

Konzertierter Ansatz zur Untersuchung von Polymorphie

-

Experiment und Simulation

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften
Dr. rer. nat.

am Fachbereich Chemie der
Universität Bayreuth

Jürgen Thun
geboren in Erlangen

Bayreuth 2009

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Betreuung von Prof. Dr. J. Breu in der Zeit vom Oktober 2005 bis zum Dezember 2008 an der Universität Bayreuth angefertigt.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät der Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.).

Erster Prüfer:	Prof. Dr. J. Breu
Zweiter Prüfer:	Prof. Dr. G. M. Ullmann
Dritter Prüfer:	Prof. Dr. M. Ballauff
Prüfungsvorsitz:	Prof. Dr. P. Strohriegl
Tag der Einreichung:	18. Dezember 2008
Tag der mündlichen Prüfung:	07. Mai 2009

Danksagung

Zu allererst möchte ich meinem Betreuer Prof. Dr. Josef Breu für die Bereitstellung des Themas und der Geräte, den fruchtbaren Diskussionen, seine Unterstützung und sein Vertrauen danken. Auch Herrn Prof. Dr. Jürgen Senker gilt mein Dank für viele interessante Gespräche, Hinweise und alle Unterstützung.

Herrn Dr. Wolfgang Milius danke ich für die gute Zusammenarbeit. Er war immer zur Stelle wenn ich Hilfe benötigt habe. Viele Fragen konnte ich mit ihm besprechen und letztlich auch klären. Besonders im Bereich der Kristallographie konnte ich so viel von ihm lernen.

Meinen Laborkollegen Lena Geiling, Dominikus Huttner, Michael Schrempf, Wolfgang Seidl und Ingo Zeitler danke ich für die nette Atmosphäre und die gute Laune im BZKG.

Jan und Lena Seyfarth, mit denen fachliche Diskussionen immer zu neuen Ergebnissen führten und die mich auch privat in allem unterstützten. Einen herzlichen Dank auch an Alexander Baumgartner, Sebastian Koch und Melli Stöcker für die vielen Gespräche und den unterhaltsamen Kaffeerunden. Ohne sie hätte die Arbeit nur halb so viel Spaß gemacht.

Allen technischen Angestellten, Beate Bojer, Sonja Lutschinger, Bernd Putz und Dieter Will für alle Hilfsbereitschaft und gute Zusammenarbeit am Lehrstuhl Anorganische Chemie I.

Dr. Peter Mörsdorf und Dr. André Ridder von Heumann PCS, jetzt Excella-Pharma-Source, für die gute und unkomplizierte Zusammenarbeit mit vielen interessanten Diskussionsrunden.

Meinen Eltern und Vanessa gilt mein größter Dank. Meinen Eltern danke ich zunächst für alle Unterstützung während der gesamten Ausbildung und Dank Vanessa konnten auch die schwierigsten Phasen in dieser Doktorarbeit mit Leichtigkeit überstanden werden.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	3
Zusammenfassung	4
Summary	6
1 Einleitung	8
1.1 Polymorphie molekularer Kristalle	8
1.1.1 Allgemeines	8
1.1.2 Kristallisationstechniken und -ansätze zur Synthese metastabiler Polymorphe	9
1.2 Computersimulationen im Bereich Kristallisation	11
1.2.1 Kraftfeldmethoden	12
1.2.2 Kristallstrukturvorhersage	13
2 Synopsis	15
2.1 Motivation	15
2.2 Modellsystem Benzamid	18
2.3 Kristallstrukturvorhersage von Benzamid	22
2.4 Kristallisation eines pharmazeutischen Wirkstoffes	25
3 Publikationen und Manuskripte	27
4 Weitere Publikationen	29
Bibliographie	30
A Anhang	34
A.1 Polymorphie von Benzamid – die Lösung eines 175 Jahre alten Rätsels. . .	34
A.2 Wöhler and Liebig Revisited: 176 Years of Polymorphism in Benzamide – and the story still continues!	39

A.3 Crystal structure prediction could have helped the experimentalists with polymorphism in benzamide!	47
A.4 The crystal structure of the API Montelukast.	60

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
API	Active Pharmaceutical Ingredient
ATR	Attenuate Total Reflection
CSD	Cambridge Structural Database
CSP	Crystal Structure Prediction
DFT	Dichtefunktional Theorie
FBRM	Focused Beam Reflectance Measurement
IR	Infrarot
MD	Molekulardynamik Simulation
MEP	Molekulares Elektrostatisches Potential
NMR	Nuclear Magnetic Resonanz
PXRD	Powder X-ray Diffraction
SXRD	Single Crystal X-ray Diffraction

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Polymorphie und Kristallisation verschiedener organischer Moleküle. Als Techniken standen sowohl computerchemische Methoden als auch ein modernes automatisches Laborreaktorsystem zur Verfügung, welches über verschiedene Online-Sensoren und eine akurate Temperatursteuerung verfügte. Mittels einer FBRM-Sonde, welche eine zeitnahe Detektion der Keimbildung erlaubt, und einer ATR FT-IR Sonde, über die zu jedem Zeitpunkt der Kristallisation der Konzentrations- und somit auch der Übersättigungsverlauf gemessen werden konnte, war eine genaue Steuerung der Kristallisationsprozesse möglich.

Unter Verwendung des beschriebenen Laborreaktorsystems gelang es, das 175 Jahre alte Rätsel über die Polymorphie des einfachen organischen Moleküls Benzamid zu lösen. Bereits im Jahre 1832 wurde zum ersten Mal das Phänomen der Polymorphie an organischen Molekülkristallen von den Großvätern der modernen anorganischen und organischen Chemie, Friedrich Wöhler und Justus von Liebig am Beispiel des Benzamids entdeckt und veröffentlicht. Die Strukturlösung dieser von Wöhler und Liebig beschriebenen nadelförmigen Modifikation von Benzamid gelang allerdings erst im Rahmen dieser Arbeit im Jahr 2007. Von Benzamid ist eine weitere metastabile Phase II bekannt, welche bislang fälschlicherweise für die Wöhler und Liebig Phase gehalten wurde, da sie ebenfalls, wie auch die echte Wöhler Phase, in einer nadelförmigen Morphologie auskristallisiert. Diese Phase wurde 2005 von David et al. aus Röntgenpulverdaten gelöst. Allerdings wichen die verwendeten Kristallisationsbedingungen stark von den von Wöhler und Liebig beschriebenen Kühlraten ab. Durch eine schnelle, Lösungsmittel getriebene Umwandlung entzog sich diese Phase bislang jedoch weiteren Untersuchungen. Erst im Rahmen dieser Dissertation ist es gelungen, die Umwandlung dieser metastabilen Phase II soweit zu verlangsamen, dass sowohl röntgenographische Methoden, als auch Festkörper-NMR-, Raman- und IR-Spektroskopie möglich war.

Durch die Einfachheit des Moleküls, nur einem Torsionsfreiheitsgrad, sowie der bekannten Polymorphie bietet sich Benzamid als Testsystem für Computersimulationen an. Benzamid wurde so als „benchmark“-System für Kristallstrukturvorhersagen unter der Verwendung zweier kommerziell erhältlicher Programmpakete (MS Modeling 4.0 und Cerius²) ausgewählt. Mit beiden Programmpaketen ist es gelungen sowohl die thermodynamisch

stabile Phase I als auch die Wöhler und Liebig Phase richtig „vorherzusagen“. Bei der metastabilen Phase II konnte die experimentelle Struktur leider nicht in den Vorhersagen gefunden werden. Die aus experimentellen Daten gelöste Kristallstruktur stellte im Hinblick auf das bei den Simulationen verwendete Kraftfeld einen Sattelpunkt auf der Energiehyperfläche dar, so dass selbst einfache Energieoptimierungen dieser Phase bereits scheiterten und zu einer deutlichen Veränderung in den Gitterparametern führte. Ein weiteres interessantes Ergebnis war die Vorhersage eines energetisch günstigen Packungsmusters, welches bislang schon von einigen kurzkettigen Carbonsäuren bekannt ist, dem sogenannten Katamer-Synthon. Dieses bildet sich aus langen über Wasserstoffbrücken gebundenen Ketten, in denen keine Dimere enthalten sind. Dieses vorhergesagte Packungsmotiv bedarf noch einer experimentellen Bestätigung. Hierfür ist es allerdings notwendig geeignete Kristallisationsbedingungen zu schaffen, welche es erlauben die Bildung von Benzamid-Dimeren in Lösung zu verhindern.

Parallel zum Modellsystem Benzamid wurde die Polymorphie des Wirkstoffes Montelukast und seiner Salze näher untersucht. Im Rahmen dieser Dissertation gelang es, die Kristallstruktur der freien Säure von Montelukast aus Röntgeneinkristalldiffraktometriedaten zu lösen. Die durchgeführten Kristallisationsexperimente zusammen mit der gelösten Kristallstruktur und computerchemischen Simulationen halfen, die Probleme bei der Kristallisation des Natrium-Salzes zu erklären. So scheint es notwendig, dass als strukturdirigierendes Agens bei der Kristallisation dringend Wasserstoffbrücken notwendig sind. Experimentell bestätigt sich dies darin, dass neben der freien Säure auch ein mikrokristallines Ammonium-Salz bekannt ist, jedoch entgegen aller in den Patenten enthaltenen Behauptungen, kein kristallines Natrium-Salz. Dieser Befund lässt sich noch dadurch unterstützen, dass sich auch in den Originalmedikamenten keine kristalline Natrium-Verbindung finden lässt.

Die Kombination aller hier vorgestellter Methoden erlaubt es, eine genaue Kenntniss über die Polymorphie von verschiedenen Systemen zu erlangen und bei der Lösung von Problemen in der experimentellen Kristallisation neue Lösungswege zu finden. Ungewöhnlich ist, dass alle verwendeten Techniken, sowohl Theorie als auch Experiment, an einem Ort, von einer Person durchgeführt wurden.

Summary

The polymorphism and crystallization of different organic molecules was investigated using computational chemistry as well as a modern automatic lab reactor system. This automatic lab reactor was equipped with a FBRM probe, which allowed detection of nucleation almost in real time, and an ATR FT-IR probe for an accurate measurement of concentration and therefore supersaturation. In addition with the very precise temperature control of the lab reactor system crystallization procedures could be performed in a very controlled manner.

Using the described automatic lab reactor system the 175 year old riddle about polymorphism of the very simple compound benzamide could be solved. Back in 1832 the german grandfathers of modern inorganic and organic chemistry, Friedrich Wöhler and Justus von Liebig, described the phenomenon of polymorphism for the first time for an organic molecular crystal, for benzamide. However, the crystal structure of this described metastable phase III with a needlelike morphology was solved in 2007 as a part of this PhD-thesis. A second metastable phase of benzamide is also known, which was misleadingly dedicated to be the Wöhler and Liebig phase first due to a similar needlelike morphology. Indeed, the necessary crystallization conditions needed to yield this metastable phase II differ dramatically from the originally by Wöhler and Liebig reported cooling rates. Due to a fast solution mediated transformation into a thermodynamically more stable phase, phase II eluded further characterizations. Within this PhD-thesis it was possible to slow down the transformation of this metastable phase II so that PXRD pattern, as well as solid-state NMR-, Raman- and IR-spectra could be recorded.

The simplicity of the benzamide molecule, which exhibits only one torsional degree of freedom, as well as the known polymorphism made benzamide an appropriate system for computer simulations. Benzamide was chosen as a benchmark system for crystal structure prediction (CSP), which had been performed using two commercial suites of programs (MS Modeling 4.0 and Cerius²). The thermodynamically stable phase I and the Wöhler and Liebig phase III could be „predicted“ within both suites of programs. Unfortunately, the metastable phase II could not been found in either of these predictions. It turned out that phase II represents a saddle point on the energy hyper surface in respect to the force field used. Even a simple energy optimization of the experimentally known crystal structure

yielded in a massive deformation of the crystal lattice. However, another very interesting low energy packing motif could be predicted which is already known as a catamer synthon from carbonic acids. In a catamer synthon no hydrogen bonded dimers can be found, only hydrogen bonded chains are formed. So far there is no experimental confirmation for this predicted packing motif. Therefore it is necessary to establish an environment which is capable of breaking the dimer bond.

In addition to the model system benzamide, the polymorphism of the active pharmaceutical ingredient (API) montelukast was investigated. Within this PhD-thesis the crystal structure of the free acid of montelukast could be solved from single-crystal X-ray diffraction data. The performed crystallization experiments together with the solved crystal structure and computer simulations helped to explain the difficulties with the crystallization of sodium-montelukast. It seems as if hydrogen bonds are needed as some kind of structure directing agent during the nucleation. This result can be confirmed experimentally by the known crystalline montelukast phases. Only the free acid as well as an ammonium-salt can be found to be crystalline. Moreover, even in the merchandised drug, no crystalline sodium-montelukast can be identified although several patents claim techniques to obtain at least one crystalline sodium-montelukast phase.

Summing up, the combination of all these methods helped to get a good knowledge about the polymorphism of different systems and to find new ways to solve existing problems during crystallization. It is unique, that all techniques, simulation and experiment, had been performed at one place, from one person.

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Polymorphie molekularer Kristalle

1.1.1 Allgemeines

Der Begriff Polymorphie leitet sich von den griechischen Worten „viel“ (poly) und „Form“ (morph) ab. Polymorphie wird sowohl in den Sprachwissenschaften, der Biologie, der Genetik und nicht zuletzt in den Computerwissenschaften verwendet. In der Kristallographie findet der Begriff Polymorphie bereits seit Beginn des 19. Jahrhunderts Verwendung [1]. Die heute gebräuchlichste Definition hingegen stammt aus dem Jahre 1965 und wurde von McCrone eingeführt [2]. Darin beschreibt McCrone die Polymorphie als die Möglichkeit eines Stoffes, mindestens zwei verschiedene Anordnungen der Moleküle dieses Stoffes zueinander realisieren zu können. Eine Ausnahme hierzu stellen Solvate dar, bei welchen zusätzlich noch Lösungsmittelmoleküle in das Kristallgitter eingebaut sind. Solvate, bzw. als Sonderfall Hydrate, werden nach neusten Meinungen als so genannte „Pseudopolymorphe“ definiert.

Das Interesse an Polymorphie-Untersuchungen hat in den letzten Jahren in der pharmazeutischen Industrie stark zugenommen, da sowohl die physikalischen als auch die chemischen Eigenschaften von verschiedenen Polymorphen stark voneinander abweichen können [3]. Eine spontane Umwandlung von Polymorphen eines pharmazeutischen Wirkstoffes kann so zu einer deutlich schlechteren Löslichkeit, bzw. Bioverfügbarkeit führen, was für das Unternehmen starke finanzielle Einbußen bedeuten kann. Der prominenteste Fall, der durch Phasenumwandlung von Polymorphen entstanden ist, behandelt den Wirkstoff Ritonavir und ist in der Literatur oft zitiert und diskutiert [4].

Nicht immer ist die thermodynamisch stabilste Phase auch das gewünschte Endprodukt und auch metastabile Phasen können über mehrere Jahre hinweg problemlos stabil vorlie-

gen. Eine gezielte Synthese dieser metastabilen Modifikationen ist bislang allerdings nur in den seltensten Fällen einfach und wiederholbar zu realisieren. Ein Blick in die „Cambridge Structural Database“ (CSD) zeigt, dass von nur ca. 2000 Strukturen aus über 200000 Datensätzen Polymorphie bekannt sind [5]. Davon sind nur von etwa 300 Kristallstrukturen mehr als 2 Polymorphe bekannt. Im Gegensatz hierzu zeigen Kristallstrukturvorhersagen eindeutig, dass für die meisten Strukturen eine Vielzahl an kristalchemisch sinnvollen Strukturen mit niedriger Energie vorliegen, welche auch experimentell greifbar sein sollten. Diese Diskrepanz zwischen Theorie und Praxis ist bis heute nicht gelöst. Ist die Theorie zu ungenau oder sind die experimentellen Methoden bislang noch ungeeignet um die nötigen Kristallisationsbedingungen einzustellen? Diese Fragestellung kann nur im Zusammenspiel beider Gruppen, den Theoretikern und den Experimentalisten gelingen.

1.1.2 Kristallisationstechniken und -ansätze zur Synthese metastabiler Polymorphe

Ziel aller Experimente muss es sein, die äußeren Bedingungen so anzupassen, dass das metastabile Polymorph kristallisiert und isolierbar ist. Nach der Ostwald'schen Stufenregel kristallisiert zunächst i.d.R. immer das metastabilste Polymorph, welches sich anschließend, evtl. über weitere metastabile Phasen hinweg, in das thermodynamisch stabile Polymorph umwandelt. Nach Ostwald wäre es sinnvoll, möglichst hohe Übersättigungen bei niedrigen Temperaturen zu erzielen, und so bei möglichst niedrigen Temperaturen die Kristallisation zu starten (siehe Abb. 1.1). Nicht immer ist es allerdings möglich das gewünschte Polymorph anschließend phasenrein zu isolieren. Falls beide Keime eine ähnliche Keimbildungsbarriere aufweisen kann es vorkommen, dass eine sekundäre Keimbildung der thermodynamisch stabileren Phase nicht unterdrückt werden kann. Gezielte Kristallisationsexperimente einzelner metastabiler Polymorphe werden derzeit meist durch Impfung mit dem gewünschten Polymorph innerhalb der metastabilen Zone erzeugt. Es ist üblich bis zu 5% an Impfkristallen zuzugeben. Die metastabile Zone beschreibt einen Bereich einer übersättigten Lösung, in der es noch nicht zu einer spontanen Keimbildung kommt. Dies kann dadurch erreicht werden, dass eine gerade gesättigte Lösung leicht abgekühlt wird.

In der Literatur sind zahlreiche Ansätze zu finden, die genutzt werden um (metastabile) Polymorphe zu erzeugen. Im Bereich der pharmazeutischen Wirkstoffe gibt es gerade eine starke Tendenz hin zur Cokristallisation [6–10]. Dies bedeutet, dass das eigentliche Zielmolekül mit einem anderen geeigneten Molekül zusammengebracht wird. Zusammen bilden sich dann im Idealfall Cokristalle aus. Über eine Eignung von Molekülen zur Verwendung in Cokristallen entscheidet zum Einen die Toxizität, zum Anderen auch mögliche Wechselwirkungszentren des Moleküls. Moleküle, welche Wasserstoffbrückenbindungen bzw. über

Phenylringe π - π Wechselwirkungen aufbauen können eignen sich in der Regel sehr gut. Mittels dieser Technik ist es auch möglich, bestimmte physikalische und chemische Eigenschaften wie Dampfdruck, Bioverfügbarkeit durch geschickte Auswahl des Cokristallisats auf die gewünschten Werte einzustellen. Als Beispiel soll hier nur die Oxalsäure erwähnt werden. Die Dicarbonsäure verfügt über viele funktionelle Gruppen und eignet sich so hervorragend für Cokristallisationsexperimente.

Eine Abwandlung ist das sogenannte „Solvent drop grinding“ [10, 11]. Hier werden die Edukte mit einem Tropfen an Lösungsmittel versetzt und anschließend gemörsert. Obwohl mit diesem Ansatz eigentlich das Ziel verfolgt wird Cokristalle herzustellen, kann es auch passieren, dass stattdessen eines der Edukte in ein anderes Polymorph umgewandelt wird.

Die in der pharmazeutischen Industrie jedoch am weitesten verbreitete Technik ist das „High-Throughput Screening“. Hierbei wird in sehr kleinen Reaktionsgefäßen im μl Bereich auf Mikrotiterplatten gearbeitet. Pro Versuchsreihe können so aus verschiedenen Lösungsmitteln, bzw. Lösungsmittelgemischen, bei verschiedensten Konzentrationen und pH-Werten, Kristallisationen durchgeführt werden. Anschließend können über Raman-Spektroskopie die Mikrotiterplatten vollautomatisch auf die Kristallinität der Produkte in den einzelnen Reaktoren hin überprüft werden. Durch den hohen Probendurchsatz gelingt es mit dieser Methode meist ein für die Industrie ausreichendes Polymorph-Screening durchzuführen [12, 13].

Vor etwa fünf Jahren gelangte eine weitere Technik in den Fokus der Wissenschaft. Dabei handelt es sich um eine heterogene Keimbildung unter Verwendung strukturdirigierender Agenzien. Zur Auswahl stehen dabei sowohl organische Kristalle, anorganische Materialien oder auch Polymere. Die Beschaffenheit der Oberfläche, die dort zur Verfügung stehenden funktionellen Gruppen und auch die elektrostatischen Wechselwirkungen haben dabei die größten Einflüsse auf den entstehenden Kristall. Durch geschickte Auswahl an geeigneten

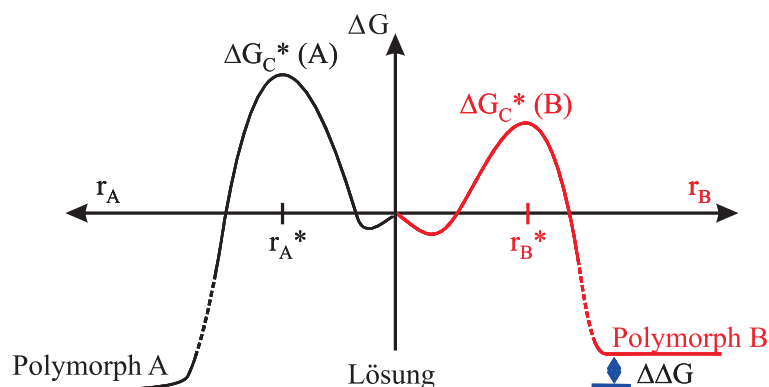


Abbildung 1.1: Schematische Auftragung der Energie gegen die Clustergröße für das thermodynamisch stabile Polymorph A und das metastabile Polymorph B.

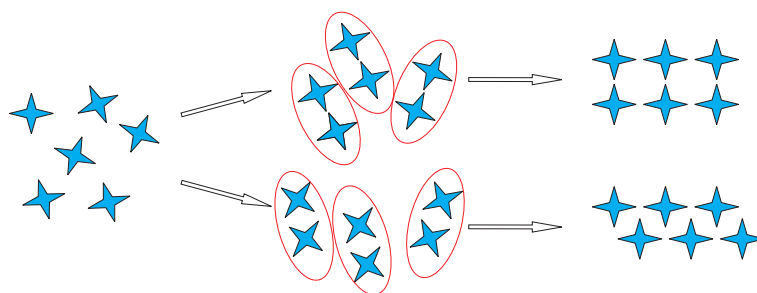


Abbildung 1.2: Schematische Darstellung des Übergangs von der flüssigen Phase in zwei mögliche Packungsmuster.

Oberflächen sollte es also möglich sein gezielt das erwünschte Polymorph auskristallisieren zu können.

Kristallisation kann aber auch aus einem ganz anderen Winkel betrachtet werden. G.R. Desiraju und Jack D. Dunitz, deren Wurzeln eher in der Kristallographie liegen, bezeichnen Kristalle im Allgemeinen als „Supermoleküle“ bzw. auch als „supramolekulare Einheit“ [8]. Nach der Definition von Lehn [14] verhält sich ein Supermolekül zu einem Molekül wie intermolekulare Wechselwirkungen zu kovalenten Bindungen. Die Kristallisation kann somit mit einer organischen Synthese verglichen werden, wobei im Falle der Kristallisation nun die intermolekularen Wechselwirkungen verstanden und kontrolliert werden müssen. Diese Betrachtungsweise ist Grundlage für das sogenannte „Crystal Engineering“ bei welchem versucht wird, Kristalle mit bestimmten Eigenschaften gezielt herzustellen. Auch wenn die Realität davon noch weit entfernt ist, kann die Gruppe um G.R. Desiraju doch einige hochwertige Publikationen auf dem Gebiet der Polymorphie vorweisen [15–17].

Ein weiterer Ansatz beruht auf dem Verständnis von Kristallisation und Keimbildung. So hat die Gruppe um Roger J. Davey sich intensiv mit der flüssigen Phase kurz vor der Kristallisation beschäftigt. Mit Hilfe von spektroskopischen Methoden wie IR und NMR gelang es ihnen, einen Zusammenhang zwischen den in Lösung enthaltenen Clustern und dem entstehenden Polymorph zu finden (siehe Abb. 1.2) [18,19]. Analog dazu wurde durch neue Ansätze im Bereich der Diffraktion versucht auch mit *in-situ* Untersuchungen die Struktur der ersten für die Diffraktion sichtbaren Keime aufzulösen [20,21].

1.2 Computersimulationen im Bereich Kristallisation

Prinzipiell können Computersimulationen in der Chemie/Physik in zwei Bereiche unterteilt werden. Diese Unterteilung beruht auf den zugrundeliegenden Methoden zur Berechnung der Energie. Um möglichst exakte Ergebnisse zu erzielen sollte auf die quantenmechanischen Simulationen zurückgegriffen werden. Für große Systeme (mehrere hundert Atome) werden diese Methoden allerdings sehr schnell sehr kostspielig, und aus diesem Grund

gibt es die Möglichkeit die Kraftfeldmethoden anzuwenden, welche auf der klassischen Mechanik beruhen. In der molekularen Mechanik können allerdings keine elektronischen Übergänge betrachtet werden. Ausschlaggebend für die Auswahl ist also einerseits die gewünschte Zielsetzung und andererseits die Realisierbarkeit aufgrund der zu simulierenden Systemgröße.

1.2.1 Kraftfeldmethoden

Aufgrund der Komplexität von Keimbildungsprozessen aus Lösung, bzw. auch Polymorphie-Screening Untersuchungen *in-silico* wird meist auf die Kraftfeldmethoden zurückgegriffen. Bei der Berechnung der potentiellen Energie betrachtet man hierbei die bindenden und nicht bindenden Anteile seperat:

$$E_{FF} = E_{bindend} + E_{nicht\ bindend} \quad (1.1)$$

$$E_{bindend} = E_{Dehnung} + E_{Biegung} + E_{Torsion} \quad (1.2)$$

$$E_{nicht\ bindend} = E_{Coulomb} + E_{vdW} \quad (1.3)$$

Für Gleichung 1.2 wird im Folgenden noch beispielhaft die Ähnlichkeit zur klassischen Mechanik aufgezeigt. So ist der Dehnungsanteil an der bindenden Energie vergleichbar zur Berechnung der Federkraft. Eine Auslenkung aus der Gleichgewichtslage b_0 benötigt eine gewisse Kraft K_b , welche der Federkraft entgegenwirkt.

$$E_{Dehnung} = \sum_{Paare} K_b(b - b_0) \quad (1.4)$$

Analog hierzu werden auch die weiteren bindenden Anteile berechnet. Der nicht bindende Anteil kann nach Gleichung 1.3 in elektrostatische und van-der-Waals Wechselwirkungen geteilt werden. Letztere können durch verschiedene Potentiale (Morse, Lennard-Jones) sehr gut angenähert werden. So wird in vielen Fällen das Lennard-Jones Potential 12-6 verwendet (siehe Gleichung 1.5):

$$E_{LJ} = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (1.5)$$

Zur Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung ist lediglich das Wissen über die Lage von Ladungen im Raum nötig. Alle Parameter, die notwendig sind um diese Gleichungen zu lösen, stehen im sogenannten Kraftfeld. Um möglichst genaue Ergebnisse zu erzielen gibt es für verschiedene Systeme unterschiedlich parametrisierte Kraftfelder. Das DREIDING2.21 Kraftfeld [22] wurde beispielsweise für kleine organische Moleküle an experimentellen Werten optimiert.

1.2.2 Kristallstrukturvorhersage

Im Bereich der Kristallisation finden Kraftfeldmethoden in verschiedenen Gebieten ihre Anwendung. MD-Simulationen bieten die Möglichkeit Keimbildung und Kristallwachstum näher zu untersuchen. Dirk Zahn et al. haben auf diesem Gebiet eine Reihe von Veröffentlichungen, die sich mit der Keimbildung aus der Schmelze und sogar aus Lösung beschäftigen [23–25]. Andere Gruppen haben sich auf die Vorhersage von Kristallstrukturen spezialisiert [26]. Bei der Kristallstrukturvorhersage werden mit einem „Simulated Annealing“ Monte Carlo Algorithmus viele tausende von möglichen Packungsmustern erzeugt, welche durch anschließende Energieminimierung mit geeigneten Kraftfeldern auf einige wenige Packungsmuster mit niedriger Energie heruntergebrochen werden (siehe Abb. 1.3). Mit dieser Methode sollte es möglich sein, alle bereits bekannten Kristallstrukturen einer Substanz zu finden und auch weitere interessante Packungsmuster mit niedriger Energie zu identifizieren. Regelmäßige „blind tests“ zeigen, dass auf diesem Gebiet in den letzten acht Jahren große Fortschritte erzielt wurden [27–29]. Die Erfahrung aus den letzten veröffentlichten Tests zeigt auch, dass eine Vorhersage für kleine, starre Moleküle mit der derzeitigen Software kein Problem mehr darstellt. Bei der Vorhersage größerer, flexibler Moleküle gibt es allerdings noch große Unterschiede. Gerade dies wäre aber im Hinblick auf pharmazeutische Wirkstoffe nötig. Im letzten, bislang noch nicht veröffentlichten Test, ist es allerdings der Gruppe um Neumann et al. gelungen, alle vier, u.a. auch flexible Moleküle, richtig vorherzusagen [30]. Alle Gruppen auf diesem Gebiet nutzen zunächst Monte Carlo Methoden um die Packungsmuster zu erzeugen. Erst bei der Energieminimierung werden die Unterschiede in den Herangehensweisen deutlich. Während einige Gruppen mit quantenmechanisch berechneten Monopolladungen rechnen, verwenden andere Gruppen Multipolladungsmodelle, um eine genauere elektrostatische Wechselwirkung zu erlangen. Mit beiden Ansätzen gelingt es, für bestimmte Systeme die bekannten Polymorphe vorherzusagen. So konnten Price et al. in den letzten Jahren immer wieder erfolgreich die Vorhersage von Polymorphen unter Verwendung des Multipolladungsmodells zeigen [31–34]. Aber auch mit Monopolladungsmodellen konnte in den letzten Jahren gezeigt werden, dass erfolgreiche Vorhersagen möglich sind [35, 36].

Day et al. nutzten eine Mischung aus beiden Ansätzen, so führten sie zunächst eine Vor-

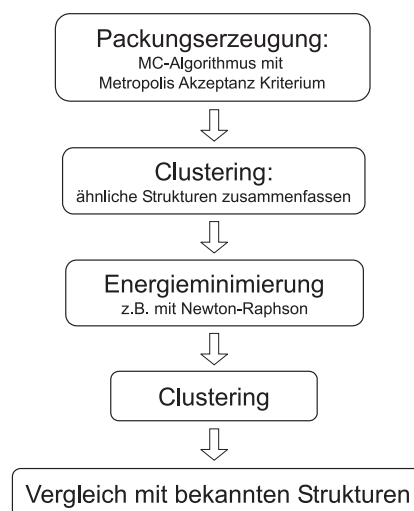


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung des Ablaufs einer Kristallstrukturvorhersage.

hersage und Energieminimierung unter Verwendung von Monopolladung durch, um anschließend einen Bereich energetisch günstiger Moleküle mit Multipolladungen noch näher zu verfeinern [37–39]. Die letztthin scheinbar so erfolgreiche Methode von Neumann et al. beruht auf der Maßschneiderung des verwendeten Kraftfeldes. Mit quantenmechanischen Methoden passt Neumann et al. sein Kraftfeld in einer Art Kreislauf dem zu untersuchenden System an [30, 40]. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Entwicklung im Bereich der Computersimulation sehr positiv verläuft und in den nächsten Jahren, mit wachsender Rechenleistung, sicher noch mit besseren Ergebnissen, gerade für große pharmazeutisch interessante Moleküle, zu rechnen ist.

Kapitel 2

Synopsis

2.1 Motivation

Ziel dieser Arbeit war es, durch den Aufbau eines konzertierten Ansatzes (siehe Abb. 2.1) Fragestellungen zur Polymorphie besser verstehen zu lernen. Durch Kombination modernster experimenteller Techniken mit der Verwendung von Computersimulationen sollte die Kristallisation, bzw. Polymorphie zweier Stoffsysteme genauer untersucht und verstanden werden. Zum Einen wurde das Modellsystem Benzamid ausgewählt, welches sich durch seine Einfachheit, seine schon bekannte Polymorphie und seine guten Lösungseigenschaften zur Validierung verschiedener Methoden gut eignet. In Kooperation mit Heumann PCS, jetzt Excella-Pharma-Source, wurde parallel an einem industriell relevanten Wirkstoff geforscht. Insbesondere die Kristallisation metastabiler Polymorphe sollte bei beiden Systemen genauer untersucht werden. Bei Kristallisationen aus Lösung ist dabei die Ost-

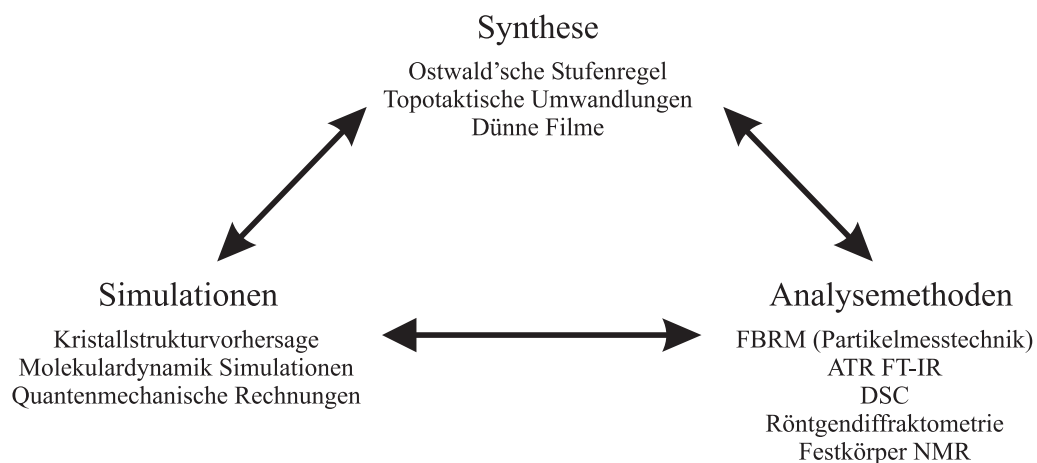


Abbildung 2.1: Schema des konzertierten Ansatzes zur genauen Untersuchung der Polymorphie ausgewählter Systeme.

wald'sche Stufenregel zu beachten (siehe Abb. 2.2). Nach Ostwald besitzen metastabile Polymorphe eine niedrigere Keimbildungsbarriere und einen größeren kritischen Keim. Bei der gezielten Kristallisation metastabiler Polymorphe sollte aus diesem Grund darauf geachtet werden, möglichst hohe Übersättigungen zu erzielen. Je niedriger dabei die Kristallisationstemperatur liegt, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, eine sekundäre Keimbildung der thermodynamisch stabileren Phase zu unterbinden. Zur Kontrolle dieser Experimente stand ein automatisches Laborreaktorsystem der Firma Mettler Toledo zur Verfügung. Dieser Reaktor war einerseits mit einer FBRM-Sonde (Lasentech) andererseits mit einer ATR FT-IR Sonde (ReactIR, Mettler Toledo) ausgestattet und verfügte über eine sehr genaue Temperatursteuerung. Mittels der FBRM-Sonde war es möglich, den Zeitpunkt der Keimbildung sehr zeitnah online festzustellen. Zugleich konnte die Messgröße als Regelparameter im Laborreaktorsystem verwendet werden, welches nach der Detektion kleiner Partikel einen sofortigen Abbruch des Kristallisationsexperimentes einleitete. Die ATR FT-IR Sonde gab unterdessen Aufschluss über die Konzentrationen und somit über die vorliegenden Übersättigungen. Durch diese neuen Technologien sollte es somit möglich sein, zu jedem Zeitpunkt des Kristallisationsprozesses alle wichtigen Parameter, wie Partikelanzahl, Konzentration, Reaktortemperatur aufzuzeichnen. Mittels all dieser Daten und der Computersteuerung der einzelnen Komponenten des Laborreaktorsystems ist es außerdem möglich, alle Experimente unter gleichen Bedingungen beliebig oft zu wiederholen.

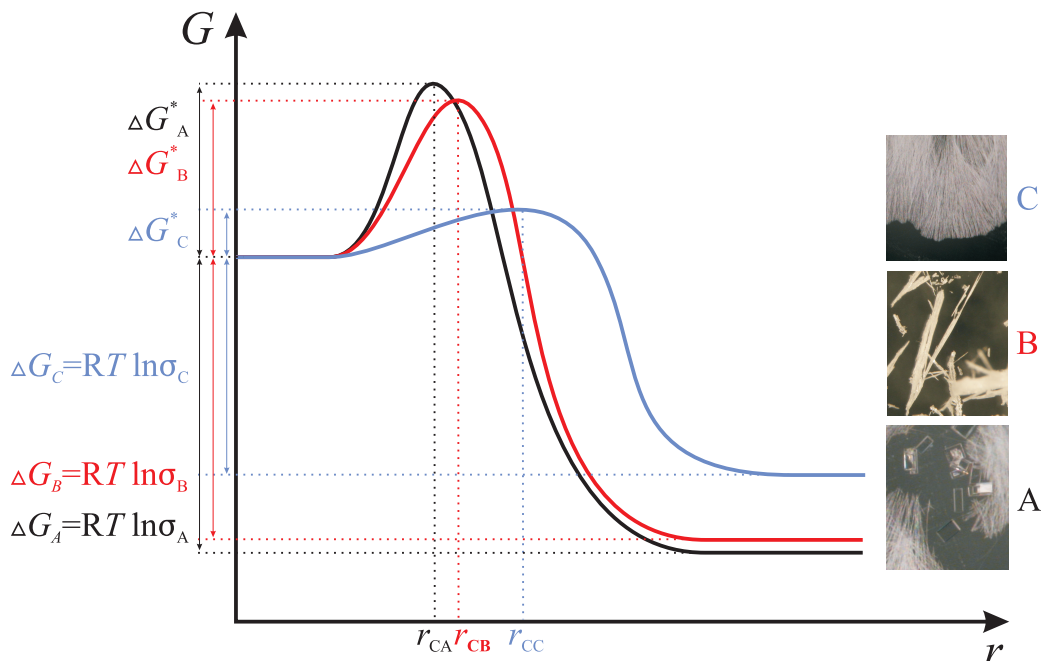


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der Energie gegen die Clustergröße für die drei bekannten Phasen des Benzamid (a) Phase I, (b) Phase III, (c) Phase II.

Auch die exakte Steuerung der Temperatur ist ein entscheidender Vorteil für die Kristallisationsexperimente. Die maximal erreichbaren Kühlraten hängen dabei zum Einen von der Leistung des externen Kryostaten ab, welcher das innere Kühlsystem des Laborreaktors kühlt, zum Anderen von dem verwendeten Reaktormaterial. Für Glasreaktoren ist eine maximale Abweichung von 2 bis 3 K zwischen Mantel- und Reaktortemperatur zulässig. Dieses System ist somit geeignet Kristallisationen mit kleinen bis mittleren Abkühlraten zu fahren.

Für die finale Auswertung und für ein besseres Verständnis der verschiedenen Kräfte, welche in einem Kristall vorliegen, wurden computerchemische Methoden verwendet. Hierfür wurde das kommerziell erhältliche Programmpaket MS Modeling 4.0 und dessen Vorgängerversion Cerius² 4.9 verwendet. Für einige zusätzliche quantenmechanische Rechnungen wurde am Leibniz-Rechenzentrum in Garching mit dem Programm Gaussian03 [41] gearbeitet.

Zusammen mit den zur Verfügung stehenden Analysemethoden (u.A. PXRD, SXRD, IR, RAMAN) war es so möglich alle Bereiche des konzertierten Ansatzes abzudecken. Die Kombination all dieser Methoden an einem Ort und in einem Arbeitskreis ist auf dem Arbeitsgebiet der Kristallisation ungewöhnlich, zumindest in der wissenschaftlichen Landschaft Europas.

2.2 Modellsystem Benzamid

Für eingehende Untersuchungen wurde das Modellsystem Benzamid ausgewählt. Durch die Einfachheit des Moleküls (siehe Abb. 2.3), mit nur einem Torsionsfreiheitsgrad, war es außerdem ein für Computersimulationen sehr gut geeignetes Stoffsystem. Die Polymorphie von Benzamid ist seit nunmehr 176 Jahren bekannt, denn bereits im Jahre 1832 konnten die deutschen Großväter der modernen anorganischen und organischen Chemie, Friedrich Wöhler und Justus von Liebig, ein zweites Polymorph von Benzamid beobachten [42]. Beim langsamen Abkühlen einer heißen wässrigen Benzamidlösung bildete sich nach einiger Zeit eine seidenartige Masse aus weißen Nadeln (siehe Abb. 2.4). Diese Nadeln wandelten sich im Laufe von Stunden, bzw. Tagen in Plättchen um. Dies war die erste Erwähnung von Polymorphie eines organischen Molekülkristalls. Erst im Jahr 2005 wurde von Blagden et al. die

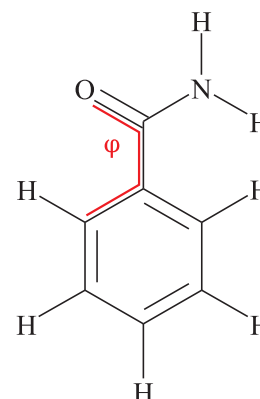


Abbildung 2.3:
Benzamid mit
hervorgehobenem
Torsionswinkel φ .

Aufklärung einer zweiten nadelförmigen Phase veröffentlicht, wobei deren experimentelle Bedingungen deutlich von den original verwendeten Bedingungen abwichen [43, 44]. So kristallisierten sie ihre Phase direkt auf dem Goniometerkopf eines Diffraktometers in einer Kapillare aus, indem sie diese zunächst auf 2 °C abkühlten und anschließend mit einem in flüssigen Stickstoff getauchten Wattebausch schlagartig weiter abkühlten, um so hohe Übersättigungen zu erzielen. Aus diesem Pulverdiffraktogramm konnte die Struktur der Phase II gelöst werden, welche nur in einem Verhältnis von 17:83 in einem Gemisch mit der thermodynamisch stabilen Phase I vorlag. Unter Verwendung

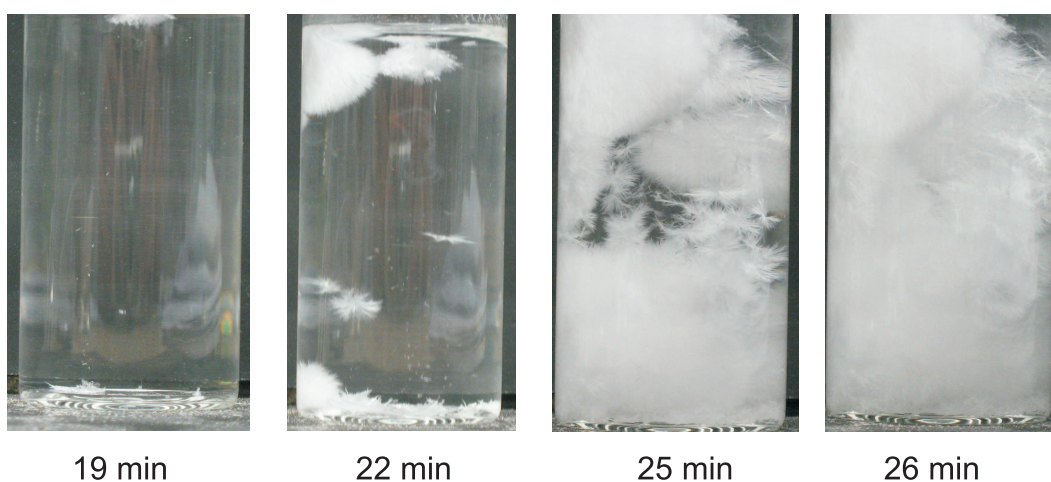


Abbildung 2.4: Zeitliche Abfolge der Kristallisation aus einer heißen, wässrigen Benzamidlösung.

mittlerer Abkühlraten von $2\text{-}3\text{ K min}^{-1}$, welche vergleichbar sind zu jenen von Wöhler und Liebig, gelang es im Rahmen dieser Dissertation eine dritte, ebenfalls nadelförmige Phase in einem 1:1 Verhältnis mit der thermodynamisch stabilen Phase I aus einer heißen wässrigen Lösung zu kristallisieren. Diese Phase III konnte durch die verwendete Analytik und anhand der Durchführung der Experimente zweifelsfrei dem von Wöhler und Liebig beschriebenen Polymorph zugeordnet werden. Die Strukturlösung dieser Phase erfolgte unter Verwendung des Reflex Moduls im Programmpaket MS Modeling 4.0 [45] und dem Programm Topas [46]. Mit Letzterem wurde auch die abschließende Rietveldverfeinerung beider Phasen im 1:1 Gemisch durchgeführt, wobei die Benzamidmoleküle als starre Körper mit Ausnahme der Torsion φ behandelt wurden.

Ein Blick auf die erwähnten verschiedenen Kristallisationsbedingungen zeigt, dass die Verwendung von hohen Übersättigungen zur Kristallisation der metastabilsten Phase II führte, während mit mittleren Abkühlraten, analog zur Ostwald'schen Stufenregel, die nächste thermodynamisch stabilere Phase III auskristallisiert werden konnte. Aufgrund der hohen Umwandlungsrate in wässrigen Lösungen war es jedoch nicht möglich, Phase II nach der Kristallisation zu isolieren und weiter zu untersuchen. Aus diesem Grund wurde ein neuer Kristallisationsansatz entwickelt, welcher es erlaubt, bei hohen Übersättigungen auszukristallisieren und anschließend das Lösungsmittel rasch zu entfernen, um eine Lösungsmittel getriebene Phasenumwandlung zu unterdrücken. Eine heiße Lösung von Benzamid in Benzol wurde dabei auf eine heiße Oberfläche getropft und durch das rasche Verdampfen des Lösungsmittels auskristallisiert. Das so entstandene Produkt konnte anschließend in der Glovebox unter Argon in eine Parr XRK-Kammer eingeschleust und verschlossen werden. Auf diese Weise war es möglich Stabilitätstest auch an dieser angeblich hoch instabilen Phase durchzuführen (vergleiche Blagden et al. [44]). Im Rahmen dieser Arbeit konnte so gezeigt werden, dass Phase II deutlich stabiler ist, als bisher von Blagden et al. vermutet wurde. Jene sahen eine Umwandlung in die thermodynamisch stabile Phase innerhalb kurzer Zeit. Nach unserer Durchführung konnte zwar ebenfalls eine langsame Umwandlung beobachtet werden, aber auch nach über zwei Wochen konnten im Röntgenpulverdiffraktogramm immernoch Reflexpositionen für Phase II nachgewiesen werden (siehe Abb. 2.5). Eine schnelle Umwandlung, wie von Blagden et al. publiziert, kann somit ausgeschlossen werden. Im Rahmen dieser Versuchsreihen konnte allerdings auch beobachtet werden, dass sich Phase II tribologisch leicht in die thermodynamisch stabile Phase I umwandeln lässt. Diese Tatsache ließ eine genauere Untersuchung des Umwandlungsmechanismus nicht zu, da es nicht möglich war, die kristallisierte Phase II in eine Kapillare zu überführen, ohne dass es zu einer tribologischen Umwandlung kam. Aus den bisher gewonnenen Ergebnissen lässt sich allerdings vermuten, dass es sich tatsächlich um eine Fest-Fest-Phasen Umwandlung handeln könnte. Bei Untersuchungen

unter Normalbedingungen hingegen wird durch die Kondensation von Luftfeuchtigkeit auf dem Kristall ein dünner Wasserfilm erzeugt, welcher zusätzlich eine Lösungsmittel getriebene Umwandlung in die thermodynamisch stabile Phase I bewirkt. Nur unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit kann dieser Umwandlungsmechanismus vollständig ausgeschlossen werden.

Interessant ist auch, dass sich die Gitterparameter der thermodynamisch stabilen Phase I und der so genannten Wöhler Phase III sehr ähnlich sind (siehe Tabelle 2.1). Die Ähnlichkeit der Gitterparameter mag neben der ähnlichen Morphologie von Phase II und

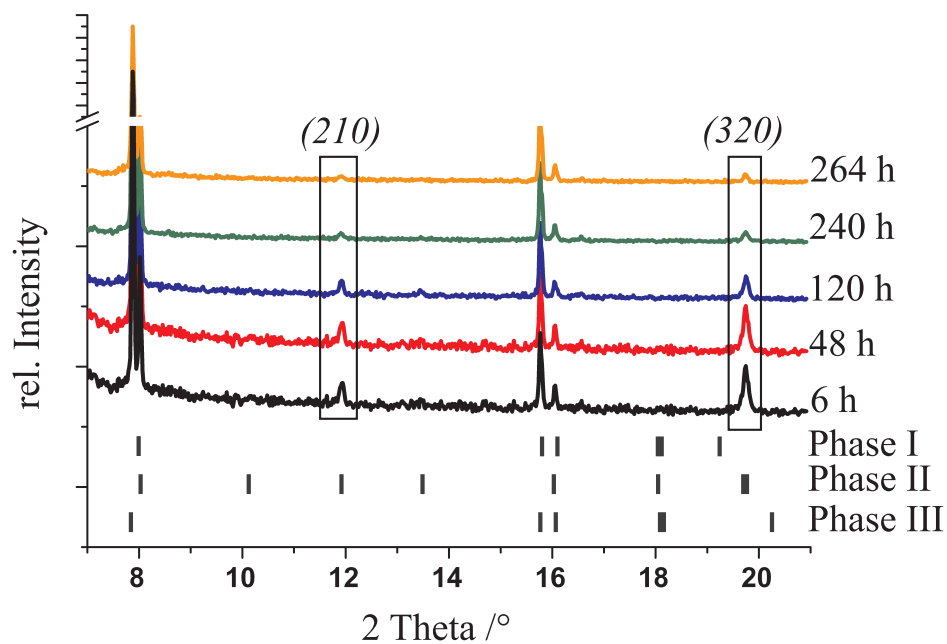


Abbildung 2.5: Zeitabhängige Röntgenpulverdiffraktogramme mit den für Phase II signifikanten Reflexen.

Tabelle 2.1: Gitterparameter der Phasen I, II und III

Parameter	Phase I	Phase II	Phase III
a [Å]	5.6094(1)	17.4317(2)	5.0551(1)
b [Å]	5.0399(1)	14.1944(3)	5.5141(1)
c [Å]	22.1171(8)	4.977(1)	22.9565(9)
β [°]	90.641(2)	–	101.292(2)
Volumen	625.23(3)	1231.4(3)	627.50(3)
Raumgruppe	$P2_1/c$	$Pba2$	$P2_1/c$

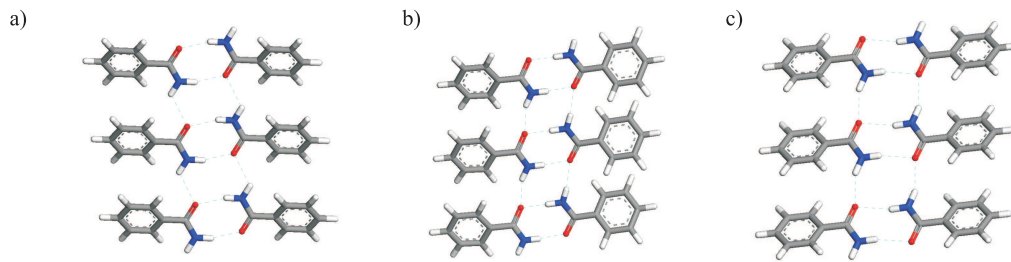


Abbildung 2.6: Darstellung des Wasserstoffbrückenbindungsnetzwerks von (a) Phase I, (b) Phase II, (c) Phase III.

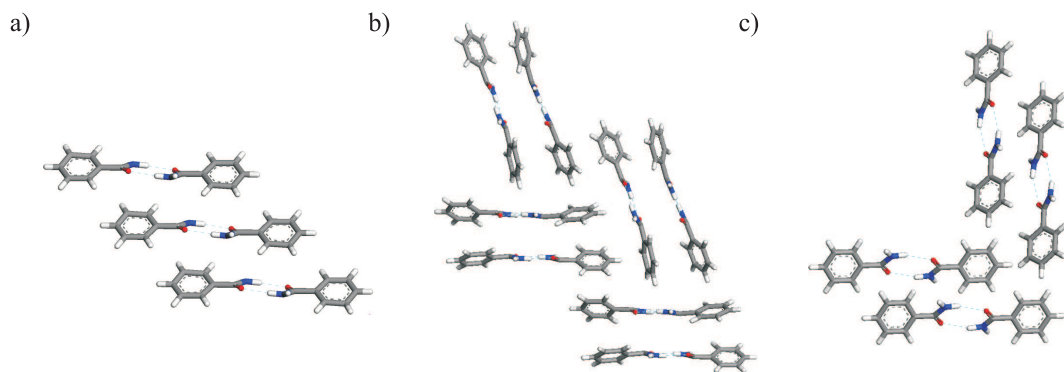


Abbildung 2.7: Darstellung des π - π Packungsmusters entlang der kurzen Achse in der Einheitszelle von (a) Phase I, (b) Phase II, (c) Phase III.

Phase III ein weiterer Grund für die lange Geschichte bis zur Strukturlösung der Wöhler Phase sein. Mit Hilfe modernster online Sensoren gelang es erstmals durch sofortigen Entzug des Lösungsmittels kurz nach der Keimbildung, den Anteil von Phase III soweit anzuheben, dass hochauflösende Röntgendetektoren in der Lage waren, die, aufgrund der ähnlichen Gitterparameter starken Überlappungen in den Reflexpositionen aufzuspalten. Die anschließende Analyse der Packungsmuster zeigte noch weitere Überraschungen, da das Wasserstoffbrückenbindungsnetzwerk in allen drei Phasen nahezu identisch ist. Es finden sich Dimere, welche über weitere Wasserstoffbrücken zu langen Bändern entlang der kurzen Achse der Einheitszellen verknüpft sind (siehe Abb. 2.6). Beim Blick auf die π - π -Wechselwirkungen zeigen sich jedoch deutliche Unterschiede (siehe Abb. 2.7). In einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung wurden über quantenmechanische Rechnungen für Benzolkristalle zwei energetisch günstige Packungsmuster identifiziert: Motif 1 ist mit einer Mauerwerksstruktur vergleichbar wobei die Benzolmoleküle leicht verschoben übereinander liegen, während Motif 2 ein Fischgrätmuster ausbildet indem ein Benzolmolekül senkrecht auf dem anderen steht [47]. Diese Packungsmuster können auch bei Benzamid gefunden werden. So besteht Phase I aus verschobenen Stapeln, während in Phase III ein Fischgrätmuster realisiert wurde. In Phase II jedoch liegen Paare von Dimerbändern vor und bilden insgesamt ebenfalls eine Art Fischgrätmuster aus.

Details und weitere Diskussion:

- Thun, J.; Seyfarth, L.; Senker, J.; Dinnebier, R.E.; Breu, J. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2007**, *46*, 6729-6731.
- Thun, J.; Butterhof, C.; Seyfarth, L.; Senker, J.; Dinnebier, R.E.; Breu, J. *Cryst.Growth&Des.*, **2008**, Eingereicht.

2.3 Kristallstrukturvorhersage von Benzamid

Die relativ kleinen Unterschiede in den Packungsmustern machen Benzamid zu einem sehr guten Testmodell für Kristallstrukturvorhersagen. Besonders interessant ist hierbei die Tatsache, dass die Unterschiede fast ausschließlich auf elektrostatische Wechselwirkungen zurückzuführen sind. Interessanter Weise gibt es gerade bei der Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungen die größten Unterschiede zwischen den verschiedenen auf diesem Gebiet arbeitenden Arbeitsgruppen, wie der letzte „blind test“ zeigte. Besonders die Gruppe Price et al. [29] setzt dabei auf die deutlich kostenintensivere Methode unter Verwendung von Multipolmomenten. Das Hauptproblem bei allen Ansätzen, welche auf quantenmechanisch berechneten Ladungsmodellen beruhen, ist, dass die Berechnung der Ladungen stark von der Geometrie des untersuchten Moleküls abhängt. So müsste nach jedem Geometrieoptimierungsschritt eine neue quantenmechanische Berechnung zur Ladungsbestimmung erfolgen. Dieser enorme Rechenaufwand wird jedoch meistens unterlassen. Stattdessen versucht man die Kristallstrukturvorhersage mit verschiedensten Startgeometrien durchzuführen, so dass eventuell nur kleine Abweichungen in der Geometrie auftreten. Aus diesen Gründen wurde für diese Arbeit mit Monopolladungen gearbeitet. Die letzten „blind tests“ zeigten, dass auch mit diesem, scheinbar einfachen aber deutlich kostengünstigeren Ladungsmodell sehr gute Ergebnisse erzielt werden können [29]. Die Punktladungen wurden über Dichtefunktionalmethoden mittels der Programme DMol³ [48, 49] und Gaussian03 [41] an das MEP gefittet (siehe Abb. 2.3). Die Validierung des Kraftfeldes DREIDING2.21 [22], welches einen expliziten Wasserstoffbrückenbindungsterm enthält, ergab sehr geringe Abweichungen, welche auch durch Karamertzanis et al. unter Verwendung eines Multipolladungsmodells nicht besser erreicht wurden [50]. Die anschließende Kristallstrukturvorhersage lieferte interessanter Weise für die zwei verwendeten Programme unterschiedliche Ergebnisse. Dies ist insoweit erstaunlich, da MS Modeling laut Herstellerangabe nur die Windows Version des unter IRIX laufenden Programmpaketes Cerius² sein sollte. Alle Rechnungen wurden mit gleichen Einstellungen in Bezug auf Genauigkeiten und Anzahl der zu rechnenden Schritte durchgeführt. Ein Blick auf die entstandenen Energie-Dichte Diagramme zeigt

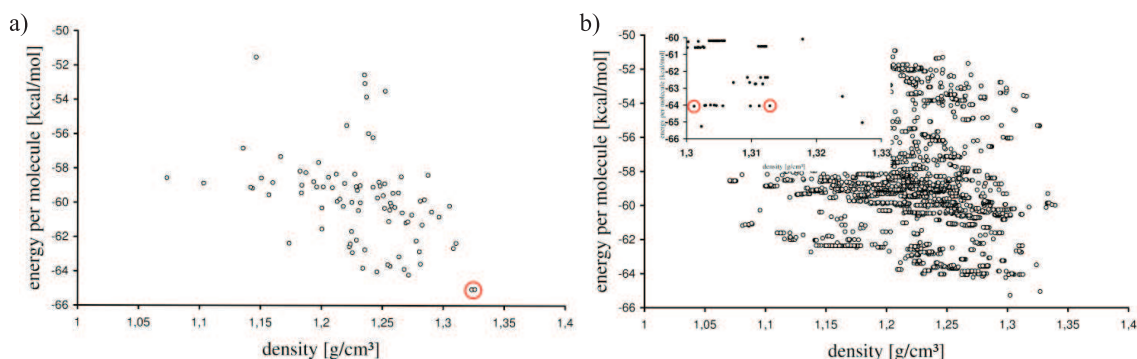


Abbildung 2.8: Energie-Dichte Auftragung der Kristallstrukturvorhersagen in der Raumgruppe $P2_1/c$ in (a) Cerius² und (b) MS Modeling. Die Kreise markieren die experimentell bekannten Phase I und III.

aber deutlich die großen Unterschiede im Ergebnis (siehe Abb. 2.8). Zwar konnten mit beiden Programmen die thermodynamisch stabile Phase I und die metastabile Phase III richtig vorhergesagt werden (siehe Tabellen 2.2 und 2.3), jedoch gab es einen großen Energieunterschied zwischen den Strukturen beider Programme von etwa 1 kcal/mol. Da in beiden Programmen Kraftfeld, Ladungsmodell sowie alle weiteren Parameter identisch waren, sind diese Unterschiede nicht hinnehmbar. Die veröffentlichten Daten deuten auf einen unterschiedlichen Abgleich zwischen intra- und intermolekularen Wechselwirkungen in beiden Programmpaketen hin. Aufgrund der Unzugänglichkeit der Quellcodes war eine endgültige Bestätigung jedoch leider nicht möglich.

Zusätzlich zu den experimentell bekannten Strukturen konnten mit MS Modeling noch weitere Packungsmuster in der Raumgruppe $P2_1/c$ identifiziert werden, welche energetisch noch etwas günstiger waren. Dies lässt vermuten, dass der in MS Modeling implementierte Optimierungsalgorithmus eine deutlich feinere Abrasterung der Energiehyperfläche zulässt. Das vorhergesagte Packungsmotif ist vergleichbar einem Katamersynthon, welches bei manchen kurzkettigen Carbonsäuren bereits bekannt ist (siehe Abb. 2.9). Experimentell konnte dieser Strukturvorschlag bislang jedoch noch nicht

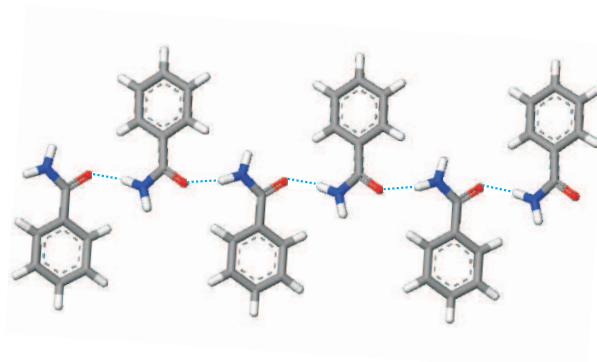
Tabelle 2.2: Vergleich der experimentellen und vorhergesagten Gitterparameter für Phase I.

Parameter	Exp.	Cerius ²	Δ [%]	MS Model.	Δ [%]
a [Å]	5.607	5.318	-5.2	5.322	-5.1
b [Å]	5.046	4.905	-2.8	4.905	-2.8
c [Å]	22.053	23.315	5.7	23.316	5.7
β [°]	90.66	91.71	1.2	91.66	1.1
Dichte [g/cm ³]	1.287	1.323	2.8	1.301	1.1
φ [°]	33.20	30.54	-8.0	30.72	-7.5
Energie [kcal/mol]		-65.132		-64.065	

Tabelle 2.3: Vergleich der experimentellen und vorhergesagten Gitterparameter für Phase III.

Parameter	Exp.	Cerius ²	Δ [%]	MS Model.	Δ [%]
a [Å]	5.055	4.902	-3.0	4.904	-3.0
b [Å]	5.514	5.232	-5.1	5.232	-5.1
c [Å]	22.957	23.778	3.6	23.776	3.6
β [°]	101.29	95.75	-5.5	95.83	-5.4
Dichte [g/cm^3]	1.282	1.326	3.4	1.326	3.4
φ [°]	28.84	30.18	4.6	30.17	4.6
Energie [kcal/mol]		-65.055		-64.052	

bestätigt werden. Dies lässt vermuten, dass das Kapitel über Polymorphie von Benzamid noch nicht zu Ende geschrieben ist.

**Abbildung 2.9:** Vorhergesagtes Packungsmotif mit niedrigster Energie in der Raumgruppe $P2_1/c$.

Die Vorhersage von Phase II hingegen gestaltete sich in beiden Programmen als unmöglich. Es ist nicht gelungen, das experimentell bekannte Packungsmuster richtig vorherzusagen. Auch bei einer einfachen Geometrieoptimierung der experimentell bekannten Struktur von Phase II kam es zu großen Abweichungen, da dieser experimentelle Strukturvorschlag einen Sattelpunkt auf der Energiehyperfläche des verwendeten Kraftfeldes darstellt. Durch eine schrittweise Relaxation der Gitterparameter nach einem künstlichen „Aufblähen“ der bekannten Einheitszelle, gelang es unter Beibehaltung des Packungsmotifs in der Verfeinerung sinnvollere intramolekulare Abstände zu realisieren (siehe Abb. 2.10). Selbst für ein so kleines Molekül wie Benzamid, mit nur einem Torsionsfreiheitsgrad ist eine Vorhersage aller bisher bekannten Polymorphe mit den verwendeten Programmen nicht möglich. Nichtsdestotrotz kann mit den aktuell zur Verfügung stehenden Methoden der Computerchemie ein gutes Verständnis über mögliche, energetisch sinnvolle Packungsmuster und damit ein detaillierter Einblick in den Kristall ermöglicht werden.

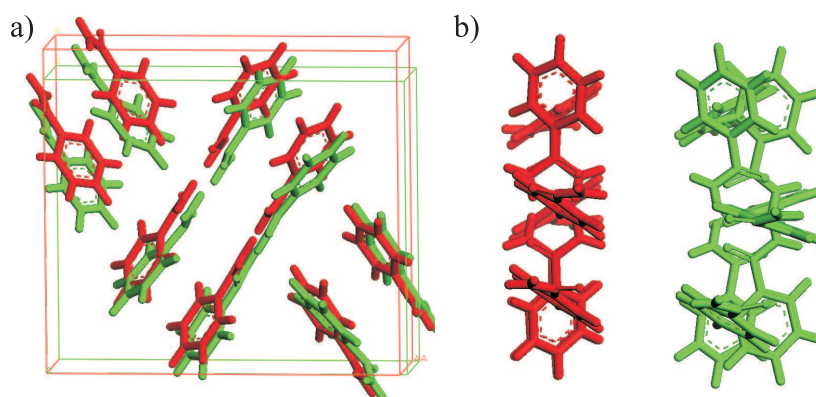


Abbildung 2.10: Vergleich der experimentellen (grün) mit der optimierten (rot) Struktur von Phase II. (a) Blick auf die Einheitszelle und (b) Blick entlang der Diagonalen.

Details und weitere Diskussion:

- Thun, J.; Schöffel, M.; Breu, J. *Mol.Sim.*, 2008, 34, 1359-1370.

2.4 Kristallisation eines pharmazeutischen Wirkstoffes

Parallel zum Modellsystem Benzamid wurde an einem aktiven pharmazeutischen Wirkstoff (API) gearbeitet. Ziel dieser Untersuchungen war es, ein neues, bislang unbekanntes Polymorph des Natrium-Montelukast zu finden. Montelukast (siehe Abb. 2.11) wird als Leukotriene Inhibitor eingesetzt und hilft asthmatische Beschwerden zu lindern. In der Literatur finden sich zu dem genannten Wirkstoff zahllose Patentschriften, welche über

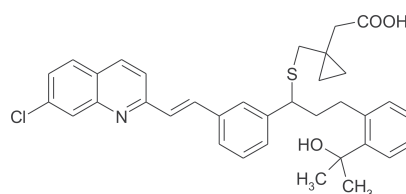


Abbildung 2.11: Freie Säure von Montelukast.

verschiedenste Polymorphe, bzw. Solvate berichten. Leider war es nicht möglich, auch nur eine Vorschrift mit dem gewünschten Ergebnis nachzustellen. Weder mir, noch den Mitarbeitern bei Heumann PCS ist es gelungen, eine kristalline Phase von Natrium-Montelukast herzustellen. Aufgrund der Systemgröße und der vielen vorhandenen Torsionsfreiheitsgrade war des Weiteren eine Kristallstrukturvorhersage nur wenig aussichtsreich (siehe Abb. 2.11). Das experimentell durchgeführte Polymorph-Screening deckte nahezu alle in der Einleitung erwähnten Techniken ab. Weder topotaktische Festphasenumwandlungen ausgehend von der kristallin vorliegenden freien Säure, noch Templat gesteuerte Kristallisationsmethoden führten zum gewünschten Ziel. Auch das schon beschriebene Cokristall-Screening wurde hierbei verwendet. Die Verwendung von Oxalsäure als zweites Molekül führte bei langsamer Verdunstung des Lösungsmittels zur Bildung schöner Einkristalle. Eine Röntgeneinkristallstrukturanalyse zeigte jedoch, dass

es sich um einen Kristall der freien Säure handelte. Trotz der Tatsache, dass es sich bei Montelukast um einen weitverbreiteten und viel untersuchten Wirkstoff handelt, war bislang noch keine Kristallstruktur dieser Verbindung bekannt. Montelukast kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1$ mit zwei unabhängigen Molekülen in der Einheitszelle welche über jeweils eine Wasserstoffbrücke miteinander zu langen Bändern verknüpft sind. Mit dem Wissen über die Kristallstruktur wenigstens einer Montelukastverbindung war es möglich, eingehendere Untersuchungen des Packungsmusters und der im Kristall vorhandenen Wechselwirkungen unter Verwendung computerchemischer Methoden in MS Modeling durchzuführen. Eine Analyse des molekularen elektrostatischen Potentials ergab einen enormen Gradienten in der Elektronendichte innerhalb eines Moleküls. Kraftfeldrechnungen mit den zuvor an das MEP gefitteten Punktladungen zeigten einen sehr hohen Anteil der Multipol-Multipol-Wechselwirkungen zur Gesamtenergie (ca. $-60 \text{ kcal mol}^{-1}$ pro 100 \AA^3). Der Wasserstoffbrückenanteil beträgt etwa $2.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ pro Wasserstoffbrücke. Trotz dieses niedrigen Anteils zur Gesamtenergie scheinen experimentelle Befunde die Notwendigkeit einer Wasserstoffbrücke als strukturdirigierendes Agens zu fordern. Vernachlässigt man die in den Patenten beschriebenen, aber leider nicht experimentell zu bestätigenden Polymorphe, so lässt sich neben der kristallinen freien Säure nur noch eine mikrokristalline Ammonium-Verbindung finden, deren Struktur bis dato noch nicht gelöst werden konnte. Beiden Verbindungen gemein ist jedoch die Möglichkeit Wasserstoffbrückenbindungen aufzubauen. Daraus lassen sich eventuell Rückschlüsse auf die experimentellen Probleme bei der Kristallisation der Natrium-Salz Verbindung herstellen. Dies erklärt auch, wieso sich bei dem aktuell auf dem Markt befindlichen Medikament keine Spuren eines kristallinen Wirkstoffes feststellen ließen. Dieses Beispiel zeigt, dass auch bei komplexen Wirkstoffmolekülen der konzertierte Ansatz zur Lösung von Fragestellungen helfen kann. Nur in der Kombination aller Techniken (Kristallisation, Analyse und „Molecular Modeling“) ist es möglich, alle notwendigen Parameter zum Verständnis der Kristallisation und Polymorphie eines Systems zu erhalten.

Details und weitere Diskussion:

- Thun, J.; Milius, W.; Wedel, M.; Ridder, A.; Mörsdorf, P.; Breu, J. *Cryst.Eng.Comm.*, **2008**, Eingereicht.

Kapitel 3

Publikationen und Manuskripte

Die folgenden Publikationen und Manuskripte sind Bestandteil dieser Dissertation:

Anhang A.1

Polymorphie von Benzamid – die Lösung eines 175 Jahre alten Rätsels.

Thun, J.; Seyfarth, L.; Senker, J.; Dinnebier, R.E.; Breu, J. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2007**, *46*, 6729-6731. *Angew.Chem.*, **2007**, *119*, 6851-6854.

Eigenanteil: 90%

Anhang A.2

Wöhler and Liebig Revisited: 176 Years of Polymorphism in Benzamide – and the story still continues!

Thun, J.; Butterhof, C.; Seyfarth, L.; Senker, J.; Dinnebier, R.E.; Breu, J. *Cryst.Growth&Des.*, **2009**, *9*(5), 2435-2441.

Eigenanteil: 80%

Anhang A.3

Crystal structure prediction could have helped the experimentalists with polymorphism in benzamide!

Thun, J.; Schöffel, M.; Breu, J. *Mol.Sim.*, **2008**, *34*, 1359-1370.

Eigenanteil: 90%

Anhang A.4

The crystal structure of the API Montelukast.

Thun, J.; Milius, W.; Wedel, B.; Ridder, A.; Mörsdorf, P.; Breu, J. *Cryst.Eng.Comm.*, **2009**, *Published Online*, DIO:10.1039/b822821c.

Eigenanteil: 70%

Kapitel 4

Weitere Publikationen

Im Rahmen dieser Doktorarbeit entstanden folgende weitere Veröffentlichungen, welche nicht Inhalt dieser Dissertation sind:

- Baumgartner, A.; Sattler, K.; Thun, J.; Breu, J. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2008**, *47*, 1640-1644.
- Schrunner, M.; Ballauff, M.; Talmon, Y.; Kauffmann, Y.; Thun, J.; Möller, M.; Breu, J. *Science*, **2009**, *323*, 617-620.

Bibliographie

- [1] Bernstein, J. *Polymorphism in Molecular Crystals, 1st Edition*. Oxford University Press, Oxford, 2002.
- [2] McCrone, W. C. *Phys.Chem.Org. Solid State*, **1965**, *2*, 725–767.
- [3] Karpinski, P. H. *Chem.Eng.Technol.*, **2006**, *29(2)*, 233–237.
- [4] Chemburkar, S. R.; Bauer, J.; Deming, K.; Spiwek, H.; Patel, K.; Morris, J.; Henry, R.; Spanton, S.; Dziki, W.; Porter, W.; Quick, J.; Bauer, P.; Donaubaueer, J.; Narayanan, B. A.; Soldani, M.; Riley, D.; McFarland, K. *Org.Process Res.Dev.*, **2000**, *4(5)*, 413–417.
- [5] van de Streek, J.; Motherwell, S. *Acta Cryst.B*, **2005**, *61*, 504–510.
- [6] Henck, J.-O.; Bernstein, J.; Ellern, A.; Boese, R. *J.Am.Chem.Soc.*, **2001**, *123(9)*, 1834–1841.
- [7] Childs, S. L.; Hardcastle, K. I. *Cryst.Growth Des.*, **2007**, *7(7)*, 1291–1304.
- [8] Desiraju, G. R. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2007**, *46(44)*, 8342–8356.
- [9] Trask, A. *Mol.Pharm.*, **2007**, *4(3)*, 301–309.
- [10] Babu, N. J.; Reddy, L. S.; Aitipamula, S.; Nangia, A. *Chem.Asian J.*, **2008**, *3(7)*, 1122–1133.
- [11] Braga, D.; Giaffreda, S. L.; Curzi, M.; Maini, L.; Polito, M.; Grepioni, F. *J.Therm.Anal.Cal.*, **2007**, *90(1)*, 115–123.
- [12] Hilfiker, R.; Berghausen, J.; Blatter, F.; Burkhard, A.; De Paul, S. M.; Freiermuth, B.; Geoffroy, A.; Hofmeier, U.; Marcolli, C.; Siebenhaar, B.; Szlagiewicz, M.; Vit, A.; von Raumer, M. *J.Therm.Anal.Cal.*, **2003**, *73(2)*, 429–440.

- [13] Hilfker, R.; Berghausen, J.; Blatter, F.; De Paul, S. M.; Szlagiewicz, M.; von Raumer, M. *Chimica Oggi-Chemistry Today*, **2003**, 21(9), 75.
- [14] Lehn, J. M. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **1988**, 27, 89–112.
- [15] Thallapally, P. K.; Jetti, R. K. R.; Katz, A. K.; Carrell, H. L.; Singh, K.; Lahiri, K.; Kotha, S.; Boese, R.; Desiraju, G. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2004**, 43(9), 1149–1155.
- [16] Dey, A.; Desiraju, G. R. *Cryst.Eng.Com.*, **2006**, 8(6), 477–481.
- [17] Bond, A. D.; Boese, R.; Desiraju, G. R. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2007**, 46(4), 615–617.
- [18] Parveen, S.; Davey, R. J.; Dent, G.; Pritchard, R. G. *Chem.Commun.*, **2005**, (12), 1531–1533.
- [19] Chiarella, R. A.; Gillon, A. L.; Burton, R. C.; Davey, R. J.; Sadiq, G.; Auffret, A.; Cioffi, M.; Hunter, C. A. *Faraday Discuss.*, **2007**, 136, 179–193.
- [20] Alison, H. G.; Davey, R. J.; Garside, J.; Quayle, M. J.; Tiddy, G. J. T.; Clarke, D. T.; Jones, G. R. *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2003**, 5(22), 4998–5000.
- [21] Burton, R. C.; Ferrari, E. S.; Davey, R. J.; Hopwood, J.; Quayle, M. J.; Finney, J. L.; Bowron, D. T. *Cryst.Growth Des.*, **2008**, 8(5), 1559–1565.
- [22] Mayo, S. L.; Olafson, B. D.; Goddard, W. A. *J.Phys.Chem.*, **1990**, 94(26), 8897–8909.
- [23] Zahn, D. *Phys.Rev.Lett.*, **2004**, 92(4), 0408011–0408014.
- [24] Kawska, A.; Brickmann, J.; Hochrein, O.; Zahn, D. *Z.Anorg.Allg.Chem.*, **2005**, 631(6–7), 1172–1176.
- [25] Kawska, A.; Brickmann, J.; Kniep, R.; Hochrein, O.; Zahn, D. *J.Chem.Phys.*, **2006**, 124(2), 0245131–0245137.
- [26] Price, S. L. *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2008**, 10(15), 1996–2009.
- [27] Lommerse, J. P. M.; Motherwell, W. D. S.; Ammon, H. L.; Dunitz, J. D.; Gavezzotti, A.; Hofmann, D. W. M.; Leusen, F. J. J.; Mooij, W. T. M.; Price, S. L.; Schweizer, B.; Schmidt, M. U.; van Eijck, B. P.; Verwer, P.; Williams, D. E. *Acta Cryst.B*, **2000**, 56, 697–714.
- [28] Motherwell, W. D. S.; Ammon, H. L.; Dunitz, J. D.; Dzyabchenko, A.; Erk, P.; Gavezzotti, A.; Hofmann, D. W. M.; Leusen, F. J. J.; Lommerse, J. P. M.; Mooij, W. T. M.; Price, S. L.; Scheraga, H.; Schweizer, B.; Schmidt, M. U.; van Eijck, B. P.; Verwer, P.; Williams, D. E. *Acta Cryst.B*, **2002**, 58, 647–661.

- [29] Day, G. M.; Motherwell, W. D. S.; Ammon, H. L.; Boerrigter, S. X. M.; Della Valle, R. G.; Venuti, E.; Dzyabchenko, A.; Dunitz, J. D.; Schweizer, B.; van Eijck, B. P.; Erk, P.; Facelli, J. C.; Bazterra, V. E.; Ferraro, M. B.; Hofmann, D. W. M.; Leusen, F. J. J.; Liang, C.; Pantelides, C. C.; Karamertzanis, P. G.; Price, S. L.; Lewis, T. C.; Nowell, H.; Torrisi, A.; Scheraga, H. A.; Arnautova, Y. A.; Schmidt, M. U.; Verwer, P. *Acta Cryst.B*, **2005**, *61*, 511–527.
- [30] Neumann, M. A.; Leusen, F. J. J.; Kendrick, J. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2008**, *47*(13), 2427–2430.
- [31] Hulme, A. T.; Price, S. L.; Tocher, D. A. *J.Am.Chem.Soc.*, **2005**, *127*(4), 1116–1117.
- [32] Nowell, H.; Frampton, C. S.; Waite, J.; Price, S. L. *Acta Cryst.B*, **2006**, *62*, 642–650.
- [33] Hulme, A. T.; Price, S. L. *J.Chem.Theor.Comput.*, **2007**, *3*(4), 1597–1608.
- [34] Mohamed, S.; Barnett, S.; Tocher, D.; Price, S.; Shankland, K.; Leech, C. *Cryst.Eng.Com.*, **2008**, *10*(4), 399–404.
- [35] Panina, N.; Leusen, F. J. J.; Janssen, F. F. B. J.; Verwer, P.; Meekes, H.; Vlieg, E.; Deroover, G. *J.Appl.Cryst.*, **2007**, *40*, 105–114.
- [36] Panina, N.; van de Ven, R.; Verwer, P.; Meekes, H.; Vlieg, E.; Deroover, G. *Dyes Pigments*, **2008**, *79*(2), 183–192.
- [37] Day, G. M.; van de Streek, J.; Bonnet, A.; Burley, J. C.; Jones, W.; Motherwell, W. D. S. *Cryst.Growth Des.*, **2006**, *6*(10), 2301–2307.
- [38] Day, G. M.; Motherwell, W. D. S.; Jones, W. *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2007**, *9*(14), 1693–1704.
- [39] Cooper, T. G.; Hejczyk, K. E.; Jones, W.; Day, G. M. *J.Chem.Theor.Comput.*, **2008**, *4*(10), 1795–1805.
- [40] Neumann, M. A. *J.Phys.Chem.B*, **2008**, *112*(32), 9810–9829.
- [41] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery Jr, J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.;

- Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; B., J.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03, Revision C.02*, 2004.
- [42] Woehler, F.; von Liebig, J. *Ann.Pharm.*, **1832**, (3), 249–282.
- [43] David, W. I. F.; Shankland, K.; Pulham, C. R.; Blagden, N.; Davey, R. J.; Song, M. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2005**, 44(43), 7032–7035.
- [44] Blagden, N.; Davey, R.; Dent, G.; Song, M.; David, W. I. F.; Pulham, C. R.; Shankland, K. *Cryst.Growth Des.*, **2005**, 5(6), 2218–2224.
- [45] Accelrys. *Materials Studio, Release 4.0*, 2006.
- [46] Coelho, A. *TOPAS Users's Manual, Version 3.1*. Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany, Karlsruhe, Germany, 2003.
- [47] Grimme, S. *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2008**, 47(18), 3430–3434.
- [48] Delley, B. *J.Chem.Phys.*, **1990**, 92(1), 508–517.
- [49] Fitzgerald, G.; Delley, B.; Andzelm, J. W. *Abstracts Of Papers Of The American Chemical Society*, **2000**, 220, U187–U187.
- [50] Karamertzanis, P. G.; Price, S. L. *J.Chem.Theor.Comput.*, **2006**, 2(4), 1184–1199.

Anhang A

**A.1 Polymorphie von Benzamid – die Lösung eines 175 Jahre
alten Rätsels.**

Polymorphie von Benzamid – die Lösung eines 175 Jahre alten Rätsels

Jürgen Thun, Lena Seyfarth, Jürgen Senker, Robert E. Dinnebier und Josef Breu*

Vor 175 Jahren beschrieben Friedrich Wöhler und Justus von Liebig erstmals das Auftreten von Polymorphie bei einem Molekülkristall.^[1] Bis heute jedoch ist die Kontrolle der thermodynamischen und kinetischen Faktoren, die das Auftreten von Polymorphie steuern, eine der größten Herausforderungen in der Festkörperforschung. Trotz des ausgeprägten Einflusses der Kristallstrukturen auf die chemischen und physikalischen Eigenschaften (z.B. Löslichkeit, Langzeitstabilität)^[2] und der daraus folgenden patentrechtlichen und wirtschaftlichen Konsequenzen (siehe den Fall Ritonavir)^[3,4] ist die gezielte und reproduzierbare Synthese metastabiler Polymorphe aus Lösung nach wie vor alles andere als trivial. Diese Aufgabe ist deshalb so schwierig, weil nicht nur die Keimbildung des gewünschten Polymorphs gezielt induziert werden muss, sondern es außerdem erforderlich ist, die Keimbildung konkurrierender Polymorphe vollständig zu unterdrücken. Kann eine sekundäre Keimbildung nicht verhindert werden, wandelt sich die instabilere Modifikation durch Auflösung und erneute Abscheidung in die thermodynamisch stabilere Phase um. Die Triebkraft für diese Umwandlung ist die Differenz in den Gitterenergien und die daraus resultierenden Löslichkeitsunterschiede. Große Gitterenergiedifferenzen machen die Umwandlung schnell, und die betroffenen metastabilen Modifikationen sind sehr kurzlebig und damit schwer fassbar.^[5]

Zufälligerweise scheint das erste bekannte molekulare Dimorph – Benzamid – ebenfalls zu diesen metastabilen Modifikationen zu gehören. Wöhler und Liebig beschrieben, dass aus einer „kochend heißen“, wässrigen Lösung von Benzamid beim langsamen Erkalten zunächst „eine weiße Masse, die aus sehr feinen, seidenartigen, dem Caffein ähnlichen Krystallnadeln besteht“, ausfällt. In Lösung wurde dann aber nach einigen Stunden oder Tagen eine Umwandlung der Nadeln in gut ausgebildete rhombische Kristalle beobachtet. Diese stabile monokline Form (Form I) wurde eingehend untersucht, und die Kristallstruktur konnte 1959 durch Einkristallstrukturanalyse gelöst werden.^[6] Die metastabile Phase geriet in den 150 Jahren seit ihrer Ersterwähnung in Vergessenheit und fand nur an wenigen Stellen beiläufige Erwähnung.^[7] Die Kristallstruktur der metastabilen

Modifikation ließ sich nicht bestimmen, was für ein so kleines Molekül mit nur wenigen Torsionsfreiheitsgraden eher ungewöhnlich ist. 2005 gelang David et al. die Kristallstrukturbestimmung einer neuen metastabilen Phase (Form II)^[8] aus Röntgenpulverdaten, die in kurzer Zeit (< 60 min) an einer intensiven Synchrotronquelle aufgenommen wurden. Die Herstellung dieser Form II erfolgte in situ auf dem Diffraktometer durch Kühlung einer wässrigen Lösung von Benzamid (0.173 M) in einer abgeschmolzenen Kapillare (1.5 mm). Hierzu wurde die Lösung zunächst auf 2 °C abgekühlt und anschließend „durch einen kurzen Kontakt mit einem in flüssigem Stickstoff getränkten Wattebausch“ blitzartig abgeschreckt. Auf diese Weise konnte zwar der Anteil an der Form II auf 17.3 % erhöht werden, es fiel aber immer eine Mischung mit der bekannten Form I an. Die von David et al. verwendeten Kristallisationsbedingungen weichen stark von dem ursprünglich von Wöhler und Liebig beschriebenen Experiment ab. In einer nachfolgenden Studie zeigten Blagden et al. ferner, dass die Festphasenumwandlung der Form II in die Form I innerhalb von nur drei Stunden abgeschlossen ist,^[9] was der ausgeprägten Instabilität der Form II zugeschrieben wurde.

Wir wiederholten nun das von Wöhler und Liebig beschriebene Experiment in einem automatisierten Laborreaktor (LabMax, Mettler Toledo), der mit zwei Online-Sensoren – einer FBRM-Sonde (focused beam reflectance measurement, Lasentech) zur zeitnahen Detektion der Keimbildung und einer ATR-FT-IR-Sonde (ReactIR, Mettler Toledo) zur Bestimmung der Konzentration – ausgerüstet ist, die eine wesentlich bessere Kontrolle der Kristallisationsbedingungen ermöglichen. Eine heiße konzentrierte wässrige Lösung von Benzamid (0.347 M) wurde im Laborreaktor mit unterschiedlichen Abkühlgeschwindigkeit von 0.1 bis 5 K min⁻¹ abgekühlt. Unmittelbar nach der Detektion erster Kristalle mit der FBRM-Sonde und/oder einem Abfall in der Übersättigung wurde die Suspension abfiltriert und das Filtrat bei 75 °C getrocknet. Bei sehr langsamem Abkühlen wurde nur Form I gefunden, und es gab keine Anzeichen weiterer Phasen. Bei Abkühlgeschwindigkeiten von etwa 3 K min⁻¹ zeigten sich dagegen zusätzliche Reflexe im Diffraktogramm, die weder Form I noch Form II zugeordnet werden konnten. Durch Sublimation konnte ebenfalls eine Mischung dieser neuen Phase und Form I hergestellt werden, Form II wurde jedoch in keinem dieser Experimente nachgewiesen.

Die Röntgenpulverdiffraktogramme wurden mit Cu_{Kα1}-Strahlung und einem hoch auflösenden Detektor aufgenommen.^[10] 13 Reflexe wurden eindeutig der neuen Modifikation (Form III) zugeordnet und mit dem Programm DICVOL91^[11] indiziert, wobei sich eine monokline Elementarzelle ($a = 22.5010$, $b = 5.5159$, $c = 5.0569$ Å, $\beta = 91.36^\circ$) mit einem guten de-Wolf-Gütefaktor (FOM = 29.4) ergab. Überraschenderweise zeigt die Form I eine sehr ähnliche Metrik ($a =$

[*] J. Thun, L. Seyfarth, Prof. J. Senker, Prof. J. Breu
Anorganische Chemie I, Universität Bayreuth
Universitätsstraße 30, 95440 Bayreuth (Deutschland)
Fax: (+49) 921-55-2788
E-Mail: josef.breu@uni-bayreuth.de
Priv.-Doz. R. E. Dinnebier
Max-Planck-Institut für Festkörperforschung
Heisenbergstraße 1, 70569 Stuttgart (Deutschland)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

5.5657(9), $b = 5.0353(9)$, $c = 21.698(4)$ Å, $\beta = 90.388(3)^\circ$,^[12] sodass es zu vielen Reflexüberlappungen kommt (Abbildung 1). Zudem sind die Intensitäten der für Form III singulären Reflexe relativ schwach. In Diffraktogrammen mit

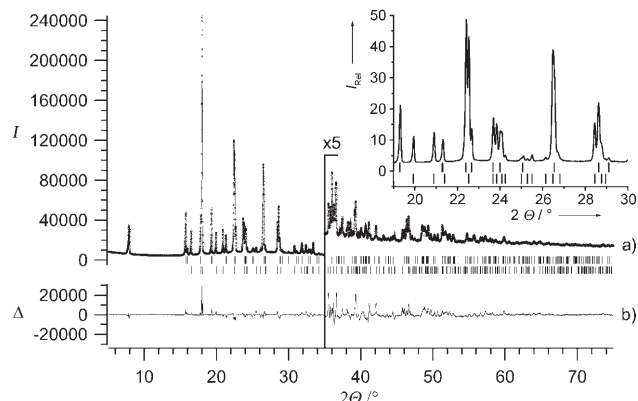


Abbildung 1. a) Gemessenes Diffraktogramm (\diamond) mit angepasstem Profil einer Rietveld-Verfeinerung für zwei Phasen (—). b) Differenzkurve zwischen gemessenem und berechnetem Diffraktogramm. Die Intensitäten bei großen Winkeln sind mit dem Faktor 5 skaliert. Der Einschub verdeutlicht die erheblichen Überlappungen von Reflexen der Formen I und III. Die oberen Markierungen kennzeichnen die Positionen der Bragg-Reflexe der Form I und die unteren die der Form III. I = absolute Intensität, I_{rel} = relative Intensität.

niedriger Auflösung und schlechtem Reflex-Untergrund-Verhältnis können diese Reflexe der Form III daher leicht übersehen werden. Das Volumen der Elementarzelle beträgt 626.68 Å³, d. h. etwas mehr als für Form I (608.1(2) Å³). Als mögliche Raumgruppen wurden nach einer Pawley-Verfeinerung^[13] Pc oder $P2_1/c$ identifiziert. Für die Strukturlösung wurde die wahrscheinlichere zentrosymmetrische Raumgruppe $P2_1/c$ gewählt. Unter Verwendung des Moduls PowderSolve^[14] wurde eine globale Optimierung im Realraum durchgeführt (simuliertes Tempern mit dem Metropolis-Algorithmus), wobei die Molekülgeometrie des Benzamids (inklusive aller Torsionen) aus der bekannten monoklinen Kristallstruktur übernommen wurde. In mehreren Läufen wurde immer das gleiche globale Minimum gefunden.

In PowderSolve können keine Fremdphasen einbezogen werden. Die ausgeprägten Reflexüberlappungen beider Phasen, wie sie in Abbildung 1 zu sehen sind, können daher während der Strukturlösung nicht berücksichtigt werden, was gezwungenermaßen zu einem schlechten R_{wp} -Wert von 23% führt. Die abschließende Rietveld-Verfeinerung mit dem Programm Topas^[15] wurde an einem hoch aufgelösten Röntgenpulverdiffraktogramm ausgeführt, das in Transmission unter Probenrotation zur Verbesserung der Statistik bei Raumtemperatur mit einem Labordiffraktometer aufgenommen wurde.^[16] Beide Phasen wurden nebeneinander verfeinert, wobei alle unabhängigen Moleküle einzeln über eine Z -Matrix beschrieben wurden. Auch alle Torsionen wurden freigegeben und separate isotrope Temperaturfaktoren für jede Phase eingeführt, um eine adäquate Strukturverfeinerung zu erreichen. Die Details dieser Verfeinerung sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Details der Rietveld-Verfeinerung eines bei Raumtemperatur mit einem Labordiffraktometer gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramms.

	Verfeinerung für zwei Phasen	
	Form I	Form III
a [Å]	5.6094(1)	5.0551(1)
b [Å]	5.0399(1)	5.5141(1)
c [Å]	22.1171(8)	22.9565(9)
β [°]	90.641(2)	101.292(2)
V [Å ³]	625.23(3)	627.50(3)
Raumgruppe	$P2_1/c$	$P2_1/c$
Z	4	4
Z'	1	1
Phasenanteil	51.6(4)	48.4(4)
Messbereich 2θ [°]		5–75
R_{Bragg}	5.33	5.32
R_{wp}		6.95
Nullpunktverschiebung		−0.0116

Das Ergebnis der Verfeinerung ist in Abbildung 1 gezeigt. Durch Modellierung einer Unordnung der Amidgruppe lässt sich keine weitere signifikante Verbesserung erzielen. Der noch bestehende Unterschied zwischen gemessenem und berechnetem Diffraktogramm ist vermutlich auf eine Stapelfehlordnung oder eine andere Art der Fehlordnung in der neuen Form III zurückzuführen. Der niedrige R_{wp} -Wert unterstreicht die gute Anpassung (siehe Tabelle 1). In der untersuchten Probe lag eine 1:1-Mischung der Formen I und III vor.

Zusätzlich zu den Röntgenpulverdiffraktogrammen wurde ein ¹³C-CP-MAS-Festkörper-NMR-Spektrum bei Raumtemperatur aufgenommen (Avance II300, Bruker). Die Daten wurden unter Breitband-Protonenentkopplung mit einer SPINAL-64-Sequenz erfasst.^[17] Die Entfaltung der Resonanz bei etwa $\delta = 173$ ppm belegt eindeutig zwei unabhängige Carbonyl-Signale (Abbildung 2), in Übereinstimmung mit der Kristallstrukturlösung. Beide Phasen, Form I und Form III, enthalten je ein Molekül in der asymmetrischen Einheit. Folglich werden zwei unabhängige Carbonyl-Signale im ¹³C-Festkörper-NMR-Spektrum für dieses Zweiphasengemisch erwartet.

Bemerkenswerterweise ist die Form III in getrocknetem Zustand sehr beständig. Sowohl die Röntgenpulverdiffraktometrie als auch die Festkörper-NMR-Spektroskopie wurden mehrere Wochen nach der Kristallisation durchgeführt, und auch bei späteren Prüfungen durch Pulverdiffraktometrie wurden keine Anzeichen auf eine fortschreitende Festphasenumwandlung von Form III zu Form I festgestellt.

Die wichtigste intermolekulare Wechselwirkung beim Benzamid ist die Wasserstoffbrückenbindung. Es ist daher nicht überraschend, dass das Wasserstoffbrückenmotiv in allen drei Polymorphen sehr ähnlich ist. Es gibt zwar kleine Unterschiede in den Torsionswinkeln, aber alle Phasen weisen über Wasserstoffbrücken verknüpfte Dimere auf, die entlang der kurzen Achse der Elementarzelle über weitere Wasserstoffbrücken zu langen Bändern aufgereiht sind. Die signifikanten Unterschiede in den Packungsmotiven beruhen vielmehr auf den zweitwichtigsten intermolekularen Wech-

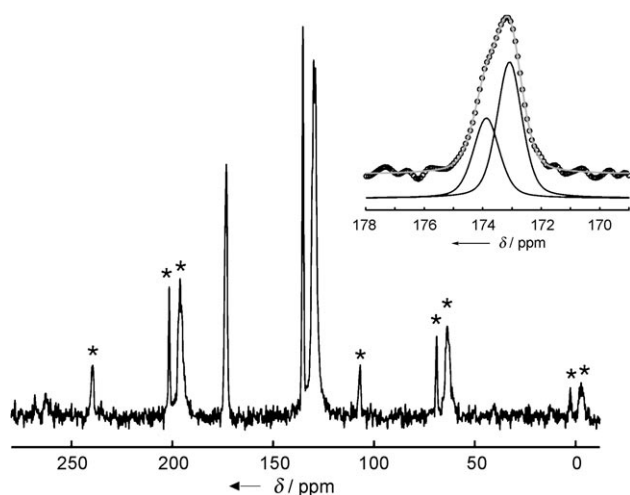


Abbildung 2. ^{13}C -CP-MAS-Spektrum ($\nu_{\text{rot}} = 5$ kHz) eines Gemischs der Formen I und III. Die Rotationsseitenbanden sind mit einem Stern markiert. Der Einschub zeigt die Carbonyl-Signale (Kreise) mit der dazugehörigen Anpassung (graue Linie) und den entfaltenen Resonanzen (schwarze Linien). Es sind eindeutig zwei unabhängige Resonanzen erkennbar, die zwei unterschiedlichen Phasen von Benzamid zuzuordnen sind.

selwirkungen, den π - π -Wechselwirkungen des Benzylrestes. Die energetisch bevorzugten π - π -Motive sind zum einen versetzt parallele π - π -Stapel und zum anderen T-förmige Anordnungen der Benzylreste; in der Kombination ergeben sich hieraus Fischgrätenmuster. Tatsächlich werden in den unterschiedlichen Benzamidphasen deutlich unterschiedliche π - π -Motive gefunden (Abbildung 3). Während in Form I nur versetzt parallele π - π -Stapel auftreten, sind in beiden metastabilen Phasen Fischgrätenmuster zu erkennen. In Form II bilden wasserstoffverbrückte Doppelbänder eine T-förmige Anordnung, in Form III besteht das Fischgrätenmuster dagegen aus einzelnen Bändern.

Der Hauptunterschied zwischen den drei Kristallformen besteht somit in den π - π -Wechselwirkungen. Gitterenergieberechnungen unter Verwendung klassischer intermolekularer Potentiale (Dreiding-Kraftfeld in Kombination mit Partialladungen, angepasst an das molekulare elektrostatische Potential (MEP))^[18] bestätigen die experimentell beobachteten, relativen Stabilitäten der Phasen. Die Gitterenergien der minimierten Strukturen sind in Tabelle 2 angegeben. Das

Tabelle 2: Mit MS Modeling 4.0^[22] unter Verwendung des Dreiding-Kraftfelds berechnete Gitterenergien.

$U_{\text{latt}}^{\text{[a]}}$ [kcal mol ⁻¹]	Form I	Form II	Form III
gesamt ^[b]	-28.06	-22.75	-25.47
van der Waals ^[b]	-11.06	-9.05	-11.19
Coulomb ^[b]	-10.25	-10.12	-11.00
Wasserstoffbrücken ^[b]	-6.75	-3.58	-3.28

[a] Gitterenergie pro Molekül. [b] Ohne intramolekulare Wechselwirkungen.

energetisch günstigste Wasserstoffbrückenmotiv^[20] liegt in der thermodynamisch stabilen Form I vor, die günstigste π - π -Wechselwirkung findet man dagegen in Form III. Die relativ großen Unterschiede in den Gitterenergien erklären, warum sich Form II sehr schnell in Form I umwandelt, während Form III vergleichsweise stabil zu sein scheint.

175 Jahre nach der ersten Erwähnung von Polymorphie bei Benzamid konnte nun eine zweite metastabile Phase charakterisiert werden. Da diese neue Phase unter experimentellen Bedingungen erhalten wurde, die sich nahe an das Originalexperiment anlehnen (wenn auch unter besser kontrollierten Bedingungen), handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um die von Wöhler und Liebig beschriebenen, seidenartigen Nadeln. In getrocknetem Zustand ist diese metastabile Form III über längere Zeit beständig. Sie kann einfach und reproduzierbar in jedem Kristallisationsansatz hergestellt werden, wenn die von Wöhler und Liebig verwendeten Abkühlgeschwindigkeiten eingehalten werden. Während es sich bei Form II um eine kurzlebige metastabile Modifikation handelt, die sich durch eine sehr schnelle Umwandlung lange Zeit einer Charakterisierung entzogen hat, konnte sich Form III wegen der sehr ähnlichen Metrik der Elementarzelle viele Jahre hinter der bekannten, thermodynamisch stabilen Form I „verstecken“. Mit Kristallisationstechniken, die sich neuer, moderner Online-Sensoren wie der FBRM-Sonde und der ATR-FT-IR-Technik bedienen, ist es nun jedoch gelungen, den relativen Anteil der Form III über die Nachweisgrenze anzuheben. Bis jetzt konnte die thermodynamisch stabile Form I aber noch nicht vollständig eliminiert werden.

Die Gitterenergierechnungen sind in Einklang mit der Ostwaldschen Stufenregel. David et al. erzielten durch ein blitzartiges Abkühlen die höchste Übersättigung, was zum

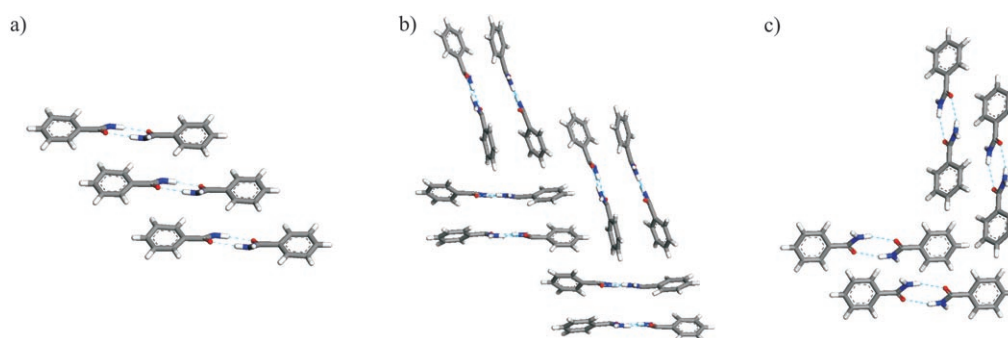


Abbildung 3. Projektionen der Kristallstrukturen entlang der Bänderachsen zeigen die unterschiedlichen π - π -Wechselwirkungen in den jeweiligen Benzamid-Formen. a) Form I, entlang [010]; b) Form II, entlang [001]; c) Form III, entlang [100].

instabilsten Polymorph führt. Die mit den von Wöhler und Liebig verwendeten Abkühlgeschwindigkeiten erzeugte, mittlere Übersättigung liefert Form III, die nur wenig instabiler ist als die thermodynamisch stabilste Form I.

Eingegangen am 30. März 2007

Online veröffentlicht am 30. Juli 2007

Stichwörter: Benzamid · Kristallwachstum · Ostwald-Stufenregel · Polymorphie · Röntgenbeugung

-
- [1] F. Wöhler, J. Liebig, *Ann. Pharm.* **1832**, 249–282.
- [2] C. Näther, I. Jess, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6529–6531; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6381–6383.
- [3] S. R. Chemburkar, J. Bauer, K. Deming, H. Spiwek, K. Patel, J. Morris, R. Henry, S. Spanton, W. Dziki, W. Porter, J. Quick, P. Bauer, J. Donaubauer, B. A. Narayanan, M. Soldani, D. Riley, K. McFarland, *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *4*, 413–417.
- [4] H. Nowell, S. L. Price, *Acta Crystallogr. Sect. B* **2005**, *61*, 558–568.
- [5] R. Kiebach, N. Pienack, M. E. Ordolff, F. Studt, W. Bensch, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 1196–1205.
- [6] B. R. Penfold, J. C. B. White, *Acta Crystallogr.* **1959**, *12*, 130–135.
- [7] E. Mohr, *J. Prakt. Chem.* **1904**, *70*, 307–312.
- [8] W. I. F. David, K. Shankland, C. R. Pulham, N. Blagden, R. J. Davey, M. Song, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7194–7197; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7032–7035; .
- [9] N. Blagden, R. Davey, G. Dent, M. Song, W. I. F. David, C. R. Pulham, K. Shankland, *Cryst. Growth Des.* **2005**, *5*, 2218–2224.
- [10] X'Celerator RTMS detector, Reflexionsgeometrie.
- [11] A. Boultif, D. Louer, *J. Appl. Crystallogr.* **1991**, *24*, 987–993.
- [12] K. Kobayashi, A. Sato, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3035–3045.
- [13] G. S. Pawley, *J. Appl. Crystallogr.* **1981**, *14*, 357–361.
- [14] G. E. Engel, S. Wilke, O. Konig, K. D. M. Harris, F. J. J. Leusen, *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 1169–1179.
- [15] A. A. Coelho, *TOPAS Users's Manuel, Version 3.1*, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, **2003**.
- [16] Vântec-1 position sensitive detector, D-8 Bruker.
- [17] B. M. Fung, A. K. Khitrin, K. Ermolaev, *J. Magn. Reson.* **2000**, *142*, 97–101.
- [18] Die an das molekulare elektrostatische Potential angeglichenen Ladungen wurden mit DMol³^[19] unter Verwendung des GGA-PW91-Funktional und dem DNP-Basissatz berechnet.
- [19] B. Delley in *Modern Density Functional Theory* (Hrsg.: J. M. Seminario), Elsevier, Amsterdam **1995**, S. 221–254.
- [20] Die Energie der Wasserstoffbrücken wird im Dreiding-Kraftfeld^[21] separat ausgewiesen. Die gesamte Coulomb-Energie setzt sich aus einem Coulomb- und einem Wasserstoffbrückenanteil zusammen.
- [21] S. L. Mayo, B. D. Olafson, W. A. Goddard, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 8897–8909.
- [22] MS Modeling, Release 4.0, Accelrys Inc., San Diego, **2006**.
-

**A.2 Wöhler and Liebig Revisited: 176 Years of Polymorphism
in Benzamide – and the story still continues!**

Published as part of a special issue of selected papers presented at the 8th International Workshop on the Crystal Growth of Organic Materials (CGOM8), Maastricht, Netherlands, September 15–17, 2008

Wöhler and Liebig Revisited: 176 Years of Polymorphism in Benzamide - and the Story Still Continues![†]

J. Thun,[§] L. Seyfarth,[§] C. Butterhof,[§] J. Senker,[§] R. E. Dinnebier,[#] and J. Breu^{*,§}

Inorganic Chemistry I, University of Bayreuth, Universitätsstrasse 30, 95440 Bayreuth, Germany, and Max Planck Institute for Solid State Research, Heisenbergstrasse 1, 70569 Stuttgart, Germany

Received December 12, 2008; Revised Manuscript Received February 6, 2009

ABSTRACT: In 1832, Friedrich Wöhler and Justus von Liebig described the existence of polymorphism in molecular crystals for the first time in the case of benzamide. 175 years later, the crystal structure of this historical polymorph could be finally solved. Surprising similarities regarding the packing motifs between all three known forms can be found. According to Ostwald's rule, high supersaturations are needed to crystallize the most unstable Form II from solution. Herein we present a way in which all three known forms for benzamide can be concomitantly crystallized out of solution. With this trimorphic mixture at hand, a more detailed stability test could be performed and further characterization applying solid-state NMR-, Raman, and IR-spectroscopy was possible.

Introduction

Polymorphism¹ still represents one of the major challenges in current day crystallization processes of active pharmaceutical ingredients.^{2–13} The deliberate and reproducible synthesis of metastable polymorphs from solution remains difficult and is still far from trivial. The differences in physical and chemical properties as well as the legal and economic implications¹⁴ are additional important driving forces for research on polymorphism. Consequently, the last years have seen the development of many different experimental techniques that are set to make polymorph screening more efficient. Different solvents,^{2,15} drop grinding,^{16,17} and cocrystallizations^{16,18–20} delivered new polymorphs for all kinds of materials.¹⁹ The phenomenon of polymorphism, however, is not limited to complex pharmaceutical compounds.

Indeed, it was a rather simple molecule, benzamide, that was the very first compound for which polymorphs were reported as early as in 1832 in a paper written by the grandfathers of modern inorganic and organic chemistry, Wöhler and Liebig.²¹ They described very accurately the consecutive occurrence of two polymorphs upon crystallization of benzamide by cooling a hot aqueous solution. Although the experiment and these observations can be most easily repeated by everyone, it took 175 years to solve the structure of the metastable polymorph described by Wöhler and Liebig, as can be seen later on.²² The existence of a second polymorph was confirmed several times in between. In 1898 Bogojawlensky mentioned two different types of nuclei during melt crystallization.²³ The same experiments had been performed by Müller in 1914.²⁴ Ernst Mohr was the first after Wöhler and Liebig who made further investigations, which he published in 1904.²⁵ Mohr performed additional crystallization experiments from melts and for the

first time applied optical microscopy to confirm two polymorphs. In 1959 the crystal structure of the thermodynamically stable Form I was solved from single crystal X-ray diffraction data by Penfold and White.²⁶ Another 40 years later, Bernstein et al.²⁷ provided the first photographic evidence of two benzamide polymorphs which interconvert rapidly via a solution mediated process. In 2005 the structure of a second polymorph of benzamide was solved from powder X-ray diffraction (PXRD) data collected rapidly on a synchrotron source. David et al.²⁸ loaded a more dilute aqueous solution of benzamide (0.137 M) in a capillary, which was first cooled directly on the diffractometer to 2 °C. Then, this solution was highly supersaturated by flash cooling through a brief contact with a cotton bud soaked in liquid nitrogen. This experiment yielded a mixture of Form I and Form II in a ratio of 83 to 17. Nevertheless, a structure solution proved possible despite the low volume fraction of Form II and a quite prominent background caused by the water. In a full paper following the initial communication, Blagden et al.²⁹ described a very fast solid–solid interconversion of the metastable polymorph into Form I. Summing up the literature reports, it would appear that the characterization of the metastable form is troublesome in particular because it rapidly interconverts both via solution-mediated transformation and solid–solid phase transition into the thermodynamically stable Form I.

While the crystallization described above differs quite significantly from the original procedure described by Wöhler and Liebig, we repeated the experiments sticking more closely to their recipe, with respect to both concentration and cooling rates. However, we used modern in situ probes to collect as much information as possible for both phases involved in the crystallization, solution and solid. In particular, the monitoring of supersaturation and the immediate detection of the onset of nucleation were essential issues that eventually paved the way to the solution of the metastable Form III that has actually been observed and described by Wöhler and Liebig.²¹

[†] Dedicated to Prof. Reinhard Nesper on the occasion of his 60th birthday.

^{*} To whom correspondence should be addressed. E-mail: josef.breu@uni-bayreuth.de.

[§] University of Bayreuth.

[#] Max Planck Institute for Solid State Research.

While the latest contribution of Blagden et al.²⁹ covering polymorphism of this simple compound benzamide claimed to complete the story, we will show here that indeed it needs to be further extended.

Experimental Procedures

Benzamide was purchased from Merck. Optical microscope studies had been carried out using a Leica *S8APO*. Infrared spectra were recorded using a Bruker IFS 66v spectrometer and Raman spectra were recorded on a Jobin Yvon LabRam. Solid-state NMR CP-MAS measurements were performed on a conventional impulse spectrometer Avance II 300 (Bruker) using a 7 mm double resonance MAS probe (Bruker) for the measurements at a field of 7.0 T and on a conventional impulse spectrometer DSX Avance 400 (Bruker) using a 4 mm double resonance MAS probe (Bruker) for the measurements at a field of 9.4 T. The spinning frequency was set to 5 kHz at 7.0 T and to 9 kHz at 9.4 T. The recycle delay was adjusted to 400 s and 144 repetitions were made. ¹³C-signals are referenced with respect to TMS. The simulation of the quadrupole-coupled resonance was performed with the simulation program WSolids1.³⁰

Diffraction experiments were performed using a PANalytical diffractometer with a X'Celerator RTMS detector in reflection mode and a Bruker D-8 with a Vântag-1 position sensitive detector in transmission mode. Copper radiation was used in all X-ray diffraction experiments. Stability tests had been performed on the PANalytical diffractometer using a Parr XRK equipment.

Bulk crystallizations from hot aqueous solutions were performed in an automated laboratory reactor (LabMax) from Mettler Toledo that was equipped with a FBRM probe (focused beam reflectance measurement, Lasentech), an ATR FT-IR probe (ReactIR, Mettler Toledo), and a very sensitive and accurate temperature control.

Results and Discussion

According to Ostwald's rule,³¹ the deliberate and reproducible synthesis of a particular metastable polymorph from solution or melt requires parameters to be identified that foster initial nucleation of the desired form while suppressing subsequent secondary nucleation(s) of any thermodynamically more stable competing congeners. If secondary nucleation cannot be prevented, the initially precipitated metastable form will be transformed by dissolution and reprecipitation into the more stable form. The difference in lattice energy and hence solubility is the driving force for this solution-mediated transformation. Large differences will render metastable forms transient and difficult to capture.

Moreover, even if the desired nonequilibrium form could be recovered as a dry powder, for instance, by crystallization from melt, its fate with respect to long-term stability will be determined by "quality of its metastability", meaning by the height of the activation barrier for the solid–solid interconversion.

For compounds that are well soluble in water, as is the case with benzamide, these two transformation pathways may be difficult to distinguish. When handling the sample at ambient relative humidity, the condensation of a thin hydrous film on the crystal surface may easily lead to a kind of solution-mediated transformation.

In any case, whenever mixtures of different forms are obtained in crystallization experiments of polymorphic compounds, this indicates that the thermodynamic equilibrium may not been achieved at the moment when the solid was characterized. It is very unlikely that the crystallization parameters have been chosen by chance to meet equilibrium parameters.

Wöhler and Liebig's Experiment. The originally reported experiment was repeated using an automated laboratory reactor equipped with online probes as mentioned in the experimental section. Nucleation could be detected almost in real time by

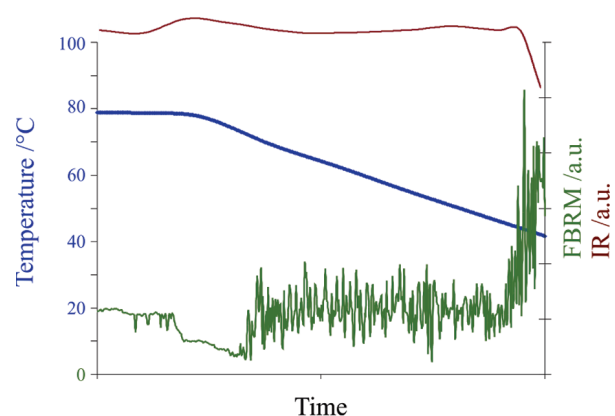


Figure 1. Temperature–time plot of a crystallization induced by cooling showing the reactor temperature (blue), the FBRM signal for the particle range from 5–10 μm (green), and the IR signal (red).

the FBRM probe, while the saturation level could be monitored using the IR probe. Applying different cooling rates ranging from 0.1 K min^{-1} up to 5 K min^{-1} , a hot aqueous solution of benzamide (0.347 M) was cooled until the FBRM probe indicated nucleation and/or a drop in the supersaturation could be monitored (Figure 1). Both FBRM and IR signal of the C=O stretch at 1656 cm^{-1} may be used to interrupt crystallization at the earliest detectable stages by immediate fast filtration. This in turn will minimize the time available for solution-mediated transformation and thus will maximize the volume fraction of any metastable phase formed initially. After filtration of the suspension, the crystals have been dried overnight at 75 $^{\circ}\text{C}$.

Using low cooling rates ($<2 \text{ K min}^{-1}$), only Form I could be found. However, applying intermediate cooling rates of 3–4 K min^{-1} additional unique weak peaks appeared in the PXRD pattern, which did not belong to either Form I or Form II. This new Form III could also be obtained by sublimation. The known Form II has never been observed in either of these experiments. After identification of 13 unique diffraction peak positions that are attributable to this new Form III, these peaks could be indexed applying DICVOL91³² to give a monoclinic unit cell ($a = 22.5010$, $b = 5.5159$, $c = 5.0569 \text{ \AA}$, $\beta = 91.36^{\circ}$) with a good de Wolff figure of merit (FOM = 29.4). Please note that the metric of the unit cell is very similar to the one of Form I ($a = 5.5657(9)$, $b = 5.0353(9)$, $c = 21.698(4) \text{ \AA}$, $\beta = 90.388(3)^{\circ}$)³³ and consequently peak overlap is severe (Figure 2).

Most likely, it was this severe peak overlap in combination with the low intensity of unique reflections that allowed Form III to "hide" behind the stable Form I for such a long time. The unit cell volume was 626.68 \AA^3 , which is slightly more than that of Form I (608.1(2) \AA^3). Following a Pawley refinement,³⁴ the centrosymmetric space group $P2_1/c$ was chosen as the most likely candidate for the crystal structure. The structure solution proved possible in real space by global optimization methods (simulated annealing with metropolis algorithm) applying PowderSolve.³⁵ Details of the structure solution and refinement were reported in a previous communication.²²

Apparently, despite the meticulous control of the crystallization parameters, we failed to inhibit secondary nucleation of Form I. The sample was found to be a mixture of 1:1 ratio of the monoclinic Form I and Form III. Therefore, it was essential to limit the time available for solution-mediated transformation. Only then could the ratio of Form III be increased to a level where the very weak unique reflections (Figure 2) can be clearly observed on a modern diffractometer equipped with a sensitive

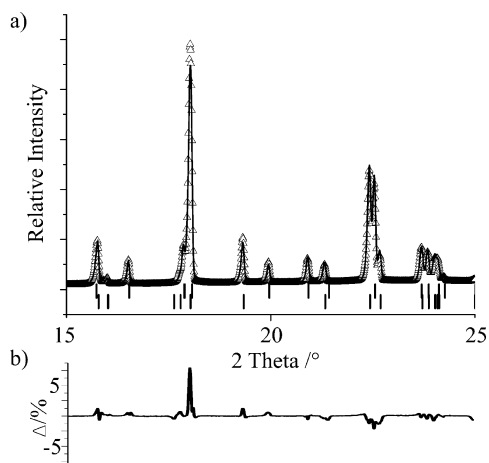


Figure 2. Scattered X-ray intensities as a function of diffraction angle showing the good fit between the observed and calculated data based upon a two-phase refinement. The selected 2θ -range contains the most intense unique reflections; see ref 22 for a full range Rietveld plot. This close-up also underlines the severe overlap of Form I and Form III peaks. Shown are (a) the observed pattern (triangles), the best Rietveld-fit profile (line), and (b) the difference curve between observed and calculated profiles. The upper and the lower tick marks indicate the positions of the Bragg reflections of Form III and Form I, respectively.

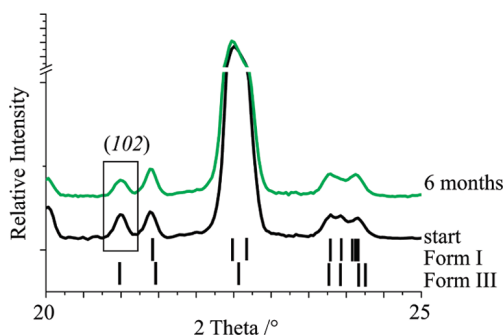


Figure 3. Long-term PXRD measurements of a mixture of Form I and Form III.

detector system like the used X'Celerator RTMS detector. Since we closely followed the crystallization parameters of Wöhler and Liebig, it seems almost sure that Form III is indeed the polymorph observed back in 1832.

Stability of Form III. A long-term stability test of Form III had been performed under ambient conditions on a laboratory X-ray diffractometer. Even after more than six months only a minor conversion of approximately 5% into the thermodynamically stable Form I could be observed (Figure 3).

“Form II” Experiment. David et al.²⁸ described the use of a much higher cooling rate as compared to the original experiment of Wöhler and Liebig. Consequently, a higher supersaturation must have been generated by the applied flash cooling and the crystallization was performed directly on the goniometer at a synchrotron source. Because of this experimental setup it was possible for David et al.²⁸ to record a PXRD pattern of a mixture of Form I and Form II and to solve the crystal structure for Form II. However, due to the large difference in lattice energies the solution-mediated transformation of Form II was too fast to allow isolation or other investigations of Form II. According to Ostwald, the most unstable form should be nucleating first and therefore high supersaturations are needed. With the much lower cooling rates feasible with the now used

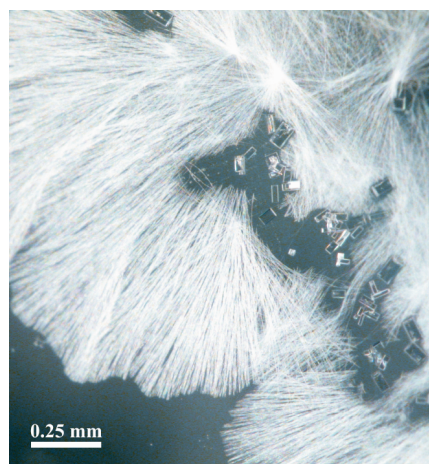


Figure 4. Microscopy of a mixture containing all three forms (Form I: rhombs, Form II: needles, Form III: needles) which was proven by PXRD.

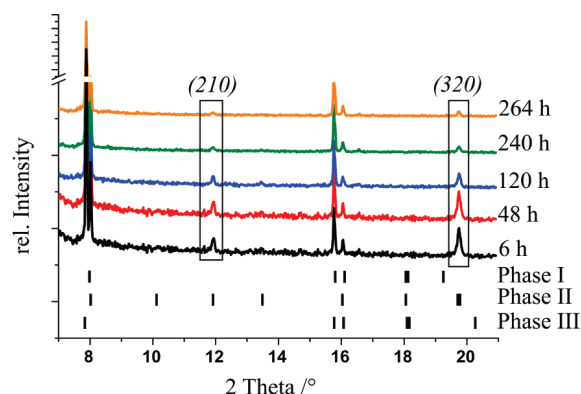


Figure 5. PXRD measurements of a mixture of Forms I, II, and III at different time steps. Reflex positions unique to Form II are marked and the tick marks of all forms are shown.

Table 1. Crystallographic Details for All Three Forms of Benzamide

	Form I	Form III	Form II
a [Å]	5.6094(1)	5.0551(1)	17.4317(2)
b [Å]	5.0399(1)	5.5141(1)	14.1944(3)
c [Å]	22.1171(8)	22.9565(9)	4.977(1)
β [°]	90.641(2)	101.292(2)	
V [Å ³]	625.23(3)	627.50(3)	1231.4(3)
space group	$P2_1/c$	$P2_1/c$	$Pba2$
Z	4	4	8
Z'	1	1	2

automatic laboratory reactor system, only intermediate supersaturation levels can be realized which are insufficient to trigger the nucleation of Form II. This could explain why we never observed Form II.

Mohr's Experiment. It was this transient character of Form II that “forced” Blagden et al.²⁹ to look for alternative routes for the synthesis of this most metastable polymorph known. They resorted to crystallization from melt (mp 128 °C), for which in 1904 Mohr already reported crystals with a needle-like morphology, very similar to the needles observed for Form III and also solution-synthesized Form II (see “Form II” experiment). Blagden et al.²⁹ repeated Mohr's experiments in a slightly modified way. In this experiment, the high surface area provided by a KBr matrix together with the small particle size of the benzamide ensured the formation of rather thin films of molten benzamide which subsequently could be rapidly quenched. This in turn provided the high supersaturation levels

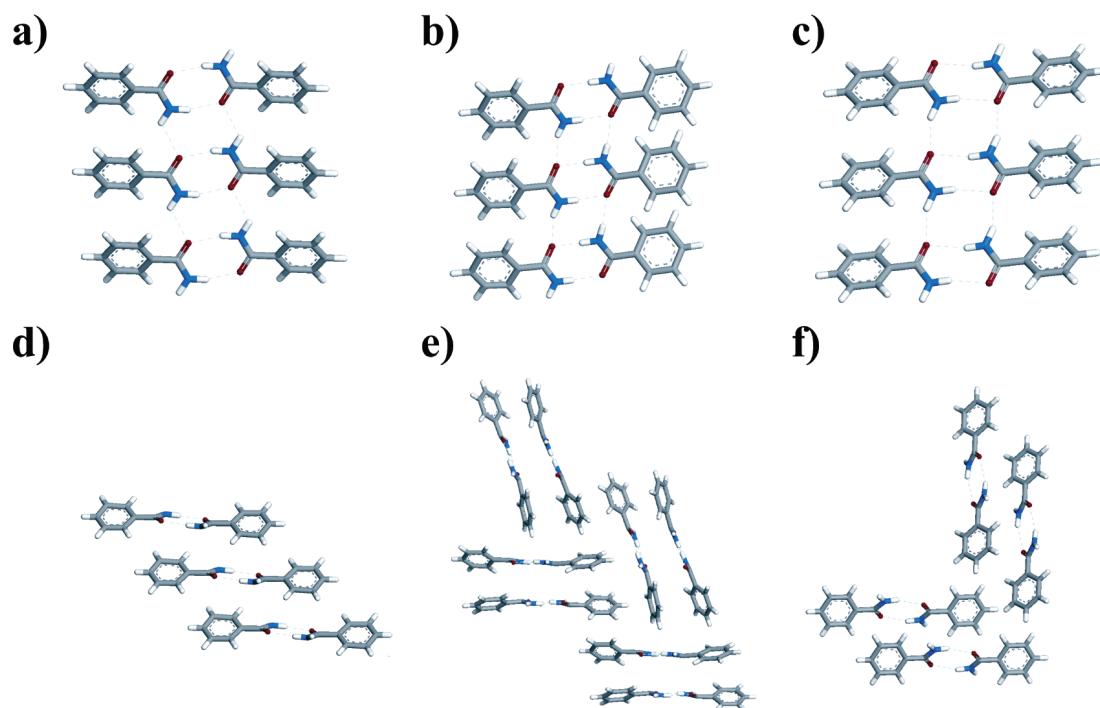


Figure 6. Hydrogen bonded ribbons of (a) Form I, (b) Form II, and (c) Form III. The π - π interaction motifs are shown for (d) Form I along the *b*-axis, (e) Form II along the *c*-axis, and (f) Form III along *a*-axis.

needed to trigger nucleation of Form II. Unfortunately, the very poor resolution and the limited 2θ range of PXRD patterns obtained for such a melt-synthesized sample ruled out a detailed comparison with the expected pattern for Form II as obtained by flash cooling a dilute solution. However, microscopy clearly showed two different morphologies (needles and rhombs) and vibrational spectroscopy also indicated that by this kind of melt crystallization a mixture of Form II and Form I was produced by Blagden et al.²⁹ Additionally, a very fast transformation could be followed by spectroscopy underlining the transient and highly metastable character of Form II. However, the crystal structures of Form II and Form I are distinctly different (see below) and no facile (e.g., topotactic) transformation pathway becomes obvious. For that reason, the basis of this fast transition observed by Blagden et al. is puzzling.²⁹ It is not clear whether the nature of the transformation is a true solid–solid phase transition.

Solution Crystallization of Form II. For further analysis of Form II, crystallization methods needed to be developed that yield samples that are better suitable for PXRD. Hence, we were seeking pathways to obtain Form II in crystallization from solution. Fortunately, benzamide is soluble in a range of solvents. In particular, the solubility in benzene is significantly lower than in water and its temperature dependence is more pronounced. The first slows down the kinetics of solution-mediated transformations. The latter allows realizing high supersaturation levels needed to nucleate Form II. Moreover, when quenching solutions of benzamide in benzene at higher temperatures the solvent can concomitantly be evaporated and hence solution-mediated transformation will be hampered. After complete dissolution of benzamide in hot benzene (0.02 M), a few drops were spread on a preheated plate (75 °C). Immediately the solvent evaporates and long needles can be seen on the surface (Figure 4). Additionally, larger rhombs are observed in the microscope indicating a mixture of polymorphs.

Surprisingly, PXRD analysis proved that indeed the sample obtained was not bi- but triphasic. Most likely, the needles are

typical for both, Form II and Form III, and the two can not be distinguished based only on their morphology.

Regrettably, one has to struggle with a massive peak overlap of the three concomitantly crystallized polymorphs. Moreover, Form II turned out to rapidly interconvert to Form I tribologically. Any kind of mechanical stress will readily convert Form II into Form I. Consequently, it proved impossible to recover the sample by scratching it off a substrate. Grinding or even loading a glass capillary will also induce complete conversion of Form II. Therefore, diffraction traces could only be collected using samples directly crystallized by casting hot solutions on a zero background plate. Needless to mention, this preparation method will create severely textured samples. Unfortunately, this texture together with the massive peak overlap rendered a proper Rietveld analysis impossible. Nevertheless, a rough quantitative estimate of the phase composition of the trimorphic sample could be obtained applying X'Pert Highscore Plus.³⁶ Typically, the solution-cast samples contain 20% Form I, 50% Form II, and 30% Form III.

Stability of Form II. Next, with this sample at hand, stability tests of Form II had been performed using PXRD. As mentioned earlier, these experiments need to be performed in an absolutely dry environment to prevent solution-mediated transformations via hydrous surface films. When refraining from this precaution the transformation of Form II into Form I was completed within 4 h. Therefore, to exclude humidity, the sample was transferred into a drybox immediately after crystallization. The sample was then loaded into a Parr XRK-chamber which was sealed under argon in the drybox. PXRD patterns were measured in regular time intervals between 5 and 22 ° 2θ at 25 °C. The sample was spun during measurement. Please note that due to this elaborate sample preparation, the first measurement could be taken after a time lag of 6 h.

Under dry argon the transformation of Form II into Form I was very slow. The intensities of the two reflections unique to Form II (210 and 320) decrease steadily. Please note that these

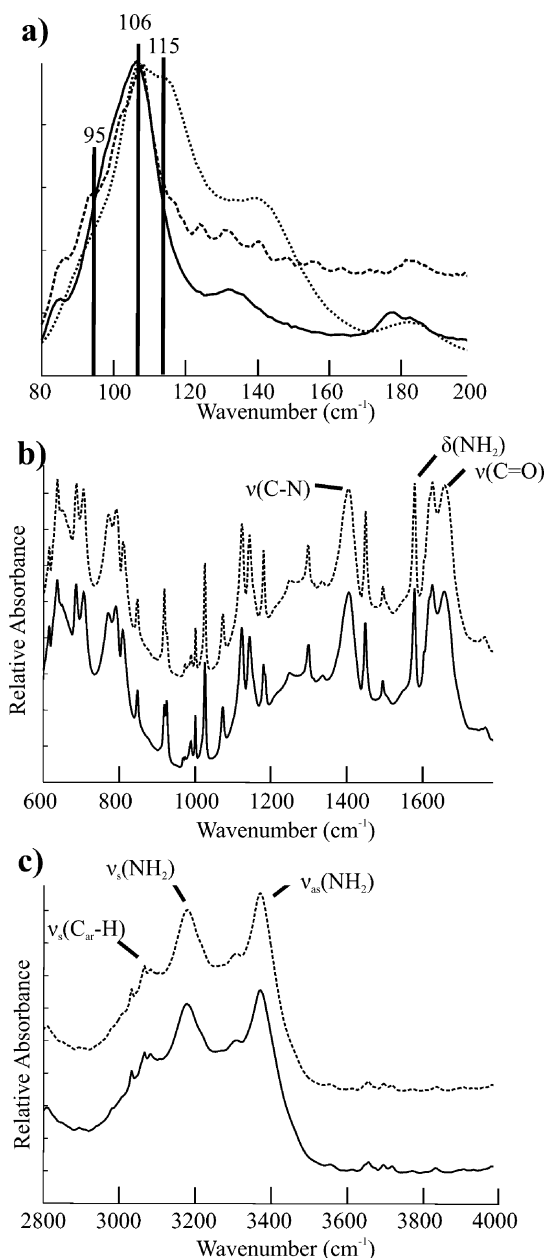


Figure 7. Vibrational spectroscopy of Forms I, II, and III. (a) Raman spectra of the pure Form I (solid line), a mixture of Form I and III (dashed line) and a mixture of all three Forms (dotted line). (b, c) FTIR spectra of pure Form I (solid line) and a mixture of Form I and III (dashed line).

Table 2. Details of IR-Frequencies for Form I and a Mixture of Form I and Form III

	Form I	Form I + III
$\nu(\text{C}-\text{N})$ [cm^{-1}]	1405	1403
$\delta(\text{NH}_2)$ [cm^{-1}]	1625	1625
$\nu(\text{C}=\text{O})$ [cm^{-1}]	1656	1657
$\nu_s(\text{NH}_2)$ [cm^{-1}]	3177	3178
$\nu_{as}(\text{NH}_2)$ [cm^{-1}]	3371	3370

unique reflections are not the most intense. Their intensities as calculated from the published structure are 30% and 80%, respectively. Please note that the 130 reflex which overlaps with 320 reflex has only negligible intensity (<1%).

In contrast to what has been reported by Blagden et al.,²⁹ even after more than two weeks Form II is still visible in the PXRD (Figure 5). Within 264 h the content of Form II is reduced from 50% to approximately 20%. Unfortunately, due

to texture and peak overlap quantitative analysis is not reliable enough to allow a detailed study of the kinetics.

The observed transformation behavior is indeed in line with the proposed solid–solid interconversion of Form II into Form I. A definite proof would require the investigation of the temperature dependence of the phase transformation. Unfortunately, this experiment is hampered by the relatively high vapor pressure of benzamide (5.6 mPa at 20 °C). When recording PXRD at 50 °C the solution-cast films on the zero background plate rapidly evaporate within 2 h. Please remember that PXRD in sealed capillaries is impossible due to the facile tribological conversion of Form II.

Discussion of the Crystal Structures. All three structures are built up by the same primary building unit, a dimer of benzamide. These dimers are connected by further hydrogen bonds to form long ribbons along the short axis of the unit cells which all are around 5.0 Å (Table 1). These ribbons are then, however, packed in three distinct patterns. These significant differences in the observed packing motifs are triggered by the second-ranking intermolecular interactions, the π – π interactions of the benzyl moieties. The favored π – π interaction motifs are shifted π -stack and T-shaped interactions resulting in herringbone-type motifs.³⁷ Both of these energetically favored π – π stacking motifs, though in varying fractions and characteristics, are observed within the three forms of benzamide (Figure 6).

Form I is dominated by shifted π stacks while in Form II and Form III a herringbone pattern like arrangement is observed. Recently published computational results showed that the lattice energies of Form I and Form III lie in close quarters (–65.132 kcal mol^{–1} per molecule, –65.055 kcal mol^{–1} per molecule, respectively), while Form II is clearly less stable (64.355 kcal mol^{–1} per molecule).³⁸ This is in line with the observed relative stabilities.

Vibrational Spectroscopy. Applying the different crystallization experiments we were now able to obtain pure Form I, a biphasic mixture of Form I and Form III, and a triphasic mixture of Form I, Form II, and Form III. Both mixtures proved to be stable over longer periods of time as indicated by the PXRD experiments, which allowed further characterization. For these samples both Raman and IR-spectra were recorded. Recalling the very similar primary and secondary building units, as discussed above, the most pronounced differences are expected in the range of soft phonon modes. In line with these expectations, the low wavenumber region of the Raman spectra of a triphasic mixture, a biphasic mixture and that of a pure Form I showed pronounced differences (Figure 7). For Form I a significant band was observed at 106 cm^{–1}, while in the biphasic mixture at least one other band could be identified at around 95 cm^{–1}. In the triphasic mixture yet another band was obvious at 115 cm^{–1}, which was previously assigned to Form II by Blagden et al.²⁹ Consequently, the band at 95 cm^{–1} should be attributed to Form III.

The IR spectra were recorded by incorporating finely divided benzamide into a KBr disk (Figure 7b,c). Grinding and pressing leads to a tribological transformation of Form II. Therefore, only pure Form I and the biphasic mixture of Form I and Form II could be measured. While Blagden et al.²⁹ found small shifts and some differences in intensities when comparing IR spectra of selected areas rich in Form I or Form II, respectively, the IR-spectra observed for Form I and the biphasic mixture are very similar in the long wavenumber region. Only very minor shifts in some vibration modes can be identified (Table 2).

Solid-State NMR Spectroscopy. For further characterization ¹³C CP-MAS spectra of benzamide were recorded. Recently,

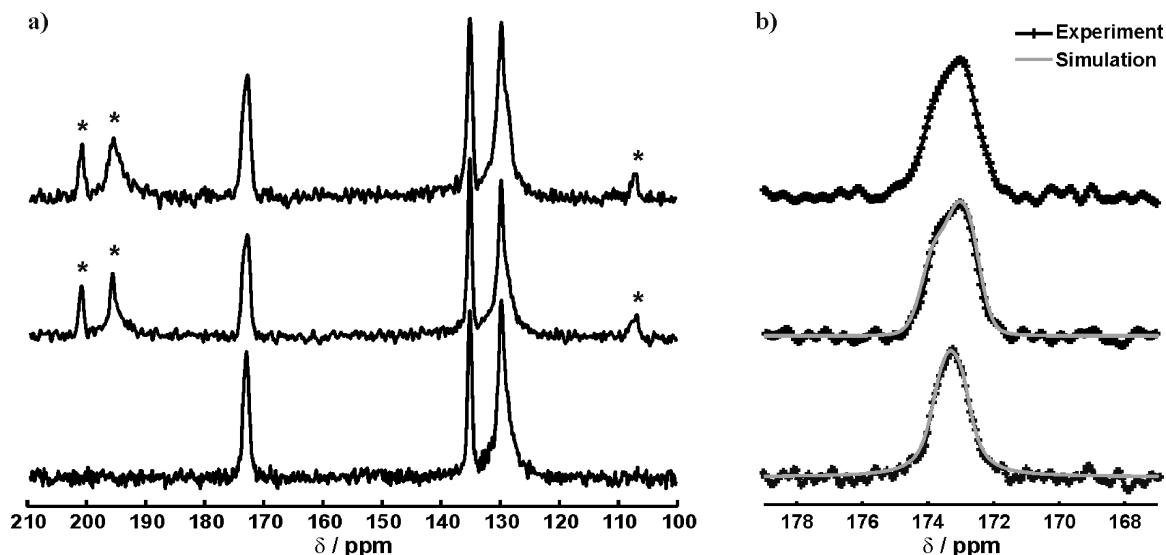


Figure 8. ^{13}C CP-MAS spectra of a mixture of Forms I and III at a field of 7.0 T (top) and of 9.4 T (bottom) as well as a ^{13}C CP-MAS spectrum of Form I at a field of 7.0 T (middle): (a) complete spectrum. Asterisks denote spinning sidebands; (b) experimental carbonyl resonance (black) and the corresponding simulated spectra (gray).

we presented the spectrum of a mixture of Forms I and III measured at a field of 7.0 T.²² This spectrum revealed resonances between 125 and 136 ppm which were assigned to the phenyl carbon atoms and a further resonance at 173 ppm representing the carbonyl group (see top of Figure 8a). The carbonyl signal turned out to be asymmetric which was interpreted as two individual resonances according to the two different forms of benzamide (see top of Figure 8b).

In order to gain a better resolution of these two signals we now additionally measured a spectrum of the mixture of Form I and Form III at a higher field of 9.4 T. However, contrary to our expectation the carbonyl signal proved to be narrowed and more symmetric at this field (see bottom of Figure 8b). Thus, the asymmetry of the signal cannot arise from a splitting due to the existence of two individual resonances. This finding is supported by the fact that the spectrum of pure Form I at a field of 7.0 T also reveals the asymmetry for the carbonyl signal although there is only one unique molecule in the asymmetric unit which should give rise to a single symmetric and more narrow signal (see middle of Figure 8a,b).

A possible explanation for that effect can be found in the dipolar coupling of the carbonyl atom with the adjacent ^{14}N -quadrupolar amide nitrogen atom. In fact we could reproduce very well the asymmetry of this resonance when taking into account a quadrupole moment of -2.6 MHz ($\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$) for ^{14}N and a ^{13}C - ^{14}N dipole coupling of 924 Hz which reflects the crystallographical C-N distance of 1.33 Å. The corresponding simulations for both fields (7.0 and of 9.4 T) are shown in Figure 8b (middle and bottom). The values for the quadrupole moment are consistent with results found for other amides.³⁹

Surprisingly, the carbonyl groups of the two forms of benzamide exhibit nearly identical isotropic chemical shifts although the chemical shift interaction is usually very sensitive to the local electronic environment. These findings could be corroborated by chemical shift calculations of Form I and Form III which were carried out under periodic boundary conditions based on the experimentally determined structures (data not shown). They show that the chemical shifts of the two forms coincide within the accuracy of the calculations. Thus, in agreement with the IR data, the NMR spectra demonstrate a

high local similarity of Form I and Form III of benzamide. Unfortunately, the tribological lability of Form II inhibited the measurement of the NMR spectrum of the triphasic mixture.

Conclusion

176 years after the first observation of polymorphism in benzamide, the riddle of the metastable form reported by Wöhler and Liebig could be finally lifted and the crystal structure of this historical metastable form could be solved. This brings the total number of experimentally verified polymorphs of this most simple molecule benzamide up to three. Interestingly, all three crystal structures contain very similar primary (dimers) and secondary (ribbons) packing motifs realized through hydrogen bonding. The main difference is found in different π - π interaction motifs of the ribbons which vary from a shifted π -stack to a herringbone pattern motif.

Crystallization from hot benzene solutions ensured supersaturation levels which proved to be sufficient to induce nucleation of even the most metastable Form II. By this sample preparation method a triphasic mixture could be obtained that allowed the study of the long-term stability of Form II by PXRD analysis. Contrary to what has been reported by Blagden et al.,²⁹ Form II is surprisingly stable when ensuring an absolutely dry inert atmosphere. Although it could be confirmed that Form II slowly undergoes a solid-solid interconversion, exclusion of humidity expanded the "lifetime" of this most metastable form to more than 2 weeks. Similar needle-like morphologies are observed for both metastable Forms II and III. This calls for caution when assigning polymorphs of benzamide on the basis of morphology. So far, none of the metastable forms could be prepared as a pure phase. Avoiding secondary nucleation, followed by solution-mediated transformation and/or solid-solid interconversion asks for further tuning of the experimental conditions. Ideally this should go along and be guided by further time-resolved in situ measurements using synchrotron.

Moreover, the story of polymorphism in benzamide might even be extended beyond the currently known three forms. Recently published calculations identified the well-known catamer synthon as a packing motif with similar lattice energies as the experimentally known crystal structures.³⁷ However, due

to the high stability of benzamide dimers in solution, new methods will have to be applied to find a pathway for crystallizing this polymorph. High supersaturations and an environment which is capable of breaking the dimer bond are therefore needed. All these findings allow us to suggest that the story about polymorphism in benzamide still continues and also this very simple molecule seems to be a very complex system.

Acknowledgment. We would like to thank Dr. K. Eichele, University of Tübingen, for providing the simulation program WSolids1 and for his fast and detailed support.

References

- (1) Bernstein, J. *Polymorphism in Molecular Crystals*, 1st ed.; Oxford University Press: Oxford, 2002.
- (2) Alleso, M.; Van Den Berg, F.; Cornett, C.; Jorgensen, F. S.; Halling-Sorensen, B.; De Diego, H. L.; Hovgaard, L.; Aaltonen, J.; Rantanen, J. *J. Pharm. Sci.* **2008**, *6*, 2145–2159.
- (3) Barsky, I.; Bernstein, J.; Stephens, P. W.; Stone, K. H.; Cheung, E.; Hickey, M. B.; Henck, J. O. *Cryst. Growth Des.* **2008**, *1*, 63–70.
- (4) Deij, M. A.; van Eupen, J.; Meekes, H.; Verwer, P.; Bennema, P.; Vlieg, E. *J. Pharm.* **2008**, *1–2*, 113–123.
- (5) Harris, R. K.; Hodgkinson, P.; Larsson, T.; Muruganatham, A.; Ymen, I.; Yufit, D. S.; Zorin, V. *Cryst. Growth Des.* **2008**, *1*, 80–90.
- (6) Llinas, A.; Goodman, J. M. *Drug Discovery Today* **2008**, *5–6*, 198–210.
- (7) Nangia, A. *Cryst. Growth Des.* **2008**, *4*, 1079–1081.
- (8) Nangia, A. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *5*, 595–604.
- (9) Srivijaya, R.; Vishweshwar, P.; Sreekanth, B. R.; Vyas, K. *CrystEngComm* **2008**, *3*, 283–287.
- (10) Suitchmezian, V.; Jess, I.; Sehnert, J.; Seyfarth, L.; Senker, J.; Nather, C. *Cryst. Growth Des.* **2008**, *1*, 98–107.
- (11) Barbas, R.; Prohens, R.; Puigjaner, C. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2007**, *3*, 687–692.
- (12) Beckham, G. T.; Peters, B.; Starbuck, C.; Variankaval, N.; Trout, B. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *15*, 4714–4723.
- (13) Cabeza, A. J. C.; Day, G. M.; Motherwell, W. D. S.; Jones, W. *Chem. Commun.* **2007**, *16*, 1600–1602.
- (14) Chemburkar, S. R.; Bauer, J.; Deming, K.; Spiwek, H.; Patel, K.; Morris, J.; Henry, R.; Spanton, S.; Dziki, W.; Porter, W.; Quick, J.; Bauer, P.; Donaubaer, J.; Narayanan, B. A.; Soldani, M.; Riley, D.; McFarland, K. *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *5*, 413–417.
- (15) Lahav, M.; Leiserowitz, L. *Chem. Eng. Sci.* **2001**, *7*, 2245–2253.
- (16) Babu, N. J.; Reddy, L. S.; Aitipamula, S.; Nangia, A. *Chem. Asian J.* **2008**, *7*, 1122–1133.
- (17) Braga, D.; Giaffreda, S. L.; Curzi, M.; Maini, L.; Polito, M.; Grepioni, F. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2007**, *1*, 115–123.
- (18) Childs, S. L.; Hardcastle, K. I. *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 1291–1304.
- (19) Desiraju, G. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *44*, 8342–8356.
- (20) Trask, A. V. *Mol. Pharm.* **2007**, *3*, 301–309.
- (21) Wöhler, F.; von Liebig, J. *Ann. Pharm.* **1832**, *3*, 249–282.
- (22) Thun, J.; Seyfarth, L.; Senker, J.; Dinnebier, R. E.; Breu, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *35*, 6729–6731.
- (23) Bogajawlenksy, A. Z. *Z. Phys. Chem.* **1898**, *27*, 585–600.
- (24) Mueller, A. H. R. *Z. Phys. Chem.* **1914**, *86*, 177–242.
- (25) Mohr, E. *J. Prakt. Chem.* **1904**, 307–312.
- (26) Penfold, B. R.; White, J. C. B. *Acta Crystallogr.* **1959**, *2*, 130–135.
- (27) Bernstein, J.; Davey, R. J.; Henck, J. O. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *23*, 3441–3461.
- (28) David, W. I. F.; Shankland, K.; Pulham, C. R.; Blagden, N.; Davey, R. J.; Song, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *43*, 7032–7035.
- (29) Blagden, N.; Davey, R.; Dent, G.; Song, M.; David, W. I. F.; Pulham, C. R.; Shankland, K. *Cryst. Growth Des.* **2005**, *6*, 2218–2224.
- (30) Eichele, K.; Wasylishen, R. E. *WSolids1, Version 1.19.2* Dalhousie University: Halifax, 2008.
- (31) Ostwald, W. *Z. Phys. Chem.* **1897**, 289–330.
- (32) Boultif, A.; Louer, D. *J. Appl. Crystallogr.* **1991**, 987–993.
- (33) Kobayashi, K.; Sato, A.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *10*, 3035–3045.
- (34) Pawley, G. S. *J. Appl. Crystallogr.* **1981**, *14*, 357–361.
- (35) Engel, G. E.; Wilke, S.; König, O.; Harris, K. D. M.; Leusen, F. J. J. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, 1169–1179.
- (36) *X'Pert Highscore Plus* Almelo, B. V. PANalytical: The Netherlands, 2005.
- (37) Grimme, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *18*, 3430–3434.
- (38) Thun, J.; Schöffel, M.; Breu, J. *Mol. Simulat.* **2008**, *10–15*, 1359–1370.
- (39) Eichele, K.; Lumsden, M. D.; Wasylishen, R. E. *J. Phys. Chem.* **1993**, *35*, 8909–8916.

CG801347D

A.3 Crystal structure prediction could have helped the experimentalists with polymorphism in benzamide!

Crystal structure prediction could have helped the experimentalists with polymorphism in benzamide

Juergen Thun, Markus Schoeffel and Josef Breu*

Department of Inorganic Chemistry I, University of Bayreuth, Bayreuth, Germany

(Received 30 January 2008; final version received 16 May 2008)

Benzamide was the first molecular material for which polymorphism was reported, as long as 176 years ago. Unfortunately, due to very similar cell metrics leading to massive peak overlap, the metastable form reported by Liebig escaped structural characterisation by XRD until recently. With the help of crystal structure prediction this old riddle of 'Liebig's' polymorph of benzamide could have been solved many years earlier. Performing state of the art crystal structure prediction runs applying a commercial suite of programs (Cerius² and the MS Modeling) identified both the metastable and the thermodynamically stable phase reported by Liebig as low energy packings.

Keywords: crystal structure prediction; density functional theory; point charges; benzamide, polymorphism

1. Introduction

Polymorphism is a widespread phenomenon occurring with many known crystalline materials. Polymorphism describes the ability of crystalline material to crystallise in more than one crystal structure [1]. The physical and chemical properties like melting point, solubility and bioavailability may differ. The latter feature is of course of great interest in pharmaceutical research. As a consequence of these differing properties the crystal structure is relevant for patent licensing as well. The most famous and often cited example in this respect is the case of Ritonavir [2,3]. In most cases, an active pharmaceutical ingredient (API) is protected by a patent covering both, molecular and crystal structure(s). If additional crystal structures/metastable phases of this API can be obtained, this patent protection can be circumvented. Even a separate patent covering this new crystal structure can be applied for. In the dye industry the situation is comparable [4,5]. For these reasons a good knowledge about possible polymorphs is essential. Crystal structure prediction (CSP) represents a fast and cheap method of acquiring a general idea of local energy minima on the lattice energy hyper surface. Several different techniques can be found in the literature and the success of these methods is checked regularly [6,7,8]. Rigid body calculations allow a very accurate description of the intermolecular potentials using distributed multipole analysis [9,10,11]. But these techniques are more costly and at the same time a view on the results presented here would suggest that the precision of the force field cannot be improved significantly. Things become even more complicated when flexible bodies are used during the minimisation

procedure. The use of quantum mechanically derived monopole charges is much less demanding and yields comparable accuracies in respect to lattice parameters, as will be shown later on. The energy ranking will be more exact using distributed multipoles [12] but for a first overview of possible polymorphs and their packing motifs monopole charges are adequate. Nevertheless, CSP still is a challenging and tricky task to perform, especially for the API molecules the pharmaceutical industry is interested in. But even small molecules may still pose challenges. Benzamide appears to be a very good benchmark for CSP because it is a small molecule with only one torsional degree of freedom (see Figure 1). In total, by now three polymorphs of this small molecule have been identified experimentally [13]. The lattice energies of two phases reported by Liebig (phase I and phase III) lie at close quarters and the plate like crystals of phase I have been regarded as to be the global minimum structure. Phase II reported by Davey et al. [16] appears to be a highly metastable or even transient packing. The task was to reproduce these known polymorphs by CSP. A state of the art approach was taken using different force fields (point charge models) in combinations with the commercial Cerius² [14] and MS Modeling suite of programs [15] for global optimisation. Of course, all predictions had been performed without implementing any knowledge about the different packing motifs found experimentally for these three polymorphs.

2. Brief summary of crystallographic details

All three polymorphs (see Table 1) show a similar hydrogen bonding motif [16,17,13]. Two benzamide molecules form

*Corresponding author. Email: josef.breu@uni-bayreuth.de

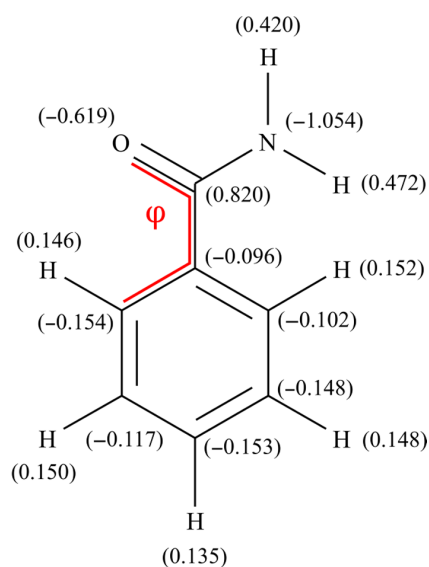


Figure 1. A benzamide molecule showing the torsion angle ϕ and the Gaussian03 calculated partial charges in brackets.

hydrogen-bonded dimers and are connected by further hydrogen bonds to form long ribbons along the short axis of the unit cell (see Figure 2). Interestingly, despite the similar hydrogen bonding motifs, the π - π interactions are quite different. In phase I a so-called shifted π stack is realised, while phase II and phase III show a herringbone pattern like arrangement (see Figure 3). So you can find all low energy π - π interaction motifs realised within the different crystal structures of the same molecule. One major difference lies in the number of symmetry independent molecules. While phase I and phase III contain only one independent molecule in the asymmetric unit cell, phase II contains two independent molecules. CSP runs with more than one independent molecule still represent a challenge for the established algorithms [6].

3. Computational methods

3.1 Method of generating the molecular structure and charge

3.1.1 Geometry

During the global optimisation applying a Monte-Carlo (MC) algorithm as implemented in the Cerius² [14] and

Table 1. Crystallographic details of phase I [17], phase II [17] and phase III [13].

	Phase I	Phase II	Phase III
$a/\text{\AA}$	5.607	17.4317(2)	5.0551(1)
$b/\text{\AA}$	5.046	14.1944(3)	5.5141(1)
$c/\text{\AA}$	22.053	4.977(1)	22.9565(9)
$\beta/^\circ$	90.66	–	101.292(2)
Volume/ \AA^3	624.25	1231.4(3)	627.50(3)
Space group	$P2_1/c$	$Pba2$	$P2_1/c$
Z'	1	2	1
Z	4	8	4

MS Modeling suite of programs [15], all molecules are held rigid. Therefore, in CSP runs for molecules that possess internal degrees of freedom, several different starting conformers should be used to get a reliable sampling over the whole potential energy surface. Since benzamide has only one torsional degree of freedom, low energy starting conformers could easily be identified by a grid search technique. The torsion angle ϕ (see Figure 1) was modified from 0° up to 90° and a geometry optimisation of the gas phase molecules was performed with the Forcite module within the Material Studio[®] software [15] using Gasteiger charges [18] and the Dreiding 2.21 force field [19]. Unsurprisingly, only one minimum structure could be found at 0° torsion. As a second starting conformer, the saddle point on the gas phase energy hyper surface was chosen which has 90° torsion. Please note, that these molecular structures used in the MC runs differ significantly in respect to the torsion angles from the experimentally found ones (about 30°). No bias regarding the molecular structure found experimentally was allowed in the CSP runs.

3.1.2 Choice of force field

Different density functional theory (DFT) methods had been used to derive several sets of partial charges that best represent the molecular electrostatic potential of benzamide. In Material Studio DMol³ [20,21] was used with a DNP basis set and the GGA-PBE functional and also the GGA-PW91 functional. The atomic charges were then fitted so as to reproduce the electrostatic potential (ESP)

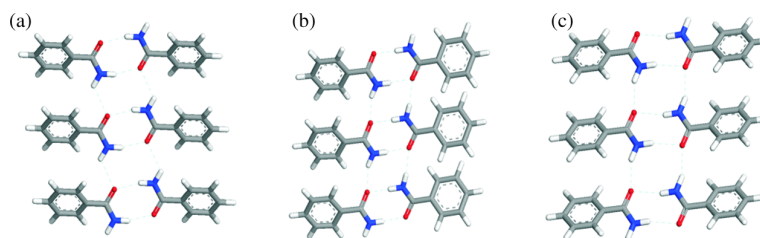


Figure 2. Hydrogen bonded networks. View along the short axis of the unit cells. (a) phase I; (b) phase II and (c) phase III. Dashed blue lines show the hydrogen bonds.

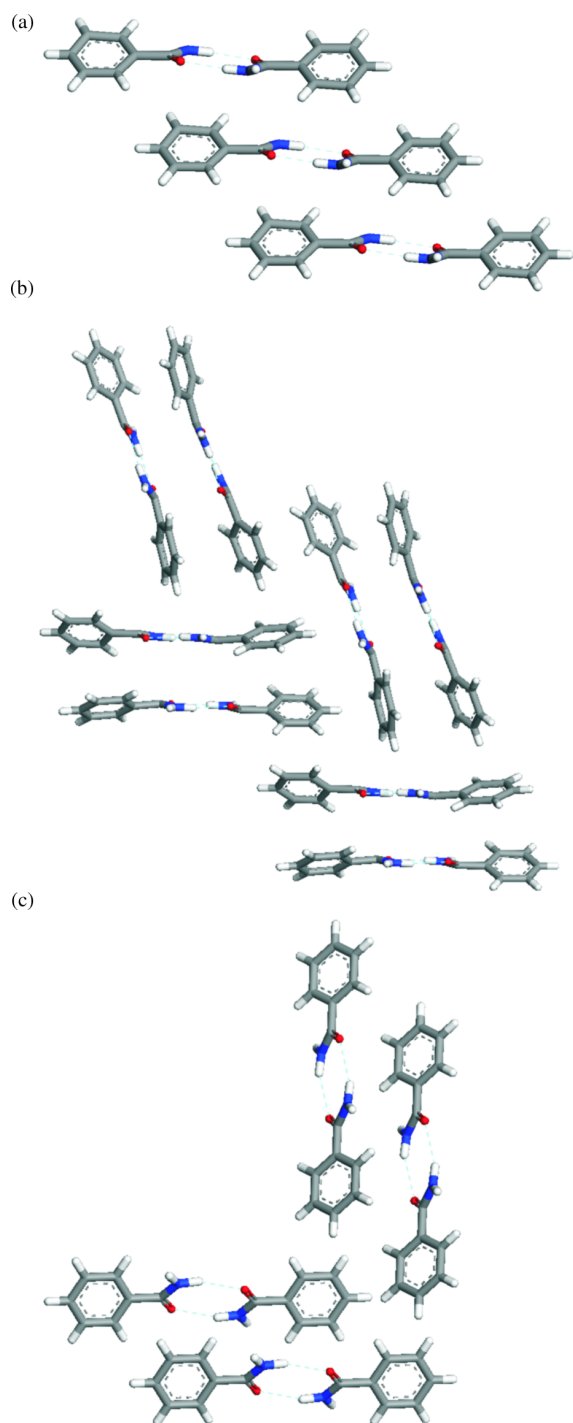


Figure 3. A projection along the ribbon axes shows the π - π interactions in the different forms. (a) phase I, view along [010]; (b) phase II, view along [001] and (c) phase III, view along [100].

[22,23]. Additionally, ESP derived partial charges have been obtained in the same manner by using Gaussian03 [24] with a 6-311++G(d,p) basis set and the PBE1PBE[25] or the B3LYP hybrid functional [26,27], respectively. Both Gaussian03 calculations produced the

same set of partial charges. Next, a quality check of the calculated sets of point charges in combination with different force fields had been performed using the crystal structure of the accurately known phase I as a benchmark. The molecules had been treated as flexible bodies during the geometry optimisation within the Forcite module and no further constraints had been introduced. The best results as judged by the deviation in cell constants could be obtained by using the Dreiding 2.21 force field in combination with the Gaussian03 point charges. Using the COMPASS force field or partial charges based on DMol³ calculations lead to larger deviations. The details can be seen in Table 2. When comparing the experimental lattice parameters with the parameters obtained after lattice energy minimisations deviations of less than 5% were regarded acceptable. The good agreement achieved using the Gaussian03 set of partial charges in combination with the Dreiding 2.21 force is reassuring and thus this force field was used for all subsequent calculations. Special caution has been taken to assure that the cost function in both program suites applied in global optimisation was indeed identical. For instance, as Ewald summation was used throughout all geometry optimisations and lattice energy calculations for both Coulomb and dispersion forces, it was assured that the same set of accuracies (0.000001 kcal/mol) was applied.

3.2 Generating trial crystal structures

3.2.1 Cerius²

A Monte-Carlo simulated annealing algorithm [28,29,30,31] as implemented in the Cerius² software suite was used. The nine most commonly observed space groups ($P2_1/c$, $P\bar{1}$, $P2_12_12_1$, $P2_1$, $C2/c$, $Pbca$, $Pnma$, $Pna2_1$ and $Pbcn$) were searched with one molecule in the asymmetric unit. The space groups $P\bar{1}$, $P2_1$, $P2_1/c$, $P2_12_12_1$ and $Pna2_1$ were also searched with $Z' = 2$. The space group $Pba2$, the space group experimentally observed for phase II, is not available for CSP in the used Cerius² suite of programs. Therefore, additionally a search in $Pna2_1$ was performed. $Pna2_1$ is a subgroup of $Pba2$ and can be represented by a unit cell doubled along the c -axis. Consequently, this further search in $Pna2_1$ had to be performed with $Z' = 4$. Rigid bodies were used throughout the simulated annealing procedure. Two different conformations with a 0° or 90° torsion angle ϕ , respectively, were used as rigid bodies. Because the balance between intra- and intermolecular energies was neglected during the MC runs, initially rather loosely packed trial crystal structures are generated. At least three independent repeats had been performed with each of the two different starting conformers until a convergence in low energy structures could be found. Each run consists of 7000 MC steps and yielded an acceptance ratio of about 60%.

Table 2. Relative energies and unit cell parameters^a of the observed and energy minimised crystal structures of phase I using Gaussian03 PBE1PBE ESP-charges (Gaus) and DMol³ PBE ESP-charges (DMol) in combination with the Dreiding 2.21 (drei) and COMPASS (com) force field within MS Modeling.

	<i>a</i> /Å	<i>b</i> /Å	<i>c</i> /Å	β /°	ρ /g cm ⁻³	Energy ^b /kcal mol ⁻¹
Obs.	5.607	5.046	22.053	90.66	1.287	
Gaus _{drei}	- 2.2	- 2.3	4.4	0.7	1.293	- 63.859
DMol _{drei}	6.6	1.8	- 2.1	1.7	1.285	- 48.388
Gaus _{com}	- 8.6	14.7	- 1.2	- 11.3	1.261	- 80.207
DMol _{com}	- 3.8	2.1	0.0	- 5.3	1.223	- 33.048

^aExperimental lattice parameters and, in italics, lattice parameters for minimised structures given as a percentage difference from the experimental values.

^bEnergy per molecule.

3.2.2 MS Modeling

All above mentioned space groups had been searched as well with the Monte-Carlo algorithm as implemented in the MS Modeling suite of programs. Additionally, the space group *Pba2* had been examined by using $Z' = 2$. In all space groups at least three independent repeats had been performed with each of the two different starting conformers until a convergence in low energy structures was assured. As in the Cerius² calculations, 7000 MC steps had been performed and also yielded about 60% of acceptance.

3.2.3 Geometry optimisation

For both, the Cerius² and the MS Modeling MC algorithms, a clustering algorithm limits the number of accepted crystal structures to 500 after each simulated annealing run. The geometry optimisation of 500 structures can be handled with ordinary cpu-power within a few hours or days depending on the degrees of freedom in the explored space group. The clustering of the structures is based on the similarity of their radial distribution functions. The molecular flexibility was introduced directly after the clustering and all accepted crystal structures were energy minimised with the force field described before. At this stage, all structural parameters like lattice parameters, molecular positions, orientations and conformations were relaxed. After geometry optimisation, the density of all crystal structures reaches 1.1–1.4 g cm⁻³ compared to 0.3–0.8 g cm⁻³ before the minimisation.

3.2.4 Ranking of structures

After a final clustering, the calculated crystal structures were ranked on the one hand according to their total energy and on the other hand according to their density. At least 20 structures with low energy and 20 structures with high density were also compared ‘by eye’ attempting to identify the packing motifs of the experimentally known polymorphs. The unit cells of interesting predicted crystal structures were transformed into the standard settings applying LePage as implemented in Platon [32].

4. Results and discussion

4.1 Prediction for $Z' = 1$

4.1.1 Cerius² results

The predicted structures with the lowest lattice energies were found in the space group *P2₁/c* and two structures clearly break away in the energy density plot (see Figure 4) with very similar energy and density. These two predicted structures are the most densely packed crystal structures and have the lowest achieved energy that have been found in all runs and they can be assigned to phase I and phase III, respectively (see Table 3). The details of the predicted and the experimentally observed packing motifs, a shifted π stack for phase I and a herringbone pattern for phase III, are in close agreement (see Figure 5). The maximum error of the predicted lattice parameters amounts to 5.7% and also the experimentally observed torsion angles ϕ were predicted very well within errors of about 8 and 5% for phase I and III, respectively. Please note that the starting conformers used during MC exhibited either a 0° or 90° torsion angle ϕ and the point charges had been calculated and fitted to the electrostatic potential of the gas phase minimum. Taking this into account, the agreement of predicted and experimental torsion angles is astonishing. It is expected that a more accurate description of the

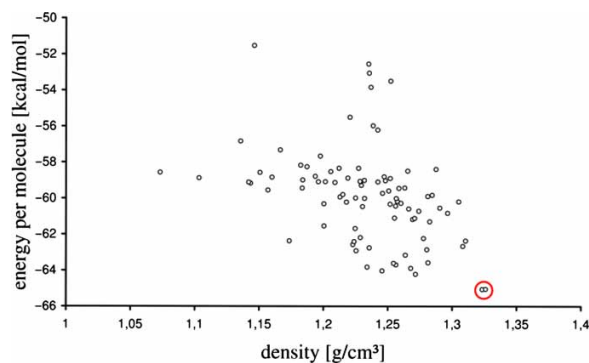


Figure 4. Energy-density plot in the space group *P2₁/c* (Cerius² runs). Packings corresponding to phase I and phase III are circled.

Table 3. Comparison of the predicted and observed structural parameters and total energies for phase I and phase III (Cerius² calculation).

Parameter	Phase I			Phase III		
	Cerius ²	Exp.	$\Delta/\%$	Cerius ²	Exp.	$\Delta/\%$
$a/\text{\AA}$	5.318	5.607	-5.2	4.902	5.055	-3.0
$b/\text{\AA}$	4.905	5.046	-2.8	5.232	5.514	-5.1
$c/\text{\AA}$	23.315	22.053	5.7	23.778	22.957	3.6
$\beta/^\circ$	91.71	90.66	1.2	95.75	101.29	-5.5
$\rho/\text{g cm}^{-3}$	1.323	1.287	2.8	1.326	1.282	3.4
$\phi/^\circ$	30.54	33.20	-8.0	30.18	28.84	4.6
Energy ^a /kcal mol ⁻¹	-65.132			-65.055		

^aEnergy per molecule.

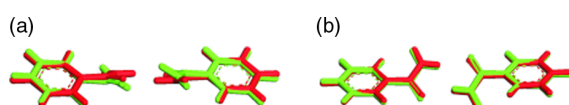


Figure 5. Overlay of the Cerius² predicted (red) and observed (green) dimers of (a) phase I and (b) phase III.

electrostatic interactions could be achieved using distributed multipole moments. However, results recently published by Karamertzanis et al. show only slightly smaller deviations [33]. Even with our very simple charge model, the density and even torsions could be reproduced within nearly the same error limits. For a small molecule like benzamide, there seems to be no need for a more accurate description of the electrostatics, which of course would be much more time consuming. Even the energy ranking of both predicted structures is in agreement with experiment (see Table 3). The lowest energies of predicted structures in the other searched space groups had been around $-62 \text{ kcal mol}^{-1}$ per molecule and the density was less than 1.28 g cm^{-3} .

4.1.2 MS Modeling results

The experimentally observed polymorphs, phase I and phase III, could be identified as low energy/high density structures with the MS Modeling suite of programmes as well (see Figure 6). The predicted crystal structures compare very well with the experimentally observed ones (see Table 4 and Figure 7) and structural differences between the Cerius² predicted structures and the MS Modeling predicted ones are very small (compare Tables 3 and 4).

Also, a final single point energy calculation applying Cerius² on phase I and phase III as predicted in MS Modeling yielded within calculational errors the same lattice energies as the Cerius² predicted ones (compare Table 3 and Table 5) and the gradients were negligible. However, the absolute values between Cerius² and MS Modeling differ by roughly 1 kcal/mol as can be seen in Table 5. The difference occurs within the intramolecular part of the total energy. Although we intended to apply the very same force field parameters and precision in calculations, surprisingly the intramolecular fraction of the total energy is more positive within MS Modeling.

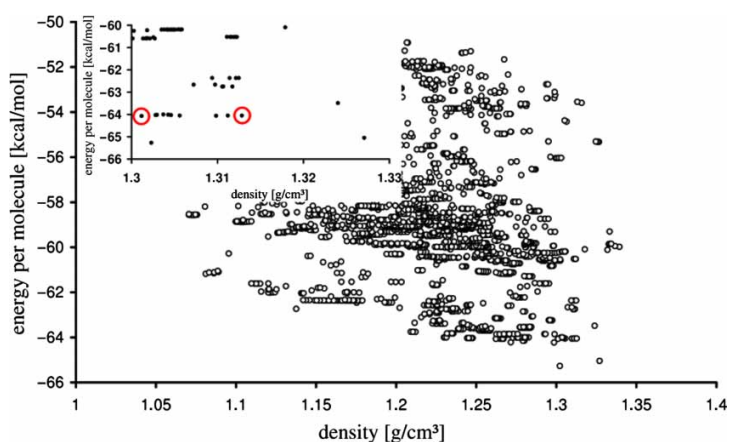


Figure 6. Energy-density plot in the space group $P2_1/c$. (MS Modeling runs). The inset shows a close up of the high density and low energy region. Packings corresponding to phase I and phase III are circled.

Table 4. Comparison of the predicted and observed structural parameters and total energies for phase I and phase III (MS Modeling 4.0 calculation).

Parameter	Phase I			Phase III			lowest energy structure	highest density structure
	MS Mod.	Exp.	$\Delta/\%$	MS Mod.	Exp.	$\Delta/\%$		
$a/\text{\AA}$	5.322	5.607	-5.1	4.904	5.055	-3.0	3.477	11.787
$b/\text{\AA}$	4.905	5.046	-2.8	5.232	5.514	-5.1	7.795	5.914
$c/\text{\AA}$	23.316	22.053	5.7	23.776	22.957	3.6	18.912	12.777
β°	91.66	90.66	1.1	95.83	101.29	-5.4	145.06	137.37
$\rho/\text{g cm}^{-3}$	1.301	1.287	1.1	1.326	1.282	3.4	1.302	1.334
$d/\text{\AA}$	30.72	33.20	-7.5	30.17	28.84	4.6	13.49	21.27
Energy ^a /kcal mol ⁻¹	-64.065			-64.052			-65.070	-59.858

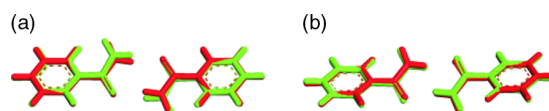
^a Energy per molecule.

Figure 7. Overlay of the MS Modeling predicted (red) and observed (green) dimers of (a) phase I and (b) phase III.

Unfortunately, in the Version 4.0 of MS Modeling there is no force field editor for the Dreiding force field, which rendered a final analysis, of the origin of this divergence, impossible. This difference in lattice energies comes down to a different balance/weighting of inter- and intramolecular energies in Cerius² and MS Modeling. This in turn might explain, why the global optimisation runs identified different local minima (see below).

There is also a quite pronounced difference in the energy ranking of the generated crystal structures. While in the Cerius² prediction phase I and III could be found on position one and two, respectively, the energy ranking position after the MS Modeling prediction has been 3 and 12, respectively. The insert of Figure 6 shows that many structures with a similar energy had been predicted, but the arrangement of the molecules is quite different. A density ranking placed both predicted phase I and phase III on position 30 for phase I and 13 for phase III, respectively. This result is not influenced by the molecular structure used in the prediction. The starting conformer with a 90° torsion angle φ yielded similar results. Taking a closer look on the predicted lowest energy structure pronounced differences in the packing motif as compared with the known phases are obvious, especially in respect to the hydrogen bonding pattern (see Figure 8(a)). This structure contains no dimers, the benzamide molecules only form hydrogen-bonded chains along the short axis of the unit cell. This catamer synthon is frequently found for carbonic acids [34]. The contribution of the hydrogen bonding to the electrostatic energy is less attractive than in the above mentioned crystal structures of phase I and III, but the van der Waals interaction is slightly more favourable leading to a lower total energy. This suggests that the odds to crystallise this polymorph should increase in strongly hydrogen bonding solvents that are capable to break up the benzamide dimers in solution.

Interestingly, the most densely packed structure also contains chains of hydrogen-bonded molecules along the short axis of the unit cell, but in this case some kind of a zig-zag orientation was realised (see Figure 8(b)). The hydrogen bonding part of the non-bonding energy again is less attractive as compared to the energies of the experimentally known phase I and phase III, because the strong hydrogen bonds within the benzamide dimers are not realised. Looking on the $\pi-\pi$ interactions, a shifted π stack had been realised for the lowest energy structure, while the

Table 5. Single point intra- and intermolecular energies of phase I and phase III as predicted in MS Modeling.

Energy ^a kcal mol ⁻¹	Phase I		Phase III	
	MS Mod	Cerius ²	MS Mod.	Cerius ²
Intramoleculare	8.478	7.411	8.451	7.448
Bond	1.974	1.776	1.982	1.753
Angle	2.948	2.547	2.945	2.565
Torsion	3.428	2.958	3.389	2.993
Inversion	0.128	0.130	0.135	0.137
Intermoleculare	-72.543	-72.543	-72.503	-72.503
Hydrogen bond	-6.744	-6.744	-6.735	-6.735
Van der Waals	2.855	2.855	2.821	2.821
Electrostatic	-68.654	-68.654	-68.589	-68.589
Total	-64.065	-65.132	-64.052	-65.055

^aEnergy per molecule.

highest density structure shows a tilted herringbone pattern arrangement. One C—H bond is pointing to the middle of a neighbouring benzene ring. Nevertheless, the total energy of this structure is about 5 kcal mol⁻¹ per molecule higher compared to the lowest energy structure.

4.1.3 Discussion

Although the methods should be nearly identical, the results of the calculations with the two programs appear quite diverse and might lead to different conclusions on either the choice of method or more generally on the usefulness of crystal structure prediction. On a first glance, Cerius² appears to give a much clearer picture: The known phase I and phase III are found as the lowest energy crystal structures – a result that would be very useful if it was general and reproducible also for other molecules. The same set of calculations performed within the MS

Modeling suite of programs also finds phase I and III, but quite far up the list of structures – a less useful result? Apparently, the global optimisation of MS Modeling is more thorough and is capable of identifying additional low energy/high density packings. As mentioned above, a possible reason for the better performance of the global search might be the differing balance/weighting of intra- and intermolecular contributions to the total energy.

A final single point energy calculation of the MS Modeling predicted lowest energy structure within the Cerius² suite shows clearly, that the global optimisation within Cerius² seems to be incomplete. This structure is assigned the lowest energy also within Cerius² (-66.053 kcal mol⁻¹ per molecule) and hence Cerius² failed to identify this valid global minimum.

In summary, two alternative conclusions may be drawn:

On one hand, the experimental screening may not be exhausted. This would be the more expedient result for experimentalists and might possibly lead to the identification of another polymorph. This result would pass the ball back to the experimentalists and ask for further polymorph screening experiments.

On the other hand, if the experimental screening has indeed been exhausted, it would suggest that the cost function applied is not sufficiently precise and therefore the ranking of phase I and III is wrong. This would pass the ball into the field of the prediction community and asks for further improvements of force fields.

Nevertheless, could this excellent agreement of the predicted and the experimentally observed crystal structures have helped to earlier identify the metastable polymorph reported by Liebig? This phase III managed to 'hide' behind the stable phase I for such a long time because the metric of the unit cell is very similar to the one of phase I and peak overlap is severe [13]. Since phase III can only be obtained as a 50:50 mixture with phase I, it was therefore simply overlooked.

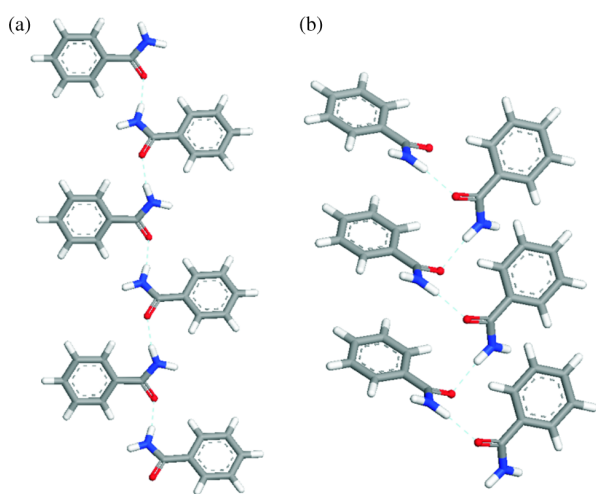


Figure 8. Hydrogen bonding pattern in the predicted structures with (a) the lowest energy and (b) the highest density.

Obviously, even such small deviations in cell axes and relative coordinates as observed in this CSP greatly affects both, the positions and the intensities of the diffraction peaks. The differences between the calculated and experimentally observed X-ray powder diffraction pattern (PXRD) are immense (Figure 9). It is hard to imagine that any person or algorithm would have been able to identify phase III in the overlapping experimental PXRD trace of the mixture accessible in the experiment with the help of the PXRD calculated using the predicted structure. The lattice energy as calculated using classical force fields is inappropriate to be used as the only cost function for structure solution in real space. However, it is obvious from the calculated diffraction patterns that the very first low angle peaks (around $5^\circ 2\theta$) of the two predicted phases are overlapping while in the experimental trace a shoulder is visible. Consequently, with some trust in the CSP results it could have appeared that the experimental trace might not be pure phase I as has been assumed for such a long time but a mixture of the two low energy structures.

4.2 Prediction for $Z' > 1$

4.2.1 Cerius² results

The experimentally observed crystal structure of phase II could not be found in either of the prediction runs in $Pna2_1$ with $Z' = 4$ using starting conformers with 0° or 90° torsion angle. Therefore, starting conformers with torsions as observed in the known packing motif of phase II had been included as a bias in the MC runs, again without success. Additionally, benzamide dimers and pairs of dimers as observed in the crystal structure of phase II had

also been applied as rigid units during the Monte-Carlo algorithm. The ESP-derived partial charges had been calculated for these oligomeric units with Gaussian03 and the afore-mentioned basis set and functionals. Despite all these additional efforts that have been severely biased by knowledge from the experimentally determined structure, phase II could not be obtained by CSP.

A search in the space group $P\bar{1}$ with $Z' = 2$ found phase I and phase III. The predicted crystal structures fit quite well with experimental structures, but the prediction of phase III showed bigger deviations as compared to the runs in space group $P2_1/c$ and the energies were higher (see Table 6). These calculations showed, that a crystal structure prediction with more than one molecule within the asymmetric unit is in principle possible for benzamide.

4.2.2 MS Modeling results

Although in MS Modeling, prediction runs in space group $Pba2$ and $Z' = 2$ were accessible, phase II could not be identified either. The same biased rigid units as described in the preceding paragraph had been used, again without any mentionable results.

However, as with Cerius², phase I and phase III can also be identified in a search in the space group $P\bar{1}$ and two independent molecules within the asymmetric unit (see Table 7). This suggests that the problems encountered in predicting phase II are not necessarily related with the fact that one has to deal with $Z' = 2$. Preliminary results on quenched MD simulation runs starting with the experimentally known structure did not yield additional insights.

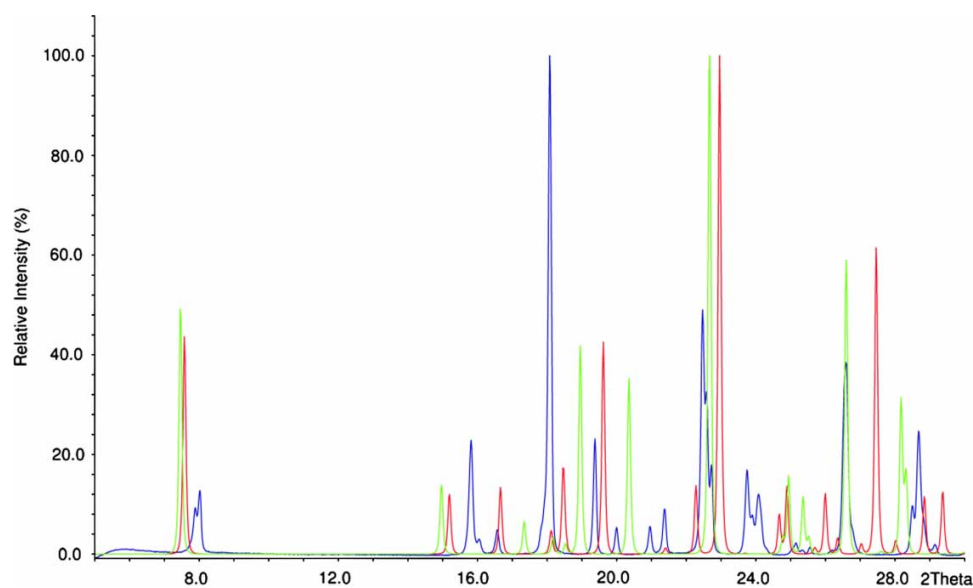


Figure 9. Experimental powder diffraction pattern (blue) combined with the calculated diffraction data of the predicted phase I (red) and phase III (green).

Table 6. Comparison of the predicted and observed structural parameters and total energies for phase I and phase III in $P\bar{1}$ (Cerius² calculation).

Parameter	Phase I			Phase III		
	Cerius ²	Exp.	$\Delta/\%$	Cerius ²	Exp.	$\Delta/\%$
$a/\text{\AA}$	5.559	5.607	-0.0	4.921	5.055	-2.7
$b/\text{\AA}$	4.923	5.046	-2.4	5.207	5.514	-5.6
$c/\text{\AA}$	23.132	22.053	4.9	25.044	22.957	9.1
$\beta/^\circ$	91.64	90.66	1.0	93.98	101.29	-7.7
$\rho/\text{g cm}^{-3}$	1.272	1.287	-1.2	1.257	1.282	-2.0
$\phi/^\circ$	30.76	33.20	-7.3	29.91	28.84	3.7
Energy ^a /kcal mol ⁻¹	-64.223			-63.348		

^aEnergy per molecule.

4.2.3 A closer look at phase II

To shed some light into the difficulties encountered with the prediction of phase II a simple static energy optimisation of the known phase II had been performed. The crystal structure of phase II had to be determined with a diffraction trace that suffered from two major drawbacks: A large and broad background caused by the solvent and peak overlap with the majority phase I (82.7% [17]). Therefore, it may be anticipated that the details of the crystal structure are less reliable. And indeed, the experimental crystal structure represents a saddle point in respect to the lattice energy as defined by the force field. Especially the van der Waals energy is highly positive (+66.75 kcal mol⁻¹ per molecule). Apparently there are some non-bonding contacts that are too short leading to highly repulsive forces that direct the static minimisation into a wrong secondary minimum. To avoid this, a stepwise approach was used to relax the experimentally known crystal structure of phase II. In the first step, all C-H bonds had been shortened to 0.9 Å and additionally the lattice parameters of the *a*- and *b*-axes had been inflated by about 10%. In the following two rigid body optimisations, no internal energies had been considered. During the first geometry optimisation only the orientation

of the rigid bodies had been allowed to relax within a fixed unit cell and during the second geometry optimisation additionally the lattice parameters had been optimised. A third optimisation run relaxed the molecules within the fixed unit cell and finally all parameters had been optimised. The final energy minimised crystal structure is close to the experimental structure. However, the deviation in the *b* axis still amounts to 10.5%. This suggests that the dimers cannot be accurately represented by standard force fields and this may contribute to the difficulties encountered in CSP of phase II. Apparently, phase II is very sensitive to small changes in the molecular geometry and therefore CSP is more severely hampered by inaccuracies in the force field and the negligence of balance of the inter-/intramolecular interactions during the MC runs. The calculated energy of phase II is very similar to the energies of phase I and phase III (see Table 8) and also the energy ranking is in good agreement with experimental results. Please note, that the energies published recently had been calculated without taking the internal energies into account (compare Thun et al. [13]). An overlay of the optimised and the experimental crystal structure shows the good agreement after the minimisation. In the relaxed structure, the hydrogen bonding within

Table 7. Comparison of the predicted and observed structural parameters and total energies for phase I and phase III in $P\bar{1}$ (MS Modeling calculation).

Parameter	Phase I			Phase III		
	MS Mod	Exp.	$\Delta/\%$	MS Mod	Exp.	$\Delta/\%$
$a/\text{\AA}$	5.329	5.607	-5.0	4.922	5.055	-2.6
$b/\text{\AA}$	4.907	5.046	-2.8	5.451	5.514	-1.1
$c/\text{\AA}$	23.256	22.053	5.5	23.730	22.957	3.4
$\beta/^\circ$	91.74	90.66	1.2	91.72	101.29	-9.4
$\rho/\text{g cm}^{-3}$	1.324	1.287	2.9	1.313	1.282	2.4
$\phi/^\circ$	33.15	33.20	0.0	32.98	28.84	14.4
Energy ^a /kcal mol ⁻¹	-64.052			-63.335		

^aEnergy per molecule.

Table 8. Cell parameters of the observed and energy minimised crystal structure of phase II using Gaussian03 PBE1PBE ESP-charges, the Dreiding 2.21 force field and a stepwise approach.

Parameter	Cerius ²	Exp.	$\Delta/\%$
$a/\text{\AA}$	17.095	17.432	-1.9
$b/\text{\AA}$	15.684	14.194	10.5
$c/\text{\AA}$	5.151	4.977	3.5
$\rho/\text{g cm}^{-3}$	1.165	1.307	-10.9
$\phi_1/\text{^\circ}$	24.68	38.77	36.3
$\phi_2/\text{^\circ}$	27.58	13.72	101.0
Energy ^a /kcal mol ⁻¹	-64.355	116.677 ^b	

^a Energy per molecule. ^b Single point energy calculation in Cerius² prior to lattice energy minimisation.

a benzamide dimer is more distinct as compared to the experimental structures due to a more favourable orientation of the two-amide groups (see Figure 10 and compare the change in the torsion angles ϕ_1 and ϕ_2 of both independent molecules in Table 8). In Figure 11 the herringbone motif is shown before and after refinement. After minimisation, the π -systems of two dimers lie perfectly above each other and a C–H group of one benzene ring points to the centre of a neighbouring benzene system. Nevertheless, also this relaxed structure could not be found in either of the performed simulations. Since the agreement in lattice constants of experimental and optimised phase II is mediocre, expectedly a comparison of the simulated and experimental powder pattern also shows pronounced differences (see Figure 12).

But clearly, phase II is a valid local minimum in the energy landscape of benzamide packings. In respect to energy

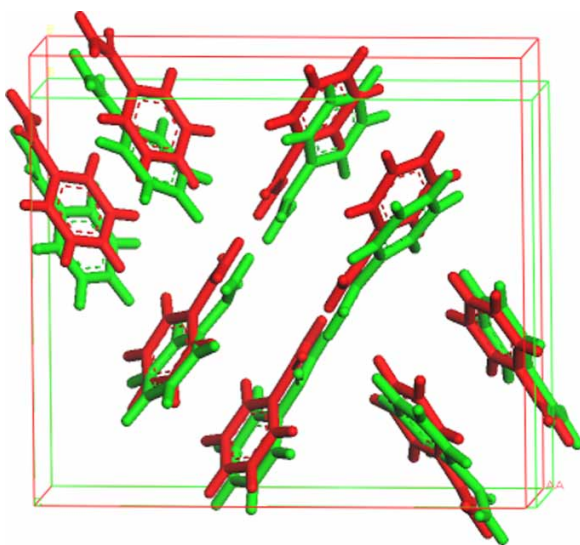


Figure 10. Overlay of the optimised (red) and experimental (green) unit cell of phase II.

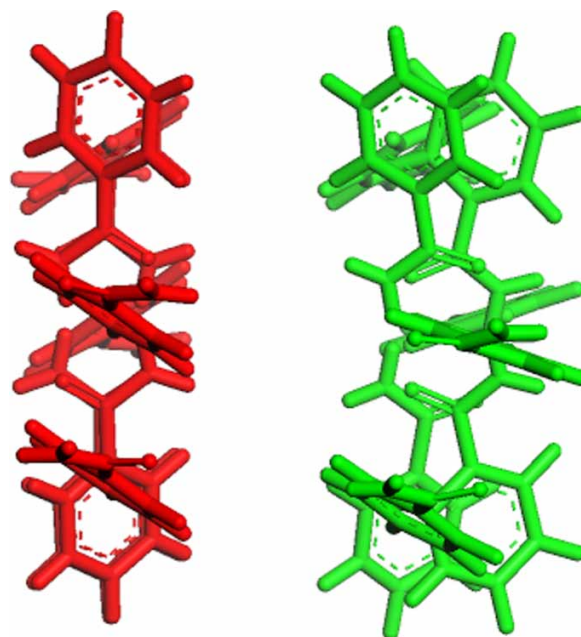


Figure 11. View perpendicular onto a pair of dimers of benzamide as found in the crystal structure of phase II before (green) and after (red) energy minimisation.

it is close enough to phase I and phase III in order to be identified in the CSP runs. At the moment it is hard to say whether the problems with CSP of this known polymorph are related to the uncertainties in the force field or the difficulties encountered in global optimisation with $Z' = 2$.

5. Conclusion

This paper presents the successful prediction of two benzamide polymorphs. Using crystal structure prediction,

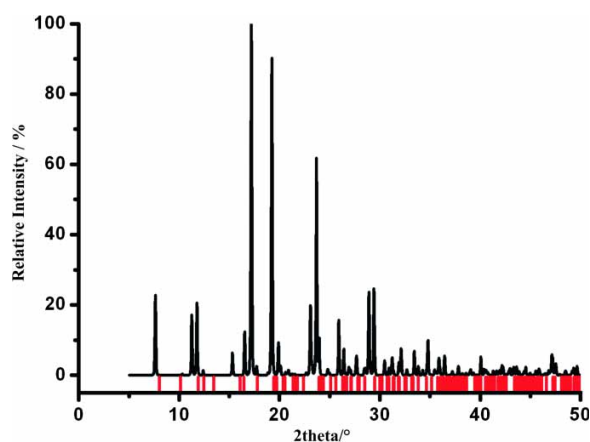


Figure 12. Simulated powder pattern of the minimised structure and ticks (red) of the experimentally known phase II.

the metastable polymorph described by Wöhler and Liebig 176 years ago could have been solved many years earlier. Within one day of calculation the structure of this metastable phase III would have been predicted within the Cerius² suite of programs. Applying the Material Studio Modeling suite of programs, phase I and phase III could be identified as well. However, many more packings with comparable energy and/or density are predicted rendering the identification of the experimentally known structures tricky. The lowest energy structure found with MS Modeling is not yet known for benzamide but represents a well known structure motif for carbonic acids. Additional experimental polymorph screenings will be performed to further investigate the experimentally accessible phase space.

Lattice energy minimisations suggest that phase II is very sensitive to small changes in the molecular geometry. At the moment it is hard to say whether the inability to identify phase II with CSP is related to the uncertainties in the force field or the difficulties encountered in global optimisations with $Z' = 2$.

During all presented simulations, ESP-derived atom centred partial charges had been used and the chosen representation of the electrostatic potential seemed to work well for all performed rigid and flexible body minimisations. Even the experimentally observed torsion angles ϕ could be reproduced quite accurate. Due to the fact, that three different π - π interactions can be found within the crystal structures of one molecule, benzamide is a good benchmark system for further investigations on the influence of different force fields and charge distributions. Finally it can be said, a good choice of monopole charges together with different starting conformers provides a fast and efficient way to get an overview over possible crystal structures.

Acknowledgements

We would like to thank the anonymous referee for his/her keen interest in the work, evident from the indepth and most helpful comments which helped to improve the manuscript further indeed.

References

- [1] J. Bernstein, *Polymorphism in Molecular Crystals*, Oxford University Press, Oxford, 2002.
- [2] S.R. Chemburkar, J. Bauer, K. Deming, H. Spiwek, K. Patel, J. Morris, R. Henry, S. Spanton, W. Dziki, W. Porter et al., *Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development*, Org. Process Res. Dev. 4 (2000), pp. 413–417.
- [3] H. Nowell and S. L. Price, *Validation of a search technique for crystal structure prediction of flexible molecules by application to piracetam*, Acta Crystallogr. B 61 (2005), pp. 558–568.
- [4] M.U. Schmidt, C. Buchsbaum, J.M. Schnorr, D.W.M. Hofmann, and M. Ermrich, *Pigment-Orange-5: crystal structure determination from a non-indexed X-ray powder diagram*, Z. Kristallogr. 222 (2007), pp. 30–33.
- [5] M.U. Schmidt, R.E. Dinnebier, and H. Kalkhof, *Crystal engineering on industrial diaryl pigments using lattice energy minimizations and X-ray powder diffraction*, J. Phys. Chem. B 111 (2007), pp. 9722–9732.
- [6] G.M. Day, W.D.S. Motherwell, H.L. Ammon, S.X.M. Boerrigter, R.G. Della Valle, E. Venuti, A. Dzyabchenko, J.D. Dunitz, B. Schweizer, B.P. van Eijck et al., *A third blind test of crystal structure prediction*, Acta Crystallogr. B 61 (2005), pp. 511–527.
- [7] J.P.M. Lommerse, W.D.S. Motherwell, H.L. Ammon, J.D. Dunitz, A. Gavezzotti, D.W.M. Hofmann, F.J.J. Leusen, W.T.M. Mooij, S.L. Price, B. Schweizer et al., *A test of crystal structure prediction of small organic molecules*, Acta Crystallogr. B 56 (2000), pp. 697–714.
- [8] W.D.S. Motherwell, H.L. Ammon, J.D. Dunitz, A. Dzyabchenko, P. Erk, A. Gavezzotti, D.W.M. Hofmann, F.J.J. Leusen, J.P.M. Lommerse, W.T.M. Mooij et al., *Crystal structure prediction of small organic molecules: a second blind test*, Acta Crystallogr. B 58 (2002), pp. 647–661.
- [9] U. Koch and A.J. Stone, *Conformational dependence of the molecular charge distribution and its influence on intermolecular interactions*, J. Chem. Soc. Faraday Trans. 92 (1996), pp. 1701–1708.
- [10] A.J. Stone and M. Alderton, *Distributed multipole analysis – methods and applications*, (Reprinted from Molecular Physics, vol 56, pg 1047–1064, 1985) Mol. Phys. 100 (2002), pp. 221–233.
- [11] A.J. Stone, *Distributed multipole analysis or how to describe a molecular charge-distribution*, Chem. Phys. Lett. 83 (1981), pp. 233–239.
- [12] G.M. Day, W.D.S. Motherwell, and W. Jones, *A strategy for predicting the crystal structures of flexible molecules: the polymorphism of phenobarbital*, Phys. Chem. Chem. Phys. 9 (2007), pp. 1693–1704.
- [13] J. Thun, L. Seyfarth, J. Senker, R.E. Dinnebier, and J. Breu, *Polymorphism in benzamide: Solving a 175-year-old riddle*, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 46 (2007), pp. 6729–6731.
- [14] Accelrys Cerius², Release 4.9, Accelrys Software, Inc, San Diego, 2003.
- [15] Accelrys Material Studio, Release 4.0, Accelrys Software, Inc, San Diego, 2006.
- [16] N. Blagden, R. Davey, G. Dent, M. Song, W.I.F. David, C.R. Pulham, and K. Shankland, *Woehler and Liebig revisited: A small molecule reveals its secrets – the crystal structure of the unstable polymorph of benzamide solved after 173 years*, Cryst. Growth Des. 5 (2005), pp. 2218–2224.
- [17] W.I.F. David, K. Shankland, C.R. Pulham, N. Blagden, R.J. Davey, and M. Song, *Polymorphism in benzamide*, Angew. Chem. Int. Ed. 44 (2005), pp. 7032–7035.
- [18] J. Gasteiger and M. Marsili, *Iterative partial equalization of orbital electronegativity – a rapid access to atomic charges*, Tetrahedron 36 (1980), pp. 3219–3228.
- [19] S.L. Mayo, B.D. Olafson, and W. A. Goddard, *Dreiding – a generic force-field for molecular simulations*, J. Phys. Chem. 94 (1990), pp. 8897–8909.
- [20] B. Delley, *An all-electron numerical-method for solving the local density functional for polyatomic-molecules*, J.Chem.Phys. 92 (1990), pp. 508–517.
- [21] G. Fitzgerald, B. Delley and J.W. Andzelm, *DFT: From molecules to solids using LCAO numerical orbitals*, Abstracts Of Papers Of The American Chemical Society 220 (2000), p. U187
- [22] B.H. Besler, K.M. Merz, and P.A. Kollman, *Atomic charges derived from semiempirical methods*, J. Comput. Chem. 11 (1990), pp. 431–439.
- [23] U.C. Singh and P.A. Kollman, *An approach to computing electrostatic charges for molecules*, J. Comput. Chem. 5 (1984), pp. 129–145.
- [24] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr, T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant et al. *Gaussian 03, Revision C.02*, Gaussian, Inc, Wallingford CT, 2004.
- [25] J.P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, *Generalized gradient approximation made simple*, Phys. Rev. Lett. 77 (1996), pp. 3865–3868.

- [26] A.D. Becke, *Density-functional thermochemistry.3. The role of exact exchange*, J. Chem. Phys. 98 (1993), pp. 5648–5652.
- [27] A.D. Becke, *A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories*, J. Chem. Phys. 98 (1993), pp. 1372–1377.
- [28] H.R. Karfunkel and R.J. Gdanitz, *Ab initio prediction of possible crystal-structures for general organic-molecules*, J. Comp. Chem. 13 (1992), pp. 1171–1183.
- [29] H.R. Karfunkel, F.J.J. Leusen, and R.J. Gdanitz, *The ab initio prediction of yet unknown molecular crystal structures by solving the crystal packing problem*, J. Comput Aided Mater. Design 1 (1994), pp. 177–185.
- [30] R.J. Gdanitz, *Prediction of molecular-crystal structures by Monte-Carlo simulated annealing without reference to diffraction data*, Chem. Phys. Lett. 190 (1992), pp. 391–396.
- [31] P. Verwer and F.J.J. Leusen, *Computer simulation to predict possible crystal polymorphs*, Rev. Comput. Chem. (1998), pp. 327–365.
- [32] A.L. Spek, *Single-crystal structure validation with the program PLATON*, J. Appl. Cryst. 36 (2003), pp. 7–13.
- [33] P.G. Karamertzanis, and S. L. Price, *Energy minimization of crystal structures containing flexible molecules*, J. Chem. Theory Comput. 2 (2006), pp. 1184–1199.
- [34] G.R. Desiraju, *The Crystal as a Supramolecular Entity*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 1996.

A.4 The crystal structure of the API Montelukast.

The crystal structure of the API Montelukast

Juergen Thun,^a Wolfgang Milius,^a Bastian Wedel,^a Andre Ridder,^b Peter Moersdorf^b and Josef Breu^{*a}

Received 18th December 2008, Accepted 9th February 2009

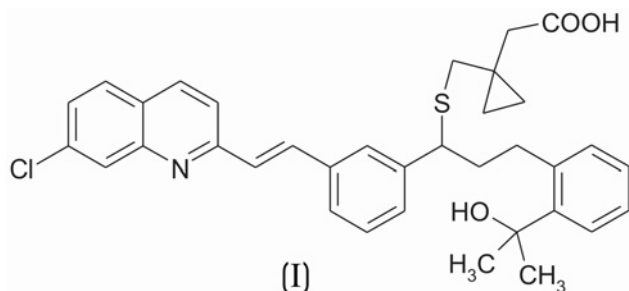
First published on the web 10th March 2009

DOI: 10.1039/b822821c

The sodium salt of the title compound (1-[(R)-m-(E)-2-(7-chloroquinol-2-yl)vinyl]-a-[2-(1-hydroxy-1-methylethyl)phenylethyl]-benzylthio}-methyl)cyclopropane acetic acid (1), known as Montelukast (a free acid), is a potent and selective leukotriene D-4 receptor antagonist. With an annual turnover of over 3 billion US dollars it still attracts considerable interest in current pharmaceutical research, however, up till now no structural information has been available. The unit cell contains two symmetry independent molecules, which are connected to long ribbons along the *c*-axis via hydrogen bonds. Lattice energy minimizations reveal that the main part of the lattice energy may be attributed to multipole-multipole interactions between highly polarized Montelukast moieties. However, it seems that the comparable small contributions of the above mentioned hydrogen bonds are essential structure directing ingredients for crystallization.

Introduction

There was an increase in production of Montelukast (see scheme 1) of over 30 % between 2004 and 2006, up to over 16 tons per annum worldwide and about 14 tons in Europe and the US alone. This corresponds to an annual turnover of over 3 billion US dollars. In several patents of Sodium-Montelukast X-ray powder diffraction patterns of the title compound (free acid) can be found, but a successful structure solution can not be found in literature until now.¹⁻³ Relatively broad reflections and massive peak overlap makes indexing of these powder patterns a very tricky task. However, applying appropriate conditions, we now have been able to grow suitable single crystals of enantiomerically pure Montelukast and solve the structure. Montelukast acts as a leukotriene inhibitor and is of considerable interest in recent research.⁴ Leukotrienes can provoke asthma symptoms by swelling the lungs. Montelukast can also be used to relieve sneezing caused by allergies.



Scheme 1

Experimental

Suitable single crystals of Montelukast were obtained in several experiments. The Montelukast sodium salt was used hereby as a starting material together with a second component. This second component must have a lower pK_a -value than Montelukast itself (which is around 5.8). For

instance, good crystals were obtained by dissolving a 1:2 mixture of oxalic acid (1 mmol, 0.126g) and Montelukast sodium (2 mmol, 1.216g) in acetonitrile (5 ml). After slow solvent evaporation in air, small hedgehogs of yellow crystals were obtained and were dried after filtration at 75 °C overnight. Using succinic acid also yielded in small hedgehogs. Single crystal X-ray diffraction experiments had been performed on a STOE IPDS II diffractometer, equipped with Mo/ $K\alpha$ radiation at 133 K. Simple evaporation or suspension equilibration experiments did not yield in suitable single crystals.

Structural details

The crystal structure was solved and refined using the SHELX suite of programs.⁵ The title compound crystallizes in the monoclinic space group $P2_1$ with 2 independent molecules in the asymmetric unit cell. Some crystallographic details can be found in Table 1.

Table 1 Crystallographic details of the structure solution for Montelukast at 133 K.

<i>a</i> /Å	7.8746(16)
<i>b</i> /Å	21.825(4)
<i>c</i> /Å	17.830(4)
β /°	99.62(3)
volume/Å ³	3021.3(11)
space group	$P2_1$
<i>Z</i>	4
<i>Z'</i>	2
measured reflections	40346
independent reflections	11445
R_1 /%	9.83
wR_2 /%	12.39
Flack parameter	0.02(7)
crystal size (mm)	0.35 x 0.15 x 0.12

The geometry of a single Montelukast enantiomer can be described as T-shaped. Two symmetry independent molecules are connected via strong hydrogen bonds to form ribbons along the *c*-axis of the unit cell (see Figure 1). Within the ribbons each molecule is connected by one O-H...N hydrogen bond to neighbouring molecules on each direction while the adjacent ribbons are not connected by further hydrogen bonds

(see Table 2).

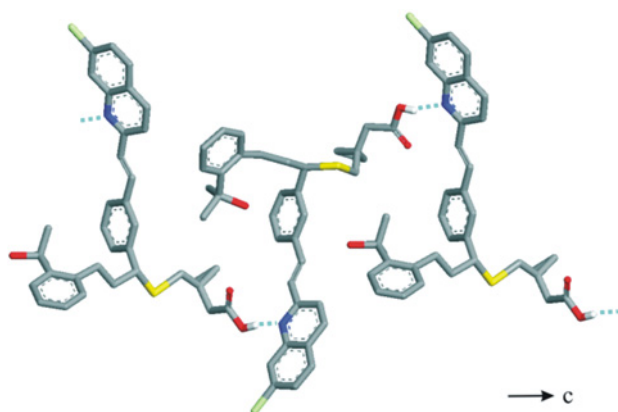


Figure 1 Hydrogen bonded chain along the *c*-axis.

Table 2 Hydrogen-bond geometry (Å, °).

D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
O1A—H1...N1B ⁱ	0.84	1.80	2.633 (5)	170
O1B—H27...N1A ⁱⁱ	0.84	1.94	2.789 (5)	160

⁵ Symmetry codes: (i) $-x+2, y+1/2, -z+2$; (ii) $-x+2, y-1/2, -z+1$

Both symmetry independent carboxylic groups involved in hydrogen bonding (C2A and C2B in Figure 2) are not coplanar with the corresponding interacting quinoline systems (N1A and N1B). The ternary OH-group (O3A) is involved in only a very weak hydrogen bonding between symmetry related (O3A—H2...C11A) with a quite big distance $D...A$ of 3.306(4) Å while the ternary OH-group (O3B) is not involved in any hydrogen bond. The two independent neighbouring quinoline rings are arranged in a shifted π -stack (Figure 2).
¹⁵ The best planes of the nitrogen containing benzene ring structures (C27A, C28A, C29A, C30A, C35A, N1A and C27B, C28B, C29B, C30B, C35B, N1B) are almost parallel (angle = 85 °) and the perpendicular distance amounts to 3.4 Å, which compares well with distances in typical π - π stacking motifs (for instance, those of benzamide (3.3-3.9 Å)⁶).
²⁰ However, the center of these rings are slightly shifted and the distance between the centroids of these rings is about 3.5 Å. Interestingly, on a first glance the two independent molecules appear to be arranged in a pseudo-centrosymmetric way as shown in Figure 2.

Clearly, since the material is enantiomerically pure, the crystal contains only R-enantiomers. The degree of pseudo-symmetry is even high enough for Platon⁷ to report a missed symmetry. However, as stated, because of the defined stereochemistry $P2_1$ is the only possible space group. Also, intra- and intermolecular geometries of both independent molecules differ significantly. The two independent hydrogen bonds have different distances (see Table 2). Additionally, nearly all interesting intramolecular angles and torsions are quite different (see Table 3 and Figure 3). For instance, between the two π -systems connected by C26A-C27A and C26B-C27B, respectively, a difference in the torsions of more than 21° is observed (Table 3). Pronounced differences can also be observed in the torsion of the OH-group against the benzene system. Molecule A and B shows torsions of -1.73°

and -136.60°, respectively. Not surprisingly, a molecule similarity measurement in the MS Modeling 4.0 suite of programs⁸ gave a similarity fit of only 69 % between molecule A and B.

45

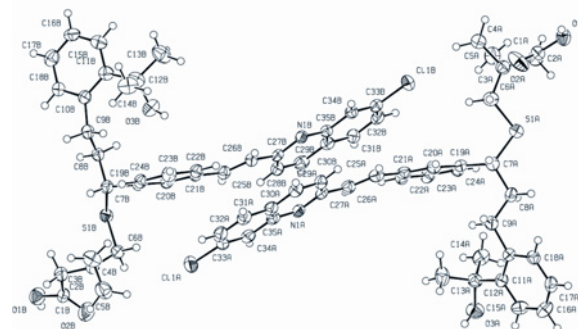
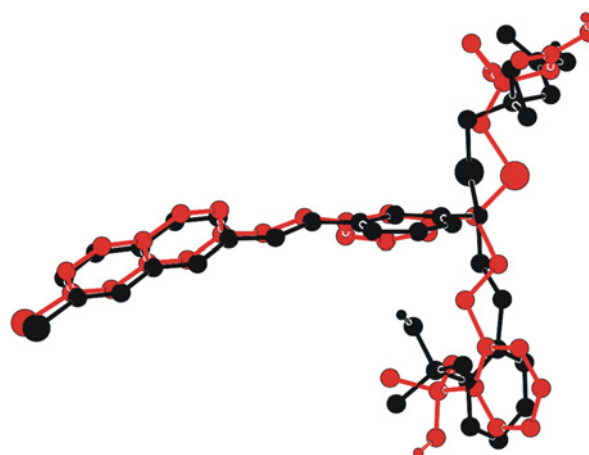


Figure 2 A view of (I), showing the atom-numbering scheme. Displacement ellipsoids are drawn at the 50% probability level and H atoms are shown as small spheres of arbitrary radii.

⁵⁰ **Table 3** Differences in the symmetry independent molecules (°).

	Molecule A	Molecule B
Angle C6-S1-C7	97.59	102.24
Torsion C18-C10-C9-C8	67.68	73.84
Torsion O3-C12-C11-C15	-1.73	-136.60
Torsion C28-C27-C26-C25	11.86	-9.81



⁵⁵ **Figure 3** The two independent Montelukast molecules overlaid by applying a similarity fit in Platon. Each molecule is shown in only one colour, black or red. The hydrogen atoms have been omitted for clarity.

Molecular modeling

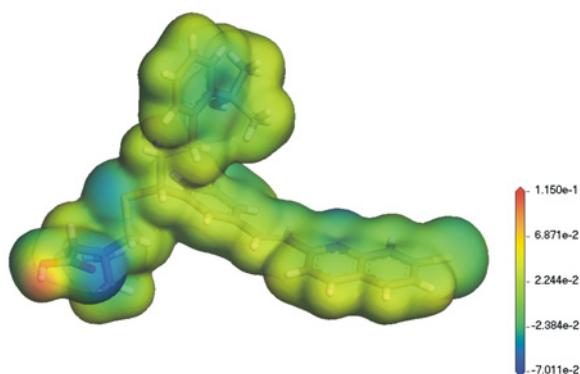
Static lattice energy minimization was applied to gain further insights into the importance of the different intermolecular interactions and their relative contribution to the total lattice energy. The minimizations were done applying the Dreiding2.21 force field⁹ in the MS Modeling suite of

programs⁸ and the electrostatic interactions were approximated using atom-centered partial charges.

Table 4 Intra- and intermolecular energies in [kcal/mol per 100 Å³]

Lattice energy	-34.7
Intramolecular energy	+22.4
Intermolecular energy	-57.1
vdW	+3.3
multipole-multipole	-60.1
hydrogen bond	-0.3

5 Somewhat surprisingly for such a large molecule, the dispersion/repulsion contribution (about +3.3 kcal mol⁻¹ per 100 Å³) is comparatively small (Table 4). The nonbonding energy is dominated by the multipole-multipole-contribution (about -60 kcal mol⁻¹ per 100 Å³), which may be explained by
10 the pronounced polarization of (1). Figure 4 shows the molecular electrostatic potential mapped as an isosurface on the electron density. The electrostatic potential was calculated using DMol³ within the MS Modeling suite of programs.¹⁰ The DNP basis set was used together with the GGA PBE
15 functional. A vast gradient in the electrostatic potential within one molecule becomes obvious.



20 **Figure 4** The quantum mechanically derived molecular electrostatic potential is mapped on the electron density. The legend shows impressively the quite strong variation of the electrostatic potential within one molecule.

The hydrogen bonding energy, which is estimated separately within the Dreiding 2.21 force field, is only about -2.5 kcal mol⁻¹ per hydrogen bond. The contribution to the total lattice energy is small. Nevertheless, the hydrogen bonds seem to be
25 important as a structure directing motive. So far, crystalline salts of (1) have been obtained only with cations capable of hydrogen bonding, such as NH₄⁺; while crystallization experiments with Na⁺ have been unsuccessful. This indeed might indicate that the hydrogen bondings are essential for
30 crystallization.

Conclusion

The crystal structure of Montelukast, a widely available and very active pharmaceutical agent, has been determined. The packing motif indicates the importance of hydrogen bonds,
35 even if their contribution to the total lattice energy is relatively small.

Notes and references

^a *Inorganic Chemistry I, University of Bayreuth, Universitätsstr. 30, 95440 Bayreuth, Germany. Fax: 49 921 55-2788; Tel: 49 921 55-2530;*

40 *E-mail: josef.breu@uni-bayreuth.de*

^b *Excella GmbH, Nürnberger Str. 12, 90537 Feucht, Germany.*

† Electronic Supplementary Information (ESI) available: [CCDC 714043 contains the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge from The Cambridge
45 *Crystallographic Data Centre* via

www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif]. See DOI: 10.1039/b000000x/

‡ Footnotes should appear here. These might include comments relevant to but not central to the matter under discussion, limited experimental and spectral data, and crystallographic data.

50

1 Belley, M. L., Leger, S., Roy, P., and Xiang, Y. B. [EP 480717 B1]. 1998.

2 Chava, S., Gorantla, S. R., and Indukuri, V. S. K. [WO 2006/054317 A1]. 2006.

55

3 Niddam-Hildesheim, V., Aronhime, J., and Chen, K. [WO 2005/074935(A1,A2,A3)]. 2005.

4 Jones, T. R., Labelle, M., Belley, M., Champion, E., Charette, L., Evans, J., Fordhutchinson, A. W., Gauthier, J. Y., Lord, A., Masson, P., Mcauliffe, M., Mcfarlane, C. S., Metters, K. M., Pickett, C., Piechuta, H., Rochette, C., Rodger, I. W., Sawyer, N., Young, R. N., Zamboni, R., Abraham, W. M., *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1995, **73**, 191.

5 Sheldrick, G. M., *Acta Crystallographica Section A*, 1990, **46**, 467.

65

6 Thun, J., Seyfarth, L., Senker, J., Dinnebier, R. E., Breu, J., *Angewandte Chemie-International Edition In English*, 2007, **46**, 6729.

7 Spek, A. L., *Journal Of Applied Crystallography*, 2003, **36**, 7.

8 Accelrys. Material Studio, Release 4.0. 2006. Accelrys Software, Inc., San Diego.

70

9 Mayo, S. L., Olafson, B. D., Goddard, W. A., *Journal of Physical Chemistry*, 1990, **94**, 8897.

10 Delley, B., *Journal of Chemical Physics*, 1990, **92**, 508.

75