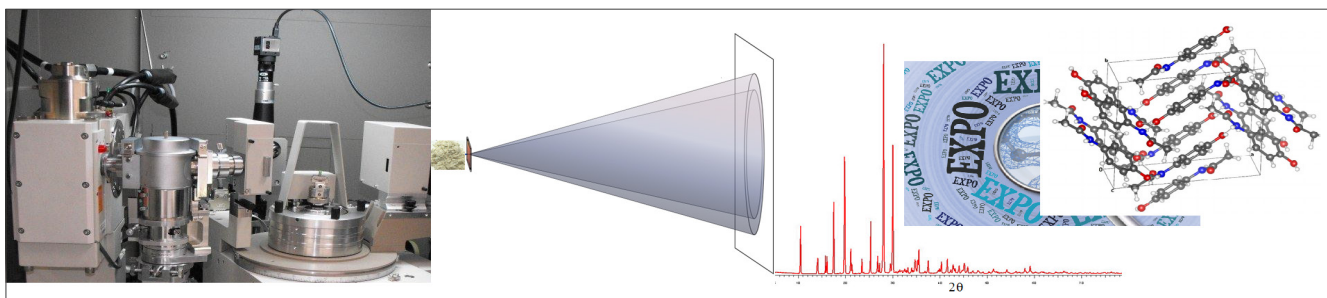




ANGELA ALTOMARE, NICOLA CORRIERO, CORRADO CUOCCI, AURELIA FALCICCHIO,  
ANNA MOLITERNI, ROSANNA RIZZI, MICHELE SAVIANO  
ISTITUTO DI CRISTALLOGRAFIA-CNR, BARI  
ANGELA.ALTOMARE@IC.CNR.IT

# LA SFIDA DELLA SOLUZIONE STRUTTURALE DA POLVERI IN CRISTALLOGRAFIA

*Negli ultimi venticinque anni il metodo della diffrazione da polveri è stato applicato con successo crescente per risolvere strutture cristalline (composti organici, inorganici, metallorganici). Nonostante ciò, la soluzione strutturale da polveri è ancora oggi una sfida perché i problemi del metodo, dovuti principalmente all'interpretazione dei dati sperimentali, devono essere ancora risolti.*



La cristallografia è una scienza multidisciplinare che, utilizzando l'informazione fornita dalla diffrazione X, o da neutroni o da elettroni, permette di caratterizzare un materiale cristallino su scala atomica e di risalire alla relazione struttura-proprietà. L'interesse verso gli studi cristallografici è sempre più crescente non solo in ambito scientifico (Chimica, Scienze dei Materiali, Scienze Farmaceutiche, Mineralogia, Biologia...), ma anche industriale (ad esempio farmaci, catalizzatori, coloranti, pigmenti).

Molti materiali cristallini non possono essere preparati sotto forma di cristalli di dimensione sufficiente per essere studiati con le tecniche di diffrazione tipiche del cristallo singolo. In tal caso il metodo di diffrazione da polveri è una scelta obbligata e rappresenta l'unica possibilità per poter caratterizzare il materiale. D'altronde, per molti materiali di importanza industriale, è fondamentale che essi vengano preparati e utilizzati sotto forma di polveri microcristalline, per esempio, allo scopo di incrementare

la loro area superficiale (ad esempio i catalizzatori), per potenziare la loro dispersibilità (ad esempio i pigmenti) e per ottimizzare la loro solubilità (ad esempio i farmaci). È importante che questi materiali vengano analizzati nelle stesse condizioni in cui vengono utilizzati.

Una polvere ideale è costituita da numerosi microcristalliti (dimensioni tipiche 1-10  $\mu\text{m}$ ) orientati nello spazio in modo casuale. Il metodo di diffrazione da polveri, introdotto nel 1916 da Debye e Scherrer, è stato applicato, per circa cinquant'anni, esclusivamente per l'analisi qualitativa (identificazione della/e fase/i cristallina/e presente/i in una polvere), semi-quantitativa (stima approssimata delle percentuali in peso delle fasi presenti in una polvere) e per misure di stress macroscopico. Il metodo ha ampliato il suo spettro di applicazione a partire dal 1969 grazie a Hugo Rietveld [1], che propose una procedura di affinamento strutturale di grande successo basata sull'uso dell'intero profilo di diffrazione da polveri.



Negli ultimi venticinque anni, i notevoli progressi in campo metodologico e computazionale, associati all'uso di computer dalla potenza di calcolo elevata, a diffrattometri di nuova generazione e alla disponibilità della luce di sincrotrone, hanno consentito di applicare con successo il metodo delle polveri anche alla soluzione strutturale. Tale applicazione era impensabile fino agli anni Ottanta, essendo storicamente riservata alla diffrazione da cristallo singolo.

Il numero e la complessità delle strutture cristalline risolte mediante la diffrazione da polveri è ad oggi in crescita. Fino al 2002 le strutture risolte e depositate nel Cambridge Structural Database (CSD) erano in totale 370 [2], a cui si sono successivamente aggiunte in media 82 strutture per anno (tale numero è stato calcolato considerando il periodo 2003-2012) [3]. Malgrado ciò, la diffrazione da polveri continua a presentare dei limiti che possono rendere il processo di soluzione strutturale particolarmente complicato e talvolta fallimentare anche nel caso di strutture di modesta complessità (molecole con pochi atomi non-H nell'unità asimmetrica). Il principale limite del metodo è legato alla monodimensionalità del profilo sperimentale e alla conseguente sovrapposizione dei picchi di diffrazione, a cui possono aggiungersi problemi addizionali, quali, ad esempio, l'orientazione preferenziale dei cristalliti (quando i cristalliti non sono distribuiti casualmente nello spazio) e un'errata definizione del segnale di fondo.

Il processo di soluzione da dati da polveri consta di alcune fasi: determinazione della cella cristallina, identificazione del gruppo spaziale, estrazione delle intensità integrate di diffrazione, soluzione e affinamento strutturale. Ciascuna di queste fasi presenta delle criticità, tanto da limitare, a tutt'oggi, la soluzione solo alle piccole molecole. Ciò non ha ostacolato l'interesse anche verso lo studio di macromolecole. Vale la pena citare il lavoro pionieristico di Von Dreele [4] che nel 1999 ha affinato per la prima volta la struttura della metmioglobina, applicando il metodo Rietveld, guidato da vincoli stereochimici. Da allora si è sviluppato un intraprendente filone di ricerca rivolto all'applicazione della diffrazione da polveri anche alla caratterizzazione di proteine.

I metodi utilizzati per la soluzione sono di due tipi: i metodi tradizionali (ad esempio Metodi Diretti), detti anche metodi *ab-initio*, che operano nello spazio reciproco [5] e i metodi che operano nello spazio reale (metodi di ottimizzazione globale) [6]. Questi ultimi hanno permesso di estendere ulteriormente i confini di applicazione della diffrazione da polveri, consen-

tendo di risolvere strutture cristalline sempre più complesse come, ad esempio, il composto farmaceutico clorotiazide (diuretico) solvatato con dimetilformamide (94 atomi nell'unità asimmetrica) [3].

Sono stati sviluppati numerosi programmi di calcolo dedicati a una (o più) fasi del processo di soluzione. Tra questi, uno dei più diffusi è il software EXPO [7], capace di eseguire tutte le fasi del processo di soluzione in modo prevalentemente automatico e di operare sia nello spazio reciproco (scelta di *default*) che nel diretto.

### Determinazione della cella cristallina

La determinazione della cella cristallina, processo noto anche come indicizzazione, è il primo passo da effettuare nel percorso che conduce alla soluzione di una struttura. Un'errata valutazione dei parametri di cella preclude ogni altra fase successiva del processo di soluzione [8]. Il numero di parametri da determinare varia da 1 a 6, a seconda della simmetria del cristallo: è massimo nel caso di simmetria più bassa (sistema cristallino triclino) e decresce al crescere della simmetria (è pari ad 1 nel caso del sistema cristallino cubico).

Il processo di indicizzazione è così chiamato perché assegna ad ogni effetto di diffrazione, detto anche riflesso, un'appropriata terna di indici, detti indici di Miller ( $hkl$ , o, in termini vettoriali,  $\mathbf{h}$ ), che definiscono la famiglia di piani con distanza interplanare  $d_h$  coinvolti nella diffrazione. La posizione dei picchi sperimentali dipende dall'angolo  $\theta_h$ , legato alla distanza interplanare  $d_h$  dalla nota legge di Bragg  $2d_h \sin \theta_h = \lambda$ , con  $\lambda$  lunghezza d'onda della radiazione sperimentale. Dai dati sperimentali si risale alla cella reciproca (i cui parametri sono  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$ ,  $\alpha^*$ ,  $\beta^*$  e  $\gamma^*$ ) e, da questa, si ricava la cella diretta (i cui parametri sono  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ).

Nel caso del cristallo singolo i dati sperimentali sono tridimensionali e gli effetti di diffrazione sono generalmente ben separati, di conseguenza, la determinazione dei parametri di cella è un obiettivo raggiunto con facilità. Nel caso delle polveri la monodimensionalità del profilo di diffrazione può rendere il processo particolarmente complicato e, a volte, irrealizzabile.

I metodi tradizionali di indicizzazione ricavano i parametri  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$ ,  $\alpha^*$ ,  $\beta^*$  e  $\gamma^*$  nello spazio reciproco, risolvendo l'equazione fondamentale dell'indicizzazione, che lega i valori di  $d_h$  ai corrispondenti indici  $h$ ,  $k$ ,  $l$  e ai parametri di cella incogniti. Tali metodi sono alla base dei programmi di calcolo più largamente utilizzati dalla comunità scientifica.

Metodi alternativi ai tradizionali, di sviluppo più recente, si basano su algoritmi di ottimizzazione globale (ad esempio, Monte Carlo, algoritmo genetico) e operano nello spazio reale [8].

A causa di fattori, molteplici e spesso concomitanti (ad esempio, la sovrapposizione dei picchi di diffrazione, e/o errori nella posizione di  $2\theta$  zero, e/o basso grado di cristallinità del campione, e/o basso rapporto segnale/rumore di fondo...), i valori di  $d_h$ , ricavati sperimentalmente, sono spesso affetti da errori che compromettono il processo di indicizzazione. Un'altra possibile causa di fallimento del processo di indicizzazione è dovuta alla presenza di picchi di diffrazione non attribuibili alla fase cristallina di interesse. Ciò accade in presenza di più di una fase, in particolare nel caso di impurezze o di miscela multicristallina.

Un ulteriore punto critico è legato alla non unicità della soluzione trovata: spesso il processo di indicizzazione fornisce più di una cella plausibile; si pone, quindi, il problema di riconoscere quella corretta. A tale scopo sono stati proposti strumenti matematici (figure di merito), che permettono di valutare la plausibilità delle soluzioni.

## Determinazione del gruppo spaziale

Una volta individuati i parametri di cella e il corrispondente sistema cristallino, la fase successiva del processo di soluzione strutturale è la determinazione del gruppo spaziale.

Un'analisi statistica delle intensità integrate dei picchi sperimentali di diffrazione consente di ottenere informazioni sulla simmetria [9-11]. In particolare, l'intensità integrata nulla di classi di riflessi con determinata parità degli indici ( $hkl$ ) è dovuta alla presenza di elementi di simmetria. Tale indicazione, combinata con l'informazione del gruppo di Laue, consente di determinare il simbolo di estinzione (SE) e, da quest'ultimo, il gruppo spaziale. Il numero dei possibili simboli di estinzione varia con il sistema cristallino: 14 gruppi di estinzione per il monoclino, 111 per l'ortorombico, 31 per il tetragonale, 12 per il trigonale-esagonale e 18 per il sistema cubico. La determinazione del simbolo di estinzione si basa sulle stime delle intensità integrate di diffrazione, che, nel caso delle polveri, sono affette da errori inevitabili (v. paragrafo successivo).

Metodi per la determinazione del gruppo spaziale, basati su approcci probabilistici, sono stati proposti da Markvardsen e collaboratori [12] e Altomare e collaboratori [9-11]. Tali approcci consentono di calcolare un valore di probabilità per ogni SE compatibile

con il sistema cristallino determinato in fase di indicizzazione. Non sempre il simbolo di estinzione definisce in modo univoco il gruppo spaziale; è possibile, infatti, che ad uno stesso SE corrispondano più di un gruppo spaziale. Ad esempio, se si considera il sistema monoclino, al simbolo di estinzione ' $P 1_1$ ' corrispondono tre gruppi spaziali ( $P2$ ,  $Pm$ ,  $P2/m$ ). In tal caso per individuare il gruppo spaziale corretto si può optare per una delle due seguenti alternative:

- a) effettuare il processo di soluzione strutturale per ognuno dei possibili gruppi spaziali e scegliere la soluzione corretta tra tutte le soluzioni candidate;
- b) risolvere la struttura cristallina selezionando il gruppo spaziale più frequente in letteratura che è maggiormente in accordo con le proprietà molecolari del materiale in esame.

## Estrazione delle intensità integrate di diffrazione

Il processo di estrazione delle intensità integrate consiste nella decomposizione del profilo sperimentale al fine di stimare l'area sottesa da ciascun picco di diffrazione.

Si tratta di un processo non semplice ma necessario se si sceglie di applicare i metodi tradizionali operanti nello spazio reciproco (ad esempio Metodi Diretti). Esso non è invece richiesto nei casi di soluzione mediante metodi nello spazio diretto (v. paragrafo successivo).

I problemi legati all'interpretazione dei dati da polveri, sovrapposizione dei picchi di diffrazione, orientazione preferenziale dei cristalliti, errata stima del segnale di fondo, ostacolano il corretto processo di estrazione delle intensità e sono responsabili di inevitabili errori, spesso gravi, sulla loro stima (errori medi intorno al 40%).

Il grado di accuratezza del processo di estrazione delle intensità integrate dipende principalmente:

- 1) dalla qualità dei dati sperimentali (ad esempio, se si utilizzano sorgenti da sincrotrone, i picchi di diffrazione sono meglio risolti e meno sovrapposti e il rapporto segnale/rumore è più elevato rispetto al caso di dati da diffrattometro convenzionale);
- 2) dalle tecniche matematiche su cui il metodo di decomposizione è basato.

I due approcci alternativi, storicamente più applicati per l'estrazione delle intensità integrate di un profilo di diffrazione sono il metodo di Pawley [13] e il metodo di Le Bail [14].

Vale la pena evidenziare un'efficace proprietà dell'algoritmo di Le Bail: la dipendenza dai valori iniziali delle intensità assegnati ai riflessi [15]. Ciò ha suggerito

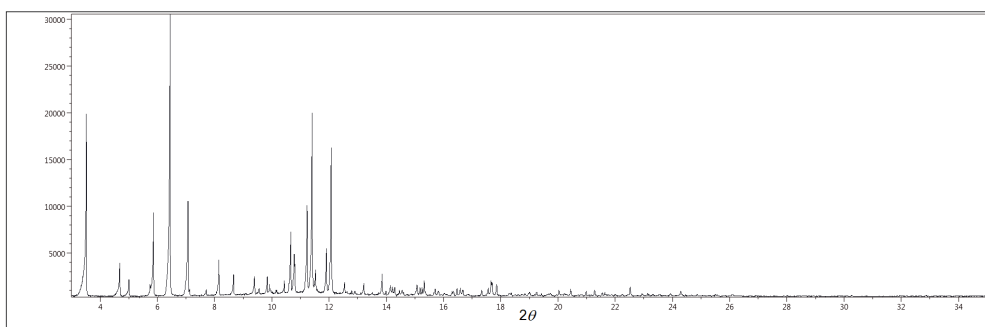


Fig. 1 - Profilo di diffrazione da polveri microcristalline del cocrystallo  $C_9H_{11}N_3O \cdot C_7H_6O_4$

rito lo sviluppo di una serie di procedure che, utilizzando informazioni a priori nell'algoritmo di Le Bail (riguardanti pseudosimmetria, orientazione preferenziale, mappa Patterson, frammento ben posizionato e orientato), possono ridurre sensibilmente gli errori sulla stima delle intensità integrate.

Come esempio di profilo di diffrazione da polveri, nella Fig. 1 si riporta quello relativo al cocrystallo  $C_9H_{11}N_3O \cdot C_7H_6O_4$ , relativo alle due molecole di isoniazide e niazide, di notevole importanza farmaceutica (in particolare, la prima molecola è ampiamente usata come agente antitubercolare) [16]. Il profilo è stato raccolto sulla linea X16C del 'National Synchrotron Light Source' di Brookhaven, con lunghezza d'onda di 0,6999 Å. Il software EXPO determina automaticamente i parametri di cella  $a=8,5813$ ,  $b=22,7241$ ,  $c=8,8513$  Å,  $\beta=95,760^\circ$  e il gruppo spaziale  $P2_1/c$ . La procedura di estrazione stima l'intensità integrata di 1139 riflessi corrispondenti ai picchi di diffrazione contenuti nel profilo, sovrapposti tra loro con un livello di sovrapposizione medio dell'ordine del 46%, stimato in accordo ad Altomare *et al.* [17].

### Soluzione strutturale nello spazio reciproco

Le informazioni disponibili al termine del processo di decomposizione del profilo di diffrazione sono le intensità integrate dei riflessi  $\{I_h\}$ , le quali non sono sufficienti per poter risalire alla struttura cristallina del composto di interesse. L'intensità  $I_h$  del riflesso  $h$  è proporzionale al quadrato del modulo del fattore di struttura  $F_h \cdot F_h^*$ , entità complessa definita da un modulo ( $|F_h|$ ) e da una fase ( $\varphi_h$ ), rappresenta l'ampiezza totale dell'onda diffratta dagli atomi del cristallo che giacciono sulla famiglia di piani ( $hkl$ ). Per determinare la struttura è necessario ricavare la mappa di densità elettronica  $\rho(\mathbf{r})$  calcolata dalla trasformata di Fourier inversa di  $F_h$ . Lo studio della mappa di densità elettronica, guidato dalla conoscenza della composizione chimica del materiale, permette di localizzare le posizioni dei picchi nella mappa e assegnare loro una

specie atomica in base alle loro intensità, ottenendo un modello strutturale chimicamente interpretabile. Il ruolo del fattore di struttura è quindi determinante: esso contiene in sé l'informazione strutturale, essendo una funzione delle coordinate degli atomi presenti nel composto e del loro fattore di diffusione. La funzione densità elettronica  $\rho(\mathbf{r})$  può essere calcolata, a condizione che siano noti sia i moduli che le fasi dei fattori di struttura. Sfortunatamente l'informazione sulla fase è perduta nell'esperimento di diffrazione. Risolvere una struttura cristallina mediante i metodi tradizionali che operano nello spazio reciproco equivale quindi a risolvere quello che in cristallografia è noto come *il problema della fase*.

I Metodi Diretti [5] sono i principali metodi tradizionali di soluzione strutturale operanti nello spazio reciproco, in grado di risolvere strutture cristalline di varia natura (organica, inorganica, metallorganica). Come lo stesso nome suggerisce, essi determinano le fasi dei riflessi *direttamente dalle osservazioni sperimentali* attraverso metodi matematici di tipo statistico-probabilistico che si basano sulle seguenti assunzioni: 1) positività della  $\rho(\mathbf{r})$ ; 2) atomicità di  $\rho(\mathbf{r})$ ; 3) posizioni atomiche considerate variabili *random* uniformemente distribuite nella cella. Grazie ai sorprendenti avanzamenti metodologici sviluppati nel corso degli anni, oggi il processo di soluzione da cristallo singolo attraverso i Metodi Diretti è routinario, affidabile, veloce (richiede pochi minuti) sia nel caso di piccole molecole che di medie molecole (fino a 300 atomi non-H nell'unità asimmetrica). Si stima che più di 5000 nuove strutture da cristallo singolo sono risolte all'anno grazie ai Metodi Diretti. Tale progresso, sebbene ancora in atto, non può ancora estendersi, negli stessi termini, alla soluzione da polveri anche di piccole molecole, a ragione della difficoltà a ricavare valori sperimentali di  $|F_h|$  accurati e, di conseguenza, valori di  $\varphi_h$  affidabili. Un'attenzione particolare è stata rivolta allo sviluppo di approcci computazionali innovativi per migliorare il processo di stima di  $|F_h|$  [15], senza dubbio il punto più critico della soluzione *ab-initio* da polveri. Un'ulteriore difficoltà riguarda la risoluzione sperimentale spesso lontana da quella atomica ( $>1,0$  Å), in particolare nel caso di strutture organiche, a causa del rapido decadimento dei loro

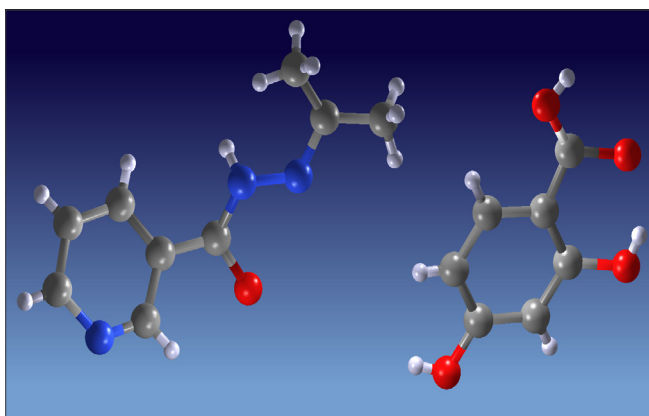


Fig. 2 - Struttura atomica del cocrystallo  $C_9H_{11}N_3O \cdot C_7H_6O_4$  (unità asimmetrica), risultato del processo di soluzione strutturale *ab-initio*, realizzato dal software *EXPO*

fattori di diffusione. Le problematiche si combinano in modo tale che il modello strutturale che si ricava dalla  $\rho(\mathbf{r})$  è talvolta non chimicamente interpretabile, e spesso imperfetto: alcuni atomi sono mancanti, altri posizionati in modo approssimato ecc. L'ottimizzazione del modello si rende necessaria. Le procedure di ottimizzazione finora sviluppate si basano principalmente su:

- 1) cicli di minimi quadrati opportunamente pesati che minimizzano la differenza tra i moduli dei fattori di struttura osservati e calcolati dal modello strutturale. L'originalità del metodo consiste nell'aver individuato un peso associato ad ogni riflesso  $\mathbf{h}$  che tiene conto dell'affidabilità del valore sperimentale di  $|F_{\mathbf{h}}|$  in funzione del livello di sovrapposizione del picco di diffrazione corrispondente ad  $\mathbf{h}$  nel profilo sperimentale [18]. Tale procedura è di particolare efficacia per il miglioramento di modelli strutturali di composti inorganici;
- 2) correzione degli errori presenti nella mappa di densità elettronica dovuti alla risoluzione sperimentale limitata: allargamento e spostamento dei picchi, presenza di intensità negative. Il metodo, denominato RBM (acronimo di *Resolution Bias Modification*) [19, 20], consente di eliminare picchi falsi e localizzare atomi inizialmente mancanti, completando o migliorando notevolmente modelli strutturali anche molto imperfetti e incompleti. Tale approccio è particolarmente indicato per correggere la mappa di densità relativa a materiali organici e metallorganici;
- 3) correzione della mappa di densità elettronica sfruttando il principio di covarianza tra punti della mappa (COVMAP) [21].

In Fig. 2 è mostrato il risultato del run automatico di *EXPO* per la soluzione del cocrystallo  $C_9H_{11}N_3O \cdot C_7H_6O_4$ .

## Soluzione strutturale nello spazio reale

I metodi di soluzione strutturale che agiscono nello spazio diretto, contrariamente al caso dei metodi nello spazio reciproco, hanno il vantaggio di non richiedere l'estrazione delle intensità integrate. La loro applicazione ha contribuito a potenziare notevolmente il successo del metodo delle polveri, consentendo di risolvere strutture sempre più complesse, anche nel caso di dati a bassa risoluzione, casi in cui, in genere, i metodi di soluzione tradizionali falliscono.

I metodi nello spazio diretto presentano però lo svantaggio, rispetto ai metodi nello spazio reciproco, di richiedere a priori l'informazione sulla geometria molecolare. Si tratta di metodi stocastici basati sulla generazione di numerosi modelli strutturali random tutti compatibili con l'informazione sulla geometria molecolare attesa. A ogni modello che varia per posizione, orientazione e conformazione interna, si associa una funzione costo che valuta l'attendibilità del modello (ad esempio l'indice di accordo tra profilo osservato e calcolato). Lo scopo dei metodi nello spazio diretto (noti anche come metodi di ottimizzazione globale) è cercare la configurazione ottimale corrispondente al minimo della funzione costo. Sono stati sviluppati metodi basati su varie tecniche di ottimizzazione, tra cui si menziona: algoritmo genetico, simulated annealing (SA) [6], e hybrid big-bang big-crunch [22].

Una metodica ormai ampiamente diffusa consiste nel validare le soluzioni ottenute da metodi nello spazio diretto tramite ottimizzazione geometrica mediante DFT-D (dispersion-corrected density functional theory) [23].

I metodi di ottimizzazione globale implementati in *EXPO* sono *simulated annealing* e *hybrid big-bang big-crunch*. Un esempio di soluzione strutturale di successo tramite simulated annealing in *EXPO* è mostrato in Fig. 3. Esso riguarda il composto penta-peptidico  $Z-(Aib)_5-O-t-Bu-C_{32}H_{51}N_5O_8$ , con 45 atomi non-H nell'unità asimmetrica (numero di atomi troppo elevato per la soluzione tramite Metodi Diretti) e risoluzione sperimentale di 1,2 Å, struttura già risolta in passato con dati da cristallo singolo [24]. Il numero totale di gradi di libertà del modello strutturale è 26 (3 per la posizione, 3 per l'orientazione e 20 per le torsioni). Al termine di 100 *run* di SA, *EXPO* ordina i corrispondenti modelli strutturali in funzione di valori crescenti di una funzione costo (l'indice di accordo pesato tra profilo di diffrazione osservato e calcolato) e seleziona correttamente la soluzione mostrata in Fig. 3 (gli atomi di H sono stati trascurati nel processo di soluzione strutturale).

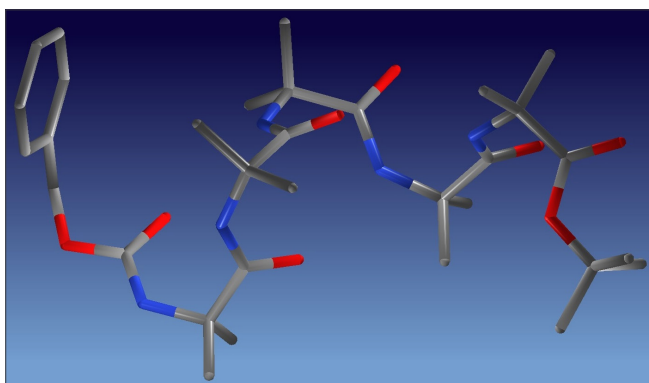


Fig. 3 - Struttura atomica del pentapeptide Z-(Aib)<sub>5</sub>-O-t-Bu (unità asimmetrica; gli atomi di H sono stati trascurati nel processo di soluzione strutturale), risultato del processo di soluzione strutturale mediante simulated annealing, realizzato dal software EXPO

### Conclusioni

Negli ultimi venticinque anni, il metodo della diffrazione da polveri microcristalline si è rivelato uno strumento analitico potente e di estrema utilità per lo studio di materiali disponibili solo nella forma di polveri. La confidenza nel metodo da polveri si è spinta a tal punto da tentare, con esiti positivi in molti casi, anche la caratterizzazione di piccole proteine. Il processo di soluzione strutturale da polveri, più complesso di quello da cristallo singolo, è stato ottimizzato in tutte le sue fasi, grazie allo sviluppo metodologico, computazionale e sperimentale rivolto in tale direzione. L'avanzamento, sia dei metodi che operano nello spazio reciproco che di quelli che lavorano nello spazio reale, hanno ampliato il *range* di applicazione a composti di diversa natura: organici, inorganici, metallorganici, ibridi, con livello di complessità strutturale crescente nel corso degli anni (fino a 100 atomi nell'unità asimmetrica) e con risoluzione sperimentale anche abbastanza lontana da quella atomica (fino a 2,0 Å). Si tratta di traguardi impensabili fino a qualche anno fa. Il software EXPO, supportato da continui sviluppi metodologici e da elevate potenzialità grafiche e computazionali, ha contribuito ad incrementare il numero di strutture risolte da polveri. L'obiettivo di migliorare il processo di soluzione strutturale da polveri in modo tale da renderlo sempre più confrontabile con quello da cristallo singolo è una sfida scientifica per il presente e futuro.

### BIBLIOGRAFIA

- [1] H.M. Rietveld, *J. Appl. Crystallogr.*, 1969, **2**, 65.
- [2] F.H. Allen, *Acta Crystallogr.*, 2002, **B58**, 380.
- [3] K. Shankland *et al.*, *Acta Crystallogr.*, 2013, **C69**, 1251.
- [4] R.B. Von Dreele, *J. Appl. Crystallogr.*, 1999, **32**, 1084.
- [5] C. Giacovazzo, *Phasing in Crystallography: A Modern Perspective*, IUCr/Oxford University Press, Oxford, England, 2013.
- [6] R. Cerny *et al.*, *Z. Kristallogr.*, 2007, **222**, 105.
- [7] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2013, **46**, 1231.
- [8] A. Altomare *et al.*, Indexing and Space Group determination, In Dinnebier, R.E. & Billinge, S.J.L. (Eds.), *Powder Diffraction Theory and Practice*, Cambridge, RSC Publishing, 2008, 206.
- [9] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2004, **37**, 957.
- [10] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2005, **38**, 760.
- [11] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2007, **40**, 743.
- [12] A.J. Markvardsen *et al.*, *Acta Crystallogr.*, 2001, **A57**, 47.
- [13] G.S. Pawley, *J. Appl. Crystallogr.*, 1981, **14**, 357.
- [14] A. Le Bail *et al.*, *Math. Res. Bull.*, 1988, **37**, 447.
- [15] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 1996, **29**, 667.
- [16] S.H. Lapidus *et al.*, *Acta Crystallogr.*, 2012, **C68**, o335.
- [17] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 1995, **28**, 738.
- [18] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2006, **39**, 558.
- [19] A. Altomare *et al.*, *Acta Crystallogr.*, 2008, **A64**, 326.
- [20] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2008, **41**, 592.
- [21] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2012, **45**, 789.
- [22] A. Altomare *et al.*, *J. Appl. Crystallogr.*, 2013, **46**, 779.
- [23] J. van de Streek, *et al.*, *Acta Crystallogr.*, 2014, **B70**, 1020.
- [24] E. Benedetti, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 2437.

### The Challenge of Structural Solution by Powders in Crystallography

In the last 25 years the powder diffraction method has been applied more and more successfully to solve crystal structures (organic, inorganic, metal-organic compounds). Despite this, structure solution by powder is still now a challenge because problems of the method, mainly related to the interpretation of the experimental data, must still be solved.