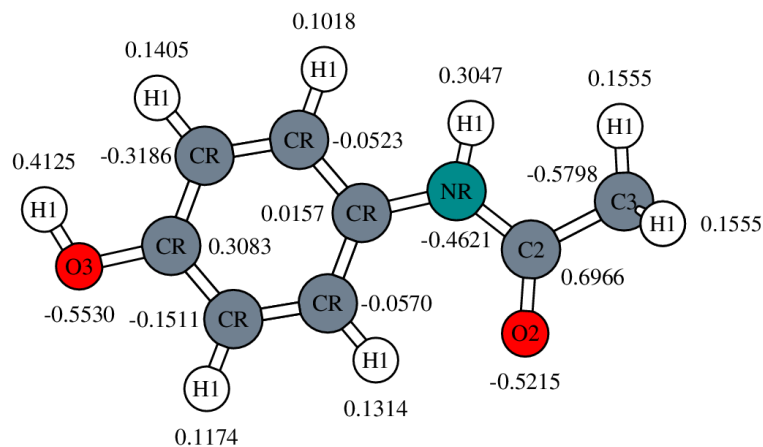


Figura 6.2: Geometria d'equilibrio *ab-initio* della molecola di paracetamolo. Sui nuclei, o vicino ad essi, indichiamo i tipi atomici definiti nella tabella 4.5 e le cariche ESP (in unità di  $e$ ). Poiché il metile può ruotare, abbiamo imposto la stessa carica ai suoi tre idrogeni.

## 6.3 Vibrazioni intramolecolari *ab-initio*

Frequenze, intensità IR e Raman e simmetria dei modi vibrazionali della molecola isolata di paracetamolo, calcolate *ab-initio* come descritto nella sezione 3.1, sono riportate nella tabella 6.1. È stato dimostrato che le frequenze *ab-initio* devono essere scalate per un fattore che dipende dal set di base [60]. Noi abbiamo utilizzato il fattore 0.9613, raccomandato [60] per la combinazione B3LYP/6-31G(d). Nella molecola isolata, planare con simmetria  $C_s$ , troviamo vibrazioni in-piano (simmetria  $A'$ ) oppure fuori-dal-piano ( $A''$ ). Entrambe le simmetrie sono previste essere attive sia in IR che in Raman anche se, come succede spesso per le molecole planari, le intensità Raman dei modi in-piano sono tendenzialmente molto più alte di quelle dei modi fuori-dal-piano.

Tabella 6.1: Simmetria, frequenza ( $\text{cm}^{-1}$ ), intensità IR ( $\text{Debye}^2/\text{amu} \text{ \AA}^2$ ) e intensità Raman ( $\text{\AA}^4/\text{amu}$ ) dei modi intramolecolari della molecola isolata di paracetamolo, calcolate *ab-initio* con la combinazione B3LYP/6-31G(d) di funzionale densità e set di base.

Simm.	Freq.	IR	Raman	Simm.	Freq.	IR	Raman	Simm.	Freq.	IR	Raman
$A''$	26.89	0.1736	3.5390	$A''$	767.70	0.1498	2.3030	$A'$	1372.15	0.5987	37.0370
$A''$	50.07	0.1148	0.0000	$A'$	772.92	0.5027	13.0260	$A'$	1414.46	4.1175	14.8440
$A''$	80.59	0.0058	2.6410	$A''$	821.43	1.4499	1.2720	$A''$	1442.53	0.1265	11.6270
$A'$	147.32	0.0749	0.4440	$A'$	835.79	0.0693	23.9070	$A'$	1458.98	0.3094	10.6990
$A''$	180.10	0.0008	0.3490	$A''$	863.18	0.0054	1.0140	$A'$	1496.22	2.8383	12.6830
$A'$	303.06	0.1100	4.1310	$A'$	931.62	0.1244	1.7820	$A'$	1521.28	7.5460	57.8170
$A'$	315.49	0.0735	1.3030	$A''$	940.44	0.0483	0.4260	$A'$	1589.56	1.2797	21.9400
$A''$	326.25	2.8106	0.5300	$A'$	983.32	0.3897	6.2220	$A'$	1614.01	0.0363	172.5540
$A''$	366.66	0.0166	1.4180	$A'$	990.79	0.2532	2.4440	$A'$	1715.91	5.2730	45.5090
$A''$	404.54	0.0294	0.0560	$A''$	1023.90	0.1764	3.4490	$A'$	2942.16	0.2456	183.6030
$A'$	409.95	0.2065	0.9270	$A'$	1095.15	0.2817	1.5290	$A'$	3013.47	0.4997	81.6020
$A'$	486.47	0.6115	2.8790	$A'$	1157.82	0.0226	13.0120	$A''$	3016.75	0.1541	74.6480
$A''$	508.09	0.6701	1.1990	$A'$	1159.11	4.3235	15.2110	$A'$	3037.03	0.5273	58.7930
$A''$	513.91	1.0050	1.6830	$A'$	1203.42	0.3486	14.1500	$A'$	3053.85	0.4532	133.4610
$A''$	604.47	0.0820	3.2500	$A'$	1229.64	3.8016	56.0470	$A'$	3085.77	0.1666	109.0390
$A'$	604.72	0.0181	3.1440	$A'$	1258.48	0.8852	30.2070	$A'$	3146.64	0.1298	46.2660
$A'$	631.28	0.0643	6.7400	$A'$	1294.49	0.7090	35.4660	$A'$	3475.83	0.3263	69.2710
$A''$	684.81	0.0009	2.7140	$A'$	1326.61	2.0806	10.0000	$A'$	3604.64	1.2783	152.2610

A conferma della notevole flessibilità molecolare, troviamo numerosi modi intramolecolari a frequenze molto basse. I tre più bassi, tutti di simmetria  $A''$  e che coinvolgono deformazioni a farfalla dello scheletro molecolare e torsioni del metile e del gruppo ossidrilico, sono addirittura a 27, 50 e 81  $\text{cm}^{-1}$ , cioè a frequenze del tutto sovrapponibili a quelle tipiche dei modi reticolari. Le due frequenze successive sono a 147 e 180  $\text{cm}^{-1}$  (rispettivamente  $A'$  e  $A''$ ), e solo dal sesto modo in poi troviamo frequenze ben al di sopra di quelle dei modi reticolari.

Partendo dai dati della tabella 6.1 abbiamo calcolato lo spettro previsto per il paracetamolo in fase gas, già mostrato nella figura 5.21. Lo spettro è stato calcolato come sovrapposizione di bande Lorentiane con centro e area eguali a frequenza e intensità *ab-initio*, e larghezza a metà altezza 10  $\text{cm}^{-1}$  stimata approssimativamente dagli spettri sperimentali. A conferma della buona qualità dei risultati *ab-initio*, lo spettro calcolato per il gas concorda bene con gli spettri sperimentali del paracetamolo cristallino e amorfo.

## 6.4 Cariche *ab-initio*

Come accennato nella sezione 3.1, le cariche atomiche ESP utilizzate per descrivere la parte Coulombiana del modello di potenziale dipendono dalla geometria molecolare scelta per calcolarle. Quando le molecole sono rigide un unico insieme di cariche può essere usato per descrivere tutti i polimorfi, che ovviamente hanno sempre la stessa geometria molecolare. Quando le molecole sono flessibili, invece, è concepibile che possa rendersi necessario per ogni polimorfo uno specifico insieme di cariche, calcolate alle appropriate geometrie molecolari. Per verificare se questo è il caso per il paracetamolo, abbiamo calcolato le cariche ESP per la geometria d'equilibrio *ab-initio*, discussa nella sezione 6.2 e mostrata nella figura 6.2, e per le varie geometrie sperimentali, discusse nella sezione 6.1 e mostrate nella figura 6.1.

Le cariche ESP calcolate alla geometria *ab-initio* sono indicate nella figura 6.2. È bene notare che queste cariche sono state scelte per descrivere le interazioni inter-atomiche e che, quindi, possono essere molto diverse da quelle che uno si aspetterebbe da un punto di vista chimico (da considerazioni di elettronegatività, ad esempio). Ciò nonostante, le cariche appaiono abbastanza ragionevoli: tutti gli idrogeni sono positivi, tutti gli atomi di ossigeno e azoto hanno cariche negative, mentre i carboni hanno cariche negative (se legati all'idrogeno) o positive (se legati a ossigeno o azoto). Poiché il modello di carica così ottenuto non dipende dal polimorfo, e quindi potrebbe funzionare per tutti, nelle discussioni che seguono lo indicheremo come modello di carica *generico*.

Per non appesantire il testo, non riportiamo le cariche ESP calcolate alle quattro geometrie sperimentali (polimorfo I, polimorfo II e le due molecole inequivalenti nel polimorfo III). Abbiamo trovato che queste cariche seguono lo stesso schema di quelle alla geometria *ab-initio* e che la deviazione quadratica media tra le cariche calcolate alle varie geometrie è  $0.0312 e$ , cioè qualche percento della carica atomica. Come avremmo dovuto aspettarci per molecole che corrispondono tutte allo stesso conformero, anche se con geometrie diverse, le cariche differiscono poco tra loro. Il modello di carica così ottenuto, che cambia da un polimorfo all'altro, verrà indicato come modello di carica *specifico*.

## 6.5 Strutture cristallografiche di minima energia per molecole rigide

Per collaudare il modello di potenziale inter-molecolare e per valutare l'effetto dei modelli di carica discussi nella sezione precedente, abbiamo determinato le strutture cristallografiche di minima energia per i diversi polimorfi del paracetamolo. Partendo dalle strutture cristallografiche sperimentali dei vari polimorfi (di nuovo HXACAN34, HXACAN33 e HXACAN29 per le fasi I, II e III), abbiamo minimizzato l'energia potenziale rispetto a



tutti i parametri strutturali permessi dalla simmetria cristallografica. In questo stadio dei calcoli non desideriamo ancora considerare i gradi di libertà intramolecolari e per questo motivo, dopo aver standardizzato le lunghezze dei legami C-H, O-H e N-H in accordo alle distanze d'equilibrio  $R_{ij}^0$  previste dal modello DREIDING [1] (tabella 4.6), abbiamo mantenuto le molecole rigide nelle appropriate geometrie sperimentali. In questo modo utilizziamo geometrie molecolari corrette (che cambiano da un polimorfo all'altro) ma non dobbiamo occuparci della flessibilità molecolare.

Nella tabella 6.2 riportiamo i parametri reticolari delle strutture sperimentali e delle strutture di minima energia calcolate con il modello di carica *generico* (eguale per tutti i polimorfi) e *specifico* (diverso per ogni polimorfo). In entrambi i casi troviamo notevoli differenze tra i parametri reticolari sperimentali e quelli calcolati, con differenze fino a 1.6 Å per gli assi e 5.5° per l'angolo  $\beta$ . I risultati col modello di carica *specifico*, che tiene conto delle deformazioni geometriche delle molecole nei diversi polimorfi, sono della stessa qualità, o addirittura peggiori, dei risultati col modello *generico*, ottenuto alla geometria *ab-initio* e più semplice. Non essendoci vantaggio a utilizzare il modello più complesso, conviene scegliere il più semplice.

I risultati deludenti del modello DREIDING ci hanno spinti a fare un tentativo con un altro modello (il modello di Williams menzionato nella sezione 4.1.2), che non ha dato miglioramenti significativi. Poiché la ricerca di un modello di potenziale accurato per un composto dato è un compito estremamente impegnativo, non ci siamo impegnati nel collaudo sistematico di tutti i modelli disponibili, che è al di fuori degli obiettivi esplorativi di questa tesi.

Tabella 6.2: Parametri reticolari sperimentali e calcolati per molecole rigide con i modelli di carica *generico* e *specifico* discussi nel testo, per i polimorfi I, II e III. L'energia reticolare calcolata  $E_{\text{totale}}$  è paragonata all'equivalente sperimentale, cioè alla entalpia di sublimazione  $\Delta_{\text{sub}}H$ , disponibile solo per i polimorfi I e II [53].

Polimorfo	Z	Cella	Modello di carica	$E_{\text{Coulomb}}$ (kcal/mol)	$E_{\text{totale}}$ (kcal/mol)	a (Å)	b (Å)	c (Å)	$\beta$ (°)	Volume (Å <sup>3</sup> )
I ( $C_{2h}^5$ )	4	sperim.			-28.18	7.1017	9.3854	11.7144	97.412	774.267
		calc. <i>generico</i>	-6.81	-23.68	6.0137	10.6313	12.5724	93.295	802.473	
		calc. <i>specifico</i>	-5.85	-22.91	5.9998	10.6396	12.5294	91.930	799.371	
II ( $D_{2h}^{15}$ )	8	sperim.			-27.70	11.8237	7.3971	17.1526	90	1500.19
		calc. <i>generico</i>	-8.33	-24.08	13.2590	6.9340	17.8863	90	1644.419	
		calc. <i>specifico</i>	-8.19	-24.39	13.3824	6.9012	17.5700	90	1622.664	
III ( $C_{2v}^5$ )	8	sperim.			-	11.8352	8.5601	14.8199	90	1501.41
		calc. <i>generico</i>	-8.47	-24.68	13.0040	9.0446	13.7510	90	1617.341	
		calc. <i>specifico</i>	-7.53	-24.23	13.3009	8.7797	13.6839	90	1597.974	

## 6.6 Energia reticolare

Nella tabella 6.2 riportiamo anche l'energia reticolare  $E_{\text{totale}}$ , definita come la differenza tra energia del cristallo ed energia delle molecole isolate. In questo caso coincide esattamente con la sola energia intermolecolare  $\Phi_{\text{inter}}$  calcolata alla struttura cristallografica del

minimo perchè, trattando le molecole come completamente rigide, l'energia di deformazione intramolecolare  $\Phi_{\text{intra}}$  è zero per definizione. Dal punto di vista sperimentale l'energia reticolare corrisponde all'entalpia di sublimazione  $\Delta_{\text{sub}}H$ , misurata come l'energia necessaria ad allontanare le molecole dal cristallo nella trasformazione da solido a gas. I valori sperimentali, disponibili solo per i polimorfi I e II [53], sono riportati nella tabella.

Vediamo che il modello DREIDING è insufficientemente legante e che, per entrambi i polimorfi, l'energia calcolata  $E_{\text{totale}}$  sottostima in modo significativo il  $\Delta_{\text{sub}}H$  sperimentale. Inoltre il modello prevede che il polimorfo II abbia energia reticolare più negativa del polimorfo I, cioè che sia il più stabile dei due, in contraddizione con l'esperimento. Anche dal punto di vista energetico, dunque, il modello descrive male i polimorfi del paracetamolo.

## 6.7 Frequenze vibrazionali dei modi reticolari

Come descritto nella sezione 3.6 abbiamo ottenuto le frequenze vibrazionali nel cristallo calcolando, alle strutture cristallografiche di minima energia discusse nella sezione precedente, l'energia potenziale e le sue derivate prime e seconde rispetto agli spostamenti degli atomi. Le frequenze calcolate per i modi reticolari con  $k = 0$  attivi in Raman dei polimorfi I, II e III sono riportate nella tabella 5.3, assieme alla simmetria dei modi, ottenuta analizzando le proprietà di trasformazione degli autovettori. In questa fase preliminare della ricerca, consideriamo e riportiamo solo i modi reticolari, cioè ignoriamo le interazioni con i modi intramolecolari. I valori riportati non sono attendibili, perché calcolati con un modello di potenziale inadeguato e ignorando la flessibilità molecolare, che è sicuramente importante per il paracetamolo. Di conseguenza, hanno solo un valore orientativo, in vista di sviluppi futuri.

## 6.8 Collaudo del modello di potenziale intramolecolare

Visti i risultati deludenti della parte di “non legame” (cioè intermolecolare) del modello DREIDING, abbiamo preferito evitare il vano tentativo di descrivere tutti i polimorfi col modello completo, che include anche la parte di “legame” (interazioni intramolecolari). Ciò nonostante, in vista di sviluppi futuri, abbiamo deciso di collaudare comunque la parte intramolecolare del modello. A questo scopo abbiamo scelto il polimorfo I (il più semplice, con  $Z = 4$  e  $Z' = 1$ ) e, partendo dalla struttura sperimentale, abbiamo calcolato la struttura di energia minima con molecole flessibili. I parametri reticolari sperimentali e calcolati, riportati nella tabella 6.3, esibiscono discrepanze tali da far supporre un problema serio nella geometria molecolare.

Tabella 6.3: Parametri reticolari del polimorfo I: sperimentali (HXACAN34), calcolati per molecole flessibili col modello DREIDING e col modello *torsioni irrigidite* discusso nel testo. Le cariche sono determinate alla geometria *ab-initio* (figura 6.2, modello di carica *generico*). Le geometrie molecolari corrispondenti sono mostrate nella figura 6.3.

Cella	Modello intramolecolare	$a$ (Å)	$b$ (Å)	$c$ (Å)	$\beta$ (°)	Volume (Å <sup>3</sup> )
sperim.		7.1017	9.3854	11.7144	97.412	774.267
calc.	DREIDING	7.4031	12.7744	9.2249	97.924	864.070
calc.	<i>torsioni irrigidite</i>	6.3487	9.4411	13.6740	102.417	800.430

La geometria molecolare estratta dalla struttura cristallografica di minima energia è mostrata nella figura 6.3 e, in effetti, esibisce una esagerata rotazione fuori dal piano dei legami CCOH e CNCO (rispettivamente di 48° e 78°). I due angoli sono zero nella geometria molecolare d'equilibrio (figura 6.2) e inferiori a 5° nella struttura sperimentale del polimorfo I (figura 6.1). Questa geometria molecolare erronea, in aggiunta a un modello di potenziale intermolecolare inadeguato, chiaramente giustifica le irragionevoli discrepanze ottenute per la struttura cristallografica.

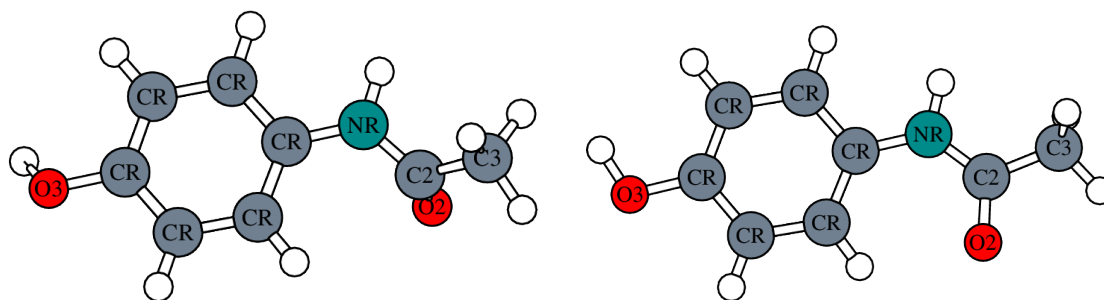


Figura 6.3: Geometrie molecolari estratte dalle strutture di energia minima del polimorfo I calcolate col modello DREIDING (a sinistra) e col modello *torsioni irrigidite* discusso nel testo (a destra). I parametri reticolari corrispondenti sono elencati nella tabella 6.3. I nuclei sono etichettati con i tipi atomici definiti nella tabella 4.5.

Sembra plausibile che queste rotazioni esagerate siano dovute a una insufficiente rigidità dei corrispondenti potenziali torsionali nel modello DREIDING, etichettati come X-CR-O3-X e X-NR-C2-X nella tabella 4.8. Per confermare questa diagnosi, abbiamo aumentato in modo arbitrario a 0.9757 eV (22.5 kcal/mol) l'altezza  $K_{ijkl}$  delle due barriere torsionali, indicate in grassetto nella tabella 4.8, e ricalcolato la struttura di minima energia. I parametri reticolari così ottenuti sono riportati nella tabella 6.3 con l'etichetta *torsioni irrigidite*, mentre la geometria molecolare estratta dalla struttura cristallografica corrispondente è mostrata nella figura 6.3. Come prevedibile, la molecola recupera una geometria quasi planare, mentre la struttura cristallografica diventa più ragionevole, anche se ancora insoddisfacente.

## 6.9 Barriere torsionali *ab-initio*

Riassumendo, il modello di potenziale DREIDING non descrive in modo adeguato i polimorfi del paracetamolo e presenta deficienze sia nella parte intermolecolare che intramolecolare. Nel caso del potenziale intramolecolare abbiamo diagnosticato che le notevoli discrepanze tra la geometria molecolare sperimentale e quella calcolata sono dovute alla insufficiente rigidità dei potenziali torsionali CCOH e CNCO. Per gli scopi esplorativi di questa tesi sarebbe stato sufficiente identificare il problema, perché lo sviluppo di un modello di potenziale accurato richiederebbe tempi che non abbiamo disponibili, ma ci siamo posti l'obiettivo di confermare la diagnosi e di preparare le informazioni necessarie a correggere il potenziale torsionale, in vista di una possibile prosecuzione della ricerca.

Per fare questo dobbiamo determinare l'altezza delle barriere energetiche che separano gli stati di minimo della molecola. La geometria d'equilibrio *ab-initio* mostrata nella figura 6.2 è un minimo con  $\text{CCOH} = 0^\circ$  e  $\text{CNCO} = 0^\circ$ . Data la geometria planare della molecola, è chiaro che esistono altri due minimi con  $\text{CCOH} = 180^\circ$  oppure  $\text{CNCO} = 180^\circ$ . Per entrambe le torsioni esisterà un punto di sella per un qualche angolo intermedio tra  $0^\circ$  e  $180^\circ$ , la cui altezza rappresenta la barriera energetica che impedisce la torsione nella molecola isolata. Per determinare le barriere, quindi, abbiamo determinato le geometrie d'equilibrio stabile (minimi) e instabili (punti di sella), con le procedure *ab-initio* descritte nella sezione 3.1. Le energie e gli angoli diedri ai punti così determinati sono riportati nella tabella 6.4, mentre l'andamento dei potenziali torsionali dedotti da questi dati è mostrato nella figura 6.4. Ciascuna curva nella figura rappresenta un polinomio forzato a passare per i due minimi a  $0^\circ$  e  $180^\circ$  e per il punto di sella intermedio, con derivate prime zero nei tre punti, derivate seconde positive ai minimi e negative al punto di sella, un unico flesso tra ciascun minimo e la sella, e il grado più basso possibile.

Tabella 6.4: Angoli di torsione (CCOH e CNCO) e energia *ab-initio* delle configurazioni di minima energia e dei punti di sella della molecola di paracetamolo. L'andamento delle barriere di potenziale corrispondenti è mostrato nella figura 6.4.

Configurazione	CCOH ( $^\circ$ )	CNCO ( $^\circ$ )	$E$ (kcal/mol)	$E$ (eV)
minimo stabile	180	0	-0.3633	-0.01575
punto di sella	93.5	0.1	3.4521	0.14970
minimo stabile	0	0	0.0000	0.00000
punto di sella	0.4	119.2	18.8907	0.81918
minimo stabile	0	180	7.1545	0.31025

Per l'angolo diedro CNCO troviamo un minimo a  $0^\circ$  e un altro minimo meno profondo a  $180^\circ$ , con una barriera vicino a  $120^\circ$ . Per l'angolo CCOH i due minimi a  $0^\circ$  e  $180^\circ$  hanno circa la stessa profondità, mentre la barriera è attorno a  $90^\circ$ . Come prevedibile, nei punti di sella in cui uno dei due angoli è alla barriera e la simmetria  $C_s$  si perde, anche l'altro angolo può allontanarsi da  $0^\circ$ . In pratica gli spostamenti dalla planarità dell'angolo

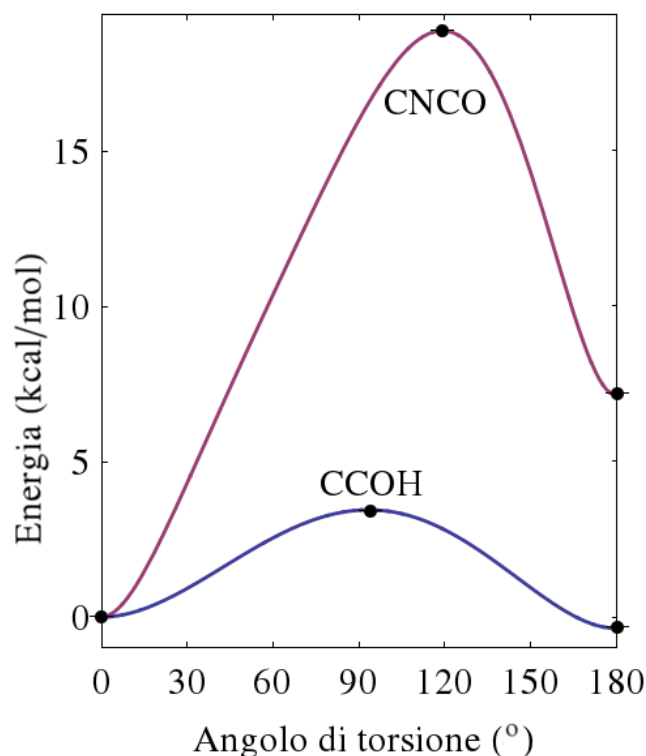


Figura 6.4: Potenziali torsionali CCOH e CNCO per la molecola di paracetamolo. Come discusso nel testo, le curve rappresentano polinomi forzati a passare per i minimi stabili e i punti di sella riportati nella tabella 6.4 e indicati dai simboli nel grafico.

non direttamente coinvolto nella torsione sono minuscoli ( $< 0.5^\circ$ ), a indicare che i due frammenti CNCO e CCOH interagiscono pochissimo.

Come ci aspettavamo, le altezze  $K_{ijkl}$  delle barriere del modello DREIDING (tabella 4.8) sono significativamente più basse delle altezze delle barriere *ab-initio* (tabella 6.4, riprodotte anche nella tabella 4.8 per facilitare il confronto). Utilizzando le barriere *ab-initio* che abbiamo calcolato, e tenendo conto anche degli effetti di non legame che descrivono gli effetti di ingombro sterico e contribuiscono alla barriera torsionale, pensiamo che in un prossimo lavoro dovrebbe essere possibile aggiustare la parte torsionale del modello di potenziale intramolecolare.

Molto probabilmente non si tratterà semplicemente di sostituire l'altezza  $K_{ijkl}$  della barriera del modello col corrispondente valore *ab-initio*, perché il potenziale torsionale modello  $E(\theta) \propto -\cos 2\theta$  prevede un massimo (cioè un punto di sella) per  $\theta = 90^\circ$ . Il potenziale torsionale *ab-initio* per l'angolo CNCO, che invece ha un punto di sella attorno a  $120^\circ$ , evidentemente non può essere rappresentato bene da una singola funzione trigonometrica  $\cos 2\theta$ . Per controllare questa deduzione abbiamo tentato di calcolare l'intero andamento di questa barriera torsionale variando con continuità l'angolo CNCO e minimizzando l'energia *ab-initio* rispetto a tutte le altre coordinate. Con un certo stupore, abbiamo scoperto che a seconda del minimo da cui partiamo ( $0^\circ$  o  $180^\circ$ ) le curve dell'energia in funzione dell'angolo CNCO mostrano una specie di isteresi, con un crollo netto a  $60^\circ$  o  $120^\circ$  (angoli tra loro complementari). Abbiamo verificato in letteratura che que-

sto fenomeno è noto da diversi anni e molto studiato nei processi dinamici dell’NMR [ref articolo Mazzanti]. La struttura dell’ammide, che presenta una formula di risonanza, una forte coniugazione  $\pi - \pi$  e una ibridizzazione con C=O, fa sì che si crei una multibarriera per la torsione CNCO, dovuta ad effetti contrastanti di ingombro sterico e coniugazione. Abbiamo deciso di non riportare questi risultati, che necessitano di essere controllati e approfonditi.

# Capitolo 7

## Conclusioni

Le riflessioni che concludono questa tesi sono fondamentalmente dedicate a due aspetti del lavoro svolto: (1) i risultati sperimentali e teorici ottenuti; (2) i problemi ancora aperti (con i possibili sviluppi futuri).

Gli obiettivi sperimentali della tesi sono stati raggiunti per intero. Abbiamo messo a punto le metodiche per preparare i tre polimorfi conosciuti del paracetamolo, inclusa l'elusiva forma III. Abbiamo registrato gli spettri Raman non polarizzati per tutti i polimorfi, sia nella regione dei modi reticolari (dove osserviamo le differenze previste tra le varie forme), che nella regione di modi intramolecolari (dove invece, di nuovo come previsto, osserviamo una sostanziale coincidenza tra i vari spettri). Per i polimorfi I e II siamo riusciti a ottenere dei buoni monocristalli, che ci hanno permesso di registrare anche gli spettri Raman polarizzati. Grazie all'analisi dell'estinzione col microscopio polarizzatore, pur non disponendo di una indicizzazione con i raggi X dei monocristalli, siamo riusciti a orientare i campioni lungo i loro assi cristallografici e, di conseguenza, a identificare la simmetria dei modi vibrazionali osservati.

Analizzando gli spettri in figura 5.9 abbiamo notato anche uno spettro reticolare, differente dagli spettri di forma I e II, che sembrerebbe forma III. Questa forma non era mai stata prodotta per sublimazione, ora che disponiamo di questo protocollo di preparazione potremmo provare a confermarla, riprodurla e a studiarla.

Gli obiettivi computazionali della tesi sono stati raggiunti solo in parte. Per la parte dei calcoli basata su metodi *ab-initio* non ci sono stati problemi. Abbiamo determinato la geometria molecolare, calcolato le cariche atomiche necessarie per descrivere le interazioni intermolecolari nei cristalli, studiato l'effetto delle deformazioni molecolari su queste cariche, e ottenuto le frequenze dei modi vibrazionali intramolecolari, con le loro intensità Raman e IR. I calcoli sui cristalli, che sono basati su un modello di potenziale empirico, invece non hanno funzionato come speravamo, a causa della inadeguata qualità del modello di potenziale [1]. Siamo riusciti a giustificare la stabilità dei polimorfi I, II e III (tutti e tre corrispondono a *minimi locali* del potenziale), ma i parametri cristallografici, le energie, e le frequenze vibrazionali calcolate per i vari polimorfi sono abbastanza lontane dai corri-

spondenti valori sperimentali. Anche se la ricerca di un modello di potenziale ottimale era al di là degli obiettivi della tesi, abbiamo comunque trovato il tempo per ottenere i dati di riferimento necessari a identificare i difetti del modello di potenziale e, di conseguenza, a scegliere e sviluppare un modello di potenziale migliore.

La parte del modello che risulta più critica è la torsione CNCO del gruppo ammidico dove, come discusso in letteratura [61], la competizione tra la geometria tetraedrica (non planare) e triangolare (planare) dovuta ad effetti di risonanza, non è descritta bene dai modelli esistenti. Il modello di potenziale adottato [1] infatti prevede una geometria non planare (piramidalizzazione del carbonio), mentre i calcoli *ab-initio* mostrano la geometria planare corretta, con una barriera piuttosto elevata che impedisce la rotazione del gruppo carbonilico. Competono inoltre effetti di coniugazione ed ingombro sterico, creando una multibarriera.

Dal punti di vista dell'estensione del progetto, chiaramente, il primo passo dovrebbe essere lo sviluppo di un modello di potenziale molto migliore, capace di dare strutture cristallografiche e frequenze vibrazionali accurate. I dati di riferimento che abbiamo ottenuto appaiono sufficienti a questo scopo. A questo punto, magari utilizzando spettri polarizzati più puliti (raccolti a temperature più basse, per esempio), dovrebbe essere possibile raggiungere l'assegnamento completo dello spettro attraverso il confronto tra frequenze sperimentali e calcolate.



# Bibliografia

- [1] S. L. Mayo, B. D. Olafson, and W. A. Goddard III, "DREIDING: a generic force field for molecular simulations", *J. Phys. Chem.* **94** (1990) 8897-8909.
- [2] W. C. McCrone, "Polymorphism in Physics and Chemistry of the Organic Solid State", (Wiley Interscience, New York, 1965).
- [3] J. Bernstein, "Polymorphism in molecular crystals", (Oxford, Oxford Science Publications, 2002).
- [4] [http://www.academia.edu/1615125/Appunti\\_delle\\_lezioni\\_di\\_Analisi\\_dei\\_Farmaci\\_2](http://www.academia.edu/1615125/Appunti_delle_lezioni_di_Analisi_dei_Farmaci_2) (acceduto Ott. 2015).
- [5] Jack D. Dunitz and Joel Bernstein, "Disappearing Polymorphs", *Acc. Chem. Res.* **28** (1995) 193-200.
- [6] [http://www.treccani.it/enciclopedia/allotropia\\_\(Enciclopedia-Italiana\)](http://www.treccani.it/enciclopedia/allotropia_(Enciclopedia-Italiana)) (acceduto Gen. 2016).
- [7] A. Brillante, I. Bilotti, R. G. Della Valle, E. Venuti, and A. Girlando, "Probing polymorphs of organic semiconductors by lattice phonon Raman microscopy" *CrystEngComm* **10** (2008) 937-946.
- [8] S. Aitipamula, R. Banerjee, A. K. Bansal, K. Biradha, M. L. Cheney, A. R. Choudhury, G. R. Desiraju, A. G. Dikundwar, R. Dubey, N. Duggirala, P. P. Ghogale, S. Ghosh, P. K. Goswami, N. R. Goud, R. R. K. R. Jetti, P. Karpinski, P. Kaushik, D. Kumar, V. Kumar, B. Moulton, A. Mukherjee, G. Mukherjee, A. S. Myerson, V. Puri, A. Ramanan, T. Rajamannar, C. M. Reddy, N. Rodriguez-Hornedo, R. D. Rogers, T. N. G. Row, P. Sanphui, N. Shan, G. Shete, A. Singh, C. C. Sun, J. A. Swift, R. Thaimattam, T. S. Thakur, R. K. Thaper, S. P. Thomas, S. Tothadi, V. R. Vangala, N. Variankaval, P. Vishweshwar, D. R. Weyna, and M. J. Zaworotko, "Polymorphs, Salts and Cocrystals: What s in a Name?", *Crystal Growth & Design* **12** (2012) 2147-2152.
- [9] E. H. Lee, "A practical guide to pharmaceutical polymorph screening & selection", *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* **9** (2014) 163-175.

- [10] “POLIMORFISMO UNA PROPRIETA DELLO STATO SOLIDO”, presentazione (acceduto Ott. 2015).
- [11] R. E. Notari, “Biofarmaceutica e farmacocinetica” (Piccin-Nuova Libreria, 1981).
- [12] “Pharmacokinetics and biopharmaceutics: A definition of terms”, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* **1** (1973) 3-4.
- [13] J. Bernstein, “DIVERSITY AMIDST SIMILARITY: A Multidisciplinary Approach to Polymorphs, Solvates and Phase Relationships”, Erice, Sicily June 19, 2004, presentazione (acceduto Nov. 2015).
- [14] R. Botting, “Paracetamol-inhibitable COX-2.”, *J. Physiology Pharmacology* **51** (2000) 609-618.
- [15] G. G. Graham and K. F. Scott, “Mechanism of action of paracetamol.”, *Am. J. Ther.* **12** (2005) 46-55.
- [16] M. Espinosa Bosch, A. J. Ruiz Sánchez, F. Sánchez Rojas, and C. Bosch Ojeda, “Determination of paracetamol: historical evolution.”, *J Pharm Biomed Anal.* **42** (2006) 291-321.
- [17] V. Andre, M. F. M. Piedade, and M. T. Duarte, “Revisiting paracetamol in a quest for new co-crystals”, *CrystEngComm* **14** (2012) 5005-5014.
- [18] G. Nichols and C. S. Frampton, “Physicochemical Characterization of the Orthorhombic Polymorph of Paracetamol Crystallized from Solution”, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **87** (1998) 684-692.
- [19] M. Haisa, S. Kashino, R. Kawai, and H. Maeda, “The Orthorhombic Form of p-Hydroxyacetanilide”, *Acta Cryst.* **30** (1974) 2510-2512.
- [20] F. P.A. Fabbiani, D. R. Allan, W. I. F. David, S. A. Moggach, S. Parsons, and C. R. Pulham, “High-pressure recrystallisation a route to new polymorphs and solvates”, *CrystEngComm* **6** (2004) 504-511.
- [21] M. A. Perrin, M. A. Neumann, H. Elmaleh, and L. Zaske, “Crystal structure determination of elusive paracetamol Form III” *ChemComm* (2009) 3181-3183.
- [22] M. A. Neumann and M. A. Perrin, “Can crystal structure prediction guide experimentalists to a new polymorph of paracetamol?”, *CrystEngComm* **11** (2009) 2475-2479.
- [23] S. J. Smith, M. M. Bishop, J. M. Montgomery, T. P. Hamilton, and Y. K. Vohra, “Polymorphism in Paracetamol: Evidence of Additional Forms IV and V at High Pressure”, *J. Phys. Chem. A* **118** (2014) 6068-6077.

- [24] <http://www.disbec.unitus.it/web/scaricatore.asp?c=i1uy0cthwr8nfbv38uf6n6801&par=1> (acceduto Mag. 2015).
- [25] D. A. Long, "Raman Spectroscopy" (McGraw-Hill, New York, 1977).
- [26] I. R. Lewis and H. Edwards, "Handbook of Raman Spectroscopy", (Marcel Dekker Inc., New York, 2001).
- [27] M. Born and K. Huang, "Dynamical Theory of Crystal Lattices", (Oxford University Press, New York, 1954).
- [28] C.-Yi Chen, D. P. Wong, Y.-F. Huang, H.-T. Lien, P.-C. Chiang, P.-L. Li, F.-Y. Shih, W.-H. Wang, K.-H. Chen, L.-C. Chen, and Y.-F. Chen, "Understanding the Interplay between Molecule Orientation and Graphene Using Polarized Raman Spectroscopy", *ACS Photonics* **3** (2016) 985-991.
- [29] E. Venuti, R. G. Della Valle, L. Farina, A. Brillante, M. Masino, and A. Girlando, "Phonons and structures of tetracene polymorphs at low temperature and high pressure." *Phys. Rev. B* **70** (2004) 104106/1-8.
- [30] R. P. Sear, "Quantitative studies of crystal nucleation at constant supersaturation: experimental data and models", *CrystEngComm* **16** (2014) 6506-6522.
- [31] R. P. Sear, "The non-classical nucleation of crystals: microscopic mechanisms and applications to molecular crystals, ice and calcium carbonate", *International Materials Reviews* **57** (2012) 328-356, and references therein.
- [32] H. Jiang and C. Kloc, "Single-crystal growth of organic semiconductors", *MRS Bulletin* **38** (2013) 28-33.
- [33] M. W. Schmidt, K. K. Baldridge, J. A. Boatz, S. T. Elbert, M. S. Gordon, J. H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K. A. Nguyen, S. Su, T. L. Windus, M. Dupuis, and J. A. Montgomery Jr., "General atomic and molecular electronic structure system", *J. Comp. Chem.* **14** (1993) 1347-1363.
- [34] A. P. Scott and L. Radom, "Harmonic Vibrational Frequencies: An Evaluation of Hartree-Fock, Moller-Plesset, Quadratic Configuration Interaction, Density Functional Theory and Semiempirical Scale Factors", *J. Phys. Chem. A* **100** (1996) 16502-16513.
- [35] R. S. Mulliken, "Electronic Population Analysis on LCAO-MO Molecular Wave Functions. I", *J. Phys. Chem., A* **23** (1955) 1833-1840.

- [36] C. M. Breneman and K. B. Wiberg, "Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis", *J. Comp. Chem.* **11** (1990) 361-373.
- [37] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz Jr., D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. A. Kollman, "A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids and organic molecules", *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 5179-5197.
- [38] A. L. Spek, "Single-crystal structure validation with the program PLATON", *J. Appl. Cryst.* **36** (2003) 7-13.
- [39] W. R. Busing and M. Matsui, "The application of external forces to computational models of crystals", *Acta Cryst., A* **40** (1984) 532-538.
- [40] J. D. Gale and A. L. Rohl, "The General Utility Lattice Program (GULP)", *Mol. Simul.* **29** (2003) 291-341.
- [41] G. F. Signorini, R. Righini, and V. Schettino, "Lattice dynamics of the orthorhombic phase of  $\text{KClO}_4$ : Ewald's method in molecular coordinates", *Chem. Phys.* **115** (1991) 245-261.
- [42] F. H. Allen, "The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising", *Acta Cryst.* **B58** (2002) 380-388.
- [43] E. B. Wilson, J. C. Decius, and P. C. Cross, "Molecular Vibrations", (McGraw-Hill, New York, 1955).
- [44] G. Turrell, "Infrared and Raman spectra of solids", (Academic Press, New York, 1984).
- [45] A. S. Davydov, "Theory of molecular excitons", (McGraw Hill, New York, 1962).
- [46] D. E. Williams, "Improved intermolecular force field for crystalline hydrocarbons containing four- or three-coordinated carbon", *J. Mol. Struct.* **485-486** (1999) 321-447.
- [47] D. E. Williams, "Improved intermolecular force field for crystalline oxohydrocarbons including O-H...O hydrogen bonding", *J. Comput. Chem.* **22** (2001) 1-20.
- [48] D. E. Williams, "Improved intermolecular force field for molecules containing H, C, N and O atoms", *J. Comput. Chem.* **22** (2001) 1154-1166.
- [49] A. J. Pertsin and A. I. Kitaigorodsky, "The atom-atom potential method", (Springer Verlag, Berlin, 1987).

- [50] P. Di Martino, P. Conflat, M. Drache, J. P. Huvenne, and A. M. Guyot-Hermann, "Preparation and physical characterization of forms I and II of paracetamol", *Journal of Thermal Analysis* **48** (1997) 447-458.
- [51] T. Salzillo, A. Rivalta, E. Venuti, G. Magnani, and A. Brillante, "Spettroscopia Raman e polimorfismo: il ruolo dei fononi", *La chimica e l'industria* **5** (2015) 51-54.
- [52] J. B. Nanubolu and J. C. Burley, "Investigating the Recrystallization Behavior of Amorphous Paracetamol by Variable Temperature Raman Studies and Surface Raman Mapping", *Mol. Pharmaceutics* **9** (2012) 1544-1558, and references therein.
- [53] G. L. Perlovich, T. V. Volkova, and A. Bauer-Brandl, "POLYMORPHISM OF PARACETAMOL, Relative stability of the monoclinic and orthorhombic phase revisited by sublimation and solution calorimetry", *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **89** (2007) 767-774.
- [54] J. C. Burley, M. J. Duer, R. S. Stein, and R. M. Vrcelj, "Enforcing Ostwald's rule of stages: Isolation of paracetamol forms III and II", *European journal of pharmaceutical sciences* **31** (2007) 271-276.
- [55] J. B. Nanubolu and J. C. Burley, "In situ Raman mapping for identifying transient solid forms", *CrystEngComm* (2015) DOI: 10.1039/c5ce00008d.
- [56] T. Wu, Y. Sun, N. Li, M. M. de Villiers, and L. Yu, "Inhibiting Surface Crystallization of Amorphous Indomethacin by Nanocoating", *Langmuir* **23** (2007) 5148-5153.
- [57] M. Ladd and R. Palmer, "Structure determination by X-ray crystallography analysis by X-rays and neutrons." (Springer, New York, 2013).
- [58] G. Turrell and J. Corset, "Raman microscopy: developments and applications", Elsevier, New York (1996).
- [59] L. A. Curtiss and P. C. Redfern, "Gaussian-3X (G3X) theory: Use of improved geometries, zero-point energies and Hartree-Fock sets." *J. Chem. Phys.* (2001) 108-117.
- [60] J. P. Merrick, D. Moran, and L. Radom, "An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors", *J. Phys. Chem., A* **111** (2007) 11683-11700.
- [61] R. Szostak, J. Aube, and M. Szostak, "An efficient computational model to predict protonation at the amide nitrogen and reactivity along the  $C - N$  rotational pathway", *ChemComm* **51** (2015) 6395-6398.