

Estudio cristalográfico y estructural del hiclato de doxiciclina  $2C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot$   
 $2HCl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$  y de los productos de desolvatación/solvatación y  
deshidratación/hidratación

**Yesika Alejandra León Fontecha**

**Trabajo para optar por el título de Química**

**Director:**

**JOSÉ ANTONIO HENAO MARTÍNEZ, Qco, Ph.D.**

**Codirector:**

**Robert Antonio Toro Hernández, Dr. Qca.Apl.**

**Universidad Industrial de Santander**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela de Química**

**Bucaramanga**

**2019**

### Dedicatoria

*A Dios por permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.*

*A mis padres quienes con su amor, paciencia, esfuerzo y apoyo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por darme el mejor ejemplo de esfuerzo, dedicación y valentía, de no temer ante las adversidades porque Dios está conmigo siempre.*

*A mis hermanos por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento, gracias.*

*A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y una alumna ejemplar.*

### Agradecimientos

A mis padres por haberme dado la vida, por acompañarme y apoyarme incondicionalmente, por ser los principales promotores de mis sueños y porque me han dado todo lo que soy como personal.

A la Universidad Industrial de Santander, por haberme brindado la oportunidad de hacer parte de la institución permitiendo mi crecimiento personal y profesional.

A mi director de trabajo de grado, el Doctor José Antonio Henao y a mi Codirector el Doctor Robert Antonio Toro por permitirme hacer parte del grupo de investigación GIQUE, quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer cada día como profesional, gracias por su paciencia, dedicación, y por guiarme durante el desarrollo del proyecto y a todo el equipo de trabajo del laboratorio de rayos X.

A mis amigos en especial a Karol por su amistad incondicional y por su apoyo durante esta etapa de mi vida.

## Contenido

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	25
1. Planteamiento del problema.....	26
2. Justificación .....	27
3. Objetivos.....	29
3.1 Objetivo general.....	29
3.2 Objetivos específicos .....	29
4. Marco Conceptual.....	30
4.1 Química del estado sólido en productos farmacéuticos.....	30
4.1.1 Estudio de las transformaciones de fase en el estado sólido.....	30
4.1.2 Mecanismos de transformaciones de fase.....	32
4.2 Polimorfismo.....	32
4.2.1 Transformaciones polimórficas. ....	34
4.2.2 Tipos de polimorfismo.....	35
4.2.3 Transiciones de fase polimórficas.....	36
4.3 Cristalización .....	36
4.3.1 Nucleación. ....	37
4.3.1.1 Mecanismos de nucleación. ....	38
4.3.2 Crecimiento del cristal. ....	39

4.4 Técnicas de Cristalización .....	39
4.4.1 Evaporación Lenta del Solvente. ....	40
4.4.2 Mezcla Solvente/Antisolvente. ....	40
4.4.3 Cristalización por difusión de vapor. ....	40
4.4.4 Cristalización en gel.....	41
4.5 Enlaces de hidrógeno .....	41
4.5.1 Clasificación de los enlaces de hidrógeno. ....	43
4.5.2 Enlaces de hidrógeno convencionales. ....	44
4.5.3 Enlaces de hidrógeno no convencionales. ....	45
4.5.4 Tipos de enlaces de hidrógeno. ....	46
4.5.5 Otras interacciones.....	47
4.6 Tetraciclinas.....	50
4.6.1 Hiclato de doxiciclina. ....	53
5. Técnicas de caracterización .....	55
5.1 Análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido .....	55
5.2 Espectroscopia infrarroja .....	56
5.3 Difracción de rayos X.....	56
5.3.1 Difracción de rayos X de muestras policristalinas.....	60
5.3.2 Indexado de los patrones de polvo.....	61
5.3.2.1 Figuras de mérito. ....	62
5.3.3 Descomposición del patrón de polvo en sus intensidades integradas.....	62
5.3.4 Refinamiento Rietveld. ....	63
5.3.4.1 Funciones para modelar el pico de un perfil de difracción. ....	64

5.3.4.2 Criterios de ajuste. ....	64
6. Antecedentes .....	66
7. Hipótesis .....	72
8. Parte Experimental.....	73
8.1 Primera Etapa: Caracterización del hiclato de doxiciclina en estado sólido .....	73
8.1.1 Registro del perfil de difracción. ....	74
8.1.2 Descomposición del patrón de polvo.....	75
8.1.3 Determinación de la estructura cristalina.....	75
8.1.4 Refinamiento Rietveld. ....	75
8.1.5 Validación de la estructura cristalina.....	76
8.1.6 Análisis de la superficie de Hirsfeld y simulación de la morfología cristalina. ....	76
8.2 Segunda Etapa: Formación de los productos de desolvatación y deshidratación.....	76
8.3 Tercera Etapa: Formación de los hidratos, solvatos e hiclato.....	77
8.3.1 Proceso de hidratación seguido de solvatación de la muestra DH160.....	77
8.3.2 Proceso de solvatación seguido del proceso de hidratación de la muestra DH160. ....	78
8.4 Cuarta Etapa: procesos de recristalización de DH y DH160 .....	79
8.4.1 Recristalización por evaporación lenta de solvente.....	79
8.4.2 Cristalización por difusión de vapor.....	80
8.4.3 Recristalización de las muestras DH y DH160 en gel de agarosa. ....	81
9. Análisis de Resultados .....	81
9.1 Primera Etapa: Caracterización de la materia prima.....	81
9.1.1 Análisis por espectroscopia FT-IR.....	81
9.1.2 Análisis térmico. ....	83

9.1.3 Caracterización por difracción de rayos X de polvo.....	86
9.1.3.1 Indexado.....	86
9.1.3.2 Descomposición del patrón de polvo por el método de LeBail.....	88
9.1.3.3 Determinación de la estructura cristalina.....	89
9.1.3.5 Refinamiento por el método de Rietveld.....	90
9.1.3.6 Validación de la estructura cristalina.....	91
9.1.4 Enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina.....	93
9.1.4.1 Enlaces de hidrógeno formados por los átomos de nitrógeno del grupo amino y de la amida.....	99
9.1.4.2 Enlaces de hidrógeno formados por la molécula de agua.....	100
9.1.4.3 Enlaces de hidrógeno formados por los átomos de cloro.....	100
9.1.4.4 Enlaces de hidrógeno formados por la molécula de etanol.....	101
9.1.4.5 Interacciones moleculares tipo $\pi \cdots \pi$ .....	101
9.1.4.6 Análisis de la superficie de Hirsfeld.....	102
9.1.4.7 Validación de la geometría por Mercury Mogul Check.....	109
9.1.4.8 Simulación de la morfología del cristal.....	112
9.2 Segunda Etapa: proceso de desolvatación/deshidratación del hiclato de doxiciclina (DH).....	112
9.2.1 Proceso de secado por Liofilización del hiclato de doxiciclina en el estado sólido (DHSLIOF) y disuelto en agua destilada (DHDLIOF).....	113
9.2.1.1 Análisis por FT-IR de DHSLIOF y DHDLIOF.....	113
9.2.1.2 Análisis térmico por TGA-DSC de DHSLIOF y DHDLIOF.....	116
9.2.1.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo de DHSLIOF y DHDLIOF.....	118
9.2.2 Estudio térmico del hiclato de doxiciclina.....	120

9.2.2.1 Análisis por FT-IR de DH100, DH110, DH130 Y DH160. ....	120
9.2.2.2. Análisis térmico del producto DH160. ....	123
9.2.2.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo para DH160. ....	125
9.3 Tercera Etapa: proceso de solvatación/ hidratación de DH160 .....	126
9.3.1 Proceso de solvatación seguido de la hidratación por difusión de vapor de DH160. ....	126
9.3.1.1 Análisis FT-IR del producto DH160E y DH160EH. ....	126
9.3.1.2 Análisis térmico de DH160EH. ....	128
9.3.1.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo de DH160E y DH160EH.....	130
9.3.1.3.1 Enlaces de hidrógeno en DH160E. ....	133
9.3.1.3.2 Comparación entre DH y DH160E. ....	136
9.3.2 Proceso de hidratación y solvatación de DH160. ....	140
9.3.2.1 Análisis por FT-IR de DH160H y DH160HE.....	141
9.3.2.2 Análisis térmico de DH160HE. ....	142
9.3.2.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo de DH160H y DH160HE. ....	145
9.4 Cuarta Etapa: procesos de recristalización de DH y DH160 .....	148
9.4.1 Cristalización por el método de evaporación lenta de solvente. ....	148
9.4.1.1 Análisis por FT-IR de los productos formados de la recristalización de DH160. ....	150
9.4.1.2 Análisis por difracción de rayos X de polvo los productos formados de la recristalización de DH160. ....	152
9.4.2 Cristalización por difusión de vapor de DH y DH160.....	153
9.4.2.1 Análisis por difracción de rayos X de monocristal de DHEE. ....	154
9.4.2.1.1 Análisis de la geometría de la estructura de DHEE. ....	155
9.4.2.2 Comparación de DH con DHEE. ....	162

---

9.4.2.3 Análisis por difracción de rayos X de monocristal de DH160ET. ....	163
9.4.2.3.1 Enlaces de hidrógeno de DH160ET.....	168
9.4.2.4 Interacciones moleculares tipo $\pi \cdots \pi$ .....	171
9.4.3 Cristalización en gel de agar de DH y DH160.....	173
10. Conclusiones.....	175
11. Divulgación de Resultados.....	177
Referencias Bibliográficas.....	178
Apéndices.....	185

## Lista de Figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Representación de varias formas cristalinas.....	34
Figura 2. Proceso de nucleación a) Solución sobresaturada, b) Formación simultánea de varios núcleos, c) Crecimiento de los núcleos más estables.....	37
Figura 3. Proceso de la nucleación. ....	38
Figura 4. Representación de los parámetros geométricos para la formación de un enlace de hidrógeno .....	42
Figura 5. Sistema cíclico intramolecular .....	45
Figura 6. Parámetros geométricos en los que se produce la interacción tipo $X - H \cdots \pi$ .....	48
Figura 7. Configuraciones de las interacciones tipo $\pi \cdots \pi$ <b>a)</b> Sándwich o paralela cara-cara, <b>b)</b> Desplazamiento paralelo, <b>c)</b> Forma T perpendicular, <b>d)</b> Borde de cara Y. ....	49
Figura 8. Formas de empaquetamiento de las interacciones tipo $\pi \cdots \pi$ . (a) espina de bacalao, (b) paralelo-espina de bacalao, (c) otra forma de espina de bacalao o subunidad estructural $\gamma$ y (d) paralelo cara-cara o subunidad estructural $\beta$ . ....	49
Figura 9. Estructura química de la tetraciclina .....	52
Figura 10. Estructura química del hiclato de doxiciclina [4S(4aR,5S,5aR,6R,12aS)]-4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11, 12a-octahidro-3,5,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxonaftaceno-2-carboxamida; etanol; hidrato; hidrocloreuro. ....	54
Figura 11. Líneas características $K\alpha$ y $K\beta$ generadas por el molibdeno y el cobre. ....	57

Figura 12. Generación de los rayos X.....	58
Figura 13. Interacción de los rayos X con los planos de un cristal.....	59
Figura 14. Estructura general de la familia de las tetraciclinas .....	66
Figura 15. Estructura tautomérica el hclato de doxiciclina. ....	70
Figura 16. Sitio de unión de la doxiciclina con cobre (II) .....	72
Figura 17. Resolución estructural del hclato de doxiciclina.....	74
Figura 18. Procesos de formación de los productos de desolvatación y deshidratación .....	76
Figura 19. Procesos de formación de los productos de hidratación y solvatación .....	77
Figura 20. Montaje del procedimiento difusión de vapor a) vista frontal y b) vista superior .....	78
Figura 21. Montaje utilizado para la cristalización por difusión de vapor .....	80
Figura 22. Espectro FT-IR del hclato de doxiciclina.....	82
Figura 23. DSC obtenido del hclato de doxiciclina.....	84
Figura 24. TGA obtenido del hclato de doxiciclina.....	85
Figura 25. Comparación TGA y DSC del hclato de doxiciclina. ....	85
Figura 26. Patrón de difracción del hclato de doxiciclina. ....	86
Figura 27. Descomposición del patrón de polvo del hclato de doxiciclina por el método de Le Bail.....	89
Figura 28. Refinamiento Rietveld del hclato de la doxiciclina.....	91
Figura 29. Unidad asimétrica del hclato de doxiciclina vista desde el plano ab. ....	91
Figura 30. Unidad asimétrica del hclato de doxiciclina con las etiquetas de los átomos y las etiquetas de los anillos. ....	92
Figura 31. <b>a)</b> Representación gráfica de un twist-boat teórico, <b>b)</b> Representación gráfica de bote retorcido del anillo A1 yA2 del hclato de doxiciclina. ....	93

Figura 32. Representación gráfica del apilamiento de las moléculas del hiclato de doxiciclina con la superficie de Hirshfeld en función de la curvatura. ....	109
Figura 33. Ángulos de torsión de la molécula 1 de DH.....	111
Figura 34. Ángulos de torsión de la molécula 2 de DH.....	111
Figura 35. Simulación de la morfología cristalina por el método BFDH para la estructura cristalina del hiclato de doxiciclina.....	112
Figura 36. Hiclato de doxiciclina después del proceso de liofilización a) DHDLIOF y b) DHSLIOF.....	113
Figura 37. Espectro FT-IR del hiclato de doxiciclina comercial (DH), hiclato de doxiciclina diluida liofilizada (DHDLIOF) e hiclato de doxiciclina comercial liofilizada (DHSLIOF). ....	114
Figura 38. DSC obtenidos a partir de DHDLIOF (línea azul) y DHSLIOF (línea fucsia) .....	117
Figura 39. TGA obtenidos a partir de DHDLIOF (línea verde) y DHSLIOF (línea roja).....	118
Figura 40. Montaje de la muestra para análisis de difracción de rayos X por zero-background de DHDLIOF .....	119
Figura 41. Perfil de difracción de DHDLIOF (azul) y DHSLIOF (rojo).....	119
Figura 42. Hiclato de doxiciclina expuesto a diferentes temperaturas a) 100 °C, b) 110 °C, c) 130 °C, d) 160 °C.....	120
Figura 43. Espectro FT-IR del hiclato de doxiciclina (DH) sometido diferentes temperaturas .	121
Figura 44. DSC del producto DH160 .....	123
Figura 45. TGA del producto DH160 .....	124
Figura 46. Patrón de difracción de DH160 .....	125
Figura 47. Resultados del proceso de solvatación / hidratación DH160 a) DH160E y b) DH160EH. ....	126

Figura 48. Espectro FT-IR del hiclato doxiciclina anhidro (DH160) después del proceso de solvatación (DH160E) e hidratación (DH160EH).....	127
Figura 49. DSC obtenido del producto DH160EH.....	129
Figura 50. TGA obtenido del producto DH160EH.....	130
Figura 51. Perfil de difracción del producto DH160E.....	130
Figura 52. Comparación estructural entre DH y DH160E.....	138
Figura 53. Perfil de difracción de DH160EH.....	139
Figura 54. Resultados obtenidos para el proceso de hidratación / solvatación a) DH160H y b) DH160HE.....	141
Figura 55. Espectros FT-IR de DH160H y DH160HE.....	142
Figura 56. DSC obtenido del producto DH160HE.....	144
Figura 57. TGA obtenido para DH160HE.....	145
Figura 58. Perfil de difracción de DH160H.....	146
Figura 59. Perfil de difracción de DH160HE.....	147
Figura 60. Resultados del proceso de recristalización a) DH160H20, b) DH160ETOH y c) DH160MIX.....	149
Figura 61. Espectros FT-IR de la recristalización de DH160 por el proceso de evaporación lenta del solvente.....	151
Figura 62. Perfil de difracción de DH160ETOH (línea morada), DH160H20 (línea fucsia) y DH160MIX (línea azul).....	153
Figura 63. Resultados de la recristalización a) cristales en forma de agujas de DH y b) cristales en forma de placas de DH160.....	153

Figura 64. <b>a)</b> Representación gráfica de un ciclohexano en conformación de bote (teórico), <b>b)</b> Representación gráfica de bote distorsionado del anillo A1 <b>c)</b> Representación gráfica de bote distorsionado del anillo A2. ....	158
Figura 65. Centros quirales de la molécula 1 y 2 de DHEE. ....	159
Figura 66. Comparación entre las estructuras de DH (verde) y DH160EE (magenta).....	162
Figura 67. Unidad asimétrica de DH160ET vista a lo largo del eje c. ....	164
Figura 68. Resultados de la recristalización por el método de cristalización en gel a) DH y b) DH160 expuesta a luz normal y luz polarizada. ....	174

## Lista de Tablas

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Clasificación de los enlaces de hidrógeno .....	43
Tabla 2. Clasificación de los enlaces de hidrógeno muy fuertes, fuertes y débiles según Desiraju y Steiner.....	44
Tabla 3. Tipos de enlace de hidrógeno .....	46
Tabla 4. Clasificación de la familia de las tetraciclinas.....	50
Tabla 5. Principales sustituyentes de R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> y R <sub>4</sub> en el esqueleto carbonado que originan diversos derivados de las tetraciclinas.....	67
Tabla 6. Relaciones solventes/antisolvente en la cristalización por difusión de vapor. ....	80
Tabla 7. Bandas de absorción del espectro de infrarrojo de hiclato de doxiciclina (DH) .....	83
Tabla 8. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil del hiclato de doxiciclina.....	87
Tabla 9. Resultados estructurales obtenidos para el hiclato de doxiciclina.....	88
Tabla 10. Factores de discrepancia de la descomposición del patrón de polvo por el método de Le Bail.....	89
Tabla 11. Factores de discrepancia obtenidos del refinamiento Rietveld del patrón de polvo....	90
Tabla 12. Parámetros de asimetría de los anillos del hiclato de doxiciclina.....	93
Tabla 13. Enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina.....	95
Tabla 14. Visualización de los enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina.....	97

Tabla 15. Coordenadas de las posiciones de los centroides de los anillos aromáticos del hiclato de doxiciclina.....	101
Tabla 16. Interacciones tipo $\pi \cdots \pi$ entre Cg(1) $\cdots$ Cg(2), X – H $\cdots$ Cg(1) .....	102
Tabla 17. Superficies de Hirshfeld generadas para la molécula 1 y 2. ....	105
Tabla 18. Superficies de Hirshfeld generadas para las moléculas de etanol, agua y los átomos de cloro. ....	107
Tabla 19. Bandas del espectro FT-IR presentes y ausentes de DH, DHDLIOf y DHSLIOf en diferentes condiciones.....	115
Tabla 20. Ausencia y presencia de las bandas de absorción del espectro FT-IR para las muestras DH100, DH110, DH130 y DH160. ....	122
Tabla 21. Bandas del espectro FT-IR para DH160E y DH160EH .....	128
Tabla 22. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de difracción de <b>DH160E</b> .....	131
Tabla 23. Resultados estructurales obtenidos para DH160E.....	132
Tabla 24. Factores de discrepancia obtenidos del refinamiento Rietveld del patrón de polvo de DH160E .....	133
Tabla 25. Enlaces de hidrógeno formados por el Cl(1) y Cl(2).....	134
Tabla 26. Enlaces de hidrógeno formados con el etanol. ....	136
Tabla 27. Resultados estructurales de DH160EH.....	139
Tabla 28. Bandas del espectro FT-IR de DH160H y DH160HE.....	143
Tabla 29. Resultados estructurales de DH160HE.....	147
Tabla 30. Resultados del proceso de recristalización de DH y DH160.....	149
Tabla 31. Señales de espectro FT-IR de DH, DH160MIX, DH160ETOH y DH160H2O .....	152

Tabla 32. Resultados obtenidos de la recristalización de DH y DH160 .....	154
Tabla 33. Datos cristalográficos y parámetros de determinación de estructura del cristal de DHEE .....	154
Tabla 34. Representación gráfica de los anillos de la molécula 1 y 2 con sus respectivas etiquetas y ubicación espacial de los sustituyentes .....	156
Tabla 35. Coordenadas de las posiciones de los centroides de los anillos aromáticos de DHEE .....	158
Tabla 36. Parámetros de asimetría de los anillos de DHEE. ....	159
Tabla 37. Representación gráfica del hiclato .....	161
Tabla 38. Datos cristalográficos y parámetros de determinación de estructura del cristal de DH160ET .....	163
Tabla 39. Representación gráfica de los anillos de la molécula 1, 2, 3 y 4 con sus respectivas etiquetas y proyección estereográfica de los sustituyentes .....	165
Tabla 40. Representación gráfica de los enlaces de hidrógeno representativos de DH160ET ..	168
Tabla 41. Coordenadas de las posiciones de los centroides de los anillos aromáticos de DH160 .....	172
Tabla 42. Ubicación de los centroides e interacciones tipo $\pi \cdots \pi$ entre $C_g(3) \cdots C_g(21)$ .....	173

**Lista de Apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de DHSLIOF .....	185
Apéndice B. Enlaces de hidrógeno de DH160E .....	186
Apéndice C. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de DH160EH .....	188
Apéndice D. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de DH160HE .....	191
Apéndice E. Descriptores de los sustituyentes del anillo .....	194
Apéndice F. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 1 de DHEE .....	195
Apéndice G. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 2 de DHEE .....	197
Apéndice H. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 1 de DH160ET .....	199
Apéndice I. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 2 de DH160ET .....	201
Apéndice J. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 3 de DH160ET .....	203
Apéndice K. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 4 de DH160ET .....	205
Apéndice L. Parámetros de asimetría de DH160ET .....	207
Apéndice M. Enlaces de hidrógeno de DH160ET .....	212
Apéndice N. Certificado del XVII Congreso Colombiano de Química. ....	216

Apéndice O. Certificado de la XII Reunión Anual de la Asociación Argentina de

Cristalografía..... 217

## Resumen

**Título:** ESTUDIO CRISTALOGRAFICO Y ESTRUCTURAL DEL HICLATO DE DOXICICLINA  $2C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot 2HCl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$  Y DE LOS PRODUCTOS DE DESOLVATACION/SOLVATACION Y DESHIDRATACION/HIDRATACION\*

**Autor:** Yesika Alejandra León Fontecha\*\*

**Palabras clave:** Hiclato de doxiciclina, transiciones de fase, resolución estructural

### Descripción:

En el presente trabajo se muestra la determinación de la estructura cristalina del hiclato de doxiciclina en estado sólido y los productos obtenidos de los diferentes procesos de recristalización. La caracterización se llevó a cabo mediante métodos espectroscópicos, térmicos y difractométricos. Adicionalmente, se caracterizaron los productos obtenidos a partir del proceso simultáneo de deshidratación-desolvatación, procesos individuales de solvatación e hidratación. La resolución estructural de hiclato de doxiciclina sugiere que la materia prima está presente en la forma tautomérica (forma ceto). Este material cristaliza en una celda monoclinica  $P2_1$  con parámetros  $a = 18,2657 \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1397 \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0792 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,366^\circ$ . La resolución estructural por difracción de rayos X de polvo demuestra que el material cristaliza con dos unidades cristalográficamente independientes de doxiciclina obteniendo la fórmula molecular  $2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$ . Los resultados obtenidos a partir del TGA-DSC demostraron que la pérdida de las moléculas de agua y etanol se produce a una temperatura de  $160,3^\circ C$  y el compuesto presenta una temperatura de fusión a los  $206,1^\circ C$  seguida de la descomposición en  $223,1^\circ C$ . Por otra parte, se observó transiciones de fase en el estado sólido del material amorfo a una fase cristalina. Ambas fases, con fórmulas moleculares  $2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O$  y  $2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$ , obtenidas por la transformación del material amorfo, indexan para un sistema monoclinico  $P2_1$  con parámetros de celda  $a = 18,2526(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1299(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0869(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,165^\circ(4)$ ,  $V = 2374,59 \text{ \AA}^3$  y  $a = 19,3446(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1160(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0480(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 110,104^\circ(4)$ ,  $V = 2356,16 \text{ \AA}^3$  respectivamente.

Mediante la recristalización de la materia prima por la técnica de difusión de vapor de éter etílico en solución de etanol, se obtienen cristales que cristalizan en un sistema monoclinico  $P2_1$  con parámetros de celda  $a = 8,0872(6) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1427(8) \text{ \AA}$ ,  $c = 18,27887(14) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,343(7)^\circ$ ,  $V = 2379,4 \text{ \AA}^3$  similar a la materia prima. La integración de datos de intensidad confirma la fórmula molecular obtenida usando los datos de polvo. La cristalización por difusión de vapor de tolueno en solución de etanol produce cristales de doxiciclina con fórmula  $(C_{22}H_{25}N_2O_8)^+ \cdot Cl^-$  y cuatro moléculas cristalográficamente independientes en la unidad asimétrica. Este material cristaliza en una celda monoclinica  $P2_1$  con parámetros  $a = 19,4759(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 13,1888(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 23,581(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107,695(7)^\circ$ ,  $V = 5770,5 \text{ \AA}^3$  diferente a las obtenidas por los procesos mencionados anteriormente.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: José Antonio Henao Martínez, Ph.D Químico. Codirector: Robert Antonio Toro, Ph.D Química Aplicada



## Abstract

**Title:** CRYSTALLOGRAPHIC AND STRUCTURAL STUDY OF DOXICICLINE HICLATE  $2C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot 2HCl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$  AND THEIR DESOLVATATION / SOLVATATION AND DEHYDRATION / HYDRATION PRODUCTS\*

**Author:** Yesika Alejandra León Fontecha\*\*

**keywords:** Doxycycline hyclate, phase transforms, structural resolution

### Description:

In the present work, the crystal structure determination of doxycycline hyclate in solid state and the products obtained from different recrystallization processes is shown. The characterization was carried out by spectroscopic, thermal and diffractometric methods. Additionally, the products obtained from simultaneous process of dehydration-desolvation, individual solvation and hydration processes were also characterized. The structural resolution of doxycycline hyclate suggests that the raw material is present in the tautomeric form (keto form). This material crystallizes in a monoclinic cell  $P2_1$  with parameters  $a = 18,2657 \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1397 \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0792 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,366^\circ$ . The structural resolution by powder X-ray diffraction demonstrates that the material crystallizes with two crystallographically independent units of doxycycline obtaining the molecular formula  $2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$ . The results obtained from the TGA - DSC demonstrated that the loss of water and ethanol molecules occurs at a temperature of  $160,3^\circ\text{C}$  and the compound has a melting temperature at  $206,1^\circ\text{C}$  followed by decomposition at  $223,1^\circ\text{C}$ . On the other hand, phase transitions were observed in the solid state of the amorphous material to a crystalline phase. Both phases, with molecular formulas  $2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O$  and  $2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$ , obtained by the transformation of the amorphous material, index for a monoclinic system  $P2_1$  with cell parameters  $a = 18,2526(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1299(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0869(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,165^\circ(4)$ ,  $V = 2374,59 \text{ \AA}^3$  and  $a = 19,3446(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1160(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0480(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 110,104^\circ(4)$ ,  $V = 2356,16 \text{ \AA}^3$  respectively.

By recrystallization of the raw material by the diffusion technique of ethyl ether vapor in ethanol solution, crystals were obtained that crystallize in a monoclinic system  $P2_1$  with cell parameters  $a = 8,0872(6) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1427(8) \text{ \AA}$ ,  $c = 18,27887(14) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,343(7)^\circ$ ,  $V = 2379,4 \text{ \AA}^3$  similar to the raw material. The intensity data integration confirms the molecular formula obtained using the powder data. Crystallization by vapor diffusion of toluene in ethanol solution produces crystals of doxycycline with formula  $(C_{22}H_{25}N_2O_8)^+ \cdot Cl^-$  and four crystallographically independent molecules in the asymmetric unit. This material crystallizes in a monoclinic cell  $P2_1$  with parameters  $a = 19,4759(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 13,1888(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 23,581(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107,695(7)^\circ$ ,  $V = 5770,5 \text{ \AA}^3$  different from those obtained by the processes mentioned above

---

\* Bachelor Thesis

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: José Antonio Henao Martínez, Ph.D Químico. Codirector: Robert Antonio Toro, Ph.D Química Aplicada

## Introducción

Los ingredientes farmacéuticamente activos poseen una variedad de propiedades fisicoquímicas como la solubilidad, la biodisponibilidad, la estabilidad térmica, la farmacocinética y la farmacodinámica, que dependen no solo de la estructura molecular, también, de la forma en la que se empaquetan las moléculas dentro del cristal. La gran mayoría de los sólidos farmacéuticos son compuestos orgánicos que presentan diversas interacciones intermoleculares e intramoleculares entre las que se encuentran principalmente, las interacciones *dipolo – dipolo*, los enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals entre otras, las cuales favorecen ciertos ordenamientos moleculares y propiedades intrínsecas del cristal. Por lo tanto, el conocimiento de las estructuras cristalinas es una parte fundamental para la investigación de nuevas formas farmacéuticas; por esto la difracción de rayos X de muestras policristalinas proporciona un método eficiente que permite la caracterización estructural de los ingredientes farmacéuticamente activos de los cuales no es posible obtener como un cristal único, a través de una serie de programas diseñados para tal fin.

El hiclato de doxiciclina es un antibiótico de amplio espectro perteneciente a la familia de las tetraciclinas de segunda generación; previene el crecimiento y desarrollo bacterial a través de la inhibición de la síntesis de proteica y el bloqueo de la unión entre el ARN de transferencia y el complejo ribosómico del RNA mensajero. Es ampliamente utilizado para el tratamiento de infecciones como el acné y la neumonía y enfermedades como la malaria, enfermedad de Lyme, la rosácea, entre muchas otras. Sin embargo, no se encuentran registros cristalográficos sobre la forma en la que se empaquetan las moléculas y las interacciones que presenta en estado sólido;

además, se desconocen los cambios estructurales que puedan ocurrir al retirar o introducir moléculas de etanol y agua en la estructura, razón por la cual, este cambio se convierte en el objeto de estudio del presente trabajo.

## 1. Planteamiento del problema

Los productos farmacéuticos en estado sólido conforman un campo de estudio muy importante en la química farmacéutica debido a la facilidad que representan en los procesos de fabricación, almacenamiento y transporte; además, en el diseño de nuevas formas de dosificación de medicamentos en estado sólido. Debido a esto permiten un método sencillo y práctico de administración, siendo ampliamente utilizado en la industria farmacéutica (Pasquali, Bettini, & Giordano, 2006).

En las formas farmacéuticas o presentación física de un medicamento elaborado mediante una metodología determinada, pueden existir diferentes, modificaciones cristalinas o amorfas de los ingredientes farmacéuticos activos (IFAs) o de los excipientes, las cuales pueden otorgar propiedades fisicoquímicas diferentes que pueden afectar o favorecer la farmacodinámica y la farmacocinética del fármaco dentro del organismo. Sin embargo, durante los procesos de fabricación de una formulación sólida, puede presentarse una variedad de transiciones de fase incluyendo la interconversión entre polimorfos, solvatos, hidratos y la forma amorfa, los cuales pueden ser estructuras con propiedades conocidas o desconocidas que afectan el mecanismo de acción, la biodisponibilidad, eficacia y eficiencia del medicamento. Por lo

tanto, es necesario comprender y establecer cada una de las formas cristalinas y amorfa que pueda exhibir un determinado ingrediente activo y las condiciones en la cuales pueden ocurrir las diferentes interconversiones de fases (Zhang *et al.*, 2004).

El hiclato de doxiciclina (Figura 10), es un derivado sintético de la familia de las tetraciclinas de amplio espectro, que cumple principalmente la función de un antibiótico de segunda generación, actuando en la inhibición de la síntesis de proteínas y bloqueando la unión del RNAt al complejo ribosómico y por lo tanto previene el crecimiento de las bacterias Gram negativas (-) y Gram positivas (+) (Palenik & Bentley, 1978). Este IFA es comercializado en forma sólida cuya estructura cristalina no se encuentra reportada en las bases de datos especializadas, por lo que se desconoce aquella información importante con respecto a las interacciones intermoleculares, enlaces de hidrógeno, ángulos de torsión de los enlaces, deformación de los anillos, entre otros. Adicionalmente, para este principio activo también se desconocen las posibles transiciones de fase que puedan ocurrir a través de procesos de deshidratación/hidratación y desolvatación/solvatación; por esta razón fue necesario realizar un estudio cristalográfico en estado sólido del hiclato de doxiciclina para determinar posibles cambios de fases en el estado sólido y conocer sus características.

## 2. Justificación

El estado sólido del IFA influye de manera significativa sobre las propiedades fisicoquímicas del compuesto, afectando directamente la estabilidad, solubilidad, eficacia, eficiencia y las condiciones de administración del fármaco.

En algunas ocasiones, una determinada forma sólida del IFA no permanece constante en el producto farmacéutico final, debido no solo a procesos de manufactura, sino también a factores externos como la temperatura, presión y humedad relativa. En los procesos de formulación el IFA se ve sometido a situaciones de “estrés” fisicoquímico que pueden modificar el tipo de interacciones que se presenten con otros componentes de la formulación (excipientes), dando lugar a transformaciones de fase no deseadas, que afectan directamente la estabilidad fisicoquímica del mismo. Por lo tanto, el mecanismo de acción del producto farmacéutico resultante depende únicamente de las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de la nueva fase obtenida.

El hiclato de doxiciclina no posee estudios reportados de las transiciones de fase en el estado sólido, por esta razón fue necesario realizar un estudio cristalográfico bajo diferentes condiciones que la identificación de las posibles transiciones de fase en el estado sólido. Por lo tanto, a partir de esta contribución se permitirá facilitar la selección de las condiciones apropiadas de manipulación y almacenamiento, el diseño de nuevas formulaciones y la selección de nuevas metodologías que aseguren la fabricación, y desarrollo de formulaciones farmacéuticas con este principio activo.

### 3. Objetivos

#### 3.1 Objetivo general

Identificar las estructuras cristalinas de los productos de deshidratación, desolvatación, hidratación y solvatación del hiclato de doxiciclina y estudiar sus propiedades fisicoquímicas.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar la estructura cristalina del principio farmacéuticamente activo en estado sólido mediante técnicas espectroscópicas.
- Determinar la estructura cristalina del IFA mediante difracción de rayos X de polvo.
- Obtener los productos de deshidratación y desolvatación del IFA mediante análisis térmico.
- Cristalizar los productos por evaporación lenta de solvente o mezcla solvente/anti-solvente.
- Caracterizar cristalográficamente las transformaciones de fase y las modificaciones de la estructura cristalina de los productos obtenidos de la desolvatación / solvatación y deshidratación / hidratación

## 4. Marco Conceptual

### 4.1 Química del estado sólido en productos farmacéuticos

La química del estado sólido comprende una amplia variedad de estudios para la caracterización e investigación del estado sólido, con el fin de establecer las propiedades y transformaciones físicas de los polimorfos, solvatos e hidratos, así como también, reacciones químicas en estado sólido y reacciones sólido-sólido, logrando de esta manera garantizar el beneficio terapéutico y optimizar el desarrollo de un nuevo medicamento (Byrn, Pferffer, Stephenson, Grant, & Leason, 1994). La selección de la forma sólida adecuada, ya sea cristalina o amorfa, depende de factores como la solubilidad, estabilidad fisicoquímica, biodisponibilidad, eficacia y eficiencia, las cuales deben estar debidamente identificadas para establecer si la nueva forma sólida exhibirá propiedades mejoradas o perjudiciales dentro del organismo.

**4.1.1 Estudio de las transformaciones de fase en el estado sólido.** En el estado sólido, cuando un sistema es perturbado induce situaciones de estrés a nivel molecular y se pueden producir transformaciones de fases entre las formas cristalinas o entre la forma cristalina y la forma amorfa, incluyendo interconversión entre polimorfos, solvatos e hidratos; en muchas ocasiones estas transformaciones de fase ocurren sin pasar a través de fases transitorias o metaestables. En el estado sólido se conocen tres tipos de fases:

- a) **Fase cristalina:** La fase cristalina en el estado sólido se caracteriza por poseer una disposición espacial ordenada siguiendo una estructura periódica tridimensional, determinada por la orientación de las unidades constituyentes, unas con respecto a las otras, presentando propiedades de sistemas homogéneos simétricos con propiedades físicas y químicas únicas (Gonzalez, 2018; Shah, Kakumanu, & Bansal, 2006).
- b) **Fase amorfa:** La fase amorfa en el estado sólido se caracteriza porque las moléculas de una sustancia al cristalizar no presentan ningún ordenamiento, es decir, las moléculas tienen el mismo grado de desorden que en el estado líquido, pero no tienen la dinámica molecular propia del líquido, por lo tanto, no presentan ningún tipo de simetría traslacional ni rotacional. Este tipo de ordenamiento afecta directamente las propiedades fisicoquímicas del fármaco y como consecuencia su actividad farmacéutica (Gonzalez, 2018);(Shah et al., 2006).
- c) **Cuasicristales:** son sólidos con una estructura cuasiperiódica, es decir, su estructura cristalina no es totalmente periódica, por lo tanto, no se puede construir mediante la repetición de una celda unidad sino de un arreglo aperiódico de traducción tridimensional que presenta una difracción definida. Existen tres tipos de cuasicristales; el primero corresponde a cuasicristales poligonales o diédricos en dos dimensiones que poseen una dirección periódica perpendicular a las capas cuasiperiódicas. En el segundo tipo se encuentran los cuasicristales icosaédricos los cuales presentan una estructura cuasiperiódica en tres dimensiones, sin dirección periódica. Finalmente en el tercer tipo se encuentra el cuasicristal "icosaédrico" con simetría rota (Yamamoto, 1996);(Bedolla, 2012).

**4.1.2 Mecanismos de transformaciones de fase.** Las transiciones de fase se ven influenciadas principalmente por las condiciones ambientales ( $T$ ,  $P$ ), defectos cristalinos, tamaño y distribución de las moléculas y finalmente por impurezas dentro del compuesto. Sin embargo, también ocurren durante procesos térmicos, mecanismos en solución y mecanismos mediados por solución.

En los procesos térmicos se involucran ciclos de calentamiento/enfriamiento en los cuales el compuesto se calienta por encima de su punto de fusión y posteriormente se enfría a temperatura ambiente siendo este incapaz de regresar a la fase sólida original (Zhang *et al.*, 2004).

Por otro lado, los mecanismos en solución involucran la regeneración del sólido original a partir de la eliminación del disolvente, en este caso la transición puede ser de una fase metaestable a la fase estable o de la fase estable a una o más fases metaestables, así como de un compuesto solvatado.

Por último, en los mecanismos mediados por solución, la diferencia de solubilidad entre las fases es el factor determinante del mecanismo; sin embargo, se permite únicamente la transición de una fase metaestable a la fase estable (Zhang *et al.*, 2004). Todos los mecanismos anteriormente descritos dependen de la velocidad de nucleación, velocidad de eliminación del disolvente, crecimiento de cristales, entre otros.

## 4.2 Polimorfismo

El término de polimorfismo aparece por primera vez en el año de 1822 cuando el químico y cristalógrafo alemán Mitscherlin observó que compuestos idénticos de arseniato y fosfatos cristalizaban en diferentes formas, lo cual, condujo a investigar por qué ciertos compuestos son

capaces de agruparse en diferentes formas cristalinas dando origen a las fases cristalinas de un compuesto dado. Diez años más tarde Leibif y Wöhler reportaron la benzamida como el primer compuesto orgánico polimórfico. Ya en la actualidad el estudio de este tipo de compuestos ha ido en aumento debido la variedad de polimorfos existentes, con el fin de establecer la relación que existe entre la estructura adoptada por el compuesto y la propiedad que se originan a partir de esta conformación (Martín & Molina, 2006).

El polimorfismo es un fenómeno que se presenta comúnmente en materiales cristalinos. Describe la capacidad que tiene una sustancia para existir como dos o más fases, las cuales, tienen diferentes disposiciones de los átomos de las moléculas en el estado sólido, pero conservando el carácter del enlace y en términos de contenido químico son idénticas. La variación de la disposición de los átomos de la molécula provoca un cambio no solo en el empaquetamiento y la orientación de las moléculas, sino también en sus conformaciones (Figura 1). Sin embargo, si el empaquetamiento es similar pero dos cristales difieren en términos conformacionales moleculares entonces se conocen como polimorfos a cada una de las formas en las que cristaliza determinado compuesto (Brittain, 2009).

Por otra parte, el término pseudopolimorfo es utilizado para diferenciar nuevas formas estructurales que incluyen dentro su enrejado cristalino moléculas del solvente. Si la forma cristalina incluye en su estructura moléculas del solvente de cristalización se le denominan solvatos, pero si el solvente es agua, se les conoce como hidratos. Es importante tener en cuenta que una forma cristalina no solvatada y solvatada son diferentes entre sí en términos de contenido químico y por lo tanto no son polimorfos entre sí. Sin embargo, es posible que los solvatos exhiban polimorfismo debido a las diferentes disposiciones de las moléculas constituyentes (Brittain, 2009); (Purohit & Venugopalan, 2009).

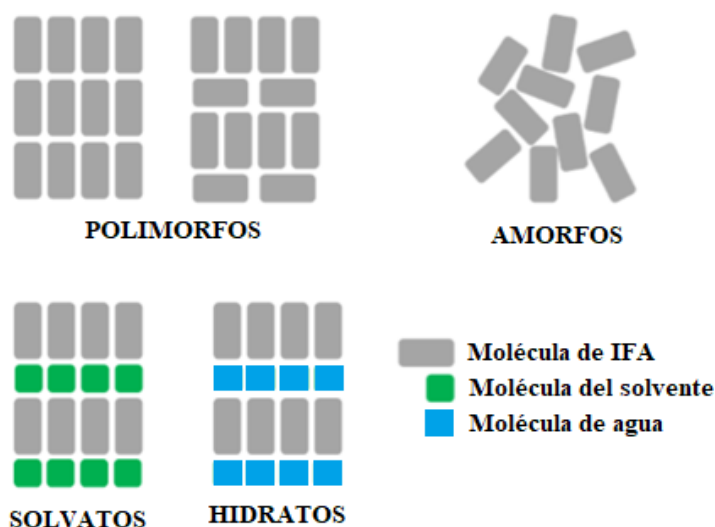


Figura 1. Representación de varias formas cristalinas

Es importante destacar que los solvatos o hidratos en los cuales el solvente se encuentra fuertemente enlazado con las moléculas que componen el cristal necesitan de condiciones fuertes para realizar procesos de desolvatación o deshidratación y como consecuencia de este tipo de procedimientos, se puede producir un colapso de la estructura cristalina cuando se elimina el solvente, formando nuevas estructuras que pueden ser cristalinas o amorfas. Por otro lado, si el solvente se encuentra débilmente enlazado la desolvatación o deshidratación puede no inducir la modificación o destrucción de la estructura cristalina (Martín & Molina, 2006).

**4.2.1 Transformaciones polimórficas.** En el estado sólido algunos compuestos presentan transformaciones cuando son expuestos a variaciones de temperatura, humedad, inclusión o desorción de un solvente orgánico de la red cristalina o un cambio en las condiciones de cristalización ya sea en el solvente, grado de la saturación, temperatura, entre otras; también por un simple cambio en la producción (tratamientos de molienda y secado), distribución o almacenaje

se puede conducir a la formación de diversos polimorfos con características fisicoquímicas diferentes (Anwar & Zahn, 2017).

Sin embargo, en el estado sólido un polimorfo puede transformarse en otro que sea más estable termodinámicamente en un intervalo de temperatura y presión específica, lo cual puede ocurrir con pequeñas variaciones en las condiciones ambientales de presión y temperatura durante la producción, distribución o almacenaje (Reddy, Swain, & Pedireddi, 2014). Por otro lado, se debe tener en cuenta la influencia de algunos excipientes que pueden catalizar o inhibir estas transformaciones.

El polimorfismo se encuentra presente en diferentes áreas de la química del estado sólido, entre las que se incluyen la mineralogía, la metalúrgica, la ciencia de los materiales, la industria alimentaria y la industria farmacéutica, debido a que afecta a muchos tipos diferentes de compuestos. Los diferentes polimorfos de un compuesto pueden tener diferentes propiedades físicas y químicas que traen como consecuencias ventajas o desventajas según el tipo de uso que se le quiera conferir (Brittain, 2009).

**4.2.2 Tipos de polimorfismo.** A nivel estructural los polimorfos se pueden dividir en polimorfos moleculares y polimorfos conformacionales. El primero está determinado por las fuerzas intermoleculares, como por ejemplo los enlaces de hidrógeno, los cuales pueden definir las formas cristalinas que adopta determinada molécula a partir de la formación de la celda unidad. El segundo tipo de polimorfos está relacionados con la existencia de diferentes conformeros o isómeros conformacionales de la misma molécula los cuales se pueden interconvertir a temperatura ambiente por la rotación de los enlaces simples dando lugar al rompimiento de una

interacción intramolecular menos fuerte para favorecer una más fuerte, logrando así que las moléculas cristalicen en diferentes posiciones

**4.2.3 Transiciones de fase polimórficas.** Es la interconversión entre formas polimórficas que se encuentran relacionadas en términos de estabilidad a determinadas condiciones de temperatura y presión, por esto se pueden clasificar en dos tipos dependiendo de si una forma se puede transformar reversiblemente en otra o no (Purohit & Venugopalan, 2009).

- **Sistema monotrópico:** Las transiciones entre los polimorfos de una forma metaestable a una forma estable que ocurren en este tipo de sistemas no son reversibles por debajo del punto de fusión, es decir, no están sujetas a una temperatura de transición, pero están controladas por factores cinéticos.
- **Sistema enantiotrópico:** La transiciones entre polimorfos son reversibles únicamente a la temperatura de transición definida debajo del punto de fusión (Anwar & Zahn, 2017).

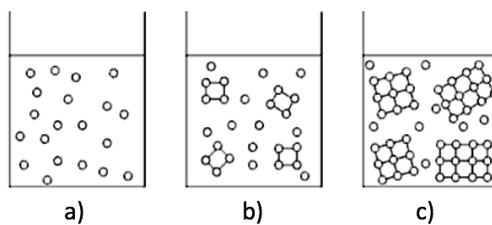
### 4.3 Cristalización

En la industria farmacéutica es muy importante el uso de una variedad de métodos de cristalización para obtener nuevos polimorfos o compuestos de alta pureza. Además, estos métodos permiten el diseño de nuevas formas farmacéuticas en estado sólido a partir formas farmacéuticas en estado líquido. Por esto, este método es ampliamente utilizado para purificar y/o separar un soluto a partir de una fase homogénea líquida y permitir la formación de un sólido cristalino.

La cristalización es un proceso en el que se realiza un cambio de fase, el cual implica el paso de un sistema de desequilibrio a un estado de equilibrio por medio de la formación de pequeños

cristales, los cuales se forman debido al aumento de la concentración de la muestra por encima de los valores de solubilidad propios del disolvente (sobresaturación); esto induce a la disminución del desorden dentro en el sistema; a este proceso se le conoce como nucleación. Seguidamente se produce la adición de nuevas moléculas al núcleo impulsor, fenómeno conocido como crecimiento. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los métodos de cristalización se ven afectados por factores como naturaleza y cantidad de disolvente, concentración, cambios de temperatura, *pH*, impurezas entre otras, por esto son susceptibles a la variabilidad de su repetitividad (Freixedas, Bauzá, & Söhnel, 2000).

**4.3.1 Nucleación.** La nucleación es un proceso en el cual se produce la formación de una nueva fase en un sistema homogéneo y en un punto determinado del sistema, ocasionado por la sobresaturación de éste bajo ciertas condiciones. La nueva fase corresponde a la formación de un pequeño cristal que se encuentra rodeado del disolvente, el cual crecerá y formará el cristal. Durante este proceso se formarán muchos núcleos, pero solo los más estables termodinámicamente serán los que crecerán.



*Figura 2.* Proceso de nucleación a) Solución sobresaturada, b) Formación simultánea de varios núcleos, c) Crecimiento de los núcleos más estables.

**4.3.1.1 Mecanismos de nucleación.** Los mecanismos de nucleación a los que es sometida una muestra según las condiciones en las que se encuentra el medio están dadas por dos tipos de mecanismos, los cuales se muestran en la Figura 3.

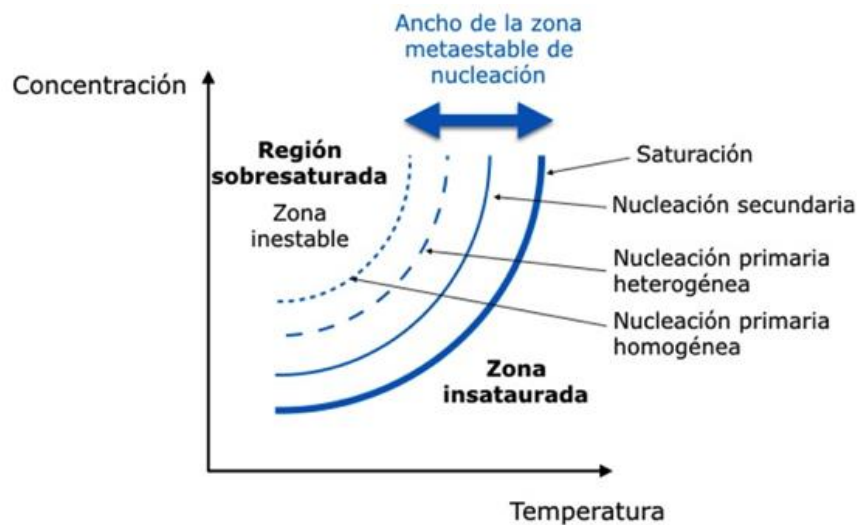


Figura 3. Proceso de la nucleación. Fuente: Condorchem envitech <https://www.aguasresiduales.info/revista/blog/cristalizacion-de-sal-y-agua-tratamiento-de-efluentes>

#### a) Nucleación primaria

La nucleación primaria se origina cuando se produce la formación de agregados moleculares de dos formas

- **Nucleación homogénea:** este tipo de nucleación se realiza en ausencia de una interfaz sólida, es decir, libre de partículas en estado sólido. Cuando los agregados moleculares o clúster se forman a través de un mecanismo de adición hasta que superan el tamaño crítico, es decir, superan la barrera energética, se convierten en núcleos, mientras que los demás se redisuelven.

- **Nucleación heterogénea:** La nucleación heterogénea se presenta cuando el núcleo se forma en una disolución que presenta una interface extraña, es decir, contiene impurezas o partículas diferentes a fase sólida que se forma; estos núcleos se forman a partir este tipo de partículas a los que se le conoce como heteronúcleos.

#### **b) Nucleación secundaria**

La nucleación secundaria se produce en una disolución sobresaturada con una interfaz sólida de efecto catalizador, la cual está dada por la presencia de pequeños cristales del mismo tipo de los que se quieren formar, con propósito de inducir la nucleación. A este tipo de cristales se les conoce como cristales semilla. Este tipo de nucleación generalmente tiene lugar a menores sobresaturaciones que la nucleación homogénea.

**4.3.2 Crecimiento del cristal.** El crecimiento del cristal se produce cuando simultáneamente se incorporan nuevas moléculas del soluto, a partir de la disolución sobresaturada, a un núcleo estable ya formado hasta llegar a un tamaño visible. El núcleo actúa como un sitio activo para las moléculas que se unirán al cristal, de modo que el crecimiento se da en forma de capas sucesivas alrededor del él (Myerson, 2002).

#### **4.4 Técnicas de Cristalización**

En la industria farmacéutica se utiliza ampliamente una variedad de métodos de cristalización, los cuales buscan formar cristales de alta pureza de nuevas o existentes formas farmacéuticas. Entre los métodos más frecuentemente utilizados se encuentran:

**4.4.1 Evaporación Lenta del Solvente.** Es un método en el cual el compuesto a cristalizar debe estar solubilizado en un disolvente con el que presente afinidad. La solución final debe estar saturada, seguidamente se deja evaporar el solvente en condiciones ambientales hasta obtener el nivel de saturación óptimo para que produzca la cristalización. En caso de solventes con alta presión de vapor la cristalización se realiza en condiciones de baja temperatura.

**4.4.2 Mezcla Solvente/Antisolvente.** Es una técnica de cristalización que involucra el uso de dos tipos de solventes afines y miscibles entre sí, pero uno de los dos solventes (solvente B) no disuelve al compuesto. Esta mezcla de solventes promueve la cristalización debido a que el solvente en el cual se solubiliza el compuesto (solvente A) debe tener una presión de vapor mayor que el solvente B, de manera que, al evaporarse lentamente disminuye la solubilidad del compuesto. El compuesto a cristalizar se disuelve en el solvente A en una proporción definida y se adiciona una pequeña proporción del solvente B en el cual el compuesto es insoluble. Seguidamente se deja en condiciones ambientales para que se produzca una difusión lenta del solvente.

**4.4.3 Cristalización por difusión de vapor.** La cristalización por difusión de vapor es un método basado en la solubilidad de los compuestos en determinados disolventes. Por esto, para cristalizar una sustancia, se debe disolver el compuesto en un solvente en el cual éste sea altamente soluble. Esta solución es expuesta al vapor de un solvente en el que el compuesto sea insoluble (antisolvente) pero que a su vez sea afin con el solvente en una atmósfera cerrada. El antisolvente se difunde en la solución permitiendo la precipitación del compuesto. Debido a que el proceso es muy lento puede llevar, en ocasiones, varios días o semanas dependiendo de los solventes

utilizados. El proceso es muy útil para la formación de varios cristales de buena calidad, pero de tamaño reducido.

**4.4.4 Cristalización en gel.** Es un método utilizado para obtener cristales de alta pureza de un producto que tenga baja solubilidad en agua o que sea soluble en agua, pero insoluble en otros solventes o que presenten cambios de solubilidad con respecto a la temperatura o el pH, por lo tanto, es usada para compuestos difíciles de cristalizar por métodos más sencillos. La cristalización se lleva a cabo en un sistema de dos fases, una fase sólida inerte donde tiene lugar la nucleación (gel) y una fase líquida (disolvente). El compuesto se encuentra disuelto en la fase en la cual este sea soluble; la cristalización se produce por la difusión lenta de la fase líquida en el gel a una velocidad lo suficientemente lenta para que se formen los cristales.

#### 4.5 Enlaces de hidrógeno

Los enlaces de hidrógeno son las interacciones débiles más importantes que se encuentran en los estados propios de la materia. Son los encargados de definir la forma del empaquetamiento de las moléculas, ya sean orgánicas y organometálicas, para formar cristales, así como también modifican la reactividad de una molécula.

Un enlace de hidrógeno es una interacción electrostática intermolecular tipo *dipolo – dipolo* que se produce entre un átomo de alta densidad electrónica (*C, N, O, F, P, S, Cl, Se, Br e I*) o un enlace tipo  $\pi$  de un sistema conjugado (donador de electrones) con un hidrógeno deficiente en electrones (aceptor de electrones), es decir, que contenga una densidad de carga positiva sobre él, debido a que experimenta un campo electrostático generado por un átomo fuertemente

electronegativo cercano a él o al cual se encuentra unido por medio de un enlace covalente. Estos átomos con electronegatividad mayor que el hidrógeno tienen la capacidad de formar un enlace de hidrógeno sólo si tiene un par de electrones no compartidos que puedan hacer parte del enlace de hidrógeno. Por lo tanto, este tipo de enlace se puede caracterizar como un átomo de hidrógeno compartido por dos pares de electrones solitarios (Gilli & Gilli, 2009).

Los enlaces de hidrógeno son enlaces generalmente más fuertes que las fuerzas de Van der Waals, pero más débiles que los enlaces covalentes o atracciones iónicas. Sin embargo, la fortaleza de dichos enlaces también se ve influenciada por factores geométricos como la longitud del enlace, en la cual, la distancia entre el átomo de  $H$  y el aceptor debe ser más corta que la suma de sus radios de Van der Waals. Por otro lado, el ángulo  $\theta$  formado entre  $D - H \cdots A$ , centrado en el átomo  $H$  como se muestra en la Figura 4, determina la fuerza del enlace, siendo el intervalo de  $120^\circ$  y  $180^\circ$  en el que el enlace de hidrógeno se hace más fuerte. Esto sugiere que los enlaces de hidrógeno más fuertes deben ser totalmente simétricos desde un punto de vista geométrico, es decir, lineales y centrados en protones (Gilli & Gilli, 2009).

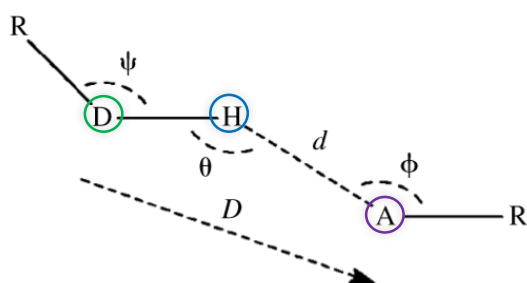


Figura 4. Representación de los parámetros geométricos para la formación de un enlace de hidrógeno

**4.5.1 Clasificación de los enlaces de hidrógeno.** Los enlaces de hidrógeno pueden clasificarse según el tipo de átomos que conforman el enlace, la fortaleza del enlace y según la convencionalidad de los donores o aceptores.

La primera clasificación de los enlaces de hidrógeno está determinada por los átomos de las moléculas que conforman el enlace, es decir, si el núcleo del donador y el aceptor son diferentes se denomina heteronucleares, mientras que si son del mismo tipo de átomos se le conoce como homonucleares (Gilli & Gilli, 2009). Esta última clasificación se divide en heteromoleculares y homomoleculares; el primero de ellos se caracteriza porque los sustituyentes que rodean al átomo de H son diferentes, por el contrario, en el segundo los átomos que rodean a núcleo en común son iguales, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1.

*Clasificación de los enlaces de hidrógeno*

Heteronuclear	Homonuclear	
$X - H \cdots Y$	$X - H \cdots X$	
	Homomolecular	Heteromolecular
	$R_1 - X - H \cdots X - R_1$	$R_1 - X - H \cdots X - R_2$

La segunda forma de clasificar los enlaces de hidrógeno involucra la fortaleza de los enlaces, la cual se puede determinar teniendo en cuenta los criterios energéticos y geométricos, como se muestra a continuación (Desiraju & Steiner, 1999).

Tabla 2.

*Clasificación de los enlaces de hidrógeno muy fuertes, fuertes y débiles según Desiraju y Steiner*

	Muy fuertes	Fuertes	Débiles
Energía de enlace ( <i>Kcal/mol</i> )	15 – 40	4 – 15	< 4
Desplazamiento relativo IR	> 25%	5 – 25%	< 5%
Longitudes de enlace	$H \cdots B \approx A - H$	$H \cdots B > A - H$	$H \cdots B \gg A - H$
Alargamiento ( $A - H$ ) (Å)	0.05 – 0.2	0.01 – 0.05	< 0.01
$D(A \cdots B)$ (Å)	2.2 – 2.5	2.5 – 3.2	3.0 – 4.0
$d(H \cdots B)$ (Å)	1.2 – 1.5	1.5 – 2.2	2.0 – 3.0
$\theta(A - H \cdots B)$ (°)	175 – 180	130 – 180	90 – 180
Empaquetamiento cristalino	Fuerte	Distintivo	Variable

Finalmente, otra forma de clasificar la interacción de los enlaces de hidrógeno es a partir de la llamada convencionalidad de los grupos donadores y aceptores, los cuales se definen a continuación:

**4.5.2 Enlaces de hidrógeno convencionales.** Son enlaces formados por elementos con los valores más altos de electronegatividad como por ejemplo N, O, F, Cl y Br que actúan como donantes o aceptores lo suficientemente fuertes dentro del enlace. Están conformados por una amplia gama de enlaces de hidrógeno que involucran factores energéticos y geométricos variados, es decir, va desde enlaces fuertes, cortos, lineales y centrados hasta enlaces débiles, largos, doblados. Estos enlaces se dividen en:

- **Enlaces de hidrógeno ordinarios:** son enlaces generalmente débiles debido a que no se encuentran fortalecidos con algún otro sistema de carga como por ejemplo enlaces  $\pi$  o  $\sigma$ .
- **Enlace de hidrógeno doble asistido por carga:** son enlaces fuertes que se encuentran asociados con moléculas donadoras yceptoras que poseen valores similares de  $pK_a$ .

- **Enlace de hidrógeno asistido por carga negativa:** son enlaces fuertes que contienen una carga residual negativa sobre alguno de los átomos que conforman el enlace. Corresponden a la fórmula general  $[X \cdots H \cdots X]^-$  donde  $X$  es un átomo electronegativo.
- **Enlace de hidrógeno asistido por carga positiva:** son considerados enlaces fuertes que contienen una carga residual positiva sobre alguno de los átomos que conforman el enlace. Corresponden a la fórmula general  $[X \cdots H \cdots X]^+$  donde  $X$  es un átomo electronegativo.
- **Enlace de hidrógeno asistido por resonancia:** son enlaces fuertes debido a que se encuentran soportados por sistemas resonantes o enlaces cooperativos tipo  $\pi$  en el cual los átomos donadores y aceptores se encuentran en la misma molécula ubicados en dos extremos de esta. Pueden formar sistemas cíclicos intramoleculares

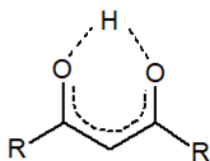


Figura 5. Sistema cíclico intramolecular

- **Enlace de hidrógeno asistido por polarización:** son enlaces moderadamente fuertes que involucran cadenas de grupos de hidroxilos. Tienen la forma  $\cdots O - H \cdots O - H$ . (Artioli *et al.*, 2002).

**4.5.3 Enlaces de hidrógeno no convencionales.** Los enlaces no convencionales se caracterizan principalmente por ser de menor fuerza que los enlaces convencionales debido a la baja electronegatividad del donante o aceptor o ambos. Constituyen una amplia gama de enlaces

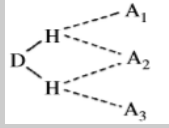
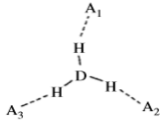
que involucran átomos de baja electronegatividad como  $C - H \cdots X$  y  $C - H \cdots \pi$ , donde  $X$  es un átomo electronegativo y  $\pi$  representa un sistema aromático.

**4.5.4 Tipos de enlaces de hidrógeno.** Las interacciones de largo alcance como los enlaces de hidrógeno, pueden enlazarse a dos o más aceptores al mismo tiempo, los cuales se clasifican según el número de centros a los que se encuentre unido el átomo de hidrógeno. Cuando se produce la formación de un enlace de hidrógeno que involucra la unión de un protón con dos moléculasceptoras se utiliza el término *bifurcado*, si se produce con tres moléculasceptoras entonces será *trifurcado* y así continuamente como se muestra en la Tabla 3. Los términos *bifurcado*, *bidentado*, *tridentado*, etc. pueden ser aplicados tanto al donador como al aceptor. Los sistemas de tres centros tienden a formar geometrías planas, mientras que los sistemas monodentados forman sistemas lineales con ángulos cercanos o iguales a los  $180^\circ$  (Gilli & Gilli, 2009).

Tabla 3.

*Tipos de enlace de hidrógeno*

No. Centros de H	No. Centros del aceptor	Tipo	
1	1	Bicentros o monodentados	
	2	Bifurcados o bidentado	
	3	Tridentado	
2	1	Doble o quelado	

No. Centros de H	No. Centros del aceptor	Tipo	
	3	Doble y tricentro	
3	3	Triple	

**4.5.5 Otras interacciones.** Existe una variedad de interacciones intermoleculares e intramoleculares que afectan la forma en la que se empaquetan las moléculas, debido a la presencia de moléculas polares que poseen dipolos permanentes estableciendo interacciones tipo *dipolo – dipolo*. Por otra parte, las moléculas no polares generan una polarización instantánea debido a la nube electrónica que se encuentra alrededor de los átomos (Gilli & Gilli, 2009).

- **Interacciones tipo  $X - H \cdots \pi$  (Anillo aromático):** generalmente este tipo de interacciones son más débiles que los enlaces de hidrógeno convencionales, se pueden dar de forma intramolecular o intermolecular, por esta razón influyen en el empaquetamiento de los cristales. Involucra la interacción directa entre un átomo de hidrógeno con el centroide de la nube electrónica  $\pi$  de un anillo aromático ( $\pi_c$ ) (Gilli & Gilli, 2009). La interacción se puede dar teniendo en cuenta las condiciones geométricas mostradas en la Figura 6.

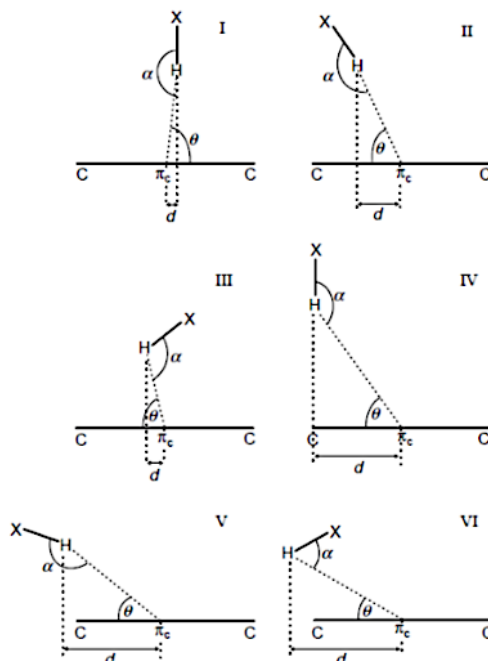


Figura 6. Parámetros geométricos en los que se produce la interacción tipo  $X - H \cdots \pi$

- **Interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$  o interacciones aromáticas:** este tipo de interacciones poseen características similares a los enlaces de hidrógeno tradicionales, pero se diferencian en la fortaleza de la interacción, puesto que las interacciones aromáticas son más débiles debido a la influencia de los grupos sustituyentes de los anillos aromáticos involucrados en cuanto a factores geométricos, impedimento estérico, y enlaces de hidrógeno establecidos entre sus sustituyentes. Por otra parte, el contacto intermolecular que se produce entre las dos nubes electrónicas es más grande que el producido por las fuerzas de Van der Waals (Gilli & Gilli, 2009).

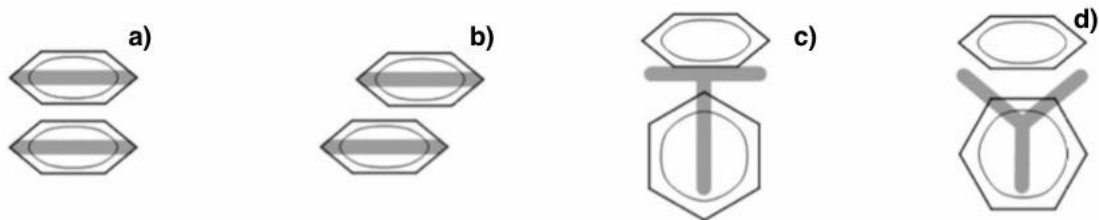


Figura 7. Configuraciones de las interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$  a) Sándwich o paralela cara-cara, b) Desplazamiento paralelo, c) Forma T perpendicular, d) Borde de cara Y.

Teniendo en cuenta las formas de empaquetamiento de la Figura 7, las cuales, están dadas por las interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$ , se puede establecer que, debido a que las interacciones electrostáticas más favorables se presentan cuando las moléculas se encuentran en una geometría paralela cara - cara (a) y en la forma perpendicular T o Y (c y d), induce al empaquetamiento en forma de *placas* y *espina de bacalao* respectivamente, además de que la geometría paralela cara - cara proporciona el máximo contacto, es decir, se produce el máximo solapamiento orbital mientras que la forma geométrica b) desplazada paralelamente induce la formación de un empaquetamiento tipo *paralelo-espina de bacalao* (Headen *et al.*, 2010).

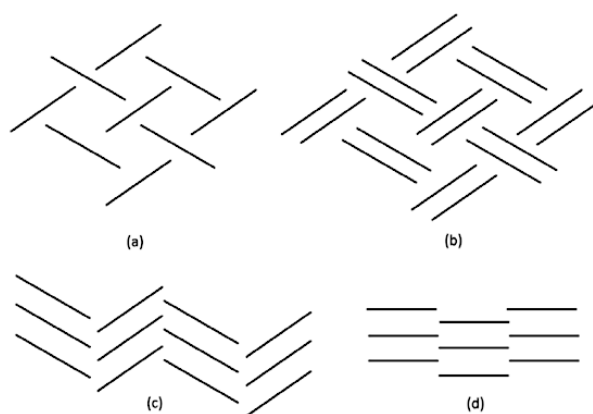


Figura 8. Formas de empaquetamiento de las interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$ . (a) espina de bacalao, (b) paralelo-espina de bacalao, (c) otra forma de espina de bacalao o subunidad estructural  $\gamma$  y (d) paralelo cara-cara o subunidad estructural  $\beta$ .

#### 4.6 Tetraciclinas

En vista de la necesidad de antibióticos más potentes y efectivos para el tratamiento de enfermedades infecciosas se desarrollaron las primeras tetraciclinas obtenidas a partir de microorganismos de tipo *Streptomyces*, una bacteria amarilla dorada que se encuentra en el suelo, la cual tiene la capacidad de producir metabolitos secundarios bioactivos como anti-fúngicos, antivirales, antitumorales, antihipertensivos, inmunosupresores y esencialmente antibióticos (De Lima, Reis, Kassawara, De Azevedo & De Araújo, 2012).

La familia de las tetraciclinas se compone generalmente de antibióticos bacteriostáticos, es decir, no provocan la muerte del organismo patógeno, pero a altas concentraciones en el organismo su acción puede llegar a ser bactericida causando la muerte del patógeno, además de inhibir la síntesis de proteínas en las células de los mamíferos (Rodríguez *et al.*, 1998).

Las tetraciclinas pueden ser clasificadas según el perfil farmacocinético, el orden de descubrimiento o la forma de obtención, ya sea por fermentación de las especies de *Streptomyces aureofaciens* o por modificaciones en el esqueleto carbonado, de la siguiente forma:

Tabla 4.

*Clasificación de la familia de las tetraciclinas.*

Compuesto	Año de descubrimiento	Forma de obtención	Clasificación	Perfil farmacocinético
Clorotetraciclina	1948	Biosíntesis	Primera generación (1948-1963)	De vida media corta (6-8h)
Oxitetraciclina	1950			
Tetraciclina	1953			
Demeclociclina	1957			De vida media intermedia (12-14h)
Metaciclina	1961			

Doxiciclina	1966	Derivados	Segunda	De vida media larga
Minociclina	1972	semi-sintéticos	generación	(16-18h)
Limeciclina	1976		(1965-1972)	
Glicilciclinas (Tigeciclina)	1993	Síntesis total (Modificación de la posición 9 del anillo tetracíclico)	Tercera generación (1993)	Fase experimental

La actividad antimicrobiana de las tetraciclinas es originada por la inhibición de la síntesis proteica de las bacterias, la cual se desarrolla en el proceso de traducción del *ARNm* en el ribosoma del citoplasma bacteriano mediante tres procesos los cuales son iniciación, elongación y terminación. El ribosoma contiene dos subunidades principales 30S y 50S encargadas del proceso de transducción, por lo tanto, son el objetivo principal de los antibióticos. Las tetraciclinas ejercen su acción mediante la inhibición de la síntesis proteica de bacterias Gram positivas y Gram negativas debido a uniones selectivas de tipo reversible a la subunidad ribosomal 30S, boqueando estéricamente la unión del *aminoacil – RNAt* al sitio aceptor en el complejo *ribosoma – RNAm*. Por consiguiente, no se produce la adición de residuos aminoacídicos a la cadena peptídica que se encuentra en formación o crecimiento. Estos antibióticos se unen exclusivamente al ribosoma de las bacterias y no al de las células eucariotas (Fuoco, 2012; Rodríguez *et al.*, 1998).

Para que la interacción del ribosoma con los antibióticos de tetraciclinas se lleve a cabo es necesario que las tetraciclinas atraviesen tanto la membrana externa como la membrana interna de las células bacterianas. El paso a través de la membrana externa se produce a través de dos mecanismos, el primero abarca los antibióticos menos liposolubles (tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina, demeclociclina, limeciclina, metaciclina y rolitetraciclina) los cuales se difunden

a través de los poros hidrofílicos de la membrana. El segundo mecanismo incluye las tetraciclinas más liposolubles (doxiciclina y minociclina), propiedad que le permite atravesar la membrana por difusión simple. Por otro lado, el paso a través de la membrana interna para cualquier tipo de tetraciclina se produce a través de un transportador energético (Vicente & Pérez-Trallero, 2010);(Chopra & Roberts, 2001).

En cuanto a la estructura química de las tetraciclinas se puede decir que son compuestos anfóteros que contienen un núcleo central de octahidronaftaceno formado por cuatro anillos de seis miembros carbocíclicos fusionados (anillos designados A, B, C y D) (Figura 9) a los que se une una variedad de grupos funcionales; el intercambio o adición de otro tipo de grupos funcionales al núcleo produce derivados semisintéticos con diferentes grados de actividad antibacteriana, absorción gastrointestinal y unión a proteínas plasmáticas, además forman complejos quelantes con diferentes cationes haciéndolas insolubles en agua y como consecuencia dificultando la absorción.

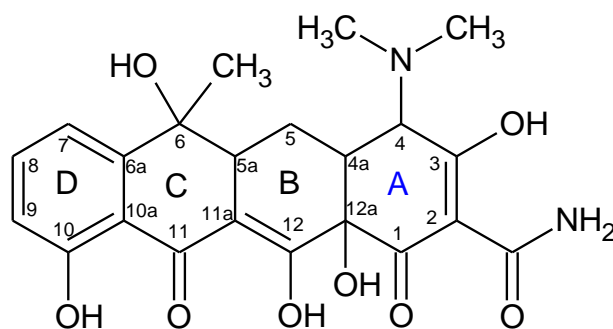


Figura 9. Estructura química de la tetraciclina

La actividad bacteriana se ve afectada a nivel estructural por modificaciones en el sistema fusionado de los cuatro anillos del hidronaftaceno, configuraciones estereoquímicas tipo  $\alpha$  en las posiciones 4, 4a, y 12a (anillo A y unión del anillo AB) del núcleo y finalmente por el sistema

tautomérico *ceto – enol*. Por otro lado, las tetraciclinas contienen tres sitios principales en los que pueden ocurrir la quelación, los cuales son: el sistema de  $\beta$  –dicetona en las posiciones 11 y 12 de los anillos C y B, los grupos enol en C(1) y C(3) y la carboxamida en la posición 2 del anillo A (Chopra & Roberts, 2001).

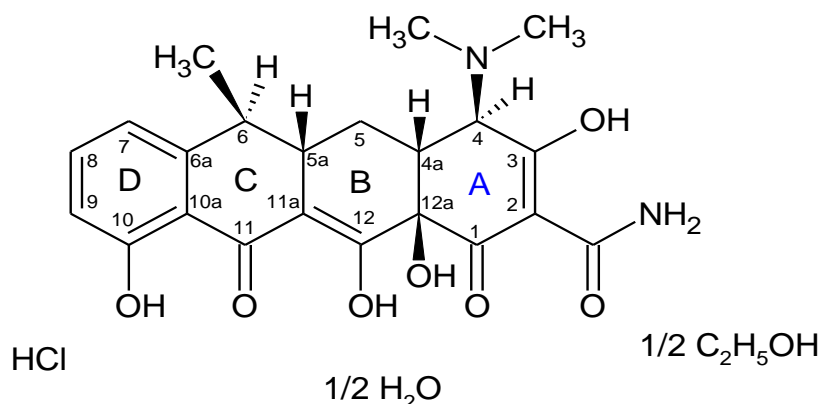
Por lo general las tetraciclinas son absorbidas en el organismo por el tracto gastrointestinal, estómago, en intestino delgado superior, por esto depende de la ingesta durante el consumo de los antibióticos. La absorción de las tetraciclinas aumenta cuando se administra en ayunas o dos horas después de la ingesta de alimentos, pero se ve drásticamente disminuida en presencia de algunos medicamentos y alimentos como por ejemplo lácteos, huevos, alimentos ricos en cationes divalentes como hierro y calcio, entre otros, bicarbonato de sodio, complejos quelantes o cualquier sustancia que aumenten el *pH* del estómago. Sin embargo, la doxiciclina no depende de la ingesta de alimentos proporcionando mayor comodidad para su consumo.

Los antibióticos de tetraciclina presentan un metabolismo hepático, seguidamente son excretados en su mayoría a través de la bilis y la orina. La mayoría de las tetraciclinas, a excepción de la doxiciclina, se acumulan causando insuficiencia renal, por consiguiente, deben evitarse o administrarse a dosis pequeñas.

**4.6.1 Hiclato de doxiciclina.** El hiclato de doxiciclina es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro, derivado sintético de la oxitetraciclina, actúa en la inhibición de la síntesis de proteínas y bloquea la unión del RNAt al complejo ribosómico, por lo tanto, previene el crecimiento de las bacterias Gram negativas (-) y Gram positivas (+).

Es usado como antibiótico para el tratamiento de infecciones respiratorias y de vías urinarias, para tratar la enfermedad de Lyme, ántrax, acné y como aditivo alimentario para promover el

desarrollo en los animales. Las formulaciones del hiclato de doxiciclina se venden comercialmente bajo una variedad de nombres entre los que se encuentran DOXY®, VIBRAMYCIN®, MONODOX®, MICRODOX®, PERIOSTAT®, VIBRATABS®, ORACEA®, VIDROX®, ADOXA®, DOXYHEXAL®, DOXYLIN®, DOXORAL®, DOXY-1® y ATRIDOX®. La estructura molecular se encuentra a continuación (Patent No. US 9,511,031 B2, 2016)



*Figura 10.* Estructura química del hiclato de doxiciclina [4S(4aR,5S,5aR,6R,12aS)]-4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11, 12a-octahidro-3,5,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxonaftaceno-2-carboxamida; etanol; hidrato; hidrocloreuro.

El hiclato de doxiciclina es una sal de ácido clorhídrico solvatada con agua y etanol en relación 1:2; se encuentra en forma de un polvo cristalino amarillo e higroscópico, soluble en agua, soluciones de hidróxidos y carbonatos alcalinos; posee tres valores de  $pK_a$  diferentes en la molécula como resultado de los diferentes grupos sustituyentes; el primero ubicado en el C(4) sobre el grupo funcional dimetilamina ( $pK_a = 9,15$ ), el segundo se encuentra en el sistema dicarbonílico-enólico ubicado en el C(1) – C(2) – C(3) ( $pK_a = 3,02$ ) y el tercero involucra los grupos fenol y enol ubicados en C(10) y en C(11) – C(11a) – C(12) ( $pK_a = 7,97$ ) (Kogawa & Salgado, 2012).

Por otro lado, el hiclato de doxiciclina cristaliza en dos tautómeros tipo *ceto* – *enol* asociados al anillo de oxociclohexeno que involucran al grupo amida del anillo A. En el primer tautómero (Figura 15) el átomo de hidrógeno del grupo amida se encuentra junto al carbonilo C(1) mientras que para el segundo tautómero el átomo de nitrógeno de la amida está orientado al lado del grupo carbonilo C(3). Debido a que la estructura de la molécula de doxiciclina es conformacionalmente robusta, solo se producen pequeñas distorsiones debido a enlaces de hidrógeno intermoleculares que permiten adoptar una geometría diferente según el estado de protonación (Prewo & Stezowski, 1977; John J. Stezowski, 1977). Además, no hay reportes en las bases de datos de que se presente ningún tipo de polimorfismo de la molécula.

## 5. Técnicas de caracterización

### 5.1 Análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido

La calorimetría diferencial de barrido mide la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia cuando es sometida a temperatura constante, durante un tiempo determinado, o cuando es calentada o enfriada a velocidad constante, en un determinado intervalo de temperaturas (Suriñach, Baro, Bordas, Clavaguera & Clavaguera-Mora, 1992). Es usada para determinar la presencia de polimorfismo, transiciones de fases y la pureza relativa de los compuestos; también permite comprobar la presencia de disolvente en las formas polimórficas y entalpías de solvatación (Goñi, 1987).

En el análisis termogravimétrico se determina la pérdida de peso del compuesto en función de la temperatura a una velocidad de calentamiento controlada, por lo tanto, se obtiene información acerca de la estabilidad térmica, composición de la muestra inicial, y de los compuestos intermedios que puedan formarse, por esto es usada para procesos de desolvatación y descomposición de compuestos (Wunderlich, 2001);(Brittain, 1995).

## **5.2 Espectroscopia infrarroja**

La espectroscopia infrarroja es una técnica analítica que permite determinar los grupos funcionales, vibraciones, alargamientos, estiramientos y tensión de las especies moleculares debido a los cambios energéticos producidos por las transiciones vibracionales y rotacionales de las moléculas (Stuart, 2004); esta información permite deducir la estructura del compuesto, en particular sobre las uniones intermoleculares por puentes de hidrógeno y dipolos, por esto, es ampliamente utilizada en el estudio de especies hidratadas, y en algunos casos sirve para determinar el tipo de polimorfismo existente en un fármaco (Nakamoto, 2009).

## **5.3 Difracción de rayos X**

Los rayos X fueron descubiertos en el año de 1895 por el físico alemán Röntgen y nombrado así porque se desconocía su naturaleza. La difracción de rayos X es una de las herramientas más utilizadas en la caracterización y análisis de la estructura cristalina de los materiales desde hace más de 90 años, que permite un conocimiento detallado de la disposición tridimensional de los átomos dentro del cristal, información que permite determinar características estructurales como

ángulos de torsión de los enlaces, distancias interatómicas, planos atómicos y moleculares entre otros y propiedades tanto físicas como químicas de los materiales. Actualmente se dispone de una amplia variedad de difractómetros que permiten el estudio de sólidos monocristalinos y policristalinos (Pecharsky & Zavalij, 2005);(R. Dinnebier & Billinge, 2008).

Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética de la misma naturaleza que la luz con longitud de onda corta en un intervalo de  $0,1$  a  $100 \times 10^{-10}m$ , la cual, es de magnitud muy parecida al espaciado interplanar de los sólidos. Se producen cuando una partícula cargada eléctricamente con una alta energía cinética golpea un sólido metálico transformando la energía cinética en radiación debido a que, cuando los electrones penetran en el metal se desaceleran produciendo radiación. Los rayos X emitidos están constituidos por una mezcla de diferentes longitudes de onda y variaciones en la intensidad, las cuales, dependen de la naturaleza del metal y de la energía de los electrones. Las longitudes de onda generan picos agudos de alta intensidad como consecuencia de la interacción entre los electrones incidentes con los electrones de las capas internas de los átomos.

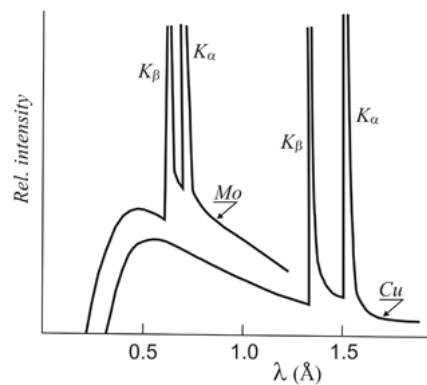


Figura 11. Líneas características  $K_{\alpha}$  y  $K_{\beta}$  generadas por el molibdeno y el cobre.

A estos picos se les denomina líneas características y son producidas por una colisión y la expulsión de un electrón de los orbitales más internos, específicamente los pertenecientes a la capa  $K$ . Consecuentemente se produce un efecto de cascada donde otro electrón de un orbital mayor de la capa  $L$  desciende a la posición vacante de la capa  $K$ . Este proceso involucra la liberación de energía en forma de un fotón de rayos X que corresponde a las llamadas líneas  $K_{\alpha}$  y  $K_{\beta}$  (Pecharsky & Zavalij, 2005).

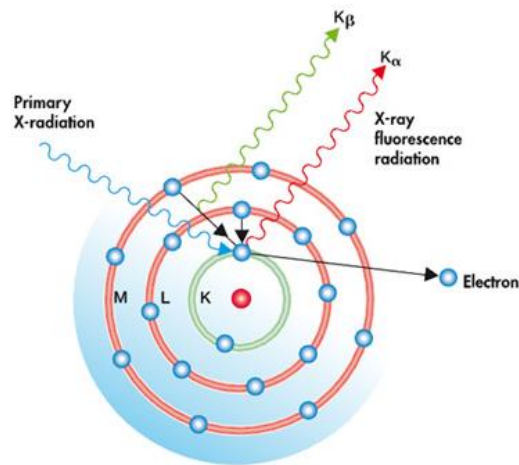


Figura 12. Generación de los rayos X

Por otra parte, cuando un haz de rayos X incide sobre un cristal, este choca con planos de átomos paralelos (llamados índices de Miller, descritos por las letras  $h k l$ ) de las moléculas que conforman la red cristalina haciendo que los electrones oscilen alrededor del núcleo con una frecuencia idéntica a la radiación incidente (Pecharsky & Zavalij, 2005).

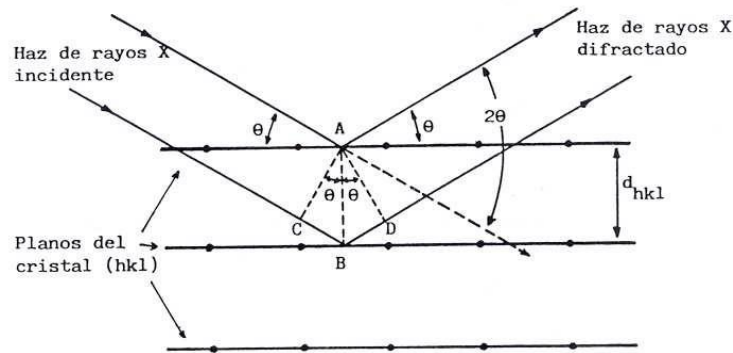


Figura 13. Interacción de los rayos X con los planos de un cristal. **Fuente:** Albella, J.M.; Cintas, A.M.; Miranda, T.; Serratosa, J.M.; Introducción a la ciencia de materiales: técnicas de preparación y caracterización. C.S.I.C., 1993, pp 790.

Las ondas electromagnéticas dispersadas por átomos distintos interfieren entre sí de forma constructiva y destructiva en una dirección determinada (Figura 13). Si la diferencia entre las trayectorias de los rayos X es un número entero de veces la longitud de onda de los rayos X utilizados  $n\lambda$  y un determinado ángulo  $\theta$  con la superficie de un conjunto de planos ( $h k l$ ) que difractan se obtendrá una intensidad difractada máxima que responde a la condición geométrica para las interferencias constructivas por la ecuación (1) de ley de Bragg

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

Donde  $n = 0, 1, 2, 3, \dots$

$\lambda =$  longitud de onda de la radiación incidente

$d_{hkl} =$  distancia entre la familia de planos  $h k l$

$\theta =$  ángulo de Bragg

Debido a que en un cristal se presentan diferentes familias de planos, espaciados y direcciones de difracción, confiere una característica propia a cada especie cristalina; por lo tanto, el perfil de difracción originado a partir de la difracción de rayos X es una huella dactilar de cada una de las sustancias cristalinas (Guinebretière, 2007; Pecharsky & Zavalij, 2005).

La información que se obtiene a partir de la difracción de rayos X está relacionada primeramente con la geometría de las direcciones de difracción, las cuales proporcionan el sistema cristalino, grupo espacial y los parámetros de la celda unidad, las cuales depende únicamente del tamaño y forma de la celda unidad del cristal. El segundo aspecto está dado por las intensidades de los rayos X difractados, que se encuentran relacionadas con la naturaleza de los átomos y las posiciones que estos ocupan en la red cristalina, describiendo la estructura tridimensional de un material ( Dinnebier & Billinge, 2008).

**5.3.1 Difracción de rayos X de muestras policristalinas.** La difracción de rayos X de muestras policristalinas es una técnica experimental, fundamental para la determinación de la estructura cristalina de nuevos materiales de los que no es posible obtener monocristales, sino que se encuentran en forma de polvos cristalinos. Por esto se pueden estudiar una amplia gama de sustancias como minerales, metales, aleaciones y productos orgánicos sintéticos. Además, es una técnica no destructiva que permite conocer la estructura interna de un cristal y establecer los parámetros estructurales. El análisis de las muestras policristalinas se realiza a partir del patrón de polvo seguido de una serie de etapas más complejas y el uso de programas especializados para tal fin, en comparación con un análisis de un monocristal (Guinebretière, 2007).

La difracción de rayos X fue introducida por primera vez por P. Debye, P. Scherrer y A.W. Hull, en la cual se incide un haz monocromático de rayos X sobre un agregado de microcristales orientados al azar, por esto los haces difractados forman un cono de difracción con una apertura angular de  $2\theta$ , el cual es concéntrico con el haz incidente, siguiendo la ley de Bragg (Guinebretière, 2007).

La identificación de la muestra se realiza por medio de la búsqueda-superposición (*search-match*) del patrón obtenido con un gran número de patrones que se encuentren reportados en las Bases de datos del ICDD (*International Center For Diffraction Data*). Por lo tanto, la identidad de la muestra se determinará según la coincidencia que se encuentre, en los valores reportados en la base de datos con respecto a las posiciones e intensidades relativas de los máximos registrados de patrón experimental.

Para el estudio de sustancias que no se encuentran reportadas en ninguna de las bases de datos se realiza un proceso de resolución estructural a partir del patrón de polvo y una serie de métodos computacionales. Estas etapas se describen a continuación:

**5.3.2 Indexado de los patrones de polvo.** Una vez se realizada la toma de datos y registrados los patrones de difracción se identificarán por un proceso de búsqueda/superposición comparándolos con los patrones existentes en las bases de datos *PDF-4* y *Base de Datos de Cambridge (CSD)*. Si no es posible la identificación de los componentes de la muestra, se realiza un proceso de indexado.

El indexado del patrón de polvo se realiza mediante la determinación de las posiciones angulares de los máximos de difracción y ausencias sistemáticas del perfil de difracción, de donde se obtendrán los parámetros de celda y grupo espacial de simetría. Este proceso se realiza mediante el uso del programa *DicVol14*. Para evaluar los resultados del indexado se debe tener en cuenta que la mejor celda unidad será aquella que posea:

- Mayor simetría ya que representa el menor número de reflexiones de Bragg posibles
- Menor volumen

**5.3.2.1 Figuras de mérito.** Las figuras de mérito son criterios matemáticos utilizados para determinar la validez de los resultados obtenidos. Para las soluciones del indexado se han propuesto dos figuras de mérito, la primera por P.M. de Wolff ( $M_N$ ) en 1968 y la segunda por Smith y Snyder ( $F$ ) en 1979, definidas así:

$$M_N = \frac{Q_N}{2|\overline{\Delta Q}|N_N}$$

Donde  $N$  es el número de máximos de difracción,  $|\overline{\Delta Q}|$  es la discrepancia absoluta media entre el valor calculado y el observado (De Wolff, 1972).

$$F = \frac{1}{|\overline{\Delta 2\theta}|} \frac{N}{N_{pos}}$$

Donde  $N$  es el número de máximos de difracción observados,  $N_{pos}$  el número de máximos de difracción independientes (Smith & Snyder, 1979).

Los mejores resultados del indexado serán aquellos que tengan los valores más altos de las figuras de mérito.

**5.3.3 Descomposición del patrón de polvo en sus intensidades integradas.** Una vez determinados los parámetros de la celda unidad se suele ajustar el patrón de difracción para verificar que todos los máximos determinados sean los que corresponde a la celda unidad asignada. Para esto se realiza la descomposición del patrón en sus reflexiones individuales de un solo paso por el método de Le Bail, el cual, mediante una aproximación de mínimos cuadrados ajusta un perfil calculado para el patrón de polvo experimental por medio del refinamiento de los parámetros de celda, el cero instrumental, radiación de fondo o *background*, intensidad, forma y anchura de los picos (Le Bail, 2014). Este método no requiere de ningún modelo estructural, por esto se obtienen los mejores valores para los parámetros y variables que definen las características de la muestra.

**5.3.4 Refinamiento Rietveld.** La caracterización estructural de los materiales cristalinos, la determinación de la estructura cristalina, así como también el análisis cualitativo y cuantitativo de las fases presentes en el patrón de difracción de una determinada sustancia, pueden ser resueltas mediante el uso del método de Rietveld, el cual es una herramienta eficaz que permite ajustar teóricamente parámetros estructurales, deslizamientos atómicos, anisotropía, tensiones de la red, entre otros, así como también parámetros experimentales que dependen de la geometría del equipo. Es usado comúnmente en el refinamiento de las coordenadas de los átomos y factores de ocupación, análisis cuantitativo de fases cristalinas, refinamiento de parámetros reticulares, estudio de micro-deformaciones y análisis de textura (Fuentes, 2004).

El método de Rietveld es una técnica de refinamiento que determina con mayor precisión parámetros estructurales de una muestra policristalina a partir de la construcción de un modelo teórico que se ajusta al patrón de difracción experimental, mediante el método de mínimos cuadrados. La función minimizada en el refinamiento del patrón de difracción por el método de Rietveld se denomina Residuo  $S_y$  el cual se describe como la sumatoria de todo el conjunto de puntos que se desea ajustar, por lo tanto, incluye todos los parámetros que dan lugar al patrón de difracción. Se define como:

$$S_y = \sum_i W_i (y_{i(obs)} - y_{i(calc)})^2$$

Donde:

$W_i$ : Peso respectivo dado a estas intensidades.

$y_{i(obs)}$ : Intensidad experimental en el paso  $i$ -ésimo del patrón de difracción.

$y_{i(calc)}$ : Intensidad calculada en el paso  $i$ -ésimo del patrón de difracción.

El refinamiento por este método consiste en encontrar los valores óptimos de todos los parámetros de manera que  $S_y$  tenga el menor valor posible. Para esto se debe tener en cuenta los criterios de ajuste para el refinamiento (Ståhl, 2008);(Casagrande & Blanco, 2004).

**5.3.4.1 Funciones para modelar el pico de un perfil de difracción.** Las funciones utilizadas en el método de Rietveld para modelar los parámetros de los picos de difracción son descritas fundamentalmente por:

- La posición  $2\theta$  del pico
- La intensidad  $I_0$  del pico
- El ancho a media altura ( $FWMH$ ) el cual es una función de la contribución experimental originada por el equipo, a lo largo de un amplio intervalo angular de  $2\theta$ ; se encuentra modelada por la fórmula empírica de Caglioti en donde los parámetros de ensanchamiento instrumental  $U$ ,  $V$ , y  $W$  son refinables. Esta función esta descrita a continuación:

$$FWMH^2 = U \tan^2 \theta + V \tan^2 \theta + W$$

Las funciones comúnmente usadas para el refinamiento del pico son de tipo Gaussiana, Lorenziana y Pseudo-Voigt siendo esta última dependiente de los valores de  $FWMH$ . Estas funciones pueden separar numéricamente los picos individuales de un conjunto de reflexiones parcialmente superpuestas que forman el patrón de difracción, de esta manera se obtendrán una colección de intensidades individuales  $|F_{hkl}|^2$  como si fueran de obtenidas por monocristal (Fuentes, 2004);(Ståhl, 2008).

**5.3.4.2 Criterios de ajuste.** Los criterios de ajuste del método de Rietveld indican si el modelo propuesto es correcto y el proceso de refinamiento es coherente al material de estudio (Dinnebier

& Rodríguez-Carvajal, 2001). Los criterios de ajuste numéricos utilizados en el método de Rietveld para estimar la validez de un ajuste se describen a continuación:

- **Residuo del peso estadístico:** Muestra que tan cercano se encuentra el patrón teórico del experimental, éste contiene tanto la contribución de los errores del modelo como de la estadística de conteo

$$R_{wp} = \left[ \frac{\sum_i W_i (y_{i(obs)} - y_{i(calc)})^2}{\sum_i W_i (y_{i(calc)})^2} \right]^{1/2}$$

Donde  $y_{i(obs)}$  es la intensidad experimental en el paso  $i$ -ésimo del patrón,  $y_{i(calc)}$  es la intensidad calculada en el paso  $i$ -ésimo del patrón y  $W_i$  es el peso asignado (Young, 1993).

- **Residuo del factor de Bragg**

$$R_B = \frac{\sum_k |y_{k(obs)} - y_{k(calc)}|}{\sum_k y_{k(calc)}}$$

Donde  $y_{k(obs)}$  es la intensidad experimental en el paso  $k$ -ésimo del patrón,  $y_{k(calc)}$  es la intensidad calculada en el paso  $k$ -ésimo del patrón (Young, 1993).

- **Valor esperado:** Es la diferencia entre el patrón experimental y el teórico que se debe solamente a la estadística del experimento.

$$R_{exp} = \left[ \frac{(N - P)}{\sum_i W_i (y_{i(calc)})^2} \right]^{1/2}$$

Donde  $N$  es el número de datos observados,  $P$  es el número de parámetros a refinar (Young, 1993).

- **Bondad del ajuste:** Es la magnitud de los errores del modelo respecto a los errores puramente estadísticos (Young, 1993).

$$x^2 = \frac{R_{wp}}{R_{exp}}$$

## 6. Antecedentes

Los primeros estudios de las tetraciclinas se sitúan a partir de 1952 cuando se realiza la cristalización del clorhidrato de terramicina ( $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$ ) y el hidrobromuro de terramicina ( $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HBr \cdot 2H_2O$ ) obteniéndose cristales ortorrómbicos, con el grupo espacial  $P2_12_12_1$ , con parámetros de celda unidad  $a = 11.19 \text{ \AA}$ ,  $b = 12.49 \text{ \AA}$ ,  $c = 15.68 \text{ \AA}$  y cristales monoclinicos con grupo espacial  $P2_1$ , con dimensiones de la celda unidad  $a = 12.20 \text{ \AA}$ ,  $b = 11.40 \text{ \AA}$ ,  $c = 18.00 \text{ \AA}$ , respectivamente (Robertson, Robertson, Exland & Pepinsky, 1952). En 1964 Inouye y colaboradores sintetizaron complejos moleculares decahidratados y hexahidratados con ácidos inorgánicos usando sales de tetraciclina y oxitetraciclina, demostrando una mayor estabilidad para los compuestos de menor hidratación (Inouye & Iitaka, 1964).

En la década de los 70 se incrementó el estudio de los derivados de tetraciclina como los que se muestran a continuación:

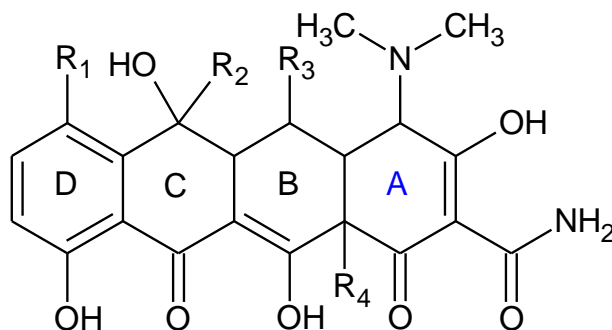


Figura 14. Estructura general de la familia de las tetraciclinas

Tabla 5.

Principales sustituyentes de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  en el esqueleto carbonado que originan diversos derivados de las tetraciclinas.

$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	Compuesto
H	$CH_3$	H	OH	Tetraciclina
H	$CH_3$	OH	OH	Oxitetraciclina
H	$CH_3$	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	5,12a-diacetiloxitetraciclina
Cl	$CH_3$	H	OH	7-clorotetraciclina
Cl	H	H	OH	7-cloro-6-demethyltetraciclina

Comenzando por la determinación estructural de la 5,12a-diacetiloxitetraciclina, mostrando una diferencia en el ángulo de torsión de  $108,9^\circ$  del anillo A (Figura 14) con respecto a las estructuras isomorfas de sales de hidrocloreto de 7-clorotetraciclina y 5-hidroxitetraciclina (Von Dreele & Hughes, 1971), seguido por los estudios de Stezowski y colaboradores en el año de 1976 y 1977 quienes realizaron las siguientes determinaciones estructurales de los derivados de tetraciclinas:

- 1. Oxitetraciclina anhidra:** Cristaliza con grupo espacial  $P2_12_12_1$ , con parámetros  $a = 10,297 (1) \text{ \AA}$ ,  $b = 10,770 (2) \text{ \AA}$ ,  $c = 18,369 (3) \text{ \AA}$  y  $Z = 4$ . Contiene moléculas no ionizadas que exhiben enlaces de hidrógeno intramoleculares extensos (J. J. Stezowski, 1976).
- 2. Dihidrato de oxitetraciclina:** Muestra la simetría del grupo espacial  $P2_12_12_1$  con  $a = 11,985(4) \text{ \AA}$ ,  $b = 15,820 (5) \text{ \AA}$ ,  $c = 11,487 (3) \text{ \AA}$  y  $Z = 4$ . Los cristales están compuestos por moléculas zwitteriónicas con ambos centros de carga del anillo sobre el sistema tricarbonil metano del anillo A, dando lugar a las formas tautoméricas *ceto* – *enol* (J. J. Stezowski, 1976).

**3. Dihidrato de cloruro de oxitetraciclina mercurio (II) ( $C_{22}H_{24}N_2O_9$ )  $HgCl_2 \cdot 2H_2O$ :**

El complejo cristaliza en el grupo espacial  $P2_12_12_1$ , con parámetros de celda unidad de  $a = 11.377(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 17.277(2) \text{ \AA}$ ,  $c = 12.731(2) \text{ \AA}$ . El cloruro de mercurio se acompleja con la oxitetraciclina zwitteriónica formando enlaces covalentes coordinados desde los oxígenos del sistema tricarbonil metano del anillo A hasta el átomo de mercurio central (Jogun & Stezowski, 1976).

**4. Sal dipotásica de oxitetraciclina  $K_2(C_{22}H_{24}N_2O_9) \cdot 2H_2O \cdot 2CH_3OH$ :** La sal

dipotásica de oxitetraciclina cristaliza en el grupo espacial  $C222_1$  para la cual  $a = 13.472(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 23.724(6) \text{ \AA}$ ,  $c = 19.643(4) \text{ \AA}$ . La formación de este complejo muestra dos sitios de coordinación, el primero ubicado en  $O(1)$ ,  $O(12)$ , y  $O(11)$  y el segundo en  $O(1)$ ,  $O(12a)$  y  $O(12)$ , siendo el primer sitio de coordinación el que presenta la interacción más favorable para la formación del complejo (Jogun & Stezowski, 1976).

**5. Hidrobromuro de oxitetraciclina dihidrato:** La cristalización de la sal de oxitetraciclina

se llevó a cabo en solventes no acuosos dando como resultado un cristal que exhibe una simetría ortorrómbica y grupo espacial  $P2_12_12_1$  con parámetros de celda unidad  $a = 8.836(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 12.416(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 18.760(2) \text{ \AA}$ . Además, se encontró que el cristal estaba formado únicamente por moléculas de oxitetraciclina no zwitterionica completamente asociadas, confirmando que los derivados de tetraciclina no presentan esta característica en disolventes no acuosos (Prewo & Stezowski, 1977).

**6.  $\alpha$ -6-Desoxioxitetraciclina:** Este derivado de la oxitetraciclina cristalizó como sales de

hidrobromuro e hidrocioruro encontrándose que ambas estructuras exhiben una simetría propia de un sistema monoclinico con grupo espacial  $P2_1$  y parámetros de celda  $a = 18.351(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 16.195(2) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.154(1) \text{ \AA}$  y  $\beta = 94.74(1)^\circ$  y  $a =$

18.203(2) Å,  $b = 16.045(1)$  Å,  $c = 8.004(1)$  Å, y  $\beta = 94.11(1)^\circ$  respectivamente, además de la presencia de dos tautómeros tipo *ceto – enol* que implican la protonación del oxígeno de la amida del anillo oxociclohexeno (J. Stezowski, 1977).

Teniendo en cuenta las propiedades bactericidas de las tetraciclinas en el 2005 se realizaron estudios de disolución *in vitro* para la formulación de una tableta de administración oral que incluye un núcleo del principio activo con una sal ácida de doxiciclina con un revestimiento de liberación modificada. En el 2008 se estudiaron los parámetros de termoestabilidad en un rango de temperaturas de 110 a 140 °C de la oxitetraciclina, tetraciclina y la doxiciclina demostrando que la degradación sigue una cinética de primer orden, que la resistencia al calor de los antibióticos depende de medio de tratamiento y pH. (Hassani, Lázaro, Pérez, Condón & Pagán, 2008).

Con el fin de minimizar los efectos secundarios que proporcionaban las tabletas de administración oral para el tratamiento de enfermedades respiratorias infecciosas, en el 2011 se propone el diseño de una nueva formulación que pueda administrar una alta concentración de antimicrobianos directamente a los pulmones en forma de micropartículas inhalables que contenían hiclato de doxiciclina, carboximetilcelulosa de sodio, leucina y lactosa (Mishra & Mishra, 2011).

Estudios más recientes llevados a cabo por Legendre y colaboradores, caracterizaron por primera vez y compararon las estructuras del monohidrato de doxiciclina, junto con el hiclato de doxiciclina, analizando las geometrías intra e intermoleculares, además del estudio de propiedades fisicoquímicas como temperatura de fusión, solubilidad en agua y velocidad de disolución. Se observó la presencia de dos tautómeros del tipo *ceto – enol*, los cuales se muestran a continuación:

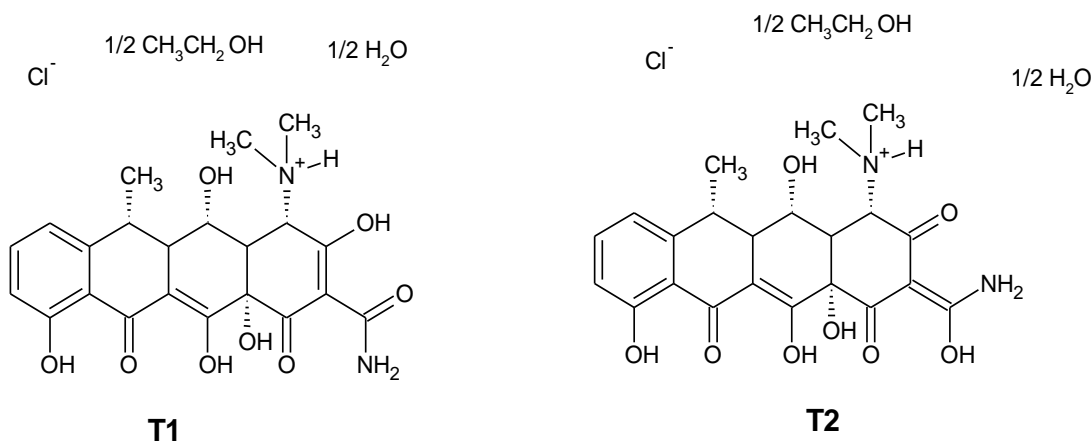


Figura 15. Estructura tautomérica el hiclato de doxiciclina.

La tautomería del hiclato de doxiciclina implica al grupo amida del anillo A. El primer tautómero (T1) el hidroxilo del C(3) y el oxígeno del grupo amida se encuentra junto al grupo de dimetilamina de C4, mientras que el segundo tautómero (T2) en C(3) se ubica el grupo carbonílico. Sin embargo, para el monohidrato de doxiciclina únicamente se encontró la forma tautomérica T2 (Legendre *et al.*, 2012).

En vista de que la dosificación de hiclato de doxiciclina vía intramuscular, subcutánea e intravenosa provocaba dolores extremos, irritación del tejido y necrosis, además de enfermedades cardiovasculares como taquicardia, hipertensión arterial sistémica, colapso cardiovascular e incluso la muerte de los animales, se vió la necesidad de diseñar nuevas formas de dosificación oral de efecto prolongado para el tratamiento bacteriano; en el 2012 se presentaron dos formulaciones del hiclato de doxiciclina de acción prolongada de administración oral en caballos adultos no ayunados que mejoraban el tratamiento de estas enfermedades bacterianas (Gutiérrez, Velasco, Vázquez, Vargas & Sumano, 2012); (Zozaya, Gutierrez, Bernad, & Sumano, 2013).

Un año después se determinaron nuevamente de las estructuras moleculares y cristalinas del hidrocloreuro de doxiciclina, del clorhidrato de tetraciclina y del hexahidrato de tetraciclina, además

de determinar una nueva estructura de hidrocloreuro de 6-desoxi-6,6-dimetiltetraciclina, encontrándose que todas las estructuras cristalizan en un sistema cristalino ortorrómbico  $P2_12_12_1$  con  $Z = 4$  pero la geometría final del cristal depende del estado de protonación y el ambiente en el que se encuentre, siendo el grupo amida el determinante de la geometría del cristal (Heinemann, Leybold, Roman, Schmitt & Schneider, 2013).

En 2014 Santos y colaboradores sintetizaron y determinaron la estructura cristalina de dos nuevas formas de cristales moleculares multicomponentes de doxiciclina, las cuales son  $DOX \cdot HNO_3 \cdot 0,5H_2O$  y  $DOX \cdot AcOH \cdot 2H_2O$ , encontrando una variante en la conformación de los grupos amida, tautomería *ceto – enol* y formación de nuevos enlaces de hidrógeno asistidos por resonancia que permiten el ensamble de los anillos fusionados intermoleculares teniendo en cuenta los descriptores de planaridad, dando lugar a nuevas formas de empaquetamiento (Santos *et al.*, 2014). Debido a los efectos secundarios que producían algunas formulaciones de administración oral de la familia de las tetraciclinas, como como náuseas e irritación, en ese mismo año Lukas, Lepore y Mudge diseñaron diversas composiciones de liberación controlada teniendo como base el *pH* en que se encuentre las nuevas formulaciones de doxiciclina, mostrando un perfil de disolución superior y disminución de los efectos secundarios, ya que el ingrediente farmacéuticamente activo no se libera en el estómago debido a bajos niveles de *pH* durante 60 minutos, pero si la nueva formulación se expone a valores de *pH* mayores a 4,5 el principio activo será liberado en un tiempo de 60 minutos (Patent No. US 6,958,161 B2, 2005).

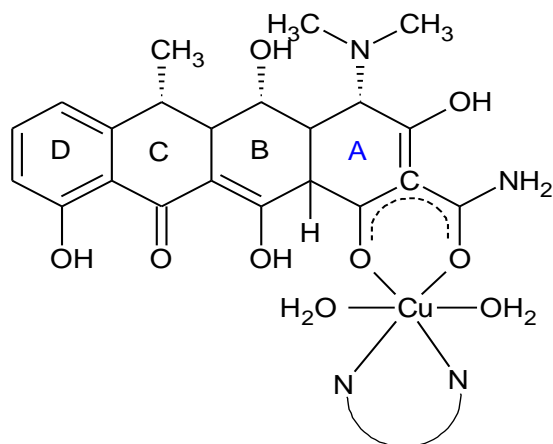


Figura 16. Sitio de unión de la doxiciclina con cobre (II)

Finalmente, teniendo en cuenta la importancia de los iones metálicos en la farmacología, dos años después Abosedo y colaboradores, sintetizaron complejos mixtos de cobre (II) con ligandos orgánicos bidentados entre los que se encuentra la doxiciclina, en la cual los oxígenos del anillo A (Figura 16) son los responsables de la formación del enlace coordinado con el cobre (Abosedo *et al.*, 2016).

## 7. Hipótesis

El hiclato de doxiciclina puede manifestar modificaciones estructurales debido a las transformaciones de fase y formación de polimorfos ocurridas durante los procesos de desolvatación / solvatación y deshidratación / hidratación.

## 8. Parte Experimental

El proyecto se llevó a cabo en tres etapas, las cuales se muestran a continuación.

### 8.1 Primera Etapa: Caracterización del hiclato de doxiciclina en estado sólido

La caracterización estructural del hiclato de doxiciclina comercial en el estado sólido se llevó a cabo realizando análisis de espectroscopia infrarroja, toma del punto de fusión, prueba cualitativa de solubilidad y análisis por difracción de rayos X de polvo. A continuación, se muestra un esquema general del análisis por difracción de rayos X de polvo.



Figura 17. Resolución estructural del hiclato de doxiciclina

**8.1.1 Registro del perfil de difracción.** El registro de los perfiles de difracción se realizó a temperatura ambiente en el difractómetro BRUKER D8 ADVANCE utilizando radiación de  $CuK\alpha$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), funcionando a  $40 \text{ kV}$  y  $40 \text{ mA}$ . Los patrones se registraron en pasos de  $0,0156^\circ$  ( $2\theta$ ), de  $2^\circ$  a  $60^\circ$  y tiempos entre 1 a 2 segundos por paso. El difractómetro está equipado con una rendija de Soller de  $2,5^\circ$ , ranura de divergencia de  $0,6 \text{ mm}$ , filtro de níquel de  $0,02 \text{ mm}$ , y un detector LynxEye. El equipo se encuentra en el Laboratorio de Rayos X en el Parque Tecnológico Guatiguará de la Universidad Industrial de Santander.

El patrón del hiclato de doxiciclina se registró sin ninguna preparación de la muestra; una vez obtenido el patrón de difracción se realizó un proceso de búsqueda/superposición utilizando las bases de datos de monocristal de la *Cambridge Structural Database (CSD)* y *PDF-4/Organics* en el cual se encontró que el patrón de polvo no estaba registrado a temperatura ambiente, por lo

tanto, seguidamente se realizó el indexado del patrón de polvo con ayuda del programas *DicVol14*, obteniéndose varias soluciones para distintos sistemas cristalinos, escogiéndose el sistema con el de menor volumen y mayor simetría; una vez establecido el sistema cristalino se procedió a determinar el grupo espacial por medio de las ausencias sistemáticas y el uso del programa *Chkcell*; la validación del indexado se realizó con ayuda del programa AIDS\*NBS.

**8.1.2 Descomposición del patrón de polvo.** La descomposición del patrón de polvo se realizó por el método de Le Bail con ayuda del programa *Fullprof* en el cual se obtuvieron los factores de mérito *R* menores a 10%, garantizando que todos los máximos de difracción pertenecen a la celda unidad determinada y de esta manera verificar la validez del indexado.

**8.1.3 Determinación de la estructura cristalina.** En la determinación de la estructura cristalina del principio activo se realizó un modelado estructural por el método de recocido simulado (*Simulated Annealing*) para obtener la estructura molecular del compuesto junto con las distancias y ángulo de enlace, teniendo en cuenta los parámetros, grupo espacial y volumen de la celda unidad obtenidos del indexado, el patrón de polvo experimental (\*.dat) y un modelo estructural (\*.mol) por medio del programa *EXPO2014*.

**8.1.4 Refinamiento Rietveld.** Después de obtener la estructura cristalina del compuesto (\*.cif) con la menor función de costo, se realizó el proceso de refinamiento Rietveld usando *GSASII* con el patrón en un rango  $2\theta$  de  $2^\circ - 60^\circ$  hasta obtener los mejores valores de los factores *R* ( $R_{wp}$ ,  $R_{exp}$ ). Posteriormente se obtuvo un archivo (\*.cif) que contendrá la estructura molecular

del compuesto refinada, junto con las distancias y ángulos de enlace, los cuales serán analizados con *Mercury Mogul Geometry Check*.

**8.1.5 Validación de la estructura cristalina.** La validación de la estructura se efectuó con el programa PLATON y, por último, la representación gráfica de la estructura, enlaces de hidrógeno e interacciones se hizo con los programas Diamond 3.0 y *Mercury 3.9*.

**8.1.6 Análisis de la superficie de Hirsfeld y simulación de la morfología cristalina.** Finalmente se efectuó un análisis de las superficies de Hirsfeld y una simulación de la morfología cristalina utilizando el método de Bravais, Friedel, Donnay y Harker (*BFDH*), por medio del promedio del programa *CrystalExplorer* y *Mercury 3.9* respectivamente.

## 8.2 Segunda Etapa: Formación de los productos de desolvatación y deshidratación

Para la formación de los productos de desolvatación y deshidratación del hiclato de doxiciclina se realizaron los procesos que se muestran en el esquema 2.

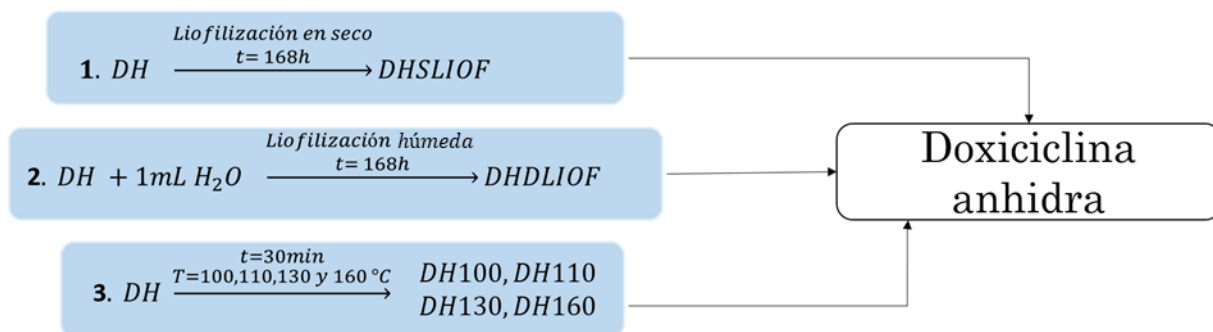


Figura 18. Procesos de formación de los productos de desolvatación y deshidratación

El primer proceso se dispuso de 0.400 g DH en un eppendorf el cual fue etiquetado como **DHSLIOF** y llevado directamente al liofilizador. Por otra parte, en el segundo proceso se agregó 0,100 g DH junto con 1 mL de agua destilada en un eppendorf y seguidamente se llevó al liofilizador etiquetado como **DHDLIOF**. El proceso de liofilización se realizó durante 7 días en un equipo marca *Telstar* serie *LyoQuest* ubicado en el parque tecnológico Guatiguará.

El estudio térmico realizado para el tercer proceso se llevó a cabo a partir de 1,125 g de DH, los cuales fueron llevados en un recipiente de vidrio a una estufa calibrada a una temperatura de 100, 110, 130 y 160 °C durante 30 minutos para cada una de las temperaturas. Los productos obtenidos se etiquetaron como **DH100**, **DH110**, **DH130** y **DH160** respectivamente.

### 8.3 Tercera Etapa: Formación de los hidratos, solvatos e hiclato

A partir del producto DH160 obtenido a partir de los procesos térmicos de la segunda etapa, se procedió a realizar la formación de los productos de solvatación, hidratación e hiclato por el método de difusión de vapor.

#### 8.3.1 Proceso de hidratación seguido de solvatación de la muestra DH160

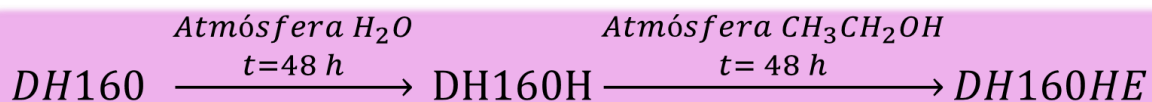


Figura 19. Procesos de formación de los productos de hidratación y solvatación

Para la formación del hidrato de DH se dispuso de 0,01 g de DH160 el cual se colocó en un portamuestras y se aplanó hasta que la sustancia quedara totalmente plana y homogénea sobre la superficie. Seguidamente se dispuso en un recipiente hermético que contenía 5 mL de agua destilada como se muestra en la figura 17. Con el fin de generar vapor de agua se colocó sobre una manta de calentamiento a 40 °C durante 48 horas. La muestra se etiquetó como **DH160H**.

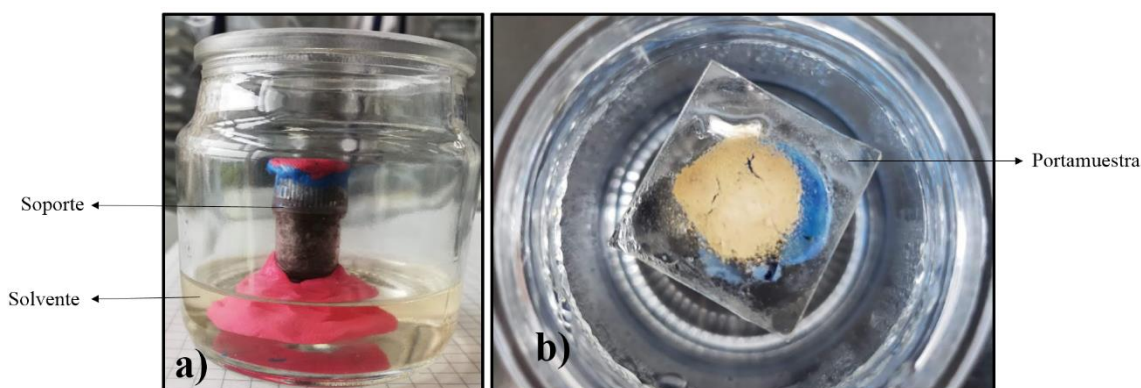


Figura 20. Montaje del procedimiento difusión de vapor a) vista frontal y b) vista superior

Una vez completadas las primeras 48 horas el producto DH160H fue colocado en otro recipiente que contenía 5 mL de etanol seco a temperatura ambiente por 48 horas. Finalmente, la muestra se etiquetó como **DH160HE**.

### 8.3.2 Proceso de solvatación seguido del proceso de hidratación de la muestra DH160.

Para la formación del solvato de DH se dispuso de 0,01 g de DH160 el cual se colocó en un portamuestras y se aplanó hasta que la sustancia quedara totalmente plana y homogénea sobre la superficie. Seguidamente la muestra fue colocada en un recipiente hermético que contenía 5 mL de etanol seco como se muestra en la Figura 17 y se dejó durante 48 horas a temperatura ambiente. La muestra se etiquetó como **DH160E**. Una vez finalizado el tiempo el producto DH160E se

trasladó a un recipiente que contenía 5mL de agua destilada a una temperatura de 40 °C y se dejó nuevamente durante 48 horas. El producto obtenido se etiquetó como **DH160EH**.

#### **8.4 Cuarta Etapa: procesos de recristalización de DH y DH160**

La recristalización de las muestras DH y DH160 se llevó a cabo por evaporación lenta de solvente, difusión de vapor y por cristalización en gel.

**8.4.1 Recristalización por evaporación lenta de solvente.** La recristalización por evaporación lenta del solvente de DH y DH160 se realizó de la siguiente manera: primeramente, se dispuso de cuatro tubos de vidrio de los cuales, dos de ellos contenían 3 mL de etanol y los otros dos contenían 3 mL de agua destilada. Seguidamente se disolvió 0,106 y 0.104 g DH un tubo que contenía el etanol y en otro que contenía el agua destilada respectivamente. En los dos tubos restantes se disolvieron 0,107 y 0,103 g DH160 como se mencionó anteriormente. Las disoluciones se realizaron a temperatura ambiente y agitación a 200 rpm. Finalmente, los tubos se dejaron en la nevera hasta que se evaporaron los solventes. Las muestras se etiquetaron como **DH160ETOH** y **DH160H2O**

Adicionalmente se realizó otra recristalización por evaporación lenta de solvente a partir de 0,105 g DH y 0,103 g DH160 los cuales se disolvieron en una mezcla de solventes etanol/agua en relación 2:1 bajo las mismas condiciones anteriormente mencionadas. Las muestras se etiquetaron como **DHMIX** y **DH160MIX** respectivamente.

**8.4.2 Cristalización por difusión de vapor.** La cristalización por difusión de vapor se realizó mediante disolución de 0,110 g DH y 0,160 g DH160 en etanol seco un vial de vidrio de aproximadamente 5 mL. Para el montaje se dispuso de un recipiente hermético al cual se agregó el anti-solvente. Después se introdujo el vial que contenía la disolución de la muestra con el solvente al recipiente como se muestra en la Figura 18. Seguidamente se cerró y se dejó durante 5 días a temperatura ambiente. Las relaciones utilizadas se muestran en la Tabla 6.



Figura 21. Montaje utilizado para la cristalización por difusión de vapor

Tabla 6.

*Relaciones solventes/antisolvente en la cristalización por difusión de vapor.*

Muestra	Solvente / Antisolvente	Etiqueta
<b>DH160</b>	Etanol / Tolueno 1 : 1	<b>DH160ET</b>
	Etanol / Eter etílico 2 : 3	<b>DH160EE</b>
	Etanol / Diclorometano 2 : 3	<b>DH160ED</b>
<b>DH</b>	Etanol / Eter etílico 2 : 3	<b>DHEE</b>
	Etanol / Diclorometano 2 : 3	<b>DHED</b>

Finalmente, la caracterización de cada uno de los productos formados en cada una de las etapas se realizó por espectroscopia infrarroja, y difracción de rayos X de muestras policristalinas o monocristal, de acuerdo con el sólido obtenido.

**8.4.3 Recristalización de las muestras DH y DH160 en gel de agarosa.** La recristalización en gel de agarosa se realizó de la siguiente manera: primeramente, se preparó el gel de agarosa, disolviendo 0,500 g de agarosa en 5 mL de agua destilada a una temperatura de 50 °C y 300 rpm hasta disolución. Seguidamente, una fracción de la solución de agarosa se agregó en un tubo de vidrio que contenían 0,170 g DH y la otra fracción en otro tubo de vidrio que contenía 0.141 g DH160. Después se mezcló hasta obtener una solución homogénea libre de burbujas y se dejó enfriar hasta obtener el gel. Finalmente se agregó 5 mL de acetonitrilo a cada uno de los tubos y se llevaron a la nevera para garantizar la difusión lenta del antisolvente. Los productos obtenidos se etiquetaron como **DHA** y **DH160A**.

## 9. Análisis de Resultados

### 9.1 Primera Etapa: Caracterización de la materia prima

**9.1.1 Análisis por espectroscopia FT-IR.** El espectro infrarrojo del hiclato de doxiciclina se muestra en la Figura 19 y en la Tabla 7 se muestra la asignación de las señales más importantes del espectro. En la región 1 se muestran las señales correspondientes a  $3271\text{ cm}^{-1}$  y  $3321\text{ cm}^{-1}$

las cuales pertenecen al enlace tipo  $-N-H$  del grupo funcional amino. Las señales  $1661\text{ cm}^{-1}$ ,  $1611\text{ cm}^{-1}$  y  $1556\text{ cm}^{-1}$  son atribuidas a los enlaces de estiramiento de los carbonilos  $-C=O$  cetónicos que se encuentran unidos al núcleo tetraciclínico y las tensiones aromáticas de los enlaces aromáticos  $-C=C$  respectivamente, ubicados en la región 3. En el intervalo de  $1356\text{ cm}^{-1}$  a  $1306\text{ cm}^{-1}$  se encuentran los estiramientos simétricos y asimétricos a asociados a los grupos  $-C-H\text{ sp}^3$  y  $-C-O$ . En  $1242\text{ cm}^{-1}$  y  $1217\text{ cm}^{-1}$  se encuentran los estiramientos que corresponden al estiramiento del enlace  $-C-N$  mostrados en la región 5.

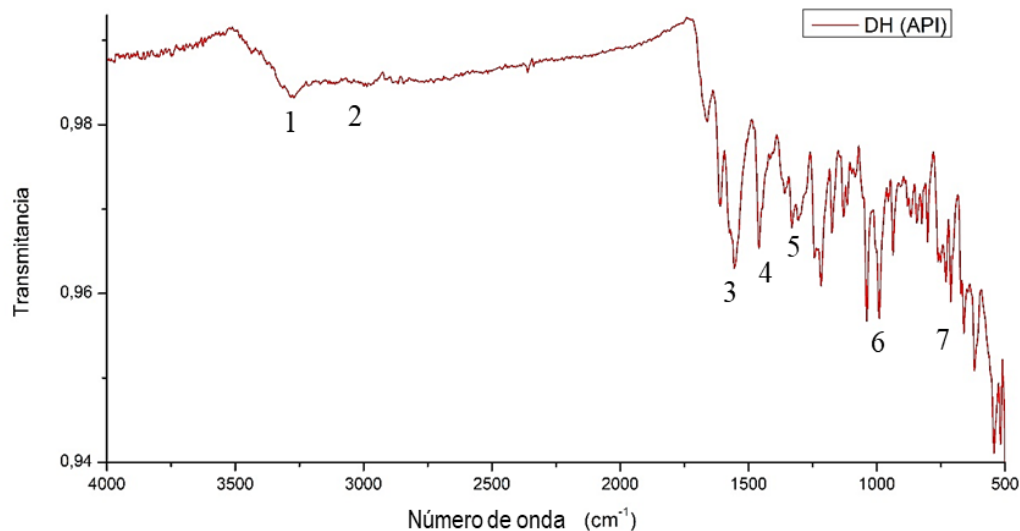


Figura 22. Espectro FT-IR del hiclato de doxiciclina

Las señales del alcohol primario se encuentran alrededor de  $1039\text{ cm}^{-1}$  y  $991\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a la región 6. Finalmente, la región 7 muestra las sustituciones y torsiones fuera del plano de los enlaces  $C-H$  en los anillos aromáticos del compuesto.

Tabla 7.

Bandas de absorción del espectro de infrarrojo de hiclato de doxiciclina (DH)

Región	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignación
1	3300-3200	Estiramientos simétricos y asimétrico del enlace $-N-H$ de la amina
2	3000-2900	Estiramientos de los enlaces tipo $C-H$ y $CH_3$
3	1700- 1550	Estiramientos $-C=O$ , vibraciones del enlace $N-H$ y enlaces aromáticos $-C=C$
4	1400-1300	Estiramientos simétricos y asimétricos enlaces $-C-H$ y $-C-O$ acil y fenil
5	1250-1200	Estiramiento de los enlaces de $-C-OH$ del etanol y $-C-N$
6	1050-980	Señales de un alcohol primario $R-OH$
7	950-600	Torsión fuera del plano del enlace $-C-H$ y sustituciones en los anillos aromáticos.

En el espectro no se observan las bandas 1 y 2 características del grupo amida, en cambio, se observa la banda característica de una amina (región 1). Estos resultados sugieren que en la materia prima está presente la doxiciclina en la forma tautomérica.

**9.1.2 Análisis térmico.** El análisis por calorimetría de barrido diferencial (DSC) del hiclato de doxiciclina (Figura 20) se observan tres señales, la primera corresponde a una transición endotérmica ( $Ed_1$ ) en el intervalo de temperatura de  $145,6^\circ\text{C} - 171,5^\circ\text{C}$  con una  $T_p = 160,3^\circ\text{C}$  correspondiente a la pérdida del hiclato (una molécula de agua y una molécula de etanol). La segunda señal se encuentra relacionada con el punto de fusión del principio activo, el cual se produce en  $206,2^\circ\text{C}$ . Finalmente, la tercera señal es ocasionada por una transición de tipo

exotérmico ( $Ex_1$ ) en el intervalo de temperatura de  $203,2^{\circ}C - 235,1^{\circ}C$  con  $Tp = 223,1^{\circ}C$  que corresponde a la descomposición del compuesto.

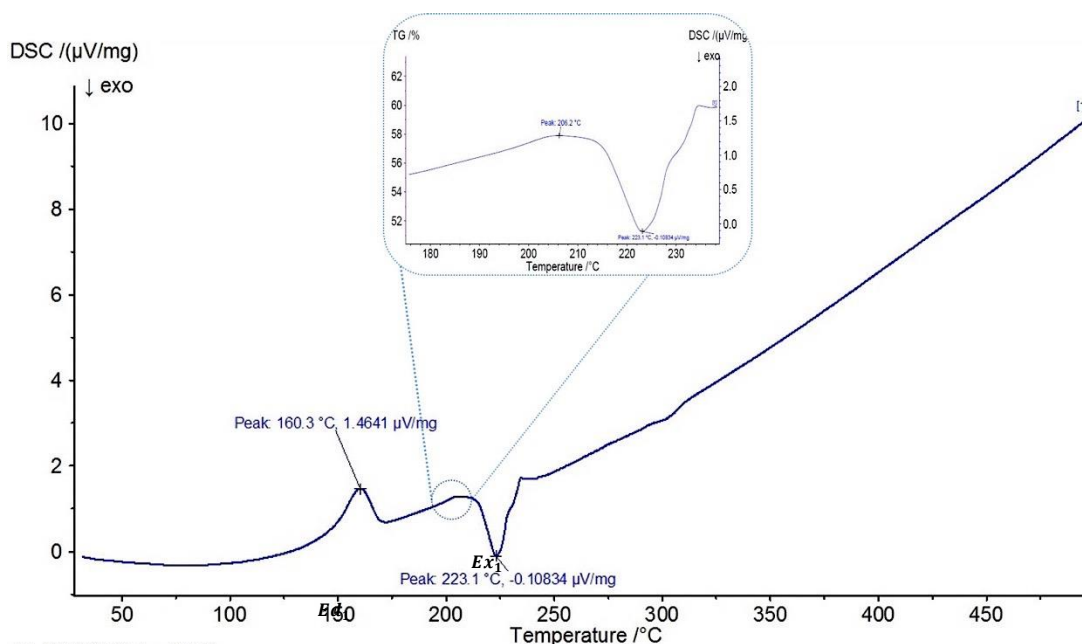


Figura 23. DSC obtenido del hiclato de doxyciclina

Por otro lado, el análisis termogravimétrico (TGA) (Figura 21) muestra que el material es térmicamente estable hasta aproximadamente una temperatura de  $145^{\circ}C$ . Además, se observan tres pérdidas de masa, la primera se produce en el rango de  $155,4^{\circ}C - 176,5^{\circ}C$  con una pérdida de masa de 9,04% asociada a la pérdida de las moléculas de etanol y agua de red (6,1 %). La segunda se encuentra dentro del intervalo de  $217,3^{\circ}C - 233,7^{\circ}C$  con una pérdida de masa de 23,41%. Finalmente, la tercera pérdida de masa de 16,67% en el intervalo de  $291,2^{\circ}C - 476,7^{\circ}C$ .

Al comparar las transiciones observadas en el DSC con el TGA (Figura 22), se observan pérdidas de masa correspondiente a las transiciones  $Ed_1$ ,  $Ex_1$  dentro de los rangos de temperatura asociados al mismo, con porcentaje de pérdida de masa de 9,04% y 23,41% respectivamente.

Además, se observa una pérdida de masa (3) de 16,67% que no corresponde a ninguna transición, por lo tanto, se puede asociar a la degradación del material.

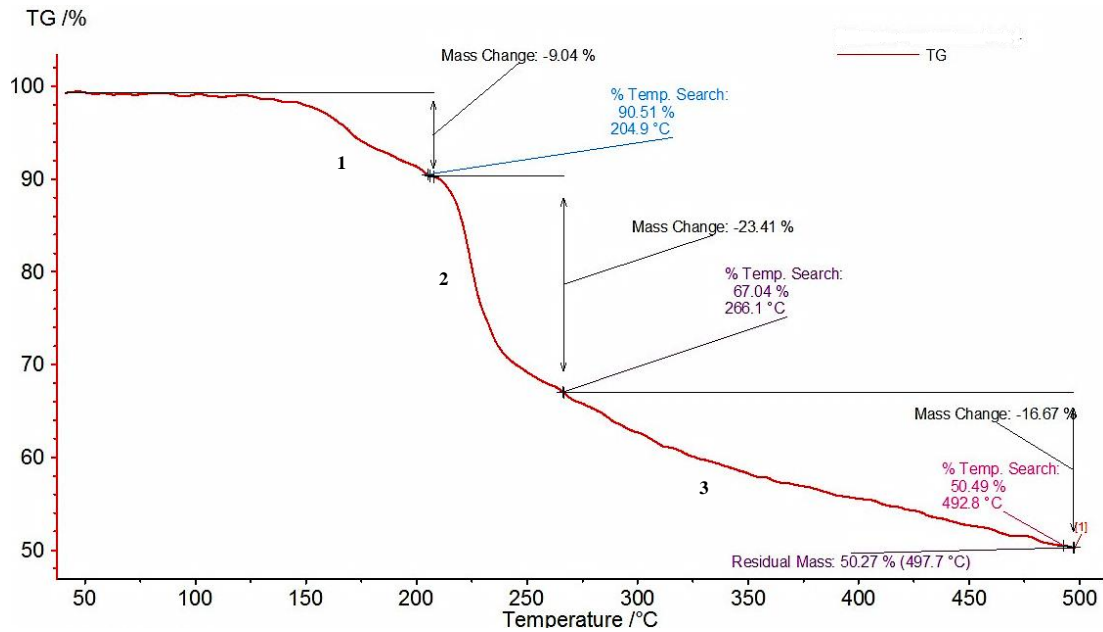


Figura 24. TGA obtenido del hiclato de doxiciclina

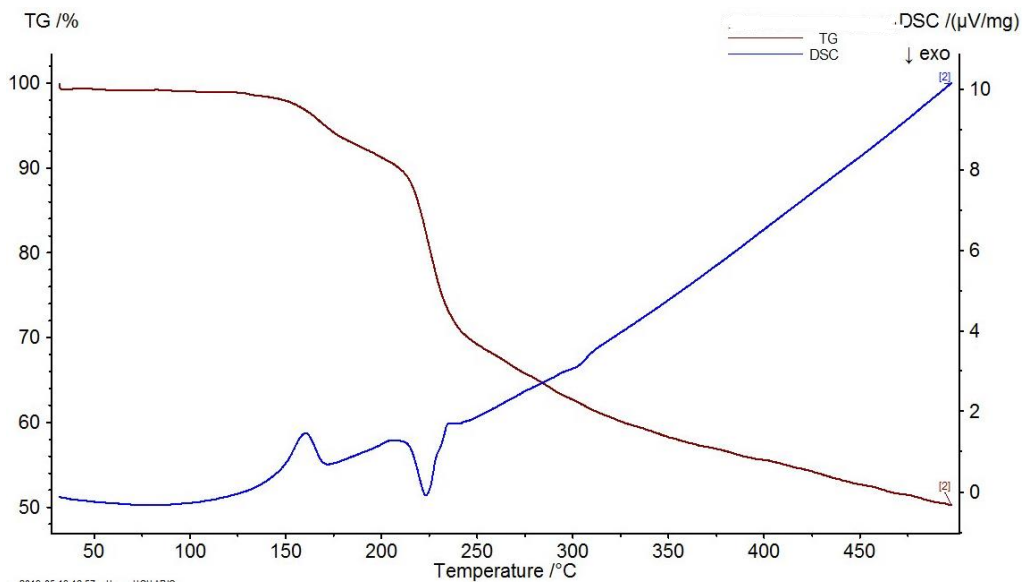


Figura 25. Comparación TGA y DSC del hiclato de doxiciclina.

**9.1.3 Caracterización por difracción de rayos X de polvo.** El hiclato de doxiciclina es un sólido amarillo brillante que descompone cerca de los 223,3 °C. El patrón de difracción de polvo y la estructura este material no se encuentran reportados en las bases de datos de polvo *PDF-4/Organics* y *Cambridge Structural Database*. (Figura 23).

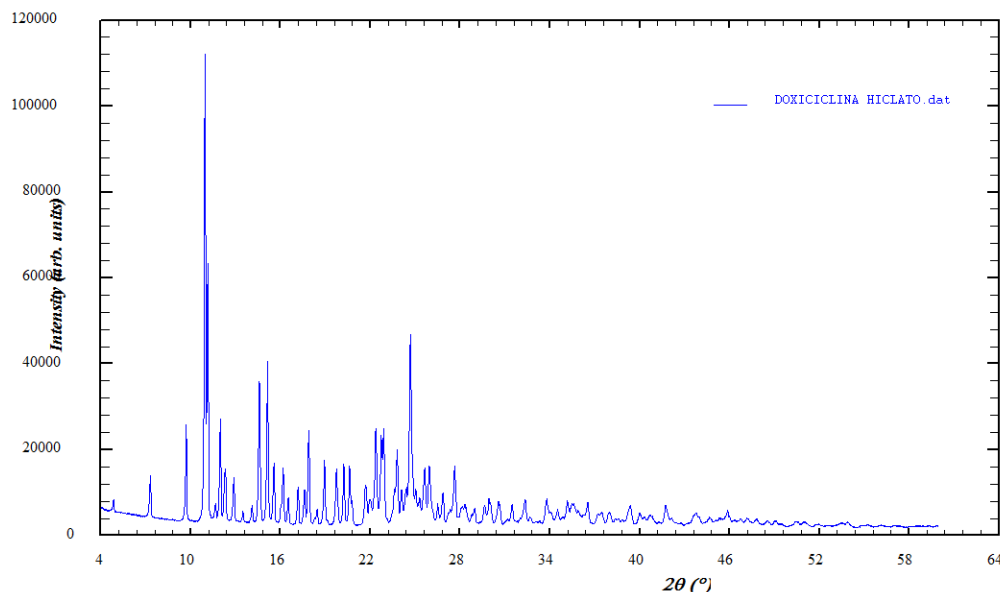


Figura 26. Patrón de difracción del hiclato de doxiciclina.

**9.1.3.1 Indexado.** El indexado de los primeros 20 máximos de difracción del patrón de difracción de rayos-X experimental de DH con el programa *DicVol14*, sugiere que el material cristaliza en una celda monoclinica  $P2_1$  con parámetros  $a = 18,2657(3) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1397(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0792(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,366^\circ(1)$  ( $M(20) = 30,7$ ;  $F(20) = 111,9$ ). En la Tabla 8 se presentan los resultados del proceso de indexado.

Tabla 8.

*Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil del hiclato de doxiciclina*

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
<b>4.845</b>	18.224	1	0	0	4.848	18.213	-0.0030
<b>7.307</b>	12.088	1	1	0	7.313	12.079	-0.0055
<b>9.695</b>	9.116	2	0	0	9.705	9.106	-0.0098
<b>10.965</b>	8.062	0	2	0	10.955	8.070	0.0101
<b>11.145</b>	7.933	2	1	0	11.147	7.931	-0.0022
<b>11.655</b>	7.587	1	0	-1	11.659	7.584	-0.0042
<b>11.983</b>	7.380	1	2	0	11.986	7.378	-0.0027
<b>12.282</b>	7.201	0	1	1	12.270	7.208	0.0121
<b>12.328</b>	7.174	1	0	1	12.338	7.168	-0.0100
<b>12.881</b>	6.867	1	1	-1	12.887	6.864	-0.0061
<b>13.492</b>	6.558	1	1	1	13.505	6.551	-0.0133
<b>14.100</b>	6.276	2	0	-1	14.102	6.275	-0.0015
<b>14.582</b>	6.070	3	0	0	14.579	6.071	0.0029
<b>15.131</b>	5.851	2	1	-1	15.136	5.849	-0.0047
<b>15.562</b>	5.690	0	2	1	15.530	5.701	0.0319
<b>16.045</b>	5.519	1	2	-1	16.024	5.526	0.0206
<b>16.175</b>	5.475	2	1	1	16.182	5.473	-0.0065
<b>16.520</b>	5.362	1	2	1	16.528	5.359	-0.0080
<b>17.168</b>	5.161	1	3	0	17.172	5.160	-0.0044
<b>17.591</b>	5.038	3	0	-1	17.597	5.036	-0.0055
<b>17.886</b>	4.955	2	2	-1	17.891	4.954	-0.0050

$$M_{20} = 30,7; F_{20} = 111,9$$

La información cristalográfica obtenida del proceso de indexado y la determinación del grupo espacial para el hiclato de doxiciclina se encuentra en la Tabla 9.

**9.1.3.2 Descomposición del patrón de polvo por el método de LeBail.** El método de Le Bail es un proceso que permite la verificación y validación de la celda unidad determinada en el proceso de indexado, a partir de un análisis de los máximos de difracción del patrón de polvo. En la Figura 24 se observa la descomposición del perfil de difracción del hclato de doxiciclina, en el cual se muestra un ajuste adecuado teniendo en cuenta la diferencia (línea azul) entre del patrón calculado (puntos rojos) con el patrón observado (línea negra).

Tabla 9.

*Resultados estructurales obtenidos para el hclato de doxiciclina*

DATOS CRISTALINOS	MATERIA PRIMA
Fórmula	$(C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl)_2 \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$
Peso fórmula	1025,88 g / mol
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$P2_1$
$a, b, c$ (Å)	18,2657(3) Å, 16.1397(3)Å, 8.0792(1)Å.
$\beta$ (°)	94,366°(1)
Volumen(Å <sup>3</sup> )	2374,85(7)
Z	4

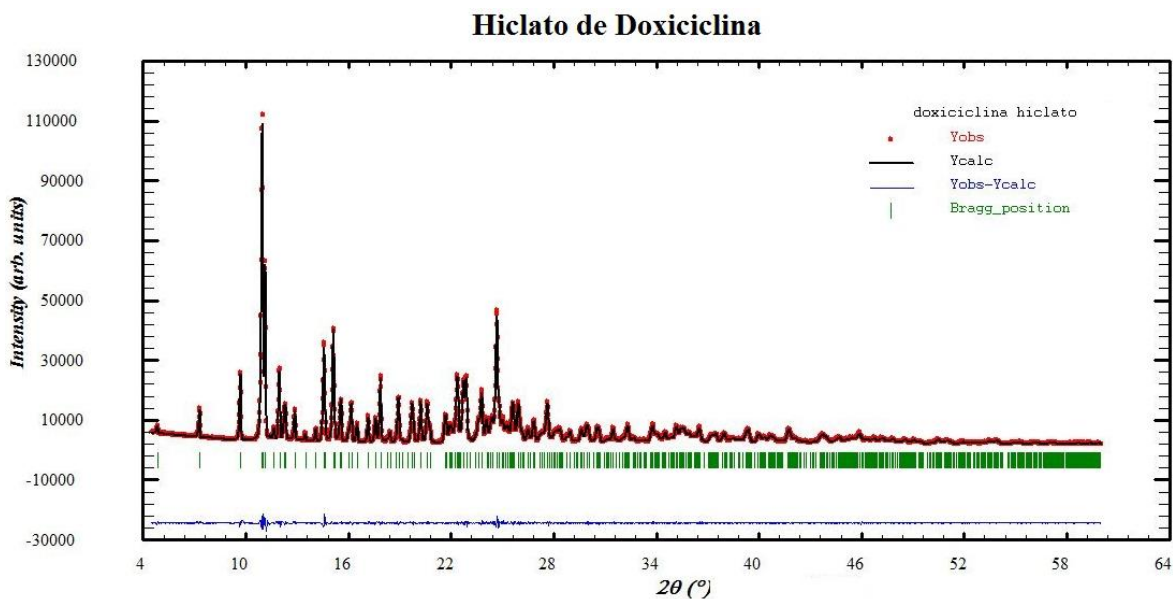


Figura 27. Descomposición del patrón de polvo del hiclato de doxiciclina por el método de Le Bail.

Además, es necesario tener en cuenta que los valores de discrepancia del perfil no sean mayores a 10 %. En la Tabla 10 se muestran los valores obtenidos para el perfil de difracción del hiclato de doxiciclina que no superan el valor estimado, por lo tanto, el indexado y el grupo espacial asignado corresponden a la estructura del hiclato de doxiciclina.

Tabla 10.

*Factores de discrepancia de la descomposición del patrón de polvo por el método de Le Bail.*

$R_p$	$R_{wp}$	$R_e$	$X^2$
4.71%	5.29%	2.39%	1.411%

**9.1.3.3 Determinación de la estructura cristalina.** Una vez verificados los parámetros de celda y grupo espacial obtenidos para el patrón de difracción del hiclato de doxiciclina, se realizó la determinación estructural por el método de recocido simulado (*simulated annealing*) utilizando

el programa *Expo14*. La estructura se obtuvo luego de realizar 10 corridas durante 7 días, debido a que se realizaron más de 100.000.000 de movimientos moleculares por cada una de las rutinas. La mejor solución corresponde al ciclo de menor energía, es decir, el menor valor para la función de costo; el modelo que representa la estructura cristalina del material tiene una función de costo con valor de **9,243**.

**9.1.3.5 Refinamiento por el método de Rietveld.** Teniendo en cuenta la estructura cristalina aproximada obtenida del programa *Expo14*, se realizó el refinamiento Rietveld teniendo en cuenta los parámetros como la radiación de fondo, posiciones atómicas, parámetros térmicos, orientación preferencial, tamaño cristalino, parámetros instrumentales, forma y ancho del pico, entre otros. Se llevaron a cabo varios ciclos de refinamiento en el programa *GSASII*, obteniéndose los mejores parámetros de ajuste mostrados en la Tabla 11. Por otra parte, en la Figura 25 se puede observar la diferencia (línea azul) entre el patrón calculado (verde) con el observado (cruces azul oscuro) en la parte inferior del perfil.

Tabla 11.

*Factores de discrepancia obtenidos del refinamiento Rietveld del patrón de polvo.*

Función de costo ( <i>CF</i> )	Refinamiento							
	<i>wR</i>	<i>R</i>	<i>R<sub>b</sub></i>	<i>wR<sub>b</sub></i>	<i>wR<sub>min</sub></i>	<i>R<sub>f</sub></i>	<i>R<sub>f</sub><sup>2</sup></i>	<i>GOF</i>
<b>9.243</b>	7.47%	5.52%	5.95%	8.09%	1.37%	4.18%	7.33	5.05

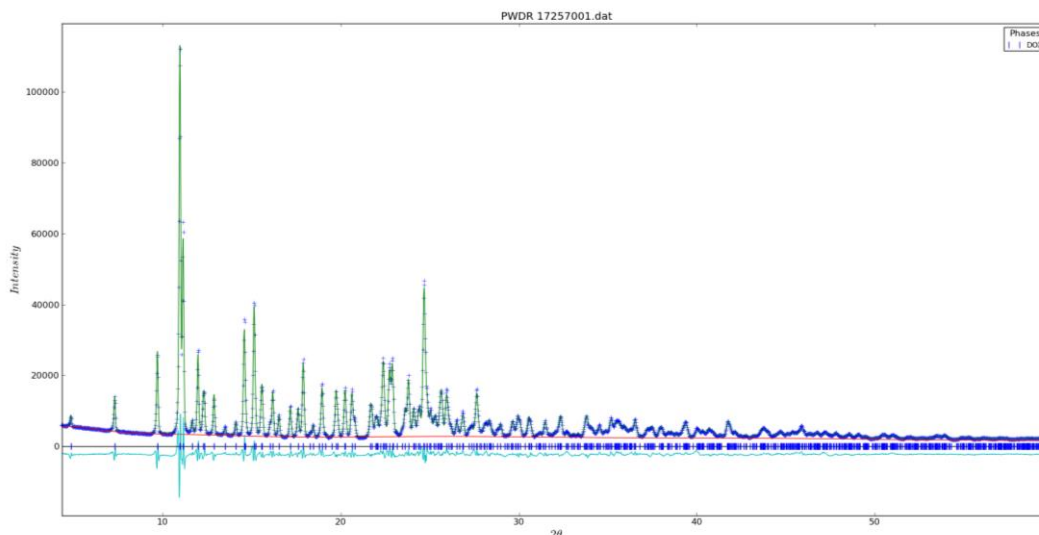


Figura 28. Refinamiento Rietveld del hclato de la doxiciclina.

**9.1.3.6 Validación de la estructura cristalina.** Una vez determinada la estructura cristalina del principio activo, se realizó la validación de la estructura por medio programa PLATON verificando que los ángulos de enlace, ángulos de torsión y enlaces de hidrógeno se encuentren dentro de los rangos normales; además, se calcularon las interacciones intra e intermoleculares, distancias de enlace y ángulos de torsión de la estructura cristalina. A continuación, se muestra la unidad asimétrica del hclato de doxiciclina como dos moléculas cristalográficamente independientes.

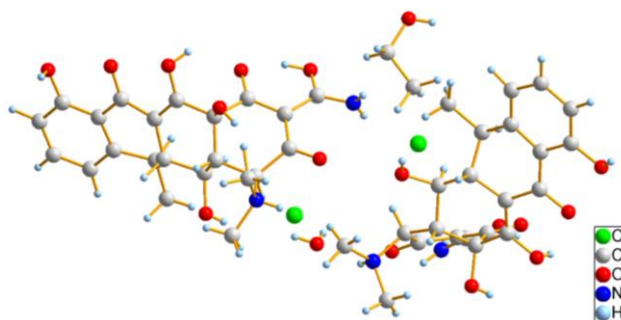


Figura 29. Unidad asimétrica del hclato de doxiciclina vista desde el plano ab.

Según la determinación de la estructura del hiclato de doxiciclina, se puede observar que la estructura pertenece al tautómero 2 del hiclato. La determinación de los parámetros de asimetría de los anillos del núcleo tetraciclínico se realizaron teniendo en cuenta los parámetros de asimetría según **Cremer y Pople**. En la Figura 27 se muestran las moléculas con las respectivas etiquetas de los átomos.

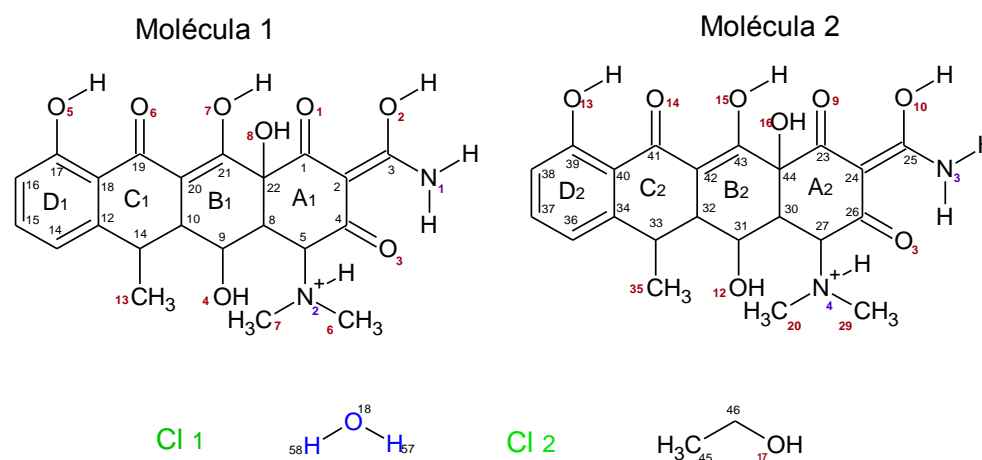


Figura 30. Unidad asimétrica del hiclato de doxiciclina con las etiquetas de los átomos y las etiquetas de los anillos.

El anillo de seis miembros D1 de la molécula (1) posee un valor de Tau menor a  $5,0 \text{ \AA}$  por lo tanto, el anillo no presenta ninguna deformación de los enlaces  $C - C$  y  $C - H$ . Por otra parte, los cinco anillos etiquetados como B1, C1, B2, C2 y D2 correspondientes a las dos moléculas de doxiciclina poseen una deformación leve en los enlaces  $C - C$  del anillo. Sin embargo, la deformación en los anillos A1 y A2 relativamente alta, con valores de  $q_2 = 0,5427 \text{ \AA}$ ,  $q_3 = -0,1487 \text{ \AA}$ ,  $\theta = 105,32^\circ$ ,  $\varphi = 113,1849^\circ$  y  $q_2 = 0,4244 \text{ \AA}$ ,  $q_3 = -0,1637 \text{ \AA}$ ,  $\theta = 111,09^\circ$ ,  $\varphi = 118,7768^\circ$  respectivamente. Estos resultados se corresponden a una conformación

de bote retorcido, como se puede observar en la figura 28. En la tabla 12 se muestran los parámetros de asimetría de los anillos del principio activo.

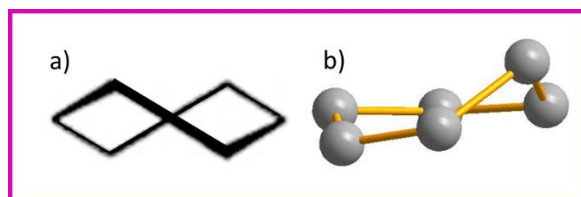


Figura 31. a) Representación gráfica de un twist-boat teórico, b) Representación gráfica de bote retorcido del anillo A1 y A2 del hiclato de doxiciclina.

**9.1.4 Enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina.** La estructura del hiclato de doxiciclina contiene 30 tipos de enlaces de hidrógeno de los cuales la mitad de los enlaces son de tipo no convencional, mientras que la otra mitad son enlaces de hidrógeno convencionales. En la Tabla 13 se muestran los todos los tipos de enlaces de hidrógeno con las respectivas distancias de enlace entre los átomos donadores y aceptores.

Tabla 12.

*Parámetros de asimetría de los anillos del hiclato de doxiciclina.*

PARÁMETROS DE ASIMÉTRIA						
Anillo de 6 miembros A1						
	C(1)	C(2)	C(4)	C(5)	C(8)	C(22)
	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^3$	$sp^3$	$sp^3$
Ángulo de torsión (°)	8.83	28.04	-21.91	-19.49	-53.62	-50.74
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.1841	-0.1271	0.2504	-0.0627	-0.2485	0.3718
	Anillo de 6 miembros B1					
	C(8)	C(9)	C(10)	C(20)	C(21)	C(22)

Q=0.5627

## PARÁMETROS DE ASIMETRÍA

	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	Q=0.4745
Ángulo de torsión (°)	-59.82	39.73	-13.97	6.91	-25.37	50.74	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.3229	-0.2774	0.0909	0.0501	-0.0045	-	0.1820
Anillo de 6 miembros C1							
	<b>C(10)</b>	<b>C(11)</b>	<b>C(12)</b>	<b>C(18)</b>	<b>C(19)</b>	<b>C(20)</b>	
	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	Q=0.5179
Ángulo de torsión (°)	-58.73	46.47	-10.93	-11.41	-4.93	40.40	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.3176	-0.3409	0.1297	0.1049	-0.1283	-	0.0830
Anillo de 6 miembros D1							
	<b>C(12)</b>	<b>C(14)</b>	<b>C(15)</b>	<b>C(16)</b>	<b>C(17)</b>	<b>C(18)</b>	
	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	Tau=2,9
Ángulo de torsión (°)	3.35	0.87	-2.44	-0.28	4.49	-5.97	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.0271	0.0027	0.0179	-0.0140	-0.0104	0.0309	
Anillo de 6 miembros A2							
	<b>C(23)</b>	<b>C(24)</b>	<b>C(26)</b>	<b>C(27)</b>	<b>C(30)</b>	<b>C(44)</b>	
	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	Q=0.4549
Ángulo de torsión (°)	14.77	16.31	-15.10	-16.64	45.85	-46.26	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.1848	-0.0602	0.1782	-0.0511	-0.1938	0.3118	
Anillo de 6 miembros B2							
	<b>C(30)</b>	<b>C(31)</b>	<b>C(32)</b>	<b>C(42)</b>	<b>C(43)</b>	<b>C(44)</b>	
	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	Q=0.4132
Ángulo de torsión (°)	-52.26	33.45	-12.68	9.83	-26.51	46.26	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.2833	-0.2276	0.0684	0.0351	0.0206	-	0.1798
Anillo de 6 miembros C2							

PARÁMETROS DE ASIMETRÍA						
	C(32)	C(33)	C(34)	C(40)	C(41)	C(42)
	$sp^3$	$sp^3$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$
Ángulo de torsión (°)	-56.96	41.99	-8.68	-9.01	-9.65	42.73
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.3153	-0.3120	0.1023	0.1042	-0.1009	-
						0.1088
Anillo de 6 miembros D2						
	C(34)	C(36)	C(37)	C(38)	C(39)	C(40)
	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$
Ángulo de torsión (°)	1.72	1.28	-1.24	-1.79	4.82	-4.72
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.0168	-0.0044	0.0149	-0.0042	-0.0171	0.0275

Tabla 13.

*Enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina.*

$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (°)
$O(2) - H(1) \cdots O(1)$	0,9100	1,6000	2,4721	159,00
$N(2) - H(5) \cdots O(3)$	0,8600	2,3700	2,7190	105,00
$N(2) - H(5) \cdots O(18)$	0,8600	2,1000	2,8680	148,00
$O(4) - H(14) \cdots Cl(1)$	0,7300	2,5200	3,1885	154,00
$O(7) - H(24) \cdots O(1)$	0,8400	2,4700	2,9936	121,00
$O(10) - H(26) \cdots O9$	0,8500	2,1000	2,6674	124,00
$N(3) - H(27) \cdots O(11)$	0,8000	2,0000	2,5389	124,00
$N(4) - H(30) \cdots O(11)$	0,8300	2,1800	2,6686	117,00
$N(4) - H(30) \cdots O(15)$	0,8300	2,4400	3,1211	140,00
$O(15) - H(49) \cdots O(9)$	0,8300	2,4800	2,9625	118,00
$O(15) - H(49) \cdots N(4)$	0,8300	2,5600	3,1211	126,00
$O(16) - H(50) \cdots O(15)$	0,7100	2,2300	2,6566	120,00
$O(16) - H(50) \cdots Cl(1)$	0,7100	2,4600	3,0871	149,00
$O(18) - H(58) \cdots N(2)$	0,8000	2,2300	2,8680	137,00

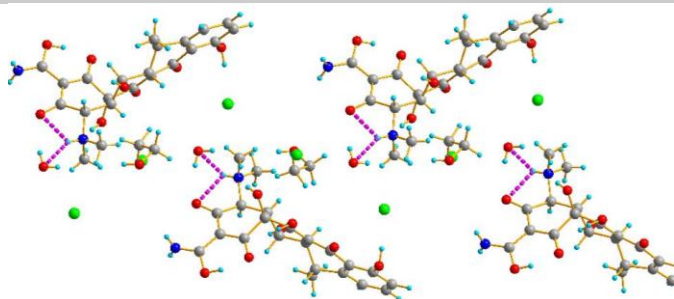
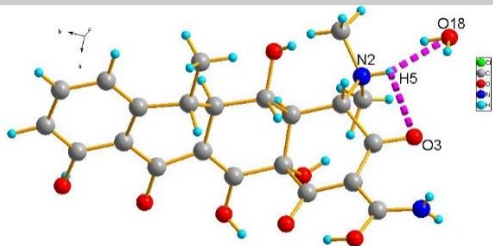
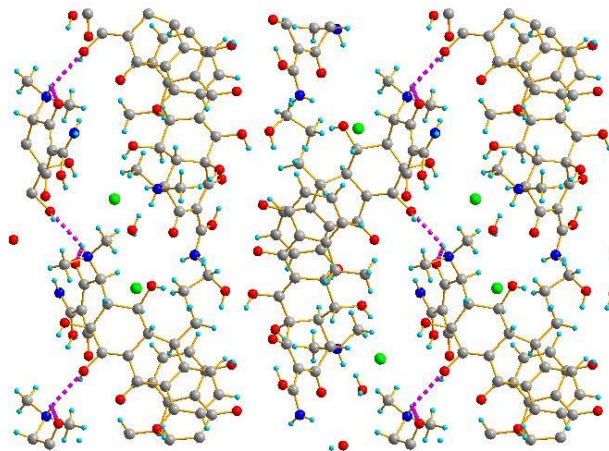
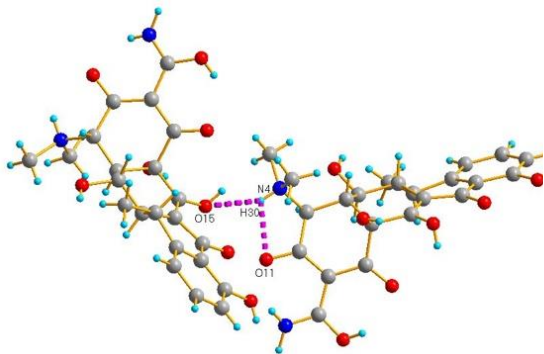
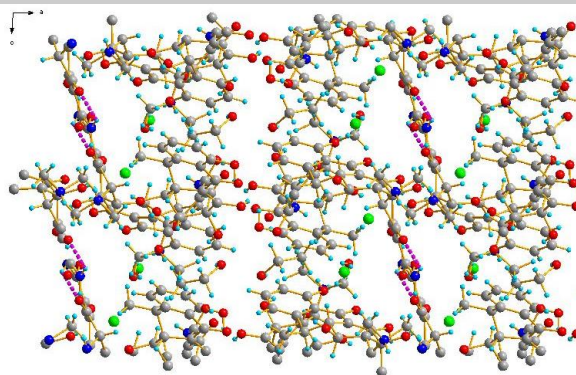
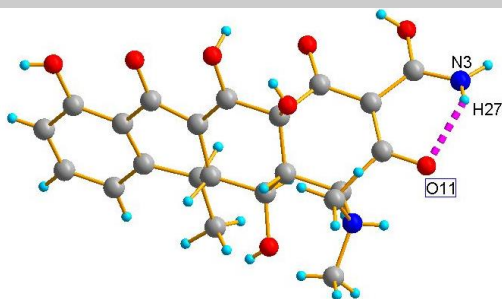
$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (°)
$C(5) - H(4) \cdots Cl(1)$	0,9900	2,7700	3,6823	153,00
$C(5) - H(4) \cdots O(4)$	0,9900	2,3500	2,8390	110,00
$C(6) - H(6) \cdots O(8)$	1,1200	2,0000	2,9819	144,00
$C(6) - H(7) \cdots O(2)$	0,8600	2,4400	3,1644	142,00
$C(7) - H(11) \cdots O(13)$	0,9300	2,3400	3,2656	171,00
$C(8) - H(12) \cdots O(13)$	0,8500	2,4700	3,2751	157,00
$C(13) - H(17) \cdots O(4)$	0,9600	2,2600	2,9064	124,00
$C27 - H(29) \cdots O(12)$	0,9500	2,3100	2,8200	113,00
$C(28) - H(33) \cdots O(16)$	0,9500	2,3800	2,9824	121,00
$C(28) - H(33) \cdots N(3)$	0,9500	2,4400	3,1089	127,00
$C(29) - H(34) \cdots Cl(1)$	0,9500	2,4100	3,2208	143,00
$C(35) - H(44) \cdots O(12)$	0,9200	2,2300	2,9648	136,00
$C(45) - H(51) \cdots Cl(2)$	0,9700	1,8700	2,4727	118,00
$C(45) - H(53) \cdots N(1)$	1,1000	2,4600	3,2693	129,00
$C(46) - H(55) \cdots O(2)$	0,9900	2,4700	3,0094	114,00
$C(46) - H(55) \cdots N(1)$	0,9900	2,5600	3,2314	125,00

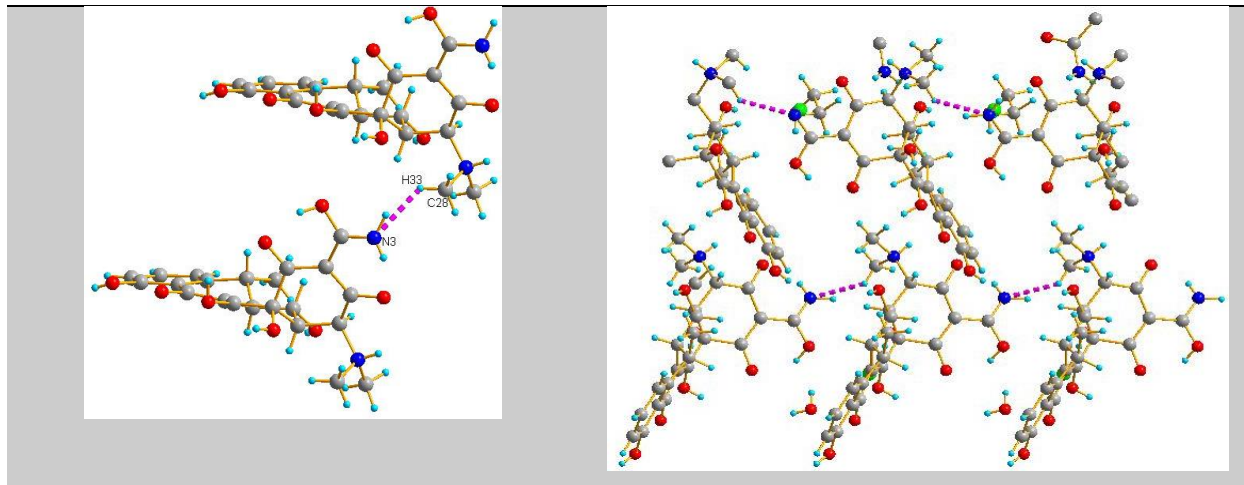
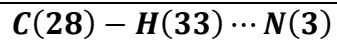
La representación gráfica y la subunidad estructural que forman los principales enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina se encuentra en la Tabla 14.

Tabla 14.

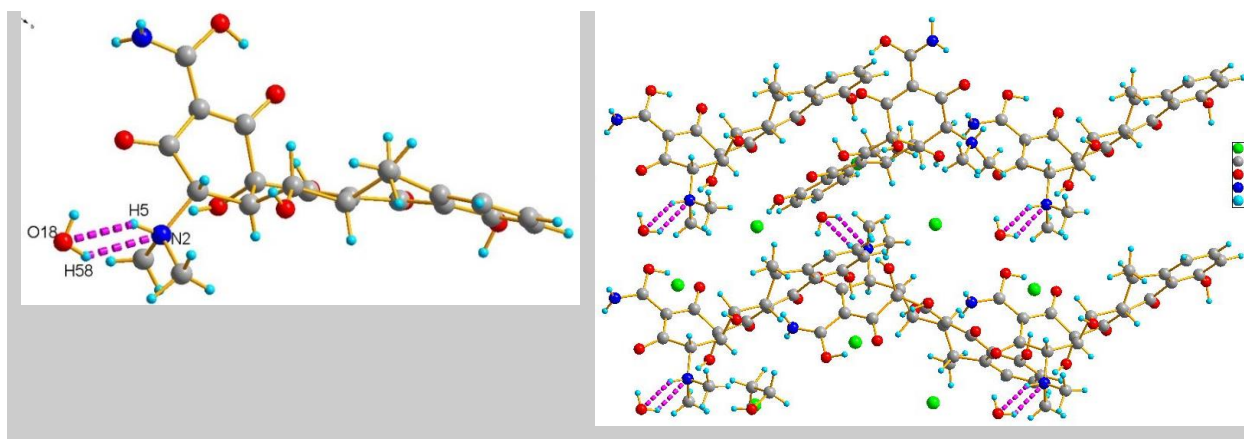
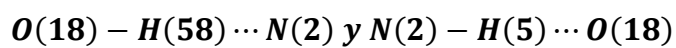
*Visualización de los enlaces de hidrógeno del hiclato de doxiciclina*

Enlaces de hidrógeno con los átomos de nitrógeno

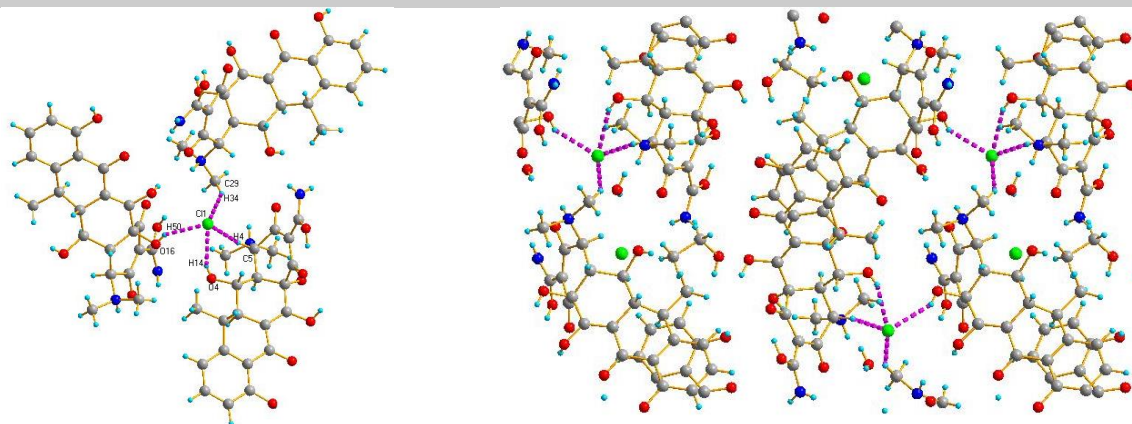
 $N(2) - H(5) \cdots O(3)$  y  $N(2) - H(5) \cdots O(18)$  $N(4) - H(30) \cdots O(15)$  y  $N(4) - H(30) \cdots O(11)$  $N(3) - H(27) \cdots O(11)$ 

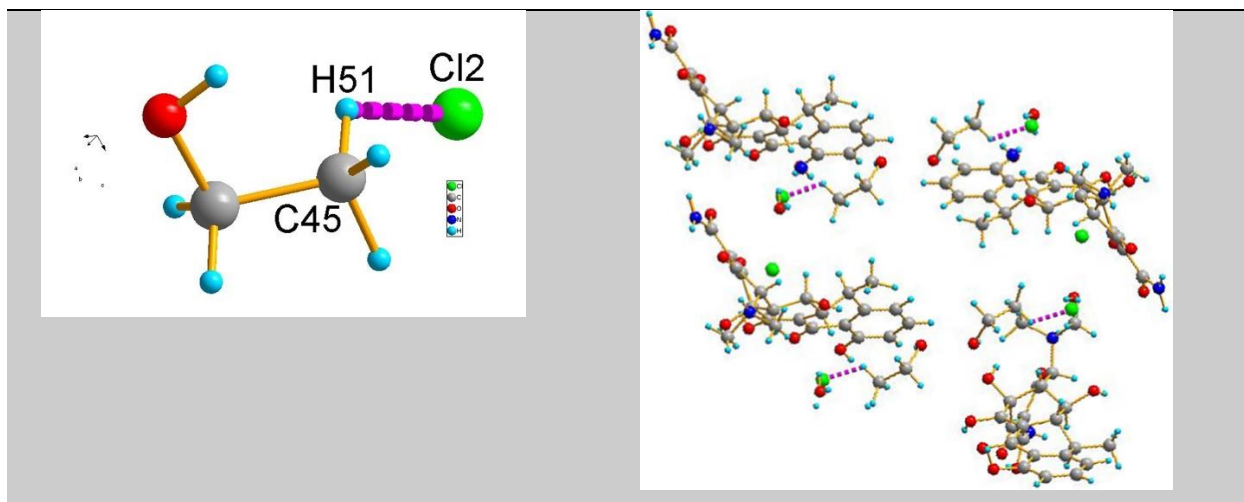
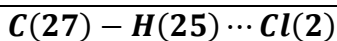


*Enlaces con la molécula de agua*

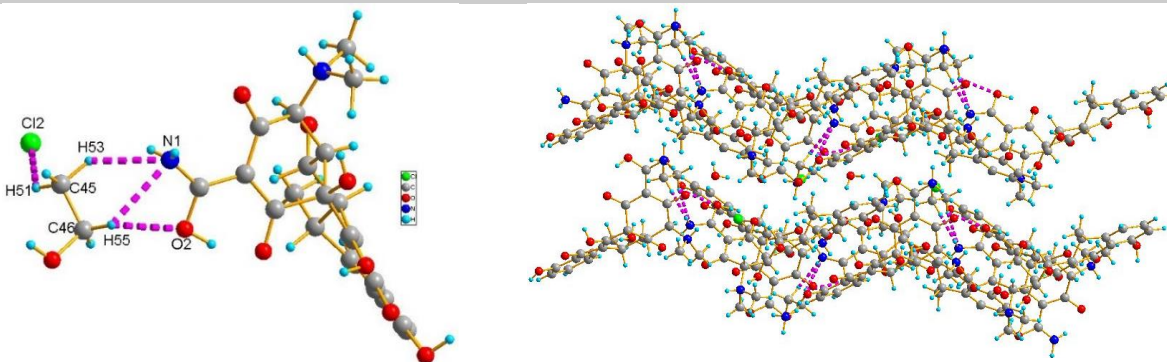
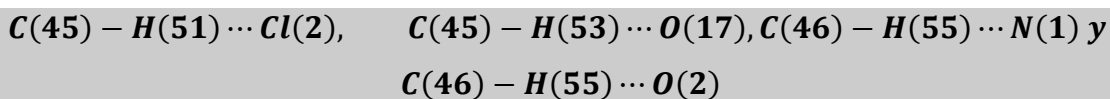


Enlaces de hidrógeno con los átomos de cloro





Enlaces de hidrógeno con la molécula de etanol



**9.1.4.1 Enlaces de hidrógeno formados por los átomos de nitrógeno del grupo amino y de la amida.** Los enlaces de hidrógeno que involucran al  $H(5)$  del átomo de nitrógeno  $N(2)$  del grupo amino ubicado en el anillo A1 de la molécula 1, forman un enlace bifurcado intramolecular e intermolecular del tipo homomolecular y heteronuclear con el  $O(3)$  y  $O(18)$  de la molécula de agua respectivamente, formando dímeros discretos a lo largo del eje  $c$ . Por otra parte, los enlaces de hidrógeno formados por el átomo de nitrógeno del grupo amino de la molécula 2 ubicado en el anillo A2 son del tipo homomolecular y heteronuclear, el primero corresponde a  $N(4) -$

$H(30) \cdots O(15)$  que forma cadenas en *zig – zag* a lo largo del eje b mientras que el enlace de hidrógeno  $N(4) – H(30) \cdots O(11)$  es un enlace intramolecular que forma un anillo de cinco miembros descrito por el grafo  $R(5)$ . El primer enlace de hidrógeno formado por el grupo funcional de la amida de la molécula 2 es el  $N(3) – H(27) \cdots O(11)$  el cual, es un enlace intramolecular que adopta una conformación de anillo de 6 miembros ( $R(6)$ ). El segundo enlace formado es  $C(28) – H(33) \cdots N(3)$  en el cual, el nitrógeno actúa como átomo aceptor a diferencia del primer tipo de enlace de hidrógeno que forma; este enlace es heteronuclear conformado entre  $C(28)$  del grupo amino de la molécula 2 (como átomo donador del enlace) con el átomo de nitrógeno de la amida protonada de otra molécula del mismo tipo, formando dímeros discretos a lo largo del eje *a*.

**9.1.4.2 Enlaces de hidrógeno formados por la molécula de agua.** Los enlaces  $O(18) – H(58) \cdots N(2)$  y  $N(2) – H(5) \cdots O(18)$  forman dímeros discretos a lo largo del eje *a*. Los enlaces están conformados entre una molécula de agua y el grupo amino de la molécula 1 que actúan simultáneamente como átomos donores y aceptores del enlace de hidrógeno estableciendo un enlace cooperativo.

**9.1.4.3 Enlaces de hidrógeno formados por los átomos de cloro.** Los enlaces de hidrógeno formados por el átomo de  $Cl(1)$  son  $O(4) – H(12) \cdots Cl(1)$ ,  $O(17) – H(50) \cdots Cl(1)$ ,  $C(29) – H(34) \cdots Cl(1)$  y  $C(7) – H(10) \cdots Cl(1)$  en los cuales, el cloro actúa como átomo aceptor del enlace de hidrógeno y permite la unión de dos moléculas 1 y una molécula 2 es decir, se producen simultáneamente cuatro enlaces de hidrógeno desde cuatro centros donadores diferentes hacia un átomo aceptor común.

Por otra parte, el  $Cl(2)$  forma un único enlace de hidrógeno del tipo heteronuclear e intramolecular  $C(27) - H(25) \cdots Cl(2)$  conformado entre el carbono del metilo terminal del etanol con el  $Cl(2)$  para formar dímeros discretos a lo largo del eje  $b$ .

**9.1.4.4 Enlaces de hidrógeno formados por la molécula de etanol.** El etanol forma cuatro tipos de enlaces de hidrógeno, por un lado, con la amida protonada de la molécula 2 y por el otro con el  $Cl(2)$ . Los enlaces  $C(45) - H(53) \cdots N(1)$  y  $C(46) - H(55) \cdots N(1)$  establecen un enlace bifurcado a través del  $N(1)$  sobre los dos hidrógenos unidos a los átomos de carbono  $C(45)$  y  $C(46)$  de la molécula de etanol. Aunque simultáneamente el  $H(55)$  también establece un enlace bifurcado con el  $O(2)$  a través del enlace  $C(46) - H(55) \cdots O(2)$  y el  $N(1)$  de la amida protonada de la molécula 1. Estos conjuntos de enlaces forman dímeros directos a lo largo de eje  $a$ .

**9.1.4.5 Interacciones moleculares tipo  $\pi \cdots \pi$ .** Otro tipo de interacciones cortas aparte de los enlaces de hidrógeno son las interacciones de tipo  $\pi \cdots \pi$  que se producen a través de los centroides  $Cg(1)$  y  $Cg(2)$  de los anillos de 6 miembros D1 y D2. En la Tabla 15 se muestran las coordenadas de cada uno de los centroides.

Tabla 15.

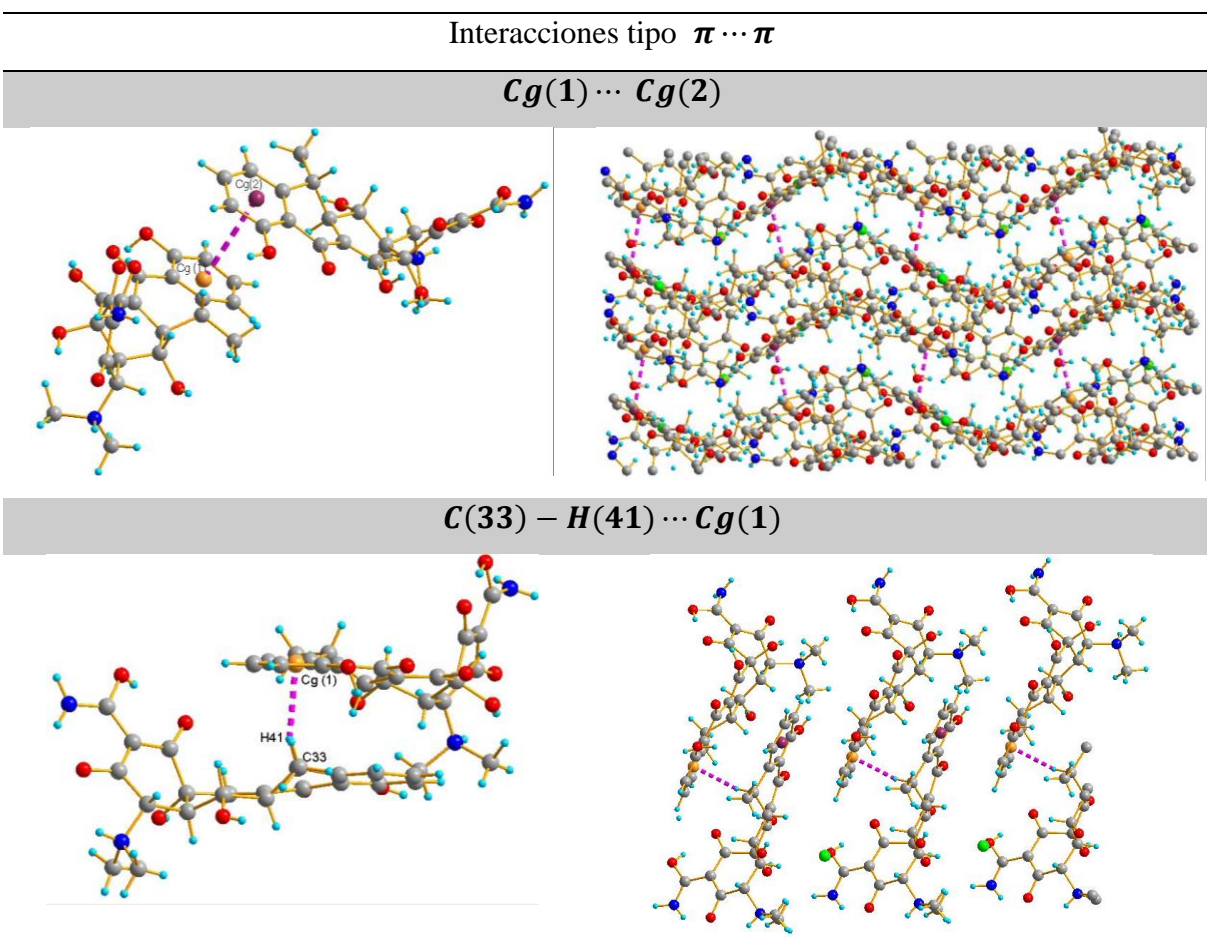
*Coordenadas de las posiciones de los centroides de los anillos aromáticos del hiclato de doxiciclina*

Centroide		
Coordenadas	<b><i>Cg (1) (Anillo D1)</i></b>	<b><i>Cg (2) (Anillo D2)</i></b>
X (Å)	0,310583	0,347533
Y (Å)	1,086850	0.044700
Z (Å)	-0,287017	0,283830

La representación gráfica de los cetroides se muestra en la Tabla 16. Las interacciones  $Cg(1) \cdots Cg(2)$  y las interacciones tipo  $C - H \cdots \pi$  entre  $C(33) - H(41)$  del anillo C2 y el  $Cg(1)$  se producen a una distancia de 4.779 Å y 2.47 Å respectivamente.

Tabla 16.

Interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$  entre  $Cg(1) \cdots Cg(2)$ ,  $X - H \cdots Cg(1)$



**9.1.4.6 Análisis de la superficie de Hirshfeld.** La forma de empaquetamiento de moléculas orgánicas pequeñas para formar cristales está determinada por un tipo de interacción molecular ya sea, interacciones de Van der Waals o enlaces de hidrógeno. No obstante, el empaquetamiento global del cristal está dado por una combinación de muchos tipos de fuerzas intermoleculares que

deben ser consideradas. Un análisis utilizando la superficie de Hirshfeld permite la visualización, exploración y cuantificación de todos los contactos intermoleculares cercanos de la estructura, debido a que, define el espacio ocupado por una molécula en un cristal dividiendo la densidad electrónica del cristal en fragmentos moleculares.

El programa *CrystalExplorer* permite explorar una amplia gama de propiedades entre las que se encuentran:

$d_e$ : Distancia desde un punto en la superficie de Hirshfeld hasta el núcleo de los átomos más cercanos fuera de la superficie.

$d_i$ : Distancias desde un punto de la superficie de Hirshfeld hasta el núcleo de los átomos más cercanos dentro de la superficie.

$d_{norm}$ : Distancia de contacto normalizada definida en términos de  $d_i$  y  $d_e$  es decir, utilizando el radio de Van der Waals del átomo interno apropiado y átomo externo de la superficie.

Los contactos con distancias iguales a la suma de los radios de Van der Waals se muestran en color blanco, los contactos con distancias más cortas que la suma de los radios de Van der Waals en color rojo y los contactos con distancias más largas que los valores de suma de los radios de van de Waals se muestran azul.

**Indice de forma (Shape index)**: Representa el índice de forma en términos de la curvatura; se utiliza para identificar los huecos complementarios (rojo) y protuberancias (azul) en la cual dos superficies moleculares se tocan entre sí.

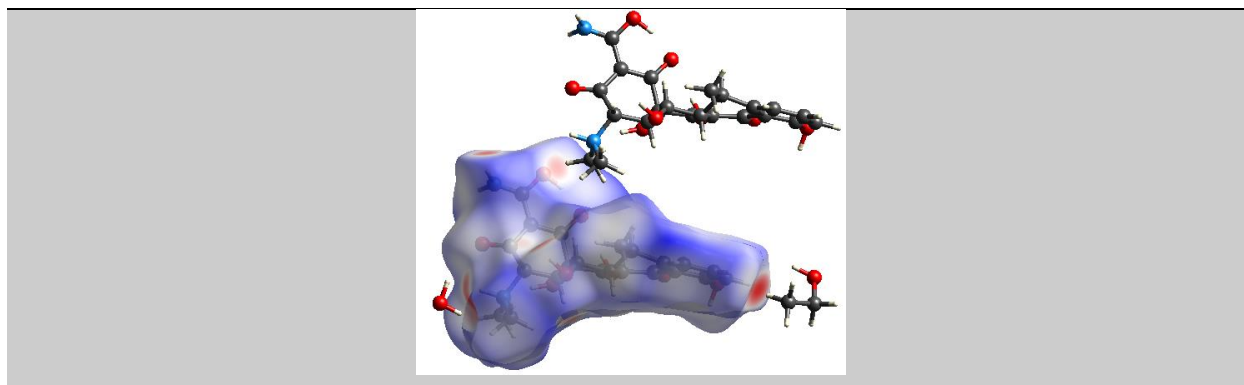
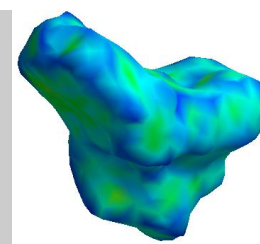
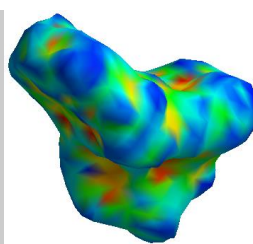
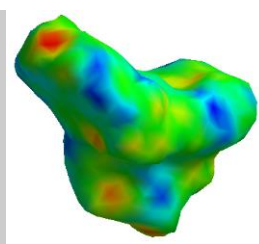
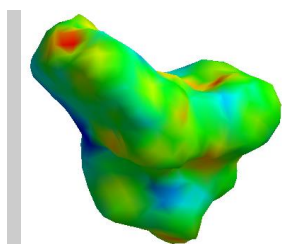
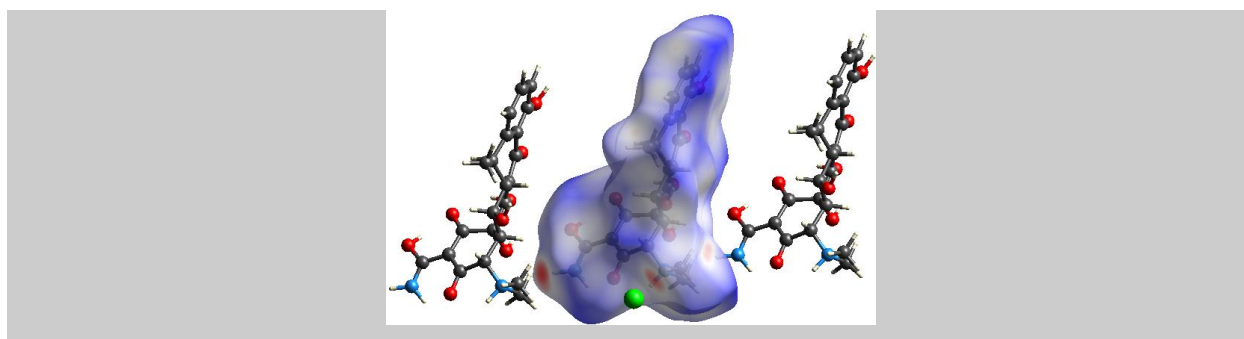
**Curvatura (Curvedness)**: Es una función de la curvatura cuadrática media de la superficie; determina las diversas formas en las que las moléculas se agrupan. La curvatura muestra grandes regiones de color verde (relativamente planas) separadas por bordes azules oscuro (curvatura positiva grande)

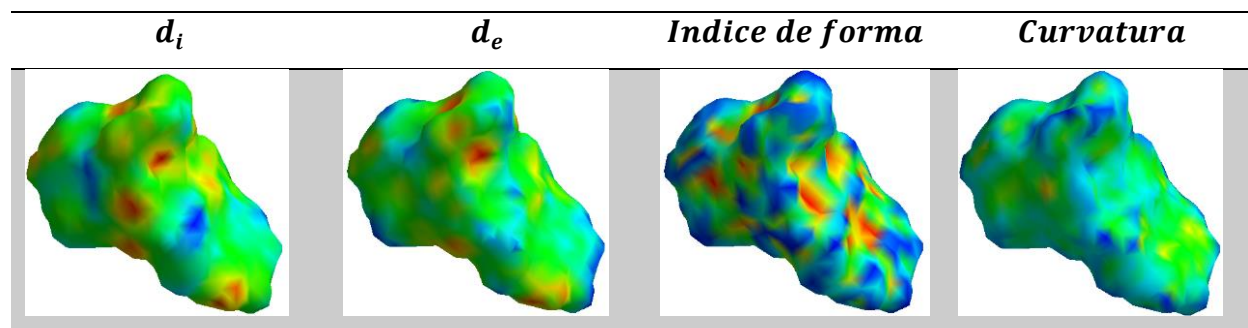
Con el fin de definir el espacio ocupado por las moléculas del hiclato de doxiciclina se realiza un análisis a través de los mapas de superficies de Hirshfeld generadas para el hiclato de doxiciclina. Las superficies  $d_{norm}$  se muestran transparentes para permitir la visualización de la orientación de la estructura molecular, la cual es la misma para todas las superficies; el volumen de superficie de Hirshfeld de las dos moléculas que componen la unidad asimétrica es de  $985,71 \text{ \AA}^3$  es decir 41,51% que corresponde aproximadamente la mitad del volumen total de la celda unidad y debido a que  $Z = 4$ , este valor es razonable con relación a la cantidad de moléculas por celda unidad.

En la Tabla 17 se muestran las superficies de Hirshfeld correspondientes a las moléculas 1 y 2, en la cual se observan zonas rojas que representan las interacciones más fuertes. Por un lado la molécula 1 interacciona con una molécula de etanol, agua y una molécula 1 a través de los enlaces de hidrógeno  $C(45) - H(53) \cdots N(1)$ ,  $N(2) - H(5) \cdots O(18)$  y  $C(6) - H(7) \cdots O(2)$ , mientras que la molécula 2 interacciona fuertemente con dos moléculas del mismo tipo y el  $Cl(1)$  por medio de los enlaces  $C(28) - H(33) \cdots N(3)$ ,  $C(28) - H(33) \cdots O(16)$  y  $C(29) - H(34) \cdots Cl(1)$ .

Para determinar la fortaleza de los enlaces de hidrógeno y estimar la importancia de estos en la estabilidad de la red cristalina del hiclato de doxiciclina a través de las moléculas que acompañan la estructura molecular de la doxiciclina, es decir, el hiclato (una molécula de etanol y una de agua) y dos átomos de cloro, se ha realizado un análisis de la superficie de Hirshfeld. La superficie de Hirshfeld de los compuestos se muestra en la Tabla 18 donde se puede observar de manera efectiva secciones con grandes depresiones circulares de color rojo intenso representando las interacciones más significativas.

Tabla 17.

*Superficies de Hirshfeld generadas para la molécula 1 y 2.***Molécula 1****Volumen = 487,83 Å<sup>3</sup>,    área = 398,62 Å<sup>2</sup>***d<sub>i</sub>**d<sub>e</sub>**Indice de forma**Curvatura***Molécula 2****Volumen = 491,88 Å<sup>3</sup>,    área = 404,78 Å<sup>2</sup>**



Para la molécula de etanol se pueden observar tres zonas circulares de color rojo intenso que representan los enlaces de hidrógeno realizados entre la molécula de etanol, y un átomo de cloro a través del enlace  $C(45) - H(51) \cdots Cl(2)$  y con dos moléculas 1 a través del grupo  $NH_2$  de la amida y un hidrógeno del anillo D1. La zona roja mostrada para la molécula de agua se produce debido a la interacción del oxígeno del agua sobre el átomo de hidrógeno del  $N(2)$  del grupo amida de la molécula 1.

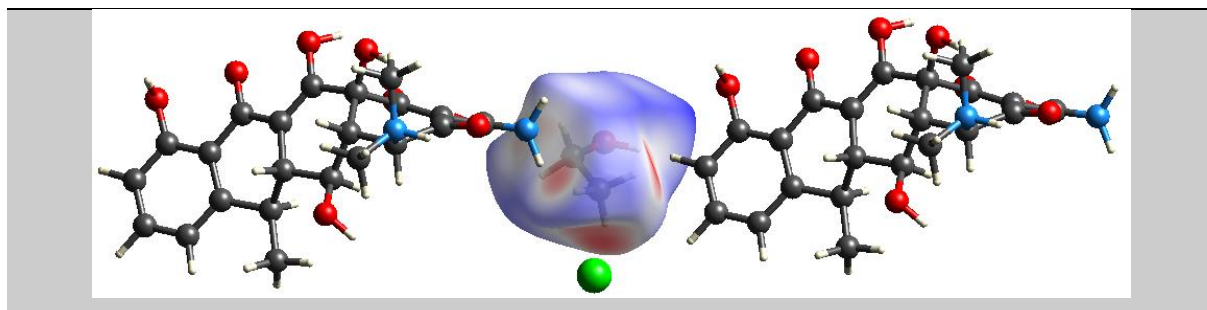
Finalmente, en las superficies de Hirshfeld para los átomos de cloro mostrados en la Tabla 18 se observa que las zonas rojas más intensas para el  $Cl(1)$  se debe a la interacción con una molécula 1 y dos moléculas 2 mientras que el  $Cl(2)$  únicamente interacciona fuertemente con el carbono terminal del etanol.

Tabla 18.

Superficies de Hirshfeld generadas para las moléculas de etanol, agua y los átomos de cloro.

**Etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ )**

**Volumen = 76,73 Å<sup>3</sup>,    área = 96,90 Å<sup>2</sup>**

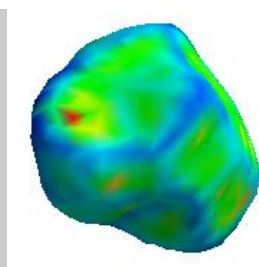
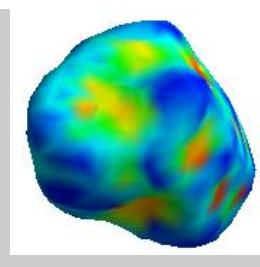
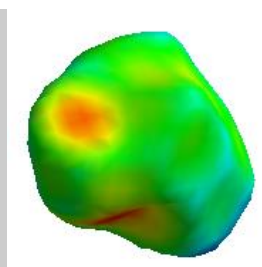
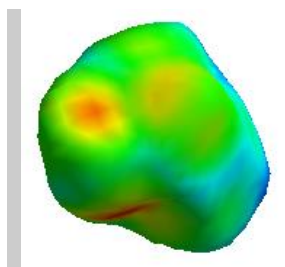


$d_i$

$d_e$

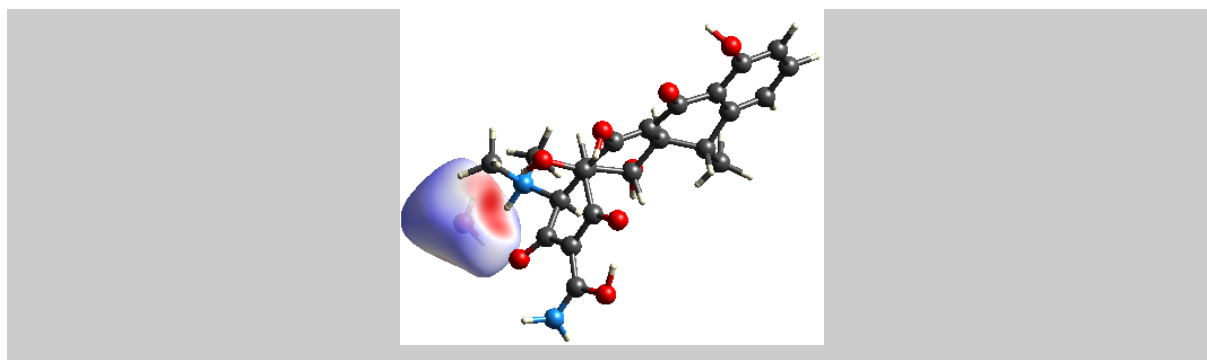
Indice de forma

Curvatura



**Agua ( $\text{H}_2\text{O}$ )**

**Volumen = 23,83 Å<sup>3</sup>,    área = 43,15 Å<sup>2</sup>**

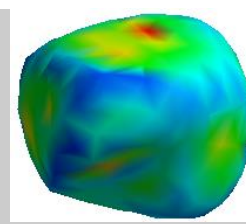
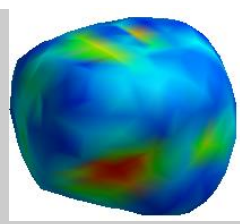
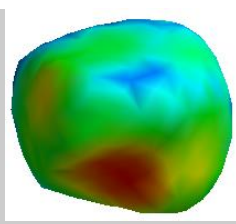
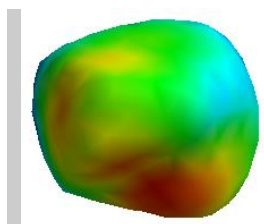


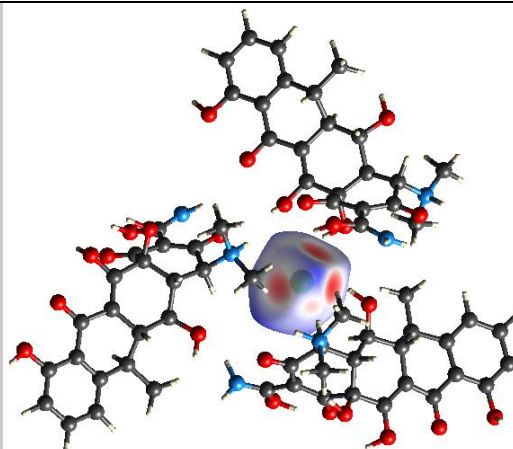
$d_i$

$d_e$

Indice de forma

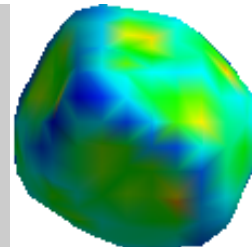
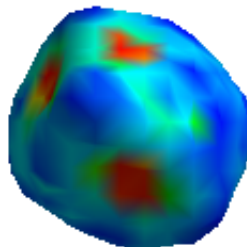
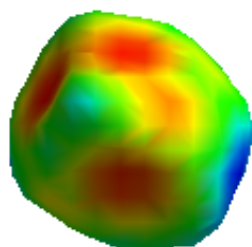
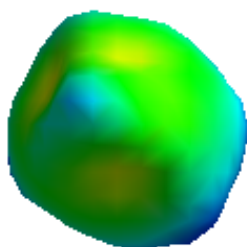
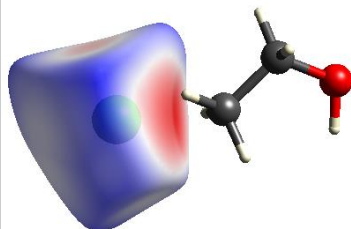
Curvatura



*Cloro – Cl(1)* $Volumen = 30,12 \text{ \AA}^3, \quad \acute{a}rea = 50,65 \text{ \AA}^2$  $d_i$  $d_e$ 

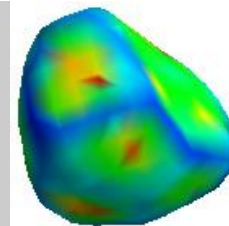
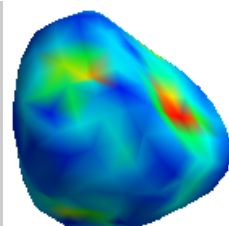
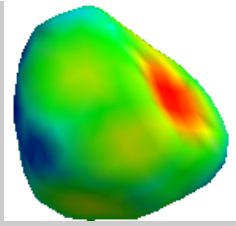
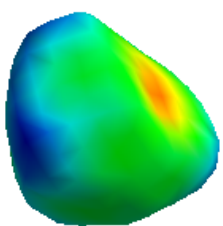
Indice de forma

Curvatura

*Cloro – Cl(2)* $Volumen = 27,20 \text{ \AA}^3, \quad \acute{a}rea = 46,96 \text{ \AA}^2$  $d_i$  $d_e$ 

Indice de forma

Curvatura



La forma en la que empaquetan las moléculas que componen el principio activo se puede observar a partir de las superficies de Hirshfeld en función de la curvatura, debido a que los mapas de curvatura muestran grandes regiones de color verde (relativamente planas) separadas por bordes azul oscuro (curvatura positiva grande) mostrando disposiciones de apilamiento planas, e incluso las formas en que las moléculas adyacentes se compactan entre sí. La forma en las que se compactan las moléculas del hiclato de doxiciclina se muestra a continuación:

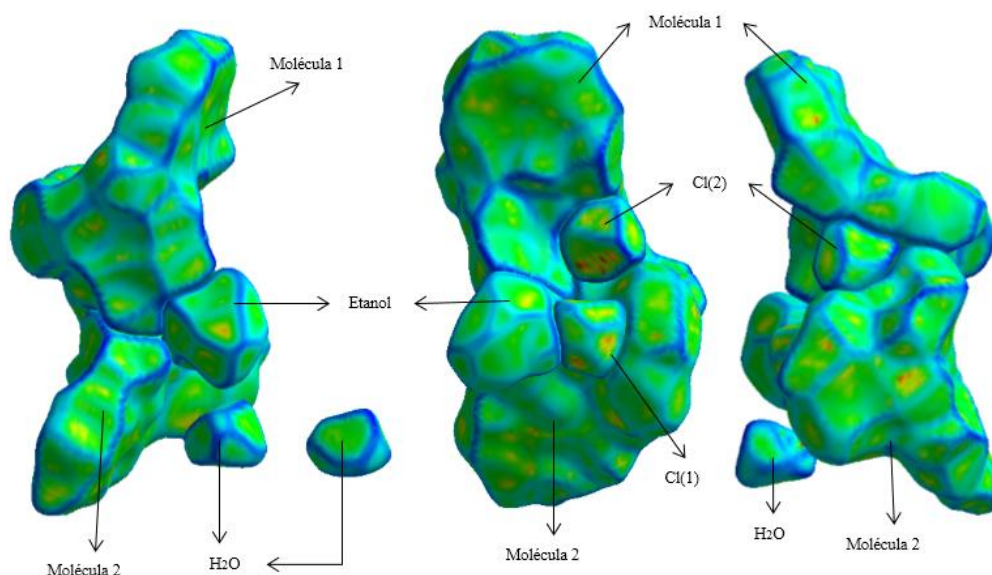


Figura 32. Representación gráfica del apilamiento de las moléculas del hiclato de doxiciclina con la superficie de Hirshfeld en función de la curvatura.

**9.1.4.7 Validación de la geometría por Mercury Mogul Check.** Mediante el programa *Mercury Mogul Check* se analizaron los ángulos de torsión de los enlaces de libre rotación de la molécula 1 y 2 con el fin de verificar si se encontraban dentro de los rangos normales. Los ángulos de torsión analizados fueron los correspondientes al grupo funcional amida, y al grupo amino para ambas moléculas, además de la configuración del anillo A1 y A2 mostrados en la Figura 30 y 31, encontrándose que todos se encontraban dentro de los rangos normales reportados.

Se verificaron los ángulos de torsión en comparación con la distribución de torsiones para el ángulo entre  $C(4) - C(5) - N(2) - C(7)$  de la molécula 1 que corresponde al grupo funcional dimetilamina unido al anillo A1, el cual tiene un ángulo de torsión de  $162,520^\circ$ , presentando 70 coincidencias en la base de datos de *Mercury Mogul*; este mismo enlace también se presenta en la molécula 2 entre los átomos  $C(26) - C(27) - N(4) - C(29)$  correspondiente al grupo funcional dimetilamina del anillo A2, con un ángulo de torsión de  $151,618^\circ$  y 70 coincidencias.

Por otra parte, también se verificó el ángulo de torsión del grupo funcional amida sustituyente del anillo A1 y A2 de la molécula 1 y 2, formado entre los átomos  $C(4) - C(2) - C(3) - N(1)$  y  $C(26) - C(24) - C(25) - N(3)$  con ángulos de torsión  $12,492^\circ$  y  $12,273^\circ$  respectivamente, presentando 35 coincidencias en la base datos. Finalmente, se analizó la configuración de anillo A1 y A2 compuestos por los átomos  $C(5) - C(4) - C(2) - C(1) - C(22) - C(8)$  y  $C(23) - C(24) - C(26) - C(27) - C(30) - C(44)$  respectivamente, encontrándose 27 coincidencias para este tipo de configuración en la base de datos

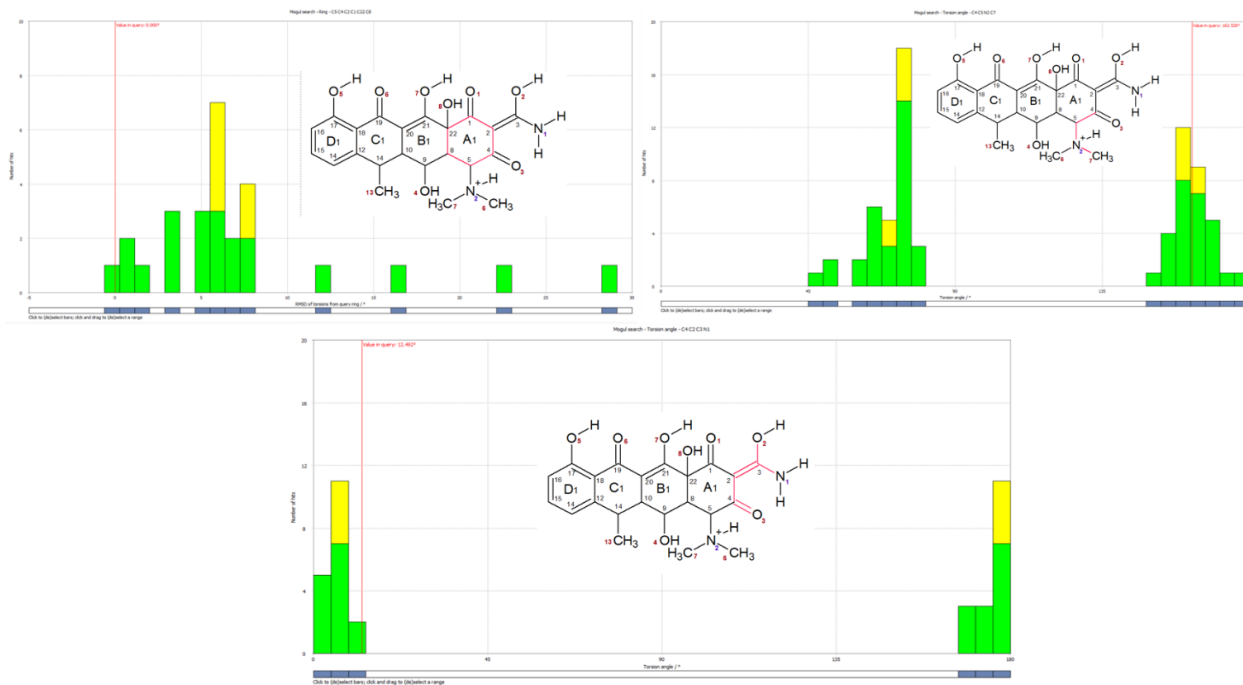


Figura 33. Ángulos de torsión de la molécula 1 de DH

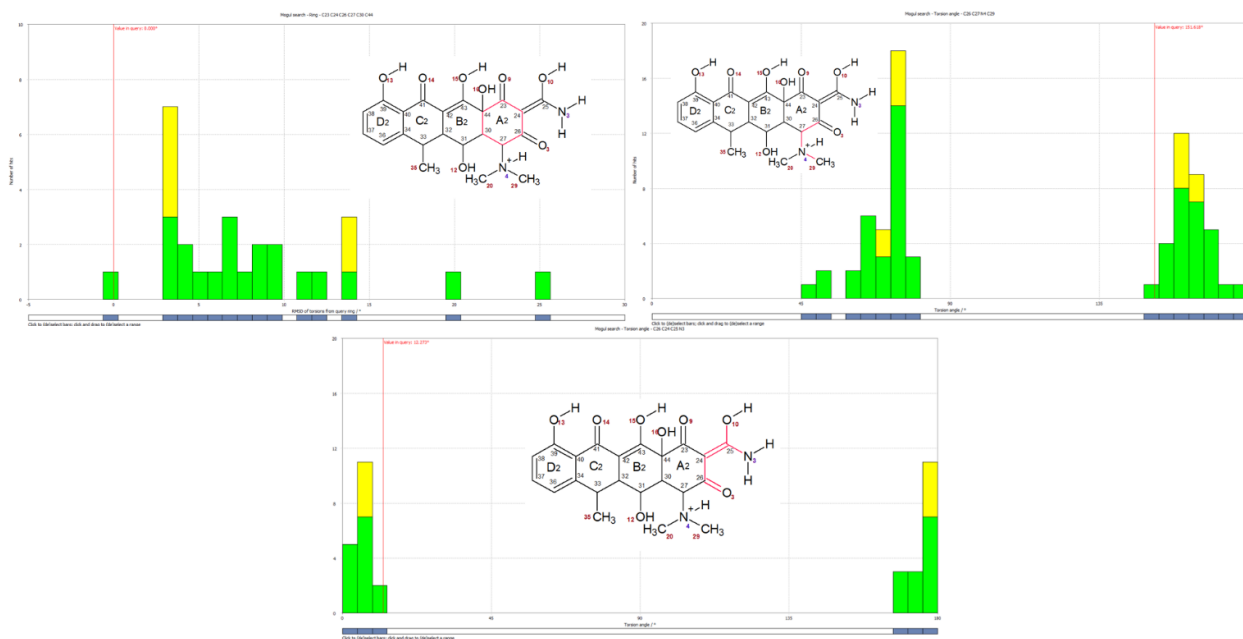


Figura 34. Ángulos de torsión de la molécula 2 de DH



**9.2.1 Proceso de secado por Liofilización del hiclato de doxiciclina en el estado sólido (DHSLIOF) y disuelto en agua destilada (DHDLIOF).** El proceso de secado por liofilización del hiclato de doxiciclina se realizó de dos diferentes formas durante 7 días. La primera se efectuó con el principio activo en sólido etiquetado como **DHSLIOF**; la segunda forma se realizó diluyendo en principio activo en 1 mL de agua destilada etiquetada como **DHDLIOF**. Después del proceso de liofilización se puede observar que presentó cambios en la coloración y otros aspectos cualitativos como se muestra a continuación:

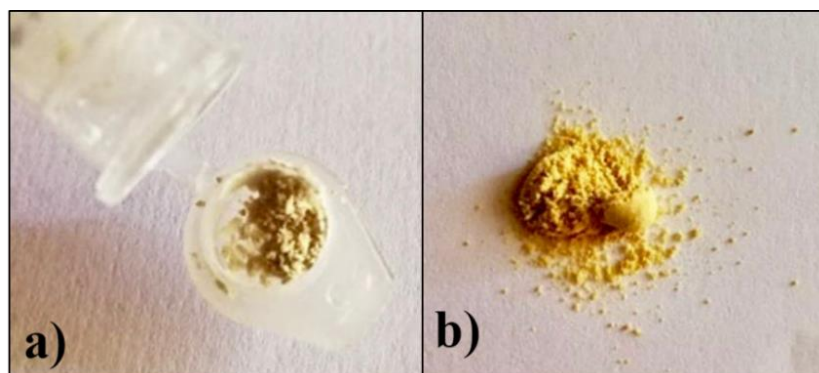


Figura 36. Hiclato de doxiciclina después del proceso de liofilización a) DHDLIOF y b) DHSLIOF

**9.2.1.1 Análisis por FT-IR de DHSLIOF y DHDLIOF.** Con el fin de analizar las variaciones y cambios de las muestras DHSLIOF y DHDLIOF después del proceso de secado por liofilización, se realizó la caracterización de los productos mediante el espectro FT-IR de cada uno comparado con el principio activo de partida. En la Figura 34 y Tabla 19 se muestran las ausencias y presencias de nuevas las bandas para cada uno de los productos.

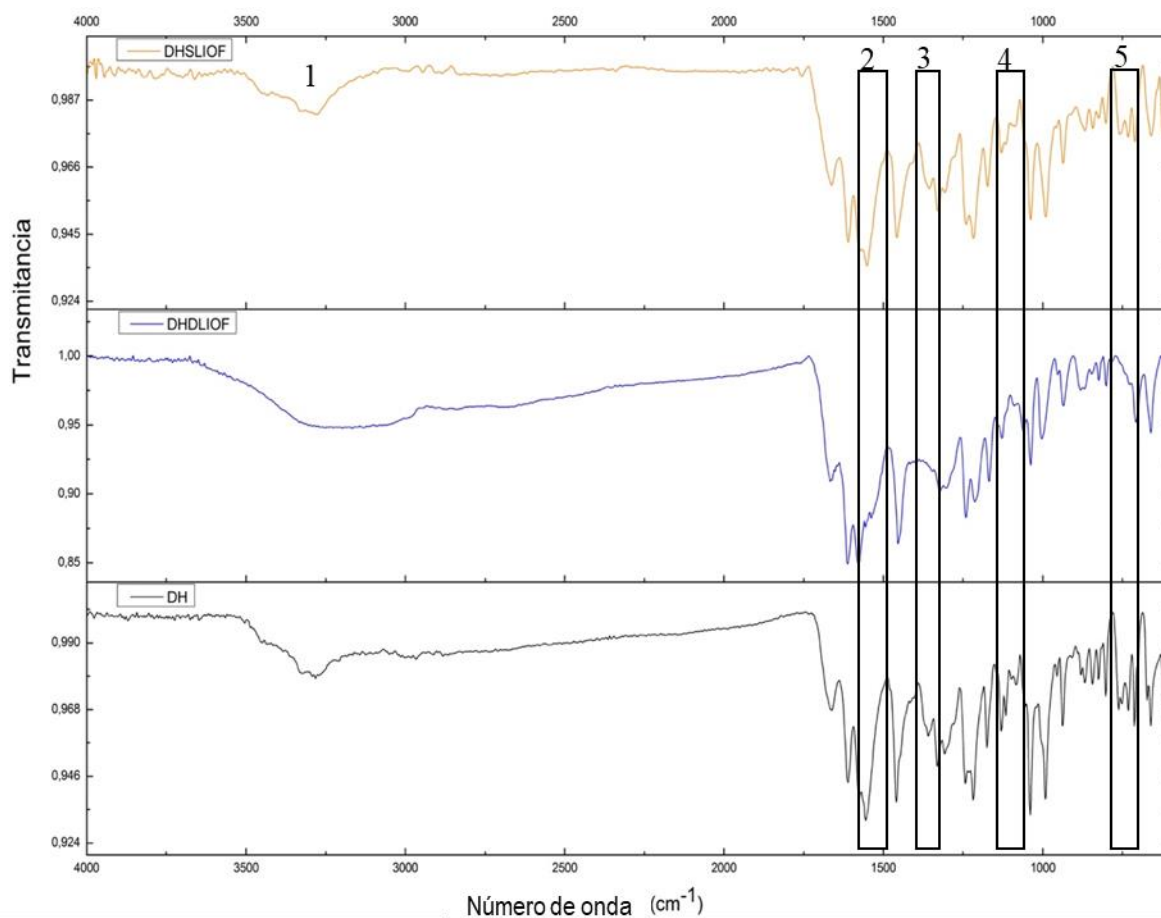


Figura 37. Espectro FT-IR del hiclato de doxiciclina comercial (DH), hiclato de doxiciclina diluida liofilizada (DHDLIOF) e hiclato de doxiciclina comercial liofilizada (DHSLIOF).

En la Tabla 19 se encuentra la asignación de las bandas resueltas y no resueltas para cada uno de los productos. En el espectro de la doxiciclina hiclato comercial liofilizado (DHSLIOF) se puede observar que las bandas presentes, comparadas con las bandas del espectro del principio activo de referencia DH, son las mismas pero con menor intensidad, por lo tanto, la molécula de agua como la del etanol no fueron retiradas de la estructura después del proceso de liofilización, ya que, era necesario una mayor energía para romper las interacciones y enlaces de hidrógeno que se encontraban formando dentro de la estructura cristalina. Por el contrario, en la muestra de la doxiciclina hiclato diluida y seguidamente liofilizada (DHDLIOF) se puede observar varios

cambios en el espectro. El primero se observa en la región 1, en la cual, se produce un ensanchamiento de la banda que se extiende dentro del intervalo de  $3300\text{ cm}^{-1}$  a  $2950\text{ cm}^{-1}$  debido a la influencia de los grupos  $-OH$  produciéndose un solapamiento con las señales del grupo funcional amina. El segundo cambio se encuentra en las siguientes regiones, debido a que se exhibe la presencia de nuevas señales en la región 2 y no se observan las bandas correspondientes a la torsión del enlace  $C - OH$  proveniente del etanol, estiramientos del alcoxilo y flexiones fuera del plano  $C - H$  en las regiones 3, 4 y 5. Estos cambios estructurales son causados por la pérdida de las moléculas de etanol y agua, la cuales, al encontrarse en un estado de mayor libertad dentro de la solución permiten su extracción junto con las moléculas del solvente.

Tabla 19.

*Bandas del espectro FT-IR presentes y ausentes de DH, DHD LIOF y DHS LIOF en diferentes condiciones*

Región ( $\text{cm}^{-1}$ )	SEÑALES			Asignación
	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )			
	DH	DHD LIOF	DHS LIOF	
<b>1</b> (3000-2900)	2979 y 2927	2979 y 2927	2979 y 2927	Estiramientos $C-H$ y $CH_3$
<b>2</b> (1570 - 1450)	–	1577 y 1537	-	Enlaces $C = O$ y $N - H$
<b>3</b> (1400 -1250)	1358	–	1361	Torsión del ángulo del enlace $C - O - H$ del etanol
<b>4</b> 1160-1050	1115	–	1115	Estiramiento de los enlaces alcoxi $C - O$

SEÑALES				
Región ( $cm^{-1}$ )	Número de onda ( $cm^{-1}$ )			Asignación
	DH	DHD LIOF	DHS LIOF	
5 (800-600)	760, 751 y 730	–	760, 751 y 730	Flexiones fuera del plano de enlaces C-H y flexiones en el enlace $-CH_2-$

**9.2.1.2 Análisis térmico por TGA-DSC de DHSLIOF y DHDLIOF.** Para el análisis por calorimetría de barrido diferencial (DSC) de DHSLIOF y DHDLIOF mostrado en la Figura 35 se observa que las curvas son diferentes, indicando diferencias en las estructuras cristalinas. Para la muestra DHSLIOF, la primera señal se encuentra en el intervalo de temperaturas de **149,8 °C – 174,9 °C** con un  $T_p = 163,9 °C$  perteneciente a la transición endotérmica ( $Ed_1$ ), que corresponde a la pérdida de las moléculas de etanol y agua. La segunda señal se encuentra alrededor de los **209,7 °C** atribuida a la temperatura de fusión del material. La tercera señal involucra una transición exotérmica ( $Ex_1$ ) correspondiente a la descomposición de DHSLIOF en el intervalo de **209,1 °C – 232,3 °C** con una  $T_p = 224,8 °C$ .

Para DHDLIOF únicamente se observan las señales correspondientes a la temperatura de fusión (**204,7 °C**), la descomposición del material dentro del intervalo **209,1 °C – 232,3 °C** con  $T_p = 222,5 °C$ .

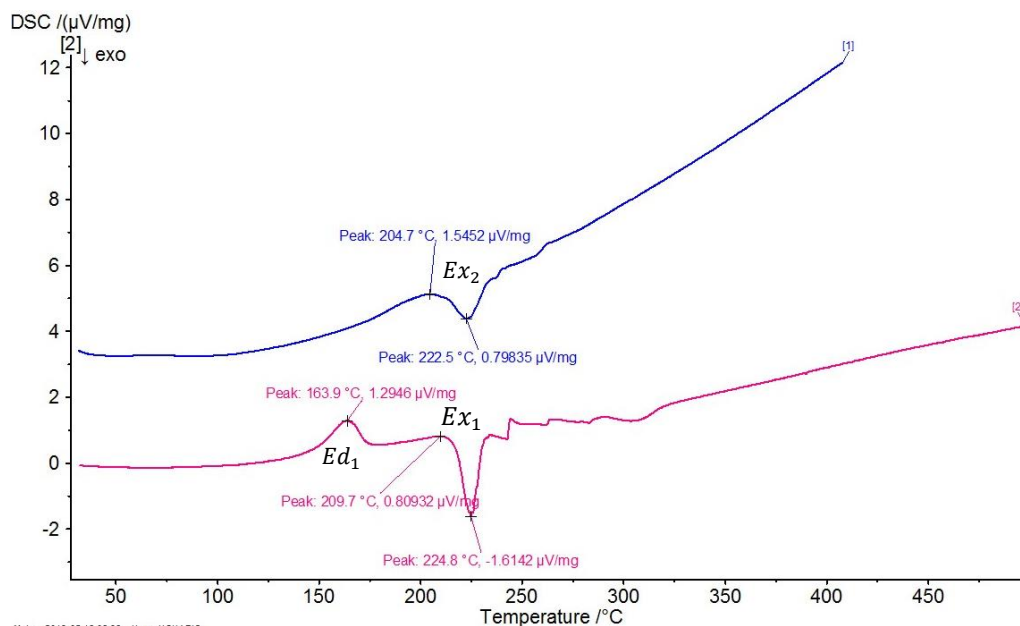


Figura 38. DSC obtenidos a partir de DHDLIOF (línea azul) y DHSLIOF (línea fucsia)

Al compararse la temperatura en la que se produce la pérdida del etanol y el agua, temperatura de fusión y la descomposición de DHSLIOF con la materia prima (DH), se observa una diferencia de  $3,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $2,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  por encima y  $1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  por debajo, respectivamente, del valor obtenido para DH. Por otro parte, en DHDLIOF la diferencia entre la temperatura de fusión y descomposición del material con respecto a DH se encuentra alrededor de los  $1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  respectivamente.

En el análisis termogravimétrico (TGA) (Figura 36) de DHSLIOF muestra que el material es térmicamente estable hasta aproximadamente una temperatura de  $145\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Además, se observan cuatro pérdidas de masa, la primera se produce en el rango de  $148,4\text{ }^{\circ}\text{C} - 187,4\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una pérdida de masa de  $5,86\%$ . La segunda se encuentra dentro del intervalo de  $187,4\text{ }^{\circ}\text{C} - 250,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una pérdida de masa de  $21,06\%$ . Finalmente, la tercera y cuarta pérdida de masa de  $11,53\%$  y  $7,36\%$  ubicado en los intervalos de  $250,7,2\text{ }^{\circ}\text{C} - 350,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $350,2\text{ }^{\circ}\text{C} - 500,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Por otro lado, para DHDLIOF se producen dos pérdidas de masa en los intervalos de  $275,1\text{ }^{\circ}\text{C} -$

321,4 °C y 321,4 °C – 500,7 °C que corresponden a los porcentajes de pérdida de masa de 26,09 % y 7,94 % respectivamente.

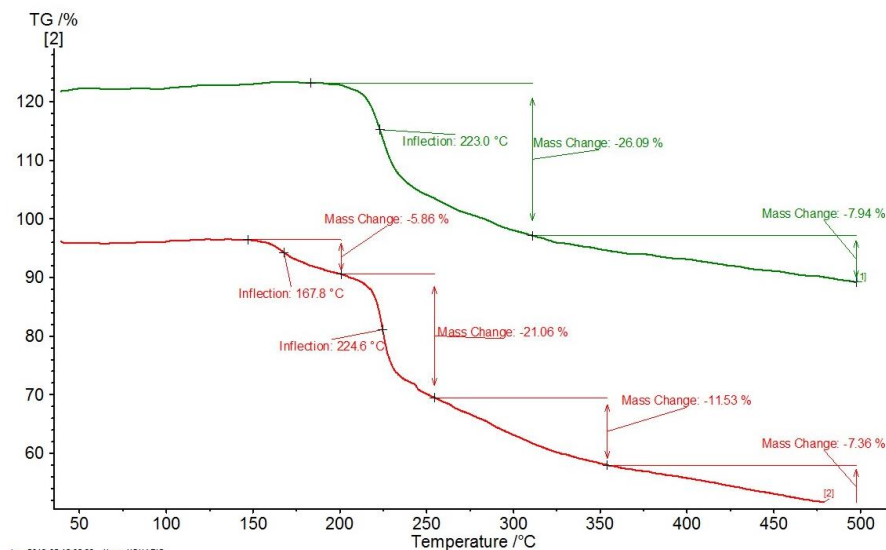


Figura 39. TGA obtenidos a partir de DHDLIOF (línea verde) y DHSLIOF (línea roja)

**9.2.1.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo de DHSLIOF y DHDLIOF.** El montaje realizado para el registro del patrón de difracción de DHSLIOF y DHDLIOF se muestra en la Figura 37. Se puede observar que la muestra DHDLIOF no es totalmente homogéneo, es decir, presenta pequeñas zonas cristalinas, lo cual puede ser comprobado a partir del patrón de difracción mostrado en la Figura 38.

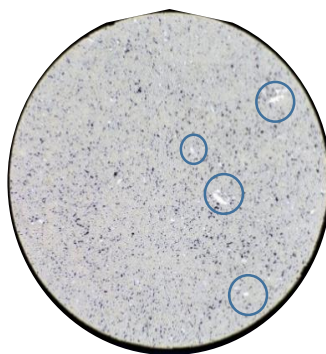


Figura 40. Montaje de la muestra para análisis de difracción de rayos X por zero-background de DHDLIOF

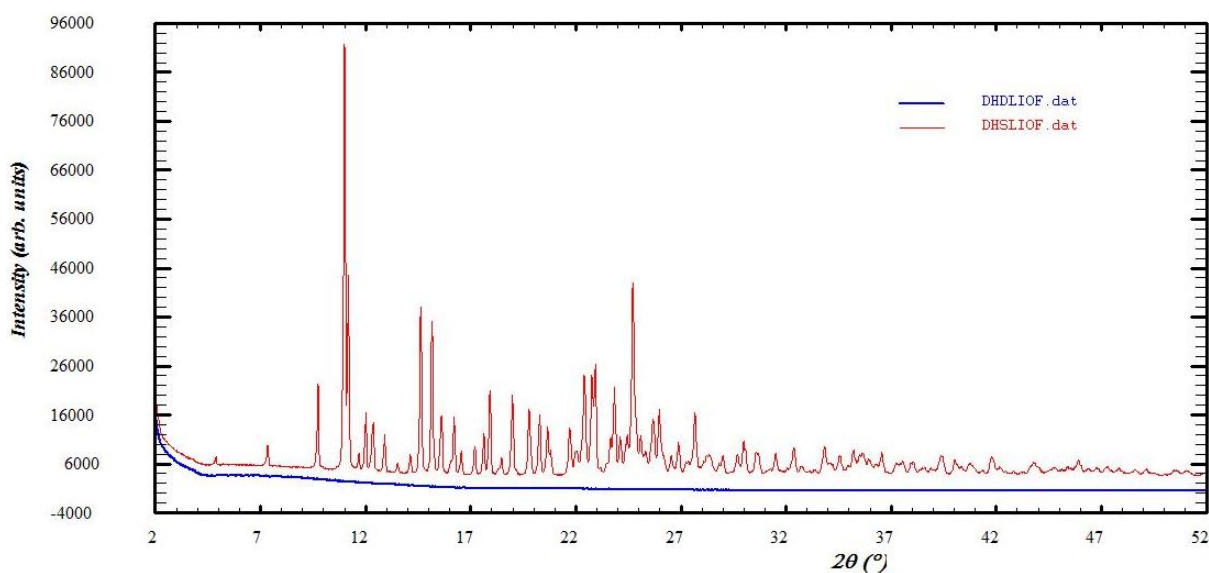


Figura 41. Perfil de difracción de DHDLIOF (azul) y DHSLIOF (rojo)

El patrón de polvo registrado para DHDLIOF (Figura 38) muestra pérdida total de la cristalinidad en el cual se puede observar un halo ubicado en el intervalo de  $4^\circ$  a  $25^\circ$  en  $2\theta$  además de los picos de baja intensidad en  $6,600^\circ$ ,  $8,831^\circ$ ,  $19,851^\circ$  y  $23,611^\circ$  que corresponden a las secciones cristalinas mostradas en la Figura 37 (círculo azul). Por otro lado, el sólido liofilizado sin dilución (DHSLIOF) es similar al obtenido por la materia prima, el indexado sugiere que DHSLIOF cristaliza en un sistema monoclinico  $P2_1$  con parámetros de celda  $a = 18,2559(2) \text{ \AA}$ ,

$b = 16.1446(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.0824(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,378^\circ(1)$  ( $M(20) = 79,8$ ;  $F(20) = 253,6$ ). Los resultados del indexado se muestran en el anexo 1. Por lo tanto, los resultados indican que presenta la misma estructura cristalina que la materia prima, corroborando los resultados obtenidos por el espectro FT-IR y el análisis térmico.

**9.2.2 Estudio térmico del hiclato de doxiciclina.** El hiclato de doxiciclina fue expuesto a diferentes cambios de temperatura secuenciales para determinar la temperatura óptima para retirar tanto el etanol como el agua estructural sin afectar el esqueleto de la doxiciclina. En la Figura 39 se muestran los cambios de coloración del compuesto después de la exposición a las temperaturas 100 °C, 110 °C, 130 °C y 160 °C por 30 min.

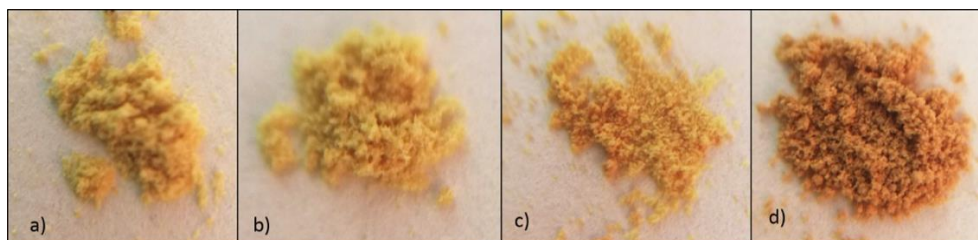


Figura 42. Hiclato de doxiciclina expuesto a diferentes temperaturas a) 100 °C, b) 110 °C, c) 130 °C, d) 160 °C

**9.2.2.1 Análisis por FT-IR de DH100, DH110, DH130 Y DH160.** Para determinar la presencia o ausencia del hiclato (una molécula de etanol y agua) se realizó una caracterización por espectroscopia FT-IR. Se puede observar la desaparición de las bandas correspondientes a las vibraciones, estiramientos y torsiones propias de estas moléculas. En la Figura 40 y Tabla 20 se muestran las bandas que aparecen y desaparecen según el aumento de temperatura a la que es expuesto el hiclato de doxiciclina en cada proceso.

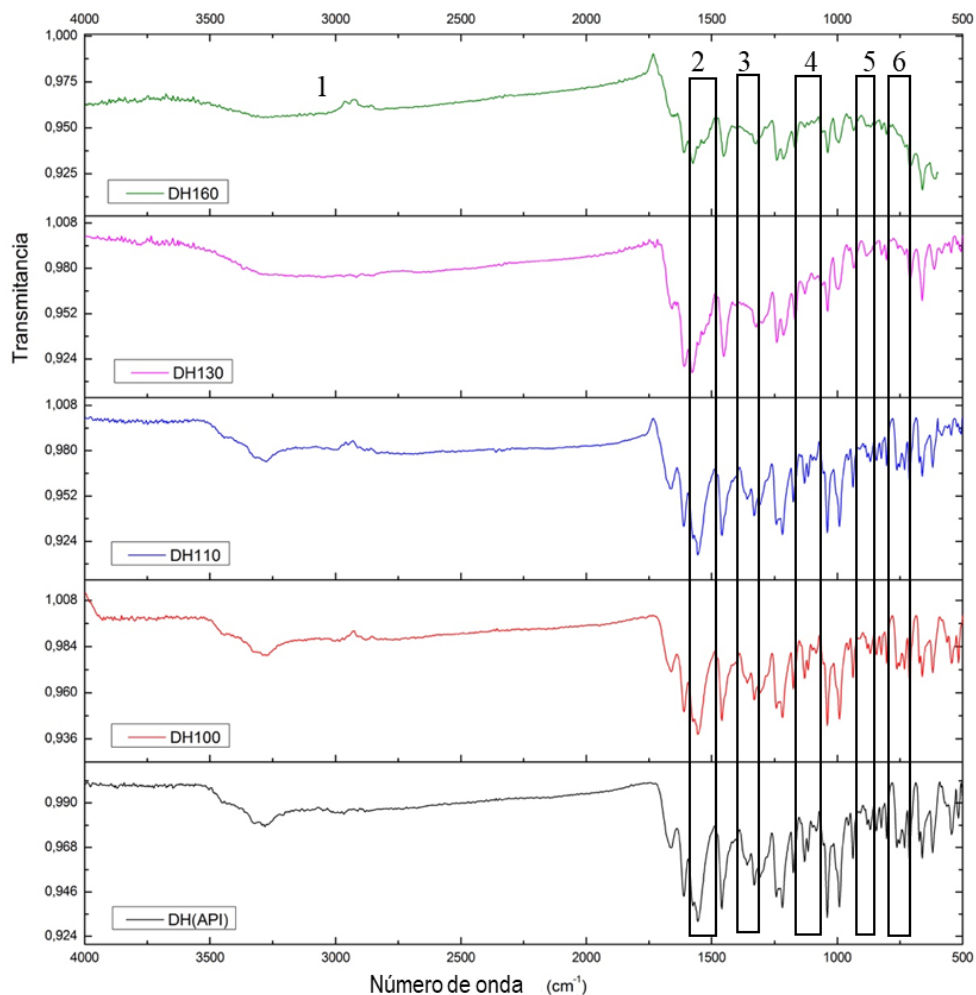


Figura 43. Espectro FT-IR del hiclato de doxiciclina (DH) sometido diferentes temperaturas

En el espectro de FT-IR para las muestras correspondientes a las temperaturas de  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ , que corresponden a las etiquetas DH130 y DH160, se observan varios cambios significativos entre los que se encuentra la presencia de nuevas señales y bandas no resueltas características del principio activo en las regiones 2 y 3, 5 y 6, respectivamente, además de la ausencia de las bandas en la región 1 y 4, para DH160, correspondientes a las señales características del etanol. Por otra parte, es importante destacar que el espectro tomado para las muestras tratadas a una temperatura de  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  y a  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  coincide perfectamente con el del

principio activo, pero se produce una disminución en la intensidad de las señales correspondientes a la región 2, 3 y 4; a continuación, se muestra la respectiva asignación a cada una de las bandas.

Tabla 20.

*Ausencia y presencia de las bandas de absorción del espectro FT-IR para las muestras DH100, DH110, DH130 y DH160.*

SEÑALES						
Región ( $cm^{-1}$ )	Número de onda ( $cm^{-1}$ )					Asignación
	DH	DH100	DH110	DH130	DH160	
<b>1</b> (3000-2900)	2979 y 2927	2979 y 2927	2979 y 2927	Señales solapadas	Señales solapadas	Estiramientos $C-H$ y $CH_3$
<b>2</b> (1600-1500)	–	–	–	1550 y1537	1553 y 1532	Enlaces $C-C$ del núcleo bencénico
<b>3</b> (1400-1300)	1364 y 1332	1364 y 1332	1355	–	1364 y 1332	Torsión del enlace $C-OH$ y estiramiento del enlace $C-O$ acilo y fenil
<b>4</b> (1200-1000)	1118, 1099 y 1085	1118,1099 y 1085	–	1118,1099 y 1085	–	Torsión fuera del plano tipo $=C-H$ , estiramiento de los enlaces $C-C$ y $C-O$
<b>5</b> (900-800)	868 y 843	868 y 843	–	868 y 843	–	Flexiones fuera del plano de enlaces $C-H$
<b>6</b> (750-600)	659	659	–	659	–	Torsión fuera del plano del enlace $-C-H$

Por lo tanto, cuando el hiclato de doxiciclina es sometido a una temperatura de  $160\text{ }^{\circ}\text{C}$  (muestra DH160) se observa la desaparición de las señales características del etanol estructural y la disminución de las bandas de la región 1 correspondientes a los enlaces  $-OH$ . Por esta razón DH160 es el producto escogido para posteriores análisis.

**9.2.2.2. Análisis térmico del producto DH160.** Para el análisis por calorimetría de barrido diferencial (DSC) de DH160 mostrado en la Figura 41 se observa una única señal que corresponde a una transición exotérmica ( $Ex_1$ ) en un intervalo de temperatura de  $216,4^{\circ}\text{C} - 226,9^{\circ}\text{C}$  con una  $T_p = 222,1^{\circ}\text{C}$  que corresponde a la descomposición del compuesto. Es importante resaltar que el DH160 se descompone, es decir, no se observa la transición debida a la fusión en comparación con DH.

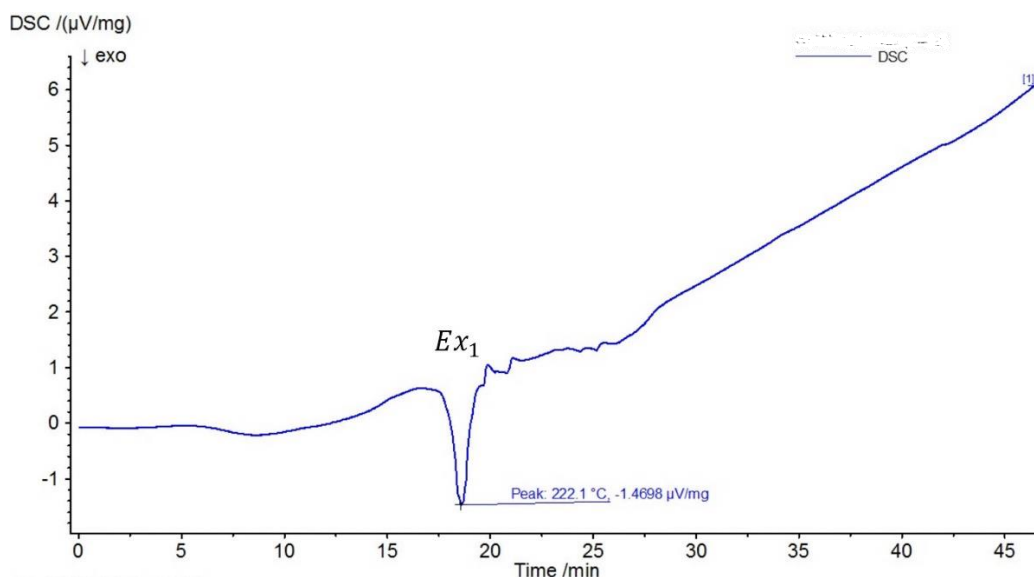


Figura 44. DSC del producto DH160

El análisis termogravimétrico (TGA) mostrado en la Figura 42 muestra que el material es térmicamente estable hasta aproximadamente una temperatura de 200 °C. Además, se observan cuatro pérdidas de masa, la primera se produce en el rango de 32,1 °C – 197,6 °C con una pérdida de masa de 2,21 % a una temperatura aproximada de 60 °C, atribuida a agua de humedad, ya que el material es ligeramente higroscópico. La segunda se encuentra dentro del intervalo de 197,6 °C – 243,9 °C con una pérdida de masa de 19,14 % y un punto de inflexión 225.9 °C. La tercera pérdida de masa de 12,45 % en el intervalo de 243,9 °C – 358,4 °C. Finalmente, la cuarta pérdida de masa de 6,68 % en el intervalo de 358,4 °C – 497,3 °C.

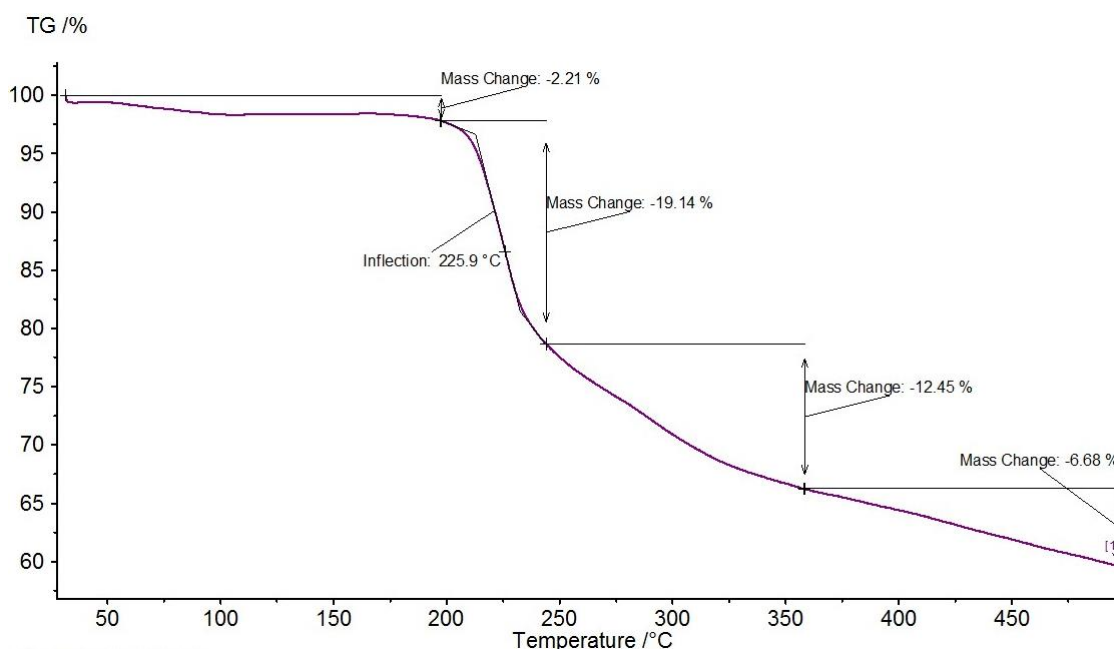


Figura 45. TGA del producto DH160

Al comparar la transición observada en el DSC con el TGA de las Figuras 41 y 42, se observa que la pérdida de masa correspondiente a la transición  $Ex_1$  dentro de los rangos de temperatura

asociados, corresponden a porcentaje de pérdida de masa de 19,14 %. Además, se observa que las pérdidas de masa siguientes que no están asociadas a ninguna transición.

**9.2.2.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo para DH160.** El perfil de difracción obtenido para DH160 registra un perfil amorfo (Figura 43) con un solo halo en la región de  $4^\circ$  a  $12^\circ$  en  $2\theta$ . Por lo tanto, al exponer DH a cambios drásticos de temperatura se produce la pérdida de la cristalinidad, es decir, la pérdida de la simetría monoclinica característica del principio activo, a pesar de que posee una alta termo-estabilidad.

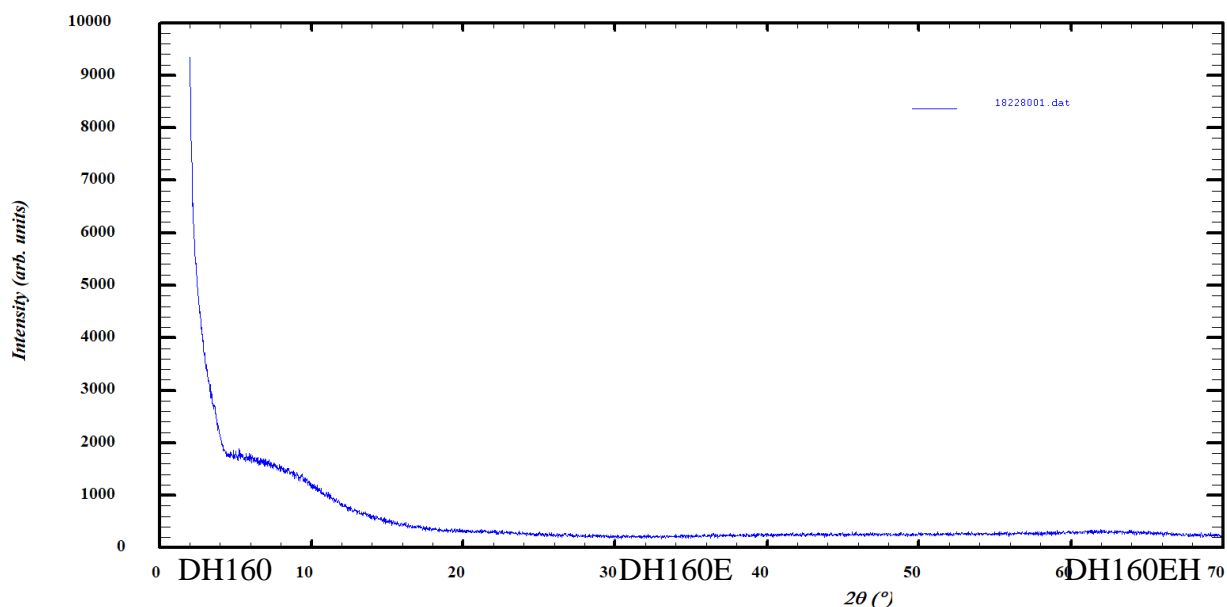
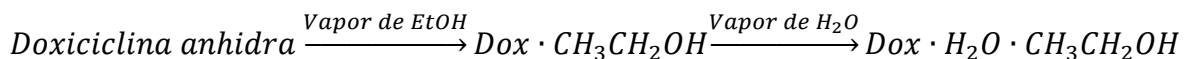


Figura 46. Patrón de difracción de DH160

### 9.3 Tercera Etapa: proceso de solvatación/ hidratación de DH160

#### 9.3.1 Proceso de solvatación seguido de la hidratación por difusión de vapor de DH160.

El proceso de hidratación y solvatación que se realizó para DH160 se llevó a cabo siguiendo el proceso que se muestra a continuación:



El producto DH160 fue sometido a un proceso de solvatación (DH160E) seguido de un proceso de hidratación (DH160EH) por medio de la absorción de vapor de etanol y agua por difusión de vapor durante dos días.

El producto DH160E presentó un cambio en la coloración localizado en la zona inferior izquierda de tonalidad naranja, es decir, más oscura que el material de partida. Por otra parte, en el producto DH160EH no se observan zonas de diferentes colores sino una coloración única amarillo oscuro. En la Figura 44 se pueden observar los resultados obtenidos.

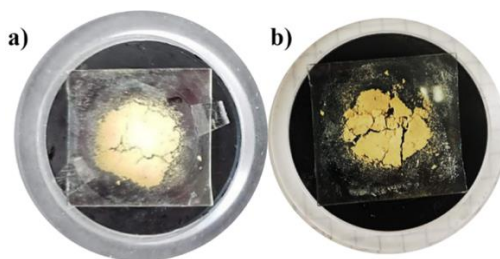


Figura 47. Resultados del proceso de solvatación / hidratación DH160 a) DH160E y b) DH160EH.

**9.3.1.1 Análisis FT-IR del producto DH160E y DH160EH.** En los espectros FT-IR se observa que en la muestra sometida a una atmósfera de etanol (DH160E) se produce la presencia de bandas no resueltas en las regiones 3, 4 y 5 que no se encontraban presentes en DH160, mostradas en la Figura 45, las cuales corresponden a la inclusión de las moléculas de etanol en la

estructura de la doxiciclina anhidra (DH160) y al ser comparada con DH corresponden a las mismas bandas características del principio activo, pero con un ensanchamiento y disminución en la intensidad de las señales. Luego que esta muestra se introduce en la cámara con agua (muestra DH160EH), se observan las mismas bandas que la muestra DH en las regiones 3, 4 y 5. Sin embargo, se observa que en la región 1 se produce un ensanchamiento de la bandas produciéndose el solapamiento de las señales correspondientes a los estiramientos de los grupos  $-OH$  y  $-NH_2$  y la presencia de dos bandas en la región 2 que no se encontraban en DH y DH160E debido a la influencia de las moléculas agua que ingresaron a la estructura del material. En la Tabla 6 se muestra detalladamente la asignación de cada una de las bandas.

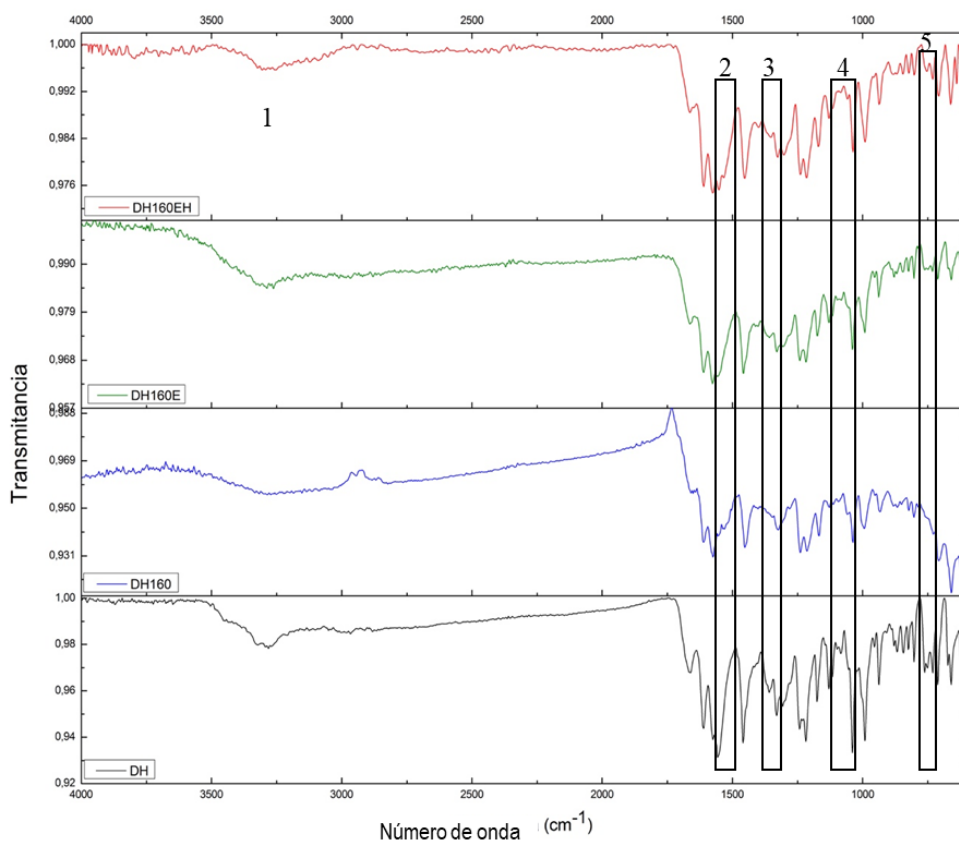


Figura 48. Espectro FT-IR del hiclato doxiciclina anhidro (DH160) después del proceso de solvatación (DH160E) e hidratación (DH160EH).

**9.3.1.2 Análisis térmico de DH160EH.** En el análisis por calorimetría de barrido diferencial (DSC) de DHSLIOF y DHDLIOF (Figura 46) se observan dos señales, la primera corresponde a una transición endotérmica ( $Ed_1$ ) en el intervalo de temperatura de  $140,3^\circ\text{C} - 160,5^\circ\text{C}$  con una  $Tp = 153,4^\circ\text{C}$  correspondiente a la pérdida de las moléculas de agua y etanol. La segunda señal pertenece al punto de fusión de DH160EH. Finalmente, la tercera señal se produce por una transición de tipo exotérmico ( $Ex_1$ ) en el intervalo de temperatura de  $211,3^\circ\text{C} - 240,2^\circ\text{C}$  con  $Tp = 222,9^\circ\text{C}$  que corresponde a la descomposición del compuesto.

Tabla 21.

Bandas del espectro FT-IR para DH160E y DH160EH

Región ( $\text{cm}^{-1}$ )	SEÑALES				Asignación
	Numero de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )				
	DH	DH160	DH160E	DH 160EH	
<b>1</b> (3000– 2900)	2979 y 2927	Señales solapadas con $-OH$ y $-NH_2$	2979 y 2927	Señales solapadas con $-OH$ y $-NH_2$	Estiramientos $C-H$ y $CH_3$
<b>2</b> (1570- 1450)	–	1577 y 1537	–	1577 y 1537	Enlaces $C = C$ y $N - H$
<b>3</b> (1400- 1250)	1358	–	1361	1361	Torsión del ángulo del enlace $C - O - H$ del etanol
<b>4</b> (1160- 1050)	1115	–	1115	1115	Estiramiento de los enlaces alcoxi $C - O$
<b>5</b> (800- 600)	760, 751 y 730	–	760, 751 y 730	760, 751 y 730	Flexiones fuera del plano de enlaces $C-H$ y flexiones en el enlace $-CH_2 -$

Al compararse la temperatura en la que se produce la pérdida del hiclato y punto de fusión se observa una diferencia en  $6,9\text{ }^{\circ}\text{C}$  por debajo y  $4,4\text{ }^{\circ}\text{C}$  por encima respectivamente del valor obtenido para DH

Por otro lado, en el análisis termogravimétrico (TGA) (Figura 47) muestra que el material es térmicamente estable hasta aproximadamente una temperatura de  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Además, se observa una única pérdida de masa en el intervalo de  $175,4\text{ }^{\circ}\text{C} - 260,1\text{ }^{\circ}\text{C}$  con un porcentaje de  $21,24\%$  pertenecientes al hiclato y a la descomposición; debido a que las pérdidas de masa de la molécula del hiclato son muy pequeñas se hacen imperceptibles comparadas con la descomposición de DH160EH. Las siguientes dos pérdidas de masa consecutivas corresponden a la degradación de DH160EH dentro de los intervalos de  $260,1\text{ }^{\circ}\text{C} - 350,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $350,7\text{ }^{\circ}\text{C} - 500,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  con un porcentaje de pérdida de masa de  $7,76\%$  y  $6,25\%$  respectivamente.

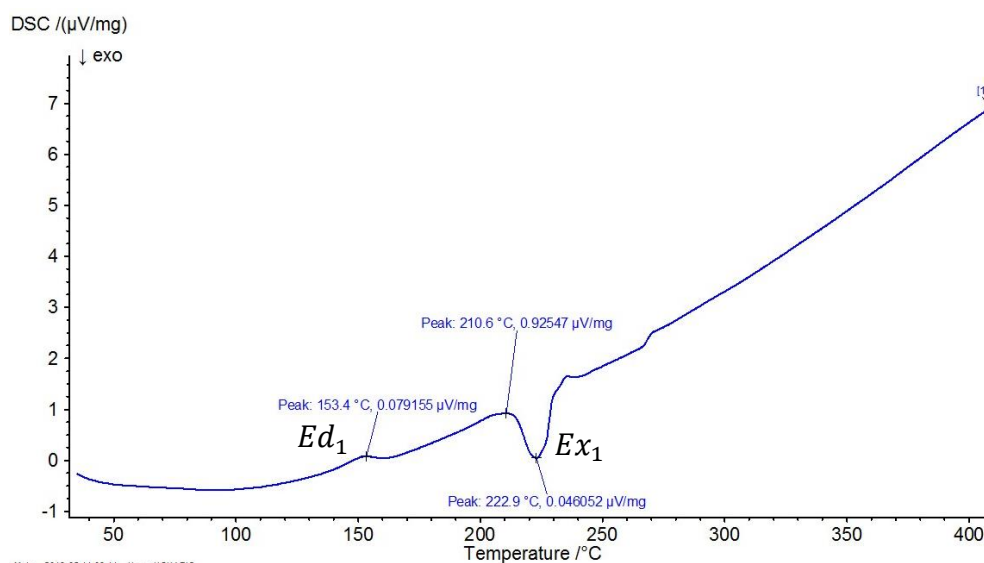


Figura 49. DSC obtenido del producto DH160EH

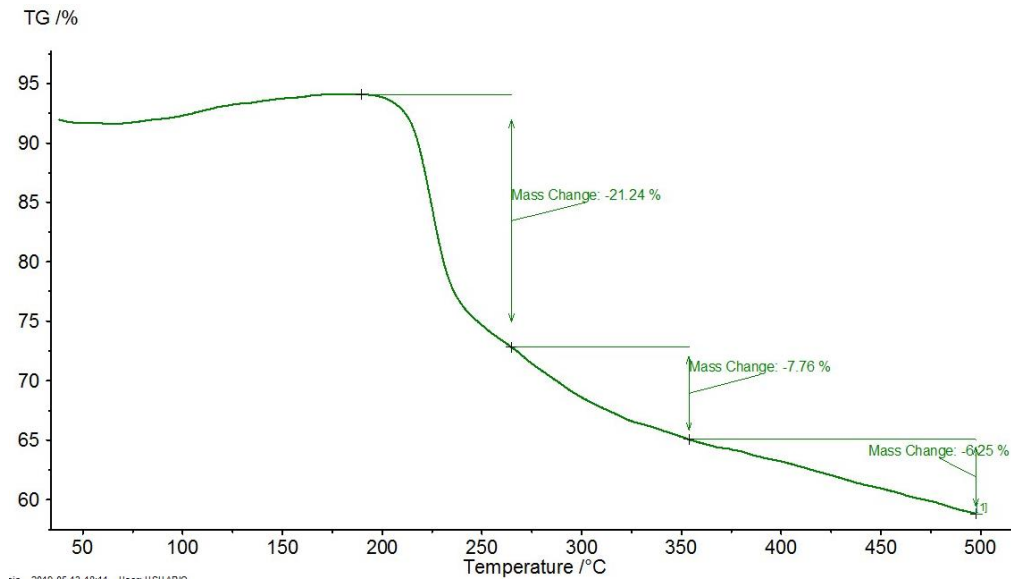


Figura 50. TGA obtenido del producto DH160EH

**9.3.1.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo de DH160E y DH160EH.** Al finalizar el tiempo de exposición de la muestra seca a vapor del  $CH_3CH_2OH$ , registró el patrón de difracción el producto DH160E mostrado a continuación:

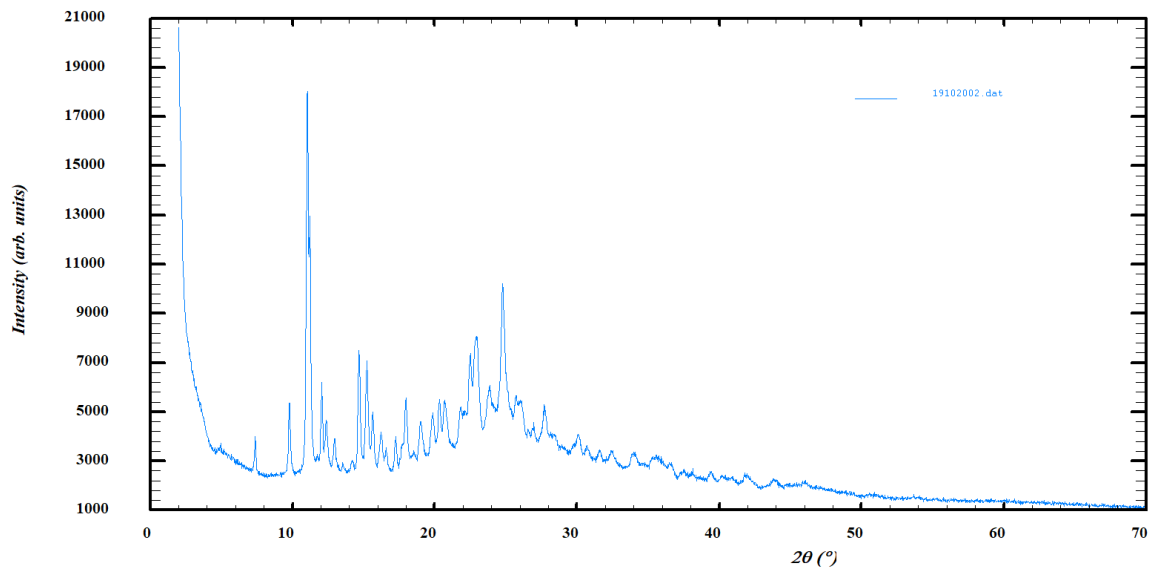


Figura 51. Perfil de difracción del producto DH160E.

El patrón de polvo muestra claramente la transición de fase de la forma amorfa a una fase cristalina originada por la inclusión de moléculas de etanol. El indexado de los primeros 20 máximos de difracción del patrón de difracción de rayos X experimental de DH160E con el programa *DICVOL14*, sugiere que el material cristaliza en una celda monoclinica  $P2_1$  con parámetros  $a = 18,2526(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16.1299(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.0869(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,165^\circ(4)$  y  $Volumen = 2374,59 \text{ \AA}^3$  ( $M(20) = 26,4$ ;  $F(20) = 80,6$ ) En la Tabla 22 se presentan los resultados del proceso de indexado.

Tabla 22.

*Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de difracción de DH160E*

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
4,935	17,89301	1	0	0	4,912	17,97749	0,023
7,385	11,96137	1	1	0	7,381	11,96698	0,003
9,787	9,02984	2	0	0	9,779	9,03737	0,008
11,048	8,00212	0	0	1	11,035	8,01171	0,013
11,21	7,88663	2	1	0	11,225	7,87659	-0,014
11,737	7,53376	1	0	-1	11,735	7,53502	0,002
12,058	7,334	1	2	0	12,064	7,33007	-0,006
12,38	7,1442	0	1	1	12,335	7,16997	0,045
12,964	6,8233	1	1	-1	12,966	6,82239	-0,002
13,55	6,52961	1	1	1	13,563	6,52325	-0,013
14,201	6,23155	2	0	-1	14,194	6,2347	0,007
14,677	6,03056	3	0	0	14,664	6,03584	0,013
15,23	5,81286	2	0	1	15,271	5,79719	-0,041
15,646	5,65917	0	2	1	15,605	5,67401	0,041
16,232	5,45622	2	1	1	16,24	5,45355	-0,008
16,584	5,34123	0	3	0	16,552	5,35138	0,032

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
17,257	5,13452	1	3	0	17,262	5,13281	-0,006
17,979	4,92977	2	2	-1	17,99	4,92684	-0,011
18,539	4,78214	3	1	-1	18,549	4,77958	-0,01
19,015	4,66344	3	0	1	19,008	4,66516	0,007

La información cristalográfica obtenida del proceso de indexado, determinación del grupo espacial y ajuste del patrón de polvo por el método de LeBail para el solvato de doxiciclina se encuentra en la Tabla 23.

Tabla 23.

Resultados estructurales obtenidos para DH160E

DATOS CRISTALINOS	DH160E
Fórmula	$2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O$
Peso fórmula	1007.721 g/mol
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$P2_1$
$a, b, c$ (Å)	18,2526(1) Å, 16.1299(1)Å, 8.0869(1)Å.
$\beta$ (°)	94,165°(1)
Volumen(Å <sup>3</sup> )	2374,59(7)
Z	4
$R_p$ (%)	2,38
$R_{wp}$ (%)	3,32
$R_{exp}$ (%)	1,64
$\chi^2$ (%)	4,09

La determinación preliminar de la estructura se llevó a cabo por el método de recocido simulado (*simulated annealing*), y el refinamiento por el método de Rietveld cuyos resultados se muestran en la Tabla 24.

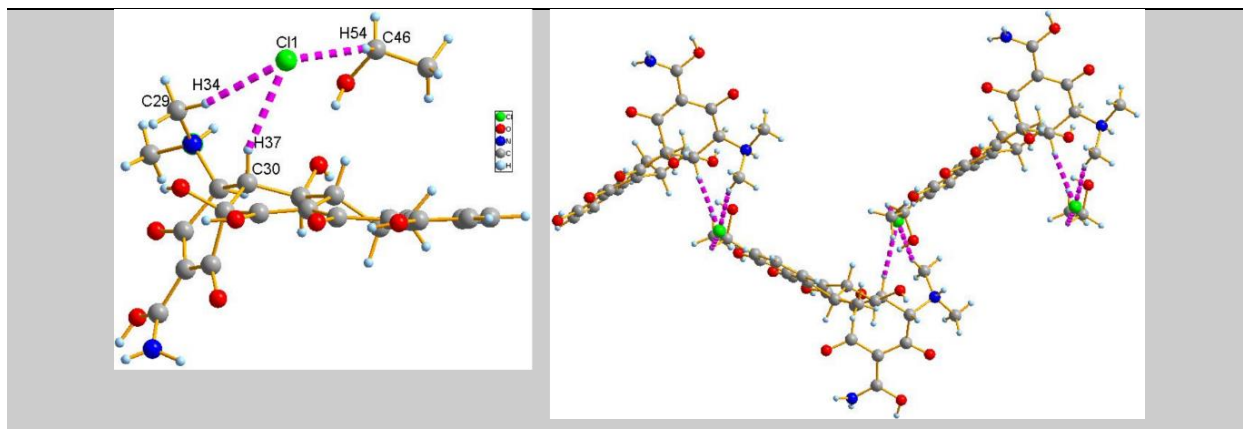
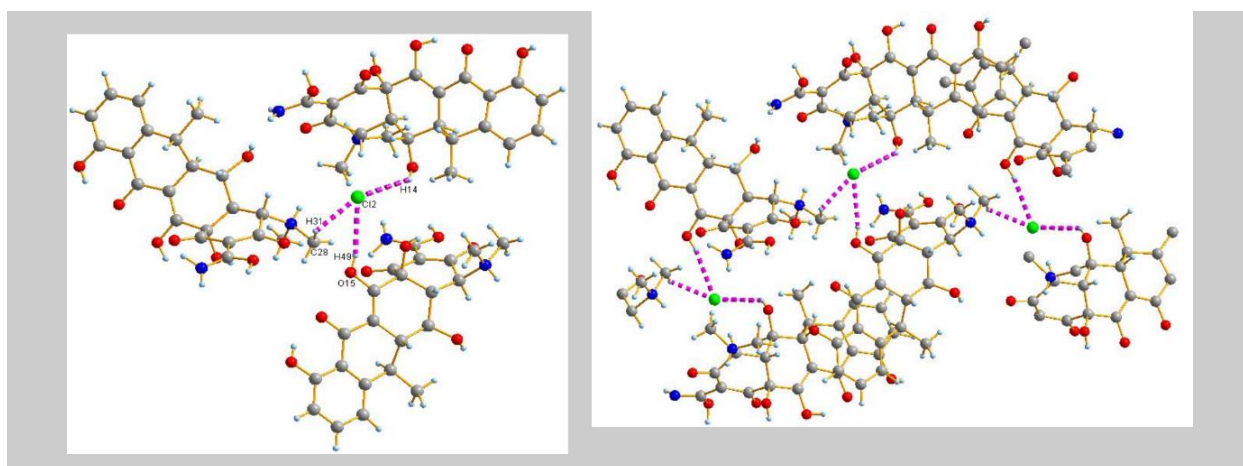
Tabla 24.

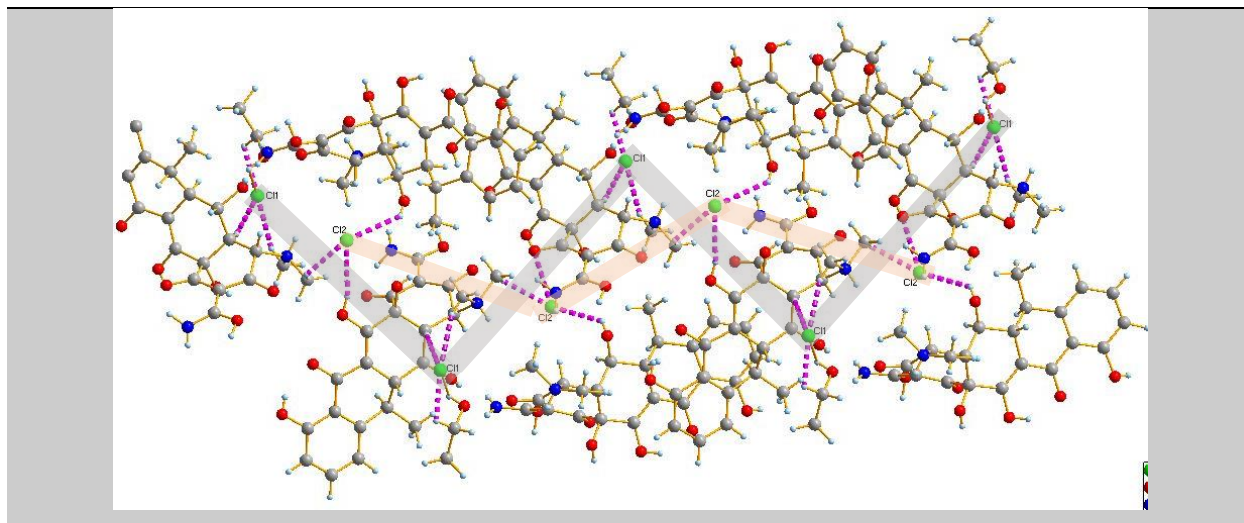
Factores de discrepancia obtenidos del refinamiento Rietveld del patrón de polvo de DH160E

Refinamiento								
Función de costo ( <i>CF</i> )	<i>wR</i>	<i>R</i>	<i>R<sub>b</sub></i>	<i>wR<sub>b</sub></i>	<i>wR<sub>min</sub></i>	<i>R<sub>f</sub></i>	<i>R<sub>f</sub><sup>2</sup></i>	<i>GOF</i>
<b>6.148</b>	5.04%	3.94%	4.34%	5.037%	1.91%	11.94%	18.804%	2.65

9.3.1.3.1 Enlaces de hidrógeno en DH160E. Los enlaces de hidrógeno que forma DH160E se muestran en el Anexo 2; los enlaces de hidrógeno más importantes son formados por el etanol y los átomos de cloro los cuales se describen a continuación. En la Tabla 25 se puede observar que los átomos de cloro (*Cl(1)* y *Cl(2)*) establecen tres enlaces de hidrógeno cada uno. El *Cl(1)* forma un enlace de hidrógeno del tipo heteronuclear con la molécula de etanol a través del enlace  $C(46) - H(54) \cdots Cl(1)$  y dos enlaces de hidrógeno heteronucleares con la molécula 2 formados entre el grupo amida del anillo A2 y el *H(37)* del anillo A2, conformando los enlaces  $C(24) - H(34) \cdots Cl(1)$  y  $C(30) - H(37) \cdots Cl(1)$  respectivamente, mientras que *Cl(2)* establece dos enlaces de hidrógeno heteronucleares con dos moléculas 2, a partir del grupo hidroxilo del anillo B2 y un hidrógeno del grupo funcional dimetilamina del anillo A2 formando ,  $O(15) - H(49) \cdots Cl(2)$  y  $C(28) - H(31) \cdots Cl(2)$  respectivamente y un enlace de hidrógeno heteronuclear con el grupo funcional hidroxilo de una molécula 1 a través del enlace  $O(4) - H(14) \cdots Cl(2)$ . El empaquetamiento que forman los seis enlaces de hidrógeno son dos cadenas en forma de *zig - zag* intercaladas a lo largo del eje a.

Tabla 25.

*Enlaces de hidrógeno formados por el Cl(1) y Cl(2)****Enlaces de H del Cl(1)*** $C(24) - H(34) \cdots Cl(1)$ ,  $C(30) - H(37) \cdots Cl(1)$  y  $C(46) - H(54) \cdots Cl(1)$ ***Enlaces de H del Cl(2)*** $O(4) - H(14) \cdots Cl(2)$ ,  $O(15) - H(49) \cdots Cl(2)$  y  $C(28) - H(31) \cdots Cl(2)$ 

*Empaquetamiento de Cl(1) y Cl(2)*

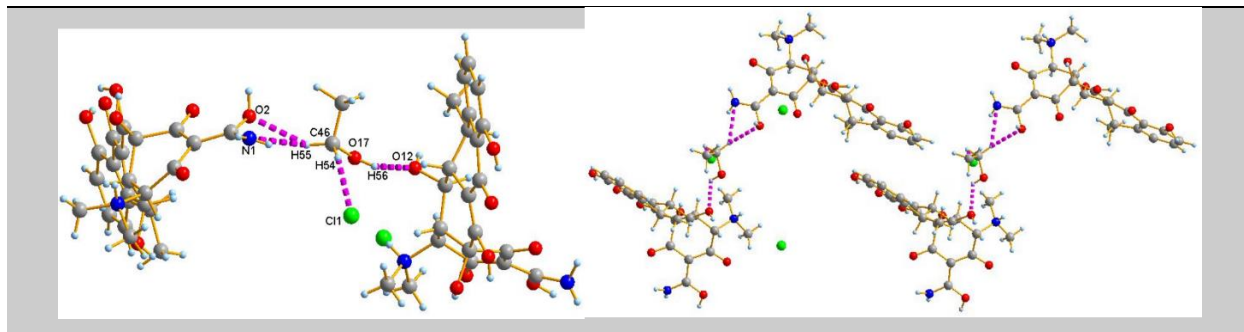
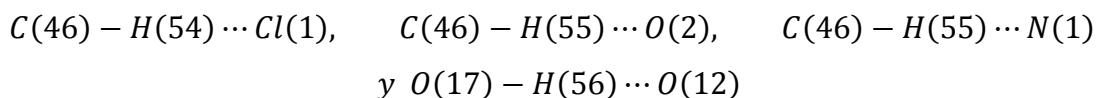
En comparación con los enlaces de hidrógeno formados con los átomos de cloro de DH, el *Cl(2)* adquiere mayor importancia en la estructura de DH160E, debido a que establece tres enlaces de hidrógeno con tres moléculas diferentes, mientras que en DH solo forma un enlace con la molécula de etanol. Por otra parte, en DH160E el *Cl(1)* forma solo tres enlaces de hidrógeno con dos moléculas diferentes (molécula 2 y etanol), mientras que en DH se forma un enlace adicional con tres moléculas del mismo tipo.

Por otra parte, el etanol forma 4 enlaces de hidrógeno heteronucleares, el primero se forma con el *Cl(1)* por medio del enlace  $C(46) - H(54) \cdots Cl(1)$ , el segundo y tercero se forma a través de un enlace de hidrógeno bifurcado con *O(2)* y *N(1)* del grupo funcional amida del anillo A1 de una molécula 1 y un enlace hidrógeno formado desde el *O(12)* del hidroxilo del anillo B2 de la molécula 2 hasta *H(56)* del *OH* del etanol. El etanol empaqueta en forma de trímeros moleculares entre una molécula 1 y 2 a lo largo del eje *a*. En la Tabla 26 se muestran los enlaces de *H*.

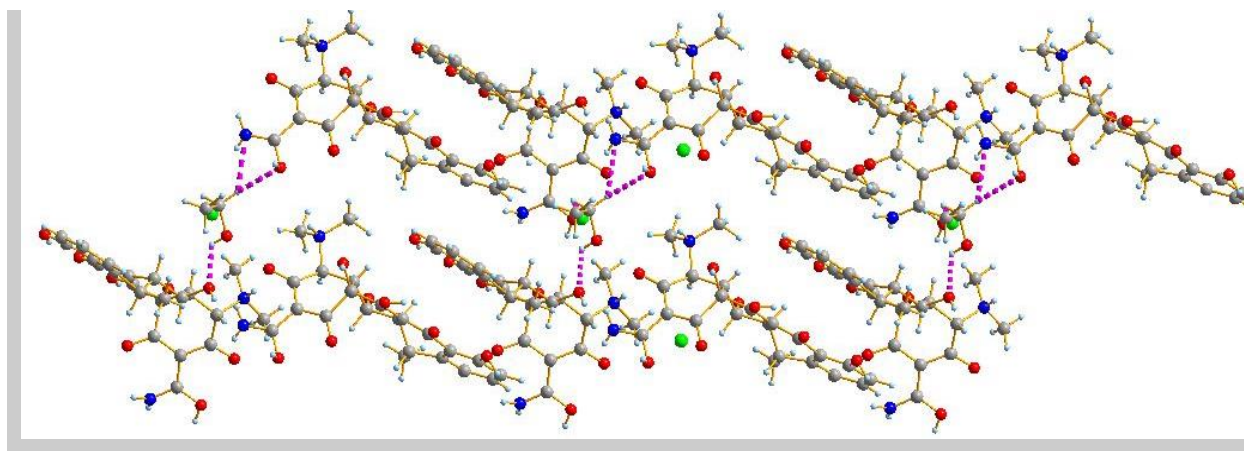
Tabla 26.

*Enlaces de hidrógeno formados con el etanol.*

***Enlaces de H con la molécula de etanol***



***Empaquetamiento de la molécula de etanol***



Al comparar los enlaces de hidrógeno entre DH y DH160E formados con la molécula de etanol se puede observar que a pesar de que forman el mismo número de enlaces de hidrógeno, DH establece dos enlaces bifurcados cooperativos con el grupo funcional amida, mientras que DH160E forma un solo enlace bifurcado con el mismo grupo funcional de la molécula 1.

9.3.1.3.2 Comparación entre DH y DH160E. Con el fin de determinar y evaluar la similitud estructural tridimensional entre dos estructuras de la misma molécula obtenidas a partir de

diferentes mecanismos, es decir, entre un modelo simulado y uno obtenido experimentalmente o entre dos modelos simulados o dos modelos experimentales, se utiliza el método de la raíz media cuadrática (*Root-Mean-Square* (RMS)) el cual, es una función del número de moléculas comparadas y proporciona una medida numérica del grado de similitud de las moléculas; se obtiene mediante una superposición de dos o más coordenadas atómicas y el valor depende de la distancia entre estructuras coincidentes (Macrae *et al.*, 2008). Un valor de RMS muy grande significa que la distancia entre las moléculas comparadas es grande, por tanto, las moléculas comparadas son diferentes, y valores cercanos o iguales a cero significa que tienen una conformación parecida o idéntica. El valor obtenido debe encontrarse dentro del intervalo 0-1.0 según los parámetros establecidos por el programa *Mercury* (Chisholm & Motherwell, 2005); (Rohlíček, Skořepová, Babor, & Čejka, 2016).

Teniendo en cuenta lo anterior, al comparar DH y DH160E se obtiene un valor de RMS de 0,567 Å por lo tanto, las estructuras son similares entre sí (ver Figura 49), pero difieren en la posición de algunos átomos debido a que los enlaces que los unen son de libre rotación. Entre los grupos que difieren en la orientación se encuentran los metilos del grupo funcional dimetilamina (círculo azul), el enlace *O – H* (círculo rojo) y *N – H* (círculo morado) del grupo funcional amida y el enlace *C – H* del grupo funcional metilo (círculo naranja) mostrados en la Figura 49.

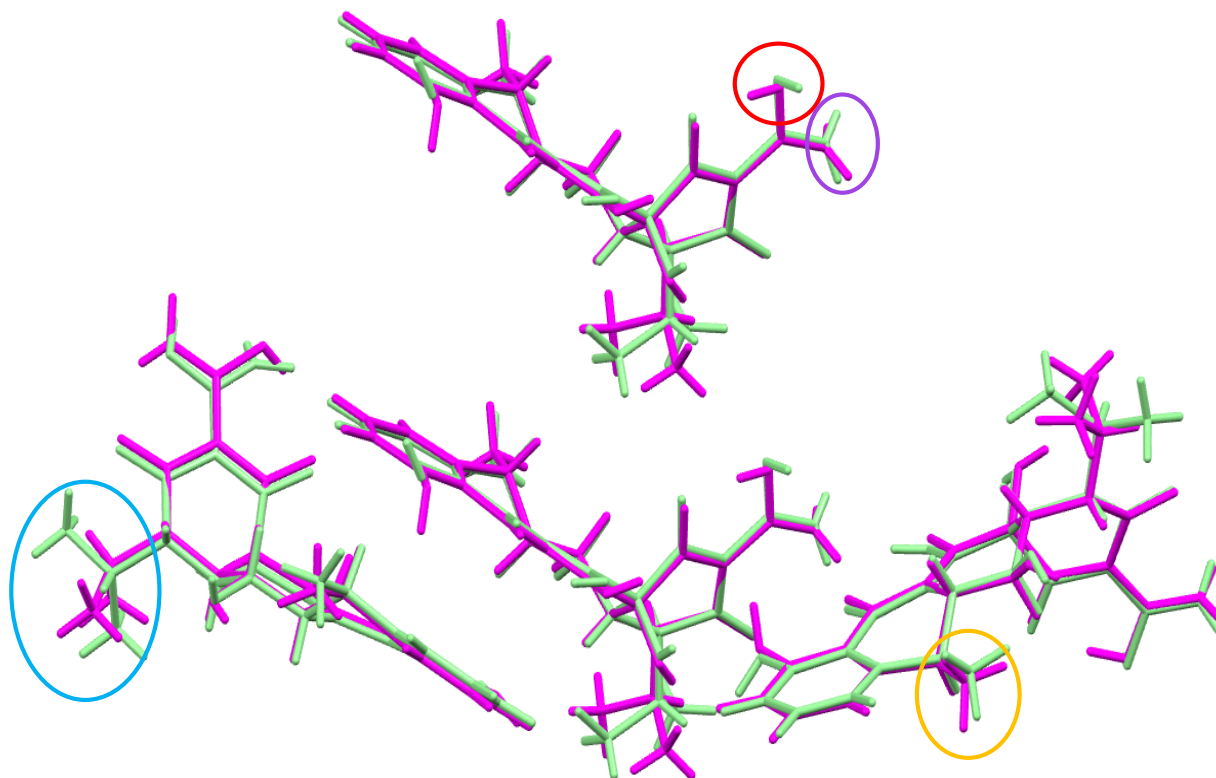


Figura 52. Comparación estructural entre DH y DH160E.

Para el proceso de hidratación de DH160E se dispuso de las mismas condiciones anteriormente mencionadas. Al finalizar el tiempo de exposición al vapor del  $H_2O$  el producto DH160EH registró el patrón de difracción mostrado en la Figura 50.

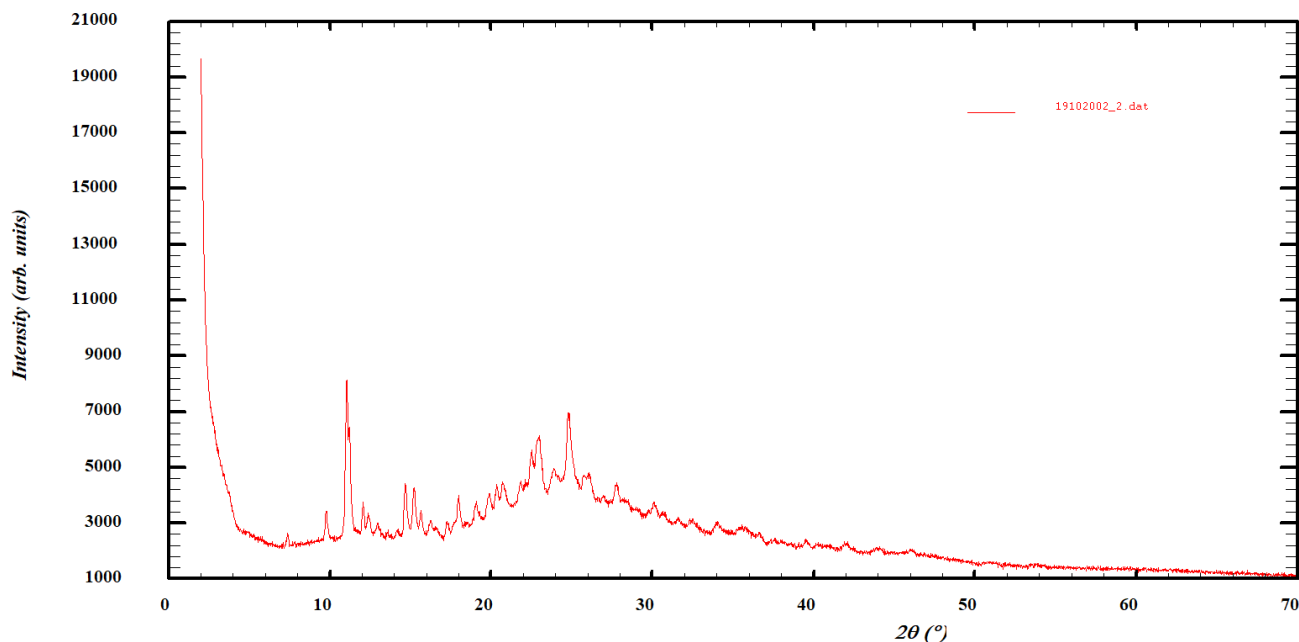


Figura 53. Perfil de difracción de DH160EH

El indexado de los primeros 27 máximos de difracción del patrón de difracción de rayos-X de DH160EH con el programa *DICVOL14*, sugiere que el material cristaliza en una celda Monoclónica  $P2_1$  con parámetros  $a = 19,3446(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16.1160(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.0480(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 110,104^\circ(4)$ , y  $Volumen = 2356,16 \text{ \AA}^3$  ( $M(20) = 13,3$ ;  $F(20) = 32,1$ ;  $F(27) = 16,5$ ) En el anexo 3 se presentan los resultados del proceso de indexado.

La información cristalográfica obtenida del proceso de indexado y determinación del grupo espacial para DH160EH se encuentra en la Tabla 27.

Tabla 27.

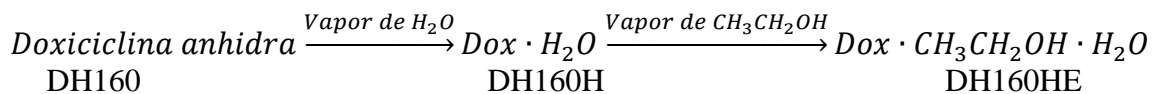
Resultados estructurales de DH160EH.

DATOS CRISTALINOS	DH160EH
Fórmula	$2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$
Peso fórmula	1025.88 g/mol

Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$P2_1$
$a, b, c$ (Å)	19,3446(1) Å, 16.1160(1) Å, 8.0480(1) Å.
$\beta$ (°)	110,104°(4)
Volumen(Å <sup>3</sup> )	2356,16
Z	4
$R_p$ (%)	1,83
$R_{wp}$ (%)	2,43
$R_{exp}$ (%)	1,71
$\chi^2$ (%)	2,01

Según los datos obtenidos a partir del patrón de difracción y del indexado, se puede observar que aumenta el contenido de material amorfo en el perfil de DH160EH comparado con DH160E, produciéndose la disminución de cristalinidad del material. Sin embargo, se conserva el mismo sistema cristalino y grupo espacial, pero el valor del eje a y el ángulo  $\beta$  en DH160EH son mayores. Por lo tanto, la inclusión de las moléculas de agua en la estructura promueve la disminución de la cristalinidad del material.

**9.3.2 Proceso de hidratación y solvatación de DH160.** El proceso de hidratación y solvatación que se realizó para DH160 se llevó a cabo siguiendo el proceso que se muestra a continuación



Los productos DH160H y DH160HE no presentaron cambios significativos en la coloración del material. Sin embargo, se produjo la fragmentación de la capa de muestra dispuesta en el portamuestras. En la Figura 51 se pueden observar los resultados obtenidos.

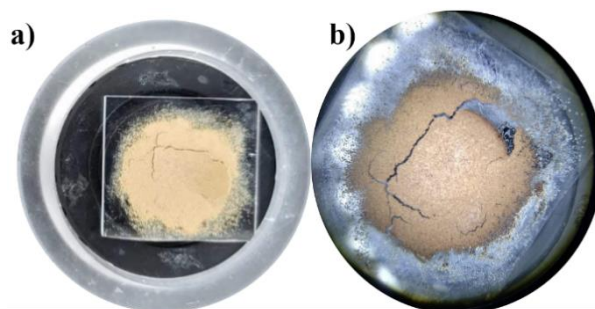


Figura 54. Resultados obtenidos para el proceso de hidratación / solvatación a) DH160H y b) DH160HE

**9.3.2.1 Análisis por FT-IR de DH160H y DH160HE.** El espectro FT-IR de la muestra DH160 sometida a una atmósfera de  $H_2O$  (DH160H) se produce un ensanchamiento de la banda que se encuentra en la región 1 solapando las señales del grupo amino y los estiramientos propios del etanol debido a la influencia de los grupos  $-OH$ ; adicionalmente se observa únicamente la presencia de una banda ubicada en la región 4 correspondiente a los estiramientos los enlaces  $C - O$ , la cual, no estaba resuelta en DH160. En la Tabla 28 se especifican cada una de las señales. Por otra parte para el producto formado después de segundo proceso DH160HE se observa la ausencia de las bandas  $1577\text{ cm}^{-1}$  y  $1537\text{ cm}^{-1}$  en la región 2 y la presencia de bandas que no se encontraban en DH160 y DH160H que corresponde a la inclusión de las moléculas de etanol en la estructura del material y, al compararse con el espectro FT-IR de DH, pertenecen a las mismas señales características del principio activo.

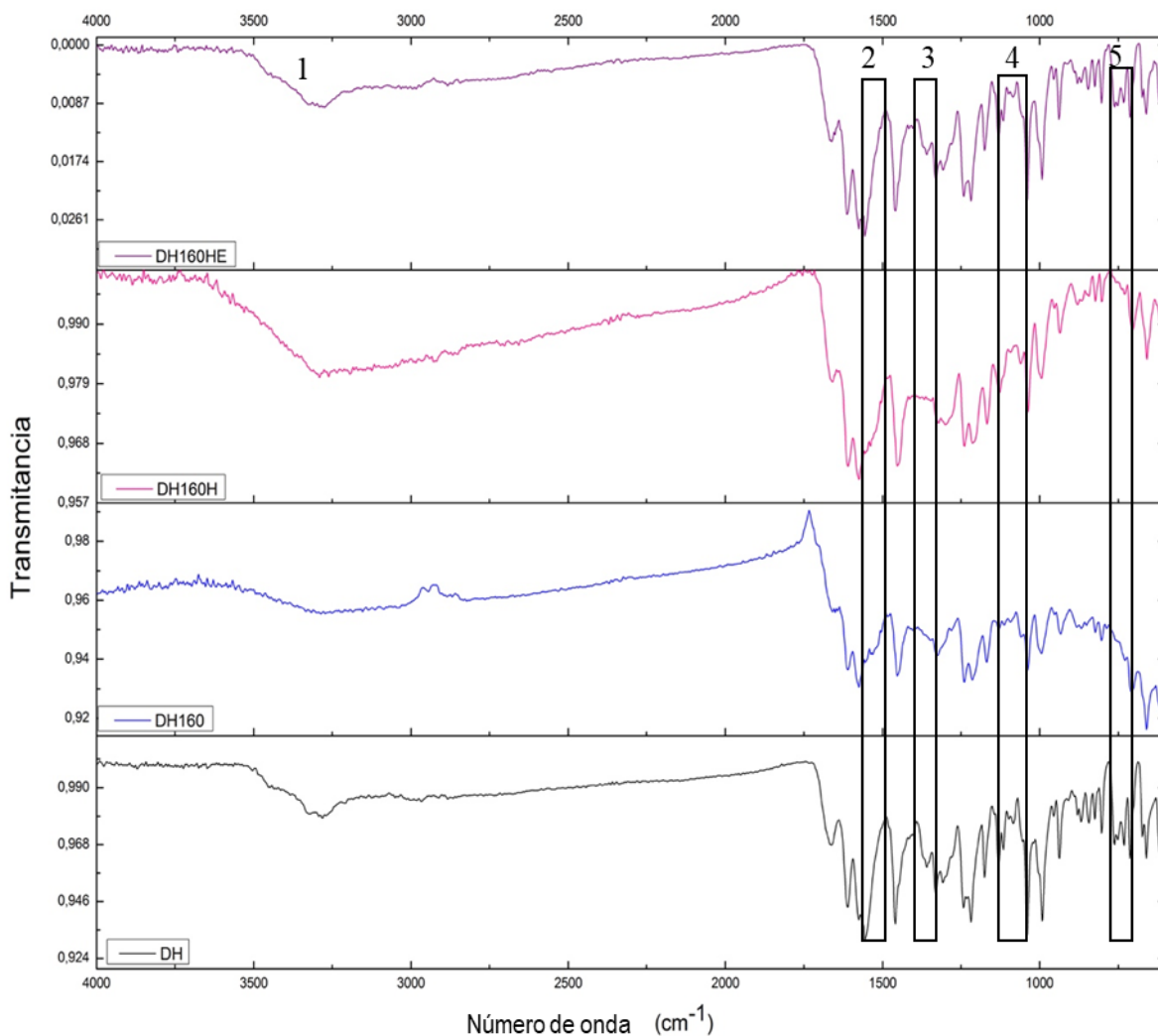


Figura 55. Espectros FT-IR de DH160H y DH160HE

**9.3.2.2 Análisis térmico de DH160HE.** El análisis por calorimetría de barrido diferencial (DSC) de DH160HE mostrado en la Figura 53 es similar al obtenido por la materia prima (DH) observándose cuatro señales. La primera corresponde a una transición endotérmica ( $Ed_1$ ) en el intervalo de temperatura de  $149,3\text{ }^{\circ}\text{C} - 164,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una  $Tp = 153,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  perteneciente a la pérdida de la molécula del hiclato.

Tabla 28.

Bandas del espectro FT-IR de DH160H y DH160HE

Región ( $cm^{-1}$ )	SEÑALES				Asignación
	Número de onda ( $cm^{-1}$ )				
	DH	DH160	DH160H	DH 160HE	
<b>1</b> (3000– 2900)	2979 y 2927	Señales solapadas con –OH y –NH <sub>2</sub>	Señales solapadas con –OH y –NH <sub>2</sub>	2979 y 2927	Estiramientos C–H y CH <sub>3</sub>
<b>2</b> (1570- 1450)	–	1577 y 1537	1577 y 1537		Enlaces C = C y N – H
<b>3</b> (1400- 1250)	1358	–	–	1361	Torsión del ángulo del enlace C – O – H del etanol
<b>4</b> (1160- 1050)	1115	–	1115	1115	Estiramiento de los enlaces alcoxi C – O
<b>5</b> (800- 600)	760, 751 y 730	–	–	760, 751 y 730	Flexiones fuera del plano de enlaces C–H y flexiones en el enlace–CH <sub>2</sub> –

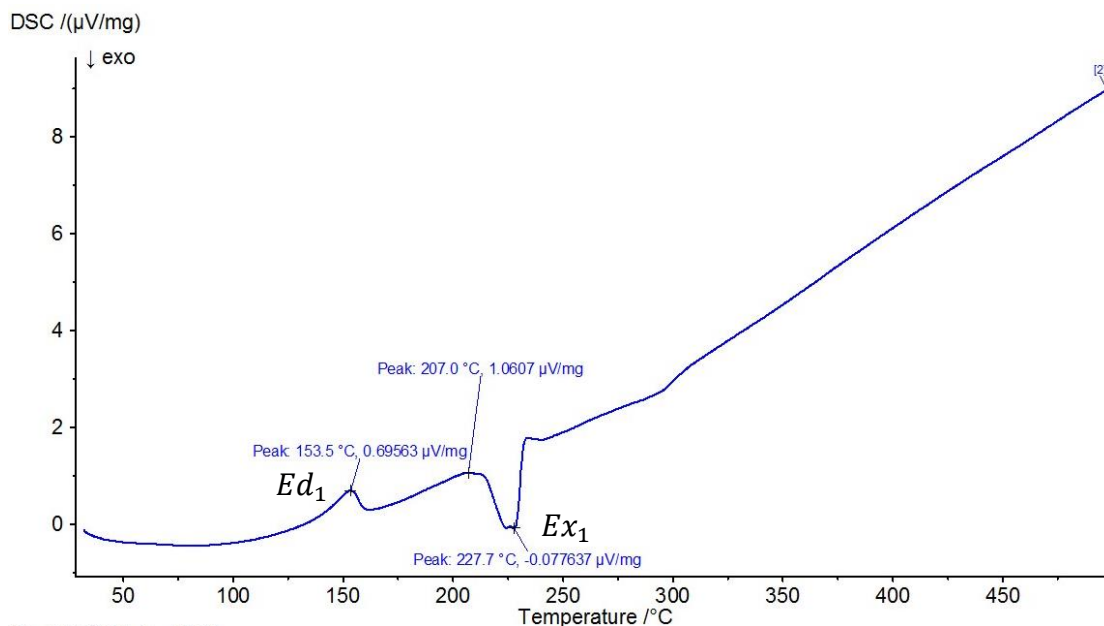


Figura 56. DSC obtenido del producto DH160HE.

La segunda señal corresponde al punto de fusión de DH160HE ubicado alrededor de los  $207,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Finalmente, la tercera señal es producida por una transición exotérmica ( $Ex_1$ ) en el intervalo de temperatura de  $212,1\text{ }^{\circ}\text{C} - 241,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  con  $T_p = 227,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  que corresponde a la descomposición del compuesto. Al compararse la temperatura en la que se produce la pérdida del hiclato, temperatura de fusión y la descomposición de DH160HE, se observa una diferencia en  $6,8\text{ }^{\circ}\text{C}$  por debajo y  $0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $4,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  por encima respectivamente, del valor obtenido DH.

Por otro lado, el análisis termogravimétrico (TGA) (Figura 54) muestra que el material es térmicamente estable hasta aproximadamente una temperatura de  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Además, se observan cuatro pérdidas de masa; la primera se produce en el rango de  $145,4\text{ }^{\circ}\text{C} - 168,1\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una pérdida de masa de  $2,06\%$  correspondiente a la molécula del hiclato. La segunda se encuentra dentro del intervalo de  $168,1\text{ }^{\circ}\text{C} - 250,1\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una pérdida de masa de  $21,54\%$ . Finalmente, la tercera y cuarta pérdida de masa presentes en los intervalos de  $250,1\text{ }^{\circ}\text{C} - 325,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $325,2\text{ }^{\circ}\text{C} - 500,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  con un porcentaje de  $10,11\%$  y  $6,22\%$  respectivamente.

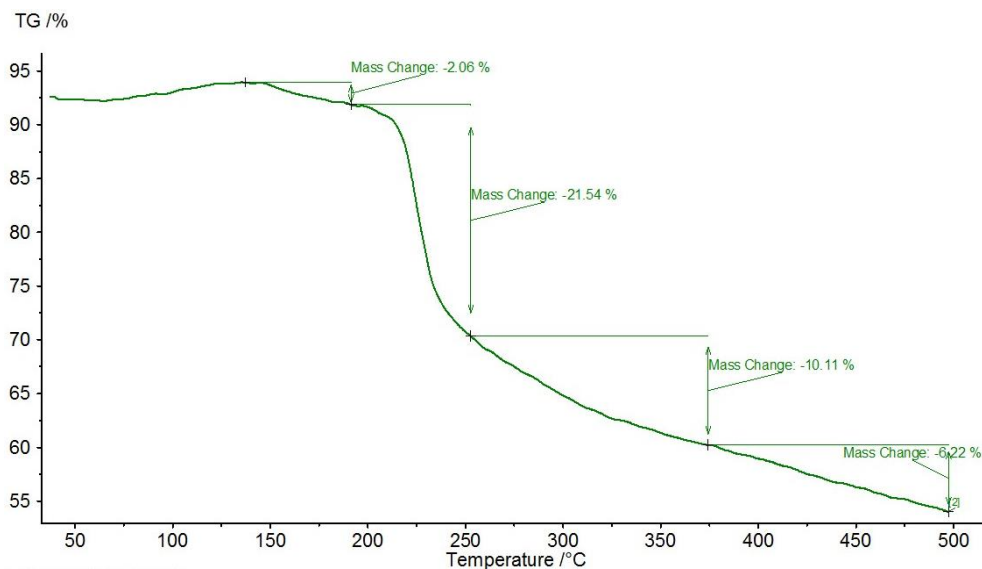


Figura 57. TGA obtenido para DH160HE

**9.3.2.3 Análisis por difracción de rayos X de polvo de DH160H y DH160HE.** El patrón de difracción registrado para la primera parte del proceso DH160H muestra que al incluir moléculas de agua en la estructura del material se produce un patrón de polvo predominantemente amorfo, sin embargo se observan pocos máximos de baja intensidad en  $4,848^\circ$ ,  $11,147^\circ$ ,  $14,658^\circ$ ,  $21,659^\circ$ ,  $22,736^\circ$ ,  $24,836^\circ$ ,  $27,893^\circ$  y  $30,344^\circ$  en  $2\theta$  que se corresponden con los índices de Miller (1 0 0), (2 1 0), (2 2 0), (-4 0 1), (0 1 2), (-1 2 2), (-3 2 2) y (1 5 1) que coinciden con las señales más intensas y características del hiclato de doxiciclina.

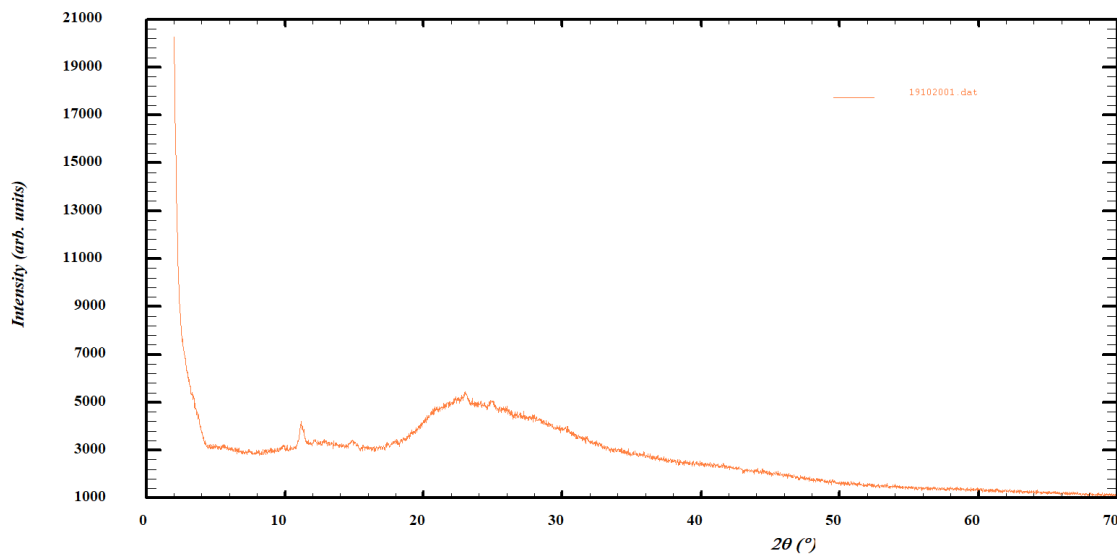


Figura 58. Perfil de difracción de DH160H

+

Por lo tanto, se puede decir que las interacciones cortas y enlaces de hidrógeno producidos con las moléculas de agua ( $O(18) - H(58) \cdots N(2)$  y  $N(2) - H(5) \cdots O(18)$ ) promueven débilmente la orientación de las moléculas hacia un ordenamiento de mayor simetría.

Por otra parte, en el perfil de difracción registrado después del segundo proceso, es decir, la inclusión de moléculas de etanol a la estructura de  $Dox \cdot H_2O$  (Figura 55), se puede observar un aumento significativo en la cristalinidad y disminución del contenido de amorfo en la estructura.

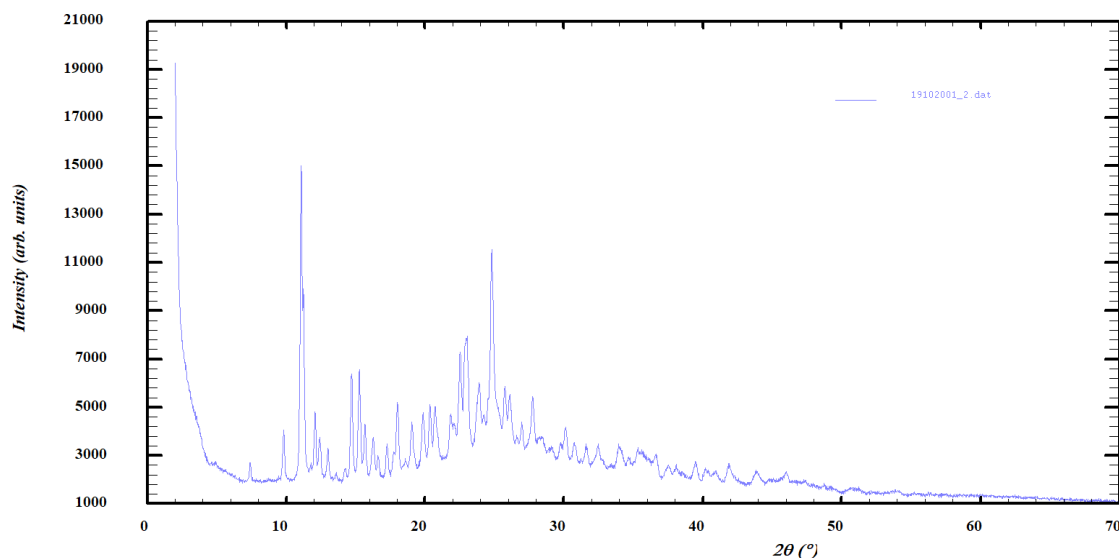


Figura 59. Perfil de difracción de DH160HE

El indexado del patrón de difracción de rayos X DH160HE sugiere que el material se reorganizó en una celda Monoclónica  $P2_1$  con parámetros  $a = 18,2032(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1205(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0628(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,200^\circ(6)$ , y  $Volumen = 2395,49 \text{ \AA}^3$  ( $M(20) = 23,4$ ;  $F(20) = 71,5$ ;  $F(55) = 13,1$ ). En el anexo 4 se presentan los resultados del proceso de indexado. La información cristalográfica obtenida del proceso de indexado y determinación del grupo espacial para DH160HE se encuentra en la Tabla 29.

Tabla 29.

*Resultados estructurales de DH160HE*

DATOS CRISTALINOS	DH160HE
Fórmula	$2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$
Peso fórmula	1025.88 g/mol
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$P2_1$
$a, b, c$ (Å)	18,2032(1) Å, 16,1205(1) Å, 8,0628(1) Å.
$\beta$ (°)	94,200°(1)

Volumen( $\text{\AA}^3$ )	2359,63
Z	4
$R_p$ (%)	2,72
$R_{wp}$ (%)	3,73
$R_{exp}$ (%)	1,84
$\chi^2$ (%)	4,11

Según los datos obtenidos del indexado DH160HE se puede observar que, al incluir moléculas de etanol en la estructura se produce la transición desde una fase amorfa (Figura 55) a una fase cristalina (Figura 56), por lo tanto las moléculas de etanol promueven fuertemente la orientación y organización de las moléculas en la red cristalina debido a variedad de interacciones cortas y enlaces de hidrógeno que se producen entre  $C(45) - H(51) \cdots Cl(2)$ ,  $C(45) - H(53) \cdots O(17)$ ,  $C(46) - H(55) \cdots N(1)$  y  $C(46) - H(55) \cdots O(2)$ .

#### 9.4 Cuarta Etapa: procesos de recristalización de DH y DH160

Las muestras DH y DH160 fueron recristalizadas por evaporación lenta de solvente, cristalización por difusión de vapor y cristalización en gel de agarosa.

**9.4.1 Cristalización por el método de evaporación lenta de solvente.** Los compuestos DH y DH160 fueron recristalizados en viales de vidrio agregando una pequeña cantidad de muestra en los solventes seleccionados para el proceso. La recristalización por el método de evaporación lenta de solvente no produjo resultados favorables para la formación de un sólido cristalino, en todos los ensayos se obtuvieron sólidos amorfos. En la Tabla 30 y Figura 57 se presentan los resultados obtenidos.

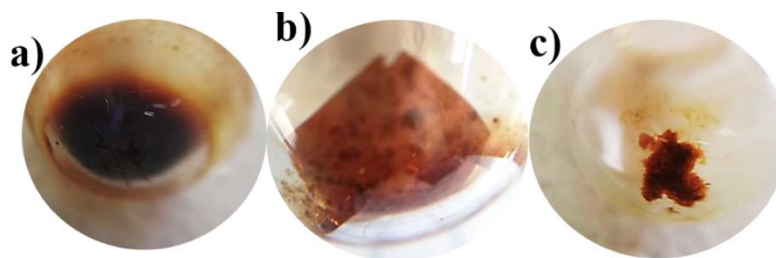


Figura 60. Resultados del proceso de recrystalización a) DH160H20, b) DH160ETOH y c) DH160MIX

Tabla 30.

Resultados del proceso de recrystalización de DH y DH160

Solvente	Coloración inicia	Observaciones	Producto final	Etiqueta
<b>DH</b>				
Agua	Amarillo claro	No se observó la presencia de ningún sólido	No hay formación del sólido	DHH20
Etanol	Amarillo claro	No se observó ningún cambio	No hay formación del sólido	DHETOH
Etanol/agua	Amarillo claro	Durante el proceso la solución cambio de color a naranja claro	No hay formación del sólido	DHMIX
<b>DH160</b>				
Agua	Naranja	Se produjo la formación de un sólido color café.	Pasta de color café AMORFO	<b>DH160H20</b>
Etanol	Naranja	Durante el proceso se produjo la formación de un sólido color café en forma	Pasta de color café AMORFO	<b>DH160ETOH</b>

Solvente	Coloración inicia	Observaciones	Producto final	Etiqueta
		de una placa del mismo color.		
Etanol/agua	Naranja	Durante el proceso la solución cambio de coloración a un café oscuro con un precipitado del mismo color	Pasta de color café AMORFO	<b>DH160MIX</b>

**9.4.1.1 Análisis por FT-IR de los productos formados de la recristalización de DH160.** Los espectros FT-IR registrados para DH160MIX, DH160ETOH y DH160H2O mostrados en la Figura 58, se puede observar que para las muestras DH160ETOH y DH160H2O el espectro FT-IR es el mismo, pero al compararse con DH se encuentran diferencias en las regiones 1-4. En la región 1 se muestran el solapamiento de las señales correspondientes a los estiramientos de los enlaces  $-OH$  y  $-NH_2$  característicos de la materia prima, adicionalmente, en DH160H2O la banda es más ancha debido al medio en que se recristalizó el producto, por esto, la influencia de los grupos  $OH$  es mayor.

En la región 2 la banda  $1663\text{cm}^{-1}$  correspondiente a los estiramientos del enlace  $C = O$  cetónicos de los anillos aromáticos se encuentra desplazada a bajas frecuencias por la influencia de sistema conjugado de los anillos aromáticos. También se observa la presencia de nuevas bandas ubicadas en la región 3 correspondientes a estiramiento  $C = C$  de los anillos aromáticos. Finalmente, en la región 4 se observa únicamente la banda de la torsión del enlace  $sp^3 C - H$ . Por otra parte, en DH160MIX se muestra el espectro de muy baja resolución y definición de las bandas, por esto, se muestran una variedad de señales en las mismas regiones anteriormente mencionadas. Esto se debe a que la cantidad de muestra obtenida era mínima. Sin embargo, los cambios presentes

en los espectros no reflejan la inclusión del agua o el etanol dentro de la estructura de DH160. En la Tabla 31 se muestra la asignación a cada una de las señales.

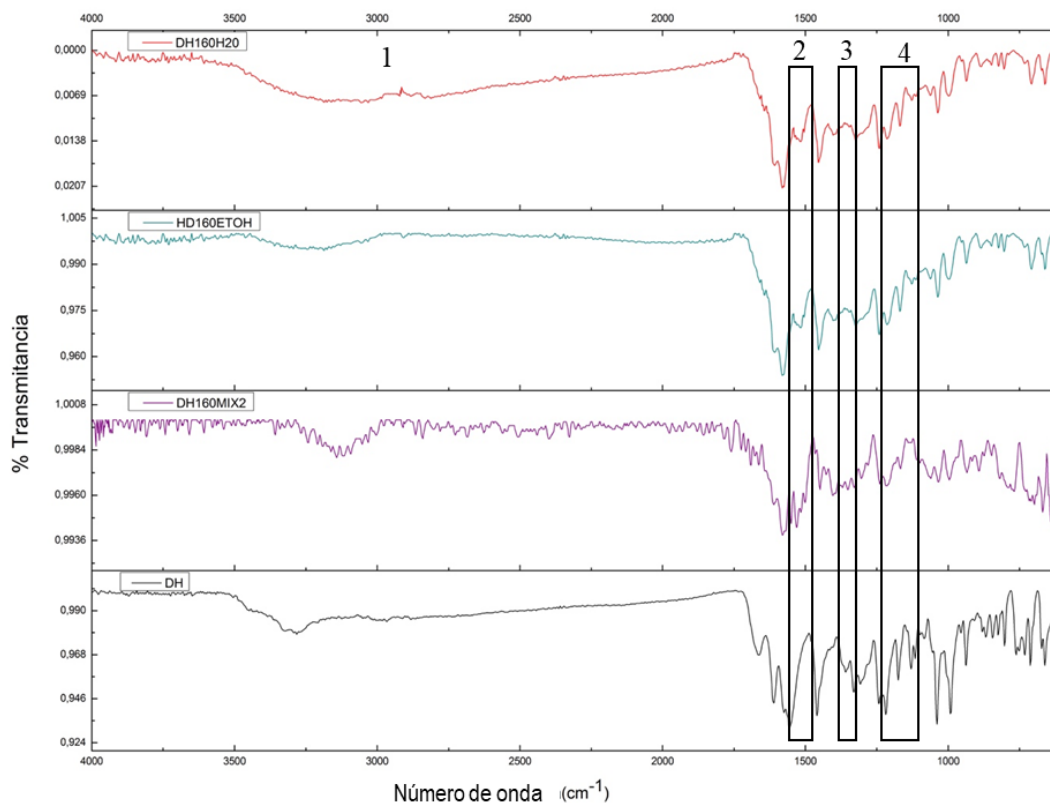


Figura 61. Espectros FT-IR de la recristalización de DH160 por el proceso de evaporación lenta del solvente.

Tabla 31.

Señales de espectro FT-IR de DH, DH160MIX, DH160ETOH y DH160H2O

Región ( $cm^{-1}$ )	SEÑALES				Asignación
	Número de onda ( $cm^{-1}$ )				
	DH	DH160MIX	DH160ETOH	DH160H2O	
<b>1</b> (3000– 2900)	2979 y 2927	Corrimiento de la banda	Señales solapadas con –OH y –NH <sub>2</sub>	Señales solapadas con –OH y –NH <sub>2</sub>	Estiramientos –OH, –NH <sub>2</sub> C–H y CH <sub>3</sub>
<b>2</b> (1670– 1640)	1663	-	-	-	Estiramiento del enlace C = O
<b>3</b> (1570– 1450)	–	1550-1500	1510	1510	Enlaces C = C
<b>4</b> (1400– 1250)	1397	1394-1259	1397	1397	Torsión del enlace C–H

**9.4.1.2 Análisis por difracción de rayos X de polvo los productos formados de la recristalización de DH160.** Los perfiles de difracción mostrados en la Figura 59 registrados para las muestras DH160ETOH, DH160H2O y DH160MIX obtenidos del proceso de recristalización de DH160 dieron como resultado un perfil amorfo con un halo ubicado en 4° – 11° en 2θ que corresponde mismos halos registrados para DH160, por lo tanto, no es posible obtener un sólido cristalino de DH160 por el método de cristalización por evaporación lenta de solvente.

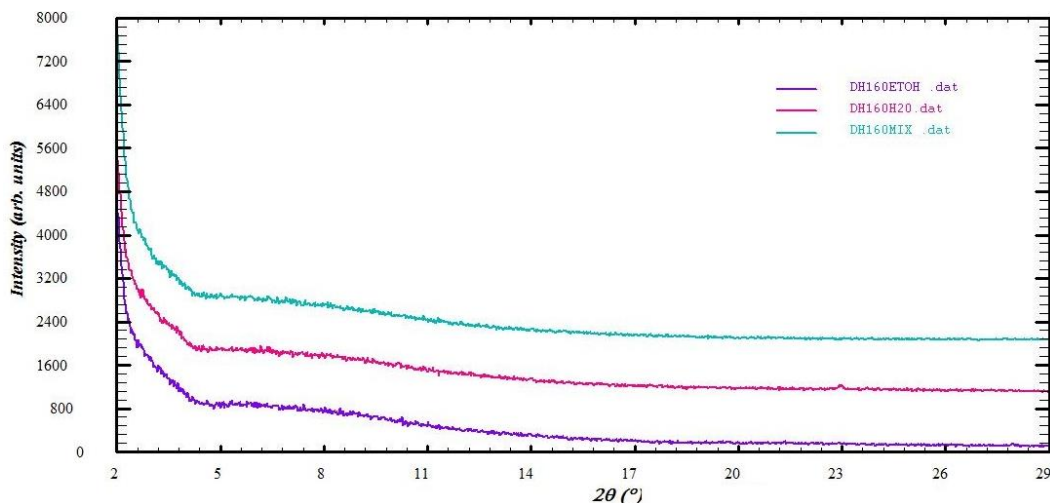


Figura 62. Perfil de difracción de DH160ETOH (línea morada), DH160H2O (línea fucsia) y DH160MIX (línea azul).

**9.4.2 Cristalización por difusión de vapor de DH y DH160.** Los compuestos DH y DH160 fueron recristalizados por el método de cristalización por difusión de vapor disolviendo una pequeña cantidad de muestra en etanol un vial de vidrio y se introdujo en un recipiente que contenía el antisolvente. Los antisolventes utilizados fueron tolueno, éter etílico y diclorometano. Sin embargo, este proceso de cristalización arrojó resultados favorables únicamente para dos cristalizaciones. En la Figura 60 y en la Tabla 32 se presentan los resultados obtenidos.

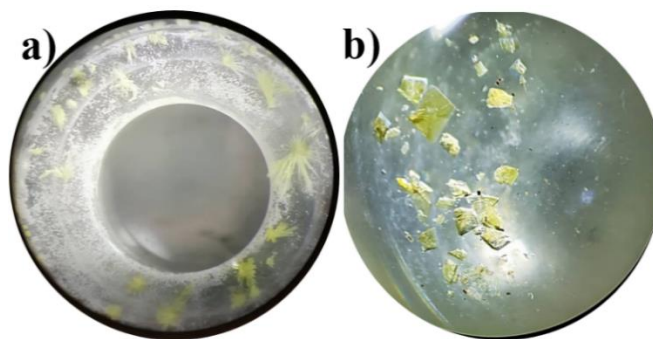


Figura 63. Resultados de la recristalización a) cristales en forma de agujas de DH y b) cristales en forma de placas de DH160

Tabla 32.

Resultados obtenidos de la recristalización de DH y DH160

Muestra	Observaciones	Producto final
<b>DH</b>		
DHET	No se observó la presencia de ningún sólido	-
DHEE	Se observó la presencia de cristales en forma de aguja en la boquilla del vial	Cristales amarillos en forma de aguja
DHED	No se observó la presencia de ningún sólido	-
<b>DH160</b>		
DH160ET	Se produjo la formación de un sólido color café.	Sólido cristalino color amarillo
DH160EE	Durante el proceso se produjo la formación de un sólido color café, pero con el tiempo se disolvió	-
DH160ED	No se observó la presencia de ningún sólido	-

**9.4.2.1 Análisis por difracción de rayos X de monocristal de DHEE.** El análisis por monocristal de DHEE sugiere que el material cristaliza en una celda monoclinica  $P2_1$  con parámetros  $a = 8,0872(6) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1427(8) \text{ \AA}$ ,  $c = 18,27887(14) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,343^\circ(7)$ . En la Tabla 33 se presentan los datos cristalográficos.

Tabla 33.

Datos cristalográficos y parámetros de determinación de estructura del cristal de DHEE

Datos Cristalinos	DHEE
Fórmula	$2C_{22}H_{25}N_2O_8 \cdot 2Cl \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$
Peso fórmula	1025.86 g/mol
Sistema cristalino	Monoclinico
Grupo espacial	$P2_1$
$a, b, c \text{ (\AA)}$	8,0872(6), 16,1427(8), 18,2787(1)

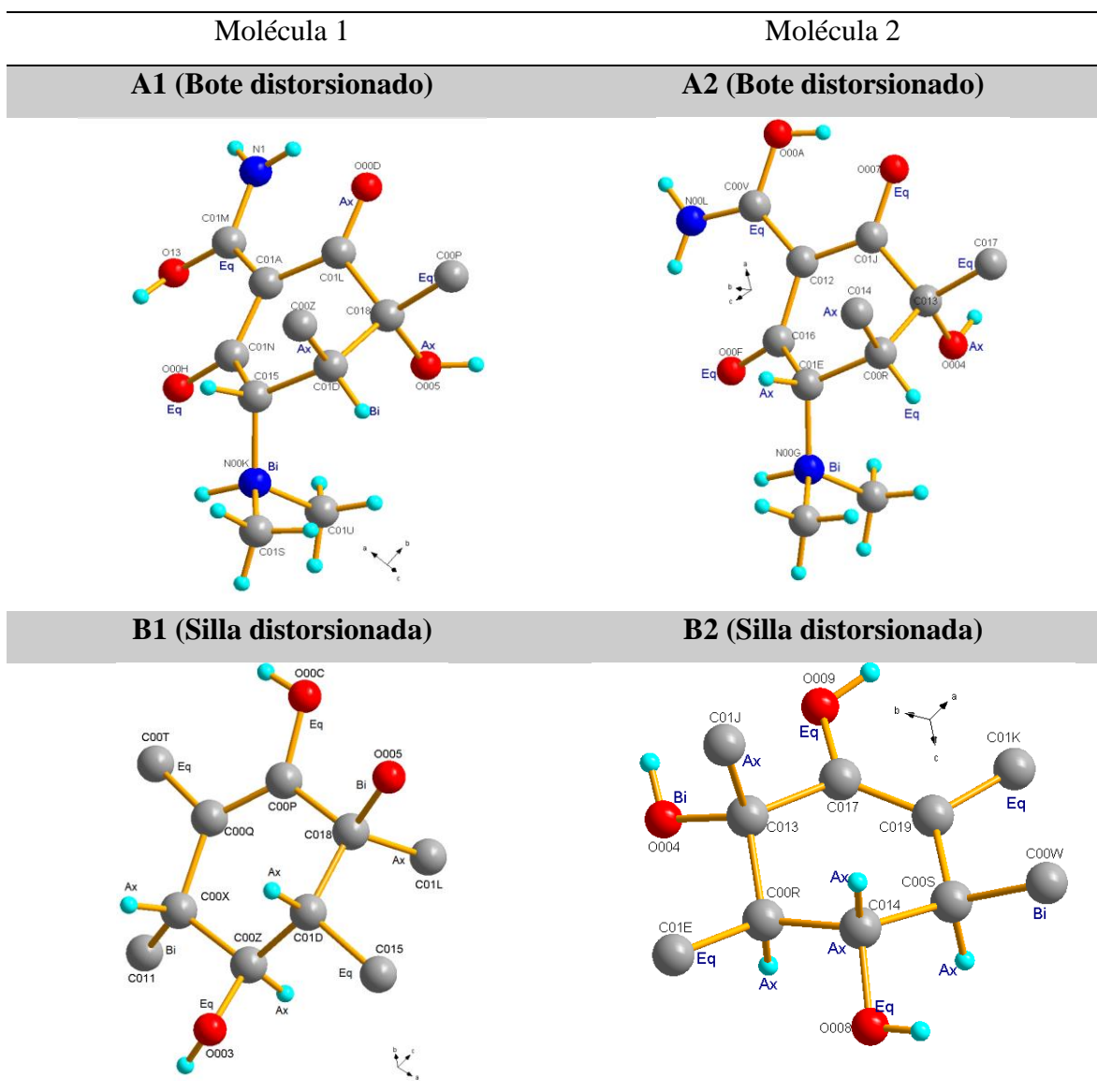
Datos Cristalinos	DHEE
$\beta$ (°)	94,343(7)
Volumen(Å <sup>3</sup> )	2379,4(3)
Z	4
$R_{int}$	0,078
$R_1, wR_2$	0,0528, 0,1961
S	0,81
Densidad (g/mol)	1080,0

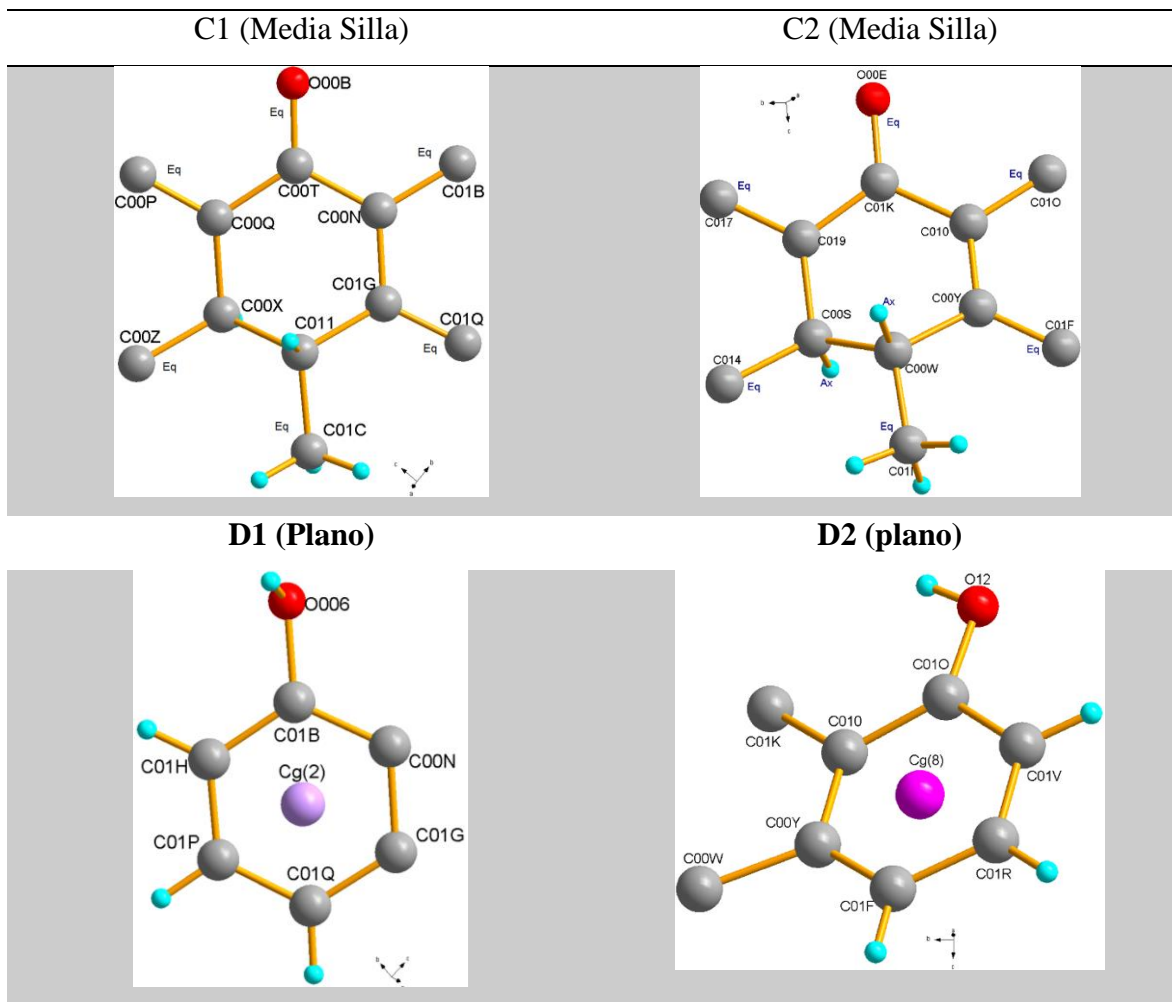
Seguidamente se realizó la validación de la estructura por medio programa PLATON verificando que los ángulos de enlace, ángulos de torsión y enlaces de hidrógeno se encuentren dentro de los rangos normales, además se calcularon las interacciones intra e intermoleculares, distancias de enlace y ángulos de torsión de la estructura cristalina de DHEE.

9.4.2.1.1 Análisis de la geometría de la estructura de DHEE. La determinación de los parámetros de asimetría de los anillos del núcleo tetraciclínico de DHEE se realizaron teniendo en cuenta los parámetros de asimetría de Cremer y Pople. En la Tabla 34 se muestra cada uno de los anillos con las etiquetas de los átomos y la proyección estereográfica de los sustituyentes para cada uno de los anillos. Adicionalmente en los anexos 5, 6 y 7 se muestran descriptores estereográficos de los sustituyentes de los anillos, las distancias de enlace y ángulos de los grupos funcionales sustituyentes de la molécula 1 y 2.

Tabla 34.

Representación gráfica de los anillos de la molécula 1 y 2 con sus respectivas etiquetas y ubicación espacial de los sustituyentes.





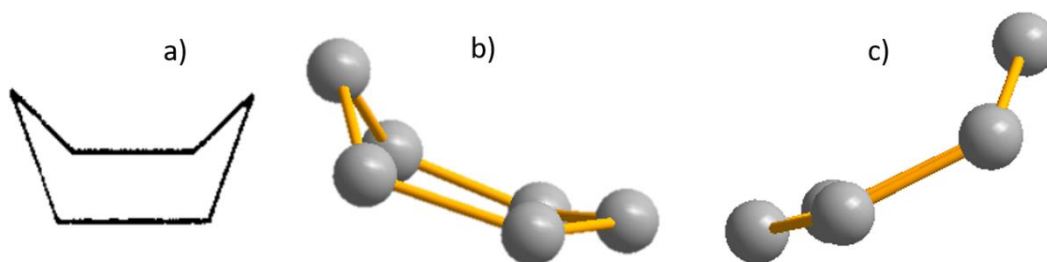
El anillo D1 y D2 de la molécula 1 y 2 poseen un valor de Tau menor a  $5,0 \text{ \AA}$  por lo tanto, el anillo no presenta ninguna deformación de los enlaces  $C - C$  y  $C - H$ ; adicionalmente, en estos anillos se encuentran ubicados los cetroides  $Cg(2)$  y  $Cg(8)$  que permiten las interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$  o  $\pi \cdots X$  dentro de la estructura cristalina.

Tabla 35.

*Coordenadas de las posiciones de los centroides de los anillos aromáticos de DHEE*

Centroide		
Coordenadas	<i>Cg</i> (2) (Anillo D1)	<i>Cg</i> (8) (Anillo D2)
X (Å)	0,2135	0,7860
Y (Å)	0,9980	-0,0392
Z (Å)	0,1476	0,1850

Por otra parte, los cuatro anillos etiquetados como B1, C1, B2, C2 correspondientes a las dos moléculas de doxiciclina poseen una deformación leve en los enlaces  $C - C$  del anillo dando origen a una conformación de silla distorsionada. Sin embargo la deformación de los anillos A1 y A2 se encuentra muy marcada con valor de  $q_2 = 0,398 \text{ \AA}$ ,  $q_3 = -0,269 \text{ \AA}$ ,  $\theta = 124,1^\circ$ ,  $\varphi = 29,3^\circ$  y  $q_2 = 0,4244 \text{ \AA}$ ,  $q_3 = -0,1637 \text{ \AA}$ ,  $\theta = 104,9^\circ$ ,  $\varphi = 234,7^\circ$  respectivamente, que corresponden a una conformación bote distorsionado, como se puede observar en la Figura 61. En la tabla 36 se muestran los parámetros de asimetría de los anillos del principio activo.



*Figura 64. a)* Representación gráfica de un ciclohexano en conformación de bote (teórico), *b)* Representación gráfica de bote distorsionado del anillo A1 *c)* Representación gráfica de bote distorsionado del anillo A2.

La molécula 1 y 2 de la doxiciclina poseen 6 centros quirales (color **rosado**) ubicados en los anillos A1, B1 y C1 y A2, B2 y C2 respectivamente. Adicionalmente la fusión de los anillos A1, B1 y A2, B2 para cada una de las moléculas se produce de forma *cis* debido a que los sustituentes H(01D), O(005) y H(00R), O(004) se encuentran orientados hacia el mismo plano.

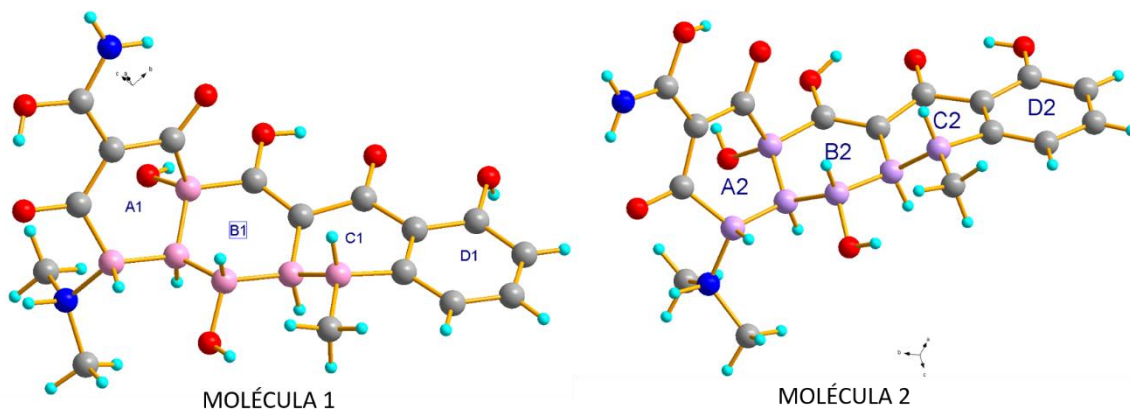


Figura 65. Centros quirales de la molécula 1 y 2 de DHEE.

Tabla 36.

Parámetros de asimetría de los anillos de DHEE.

PARÁMETROS DE ASIMETRÍA							
Anillo de 6 miembros A1							
	C(015)	C(010)	C(018)	C(01L)	C (01A)	C (01N)	
	$sp^3$	$sp^3$	$sp^3$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	Q=0.479
Ángulo de torsión (°)	-18.8	48.4	-47.9	14.7	16.4	-14.1	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.042	-0.213	0.330	-0.190	-0.065	0.182	
Anillo de 6 miembros B1							
	C(00P)	C(00Q)	C(00X)	C(00Z)	C(010)	C(018)	
	$sp^2$	$sp^2$	$sp^3$	$sp^3$	$sp^3$	$sp^3$	Q=0.408

## PARÁMETROS DE ASIMETRÍA

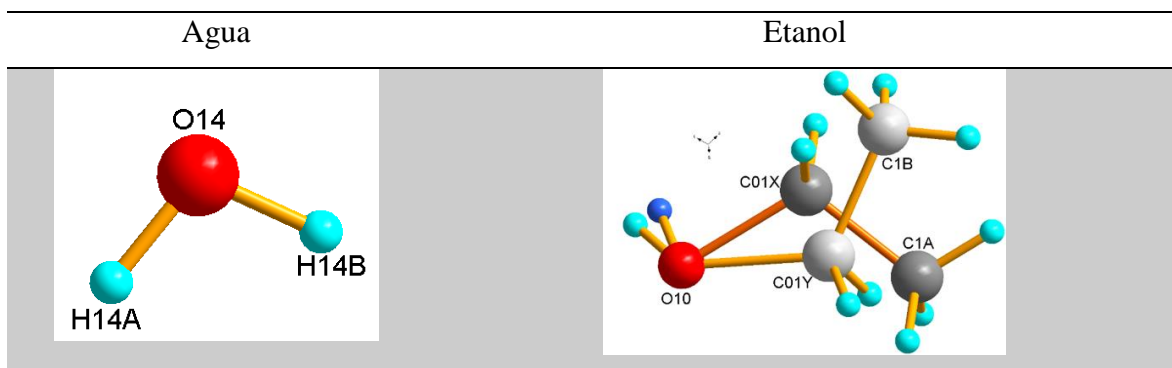
Ángulo de torsión (°)	10.5	-12.9	33.1	-52.2	46.9	-26.6	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.025	-0.032	-0.067	0.223	-0.280	0.181	
<b>Anillo de 6 miembros C1</b>							
	<b>C(00N)</b>	<b>C(00T)</b>	<b>C(00Q)</b>	<b>C(00X)</b>	<b>C(011)</b>	<b>C(016)</b>	
	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	Q=0.481
Ángulo de torsión (°)	-6.2	-11.6	43.1	-57.0	42.9	-10.3	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.090	-0.088	-0.113	0.310	-0.308	0.107	
<b>Anillo de 6 miembros D1</b>							
	<b>C(00N)</b>	<b>C(01B)</b>	<b>C(01H)</b>	<b>C(01P)</b>	<b>C(01Q)</b>	<b>C(01G)</b>	
	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	Tau=2,0
Ángulo de torsión (°)	3.0	-1.5	-1.6	3.2	-1.6	-1.4	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.016	0.016	0.000	-0.016	0.016	0.000	
<b>Anillo de 6 miembros A2</b>							
	<b>C(00R)</b>	<b>C(013)</b>	<b>C(01J)</b>	<b>C(012)</b>	<b>C(016)</b>	<b>C(01E)</b>	
	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	Q=0.572
Ángulo de torsión (°)	53.5	-52.1	9.6	27.9	-23.1	-18.7	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.244	0.378	-0.193	-0.125	0.258	-0.073	
<b>Anillo de 6 miembros B2</b>							
	<b>C(00R)</b>	<b>C(013)</b>	<b>C(017)</b>	<b>C(019)</b>	<b>C(00S)</b>	<b>C(014)</b>	
	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>2</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	<i>sp</i> <sup>3</sup>	Q=0.475
Ángulo de torsión (°)	50.6	-23.5	4.5	-12.7	39.3	-60.2	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0.323	0.175	0.016	-0.059	-0.090	0.281	
<b>Anillo de 6 miembros C2</b>							
	<b>C(00S)</b>	<b>C(00W)</b>	<b>C(004)</b>	<b>C(010)</b>	<b>C(01K)</b>	<b>C(019)</b>	

PARÁMETROS DE ASIMETRÍA							
	$sp^3$	$sp^3$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	Q=0.487
Ángulo de torsión (°)	-55.4	43.1	-9.9	-10.9	-5.1	39.2	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.299	-0.321	0.122	0.099	-0.121	-0.078	
Anillo de 6 miembros D2							
	C(004)	C(010)	C(01O)	C(01V)	C(01R)	C(01F)	
	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	$sp^2$	Tau=4,4
Ángulo de torsión (°)	-7.8	8.1	-4.2	-0.2	0.6	3.4	
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0.026	-0.043	0.031	-0.001	-0.016	0.004	

En cuanto a las moléculas de etanol y agua, el análisis por monocristal muestra que la molécula de agua no presenta ningún tipo de desorden o distorsión de los enlaces que la conforman. Sin embargo, para la molécula de etanol se observa un desorden posicional en los átomos de carbono y el hidrógeno del unido al O(10), mostrados en la tabla 37, esta distorsión es producida por los enlaces sencillos  $sp^3$  de libre rotación entre O(10) – C(01X), O(10) – C(01Y), C(01X) – C(1A), C(01Y) – C(1B), O(10) – H(10), y O(10) – H(10A).

Tabla 37.

Representación gráfica del hiclato



**9.4.2.2 Comparación de DH con DHEE.** Para evaluar la similitud estructural tridimensional entre las dos estructuras de la misma molécula obtenidas a partir del modelado de la estructura del patrón de polvo (DH) y el monocristal (DH160EE) obtenido de los procesos de recristalización de DH, se utilizó el método de la raíz media cuadrática (*Root-Mean-Square* (RMS)) para el cual se obtuvo un valor de 0,3179 Å, por lo tanto, las estructuras son muy similares entre sí, pero difieren en la posición de algunos átomos debido a que los enlaces que los unen son de libre rotación. Entre los grupos que difieren en la orientación se encuentran los metilos del grupo funcional dimetilamina (círculo azul), el enlace  $O - H$  (círculo rojo),  $N - H$  (círculo morado) del grupo funcional amida, el enlace  $C - H$  del grupo funcional metilo (círculo naranja) y la principal diferencia estructural se encuentra en la molécula de etanol (círculo verde) debido al desorden posicional que presentan los átomos y a la orientación de los átomos de hidrógeno de la molécula de agua (círculo amarillo), mostrados en la Figura 63.

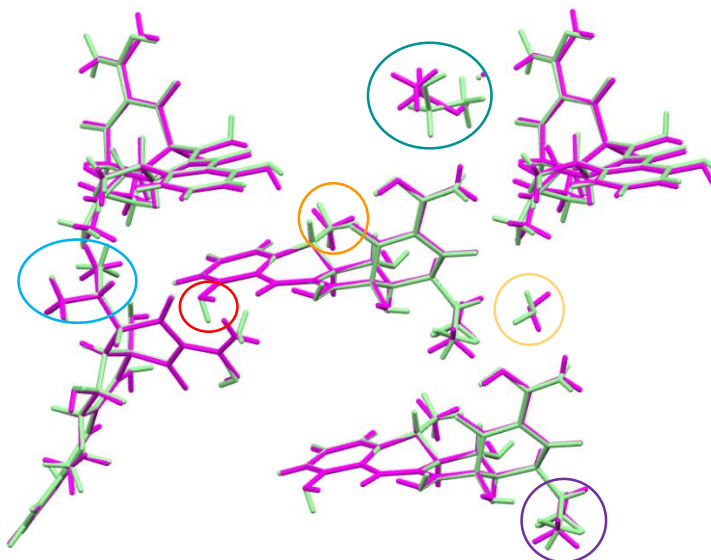


Figura 66. Comparación entre las estructuras de DH (verde) y DH160EE (magenta)

Teniendo en cuenta el análisis geométrico del monocristal DHEE y comparado con el modelado estructural de DH se puede inferir que ambas estructuras son similares estructuralmente, por esto, los enlaces de hidrógeno, las interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$  y empaquetamiento cristalino son similares.

**9.4.2.3 Análisis por difracción de rayos X de monocristal de DH160ET.** El análisis por monocristal de DH160ET sugiere que el material cristaliza en una celda monoclinica  $P2_1$  con parámetros  $a = 19,4759(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 13,1888(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 23,581(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107,695^\circ(1)$ . En la Tabla 38 se presentan los resultados del proceso de resolución estructural. Los resultados indican que el material presenta una estructura cristalina diferente a las anteriores.

Tabla 38.

*Datos cristalográficos y parámetros de determinación de estructura del cristal de DH160ET*

DATOS CRISTALINOS	DH160ET
Fórmula	$(C_{22}H_{25}N_2O_8)^+ Cl^-$
Peso fórmula	2065,36 g/mol
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$P2_1$
$a, b, c \text{ (\AA)}$	19,4759(2), 13,1888(1) 23,581(1)
$\beta \text{ (}^\circ\text{)}$	107,695°(1)
Volumen( $\text{\AA}^3$ )	5770,5(2)
Z	4
$R_{int}$	0,134
$R_1$ y $wR_2$	0,1424 y 0,4081
S	1,000
Densidad	1,1887

Seguidamente se realizó la validación de la estructura por medio programa PLATON verificando que los ángulos de enlace, ángulos de torsión y enlaces de hidrógeno se encuentren dentro de los rangos normales; además, se calcularon las interacciones intra e intermoleculares, distancias de enlace y ángulos de torsión de la estructura cristalina. La unidad asimétrica de DH160ET se muestra en la Figura 64. El material cristaliza con cuatro moléculas cristalográficamente independientes y los átomos de cloro muestran desorden posicional.

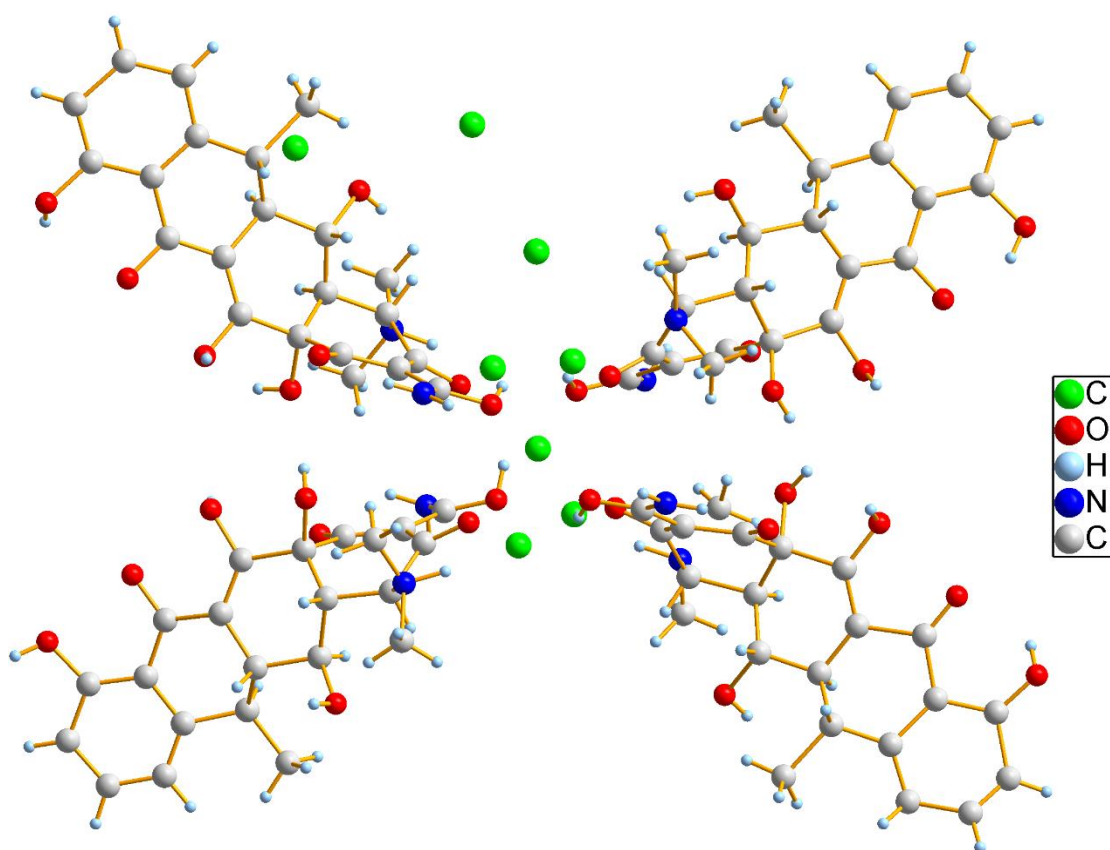
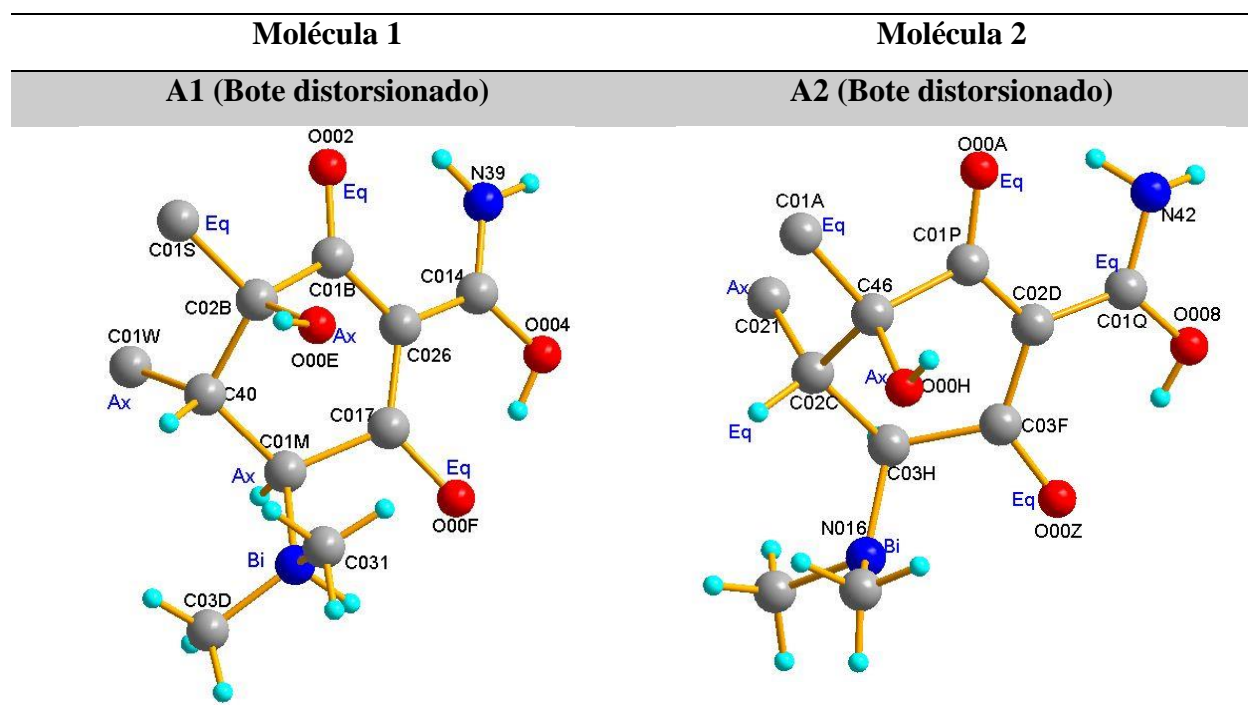


Figura 67. Unidad asimétrica de DH160ET vista a lo largo del eje c.

La determinación de los parámetros de asimetría de los anillos del núcleo tetraciclínico de las cuatro moléculas que componen el producto anhidro de doxiciclina (DH160ET), se realizaron teniendo en cuenta los parámetros de asimetría de Cremer y Pople. En la Tabla 39 se muestran las moléculas con las respectivas etiquetas de los átomos y proyección estereográfica de los sustituyentes para cada uno de los anillos. Adicionalmente en los anexos 8, 9, 10 y 11 se muestran descriptores estereográficos de los sustituyentes de los anillos, las distancias de enlace y ángulos de los grupos funcionales sustituyentes de los anillos de las cuatro moléculas de DH160ET.

Tabla 39.

*Representación gráfica de los anillos de la molécula 1, 2, 3 y 4 con sus respectivas etiquetas y proyección estereográfica de los sustituyentes*



Molécula 1

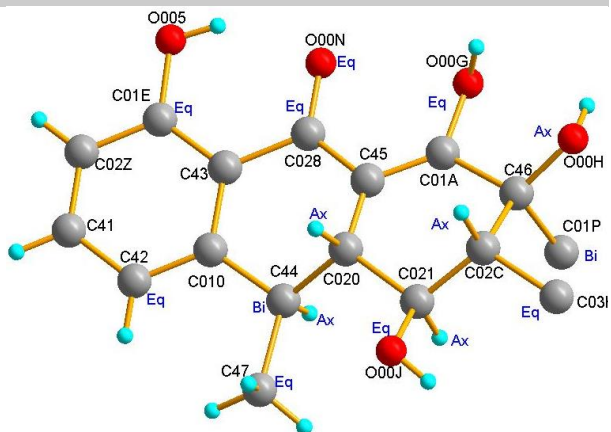
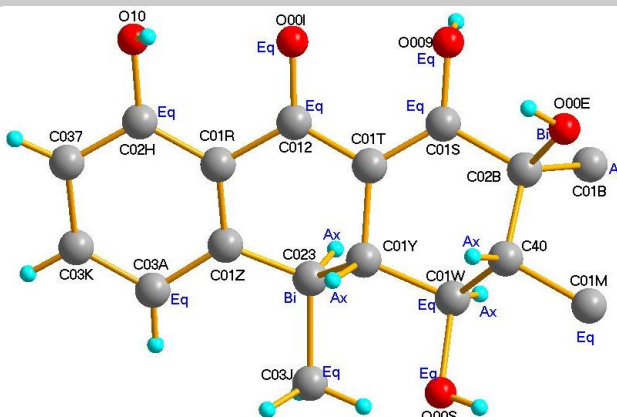
Molécula 2

D1(plano)-C1(media silla distorsionada)-

D2(plano)-C2(media silla) -B2(Silla

B1(Silla distorsionada)

distorsionada)

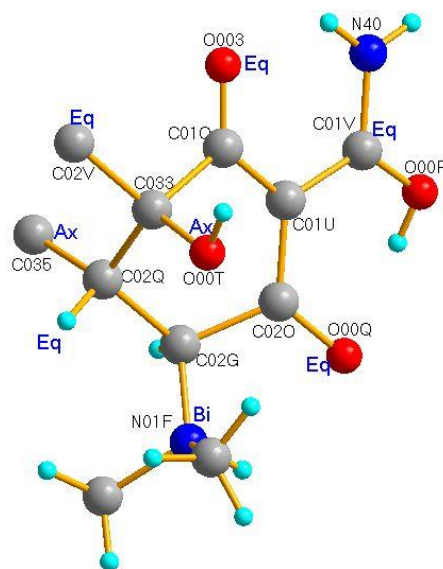
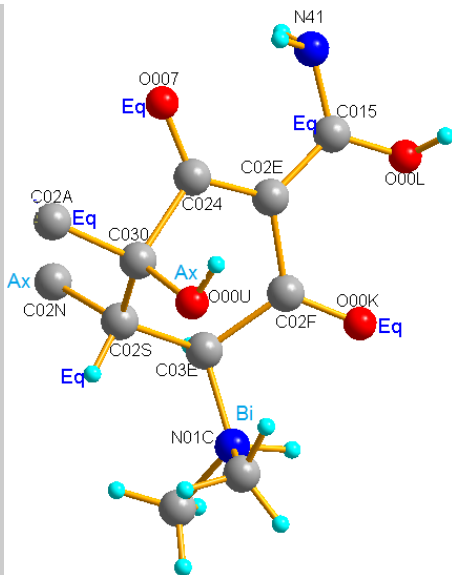


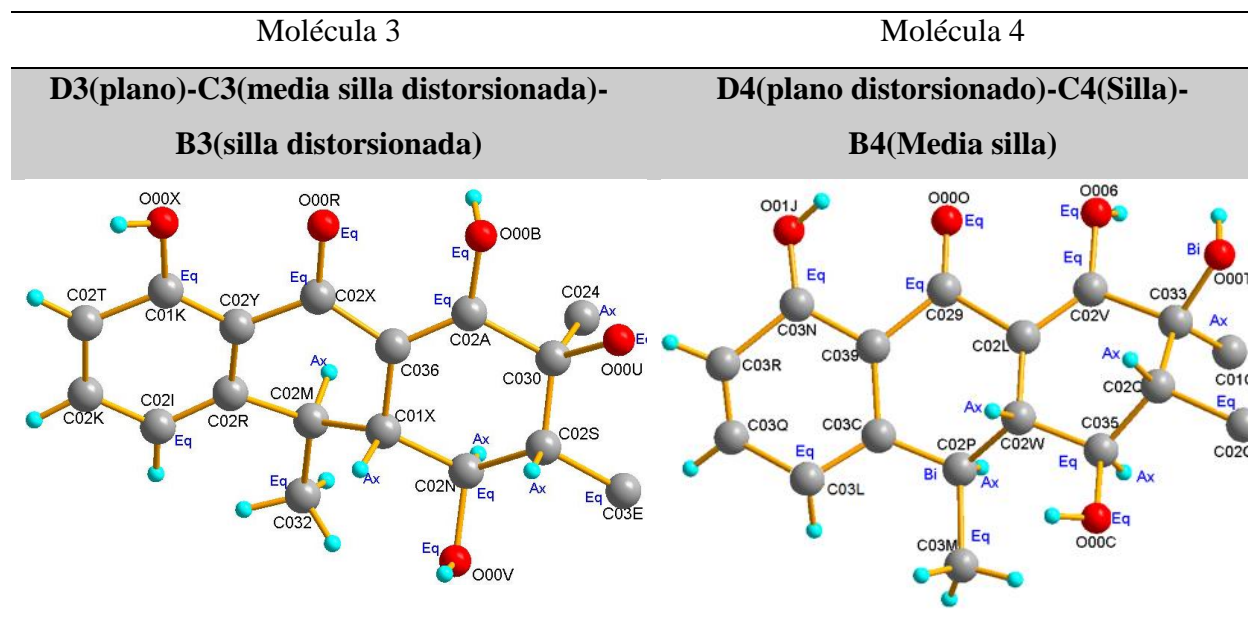
Molécula 3

Molécula 4

A3 (Bote distorsionado)

A4 (Bote Distorsionado)





El anillo de seis miembros D1, D2 y D3 de la molécula 1, 2 y 3 poseen un valor de Tau menor a  $5,0 \text{ \AA}$  por lo tanto, el anillo no presenta ninguna deformación de los enlaces  $C - C$  y  $C - H$  por lo tanto se considera tiene una geometría plana sin embargo el anillo D4 de la molécula 4 posee una leve distorsión en el carbono C(03L).

Los cuatro anillos etiquetados como B1, B2, B3 y B4 correspondientes a las cuatro moléculas de doxiciclina adquieren una geometría de silla, en los primeros 3 anillos la conformación de silla se encuentra distorsionada en uno de los átomos de carbono, mientras que para B4 la conformación de silla se encuentra dentro de los parámetros establecidos.

Los anillos C1 C2 y C3 de las moléculas 1, 2 y 3 de DH160ET poseen una conformación de media silla, sin embargo, en los anillos C1 y C3 se produce una deformación en enlaces  $C - C$  del anillo promoviendo una configuración de media silla distorsionada, mientras que el anillo C2 adquiere una configuración de silla.

Por otra parte la deformación de los anillos A1, A2, A3 y A4 se encuentra muy marcada por esto posee los valores de  $q_2 = 0,509 \text{ \AA}$ ,  $q_3 = -0,135 \text{ \AA}$ ,  $\theta = 105,0^\circ$ ,  $\varphi = 350,0^\circ$  y  $q_2 =$

0,583 Å,  $q_3 = 0,187$  Å,  $\theta = 72,1^\circ$ ,  $\varphi = 355,4^\circ$ ,  $q_2 = 0,586$  Å,  $q_3 = -0,122$  Å,  $\theta = 101,8^\circ$ ,  $\varphi = 118,0^\circ$  y  $q_2 = 0,590$  Å,  $q_3 = -0,0960$  Å,  $\theta = 99,4^\circ$ ,  $\varphi = 107,8^\circ$  respectivamente, que corresponden a una conformación de bote distorsionado. En el anexo 12 se muestran los parámetros de asimetría de los anillos de DH160ET.

9.4.2.3.1 Enlaces de hidrógeno de DH160ET. La estructura de DH160 contiene 50 tipos de enlaces de hidrógeno de los cuales, 35 enlaces son de tipo convencional entre los que se encuentran 18 homonucleares y 17 heteronucleares y 15 enlaces de hidrógeno no convencionales de tipo heteronucleares. En el anexo 13 se muestran los todos los tipos de enlaces de hidrógeno con las respectivas distancias de enlace entre los átomos donadores y aceptores.

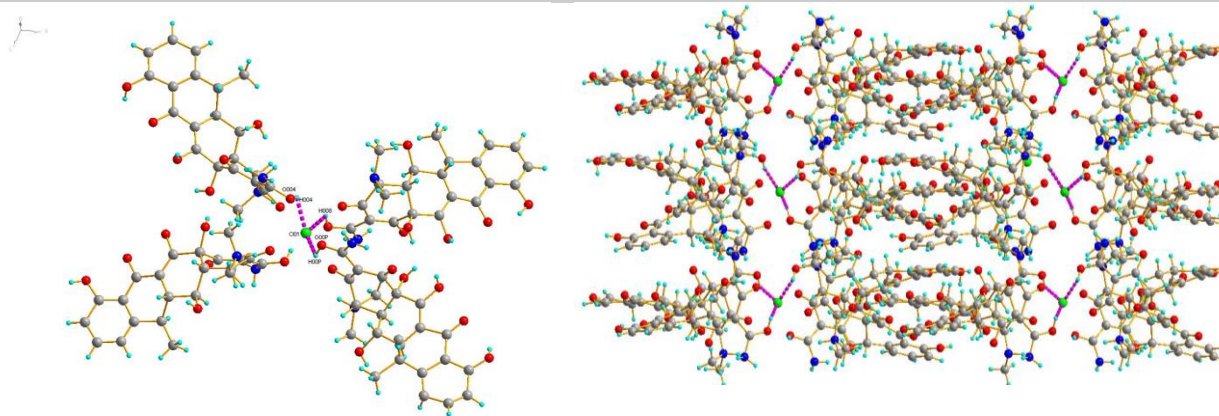
La representación gráfica y la subunidad estructural que forman los principales enlaces de hidrógeno que forma DH160 se encuentra en la Tabla 40.

Tabla 40.

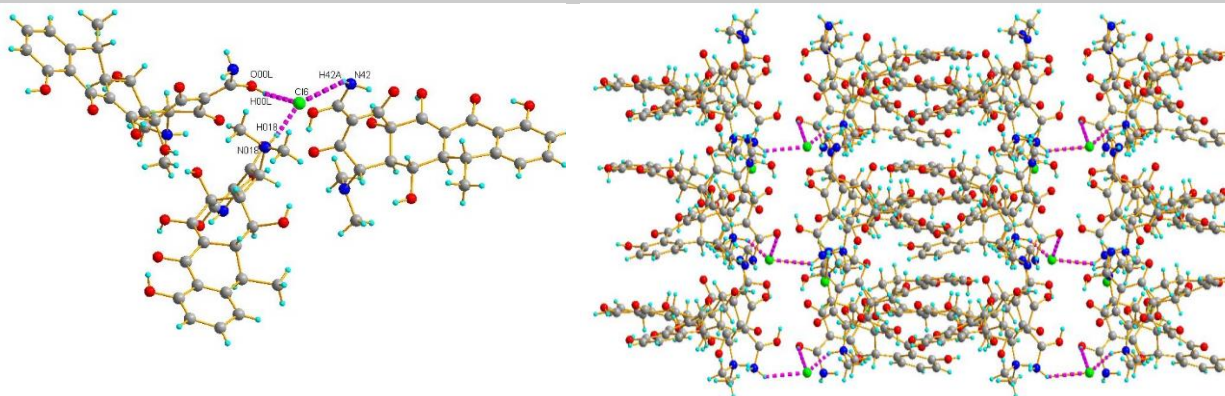
*Representación gráfica de los enlaces de hidrógeno representativos de DH160ET*

Enlaces de hidrógeno con los átomos de Cloro

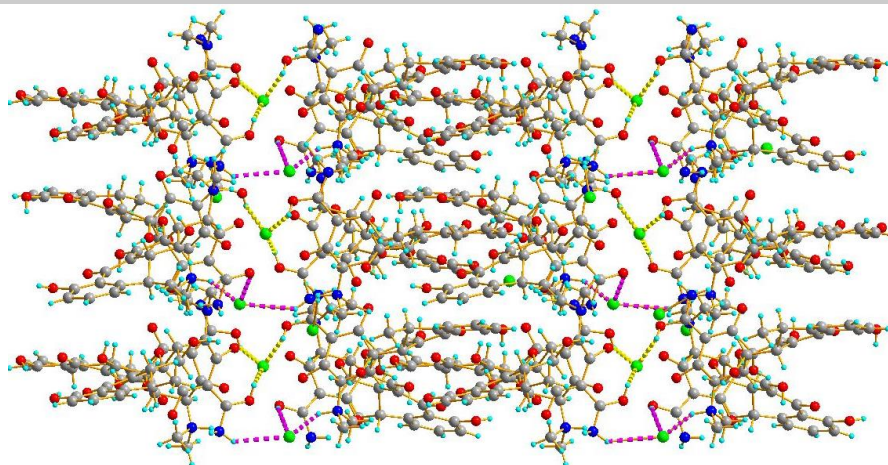
**$O(004) - H(004) \cdots Cl(01)$ ,  $O(00P) - H(00P) \cdots Cl(01)$   
y  $O(008) - H(008) \cdots Cl(01)$**



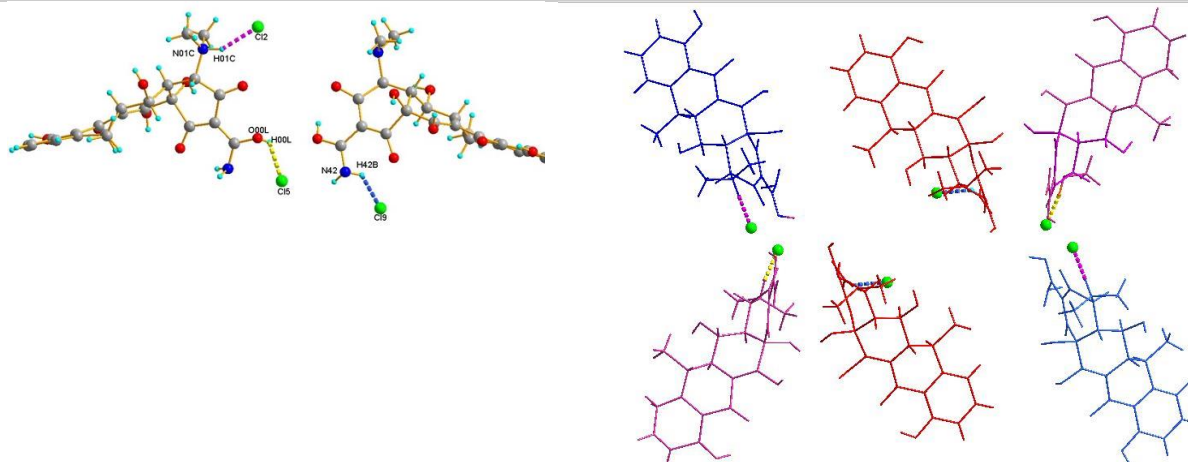
$N(018) - H(018) \cdots Cl(6)$ ,  $N(42) - H(42A) \cdots Cl(6)$  y  $O(00L) - H(00L) \cdots Cl(6)$



*Empaquetamiento Cl(01)(amarillo) y Cl(06)(fucsia)*

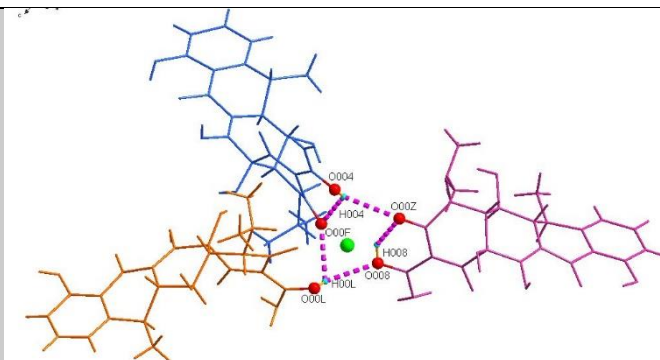


$N(01F) - H(01F) \cdots Cl(5)$ ,  $N(01C) - H(01C) \cdots Cl(2)$  y  $N(42) - H(42B) \cdots Cl(9)$

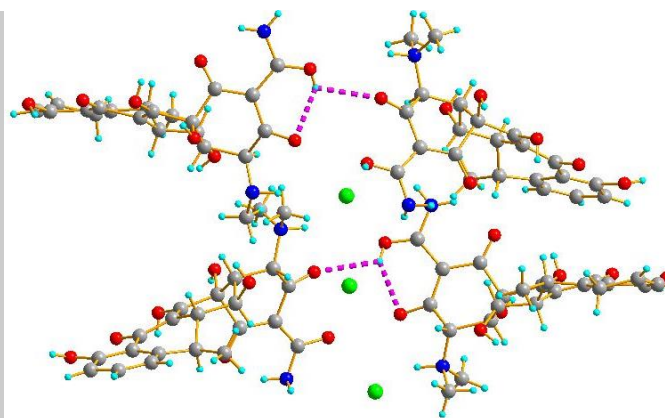
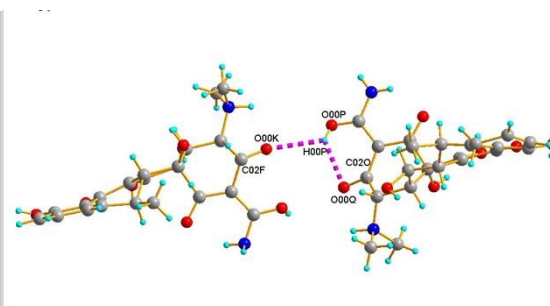


## Enlaces de hidrógenos homonucleares

$O(004) - H(004) \cdots O(00Z), O(004) - H(004) \cdots O(00F),$   
 $O(00L) - H(00L) \cdots O(00F), O(00L) - H(00L) \cdots O(008)$  y  
 $O(008) - H(008) \cdots O(00Z)$

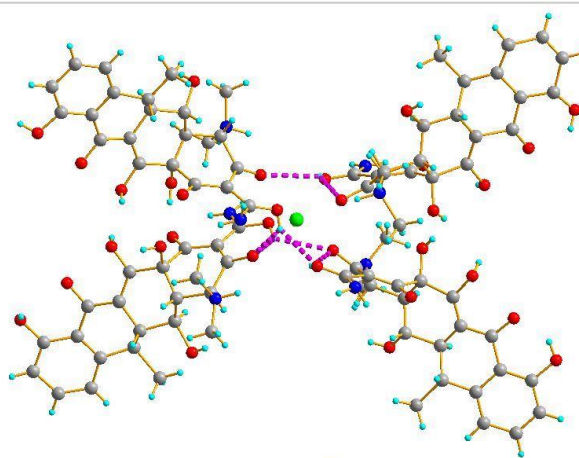


$O(00P) - H(00P) \cdots O(00Q)$  y  $O(00P) - H(00P) \cdots O(00K)$



Enlaces de hidrógenos intra e intermoleculares de los grupos OH de los anillos A1, A2, A3 y

A4



El Cl(01) forma 3 enlaces de hidrógeno de tipo heteronuclear e intermolecular con una molécula 1, 2 y 4 a partir del  $-OH$  unido al carbono  $C(014)$ ,  $C(01Q)$  y  $C(01V)$  respectivamente, del anillo A.

Por otra parte, el  $Cl(06)$  también forma 3 enlaces de hidrogeno heteronucleares e intermoleculares. Los primeros dos enlaces se producen a partir de grupo funcional amina ubicado en el  $C(014)$  y  $C(01Q)$  de la molécula 1 y 2 respectivamente. Por último, el tercer enlace se forma a partir del hidroxilo de grupo funcional amida unida al anillo A3 de una la molécula 3 con el  $Cl(06)$ . Los enlaces de hidrógeno formados por  $Cl(01)$   $Cl(06)$  originan un empaquetamiento en forma de cadenas *Zig - Zag* a lo largo del eje c. De igual forma, los átomos de cloro  $Cl(5)$ ,  $Cl(2)$  y  $Cl(9)$  establecen un solo enlace de hidrógeno con una molécula 4, 3 y 2 a través del N de la amida del anillo A.

Los cinco enlaces de hidrógeno que mantienen unidas las moléculas 1, 2 y 3 son intra e intermoleculares de tipo homonucleares. El  $H(004)$  forma un enlace bifurcado intra e intermolecular con  $O(00F)$  y  $O(00Z)$  de una molécula 1 y 2 respectivamente. Mientras que el  $H(00L)$  forma un enlace bifurcado, pero intermolecular con el  $O(00F)$  y  $O(008)$  de una molécula 1 y 2. Por último el enlace de hidrógeno intramolecular  $O(008) - H(008) \cdots O(00Z)$  se produce desde el OH de la amida hasta el carbonilo ubicado en  $C(03F)$  del anillo A2 de la molécula 2.

Por otra parte, el  $H(008)$  de la molécula 4 establece un enlace bifurcado inter e intra molecular con  $O(00K)$  y  $O(00Q)$  para formar dímeros discretos a lo largo del eje b.

**9.4.2.4 Interacciones moleculares tipo  $\pi \cdots \pi$ .** Otro tipo de interacciones cortas a parte de los enlaces de hidrógeno son las interacciones de tipo  $\pi \cdots \pi$  se producen a través de los centroides

$Cg(12)$ ),  $Cg(29)$  y  $Cg(31)$  de los anillos D1, D2 y D3. En la Tabla 41 se muestran las coordenadas de cada uno de los centroides.

Tabla 41.

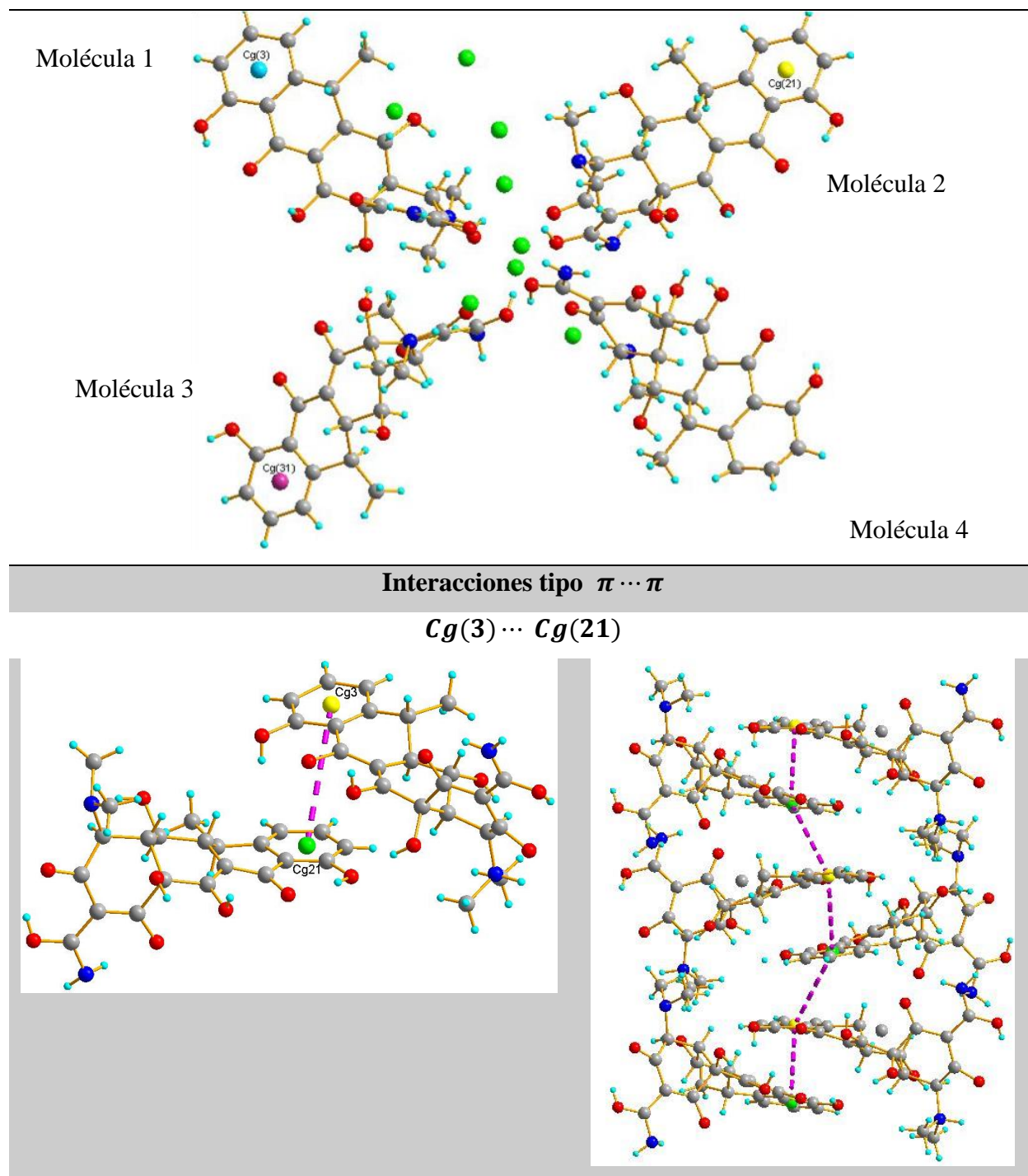
*Coordenadas de las posiciones de los centroides de los anillos aromáticos de DH160*

Centroide			
Coordenadas	$Cg(12)$ (Anillo D1)	$Cg(29)$ (Anillo D2)	$Cg(31)$ (Anillo D2)
X (Å)	-0,0402	0,9451	0,0452
Y (Å)	0,5701	0,3145	0,2102
Z (Å)	0,3539	0,5069	0,9520

La representación gráfica de los centroides se muestra en la tabla 42. Las interacciones  $Cg(3) \cdots Cg(21)$ , se producen a una distancia 4,572 Å formando cadenas helicoidales a lo largo del eje b.

Tabla 42.

Ubicación de los centroides e interacciones tipo  $\pi \cdots \pi$  entre  $Cg(3) \cdots Cg(21)$



**9.4.3 Cristalización en gel de agar de DH y DH160.** El proceso de recristalización de DH y DH160 realizado por el método de cristalización en gel de agar durante 1 mes no arrojó resultados

favorables para la muestra DH ya que no se observó ningún sólido suspendido o cambios significativos dentro del gel a pesar de que el tolueno (anti-solvente) se difundió a través de él. Sin embargo, para DH160 cuando el acetonitrilo (anti-solvente) se difundió en el gel, se produjo la agrupación de moléculas del sólido formando cristales de tamaño muy reducido, los cuales, al ser analizarlos en un microscopio de luz normal no se observa ningún sólido de tamaño representativo, mientras que al exponer el gel al microscopio de luz polarizada se observa sólidos brillantes de color amarillo que corresponde a los cristales de DH160 (Figura 65). A pesar el que se produjo la formación de estos cristales no pudieron ser analizados mediante ninguna técnica de caracterización debido a su limitado tamaño que imposibilitó la extracción de dichos cristales del gel. Por lo tanto, es posible obtener cristales del producto DH160 por el método de recristalización en gel, pero se requiere de una mayor concentración de DH160 o mayor tiempo de cristalización.

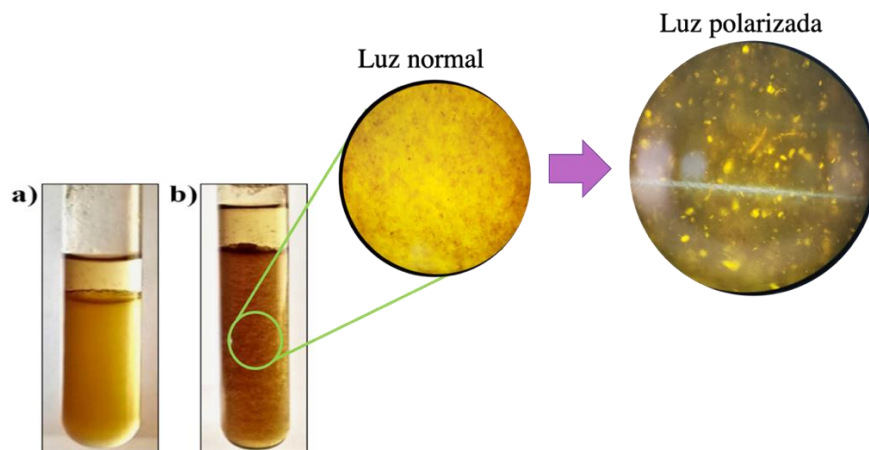


Figura 68. Resultados de la recristalización por el método de cristalización en gel a) DH y b) DH160 expuesta a luz normal y luz polarizada.

## 10. Conclusiones

El hiclato de doxiciclina comercial presenta la estructura tautomérica *ceto* (T2).

En el proceso de liofilización de DHSLIOF no es posible retirar las moléculas del etanol y agua estructural, por lo tanto, la fase cristalina se mantiene, mientras que si el proceso se lleva a cabo diluyendo el hiclato de doxiciclina es posible retirar las moléculas de agua y etanol, pero se produce la pérdida de la cristalinidad del material

Al someter el hiclato de doxiciclina a un tratamiento térmico, la pérdida de agua y etanol se produce a una temperatura de 160,1 °C adicionalmente y se promueve la amorfización de material.

Se determinó que al retirar principalmente la molécula de etanol y agua estructurales por el método de liofilización en disolución (DHDLIOF) y por tratamiento térmico (DH160) se produce la pérdida de la cristalinidad del material.

La inclusión de moléculas de etanol en la estructura de la doxiciclina anhidra (DH160) para la formación de una especie solvatada (DH160E), produce una transformación de fase desde una fase amorfa a una fase cristalina monoclinica con  $P2_1$  con parámetros de celda  $a = 18,2526(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16.1299(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.0869(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,165^\circ(4)$  y  $V = 2374,59 \text{ \AA}^3$ .

La resolución estructural de DH160E indica que, en ausencia de agua, se promueve una mayor interacción y enlaces de hidrógeno entre las moléculas con  $Ci(2)$ .

La inclusión de moléculas de agua en la estructura de la especie solvatada (DH160E) para formar el hiclato (DH160EH), aumenta la proporción de material amorfo. DH160EH cristaliza en

un sistema Monoclónico  $P2_1$  con parámetros  $a = 19,3446(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1160(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0480(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 110,104^\circ(4)$ , y  $V = 2356,16 \text{ \AA}^3$ .

La inclusión de moléculas de  $H_2O$  en la estructura de la doxiciclina anhidra (DH160) para formar una especie hidratada (DH160H) produce un leve ordenamiento molecular.

Las moléculas de etanol produce una transformación de fase en la doxiciclina hidratada (DH160HE) desde una fase amorfa hasta una fase cristalina Monoclónica  $P2_1$  con parámetros  $a = 18,2032(1) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1205(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 8,0628(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,200^\circ(6)$ , y  $V = 2395,49 \text{ \AA}^3$ ; por lo tanto, se puede inferir que las moléculas de etanol son orientadoras de estructura debido a la variedad de enlaces de hidrógeno que forma con las moléculas que acompañan la estructura.

Se determinó que no es posible obtener un sólido cristalino de DH por medio de los métodos de cristalización por evaporación de solvente.

Se determinó que no es posible obtener un sólido cristalino de DH160 por medio de los métodos de cristalización por evaporación de solvente. Sin embargo, para cristalizar DH160 por el método de cristalización en gel requiere de realizar un diseño experimental que permita obtener cristales de mayor tamaño para poder hacer una caracterización estructural.

Se determinó la estructura cristalina del hiclato de doxiciclina por difracción de rayos X de monocristal, la cual, cristaliza en forma de agujas de color amarillo, con celda monoclónica  $P2_1$  y parámetros  $a = 8,0872(6) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,1427(8) \text{ \AA}$ ,  $c = 18,27887(14) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 94,343^\circ(7)$

Se determinó por monocristal la estructura cristalina de la doxiciclina anhidra no reportada, la cual cristaliza en forma de placas de color amarillo, con celda monoclónica  $P2_1$  y parámetros  $a = 19,4759(2) \text{ \AA}$ ,  $b = 13,1888(1) \text{ \AA}$ ,  $c = 23,581(1) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107,695^\circ(1)$ .

## 11. Divulgación de Resultados

Los resultados parciales del presente proyecto fueron presentados en:

XVII Congreso Colombiano de Química con el trabajo titulado **Determinación de la estructura cristalina de la doxiciclina hclato por difracción de rayos X de polvo** en la modalidad de poster realizada en octubre del 2017

XIII Reunión anual de la asociación argentina de cristalografía con el trabajo titulado **Determinación de la estructura cristalina de la doxiciclina hclato por difracción de rayos X de polvo** en la modalidad de presentación oral breve y de poster realizada en noviembre del 2017.

Los certificados de los congresos se presentan en el anexo 14 y 15

### Referencias Bibliográficas

- Abosedo, O. O., Vyas, N. A., Singh, S. B., Kumbhar, A. S., Kate, A., Kumbhar, A. A., ... Obaleye, J. A. (2016). Copper(ii) mixed-ligand polypyridyl complexes with doxycycline - Structures and biological evaluation. *J. Name.*, 45(7), 3003–3012. <https://doi.org/10.1039/c5dt04405g>
- Anwar, J., & Zahn, D. (2017). Polymorphic Phase Transitions: Macroscopic Theory and Molecular Simulation Polymorphic phase transitions : Macroscopic theory and molecular simulation. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, (September). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.017>
- Artioli, G., Monaco, H. L., Viterbo, D., Ferraris, G., Gilli, G., Zanotti, G., & Catti, M. (2002). *Fundamentals of Crystallography* (C. Giacovazzo, ed.). Retrieved from <https://books.google.fr/books?id=77pUdgcxar0C>
- Bedolla, C. A. (2012). Cuasicristales / Quasicrystals. *Educ. Quim.*, 23(1), 69–70.
- Brittain, H. G. (Ed.). (1995). *Physical Characterization Of Pharmaceutical Solids*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Brittain, H. G. (2009). *Polymorphism in Pharmaceutical Solids* (Second Edi, Vol. 192). New Jersey, USA.
- Byrn, S. ., Pferffer, R. ., Stephenson, G., Grant, D. J. ., & Leason, W. B. . (1994). Solid-State Pharmaceutical Chemistry. *Chem. Mater.*, 6, 1148–1158. <https://doi.org/10.1021/cm00044a013>
- Casagrande, S. P., & Blanco, R. C. (2004). *Método de Rietveld para el estudio de estructuras cristalinas*. 2(1), 1–5.

- Chisholm, J. A., & Motherwell, S. (2005). COMPACK : a program for identifying crystal structure similarity using distances. *J. Appl. Cryst.*, 38(1), 228–231. <https://doi.org/10.1107/s0021889804027074>
- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microb. Mol. Biol. Rev.*, 65(2), 232–260. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>
- De Lima, R., Reis, I., Kassawara, M., De Azevedo, J., & De Araújo, M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz. J. Infect. Dis.*, 16(5), 466–471. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014>
- De Wolff, P. (1972). The definition of the indexing figure of merit M20. *J. Appl. Cryst.*, 5, 243. <https://doi.org/10.1107/S002188987200932X>
- Desiraju, G. R., & Steiner, T. (1999). *The Weak Hydrogen Bond* (First Edit). New York: International Union of Crystallography Oxford University Press.
- Dinnebier, R., & Billinge, S. (Eds.). (2008). *Powder Diffraction Theory and Practice* (RSCPublish). Cambridge,UK: The Royal Society of Chemistry.
- Dinnebier, Robert, & Rodríguez-carvajal, J. (2001). *COMMISSION ON POWDER DIFFRACTION Rietveld Refinement*.
- Freixedas, F. G., Bauzá, A. C., & Söhnel, O. (2000). *Cristalización en disolución: conceptos básicos*. Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=73EtcO0j1i0C>
- Fuentes, L. (2004). Introducción al Método de Rietveld. *Sociedad Mexicana de Cristalografía*, 1–156. Retrieved from [http://blogs.cimav.edu.mx/luis.fuentes/data/files/Curso\\_Cristalografía/Fuentes\\_Método\\_Rietveld.pdf](http://blogs.cimav.edu.mx/luis.fuentes/data/files/Curso_Cristalografía/Fuentes_Método_Rietveld.pdf)
- Fuoco, D. (2012). Classification Framework and Chemical Biology of Tetracycline-Structure-Based Drugs. *Antibiotics*, 1, 1–13. <https://doi.org/10.3390/antibiotics1010001>

- Gilli, G., & Gilli, P. (2009). *The Nature of the Hydrogen Bond*. New York: Oxford University Press Inc.
- Goñi, M. (1987). *Características del estado sólido Loracepan e influencia en su disponibilidad*. Universidad de la Navarra.
- Gonzalez, L. (2018). *Estudio experimental de la transición vítera y de la dinamica macromolecular en dispersiones sólidas amorfas del antibiótico cloranfenicol en ácido poliláctico* (Universitat Politecnica de Catalunya Barcelonatech). Retrieved from <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/115107/TFG.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Guinebretière, R. (2007). X-Ray Diffraction by Polycrystalline Materials. In *X-ray Diffraction by Polycrystalline Materials*. <https://doi.org/10.1002/9780470612408>
- Gutiérrez, L., Velasco, Z., Vázquez, C., Vargas, D., & Sumano, H. (2012). Pharmacokinetics of an injectable long-acting formulation of doxycycline hyclate in dogs. *Acta Vet. Scand.*, *54*(35), 1–8. <https://doi.org/doi:10.1186/1751-0147-54-35>.
- Hassani, M., Lázaro, R., Pérez, C., Condón, S., & Pagán, R. (2008). Thermostability of oxytetracycline, tetracycline, and doxycycline at ultrahigh temperatures. *J. Agric. Food Chem.*, *56*(8), 2676–2680. <https://doi.org/10.1021/jf800008p>
- Hayes, D., LoPore, A., Lukas, S., & Quinn, E. (2005). *Patent No. US 6,958,161 B2*. United States.
- Headen, T. F., Howard, C. A., Skipper, N. T., Wilkinson, M. A., Bowron, D. T., & Soper, A. K. (2010). Structure of  $\pi$  -  $\pi$  Interactions in Aromatic Liquids. *J. Amer. Chem. Soc.*, *132*(16), 5735–5742. <https://doi.org/10.1021/ja909084e>
- Heinemann, F. W., Leypold, C. F., Roman, C. R., Schmitt, M. O., & Schneider, S. (2013). X-ray crystallography of tetracycline, doxycycline and sancycline. *J. Chem. Cryst.*, *43*(4), 213–222. <https://doi.org/10.1007/s10870-013-0407-0>
- Inouye, S., & Iitaka, Y. (1964). Crystallographic data on the molecular complexes of tetracycline salts. *Act. Cryst.*, *17*(2), 207–208. <https://doi.org/10.1107/S0365110X64000500>

- Jogun, K. H., & Stezowski, J. J. (1976). Chemical-Structural Properties of Tetracycline Derivatives. 2. Coordination and Conformational Aspects of Oxytetracycline Metal Ion Complexation. *J. Amer. Chem. Soc.*, 98(19), 6018–6026. <https://doi.org/10.1021/ja00435a040>
- Kogawa, A. C., & Salgado, H. (2012). Doxycycline hyclate: A review of properties, applications and analytical methods. *Pharm. Scien.*, 2, 11–25.
- Le Bail, A. (2005). Whole powder pattern decomposition methods and applications: A retrospection. *Powder Diffr.*, 20(4), 316–326. <https://doi.org/10.1154/1.2135315>
- Legendre, A. O., Silva, L. R. R., Silva, D. M., Rosa, I. M. L., Azarias, L. C., De Abreu, P. J., ... Doriguetto, A. C. (2012). Solid state chemistry of the antibiotic doxycycline: Structure of the neutral monohydrate and insights into its poor water solubility. *Cryst.Eng. Comm.*, 14(7), 2532–2540. <https://doi.org/10.1039/c1ce06181j>
- Lukas, S., Lepore, A., & Mudge, S. (2016). *Patent No. US 9,511,031 B2*. [https://doi.org/10.1016/j.\(73\)](https://doi.org/10.1016/j.(73))
- Macrae, C. F., Bruno, I. J., Chisholm, J. A., Edgington, P. R., McCabe, P., Pidcock, E., ... Wood, P. A. (2008). Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Cryst.*, 41(2), 466–470. <https://doi.org/10.1107/s0021889807067908>
- Martín, Á., & Molina, E. (2006). Polimorfismo farmacéutico. *OFFARM*, 25(8), 94–100.
- Mishra, M., & Mishra, B. (2011). Formulation Optimization and Characterization of Spray Dried Microparticles for Inhalation Delivery of Doxycycline Hyclate. *Yakugaku Zasshi*, 131(12), 1813–1825. <https://doi.org/10.1248/yakushi.131.1813>
- Myerson, A. (2002). *Handbook of Industrial Crystallization*. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=gJ7KNvbMtREC>
- Nakamoto, K. (2009). *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part A: Theory and Applications* (Sixth edit). New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc.

- Pasquali, I., Bettini, R., & Giordano, F. (2006). Solid-state chemistry and particle engineering with supercritical fluids in pharmaceuticals. *Eur J Pharm Sci.*, 27, 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.11.007>
- Pecharsky, V., & Zavalij, P. (2005). *FUNDAMENTALS OF POWDER DIFFRACTION AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF*. United States of America.
- Prewo, R., & Stezowski, J. J. (1977). Chemical-Structural Properties of Tetracycline Derivatives. 3. The Integrity of the Conformation of the Nonionized Free Base. *J. Amer. Chem. Soc.*, 99(4), 1117–1121. <https://doi.org/10.1021/ja00446a024>
- Purohit, R., & Venugopalan, P. (2009). Polymorphism : An Overview. *Resonance*, 14(9), 882–893. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12045-009-0084-7>
- Reddy, J. P., Swain, D., & Pedireddi, V. R. (2014). Polymorphism and Phase Transformation Behavior of Solid Forms of 4-Amino-3,5-dinitrobenzamide. *Cryst. Growth Des.*, 14(10), 5064–5071. <https://doi.org/10.1021/cg500673a>
- Robertson, J., Robertson, I., Exland, P. F., & Pepinsky, R. (1952). X-Ray Measurements of Terramycin Salts. *J. Amer. Chem. Soc.*, 74(3), 841–841. <https://doi.org/10.1021/ja01123a517>
- Rodríguez, M. Á., González, J. G., Barreto, J., Alonso, N., Areu, A., & Pardo, A. (1998). Tetraciclina. In *Acta médica* (Vol. 8).
- Rohlíček, J., Skořepová, E., Babor, M., & Čejka, J. (2016). CrystalCMP : an easy-to-use tool for fast comparison of molecular packing. *J. Appl. Cryst.*, 49(6), 2172–2183. <https://doi.org/10.1107/s1600576716016058>
- Santos, O. M. M., Silva, D. M., Martins, F. T., Legendre, A. O., Azarias, L. C., Rosa, I. M. L., ... Doriguetto, A. C. (2014). Protonation pattern, tautomerism, conformerism, and physicochemical analysis in new crystal forms of the antibiotic doxycycline. *Cryst. Growth Des.*, 14(8), 3711–3726. <https://doi.org/10.1021/cg500877z>
- Shah, B., Kakumanu, V. K., & Bansal, A. K. (2006). Review Analytical Techniques for Quantification of Amorphous / Crystalline Phases in Pharmaceutical Solids. *J.Pharm.Sci.*, 95(8), 1641–1665. <https://doi.org/10.1002/jps>

- Smith, G., & Snyder, R. (1979). FN: A Criterion for Rating Powder Diffraction Patterns and Evaluating the Reliability of Powder-Pattern Indexing. *J. Appl. Cryst.*, 12, 60–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1107/S002188987901178X>
- Ståhl, K. (2008). *Powder diffraction and the Rietveld method* (Technical University of Denmark). Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/267245521%0APOWDER>
- Stezowski, J. (1977). Chemical-Structural Properties of Tetracycline Antibiotics. 4. Ring A Tautomerism Involving the Protonated Amide Substituent as Observed in the Crystal Structure of a-6-Deoxyoxytetracycline Hydrohalides. *J. Amer. Chem. Soc.*, 99(4), 1122–1129.
- Stezowski, J J. (1976). Chemical-structural properties of tetracycline derivatives. 1. Molecular structure and conformation of the free base derivatives. *J. Amer. Chem. Soc.*, 98(19), 6012–6018. <https://doi.org/10.1021/ja00435a039>
- Stezowski, John J. (1977). Chemical-Structural Properties of Tetracycline Antibiotics. 4. Ring A Tautomerism Involving the Protonated Amide Substituent as Observed in the Crystal Structure of a-6-Deoxyoxytetracycline Hydrohalides. *J. Amer. Chem. Soc.*, 99(4), 1122–1129. <https://doi.org/10.1021/ja00446a025>
- Stuart, B. (2004). *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. Retrieved from <https://search.library.wisc.edu/catalog/999974109102121>
- Suriñach, S., Baro, M. D., Bordas, S., Clavaguera, N., & Clavaguera-mora, M. T. (1992). La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales. *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.*, 31(1), 11–17.
- Vicente, D., & Pérez-Trallero, E. (2010). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 28(2), 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.10.002>
- Von Dreele, R. B., & Hughes, R. E. (1971). Crystal and Molecular Structure of 5,12a-Diacetyloxytetracycline. *J. Amer. Chem. Soc.*, 93(26), 7290–7296.
- Wunderlich, B. (2001). Thermal Analysis. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, 1, 9134–9141. <https://doi.org/10.1016/b0-08-043152-6/01648-x>

Yamamoto, A. (1996). Crystallography of Quasiperiodic Crystals. *Acta Cryst.*, A52, 509–560. <https://doi.org/10.1107/S0108767396000967>

Young, R. A. (1993). *The Rietveld Method*. United states.

Zhang, G. G. Z., Law, D., Schmitt, E. A., Qiu, Y., Road, A. P., & Park, A. (2004). Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 56, 371–390. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.009>

Zozaya, H., Gutierrez, L., Bernad, M. J., & Sumano, H. (2013). Pharmacokinetics of a peroral single dose of two long-acting formulations and an aqueous formulation of doxycycline hyclate in horses. *Act. Vet. Scand.*, 55(21), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-21>

## Apéndices

**Apéndice A. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de DHSLIOF**

$2\theta_{obs} (^{\circ})$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal} (^{\circ})$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
4,877	18,103	1	0	0	4,875	18,111	0,002
7,337	12,039	1	1	0	7,338	12,038	-0,001
9,736	9,076	2	0	0	9,735	9,078	0,002
11,000	8,036	0	0	1	10,994	8,040	0,006
11,175	7,911	2	1	0	11,176	7,911	-0,001
11,681	7,569	1	0	-1	11,680	7,570	0,001
12,006	7,365	1	2	0	12,008	7,364	-0,002
12,352	7,159	1	0	1	12,361	7,155	-0,008
12,906	6,853	1	1	-1	12,907	6,853	-0,001
13,53	6,539	1	1	1	13,527	6,540	0,003
14,125	6,264	2	0	-1	14,125	6,265	0,001
14,618	6,055	3	0	0	14,612	6,057	0,006
15,159	5,840	2	1	-1	15,158	5,840	0,000
15,604	5,674	3	1	0	15,614	5,670	-0,01
16,211	5,463	2	1	1	16,207	5,464	0,004
16,551	5,351	1	2	1	16,549	5,352	0,002
17,194	5,153	1	3	0	17,193	5,153	0,001
17,624	5,028	3	0	-1	17,623	5,028	0,001
17,911	4,948	2	2	-1	17,912	4,948	-0,001
18,466	4,800	3	1	-1	18,466	4,800	0,000

## Apéndice B. Enlaces de hidrógeno de DH160E

$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (Å)
$N(1) - H(2) \cdots O(3)$	0,8400	2,4200	2,8377	112,00
$N(1) - H(2) \cdots O(12)$	0,8400	2,5300	2,9721	114,00
$O(4) - H(14) \cdots Cl(2)$	0,7300	2,5900	3,1123	131,00
$O(5) - H(23) \cdots O(8)$	0,9000	2,5400	2,9214	106,00
$O(7) - H(24) \cdots O(6)$	0,8400	1,8800	2,5005	130,00
$O(8) - H(25) \cdots O(7)$	0,7900	2,3700	2,6803	105,00
$O(8) - H(25) \cdots O(5)$	0,7900	2,3400	2,9214	131,00
$N(3) - H(28) \cdots O(9)$	0,9500	2,2700	2,7264	109,00
$O(12) - H(39) \cdots N(1)$	0,6800	2,3100	2,9721	163,00
$O(13) - H(48) \cdots O(14)$	0,7600	1,8600	2,5383	149,00
$O(15) - H(49) \cdots O(16)$	0,8300	2,1900	2,6569	115,00
$O(15) - H(49) \cdots Cl(2)$	0,8300	2,6500	3,4157	156,00
$O(17) - H(56) \cdots O(12)$	0,8300	1,8500	2,3875	121,00
$C(5) - H(4) \cdots O(4)$	0,9900	2,3500	2,8392	110,00
$C(6) - H(6) \cdots O(13)$	1,1200	2,0300	2,9899	142,00
$C(7) - H(11) \cdots O(3)$	0,9300	2,4900	2,9418	110,00
$C(8) - H(12) \cdots O(13)$	0,8500	2,5400	3,3470	159,00
$C(13) - H(18) \cdots O(4)$	0,9800	2,1500	2,9060	133,00
$C(27) - H(29) \cdots O(12)$	0,9500	2,3100	2,8199	113,00
$C(28) - H(31) \cdots Cl(2)$	0,9700	2,3600	2,8670	112,00
$C(28) - H(31) \cdots O(11)$	0,9700	1,6900	2,1208	103,00
$C(29) - H(34) \cdots Cl(1)$	0,9500	2,6200	3,5278	160,00
$C(29) - H(34) \cdots O(10)$	0,9500	2,5000	2,8662	103,00
$C(30) - H(37) \cdots Cl(1)$	0,9600	2,6800	3,5783	155,00
$C(35) - H(43) \cdots O(5)$	0,9300	2,5400	3,3889	152,00

$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (Å)
$C(35) - H(44) \cdots O(12)$	0,9200	2,2800	2,9655	131,00
$C(36) - H(45) \cdots O(1)$	1,0000	2,5100	3,4650	160,00
$C(37) - H(46) \cdots O(2)$	0,9700	2,3000	3,1227	141,00
$C(46) - H(54) \cdots Cl(1)$	0,9600	2,2000	2,6336	106,00
$C(46) - H(55) \cdots O(2)$	0,9900	2,4600	3,3722	153,00
$C(46) - H(55) \cdots N(1)$	0,9900	2,4700	3,2269	133,00

Apéndice C. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller  
del perfil de DH160EH

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
4,932	17,90468	1	0	0	4,918	17,95257	0,013
6,269	14,08832	0	1	0	6,281	14,06103	-0,012
7,384	11,9629	0	1	1	7,341	12,03323	0,043
9,776	9,04027	2	-1	-1	9,791	9,02612	-0,015
10,265	8,61041	1	1	1	10,278	8,59961	-0,013
10,407	8,49373	2	0	-1	10,426	8,47795	-0,019
11,046	8,00374	0	2	1	11,048	8,00186	-0,003
11,602	7,62117	2	-1	0	11,602	7,62122	0,000
12,381	7,14329	1	1	-1	12,393	7,1364	-0,012
12,960	6,82529	1	-1	-2	12,984	6,8131	-0,023
13,235	6,68425	1	2	1	13,227	6,68847	0,008
13,604	6,50379	1	-2	-2	13,616	6,49819	-0,012
13,621	6,49581	1	-2	-2	13,616	6,49819	0,005
13,786	6,41849	3	-1	-1	13,781	6,42065	0,005
14,200	6,23196	2	1	-1	14,176	6,24271	0,025
14,679	6,03000	0	2	2	14,708	6,01786	-0,030
15,221	5,8164	1	0	-2	15,209	5,82097	0,012
16,259	5,44737	1	-3	-1	16,278	5,44092	-0,019
16,646	5,32139	1	1	2	16,658	5,31765	-0,012
17,258	5,13408	1	2	2	17,213	5,1473	0,045
17,988	4,92733	1	2	-1	18,028	4,91655	-0,040
19,074	4,64925	3	-3	-2	19,107	4,6413	-0,033
19,885	4,46137	1	3	2	19,883	4,46187	0,002

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
20,351	4,36025	3	-2	-3	20,395	4,35093	-0,044
20,718	4,28391	1	-3	-3	20,753	4,27668	-0,035
21,447	4,13989	1	-4	-2	21,435	4,14223	0,012
21,839	4,06647	0	1	3	21,825	4,06901	0,014
22,509	3,9469	4	-2	-3	22,491	3,94992	0,017
22,950	3,87204	2	0	-3	22,955	3,87125	-0,005
23,896	3,72085	3	-3	0	23,908	3,71901	-0,012
24,793	3,58827	5	0	0	24,764	3,59229	0,028
25,748	3,45723	1	-4	0	25,72	3,46097	0,028
26,053	3,41743	2	-3	-4	26,015	3,42242	0,039
26,634	3,34425	2	2	3	26,64	3,34351	-0,006
26,962	3,3043	2	-3	1	26,964	3,30397	-0,003
27,782	3,20854	2	-1	-4	27,768	3,21021	0,015
28,337	3,14696	0	3	4	28,32	3,14879	0,017
28,494	3,13005	5	-4	-3	28,526	3,12659	-0,032
29,764	2,99932	5	2	1	29,78	2,99771	-0,016
30,095	2,96701	5	-1	1	30,105	2,9661	-0,009
30,569	2,92211	0	3	-2	30,606	2,91865	-0,037
30,673	2,91243	1	3	4	30,673	2,91238	0,000
31,591	2,82988	5	3	0	31,579	2,83092	0,012
32,324	2,76732	5	3	1	32,339	2,76607	-0,015
32,509	2,75201	3	-3	-5	32,515	2,75156	-0,006
35,252	2,54391	1	6	3	35,251	2,54400	0,001
35,577	2,52138	3	-1	3	35,564	2,52228	0,013
35,752	2,50947	1	6	1	35,746	2,50986	0,006
36,010	2,49207	5	2	-3	36,052	2,48927	-0,042
36,498	2,45989	2	4	-2	36,519	2,45849	-0,022
36,628	2,45145	1	-1	-5	36,614	2,45236	0,014
37,339	2,40639	0	5	5	37,322	2,40745	0,017
37,784	2,37905	1	3	5	37,778	2,37944	0,006

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
37,972	2,36771	0	3	-3	37,956	2,36867	0,016
38,059	2,3625	1	-7	-3	38,032	2,36412	0,027
38,242	2,35157	3	1	4	38,263	2,35034	-0,021
39,065	2,30391	1	-7	-4	39,072	2,30351	-0,007
39,229	2,29465	2	2	-4	39,273	2,29218	-0,044
39,535	2,27759	2	-6	0	39,547	2,27693	-0,012
40,153	2,24398	6	4	1	40,111	2,24625	0,042
40,254	2,2386	0	7	4	40,278	2,23729	-0,025
40,446	2,22842	1	7	2	40,432	2,22915	0,014
40,565	2,22211	6	-3	1	40,606	2,21996	-0,041
40,991	2,20000	1	-4	-6	41,036	2,19772	-0,044
41,921	2,15332	5	-2	-6	41,955	2,15168	-0,033
42,099	2,14465	1	7	4	42,088	2,1452	0,011
42,934	2,10486	2	4	-3	42,958	2,10373	-0,024
43,259	2,0898	0	6	-1	43,255	2,08998	0,004
43,735	2,06813	2	-8	-3	43,696	2,06991	0,04
43,875	2,06187	1	-8	-3	43,877	2,06175	-0,003
44,096	2,05202	3	-8	-3	44,122	2,05089	-0,026
45,752	1,98152	5	-8	-4	45,74	1,98205	0,013
47,561	1,91031	5	0	-6	47,595	1,90903	-0,034

Apéndice D. Datos de los picos observados y calculados con los respectivos índices de Miller del perfil de DH160HE

$2\theta_{obs}(\circ)$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(\circ)$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
4,925	17,92884	1	0	0	4,935	17,89148	-0,01
7,404	11,92957	1	1	0	7,399	11,93781	0,005
9,817	9,00271	2	0	0	9,808	9,01114	0,009
11,082	7,9774	0	0	1	11,066	7,98937	0,017
11,226	7,87576	2	1	0	11,249	7,85935	-0,024
11,772	7,51151	1	0	-1	11,768	7,51435	0,004
12,075	7,32353	1	2	0	12,076	7,32336	0
12,410	7,12672	1	0	1	12,423	7,11952	-0,013
13,006	6,80139	1	1	-1	12,995	6,80729	0,011
13,603	6,50433	1	1	1	13,591	6,50977	0,011
14,249	6,21086	2	0	-1	14,229	6,21934	0,02
14,706	6,01861	3	0	0	14,698	6,02215	0,009
15,264	5,80002	2	0	1	15,305	5,78450	-0,041
15,676	5,64833	3	1	0	15,700	5,63977	-0,024
16,266	5,44491	2	1	1	16,271	5,44321	-0,005
16,619	5,33009	1	2	1	16,618	5,33036	0,001
17,261	5,13311	1	3	0	17,267	5,13137	-0,006
17,758	4,9906	3	0	-1	17,743	4,99485	0,015
18,014	4,92037	2	2	-1	18,015	4,91996	-0,001
18,580	4,77167	3	1	-1	18,585	4,77028	-0,005
19,051	4,65474	3	0	1	19,045	4,65615	0,006
19,856	4,4678	3	1	1	19,834	4,47268	0,022
20,353	4,35986	1	3	-1	20,330	4,36463	0,023
20,718	4,28375	1	3	1	20,721	4,28325	-0,002

$2\theta_{obs}(^{\circ})$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(^{\circ})$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
21,846	4,06513	2	3	-1	21,865	4,06159	-0,019
22,523	3,94441	4	1	-1	22,519	3,94519	0,004
22,994	3,86477	1	1	-2	23,028	3,85908	-0,034
23,891	3,72158	4	1	1	23,908	3,71904	-0,017
24,235	3,66949	2	1	-2	24,235	3,66954	0
24,801	3,58707	0	2	2	24,797	3,58761	0,004
25,746	3,45748	3	0	-2	25,739	3,45847	0,008
26,094	3,41218	2	2	-2	26,086	3,41317	0,008
26,602	3,3482	3	4	0	26,624	3,34549	-0,022
26,966	3,30376	2	4	1	26,972	3,30311	-0,005
27,754	3,21171	0	3	2	27,760	3,21108	-0,006
28,440	3,13584	3	4	-1	28,460	3,1337	-0,02
29,131	3,06302	4	1	-2	29,152	3,0608	-0,022
29,754	3,00021	3	2	2	29,756	3,0001	-0,001
30,111	2,96549	6	1	0	30,097	2,9668	0,014
30,744	2,90585	3	3	-2	30,729	2,9072	0,015
31,227	2,86202	2	5	-1	31,261	2,85899	-0,034
31,582	2,83065	1	4	-2	31,608	2,82833	-0,027
32,448	2,75703	5	3	1	32,445	2,75728	0,003
33,953	2,6382	0	1	3	33,947	2,63868	0,006
34,675	2,58492	1	1	3	34,677	2,58475	-0,002
35,329	2,53852	0	2	3	35,330	2,53846	-0,001
36,605	2,45289	3	6	0	36,635	2,45098	-0,03
37,505	2,3961	0	3	3	37,537	2,39414	-0,032
38,077	2,3614	3	6	-1	38,034	2,36399	0,043
39,465	2,28147	1	7	0	39,480	2,28065	-0,015
40,189	2,24203	4	5	-2	40,223	2,24021	-0,034
40,915	2,20393	1	6	2	40,94	2,20261	-0,025
41,882	2,15525	2	7	-1	41,838	2,15740	0,044
43,825	2,06408	3	6	2	43,799	2,06527	0,027

$2\theta_{obs}(^{\circ})$	$d_{obs}$	$h$	$k$	$l$	$2\theta_{cal}(^{\circ})$	$d_{cal}$	$\Delta 2\theta$
45,999	1,97147	4	6	2	46,040	1,96980	-0,041

**Apéndice E. Descriptores de los sustituyentes del anillo**

---

Descriptor de los sustituyentes del anillo

---

<b>Rango de ángulo de los sustituyentes(°)</b>	<b>Proyeccion estereográfica</b>
0-30	Axial (Ax )
30-60	Biseccional (Bi)
60-90	Ecuatorial (Eq)

---

## Apéndice F. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 1 de DHEE

Molécula 1			
Anillo A1			
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica
C015-N00K	1,515	47,800	Biseccional (Bi)
C01D-C00Z	1,522	17,000	Axial (Ax )
C018-O005	1,451	5,500	Axial (Ax )
C018-C00P	1,498	75,500	Ecuatorial (Eq)
C01L-O00D	1,227	74,200	Ecuatorial (Eq)
C01A-C01M	1,433	89,200	Ecuatorial (Eq)
C01N-O00H	1,245	75,700	Ecuatorial (Eq)
C015-H015	0,980	28,700	Axial (Ax )
C01D-H01D	0,980	56,800	Biseccional (Bi)
Anillo B1			
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica
C00P-O00C	1,337	84,600	Ecuatorial (Eq)
C00Q-C00T	1,462	88,700	Ecuatorial (Eq)
C00X-C011	1,527	52,200	Biseccional (Bi)
C00Z-C003	1,402	64,400	Ecuatorial (Eq)
C01D-C015	1,556	74,500	Ecuatorial (Eq)
C018-O005	1,451	57,700	Biseccional (Bi)
C018-C01L	1,572	16,500	Axial (Ax )
C00X-H00X	0,980	21,900	Axial (Ax )
C00Z-H00Z	0,980	8,500	Axial (Ax )
C01D-H01D	0,980	2,200	Axial (Ax )
Anillo C1			

Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica
C00N-C01B	1,421	80,600	Ecuatorial (Eq)
C00T-O00B	1,271	82,300	Ecuatorial (Eq)
C00Q -C00P	1,376	74,900	Ecuatorial (Eq)
C00X -C00Z	1,533	78,400	Ecuatorial (Eq)
C011-C01C	1,541	79,600	Ecuatorial (Eq)
C01G-C01Q	1,367	78,800	Ecuatorial (Eq)
C00X-H00X	0,980	7,100	Axial (Ax )
C011-H011	0,980	7,900	Axial (Ax )

## Apéndice G. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 2 de DHEE

Molécula 2			
Anillo A2			
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica
C00R-C014	1,536	13,700	Axial (Ax )
C013-O004	1,422	9,700	Axial (Ax )
C013-C017	1,517	77,900	Ecuatorial (Eq)
C01J-O007	1,258	71,900	Ecuatorial (Eq)
C012-C00V	1,425	74,200	Ecuatorial (Eq)
C016-O00F	1,201	72,900	Ecuatorial (Eq)
C01E-N00G	1,523	51,700	Biseccional (Bi)
C00R-H00R	0,980	62,200	Ecuatorial (Eq)
C01E-H01L	0,980	25,800	Axial (Ax )
Anillo B2			
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica
C00R-C01E	1,572	78,700	Ecuatorial (Eq)
C013-O004	1,422	58,800	Biseccional (Bi)
C013-C01J	1,558	14,400	Axial (Ax )
C017-O009	1,346	87,900	Ecuatorial (Eq)
C019-C01K	1,430	88,100	Ecuatorial (Eq)
C00S-C00W	1,537	56,700	Biseccional (Bi)
C014-O008	1,406	68,700	Ecuatorial (Eq)
C00R-H00R	0,980	7,100	Axial (Ax )
C00S-H00S	0,980	18,900	Axial (Ax )
C014-H014	0,980	5,600	Axial (Ax )

Anillo C2			
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica
C00S-C014	1,543	78,700	Ecuatorial (Eq)
C00W-C01I	1,491	82,900	Ecuatorial (Eq)
C00Y-C01F	1,356	75,700	Ecuatorial (Eq)
C010-C01O	1,418	83,300	Ecuatorial (Eq)
C01K-O00E	1,278	80,200	Ecuatorial (Eq)
C019-C017	1,358	76,700	Ecuatorial (Eq)
C00S-H00S	0,980	7,500	Axial (Ax )
C00W-H00W	0,980	9,600	Axial (Ax )

## Apéndice H. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 1 de DH160ET

Molécula 1				
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica	
A1				
C017 - O00F	1,31	70,8	Ecuatorial (Eq)	
C01M - N018	1,51	51,8	Biseccional (Bi)	
C40 - C01W	1,5	17,1	Axial (Ax)	
C02B - O00E	1,44	10,3	Axial (Ax)	
C02B - C01S	1,54	80,5	Ecuatorial (Eq)	
C01B - O002	1,23	73,6	Ecuatorial (Eq)	
C026 - C014	1,41	76,7	Ecuatorial (Eq)	
C01M - H01M	0,98	26,4	Axial (Ax)	
C40 - H40	0,98	60,4	Ecuatorial (Eq)	
B1				
C01S - O009	1,31	87,8	Ecuatorial (Eq)	
C01T - C012	1,41	82,8	Ecuatorial (Eq)	
C01Y - C023	1,57	54,3	Biseccional (Bi)	
C01W - O00S	1,57	72,2	Ecuatorial (Eq)	
C40 - C01M	1,56	84,1	Ecuatorial (Eq)	
C02B - O00E	1,44	55,3	Biseccional (Bi)	
C02B - C01B	1,56	22,6	Axial (Ax)	
C01Y - H01Y	0,98	22,2	Axial (Ax)	
C01W - H01W	0,98	7,4	Axial (Ax)	
C40 - H40	0,98	13	Axial (Ax)	
C1				
C012 - O00I	1,32	81,5	Ecuatorial (Eq)	
C01R - C02H	1,44	75,8	Ecuatorial (Eq)	

C01Z - C03A	1,42	76,8	Ecuatorial (Eq)
C023 - C03J	1,7	79,7	Ecuatorial (Eq)
C01Y - C01W	1,55	81,2	Ecuatorial (Eq)
C01T - C01S	1,37	71	Ecuatorial (Eq)
C023 - H023	0,98	10	Axial (Ax)
C01Y - H01Y	0,98	10,4	Axial (Ax)

## Apéndice I. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 2 de DH160ET

Molécula 2				
A2				
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica	
C46 - O00H	1,4	12,7	Axial (Ax)	
C46 - C01A	1,53	77,5	Ecuatorial (Eq)	
C01P - O00A	1,28	69	Ecuatorial (Eq)	
C02D - C01Q	1,43	72,2	Ecuatorial (Eq)	
C03F - O00Z	1,26	66,3	Ecuatorial (Eq)	
C03H - N016	1,53	51,2	Biseccional (Bi)	
C02C - C021	1,48	15,7	Axial (Ax)	
C03H - H1AA	0,98	27	Axial (Ax)	
C02C - H02H	0,98	62,2	Ecuatorial (Eq)	
B2				
C45 - C028	1,42	83,2	Ecuatorial (Eq)	
C01A - O00G	1,38	87,7	Ecuatorial (Eq)	
C46 - O00H	1,4	60	Biseccional (Bi)	
C46 - C01P	1,57	14,4	Axial (Ax)	
C02C - C03H	1,55	77,4	Ecuatorial (Eq)	
C021 - O00J	1,45	69	Ecuatorial (Eq)	
C020 - C44	1,53	58,4	Biseccional (Bi)	
C02C - H02H	0,98	6,8	Axial (Ax)	
C021 - H021	0,98	7,8	Axial (Ax)	
C020 - H020	0,98	19,8	Axial (Ax)	
C2				
C43 - C01E	1,4	79,7	Ecuatorial (Eq)	

<b>Molécula 2</b>					
C010	-	C42	1,36	83,6	Ecuatorial (Eq)
C44	-	C47	1,63	81,7	Ecuatorial (Eq)
C020	-	C021	1,59	85,3	Ecuatorial (Eq)
C45	-	C01A	1,32	74,2	Ecuatorial (Eq)
C028	-	O00N	1,29	81,9	Ecuatorial (Eq)
C44	-	H44	0,98	7,3	Axial (Ax)
C020	-	H020	0,98	9,9	Axial (Ax)

## Apéndice J. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 3 de DH160ET

Molécula 3				
A3				
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica	
C024 - O007	1,23	66,9	Ecuatorial (Eq)	
C02E - C015	1,4	76,8	Ecuatorial (Eq)	
C02F - O00K	1,23	65,7	Ecuatorial (Eq)	
C03E - N01C	1,52	52,9	Biseccional (Bi)	
C02S - C02N	1,59	13,8	Axial (Ax)	
C030 - O00U	1,45	10,3	Axial (Ax)	
C030 - C02A	1,55	79,5	Ecuatorial (Eq)	
C03E - H03Z	0,98	23,7	Axial (Ax)	
C02S - H02S	0,98	62,8	Ecuatorial (Eq)	
B3				
C01X - C02M	1,61	53,1	Biseccional (Bi)	
C02N - O00V	1,43	60,4	Ecuatorial (Eq)	
C02S - C03E	1,55	77,2	Ecuatorial (Eq)	
C030 - O00U	1,45	63,6	Ecuatorial (Eq)	
C030 - C024	1,61	10,5	Axial (Ax)	
C02A - O00B	1,37	89,9	Ecuatorial (Eq)	
C036 - C02X	1,44	89,6	Ecuatorial (Eq)	
C01X - H01X	0,98	22,6	Axial (Ax)	
C02N - H02N	0,98	10,4	Axial (Ax)	
C02S - H02S	0,98	5,3	Axial (Ax)	
C3				

<b>Molécula 3</b>				
C01X - C02N	1,54	80,4	Ecuatorial (Eq)	
C02M - C032	1,52	86,9	Ecuatorial (Eq)	
C02R - C02I	1,29	73,1	Ecuatorial (Eq)	
C02Y - C01K	1,36	78,7	Ecuatorial (Eq)	
C02X - O00R	1,29	78,3	Ecuatorial (Eq)	
C036 - C02A	1,34	73,5	Ecuatorial (Eq)	
C01X - H01X	0,98	8,9	Axial (Ax)	
C02M - H02M	0,98	13,2	Axial (Ax)	

## Apéndice K. Análisis de los sustituyentes de los anillos de la molécula 4 de DH160ET

Molécula 4				
A4				
Enlace	Distancia (Å)	Ángulo (°)	Proyección estereográfica	
C01O - O003	1,18	75,8	Ecuatorial (Eq)	
C01U - C01V	1,49	75	Ecuatorial (Eq)	
C02O - O00Q	1,25	71,8	Ecuatorial (Eq)	
C02G - N01F	1,46	49,2	Biseccional (Bi)	
C02Q - C035	1,49	15,9	Axial (Ax)	
C033 - O00T	1,419	8,3	Axial (Ax)	
C033 - C02V	1,59	79,1	Ecuatorial (Eq)	
C02G - H02G	0,98	27,4	Axial (Ax)	
C02Q - H02Q	0,98	61,1	Ecuatorial (Eq)	
B4				
C029 - O00O	1,19	79,4	Ecuatorial (Eq)	
C02L - C02V	1,36	72,4	Ecuatorial (Eq)	
C02W - C035	1,47	81,7	Ecuatorial (Eq)	
C02P - C03M	1,63	83,6	Ecuatorial (Eq)	
C03C - C03L	1,36	76,4	Ecuatorial (Eq)	
C039 - C03N	1,42	75,6	Ecuatorial (Eq)	
C02W - H02W	0,98	8,8	Axial (Ax)	
C02P - H02P	0,98	10,2	Axial (Ax)	
C4				
C02L - C029	1,61	83,1	Ecuatorial (Eq)	
C02V - O006	1,34	86,3	Ecuatorial (Eq)	
C033 - O00T	1,419	58,7	Biseccional (Bi)	

Molécula 4					
C033	-	C01O	1,54	18,7	Axial (Ax)
C02Q	-	C02G	1,63	83,8	Ecuatorial (Eq)
C035	-	O00C	1,5	73,1	Ecuatorial (Eq)
C02W	-	C02P	1,51	58,5	Biseccional (Bi)
C02Q	-	H02Q	0,98	11,4	Axial (Ax)
C035	-	H035	0,98	6,4	Axial (Ax)
C02W	-	H02W	0,98	19,6	Axial (Ax)

## Apéndice L. Parámetros de asimetría de DH160ET.

PARÁMETROS DE ASIMETRÍA							
Anillo de 6 miembros A1							
	C(017)	C(01M)	C(40)	C(02B)	C(01B)	C(026)	
Ángulo de torsión (°)	-22,0	-19,0	51,3	-47,4	5,0	29,0	Q=0,526
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,234	-0,044	-0,245	0,344	-0,154	-0,135	
Anillo de 6 miembros B1							
	C(01S)	C(01T)	C(01Y)	C(01W)	C(40)	C(02B)	
Ángulo de torsión (°)	-9,0	-6,0	44,4	-69,8	52,4	-15,0	Q=0,556
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,08	-0,120	-0,089	0,34	-0,374	0,165	
Anillo de 6 miembros C1							
	C(012)	C(01R)	C(01Z)	C(023)	C(01Y)	C(01T)	
Ángulo de torsión (°)	-14,0	-9,0	48,0	-64,3	44,0	-6,0	Q=0,57
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,14	-0,13	-0,12	0,36	-0,359	0,11	
Anillo de 6 miembros D1							
	C(01R)	C(01Z)	C(03A )	C(03K)	C(037)	C(02H)	

## PARÁMETROS DE ASIMETRÍA

Ángulo de torsión (°)	1,0	1,0	-5,0	8,0	-5,0	1,0	Tau=3,0
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,01	0,01	0,01	-0,04	0,04	-0,01	
<b>Anillo de 6 miembros A2</b>							
	<b>C(46)</b>	<b>C(01P)</b>	<b>C(02D)</b>	<b>C(03F)</b>	<b>C(03H)</b>	<b>C(02C)</b>	
Ángulo de torsión (°)	-57,6	15,0	27,0	-24,0	-19,0	54,2	Q=0,610
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,411	-0,22	-0,113	0,26	-0,069	-0,27	
<b>Anillo de 6 miembros B2</b>							
	<b>C(45)</b>	<b>C(01A)</b>	<b>C(46)</b>	<b>C(02C)</b>	<b>C(021)</b>	<b>C(020)</b>	
Ángulo de torsión (°)	0,0	-23,0	50,9	-57,7	35,0	-5,0	Q=0,492
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,094	-0,015	-0,204	0,34	-0,266	0,05	
<b>Anillo de 6 miembros C2</b>							
	<b>C(43)</b>	<b>C(010)</b>	<b>C(44)</b>	<b>C(020)</b>	<b>C(45)</b>	<b>C(028)</b>	
Ángulo de torsión (°)	-8,0	37,0	-54,0	41,0	-9,0	-9,0	Q=0,432
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,092	-0,096	0,278	-0,27	0,085	0,10	
<b>Anillo de 6 miembros D2</b>							
	<b>C(41)</b>	<b>C(42)</b>	<b>C(010)</b>	<b>C(43)</b>	<b>C(01E)</b>	<b>C(02Z)</b>	

## PARÁMETROS DE ASIMETRÍA

Ángulo de torsión (°)	4,0	-5,0	5,0	-3,0	2,0	-3,0	Tau = 3,7
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,01	0,02	-0,023	0,015	-0,005	0,00	
<b>Anillo de 6 miembros A3</b>							
	<b>C(024)</b>	<b>C(02E)</b>	<b>C(02F)</b>	<b>C(03E)</b>	<b>C(02S)</b>	<b>C(030)</b>	
Ángulo de torsión (°)	9,0	32,0	-30,0	-16,0	54,7	-54,8	Q = =0,598
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,21	-0,131	0,289	-0,108	-0,229	0,387	
<b>Anillo de 6 miembros B3</b>							
	<b>C(01X)</b>	<b>C(02N)</b>	<b>C(02S)</b>	<b>C(030)</b>	<b>C(02A)</b>	<b>C(036)</b>	
Ángulo de torsión (°)	33,0	-57,0	51,0	-26,0	3,0	-9,0	Q = 0,452
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,060	0,25	-0,314	0,184	0,01	-0,070	
<b>Anillo de 6 miembros C3</b>							
	<b>C(01X)</b>	<b>C(02M)</b>	<b>C(02R)</b>	<b>C(02Y)</b>	<b>C(02X)</b>	<b>C(036)</b>	
Ángulo de torsión (°)	-59,6	48,0	-13,0	-13,0	-3,0	38,0	Q = 0,54
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,323	-0,36	0,15	0,10	-0,14	-0,073	
<b>Anillo de 6 miembros D3</b>							
	<b>C(01K)</b>	<b>C(02T)</b>	<b>C(02K)</b>	<b>C(02I)</b>	<b>C(02R)</b>	<b>C(02Y)</b>	

## PARÁMETROS DE ASIMETRÍA

Ángulo de torsión (°)	4,0	-5,0	1,0	4,0	-5,0	1,0	Tau =3,5
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,01	0,03	-0,02	-0,01	0,03	-0,02	
<b>Anillo de 6 miembros A4</b>							
	<b>C(01O</b>	<b>C(01U)</b>	<b>C(02O</b>	<b>C(02G)</b>	<b>C(02Q)</b>	<b>C(033)</b>	
	)		)				
Ángulo de torsión (°)	-2,0	40,0	-29,0	-19,0	55,7	-47,8	Q = 0,592
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,144	-0,19	0,29	-0,064	-0,266	0,370	
<b>Anillo de 6 miembros B4</b>							
	<b>C(029)</b>	<b>C(02L)</b>	<b>C(02W)</b>	<b>C(02P)</b>	<b>C(03C)</b>	<b>C(039)</b>	
Ángulo de torsión (°)	-5,0	40,0	-59,0	41,0	-2,0	-16,0	Q = 0,49
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,14	-0,08	0,31	-0,31	0,08	0,14	
<b>Anillo de 6 miembros C4</b>							
	<b>C(02L)</b>	<b>C(02V)</b>	<b>C(033)</b>	<b>C(02Q)</b>	<b>C(035)</b>	<b>C(02W)</b>	
Ángulo de torsión (°)	-7,0	-16,0	51,0	-66,0	40,0	-5,0	Q = 0,498
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,11	-0,06	-0,161	0,339	-0,30	0,07	
<b>Anillo de 6 miembros C4</b>							
	<b>C(02L)</b>	<b>C(02V)</b>	<b>C(033)</b>	<b>C(02Q)</b>	<b>C(035)</b>	<b>C(02W)</b>	

---

**PARÁMETROS DE ASIMETRÍA**


---

Ángulo de torsión (°)	-7,0	-16,0	51,0	-66,0	40,0	-5,0	Q = 0,498
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	0,11	-0,06	-0,161	0,339	-0,30	0,07	
<b>Anillo de 6 miembros D4</b>							
	<b>C(039)</b>	<b>C(03C)</b>	<b>C(03L)</b>	<b>C(03Q)</b>	<b>C(03R)</b>	<b>C(03N)</b>	
Ángulo de torsión (°)	-1,0	19,0	-33,0	27,0	-8,0	-6,0	Q = 0,23
Desviación al plano de Cremer&Pople (Å)	-0,06	-0,03	0,14	-0,15	0,06	0,05	

---

## Apéndice M. Enlaces de hidrógeno de DH160ET.

<i>D – H</i> ... <i>A</i>	<i>D</i> – <i>H</i> (Å)	<i>H</i> ... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> ... <i>A</i> (Å)	<i>D</i> – <i>H</i> ... <i>A</i> (Å)	Tipo de enlace
<i>O</i> (004) – <i>H</i> (004) ... <i>Cl</i> (01)	0,8200	2,0800	2,429	105,00	Convencional
<i>O</i> (004) – <i>H</i> (004) ... <i>O</i> (00F)	0,8200	2,1900	2,760	126,00	
<i>O</i> (004) – <i>H</i> (004) ... <i>O</i> (00Z)	0,8200	2,5300	3,021	120,00	
<i>O</i> (00E) – <i>H</i> (00E) ... <i>O</i> (005)	0,8200	1,9700	2,784	169,00	
<i>N</i> (018) – <i>H</i> (018) ... <i>Cl</i> (6)	0,9800	1,8500	2,75	151,00	
<i>N</i> (018) – <i>H</i> (018) ... <i>O</i> (00F)	0,9800	2,1900	2,664	108,00	
<i>O</i> (006) – <i>H</i> (006) ... <i>O</i> (003)	0,8200	2,5300	2,988	117,00	
<i>O</i> (00P) – <i>H</i> (00P) ... <i>Cl</i> (01)	0,8200	2,1100	2,406	101,00	
<i>O</i> (00P) – <i>H</i> (00P) ... <i>O</i> (00Q)	0,8200	2,2100	2,772	126,00	
<i>O</i> (00P) – <i>H</i> (00P) ... <i>O</i> (00K)	0,8200	2,5600	3,022	117,00	
<i>O</i> (00T) – <i>H</i> (00T) ... <i>O</i> (006)	0,8200	2,2700	2,664	110,00	
<i>O</i> (00T) – <i>H</i> (00T) ... <i>O</i> (00H)	0,8200	2,2700	2,797	123,00	

$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (Å)	Tipo de enlace
$N(01F) - H(01F) \cdots Cl(5)$	0,9800	1,9400	2,84	152,00	
$N(01F) - H(01F) \cdots O(00Q)$	0,9800	2,2000	2,67	108,00	
$O(01J)$	0,8200	2,0900	2,58	118,00	
$- H(01J) \cdots O(00O)$					
$N(39) - H(39B) \cdots O(002)$	0,8600	1,9800	2,65	134,00	
$N(40) - H(40B) \cdots O(003)$	0,8600	2,0000	2,66	133,00	
$N(41) - H(41B) \cdots O(007)$	0,8700	2,0800	2,69	126,00	
$N(42) - H(42A) \cdots Cl(6)$	0,8700	2,7900	3,50	139,00	
$N(42)$	0,8700	2,1200	2,63	116,00	
$- H(42B) \cdots O(00A)$					
$N(42) - H(42B) \cdots Cl(9)$	0,8700	2,3500	3,01	133,00	
$O(005)$	0,8200	1,8200	2,530	144,00	
$- H(005) \cdots O(00N)$					
$O(005)$	0,8200	2,6000	3,251	137,00	
$- H(005) \cdots O(00B)$					
$O(008)$	0,8200	2,0700	2,411	105,00	
$- H(008) \cdots Cl(01)$					
$O(008)$	0,8200	2,5200	2,901	110,00	
$- H(008) \cdots O(00F)$					
$O(008)$	0,8200	2,0900	2,728	135,00	
$- H(008) \cdots O(00Z)$					
$O(00H)$	0,8200	2,0600	2,797	149,00	
$- H(00H) \cdots O(00T)$					
$O(00H)$	0,8200	2,3700	2,693	104,00	
$- H(00H) \cdots O(00G)$					
$O(00L) - H(00L) \cdots Cl(6)$	0,8200	2,7500	3,502	152,00	

<i>D – H ... A</i>	<i>D</i> – <i>H</i> (Å)	<i>H ...</i> <i>A</i> (Å)	<i>D ... A</i> (Å)	<i>D –</i> <i>H ... A</i> (Å)	Tipo de enlace
<i>O</i> (00 <i>L</i> ) – <i>H</i> (00 <i>L</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>F</i> )	0,8200	2,5000	2,989	119,00	No convenciona l
<i>O</i> (00 <i>L</i> ) – <i>H</i> (00 <i>L</i> ) ... <i>O</i> (008)	0,8200	2,4100	3,099	143,00	
<i>O</i> (00 <i>U</i> ) – <i>H</i> (00 <i>U</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>E</i> )	0,8200	1,9200	2,712	162,00	
<i>O</i> (00 <i>X</i> ) – <i>H</i> (00 <i>X</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>T</i> )	0,8200	2,2300	2,851	133,00	
<i>N</i> (01 <i>C</i> ) – <i>H</i> (01 <i>C</i> ) ... <i>Cl</i> (2)	0,9800	2,1300	3,01	149,00	
<i>N</i> (01 <i>C</i> ) – <i>H</i> (01 <i>C</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>K</i> )	0,9800	2,1800	2,68	110,00	
<i>C</i> (01 <i>M</i> ) – <i>H</i> (01 <i>M</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>S</i> )	0,9800	2,3800	2,908	113,00	
<i>C</i> (031) – <i>H</i> (03 <i>K</i> ) ... <i>O</i> (10)	0,9600	2,5800	3,16	119,00	
<i>C</i> (03 <i>D</i> ) – <i>H</i> (03 <i>N</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>J</i> )	0,9600	2,4100	2,96	116,00	
<i>C</i> (03 <i>J</i> ) – <i>H</i> (03 <i>P</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>S</i> )	0,9600	2,2200	2,94	131,00	
<i>C</i> (03 <i>J</i> ) – <i>H</i> (03 <i>S</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>A</i> )	0,9600	2,6000	3,46	150,00	
<i>C</i> (02 <i>G</i> ) – <i>H</i> (02 <i>G</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>C</i> )	0,9800	2,3400	2,84	111,00	
<i>C</i> (02 <i>U</i> ) – <i>H</i> (02 <i>A</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>T</i> )	0,9600	2,2800	2,96	127,00	
<i>C</i> (03 <i>M</i> ) – <i>H</i> (03 <i>C</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>C</i> )	0,9600	2,1300	2,86	132,00	
<i>C</i> (47) – <i>H</i> (47 <i>A</i> ) ... <i>O</i> (00 <i>J</i> )	0,9600	2,5900	2,94	102,00	
<i>C</i> (03 <i>B</i> ) – <i>H</i> <sup>b</sup> ... <i>O</i> (00 <i>H</i> )	0,9600	2,4500	2,95	112,00	

<i>D – H ... A</i>	<i>D – H (Å)</i>	<i>H ... A (Å)</i>	<i>D ... A (Å)</i>	<i>D – H ... A (Å)</i>	Tipo de enlace
<i>C(03H) – H(1AA) ... O(00J)</i>	0,9800	2,3900	2,86	109,00	
<i>C(032) – H(03V) ... O(00V)</i>	0,9600	2,3600	3,11	134,00	
<i>C(034) – H(03Y) ... O(00U)</i>	0,9600	2,3100	2,98	126,00	
<i>C(03E) – H(03Z) ... O(00V)</i>	0,9800	2,4300	2,89	108,00	
<i>C(03G) – H<sup>e</sup> ... O(00V)</i>	0,9600	2,5400	3,29	136,00	



Apéndice O. Certificado de la XII Reunión Anual de la Asociación Argentina de  
Cristalografía.

