

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 instabile 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 ($a = 22.5010$, $b = 5.5159$, $c = 5.0569 \text{ \AA}$, $\beta = 91.36^\circ$) mit einem guten de-Wolff-Gütfaktor (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.

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

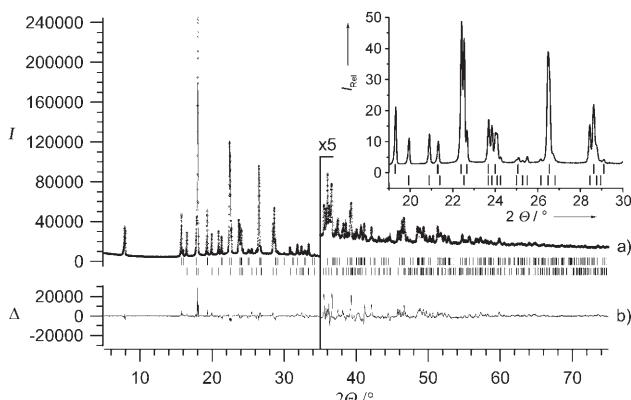


Abbildung 1. a) Gemessenes Diffraktogramm (\diamond) mit angepasstem Profil einer Rietveld-Verfeinerung für zwei Phasen (—). b) Differenzkurve zwischen gemessenem und berechnetem Diffraktogramm. Die Intensitäten bei großen Winkeln sind mit dem Faktor 5 skaliert. Der Einschub verdeutlicht die erheblichen 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 \AA^3 , d.h. etwas mehr als für Form I ($608.1(2) \text{ \AA}^3$). 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 (simulierte 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
$a [\text{\AA}]$	5.6094(1)	5.0551(1)
$b [\text{\AA}]$	5.0399(1)	5.5141(1)
$c [\text{\AA}]$	22.1171(8)	22.9565(9)
$\beta [^\circ]$	90.641(2)	101.292(2)
$V [\text{\AA}^3]$	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 $2\Theta [^\circ]$	5–75	
R_{Bragg}	5.33	5.32
R_{wp}		6.95
Nullpunktsverschiebung		-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 Staphelfehlordnung 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 ^{13}C -CP-MAS-Festkörper-NMR-Spektrum bei Raumtemperatur aufgenommen (Avance II 300, Bruker). Die Daten wurden unter Breitband-Protonenentkopplung mit einer SPINAL-64-Sequenz erfasst.^[17] Die Entfaltung der Resonanz bei etwa $\delta = 173 \text{ ppm}$ 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 ^{13}C -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 Torsionswinkel, 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-

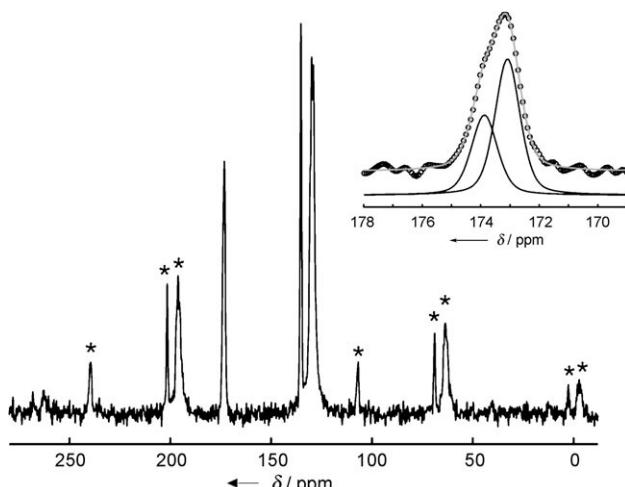


Abbildung 2. ^{13}C -CP-MAS-Spektrum ($\nu_{\text{rot}} = 5 \text{ kHz}$) eines Gemisches der Formen I und III. Die Rotationsseitenbanden sind mit einem Stern markiert. Der Einschub zeigt die Carbonyl-Signale (Kreise) mit der dazugehörigen Anpassung (graue Linie) und den entfalteten Resonanzen (schwarze 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 intermolekulare 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.

$U_{\text{latt}}^{[a]} [\text{kcal mol}^{-1}]$	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

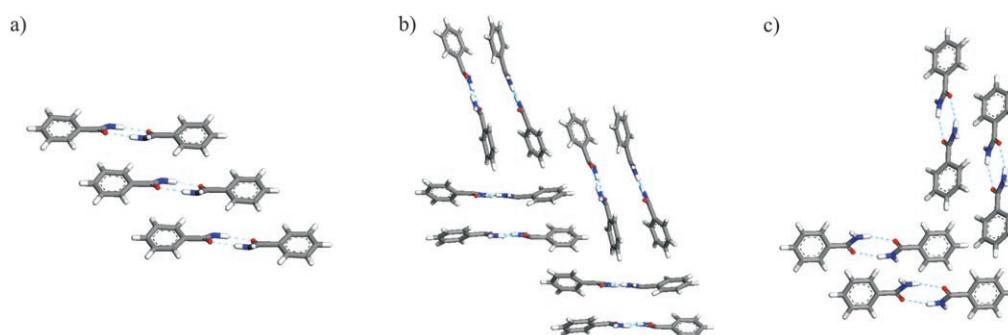


Abbildung 3. Projektionen der Kristallstrukturen entlang der Bänderachsen zeigen die unterschiedlichen π - π -Wechselwirkungen in den jeweiligen Benzamid-Formen. a) Form I, entlang [010]; b) Form II, entlang [001]; c) Form III, entlang [100].

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'Celetor 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 User's Manual, Version 3.1*, Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, **2003**.
 - [16] Våntec-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 DMol^{3[19]} unter Verwendung des GGA-PW91-Funktionalen und dem DNP-Basisatz 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**.
-