



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2019 00516**

(22) Data de depozit: **28/08/2019**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28/02/2022** BOPI nr. **2/2022**

(41) Data publicării cererii:  
**30/03/2020** BOPI nr. **3/2020**

(73) Titular:

- **SARA PHARM SOLUTIONS S.R.L.**,  
CALEA RAHOVEI, NR.266-268, CORP 61,  
ET.3, CAM.17, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
FIZICA MATERIALELOR**,  
STR. ATOMIȘTILOR NR. 405A,  
MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:

- **MANTA CORINA MIHAELA**,  
STR.IZVORUL OLTULUI, NR.2, BL.25,  
SC.A, ET.1, AP.4, SECTOR 4, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- **SAMOHVALOV DUMITRU**, SAT BUJORU,  
COM.BUJORU, TR, RO;
- **GHERCĂ DANIEL**, STR.PANAIT DONICI,  
BL.5, SC.D, ET.4, AP.52, ROMAN, NT, RO;
- **BAIBARAC MIHAELA**,  
ALEEA BARAJUL DUNĂRII, NR.1, BL.M35,  
SC.5, ET.10, AP.217, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO;
- **LUNGAN MARIA ANDREEA**,  
ALEEA ARMONIEI, NR.48, BL.B14, SC.D,  
ET.2, AP.72, PIATRA NEAMȚ, NT, RO;

- **SMARANDA ION**, STR.MONUMENTULUI,  
NR.6B, BL.2, ET.4, AP.38, BRAGADIRU, IF,  
RO;
- **BĂRBATU ADRIAN**, STR.LAVANDEI,  
NR.9, BL.P28, SC.2, ET.3, AP.25,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- **BUHĂLȚEANU LUCIAN**, STR. ISACCEA  
NR. 81, BL. U2, SC. B,ET.3, AP. 10,  
TULCEA, TL, RO;
- **UDRESCU ADELINA**, SAT BAIA DE FIER,  
NR.215, COMUNA BAIA DE FIER, GJ, RO;
- **DAESCU MONICA**, NR.249, HORĂȘTI, GJ,  
RO;
- **ILIE MIRELA**, BD.PETROCHIMIȘTILOR,  
NR.5, BL.B5C, SC.E, AP.14, PITEȘTI, AG,  
RO;
- **TOULBE N' GHAYA**, STREET ABOU  
TEMAM AFGHANI, RESIDENCY 9, APPT 6,  
KENITRA, MA

(56) Documente din stadiul tehnicii:

- OVIDIU-ILIE COVACI ȘI COLAB.**, "NOVEL  
ANHYDROUS SOLID-STATE FORM OF  
AZATHIOPRINE: THE ASSESSING OF  
CRYSTAL STRUCTURE BY POWER X-RAY  
DIFFRACTION, INFRARED ABSORPTION  
SPECTROSCOPY AND RAMAN  
SCATTERING", JOURNAL OF  
MOLECULAR STRUCTURE, VOL. 1178,  
PP. 702-710, 2019

(54) **PROCEDEE DE PREPARARE ȘI UTILIZARE ALE NOILOR  
FORME CRISTALINE ALE  
6-(3-METIL-5-NITROIMIDAZOL-4-IL)SULFANIL-9H-PURINEI**



# RO 133946 B1

1 Prezentarea invenției se referă la noi forme cristaline ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)  
2 sulfanil-9H-purinei, având denumirea comună internațională de azatioprină, care sunt folosite  
3 ca produs farmaceutic, la procedee de preparare și izolare ale acestora și la utilizările  
4 acestora în medicină ca imunosupresoare, în tratarea și prevenirea bolilor autoimune cât și  
5 în cazul pacienților care sunt supuși unui transplant de organ în vederea împiedicării  
6 respingerii organului de către organism.

## 7 Stadiul tehnicii

8 Inițial, au fost cunoscute din literatura de specialitate două forme cristaline ale  
9 azatioprinei, o formă anhidră (Forma I, codul CIPWUT in Cambridge Structural Database)  
10 și forma dihidrat (codul AZTHPN in Cambridge Structural Database). Structura cristalină a  
11 formei dihidrat a azatioprinei, denumită în continuare „Dihidrat”, a fost determinată și  
12 descrisă pentru prima dată în 1975 de către J.C. William și E.B. Charles (**J. Pharmacol. Sci.**  
13 **(1975) 221-225**). Ulterior, a fost determinată și descrisă structura cristalină a azatioprinei,  
14 forma anhidră denumită în continuare „Forma I” de către K.R. Acharya (**J. Chem. Sci. 93,**  
15 **(0), (1984), 183-187**). Această formă cristalină anhidră a fost caracterizată prin analiză  
16 termogravimetrică din care se observă că nu există pierderi semnificative de masă până la  
17 topirea substanței la temperatura de 256,9°C. Forma I este caracterizată de un spectru IR,  
18 de un spectru Raman, așa cum este prezentată de O.-I. Covaci et al. (**Journal of Molecular**  
19 **Structure, 1178, (2019), 702-710**) și de difractograma de raze X prezentată în fig. 36. De  
20 asemenea, I. Smaranda et al. (**Results in Physics, 14, (2019), 102443**) au studiat procesul  
21 de fotodegradare al azatioprinei prin corelarea studiilor de fotoluminescență (PL) cu spectrele  
22 UV-Vis și IR.

23 Până în prezent, alte două forme cristaline ale azatioprinei au fost identificate, o  
24 formă anhidră (Forma II, codul CIPWT01 in Cambridge Structural Database) și forma  
25 monohidrat. Azatioprină, forma monohidrat este denumită în continuare „Monohidrat”, a cărei  
26 metodă de preparare a fost descrisă de O.-I. Covaci et al. (**Journal of Molecular Structure,**  
27 **1178, (2019), 702-710**). Această formă cristalină monohidrat este caracterizată prin analiză  
28 termogravimetrică din care se observă că există pierderi semnificative de masă de 6,08%  
29 ce corespund unei molecule de apă în intervalul de temperatură 56,2-79,7°C. Procesul de  
30 desolvatare este urmat de recristalizarea materialului și, în final de topirea substanței la  
31 temperatura de 247,7°C. Monohidratul este caracterizat de un spectru IR, de un spectru  
32 Raman, așa cum este prezentată de O.-I. Covaci et al. (**Journal of Molecular Structure,**  
33 **1178, (2019), 702-710**) și de difractograma de raze X prezentată în fig. 37. Ulterior, în cadrul  
34 aceluiași studiu, a fost determinată și descrisă structura cristalină a azatioprinei, forma  
35 anhidră denumită în continuare „Forma II”. Această formă cristalină anhidră este caracte-  
36 rizată prin analiză termogravimetrică din care se observă că nu există pierderi semnificative  
37 de masă, urmată de recristalizare și topirea Formei II la temperatura de 245,3°C. Forma II  
38 este caracterizată de un spectru IR; de un spectru Raman. De asemenea, I. Smaranda et  
39 al. (**Results in Physics, 14, (2019), 102443**) au studiat procesul de fotodegradare al  
40 azatioprinei prin corelarea studiilor de fotoluminescență (PL) cu spectrele UV-Vis și FT-IR.

## 41 Prezentarea problemei tehnice

42 Pentru substanțele active farmacologic în stare cristalină prezintă interes anumite  
43 proprietăți fizico-chimice, prin care aceste forme cristaline se pot diferenția, ce includ, fără  
44 a se limita la: stabilitate termodinamică, solubilitate, biodisponibilitate, procesabilitate, viteză  
45 de dizolvare, higroscopicitate, stabilitate termică etc. Azatioprina în Forma cristalină I  
cunoscută este practic insolubilă în apă și mediu apos la pH biologic relevant (2-8), ceea ce

# RO 133946 B1

face să fie necesară o concentrație mai mare de substanță activă pentru obținerea efectului terapeutic dorit sau un timp mai lung de acțiune. Medicamentele cu solubilitate scăzută, precum azatioprina în Forma cristalină I, au o biodisponibilitate scăzută, limitată în special de solubilitate și viteza de dizolvare. 1  
3

Dezavantajul Formei I de azatioprina constă într-o solubilitate foarte scăzută la pH biologic în mediu apos, ceea ce implică o disponibilitate extrem de redusă a compusului farmaceutic care conține azatioprina, Forma cristalină I, ca și principiu activ. 5  
7

## Descrierea invenției

Spre deosebire de stadiul tehnicii, prezenta invenție descrie noi forme cristaline de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină ca cinci noi forme solvate, intermediari în procedeele de obținere a formelor anhidre. Prin procedeul conform invenției se obțin în mod surprinzător aceste noi forme cristaline solvate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină, prin etape simple și ușor de controlat. 9  
11  
13

Se înțelege că noile forme cristaline solvate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină conform invenției pot fi obținute prin metode uzuale aflate sub control termodinamic sau aflate sub control cinetic, ca de exemplu recristalizare, precipitare, filtrare, difuzie sau combinații ale acestora, ce conduc la obținerea de compus solid. Se înțelege, de asemenea, că anumite metode de obținere de compus solid sub control termodinamic, de exemplu evaporarea, pot conduce la forme anhidre, datorită stabilității termice mai scăzute a solvatului față de formele anhidre, de exemplu, la temperaturi mai mari de 100-120°C. Nucleerea și cristalizarea au loc lent, în minimum 1 h, mai preferabil 10-50 h. Se înțelege, de asemenea, că anumite metode de obținere de compus solid sub control cinetic, de exemplu evaporarea la temperaturi mai mari de 90-100°C, pot conduce la forme anhidre, datorită stabilității termice mai scăzute a solvatului față de formele anhidre. Nucleerea și cristalizarea au loc rapid, în maximum 1 h, mai preferabil maximum 0,01-0,1 h. 15  
17  
19  
21  
23  
25

Un prim obiect al invenției se referă la obținerea de noi forme cristaline solvate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină. Aceste forme sunt notate în continuare cu III, IV, V, VI, VII. Aceste noi forme cristaline se caracterizează prin maximele de difracție așa cum sunt prezentate în tabelul 1. 27  
29

Un alt obiect al invenției se referă la un procedeu de preparare de noi forme cristaline de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină conform invenției. 31

Așa cum este folosit în invenție prin termenul „Formă” se înțelege „modificare a stării cristaline”, respectiv „polimorf”, „solvat”, „hidrat”, „sare” sau „co-cristal”. 33

## Scurtă descriere a figurilor:

- fig. 1, prezintă Termograma Formei III; 35
- fig. 2, prezintă Termograma Formei IV;
- fig. 3, prezintă Termograma Formei V; 37
- fig. 4, prezintă Termograma Formei VI;
- fig. 5, prezintă Termograma Formei VII; 39
- fig. 6, prezintă Spectrul FT-IR al Formei III;
- fig. 7, prezintă Spectrul FT-IR al Formei IV; 41
- fig. 8 prezintă Spectrul FT-IR al Formei V;
- fig. 9, prezintă Spectrul FT-IR al Formei VI; 43
- fig. 10, prezintă Spectrul FT-IR al Formei VII,
- fig. 11, prezintă Spectrul FT-Raman al Formei III; 45
- fig. 12, prezintă Spectrul FT-Raman al Formei IV;
- fig. 13, prezintă Spectrul FT-Raman al Formei V; 47
- fig. 14 prezintă Spectrul FT-Raman al Formei VI;

# RO 133946 B1

- 1 - fig. 15 prezintă Spectrul FT-Raman al Formei VII;  
- fig. 16 prezintă Spectrul UV-VIS al Formei III;  
3 - fig. 17, prezintă Spectrul UV-VIS al Formei IV;  
- fig. 18, prezintă Spectrul UV-VIS al Formei V;  
5 - fig. 19, prezintă Spectrul UV-VIS al Formei VI;  
- fig. 20, prezintă Spectrul UV-VIS al Formei VII;  
7 - fig. 21, prezintă Spectrul SERS al Formei III;  
- fig. 22, prezintă Spectrul SERS al Formei IV;  
9 - fig. 23, prezintă Spectrul SERS al Formei V;  
- fig. 24, prezintă Spectrul SERS al Formei VI;  
11 - fig. 25, prezintă Spectrul SERS al Formei VII;  
- fig. 26, prezintă Spectrul SEIRA al Formei III;  
13 - fig. 27, prezintă Spectrul SEIRA al Formei IV;  
- fig. 28, prezintă Spectrul SEIRA al Formei V;  
15 - fig. 29, prezintă Spectrul SEIRA al Formei VI;  
- fig. 30, prezintă Spectrul SEIRA al Formei VII;  
17 - fig. 31, prezintă Spectrul de PL al Formei III;  
- fig. 32, prezintă Spectrul de PL al Formei IV;  
19 - fig. 33, prezintă Spectrul de PL al Formei V;  
- fig. 34, prezintă Spectrul de PL al Formei VI;  
21 - fig. 35, prezintă Spectrul de PL al Formei VII;  
- fig. 36, prezintă Difractograma Formei I;  
23 - fig. 37, prezintă Difractograma Formei Monohidrat;  
- fig. 38, prezintă Difractograma Formei II;  
25 - fig. 39, prezintă Difractograma Formei III;  
- fig. 40, prezintă Difractograma Formei IV;  
27 - fig. 41, prezintă Difractograma Formei V;  
- fig. 42, prezintă Difractograma Formei VI;  
29 - fig. 43, prezintă Difractograma Formei VII;  
- fig. 44, prezintă Comparație între noile forme cristaline solvate ale 6-(3-metil-5-

nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

## Echiptament

33 Difracția de raze X pe pudră a fost înregistrată folosind un difractometru Bruker D8 Discover, folosind radiație Cu  $K\alpha_1$  în transmisie pe intervalul  $1,5/45^{\circ}2\theta$ .

35 Analiza termogravimetrică a fost înregistrată folosind un termogravimetru echipat și  
cu senzor de scanare diferențială de calorimetrie Setarăm Labsys Evo în intervalul 30-400°C,  
37 folosind creuzete de aluminiu deschise. Se înțelege că toate probele înregistrate pot conține  
solvenți de umectare, adică apă sau solvenți ce nu fac parte din rețeaua cristalină a solidelor  
39 investigate.

Analiza IR a fost înregistrată folosind un spectrofotometru FT-IR, model Vertex 70,  
41 de la Bruker, fiind echipat cu modul de reflexie total atenuată (ATR), în intervalul  
3500-400  $\text{cm}^{-1}$ , cu rezoluție spectrală de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

43 Analiza SEIRA a fost înregistrată folosind un un spectrofotometru FT-IR, model  
Vertex 70 de la Bruker cu modul de reflexie total atenuată (ATR), în intervalul 4000- 600  $\text{cm}^{-1}$ ,  
45 cu rezoluție spectrală de 4  $\text{cm}^{-1}$  compușii analizați fiind depuși pe filme rugoase de Au.

Analiza Raman a fost înregistrată folosind un spectrofotometru FT-Raman, model  
47 RFS 100S, de la Bruker, în intervalul 50-3500  $\text{cm}^{-1}$ , cu rezoluție spectrală de 1  $\text{cm}^{-1}$ .

# RO 133946 B1

Analiza SERS a fost înregistrată folosind un un spectrofotometru FT-Raman, model RFS 100S, de la Bruker, în intervalul 350-1650  $\text{cm}^{-1}$ , cu rezoluție spectrală de 1  $\text{cm}^{-1}$  compușii analizați fiind depuși pe filme rugoase de Au. 1  
3

Analiza UV-Vis a fost înregistrată folosind un spectrofotometru de absorbție UV-VIS-NIR, model Lambda 50, de la Perkin Elmer în intervalul spectral 200-450 nm, cu rezoluție de 0,05 nm. Procesul de fotodegradare a azatioprinei a fost efectuat sub iradiere UV la 253 nm folosind o lampă cu vapori de mercur de 350 W. 5  
7

Analizele de PL (fotoluminescență) și PLE (excitare a fotoluminescenței) au fost înregistrate folosind un spectrofotometru Fluorolog-3, model FL3-22, de la Horiba Jobin Yvon, aparat accesoriizat cu o lampă cu Xe de 450 W, ce operează în geometrie tip unghi-drept și la temperatura camerei. 9  
11

Invenția prezintă forme de tip solvat ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei ce prezintă modificări ale cristalinității și ale altor proprietăți fizico-chimice, respectiv solubilitate, biodisponibilitate, procesabilitate, viteză de dizolvare, higroscopicitate, îmbunătățite față de Forma I și care se pot utiliza pentru tratarea și prevenirea bolilor autoimune cât și în cazul pacienților care sunt supuși unui transplant de organ în vederea împiedicării respingerii organului de către organism, cât și ca produși intermediari în obținerea Formei II de formă cristalină anhidră a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. Existența formelor solvat III-VII este demonstrată de termogramele prezentate în fig. 1 ÷ fig. 5. 13  
15  
17  
19

Noile forme cristaline III-VII ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei sunt caracterizate de maximele de difracție de raze X, așa cum sunt prezentate în tabelul 1. 21

*Maximele caracteristice de difracție de raze X în pudră pentru noile  
Forme cristaline III-VII comparativ cu Formele cristaline I, II și Monohidrat cunoscute* 23  
25

*Tabelul 1*

Forma I	Monohidrat	Forma II	Forma III	Forma IV	Forma V	Forma VI	Forma VII
5,3 ± 0,2	7,2 ± 0,2	8,3 ± 0,2	6,8 ± 0,2	6,8 ± 0,2	7,2 ± 0,2	6,9 ± 0,2	7,0 ± 0,2
10,7 ± 0,2	7,3 ± 0,2	8,7 ± 0,2	7,1 ± 0,2	7,1 ± 0,2	8,7 ± 0,2	7,3 ± 0,2	7,4 ± 0,2
11,7 ± 0,2	9,1 ± 0,2	11,3 ± 0,2	7,6 ± 0,2	7,7 ± 0,2	11,4 ± 0,2	7,8 ± 0,2	7,9 ± 0,2
13,9 ± 0,2	11,4 ± 0,2	11,7 ± 0,2	7,9 ± 0,2	9,8 ± 0,2	14,4 ± 0,2	8,1 ± 0,2	8,0 ± 0,2
15,6 ± 0,2	12,3 ± 0,2	14,9 ± 0,2	9,9 ± 0,2	12,6 ± 0,2	17,4 ± 0,2	10,1 ± 0,2	8,2 ± 0,2
16,1 ± 0,2	14,6 ± 0,2	15,7 ± 0,2	10,8 ± 0,2	14,1 ± 0,2	17,7 ± 0,2	11,0 ± 0,2	10,2 ± 0,2
19,7 ± 0,2	14,8 ± 0,2	17,5 ± 0,2	12,7 ± 0,2	14,2 ± 0,2	18,4 ± 0,2	12,7 ± 0,2	14,5 ± 0,2
20,6 ± 0,2	17,8 ± 0,2	19,1 ± 0,2	14,1 ± 0,2	15,3 ± 0,2	19,3 ± 0,2	13,0 ± 0,2	14,7 ± 0,2
20,7 ± 0,2	18,2 ± 0,2	19,4 ± 0,2	14,3 ± 0,2	15,7 ± 0,2	20,2 ± 0,2	14,3 ± 0,2	15,4 ± 0,2
21,3 ± 0,2	19,1 ± 0,2	20,4 ± 0,2	14,8 ± 0,2	17,4 ± 0,2	21,0 ± 0,2	14,7 ± 0,2	16,4 ± 0,2
23,3 ± 0,2	19,5 ± 0,2	21,2 ± 0,2	15,4 ± 0,2	18,1 ± 0,2	21,5 ± 0,2	15,1 ± 0,2	18,2 ± 0,2
26,3 ± 0,2	20,4 ± 0,2	21,8 ± 0,2	15,8 ± 0,2	19,7 ± 0,2	22,1 ± 0,2	15,7 ± 0,2	19,2 ± 0,2
26,9 ± 0,2	20,6 ± 0,2	22,9 ± 0,2	17,4 ± 0,2	20,3 ± 0,2	22,6 ± 0,2	16,2 ± 0,2	19,9 ± 0,2
27,5 ± 0,2	22,0 ± 0,2	23,9 ± 0,2	18,2 ± 0,2	21,0 ± 0,2	22,9 ± 0,2	17,7 ± 0,2	20,6 ± 0,2
28,1 ± 0,2	24,9 ± 0,2	24,6 ± 0,2	19,8 ± 0,2	21,8 ± 0,2	23,3 ± 0,2	18,7 ± 0,2	20,9 ± 0,2
28,5 ± 0,2	25,2 ± 0,2	24,8 ± 0,2	20,2 ± 0,2	22,6 ± 0,2	23,7 ± 0,2	19,7 ± 0,2	21,1 ± 0,2

# RO 133946 B1

Tabelul 1 (continuare)

1

	29,7 ± 0,2	26,0 ± 0,2	26,1 ± 0,2	20,8 ± 0,2	22,8 ± 0,2	24,6 ± 0,2	20,3 ± 0,2	21,4 ± 0,2
3	34,2 ± 0,2	26,2 ± 0,2	27,2 ± 0,2	21,7 ± 0,2	23,2 ± 0,2	25,0 ± 0,2	20,5 ± 0,2	22,5 ± 0,2
	36,1 ± 0,2	26,7 ± 0,2	27,6 ± 0,2	22,6 ± 0,2	24,1 ± 0,2	26,7 ± 0,2	20,9 ± 0,2	24,2 ± 0,2
5		27,2 ± 0,2	28,2 ± 0,2	23,2 ± 0,2	24,8 ± 0,2	26,9 ± 0,2	21,3 ± 0,2	24,4 ± 0,2
		28,1 ± 0,2	28,7 ± 0,2	24,0 ± 0,2	25,0 ± 0,2	28,2 ± 0,2	21,5 ± 0,2	24,8 ± 0,2
7		30,1 ± 0,2	28,9 ± 0,2	24,7 ± 0,2	25,6 ± 0,2	29,9 ± 0,2	22,2 ± 0,2	25,0 ± 0,2
		33,2 ± 0,2	29,5 ± 0,2	25,1 ± 0,2	25,7 ± 0,2	30,4 ± 0,2	22,4 ± 0,2	26,3 ± 0,2
9		35,3 ± 0,2	29,6 ± 0,2	25,5 ± 0,2	26,7 ± 0,2	32,3 ± 0,2	22,7 ± 0,2	26,4 ± 0,2
		36,1 ± 0,2	34,7 ± 0,2	25,8 ± 0,2	26,9 ± 0,2	33,7 ± 0,2	23,9 ± 0,2	26,5 ± 0,2
11			37,2 ± 0,2	26,6 ± 0,2	27,5 ± 0,2	34,9 ± 0,2	24,4 ± 0,2	27,2 ± 0,2
				26,8 ± 0,2	28,7 ± 0,2	35,3 ± 0,2	24,7 ± 0,2	27,5 ± 0,2
13				27,4 ± 0,2	29,0 ± 0,2	35,7 ± 0,2	24,9 ± 0,2	28,4 ± 0,2
				28,1 ± 0,2	29,9 ± 0,2	39,9 ± 0,2	25,2 ± 0,2	28,9 ± 0,2
15				28,7 ± 0,2	30,0 ± 0,2		26,5 ± 0,2	29,3 ± 0,2
				29,0 ± 0,2	30,4 ± 0,2		26,4 ± 0,2	29,7 ± 0,2
17				29,8 ± 0,2	30,5 ± 0,2		27,2 ± 0,2	29,8 ± 0,2
				29,9 ± 0,2	38,8 ± 0,2		27,3 ± 0,2	30,3 ± 0,2
19				30,6 ± 0,2			27,7 ± 0,2	33,9 ± 0,2
				31,8 ± 0,2			28,5 ± 0,2	36,8 ± 0,2
21				34,2 ± 0,2			28,9 ± 0,2	39,5 ± 0,2
				35,5 ± 0,2			29,4 ± 0,2	
23				36,4 ± 0,2			29,8 ± 0,2	
				37,0 ± 0,2			30,2 ± 0,2	
25				38,0 ± 0,2			30,3 ± 0,2	
				38,9±0,2			31,4 ± 0,2	
27							31,6 ± 0,2	
							35,2 ± 0,2	

29

## Descriere detaliată a invenției

31

Inventatorii au descoperit, în mod surprinzător, că 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină este capabilă să formeze noi solvați prin modificarea stării cristaline. Exemple de forme cristaline de tip solvat includ solvați de la amide substituie cum ar fi N,N-dimetilacetamida și N,N-dimetilformamida, solvați de la amide nesubstituie cum ar fi formamidă, solvați de la compuși cu structura lactamică cum ar fi N-metil-2-pirolidona, solvați de la sulfoxizi cum ar fi dimetilsulfoxid. Solvații s-au format în prezența solvenților polari, de preferat din clasa amidelor, sulfoxizilor și compușilor cu structură lactamică.

37

Solvații de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină includ:

39

a. Solvatul de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină cu N,N-dimetilacetamidă, în stoechiometrie 2:1, denumit în continuare Forma III.

# RO 133946 B1

b. Solvatul de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină cu N-metil-2-pirolidonă, în stoechiometrie 2:1, denumit în continuare Forma IV.	1
c. Solvatul de 6-(3-metil-5-riitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină cu formamidă, în stoechiometrie 1:2, denumit în continuare Forma V.	3
d. Solvatul de 6-(3-metil-5-riitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină cu N,N-dimetilformamidă, în stoechiometrie 2:1, denumit în continuare Forma VI.	5
e. Solvatul de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină cu dimetilsulfoxid, în stoechiometrie 2:1, denumit în continuare Forma VII.	7
Forma III	9
Forma III în conformitate cu invenția se caracterizează prin spectrul IR prezentat în fig. 6, prin spectrul Raman prezentat în fig. 11, prin spectrul UV-Vis prezentat în fig. 16, prin spectrul SERS prezentat în fig. 21, prin spectrul SEIRA prezentat în fig. 26, prin spectrul PL prezentat în fig. 31, printr-o difractogramă de raze X prezentată în fig. 39, printr-o analiză termogravimetrică prezentată în fig. 1 și prin maximele de difracție conform cu tabelul 1. Analiza termogravimetrică arată o pierdere de masă în intervalul 110-170°C de aproximativ 13,7% masic, comparativ cu o pierdere de masă teoretică de 13,57%) masic pentru un solvat cu dimetilacetamida în raport molar 1:0,5, urmată de topirea solidului la temperatura de 250-260°C și descompunerea solidului la temperaturi de peste 270°C. Forma III este un solvat stabil al 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu N,N-dimetilacetamidă, în stoechiometrie 1:0,5. Prezența N,N-dimetilacetamidei în solvatul denumit Forma III este evidențiată de benzile de absorbție IR specifice acestui solvent situate la 1393 cm <sup>-1</sup> în spectrul SEIRA (Fig. 26) și 1633 cm <sup>-1</sup> în spectrul IR (fig. 6), care sunt regăsite împreună cu benzile de absorbție caracteristice 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. Prezența N,N-dimetilacetamidei în solvatul denumit Forma III este evidențiată de linia Raman de la 2923 cm <sup>-1</sup> (fig. 11) și în spectrul SERS al Formei III se remarcă linia Raman de la 722 cm <sup>-1</sup> (fig. 21) care sunt suplimentare tuturor liniilor Raman ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. O consecință a prezenței N,N-dimetilacetamidei în solvatul denumit Forma III este prezența maximului benzii de fotoluminescență la 506 nm (fig. 31). Fotodegradarea sub iradierea UV timp de 9 h și 18 min a Formei III este ilustrată prin creșterea intensității benzii de fotoluminescență și deplasarea maximului benzii de fotoluminescență la 532 nm (fig. 31). Banda de absorbție a Formei III este situată la circa 278 nm și sub iradierea UV este raportată o diminuare a absorbantei simultan cu creșterea absorbantei benzii de la 346 nm (fig. 16).	11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33
Se înțelege, deci, că Forma III conform invenției poate fi obținută din sisteme bicomponente sau multicomponente, sisteme ce conțin în mod necesar N,N-dimetilacetamidă și 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină, prin metode ce conduc la obținerea de compus solid printr-o succesiune de operații, ca de exemplu recristalizare, precipitare, uscare, difuzie sau combinații ale acestora.	35 37
Invenția prezintă de asemenea un procedeu de obținere a Formei III, care cuprinde următoarele etape:	39
a. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină într-un amestec echivolumetric de N,N-dimetilacetamidă cu apă și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> la 25°C, la o concentrație mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> , preferabil 10-100 gL <sup>-1</sup> și	41 43
b. uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.	45
Alternativ, Forma III se poate obține prin procedeul care cuprinde următoarele etape:	
a'. dizolvarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei, în N,N-dimetilacetamidă în care aceasta are solubilitate mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> la 25°C, la o concentrație mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> , de preferință între 40 și 90 gL <sup>-1</sup> . Precipitarea Formei III la o	47 49

# RO 133946 B1

1 temperatură cuprinsă între 0-10°C prin adăugarea soluției de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)  
sulfanil-9H-purină peste un volum de anti-solvent, egal cu de cel puțin 0,5 ori volumul soluției  
3 de N,N-dimetilacetamidă, de preferat între 2-20 ori volumul soluției și recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. De preferat, adăugarea se realizează într-o singură etapă. De preferat, intervalul de timp în care se realizează adăugarea este de maximum 5 min.

7 Prin anti-solvent se înțelege pe parcursul acestei descrieri un lichid în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mică de 1 gL<sup>-1</sup> la 25°C, și este de preferință toluen, tetrahidrofuran, etanol sau acetonă.

9 sau

11 a". recristalizarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-un solvent, de exemplu N,N-dimetilacetamidă, la o temperatură finală, de preferință cuprinsă în intervalul 25-5°C, cu o viteză de răcire de minimum 1°C h<sup>-1</sup>, urmată de recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei.

15 sau

17 a". difuzia unui antisolvent miscibil cu N,N-dimetilacetamidă, de exemplu dietil eter, etil formiat sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în N,N-dimetilacetamidă și recuperarea precipitatului de Forma III.

19 Forma IV

21 Forma IV în conformitate cu invenția se caracterizează prin spectrul IR prezentat în fig. 7, prin spectrul Raman prezentat în fig. 12, prin spectrul UV-Vis prezentat în fig. 17, prin spectrul SERS prezentat în fig. 22, prin spectrul SEIRA prezentat în fig. 27, prin spectrul PL prezentat în fig. 32, printr-o difractogramă de raze X prezentată în fig. 40, printr-o analiză termogravimetrică prezentată în fig. 2 și prin maximele de difracție conform cu tabelul 1.

25 Analiza termogravimetrică arată o pierdere de masă în intervalul 170-210°C de aproximativ 13,6% masic, comparativ cu o pierdere de masă teoretică de 15,16% masic pentru un solvat cu N-metil-2-pirolidonă în raport molar 1:0,5, urmată de topirea solidului la temperatura de 250-260°C și descompunerea solidului la temperaturi de peste 270°C. Forma IV este un solvat stabil al 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu N-metil-2-pirolidonă, în stoechiometrie 1:0,5. Prezența N-metil-2-pirolidonei în solvatul denumit Forma IV este evidențiată de benzile de absorbție IR specifice acestui solvent situate la: 1072, 1672, 1730 și 2966 cm<sup>-1</sup> (fig. 7), care acompaniază benzile de absorbție caracteristice 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. În spectrul Raman al Formei IV, prezența N-metil-2-pirolidonei este remarcată prin liniile Raman cu maximele la 931 și 1010 cm<sup>-1</sup> care acompaniază liniile Raman ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei (fig. 12). Aceste linii Raman sunt observate în spectrul SERS al Formei IV la 931 și 1010 cm<sup>-1</sup> (fig. 22). Suplimentar liniilor Raman ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei, în spectrul SERS al Formei IV se remarcă și linia Raman de la 1212 cm<sup>-1</sup> aparținând de asemenea N-metil-2-pirolidonei (fig. 22). Prezența N-metil-2-pirolidonei în solvatul denumit Forma IV este evidențiată de benzile de absorbție IR specifice acestui solvent situate la 960, 1076, 1390 și 2990 cm<sup>-1</sup> în spectrul SEIRA (fig. 27). Spectrul de absorbție UV-VIS al Formei IV este caracterizat în starea inițială printr-o bandă cu maximumul la 276 nm a cărei absorbantă scade sub iradierea UV simultan cu apariția și creșterea absorbantei benzii de absorbție de la 350 nm (fig. 17). Forma IV este caracterizată printr-o bandă de fotoluminescență cu maximumul la 502 nm când lungimea de undă de excitare este de 300 nm, care sub iradiere UV conduce la o creștere a intensității spectrului de fotoluminescență simultan cu o deplasare a maximumului benzii de emisie la 530 nm (fig. 32).



# RO 133946 B1

Se înțelege deci că Forma IV conform invenției poate fi obținută din sisteme bicomponente sau multicomponente, ce conțin în mod necesar N-metil-2-pirolidonă și 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină, prin metode ce conduc la obținerea de compus solid printr-o succesiune de operații, ca de exemplu recristalizare, precipitare, filtrare, difuzie, evaporare sau combinații ale acestora.

Invenția prezintă de asemenea un procedeu de obținere a Formei IV, care cuprinde următoarele etape:

a. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină într-un amestec echivolumetric de N-metil-2-pirolidonă cu apă și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , preferabil  $10\text{-}100 \text{ gL}^{-1}$  și;

b. uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.

Alternativ, Forma IV se poate obține prin procedeul care cuprinde următoarele etape:

a'. precipitarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-o soluție prin adăugarea de antisolvent, care se alege preferabil dintre solvenții de tipul toluenului, cloroformului, etil acetatului, tetrahidrofuranului, etanolului sau acetonei și recuperarea precipitatului de Forma IV.

sau

a". difuzia unui antisolvent miscibil cu N-metil-2-pirolidonă, de exemplu dietil eter, etil formiat, diclormetan sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în N-metil-2-pirolidonă și recuperarea precipitatului de Forma IV.

sau

a"". evaporarea unei soluții filtrate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei în N-metil-2-pirolidonă, de preferat la o temperatură cuprinsă între  $-20 \pm 100^\circ\text{C}$  și o presiune cuprinsă între  $1\text{-}1100 \text{ mbar}$ , de preferat până la înlăturarea completă a solventului.

Forma V

Forma V în conformitate cu invenția se caracterizează prin spectrul IR prezentat în fig. 8, prin spectrul Raman prezentat în fig. 13, prin spectrul UV-Vis prezentat în fig. 18, prin spectrul SERS prezentat în fig. 23, prin spectrul SEIRA prezentat în fig. 28, prin spectrul PL prezentat în fig. 33, printr-o difractogramă de raze X prezentată în fig. 41, printr-o analiză termogravimetrică prezentată în fig. 3 și prin maximele de difracție conform cu tabelul 1. Analiza termogravimetrică arată o pierdere de masă în intervalul  $160\text{-}190^\circ\text{C}$  de aproximativ 21,6% masic, comparativ cu o pierdere de masă teoretică de 27,9% masic pentru un solvat cu formamidă în raport molar 1:2, urmată de topirea solidului la temperatura de  $250\text{-}260^\circ\text{C}$  și descompunerea solidului la temperaturi de peste  $270^\circ\text{C}$ . Forma V este un solvat stabil al 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu formamidă, în stoechiometrie 1:2. Prezența formamidei în solvatul denumit Forma V este evidențiată de benzile de absorbție IR specifice acestui solvent situate la  $1693 \text{ cm}^{-1}$  (fig. 8) și  $1009, 1072$  și  $1390 \text{ cm}^{-1}$  în spectrul SEIRA (fig. 28), care sunt remarcate împreună cu benzile de absorbție caracteristice ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. Fig. 13 evidențiază o linie Raman cu maximul la  $1328 \text{ cm}^{-1}$  care aparține formamidei care acompaniază liniile Raman ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. În cazul spectrului SERS al Formei V se remarcă liniile Raman ale  $1212$  și  $1297\text{-}1314 \text{ cm}^{-1}$  care aparțin formamidei, acestea însoțind toate liniile Raman ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei (fig. 23). Forma V este caracterizată printr-o bandă de absorbție cu maximul la  $276 \text{ nm}$  care prin iradiere UV conduce la o scădere graduală a absorbantei simultan cu apariția și creșterea absorbantei benzii de la  $350 \text{ nm}$  pe măsură ce timpul de iradiere UV crește (fig. 18). În absența luminii UV, Forma V este caracterizată printr-o bandă de fotoluminescență cu maximul la  $504 \text{ nm}$  care sub iradiere UV timp de 9 h și 18 min conduce la o creștere graduală a intensității spectrului de fotoluminescență simultan cu modificare poziției sale la  $532 \text{ nm}$  (fig. 33).

# RO 133946 B1

1 Se înțelege deci că Forma V conform invenției poate fi obținută din sisteme bicomponente sau multicomponente, ce conțin în mod necesar formamidă și 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-puhnă, prin metode ce conduc la obținerea de compus solid printr-o  
3 succesiune de operații, ca de exemplu recristalizare, evaporare sau combinații ale acestora.

5 Invenția prezintă de asemenea un procedeu de obținere a Formei V, care cuprinde următoarele etape:

7 a. prepararea unei suspensii a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei într-un amestec formamidă/etil acetat sau formamidă/acetona, preferabil formamidă/etil acetat  
9 în raport echivolumetric în care aceasta are solubilitate mai mică sau egală cu  $1,5 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o concentrație preferabil de  $1 \text{ gL}^{-1}$ .

11 b. evaporarea soluției la presiune mai mică sau egală cu presiunea de vapori a solventului la temperatura de evaporare, preferabil de 1-5 ori mai mică, până la evaporarea  
13 completă a solventului și obținerea Formei V; parametrii preferați pentru această etapă sunt  $60-90^\circ\text{C}$ , 10-80 mbar, pentru soluția în formamidă/etil acetat.

15 Alternativ, Forma V se poate obține prin procedeul care cuprinde următoarele etape:

17 a. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în formamida sau într-un amestec de formamidă cu etil acetat sau acetona, preferabil raport  
19 echivolumetric și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , preferabil  $10-80 \text{ gL}^{-1}$  și obținerea formei V de preferat la o temperatură cuprinsă între  $20-100^\circ\text{C}$  și

21 b. uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.

Forma VI

23 Forma VI în conformitate cu invenția se caracterizează prin spectrul IR prezentat în fig. 9, prin spectrul Raman prezentat în fig. 14, prin spectrul UV-Vis prezentat în fig. 19, prin  
25 spectrul SERS prezentat în fig. 24, prin spectrul SEIRA prezentat în fig. 29, prin spectrul PL prezentat în fig. 34, printr-o difractogramă de raze X prezentată în fig. 42, printr-o analiză  
27 termogravimetrică prezentată în fig. 4 și prin maximele de difracție conform cu tabelul 1. Analiza termogravimetrică arată o pierdere de masă în intervalul  $120-170^\circ\text{C}$  de aproximativ  
29 11% masic, comparativ cu o pierdere de masă teoretică de 11,64% masic pentru un solvat cu N,N-dimetilformamidă în raport molar 1:0,5, urmată de topirea solidului la temperatura de  
31  $250-260^\circ\text{C}$  și descompunerea solidului la temperaturi de peste  $270^\circ\text{C}$  Forma VI este un solvat stabil al 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu N,N-dimetilformamidă, în  
33 stoechiometrie 1:0,5. Prezența N,N-dimetilformamidei în solvatul denumit Forma VI este evidențiată de benzile de absorbție IR specifice acestui solvent la  $1097$  și  $1633 \text{ cm}^{-1}$ , care  
35 sunt observate în fig. 9 împreună cu benzile de absorbție caracteristice 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. Spectrul SEIRA al Formei VI evidențiază prezența N,N-  
37 dimetilformamidei în solvatul denumit Forma VI prin benzile IR cu maximele la  $1072$  și  $1390 \text{ cm}^{-1}$  (fig. 29). Prezența N,N-dimetilformamidei în solvatul denumit Forma VI este evidențiat  
39 în spectrul Raman prin linia cu maximul la  $2931 \text{ cm}^{-1}$  (fig. 14) și în spectrul SERS prin linia Raman cu maximul la  $680 \text{ cm}^{-1}$  (fig. 24), celelalte linii Raman aparținând 6-(3-metil-5-nitroimi-  
41 dazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. Spectrul de absorbție UV-VIS al Formei VI este caracterizat printr-o bandă cu maximul la  $278 \text{ nm}$  care sub iradiere UV conduce la o scădere a  
43 absorbantei sale graduale simultan cu apariția și creșterea progresivă a absorbantei benzii cu maximul la  $350 \text{ nm}$  (fig. 19). Spectrul de fotoluminescență al Formei VI este caracterizat  
45 în starea inițială, adică în absența iradierii UV, de o bandă cu maximul la  $487 \text{ nm}$  care sub iradiere UV induce o creștere graduală a intensității simultan cu deplasarea maximului benzii  
47 de emisie la  $525 \text{ nm}$  (fig. 34).

# RO 133946 B1

Se înțelege deci că Forma VI conform invenției poate fi obținută din sisteme bicomponente sau multicomponente, ce conțin în mod necesar N,N-dimetilformamidă și 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină, prin metode ce conduc la obținerea de compus solid printr-o succesiune de operații, ca de exemplu recristalizare, precipitare, difuzie, evaporare sau combinații ale acestora.

Invenția prezintă de asemenea un procedeu de obținere a Formei VI, care cuprinde următoarele etape:

a. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină într-un amestec echivolumetric de N,N-dimetilformamidă cu apă și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , preferabil  $10\text{-}100 \text{ gL}^{-1}$  și

b. uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.

Alternativ, Forma VI se poate obține prin procedeul care cuprinde următoarele etape:

a'. precipitarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-o soluție de N,N-dimetilformamidă prin adăugarea de antisolvent, care se alege preferabil dintre solvenții de tipul toluenului, etil acetatului, etanolului sau acetonei și recuperarea precipitatului de Forma VI.

sau

a". recristalizarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-un solvent de exemplu N,N-dimetilformamidă sau amestec de solvenți de exemplu N,N-dimetilformamidă cu anisol, preferabil la un raport volumetric de 1:1, la o temperatură finală, de preferință cuprinsă în intervalul  $25\text{-}5^\circ\text{C}$ , cu o viteză de răcire de minimum  $1^\circ\text{C h}^{-1}$ , urmată de recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei.

sau

a'''. difuzia unui antisolvent miscibil cu N,N-dimetilformamidă, de exemplu dietil eter, etil format, diclorometan sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în N,N-dimetilformamidă și recuperarea precipitatului de Forma VI.

sau

a'''. evaporarea unei soluții filtrate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei în N,N-dimetilformamidă, de preferat la o temperatură cuprinsă între  $-20 \pm 100^\circ\text{C}$  și o presiune cuprinsă între  $1\text{-}1100 \text{ mbar}$ , de preferat până la înlăturarea completă a solventului.

Forma VII

Forma VII în conformitate cu invenția se caracterizează prin spectrul IR prezentat în fig. 10, prin spectrul Raman prezentat în fig. 15, prin spectrul UV-Vis prezentat în fig. 20, prin spectrul SERS prezentat în fig. 25, prin spectrul SEIRA prezentat în fig. 30, prin spectrul PL prezentat în fig. 35, printr-o difractogramă de raze X prezentată în fig. 43, printr-o analiză termogravimetrică prezentată în fig. 5 și prin maximele de difracție conform cu tabelul 1. Analiza termogravimetrică arată o pierdere de masă în intervalul  $120\text{-}170^\circ\text{C}$  de aproximativ 11% masic, comparativ cu o pierdere de masă teoretică de 11,64% masic pentru un solvat cu dimetilsulfoxidul în raport molar 1:0,5, urmată de topirea solidului la temperatura de  $250\text{-}260^\circ\text{C}$  și descompunerea solidului la temperaturi de peste  $270^\circ\text{C}$ . Forma VII este un solvat stabil al 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu dimetilsulfoxid, în stoechiometrie 1:0,5. Prezența dimetilsulfoxidului în solvatul denumit Forma VII este evidențiată de benzile de absorbție IR specifice acestui solvent la  $1049$  și  $2973 \text{ cm}^{-1}$  (fig. 10), care sunt raportate împreună cu benzile de absorbție caracteristice 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. În cazul spectrului SEIRA al Formei VII, adițional benzii de absorbție de la  $1072$  și  $2980 \text{ cm}^{-1}$  se remarcă și banda cu maximul la  $960 \text{ cm}^{-1}$  aparținând dimetilsulfoxidului împreună cu celelalte benzi IR ale 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei (fig. 30).

# RO 133946 B1

1 Prezența dimetilsulfoxidului în solvatul denumit Forma VII este evidențiat prin spectroscopie  
Raman prin liniile cu maximele la 668, 719, 1070 și 2912  $\text{cm}^{-1}$  care apar concomitent cu cele  
3 ale dimetilsulfoxidului în solvatul denumit Forma VII conform cu fig. 15. În cazul spectrului  
SERS al Formei VII, în fig. 25 linia Raman aparținând dimetilsulfoxidului este cea situată la  
5 1077  $\text{cm}^{-1}$  cealaltă aparținând 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. Spectrul UV-  
VIS al Formei VII este caracterizat printr-o bandă cu maximul la 276 nm care sub iradiere UV  
7 se observă că prezintă o scădere graduală a absorbantei concomitent cu apariția unei noi  
benzi cu maximul la 350 nm a cărei absorbantă crește cu creșterea timpului de iradiere UV  
9 conform fig. 20. Spectrul de fotoluminescență al Formei VII prezintă o bandă de emisie cu  
maximul la 507 nm a cărei intensitate crește pe măsura creșterii timpului de iradiere UV de  
11 la 0 la 9 h și 18 min simultan cu deplasarea maximului benzii de fotoluminescență la 530 nm  
(fig. 35).

13 Se înțelege deci că Forma VII conform invenției poate fi obținută din sisteme  
bicomponente sau multicomponente, ce conțin în mod necesar dimetilsulfoxid și 6-(3-metil-5-  
15 nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină, prin metode ce conduc la obținerea de compus solid  
printr-o succesiune de operații, ca de exemplu recristalizare, precipitare, difuzie, evaporare  
17 sau combinații ale acestora.

19 Invenția prezintă de asemenea un procedeu de obținere a Formei VII, care cuprinde  
următoarele etape:

21 a. evaporarea soluției la presiune mai mică sau egală cu presiunea de vapori a  
solventului la temperatura de evaporare, preferabil de 1-5 ori mai mică, până la evaporarea  
completă a solventului și obținerea Formei VII

23 sau

25 b. prepararea unei suspensii a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei într-  
un amestec dimetilsulfoxid/apă, preferabil în raport echivolumetric în care aceasta are  
solubilitate mai mică sau egală cu 1,5  $\text{gL}^{-1}$  la 25°C, la o concentrație preferabil de 1  $\text{gL}^{-1}$ ;

27 c. evaporarea soluției de la punctul a) sau a solventului din suspensia de la punctul  
b) la presiune mai mică sau egală cu presiunea de vapori a solventului la temperatura de  
29 evaporare, preferabil de 1-5 ori mai mică, până la evaporarea completă a solventului și  
obținerea Formei VII; parametrii preferați pentru această etapă sunt 60-90°C, 10-80 mbar.

31 Alternativ, Forma VII se poate obține prin procedeul care cuprinde următoarele etape:

33 a'. precipitarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-o soluție de  
dimetilsulfoxid prin adăugarea de antisolvent, care se alege preferabil dintre solvenții de tipul  
toluenului, tetrahidrofuranului, etil acetatului, etanolului sau acetonei și recuperarea preci-  
35 pitatului de Forma VII.

sau,

37 a". difuzia unui antisolvent miscibil cu dimetilsulfoxid, de exemplu dietil eter, etil  
formiat, diclorometan sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-  
39 purină în dimetilsulfoxid și recuperarea precipitatului de Forma VII.

sau,

41 a"". recristalizarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-un solvent  
de exemplu dimetilsulfoxid, la o temperatură finală, de preferință cuprinsă în intervalul  
43 25-5°C, cu o viteză de răcire de minimum 1°C h<sup>-1</sup>, urmată de recuperarea precipitatului prin  
uscarea pe hârtie de filtru la temperatura camerei.

45 sau,

47 a"". evaporarea unei soluții filtrate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-puri-  
nei în dimetilsulfoxid, de preferat la o temperatură cuprinsă între -20 ± 100°C și o presiune  
cuprinsă între 1-1100 mbar, de preferat până la înlăturarea completă a solventului.

# RO 133946 B1

sau,	1
a””. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în dimetilsulfoxid și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> la 25°C, la o concentrație mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> , preferabil 10-100 gL <sup>-1</sup> și uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.	3 5
<b>Exemple</b>	
<b>Exemplul 1</b>	7
<i>Producerea Formei III a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei</i>	
Procedeul 1:	9
Pentru prepararea unei suspensii s-au cântărit 210 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină peste care s-au adăugat 4,2 mL de amestec echivolumetric DMA (N,N-dimetilacetamidă) cu apă la temperatura camerei pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de nouă zile. Recuperarea solidului din suspensie s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma III a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	11 13 15
Procedeul 2:	
54 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de DMA (N,N-dimetilacetamidă) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE și a fost păstrată la 60°C. 10 mL de antisolvent (de preferat, etanol, acetona, toluen, tetrahidrofuran) au fost stocați sub răcire la 5°C, pe baie de gheață. Soluția de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină a fost adăugată volumului de antisolvent în picătură, sub agitare continuă și pe baie de gheață. În aceste condiții a avut loc precipitarea solidului la 5°C. Suspensia s-a menținut la această temperatură pentru cel puțin 12 h. Recuperarea precipitatului s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtia de filtru. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma III a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	17 19 21 23 25
Procedeul 3:	27
52 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de DMA (N,N-dimetilacetamidă) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru de politetrafluoroetilenă (PTFE) și a fost răcită și stocată la temperatura camerei pentru câteva săptămâni pentru a precipita. Recuperarea solidului din soluție s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma III a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	29 31 33
Procedeul 4:	35
20 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 0,5 mL de DMA (N,N-dimetilacetamidă) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de 30 min. Soluția rezultată a fost filtrată la cald cu ajutorul unui filtru PTFE. Într-un flacon cu dop s-au măsurat 2,5 mL de antisolvent (de preferat, acetona, etil formiat sau dietil eter) iar solventul organic s-a ținut la temperatura camerei. Într-un alt flacon mai mic, s-au măsurat 0,2 mL din soluția filtrată la 40°C. Flaconul ce conține soluția filtrată de DMA s-a introdus în flaconul ce conține antisolventul la temperatura camerei și s-au menținut în aceste condiții pe o perioadă de patru săptămâni, timp în care a avut loc difuzia antisolventului în soluția de DMA și precipitarea solidului. În aceste condiții a avut loc precipitarea solidului la temperatura camerei. Recuperarea solidului din soluție s-a realizat prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma III a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	37 39 41 43 45 47

# RO 133946 B1

## 1 Exemplul 2

*Producerea Formei IV a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei*

### 3 Procedeu 1:

5 Pentru prepararea unei suspensii s-au cântărit 210 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină peste care s-au adăugat 4,2 mL de amestec echivolumetric NMP  
7 (N-metil-2-pirolidonă) cu apă la temperatura camerei pe o plită electrică, sub agitare con-  
9 tinuă, timp de nouă zile. Recuperarea solidului din suspensie s-a realizat prin filtrare și  
uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat  
Forma IV a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

### 11 Procedeu 2:

11 54 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de  
13 NMP (N-metil-2-pirolidonă) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră  
și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE și a fost păstrată  
15 la 60°C. 10 mL de antisolvent (de preferat, etanol, etil acetat, acetonă, toluen, tetrahidrofuran  
sau cloroform) au fost stocați sub răcire la 5°C, pe baie de gheață. Soluția de 6-(3-metil-5-  
17 nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină a fost adăugată volumului de antisolvent în picătură, sub  
agitare continuă și pe baie de gheață. În aceste condiții are loc precipitarea solidului la 5°C.  
19 Suspensia s-a menținut la această temperatură pentru cel puțin 12 h. Recuperarea preci-  
pitatului s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtia de filtru. În urma analizelor efectuate a  
rezultat Forma IV a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

### 21 Procedeu 3:

23 20 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 0,5 mL de  
NMP (N-metil-2-pirolidonă) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de 30 min.  
25 Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE. Într-un flacon cu dop s-au  
măsurat 2,5 mL de antisolvent (de preferat, acetona, etil formiat, dietil eter sau diclormetan)  
iar solventul organic s-a ținut la temperatura camerei. Într-un alt flacon mai mic s-au măsurat  
27 0,2 mL din soluția filtrată la 40°C. Flaconul ce conține soluția filtrată de NMP s-a introdus în  
flaconul ce conține antisolventul la temperatura camerei și s-au menținut în aceste condiții  
29 pe o perioadă de patru săptămâni, timp în care a avut loc difuzia antisolventului în soluția de  
NMP și precipitarea solidului. În aceste condiții a avut loc precipitarea solidului la tempe-  
31 ratura camerei. Recuperarea solidului din soluție s-a realizat prin uscare pe hârtie de filtru  
la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma IV a 6-(3-metil-5-nitro-  
33 imidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

### 35 Procedeu 4:

37 20 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 0,5 mL de  
NMP (N-metil-2-pirolidonă) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de 30 min.  
39 Soluția rezultată este filtrată la cald cu ajutorul unui filtru PTFE. Soluția filtrată este păstrată  
la temperatura camerei și presiune atmosferică până la evaporarea completă a solventului.  
În urma analizelor efectuate a rezultat Forma IV a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-  
purinei.

## 41 Exemplul 3

*Producerea Formei Va 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei*

### 43 Procedeu 1:

45 220 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 5 mL de  
amestec echivolumetric formamidă/etil acetat la 60°C pe o plită electrică, sub agitare con-  
47 tinuă, timp de 1 h. Suspensia rezultată a fost uscată la 90°C și 10 mbar pentru aproximativ  
12 h. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma V a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-  
9H-purinei.

# RO 133946 B1

Procedeu 2:	1
Pentru prepararea unei suspensii s-au cântărit 20 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină peste care s-au adăugat 1 mL de formamidă sau 1 mL de amestec echivolumetric formamidă cu etil acetat sau acetonă la temperatura camerei pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de șapte zile. Recuperarea solidului din suspensie s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma V a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	3 5 7
Procedeu 3:	9
Pentru prepararea unei suspensii s-au cântărit 20 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină peste care s-au adăugat 1 mL de formamidă la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de șapte zile. Recuperarea solidului din suspensie s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma V a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	11 13
<b>Exemplul 4</b>	
<i>Producerea Formei VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei</i>	15
Procedeu 1:	17
Pentru prepararea unei suspensii s-au cântărit 197 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină peste care s-au adăugat 4,8 mL de amestec echivolumetric DMF (N,N-dimetilformamidă) cu apă la temperatura camerei pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de nouă zile. Recuperarea solidului din suspensie s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	19 21
Procedeu 2:	23
35 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de DMF (N,N-dimetilformamidă) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE și a fost păstrată la 60°C. 10 mL de antisolvent (de preferat, etanol, acetonă, etil acetat sau toluen) au fost stocați sub răcire la 5°C, pe baie de gheață. Soluția de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină a fost adăugată volumului de antisolvent în picătură, sub agitare continuă și pe baie de gheață. În aceste condiții a avut loc precipitarea solidului la 5°C. Suspensia s-a menținut la această temperatură pentru cel puțin 12 h. Recuperarea precipitatului s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtia de filtru. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	25 27 29 31 33
Procedeu 3:	35
33 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de DMF (N,N-dimetilformamidă) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru de politetrafluoroetilenă (PTFE) și a fost răcită și stocată la 5°C pentru câteva săptămâni pentru a precipita. Recuperarea solidului din soluție s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	37 39 41
Procedeu 4:	43
22 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de amestec echivolumetric DMF (N,N-dirnetilformamidă) cu anisol la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru de politetrafluoroetilenă (PTFE) și a fost răcită și stocată la 5°C sau la temperatura camerei pentru câteva săptămâni pentru a precipita. Recuperarea solidului din soluție s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.	45 47 49

# RO 133946 B1

1           Procedeul 5:

2           25 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de  
3 DMF (N,N-dimetilformamidă) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de  
4 30 min. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru, PTFE. Într-un flacon cu dop  
5 s-au măsurat 2,5 mL de antisolvent (de preferat, acetona, etil formiat, dietil eter sau diclor-  
6 metan) iar solventul organic s-a ținut la temperatura camerei. Într-un alt flacon mai mic s-au  
7 măsurat 0,2 mL din soluția filtrată la 40°C. Flaconul ce conține soluția filtrată de DMF s-a  
8 introdus în flaconul ce conține antisolventul la temperatura camerei și s-au menținut în  
9 aceste condiții pe o perioadă de patru săptămâni, timp în care a avut loc difuzia antisolven-  
10 tului în soluția de DMF și precipitarea solidului. În aceste condiții a avut loc precipitarea  
11 solidului la temperatura camerei. Recuperarea solidului din soluție se realizează prin uscare  
12 pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VI  
13 a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

14           Procedeul 6:

15           13 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 0,5 mL de  
16 DMF (N,N-dimetilformamidă) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de  
17 30 min. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE. Soluția filtrată s-a  
18 păstrat la temperatura camerei și presiune atmosferică până la evaporarea completa a sol-  
19 ventului. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sul-  
20 fanil-9H-purinei.

21           **Exemplul 5**

22           Producerea Formei VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei

23           Procedeul 1:

24           200 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 3,6 mL  
25 de DMSO (dimetilsulfoxid) la temperatura camerei pe o plită electrică, sub agitare continuă,  
26 până când întreaga cantitate de material se dizolvă în DMSO. Soluția rezultată este uscată  
27 la 90°C și 10 mbar pentru aproximativ 12 h. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VII  
28 a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

29           Procedeul 2:

30           20 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 2 mL de  
31 amestec echivolumetric DMSO (dimetilsulfoxid)/apa la 60°C pe o plită electrică, sub agitare  
32 continuă, timp de o ora. Suspensia rezultată este uscată la 90°C și 10 mbar pentru aproxi-  
33 mativ 12 h. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-  
34 il)sulfanil-9H-purinei.

35           Procedeul 3:

36           112 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de  
37 DMSO (dimetilsulfoxid) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și  
38 jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE și a fost păstrată la  
39 60°C. 10 mL de antisolvent (de preferat, etanol, acetona, etil acetat, tetrahidrofuran sau  
40 toluen) au fost stocați sub răcire la 5°C, pe baie de gheață. Soluția de 6-(3-metil-5-nitroimi-  
41 dazol-4-il)sulfanil-9H-purină a fost adăugată volumului de antisolvent în picătură, sub agitare  
42 continuă și pe baie de gheață. În aceste condiții a avut loc precipitarea solidului la 5°C.  
43 Suspensia s-a menținut la această temperatură pentru cel puțin 12 h. Recuperarea precipita-  
44 tului s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtia de filtru. În urma analizelor efectuate a  
45 rezultat Forma VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei.

46           Procedeul 4:

47           Pentru prepararea unei suspensii s-au cântărit 40 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-  
48 il)sulfanil-9H-purină peste care s-au adăugat 1 mL de amestec echivolumetric DMSO  
49 (dimetilsulfoxid)/apă la temperatura camerei pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp



# RO 133946 B1

de șapte zile. Recuperarea solidului din suspensie s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. 1  
3

Procedeeul 5:

110 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 1 mL de DMSO (dimetilsulfoxid) la 60°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de o oră și jumătate. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru de politetrafluoroetilenă (PTFE) și a fost răcită și stocată la 5°C sau la temperatura camerei pentru câteva săptămâni pentru a precipita. Recuperarea solidului din soluție s-a realizat prin filtrare și uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. 5  
7  
9  
11

Procedeeul 6:

41 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 0,5 mL de DMSO (dimetilsulfoxid) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de 30 min. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE. Într-un flacon cu dop s-au măsurat 2,5 mL de antisolvent (de preferat, acetona, etil formiat, dietil eter sau diclormetan) iar solventul organic s-a ținut la temperatura camerei. Într-un alt flacon mai mic s-au măsurat 0,2 mL din soluția filtrată la 40°C. Flaconul ce conține soluția filtrată de DMSO s-a introdus în flaconul ce conține antisolventul la temperatura camerei și s-au menținut în aceste condiții pe o perioadă de patru săptămâni, timp în care a avut loc difuzia antisolventului în soluția de DMSO și precipitarea solidului. În aceste condiții a avut loc precipitarea solidului la temperatura camerei. Recuperarea solidului din soluție se realizează prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. 13  
15  
17  
19  
21  
23

Procedeeul 7:

33 mg de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină s-au dizolvat în 0,4 mL de DMSO (dimetilsulfoxid) la 40°C pe o plită electrică, sub agitare continuă, timp de 30 minute. Soluția rezultată s-a filtrat la cald cu ajutorul unui filtru PTFE. Soluția filtrată s-a păstrat la temperatura camerei și presiune atmosferică până la evaporarea completă a solventului. În urma analizelor efectuate a rezultat Forma VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei. 25  
27  
29  
31

## Bibliografie

1. J. C. William și E. B. Charles, J. Pharmacol. Sci. (1975), 221-225. 35
2. K. R. Acharya, J. Chem. Sci. 93, (0), (1984), 183-187. 37
3. O.-I. Covaci et al., Journal of Molecular Structure, 1178, (2019), 702-710. 39
4. I. Smaranda et al., Results in Physics, 14, (2019), 102443.

# RO 133946 B1

## Revendicări

1

3 1. Formă cristalină solvatată III a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu  
N,N-dimetilacetamidă în stoechiometrie 1:0,5, cu următoarele maxime de difracție de raze  
5 X:  $6,8 \pm 0,2$ ,  $7,1 \pm 0,2$ ,  $7,6 \pm 0,2$ ,  $7,9 \pm 0,2$ ,  $9,9 \pm 0,2$ ,  $10,8 \pm 0,2$ ,  $12,7 \pm 0,2$ ,  $14,1 \pm 0,2$ ,  
14,3  $\pm 0,2$ , 14,8  $\pm 0,2$ , 15,4  $\pm 0,2$ , 15,8  $\pm 0,2$ , 17,4  $\pm 0,2$ , 18,2  $\pm 0,2$ , 19,8  $\pm 0,2$ , 20,2  $\pm 0,2$ ,  
7 20,8  $\pm 0,2$ , 21,7  $\pm 0,2$ , 22,6  $\pm 0,2$ , 23,2  $\pm 0,2$ , 24,0  $\pm 0,2$ , 24,7  $\pm 0,2$ , 25,1  $\pm 0,2$ , 25,5  $\pm 0,2$ ,  
25,8  $\pm 0,2$ , 26,6  $\pm 0,2$ , 26,8  $\pm 0,2$ , 27,4  $\pm 0,2$ , 28,1  $\pm 0,2$ , 28,7  $\pm 0,2$ , 29,0  $\pm 0,2$ , 29,8  $\pm 0,2$ ,  
9 29,9  $\pm 0,2$ , 30,6  $\pm 0,2$ , 31,8  $\pm 0,2$ , 34,2  $\pm 0,2$ , 35,5  $\pm 0,2$ , 36,4  $\pm 0,2$ , 37  $\pm 0,2$ , 38  $\pm 0,2$ ,  
38,9  $\pm 0,2$ .

11 2. Formă cristalină solvatată IV a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu  
N-metil-2-pirolidonă în stoechiometrie 1:0,5, cu următoarele maxime de difracție de raze X:  
13  $6,8 \pm 0,2$ ,  $7,1 \pm 0,2$ ,  $7,7 \pm 0,2$ ,  $9,8 \pm 0,2$ ,  $12,6 \pm 0,2$ ,  $14, \pm 0,2$ ,  $14,2 \pm 0,2$ ,  $15,3 \pm 0,2$ ,  
15,7  $\pm 0,2$ , 17,4  $\pm 0,2$ , 18,1  $\pm 0,2$ , 19,7  $\pm 0,2$ , 20,3  $\pm 0,2$ , 21,0  $\pm 0,2$ , 21,8  $\pm 0,2$ , 22,6  $\pm 0,2$ ,  
15 22,8  $\pm 0,2$ , 23,2  $\pm 0,2$ , 24,1  $\pm 0,2$ , 24,8  $\pm 0,2$ , 25,0  $\pm 0,2$ , 25,6  $\pm 0,2$ , 25,7  $\pm 0,2$ , 26,7  $\pm 0,2$ ,  
26,9  $\pm 0,2$ , 27,5  $\pm 0,2$ , 28,7  $\pm 0,2$ , 29  $\pm 0,2$ , 29,9  $\pm 0,2$ , 30  $\pm 0,2$ , 30,4  $\pm 0,2$ , 30,5  $\pm 0,2$ ,  
17 38,8  $\pm 0,2$ .

19 3. Formă cristalină solvatată V a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu  
formamidă în stoechiometrie 1:2, cu următoarele maxime de difracție de raze X:  $7,2 \pm 0,2$ ,  
8,7  $\pm 0,2$ , 11,4  $\pm 0,2$ , 14,4  $\pm 0,2$ , 17,4  $\pm 0,2$ , 17,7  $\pm 0,2$ , 18,4  $\pm 0,2$ , 19,3  $\pm 0,2$ , 20,2  $\pm 0,2$ ,  
21 21,0  $\pm 0,2$ , 21,5  $\pm 0,2$ , 22,1  $\pm 0,2$ , 22,6  $\pm 0,2$ , 22,9  $\pm 0,2$ , 23,3  $\pm 0,2$ , 23,7  $\pm 0,2$ , 24,6  $\pm 0,2$ ,  
25,0  $\pm 0,2$ , 26,7  $\pm 0,2$ , 26,9  $\pm 0,2$ , 28,2  $\pm 0,2$ , 29,9  $\pm 0,2$ , 30,4  $\pm 0,2$ , 32,3  $\pm 0,2$ , 33,7  $\pm 0,2$ ,  
23 34,9  $\pm 0,2$ , 35,3  $\pm 0,2$ , 35,7  $\pm 0,2$ , 39,9  $\pm 0,2$ .

25 4. Formă cristalină solvatată VI a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei cu  
N,N-dimetilformamidă în stoechiometrie 1:0,5, cu următoarele maxime de difracție de raze  
X:  $6,9 \pm 0,2$ ,  $7,3 \pm 0,2$ ,  $7,8 \pm 0,2$ ,  $8,1 \pm 0,2$ ,  $10,1 \pm 0,2$ ,  $11 \pm 0,2$ ,  $12,7 \pm 0,2$ ,  $13,0 \pm 0,2$ ,  
27 14,3  $\pm 0,2$ , 14,7  $\pm 0,2$ , 15,1  $\pm 0,2$ , 15,7  $\pm 0,2$ , 16,2  $\pm 0,2$ , 17,7  $\pm 0,2$ , 18,7  $\pm 0,2$ , 19,7  $\pm 0,2$ ,  
20,3  $\pm 0,2$ , 20,5  $\pm 0,2$ , 20,9  $\pm 0,2$ , 21,3  $\pm 0,2$ , 21,5  $\pm 0,2$ , 22,2  $\pm 0,2$ , 22,4  $\pm 0,2$ , 22,7  $\pm 0,2$ ,  
29 23,9  $\pm 0,2$ , 24,4  $\pm 0,2$ , 24,7  $\pm 0,2$ , 24,9  $\pm 0,2$ , 25,2  $\pm 0,2$ , 26,5  $\pm 0,2$ , 26,4  $\pm 0,2$ , 27,2  $\pm 0,2$ ,  
27,3  $\pm 0,2$ , 27,7  $\pm 0,2$ , 28,5  $\pm 0,2$ , 28,9  $\pm 0,2$ , 29,4  $\pm 0,2$ , 29,8  $\pm 0,2$ , 30,2  $\pm 0,2$ , 30,3  $\pm 0,2$ ,  
31 31,4  $\pm 0,2$ , 31,6  $\pm 0,2$ , 35,2  $\pm 0,2$ .

33 5. Formă cristalină solvatată VII a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei  
cu dimetilsulfoxid în stoechiometrie 1:0,5, cu următoarele maxime de difracție de raze X:  
35  $7,0 \pm 0,2$ ,  $7,4 \pm 0,2$ ,  $7,9 \pm 0,2$ ,  $8,0 \pm 0,2$ ,  $8,2 \pm 0,2$ ,  $10,2 \pm 0,2$ ,  $14,5 \pm 0,2$ ,  $14,7 \pm 0,2$ , 1  
5,4  $\pm 0,2$ , 16,4  $\pm 0,2$ , 18,2  $\pm 0,2$ , 19,2  $\pm 0,2$ , 19,9  $\pm 0,2$ , 20,6  $\pm 0,2$ , 20,9  $\pm 0,2$ , 21,1  $\pm 0,2$ ,  
21,4  $\pm 0,2$ , 22,5  $\pm 0,2$ , 24,2  $\pm 0,2$ , 24,4  $\pm 0,2$ , 24,8  $\pm 0,2$ , 25,0  $\pm 0,2$ , 26,3  $\pm 0,2$ , 26,4  $\pm 0,2$ ,  
37 26,5  $\pm 0,2$ , 27,2  $\pm 0,2$ , 27,5  $\pm 0,2$ , 28,4  $\pm 0,2$ , 28,9  $\pm 0,2$ , 29,3  $\pm 0,2$ , 29,7  $\pm 0,2$ , 29,8  $\pm 0,2$ ,  
30,3  $\pm 0,2$ , 33,9  $\pm 0,2$ , 36,8  $\pm 0,2$ , 39,5  $\pm 0,2$ .

39 6. Procedeu de obținere a compusului conform revendicării 1, care cuprinde etapele  
de:

41 a. preparare a unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina într-  
un amestec echivolumetric de N,N-dimetilacetamidă cu apa și în care 6-(3-metil-5-nitro-  
43 imidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o  
concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , preferabil  $10\text{-}100 \text{ gL}^{-1}$  și uscare pe hârtia de filtru  
45 la temperatura camerei;

47 b. dizolvare a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei Forma I, în N,N-  
dimetilacetamidă în care aceasta are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o  
concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , de preferință între  $40$  și  $90 \text{ gL}^{-1}$ , precipitarea

# RO 133946 B1

Formei III la o temperatură cuprinsă între 0-10°C prin adăugarea soluției de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină peste un volum de anti-solvent, egal cu de cel puțin 0,5	1
ori volumul soluției de N,N-dimetilacetamidă, de preferat între 2-20 ori volumul soluției și	3
recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei; adăugarea se realizează într-o singură etapă, în maximum 5 min, sau alternativ cu:	5
c. recristalizarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-un solvent, de exemplu N,N-dimetilacetamidă, la o temperatura finală, de preferință cuprinsă în intervalul	7
25-5°C, cu o viteză de răcire de minimum 1°C h <sup>-1</sup> , urmată de recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei, sau alternativ cu:	9
d. difuzia unui antisolvent miscibil cu N,N-dimetilacetamidă, de exemplu dietil eter, etil formiat sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în	11
N,N-dimetilacetamidă și recuperarea precipitatului de Forma III.	
7. Procedeu de obținere a compusului conform revendicării 2, care cuprinde etapele de:	13
a. preparare a unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina într-un amestec echivolumetric de N-metil-2-pirolidonă cu apa și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> la 25°C, la	15
o concentrație mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> , preferabil 10-100 gL <sup>-1</sup> și uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.	17
b. precipitare a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-o soluție prin adăugarea de antisolvent, care se alege preferabil dintre solvenții de tipul toluenului, clorofomului, etil acetatului, tetrahidrofuranului, etanolului sau acetonei și recuperarea precipitatului de Forma IV, sau alternativ cu:	19
c. difuzie a unui antisolvent miscibil cu N-metil-2-pirolidonă, de exemplu dietil eter, etil formiat, diclormetan sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în N-metil-2-pirolidonă și recuperarea precipitatului de Forma IV, sau alternativ cu:	21
d. evaporare a unei soluții filtrate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei în N-metil-2-pirolidonă, de preferat la o temperatură cuprinsă între -20 ± 100°C și o presiune cuprinsă între 1-1100 mbar, de preferat până la înlăturarea completă a solventului.	23
8. Procedeu de obținere a compusului conform revendicării 3, care cuprinde etapele de:	25
a. preparare a unei suspensii a 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei într-un amestec formamidă/etil acetat sau formamidă/acetonă, preferabil formamidă/etil acetat în raport echivolumetric în care aceasta are solubilitate mai mică sau egală cu 1,5 gL <sup>-1</sup> la 25°C, la o concentrație preferabil de 1 gL <sup>-1</sup> .	27
b. evaporare a soluției la presiune mai mică sau egală cu presiunea de vapori a solventului la temperatura de evaporare, preferabil de 1-5 ori mai mică, până la evaporarea completă a solventului și obținerea Formei V; parametrii preferați pentru această etapă sunt 60-90°C, 10-80 mbar, pentru soluția în formamidă/etil acetat, sau alternativ cu:	29
c. preparare a unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în formamidă sau într-un amestec de formamidă cu etil acetat sau acetonă, preferabil în raport echivolumetric și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> la 25°C, la o concentrație mai mare sau egală cu 1 gL <sup>-1</sup> , preferabil 10-80 gL <sup>-1</sup> și obținerea formei V de preferat la o temperatură cuprinsă între 20-100°C și uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.	31
	33
	35
	37
	39
	41
	43
	45

# RO 133946 B1

1           9. Procedeu de obținere a compusului conform revendicării 4, care cuprinde următoarele etape:

3           a. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină într-un amestec echivolumetric de N,N-dimetilformamidă cu apă și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , preferabil  $10\text{-}100 \text{ gL}^{-1}$  și uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei, sau alternativ cu:

7           b. precipitarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-o soluție prin adăugarea de antisolvent, care se alege preferabil dintre solvenții de tipul toluenului, etil acetatului, etanolului sau acetonei și recuperarea precipitatului de Forma VI, sau alternativ cu:

9           c. recristalizarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-un solvent de exemplu N,N-dimetilformamidă sau amestec de solvenți de exemplu N,N-dimetilformamidă cu anisol, preferabil la un raport volumetric de 1:1, la o temperatura finală, de preferință cuprinsă în intervalul  $25\text{-}5^\circ\text{C}$ , cu o viteză de răcire de minimum  $1^\circ\text{C h}^{-1}$ , urmată de recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei, sau alternativ cu:

11           d. difuzia unui antisolvent miscibil cu N,N-dimetilformamida, de exemplu dietil eter, etil formiat, diclormetan sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina în N,N-dimetilformamidă și recuperarea precipitatului de Forma VI, sau alternativ cu:

13           e. evaporarea unei soluții filtrate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei în N,N-dimetilformamidă, de preferat la o temperatură cuprinsă între  $-20 \pm 100^\circ\text{C}$  și o presiune cuprinsă între  $1\text{-}1100 \text{ mbar}$ , de preferat până la înlăturarea completă a solventului.

15           10. Procedeu de obținere a compusului conform revendicării 5, care cuprinde următoarele etape:

17           a. evaporarea soluției la presiune mai mică sau egală cu presiunea de vapori a solventului la temperatura de evaporare, preferabil de 1-5 ori mai mică, până la evaporarea completă a solventului și obținerea Formei VII.

19           b. precipitarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-o soluție prin adăugarea de antisolvent, care se alege preferabil dintre solvenții de tipul toluenului, tetrahidrofuranului, etil acetatului, etanolului sau acetonei și recuperarea precipitatului de Forma VII, sau alternativ cu:

21           c. difuzia unui antisolvent miscibil cu dimetilsulfoxid, de exemplu dietil eter, etil formiat, diclormetan sau acetonă, într-o soluție de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină în dimetilsulfoxid și recuperarea precipitatului de Forma VII, sau alternativ cu:

23           d. recristalizarea 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purinei dintr-un solvent de exemplu dimetilsulfoxid, la o temperatura finală, de preferință cuprinsă în intervalul  $25\text{-}5^\circ\text{C}$ , cu o viteză de răcire de minim  $1^\circ\text{C h}^{-1}$ , urmată de recuperarea precipitatului prin uscare pe hârtie de filtru la temperatura camerei, sau alternativ cu:

25           e. evaporarea unei soluții filtrate de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină în dimetilsulfoxid, de preferat la o temperatură cuprinsă între  $-20 \pm 100^\circ\text{C}$  și o presiune cuprinsă între  $1\text{-}1100 \text{ mbar}$ , de preferat până la înlăturarea completă a solventului, sau alternativ cu:

27           f. prepararea unei suspensii de 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purină în dimetilsulfoxid și în care 6-(3-metil-5-nitroimidazol-4-il)sulfanil-9H-purina are solubilitate mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$  la  $25^\circ\text{C}$ , la o concentrație mai mare sau egală cu  $1 \text{ gL}^{-1}$ , preferabil  $10\text{-}100 \text{ gL}^{-1}$  și uscare pe hârtia de filtru la temperatura camerei.

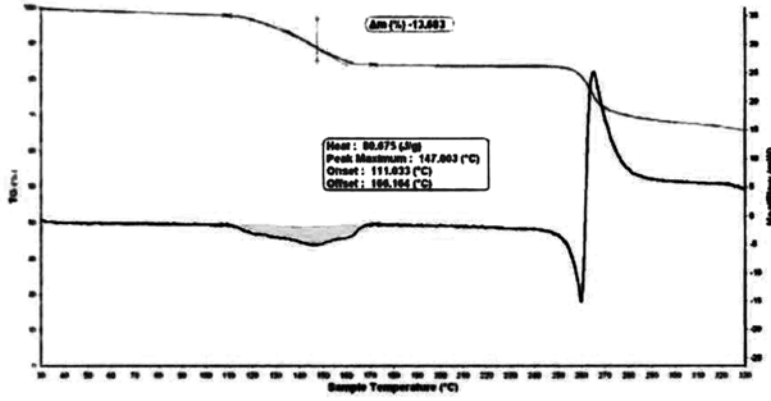


Fig. 1

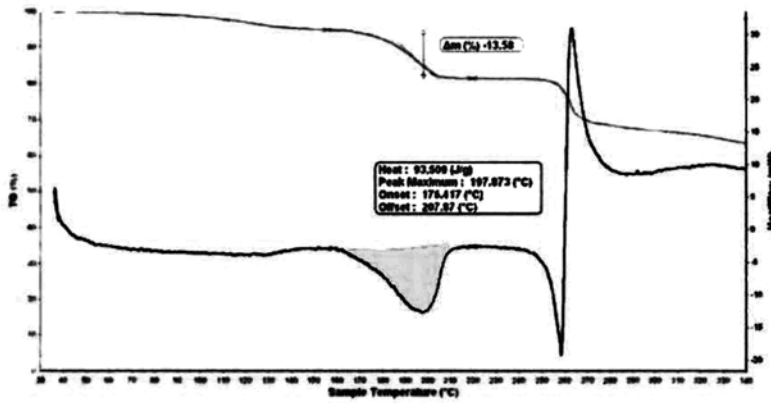


Fig. 2

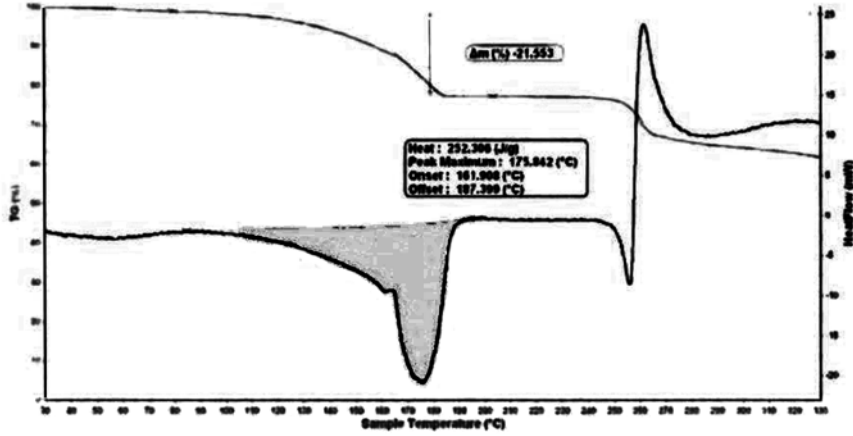


Fig. 3

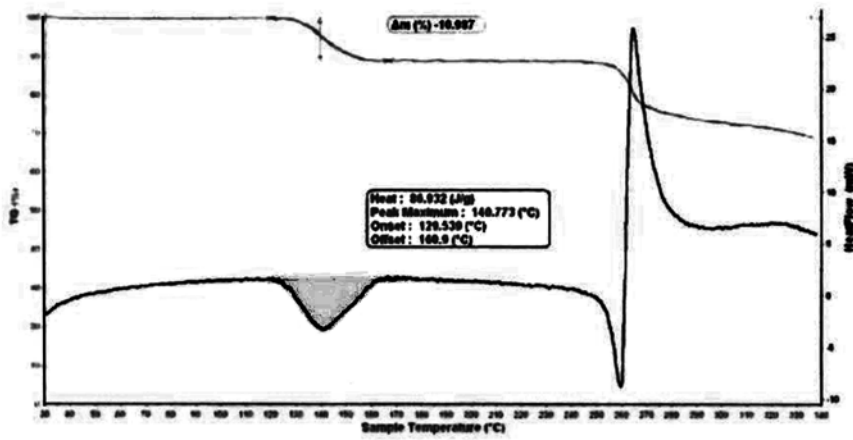


Fig. 4

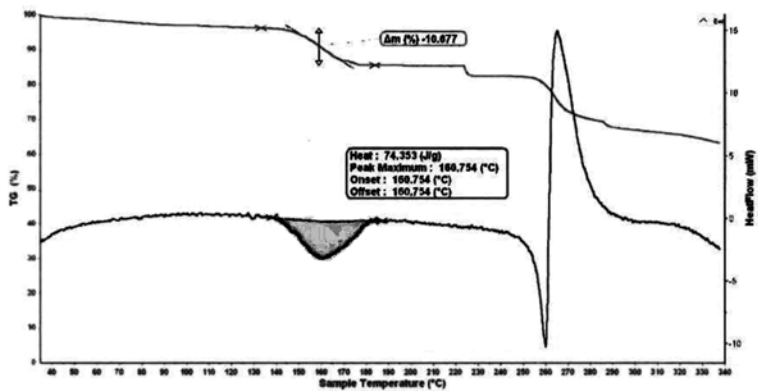


Fig. 5

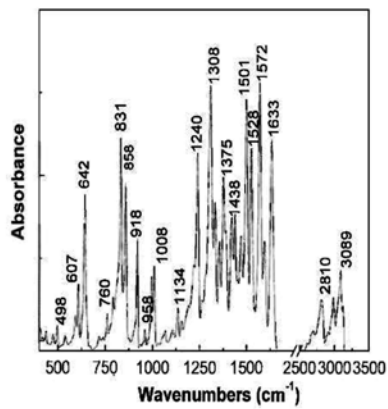


Fig. 6

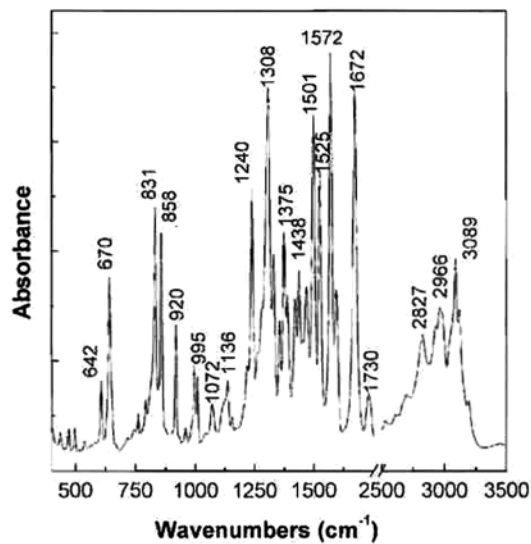


Fig. 7

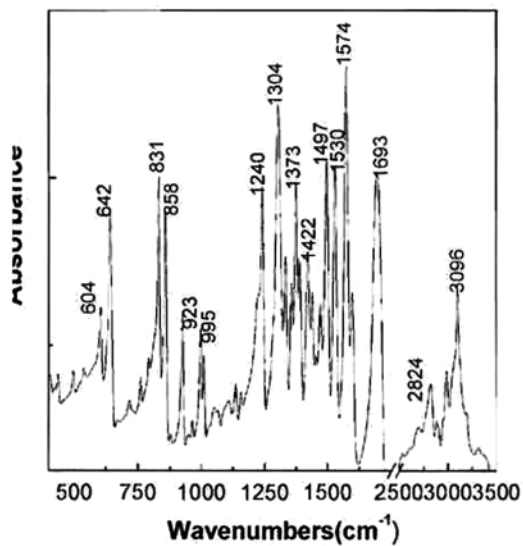


Fig. 8



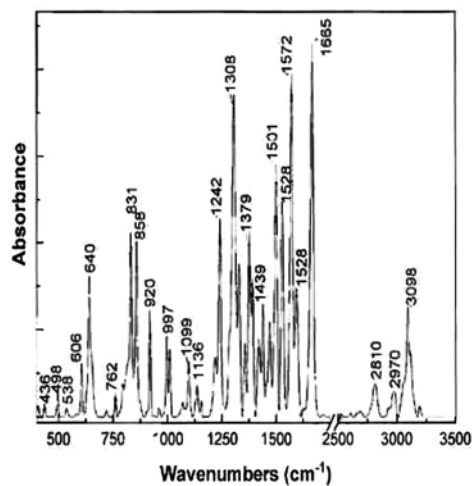


Fig. 9

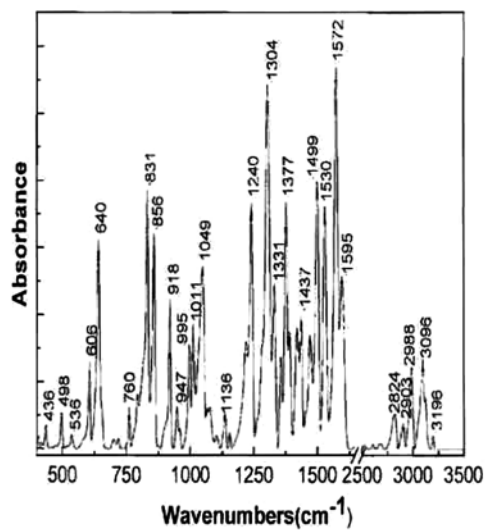


Fig. 10

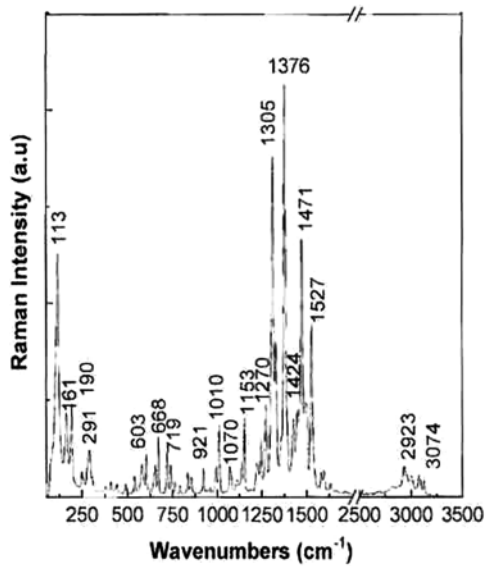


Fig. 11

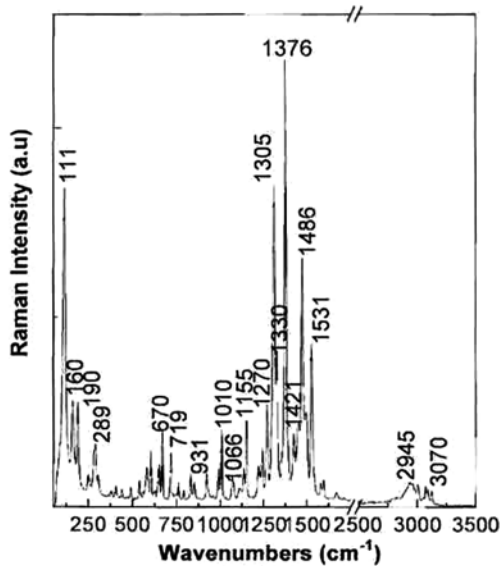


Fig. 12

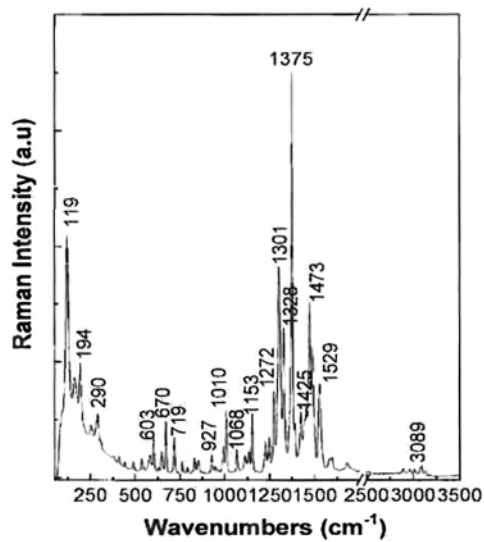


Fig. 13

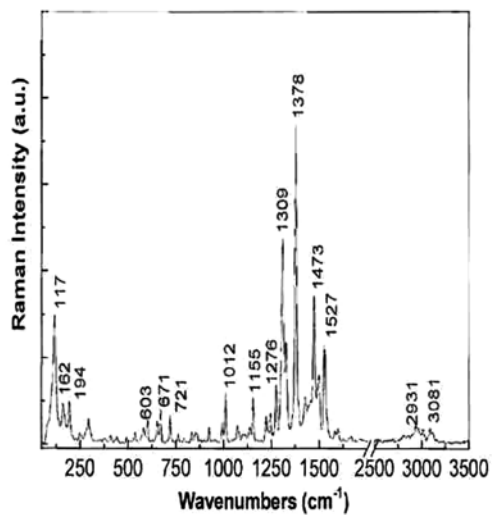


Fig. 14

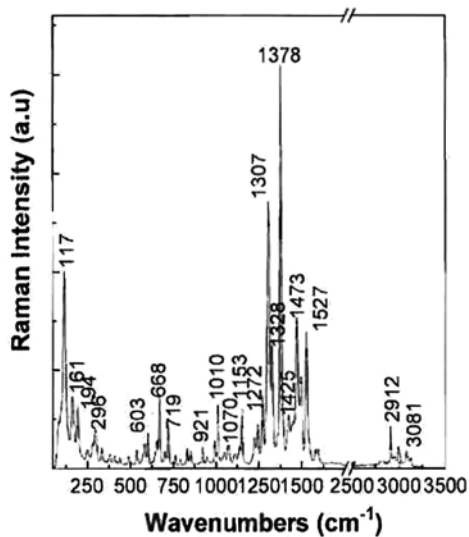


Fig. 15

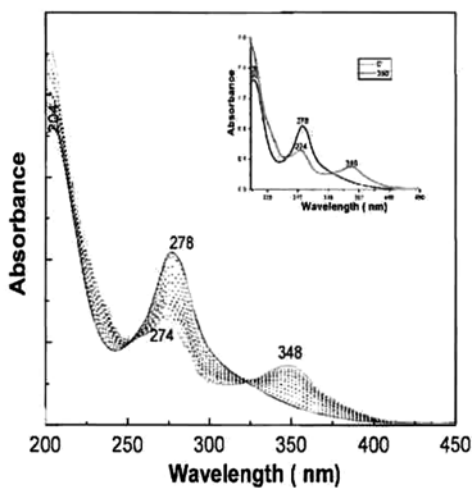


Fig. 16

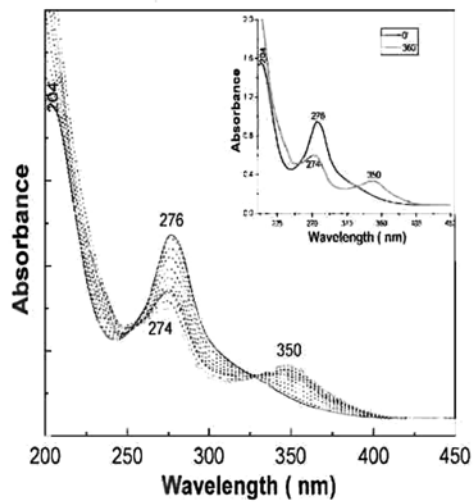


Fig. 17

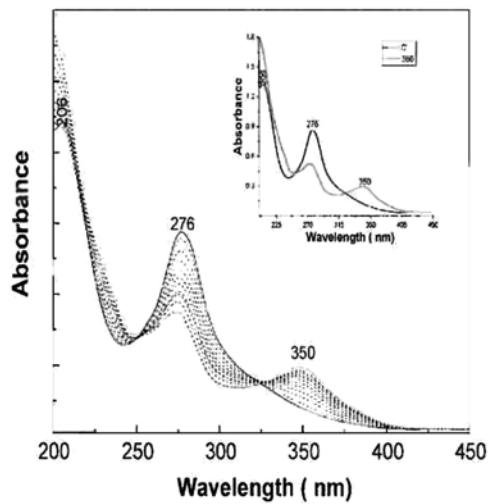


Fig. 18

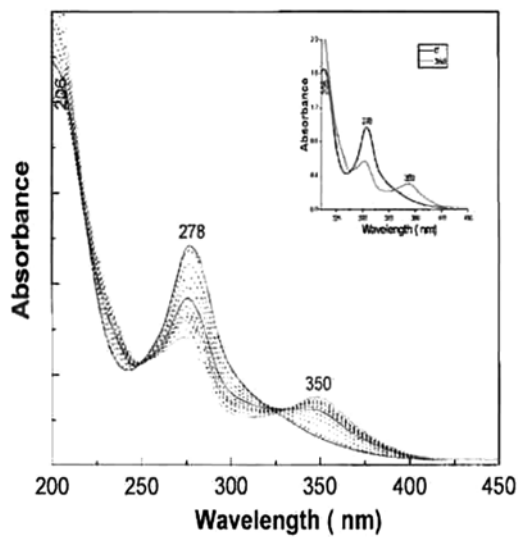


Fig. 19

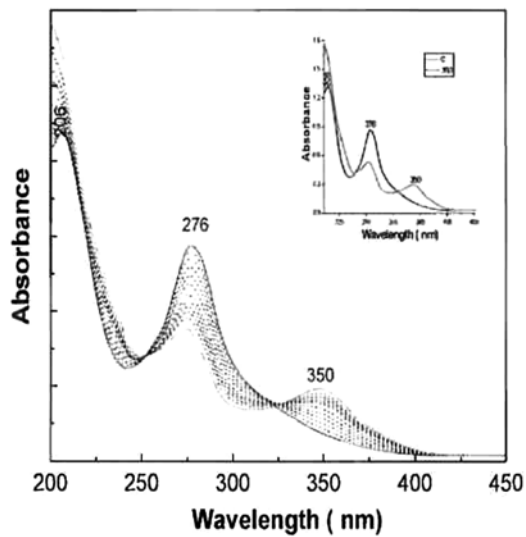


Fig. 20

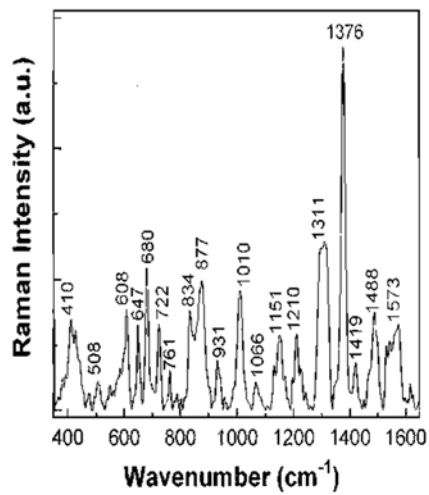


Fig. 21

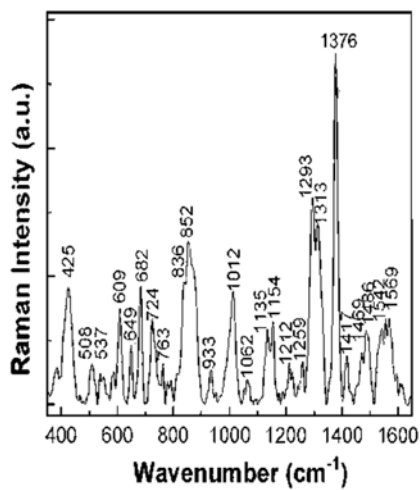


Fig. 22

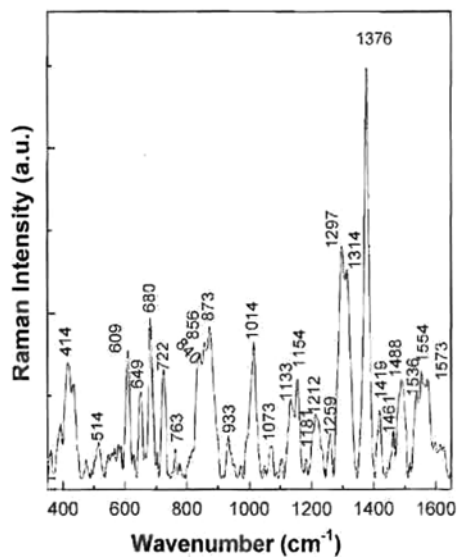


Fig. 23

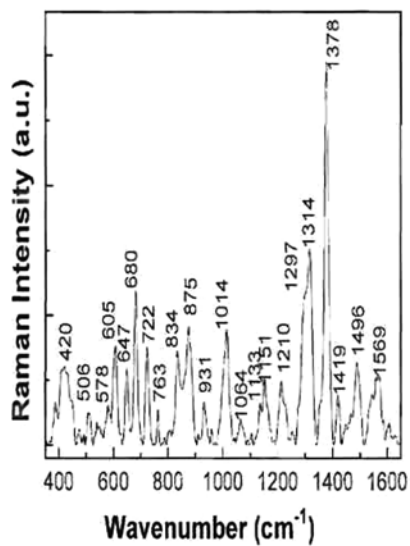


Fig. 24



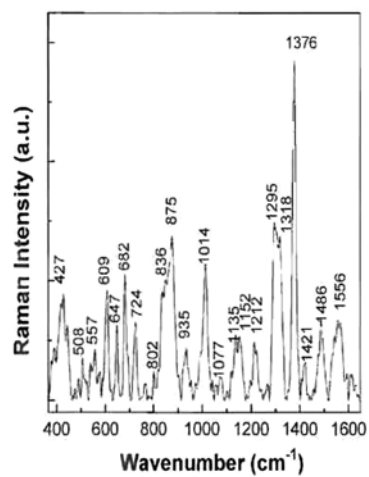


Fig. 25

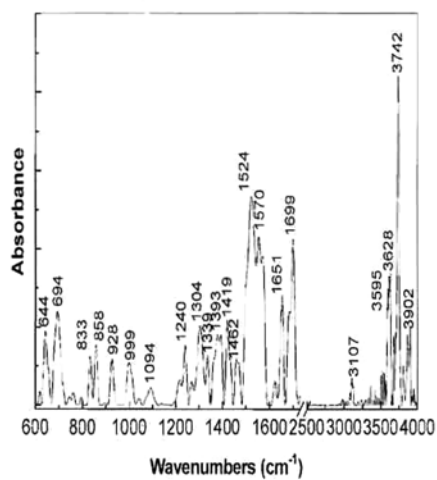


Fig. 26

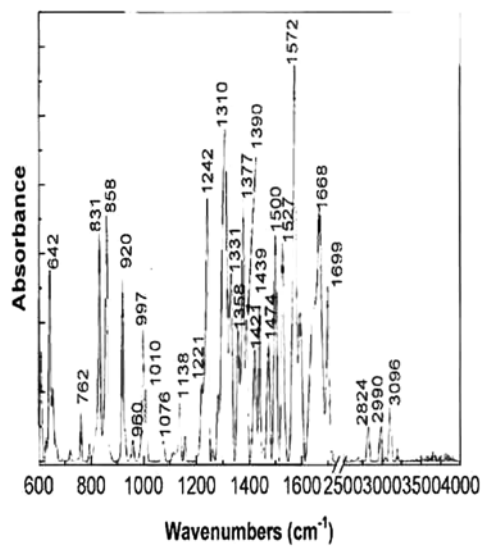


Fig. 27

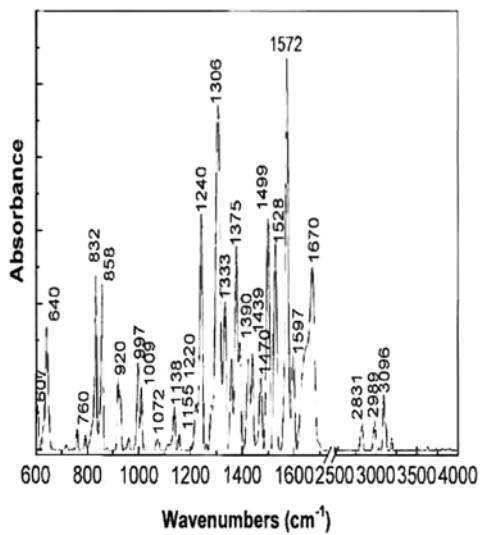


Fig. 28

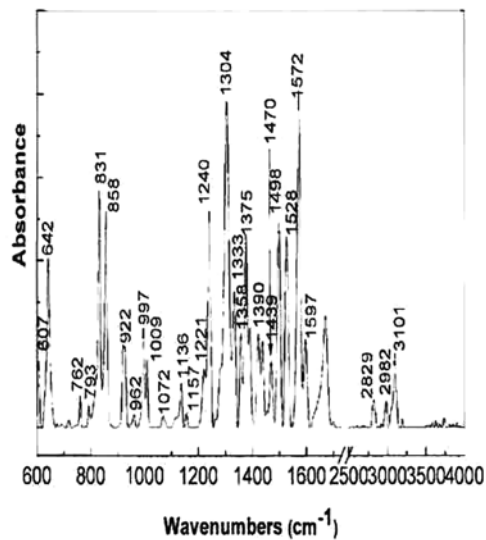


Fig. 29

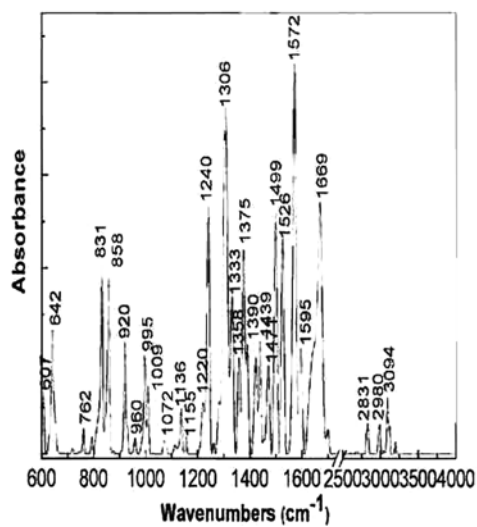


Fig. 30

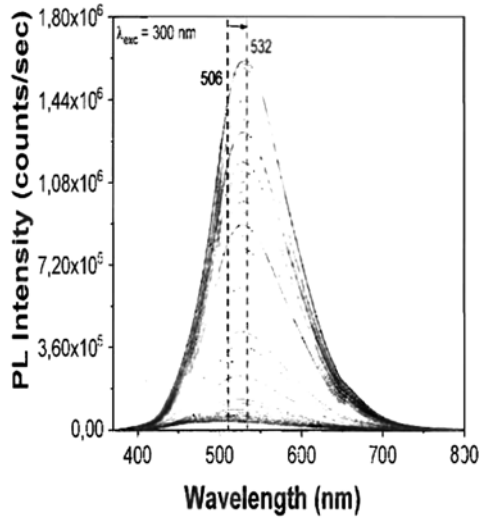


Fig. 31

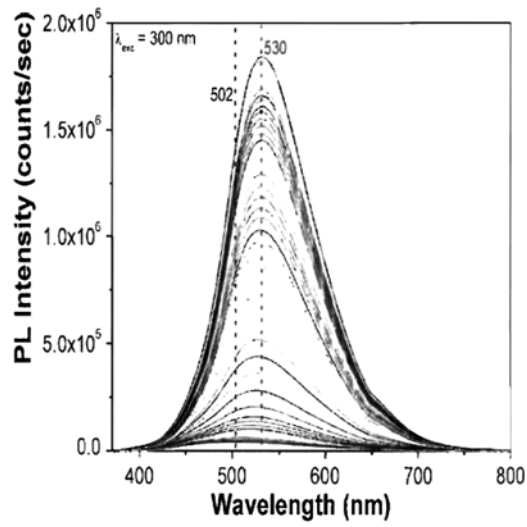


Fig. 32

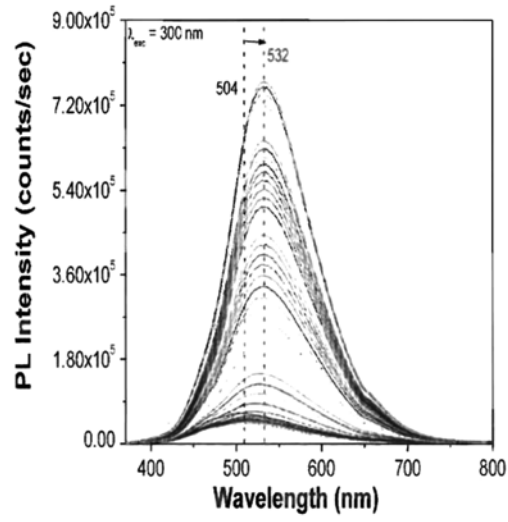


Fig. 33

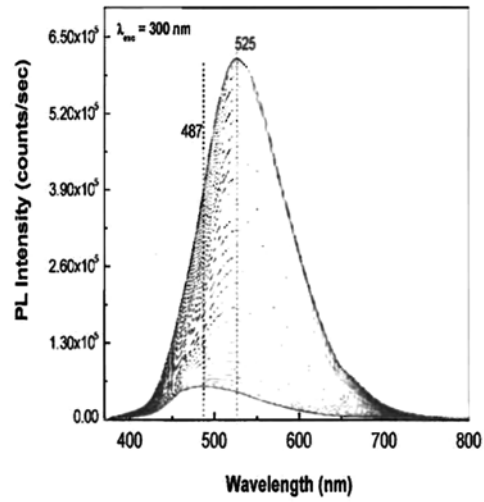


Fig. 34

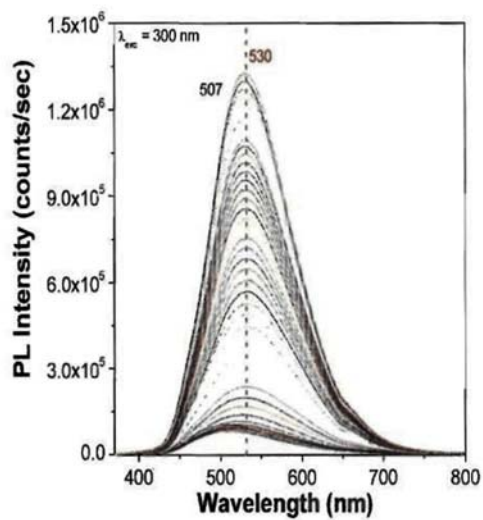


Fig. 35

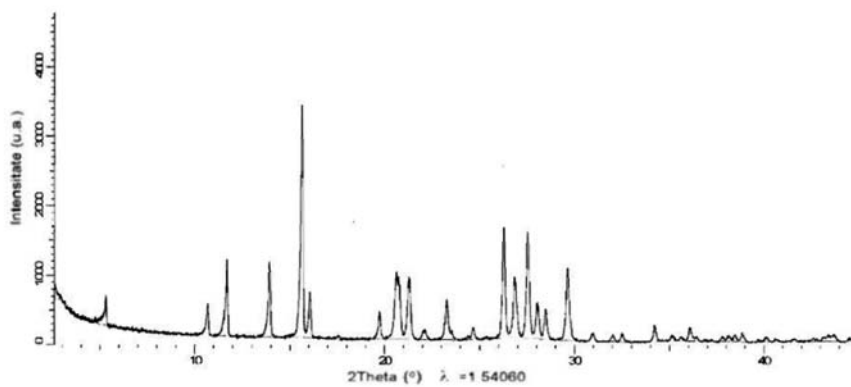


Fig. 36

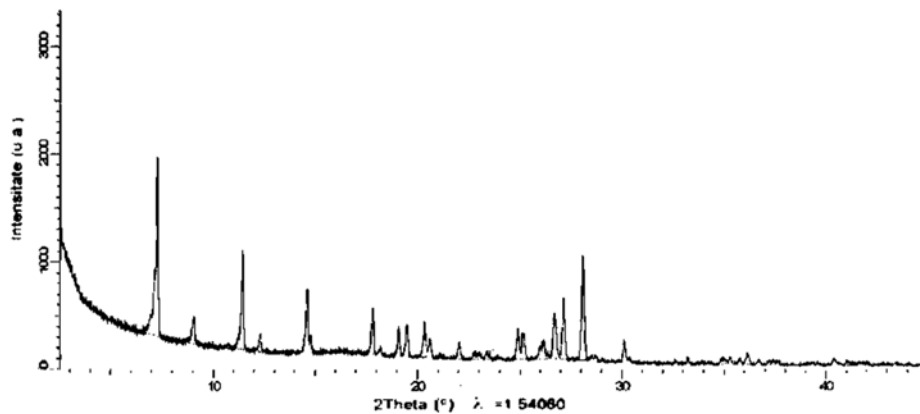


Fig. 37

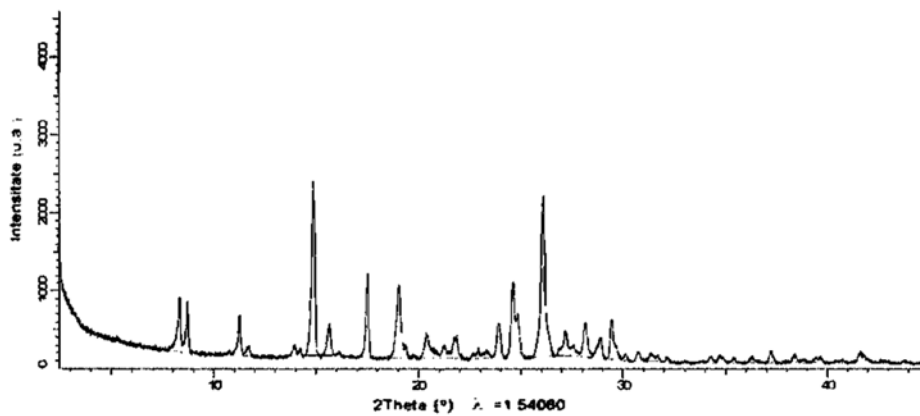


Fig. 38

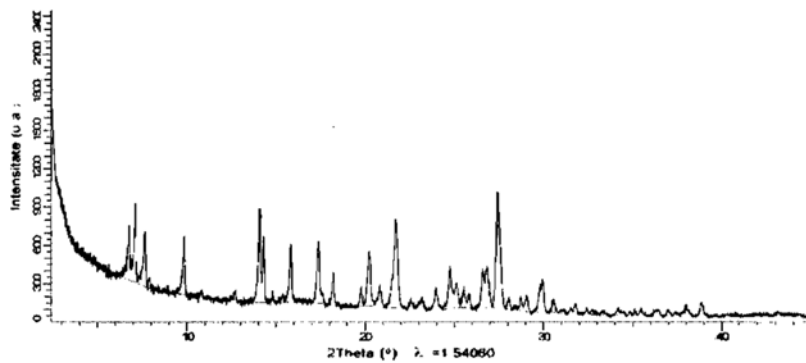


Fig. 39

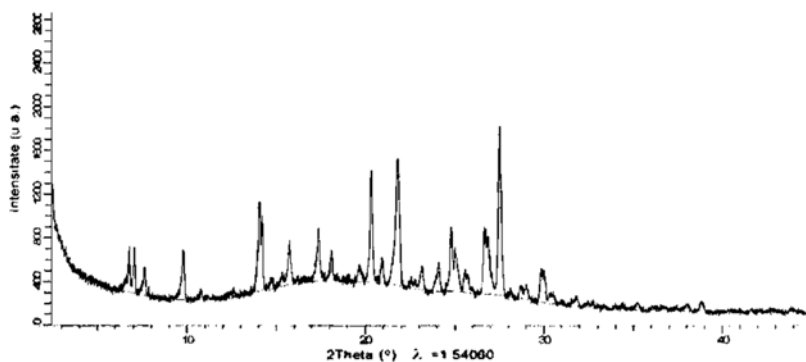


Fig. 40



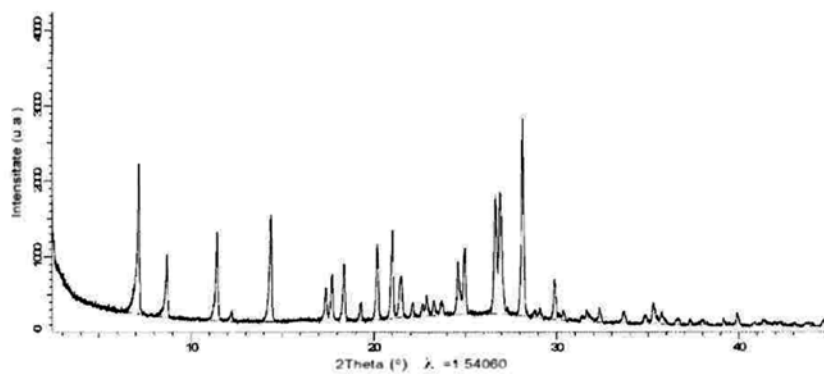


Fig. 41

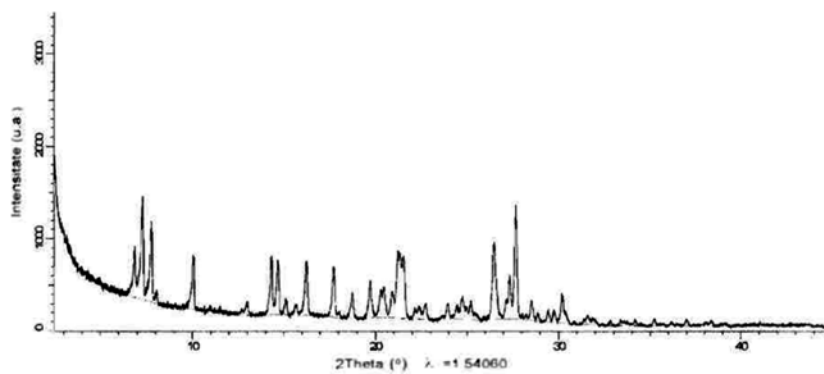


Fig. 42

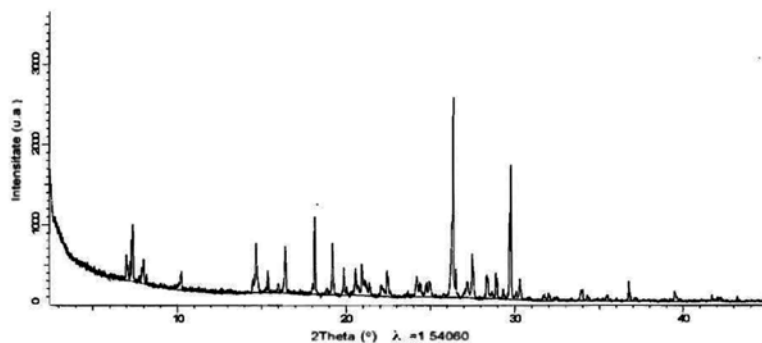


Fig. 43

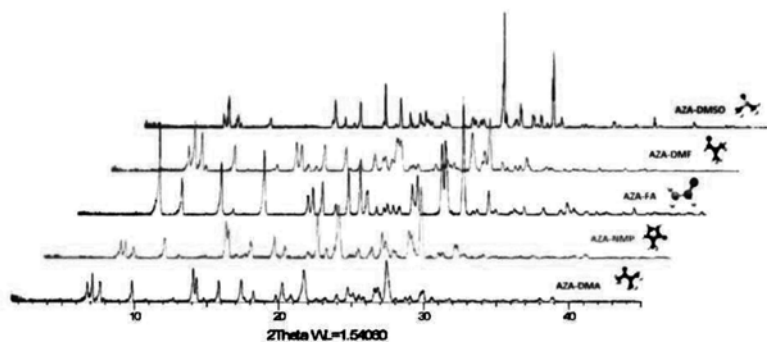


Fig. 44

