

N° d'ordre: 41176

**UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE
UFR DE PHYSIQUE**

Unité Matériaux et Transformations (UMR CNRS 8207)

THESE

présentée et soutenue publiquement le 3 octobre 2013

En vue de l'obtention du grade de Docteur en Physique

Présentée et soutenue publiquement par

Rémy DUBOIS

**Investigation numérique de la stabilité et de la solubilité
des solides pharmaceutiques visant à améliorer la
biodisponibilité des médicaments**

Composition du jury

B. ROUSSEAU	Directeur de Recherche CNRS à l'université de Paris XI	Rapporteur
S. VEESLER	Directeur de Recherche CNRS à l'université Aix-Marseille	Rapporteur
W. KOB	Professeur à l'université de Montpellier 2	Examineur
W. JONES	Professeur à l'université de Cambridge	Examineur
M. DESCAMPS	Professeur à l'université de Lille 1	Examineur
F. AFFOUARD	Professeur à l'université de Lille 1	Directeur de Thèse

Table des matières

Cadre général de l'étude	1
Introduction	3
Chapitre 1 Présentation du problème	7
1.1 Polymorphisme	7
1.1.1 Description du polymorphisme	7
1.1.2 Diagramme de phase d'un système de polymorphes	8
1.1.3 Détermination structurale des nouvelles formes polymorphiques	9
1.1.3.1 Aspect expérimental	9
1.1.3.2 Aspect numérique	10
1.1.4 Détermination des propriétés thermodynamiques des polymorphes	13
1.1.4.1 Aspect expérimental	13
1.1.4.2 Aspect numérique	14
1.2 Transition vitreuse	21
1.3 Eau d'interface	23
1.4 Agrégation moléculaire	27
Chapitre 2 Simulation de dynamique moléculaire et méthode à deux phases thermodynamiques	31
2.1 Introduction	31
2.2 Dynamique moléculaire	32

2.2.1	Champs de forces	33
2.2.1.1	Champs de force de la dynamique moléculaire	34
2.2.1.2	Potentiels intramoléculaires	37
2.2.1.3	Potentiels intermoléculaires	39
2.2.2	Méthodes pour le calcul des interactions électrostatiques	39
2.2.2.1	Champ de réaction	40
2.2.2.2	Somme d'Ewald	42
2.2.3	Dynamique moléculaire : principes et algorithmes	44
2.2.3.1	Equations du mouvement et algorithmes d'intégration	45
2.2.3.2	Thermostats	47
2.2.3.3	Barostats	49
2.2.4	Conditions aux limites périodiques	50
2.3	Détermination de l'entropie par la méthode à deux phases thermodynamiques	51
2.3.1	Introduction	51
2.3.2	Densité d'états et correction quantique à la dynamique moléculaire	54
2.3.2.1	Densité d'états	54
2.3.2.2	Approximation harmonique et correction quantique	56
2.3.3	Méthode à deux phases thermodynamiques	58
2.3.3.1	Systèmes monoatomiques : approximation d'un gaz de	

sphères dures	59
2.3.3.2 Systèmes polyatomiques : approximation d'un gaz parfait	
polyatomique	65
2.3.4 Exemple d'application de la Méthode 2PT : cas de l'eau	69
2.4 Limites de la dynamique moléculaire	74
2.5 Détermination de la température de transition vitreuse par dynamique moléculaire	75

Chapitre 3 Prédictions de la stabilité de polymorphes

cristallins de composés pharmaceutiques	79
3.1 Introduction	79
3.2 Principes et détails des simulations	82
3.3 Stabilité des polymorphes de l'Indométacine	84
3.3.1 Description du système	84
3.3.2 Simulation et résultats	87
3.3.3 Conclusion	100
3.4 Stabilité des polymorphes du Paracétamol	101
3.4.1 Description du système	101
3.4.2 Simulation et résultats	104
3.4.3 Conclusion	109
3.5 Stabilité des polymorphes du Carbamazépine	110
3.5.1 Description du système	110
3.5.2 Simulation et résultats	112

3.5.3	Conclusion	117
3.6	Stabilité des polymorphes du Sulfathiazole	118
3.6.1	Description du système	118
3.6.2	Simulation et résultats	120
3.6.3	Conclusion	126
3.7	Conclusion	127

Chapitre 4 Propriétés de l'eau à l'interface de matériaux

	cristallins et amorphes	133
4.1	Introduction	133
4.2	Systèmes étudiés et détails des simulations	137
4.2.1	Systèmes étudiés	137
4.2.2	Paramètres et préparation des simulations	140
4.3	Effet sur les propriétés structurales	142
4.3.1	Profil de densité	142
4.3.2	Paramètre d'ordre tétraédrique	151
4.3.3	Structure du réseau de liaison hydrogène	160
4.4	Propriétés dynamiques de l'eau d'interface	171
4.4.1	Dynamique rotationnelle	171
4.4.2	Dynamique translationnelle	176
4.5	Entropie de l'eau de solvation	181
4.6	Conclusion	185

Chapitre 5 Cinétique d'agrégation de la Griséofulvine

en milieu aqueux 189

5.1	Introduction	189
5.2	Systèmes étudiés et détails des simulations	192
5.3	Analyse des agrégats	194
5.3.1	Détermination de l'état d'équilibre et du chemin d'agrégation	194
5.3.2	Description des étapes transitoires de l'agrégation	204
5.3.3	Nombre d'agrégation et polydispersité des agrégats	208
5.3.4	Rayon de giration	211
5.3.5	Topologie des agrégats	218
5.3.6	Structure des agrégats	220
5.3.6.1	Description de l'analyse	220
5.3.6.2	Agrégats de deux molécules	224
5.3.6.3	Agrégats de trois molécules	231
5.3.6.4	Agrégats de cinq molécules et plus	237
5.4	Conclusion	248

Conclusion générale et perspectives 251

Cadre général de l'étude

La grande majorité des médicaments (principes actifs et excipients) est préparée à l'état solide (poudre, comprimés, gélules) qui peut exister sous différentes formes : polymorphes cristallins, nanocristaux, amorphe. Ces formes se comportent différemment dans le corps humain et ont un impact considérable sur l'efficacité thérapeutique et la stabilité du médicament. Contrôler et prédire les propriétés de l'état solide durant la fabrication et le stockage sont donc les principaux problèmes dans le développement de nouveaux produits pharmaceutiques. La plupart des médicaments peuvent être très actifs bien que très difficiles à administrer parce qu'ils ne se dissolvent pas dans le corps et par conséquent ne peuvent pas être absorbés. Plus de 70% des produits pharmaceutiques ne sont pas solubles à l'état cristallin, que ce soit dans le corps humain ou, plus généralement, dans un milieu aqueux. Il s'agit d'un problème général de santé. Les médicaments nouvellement synthétisés pour le traitement du cancer sont particulièrement concernés par cette optimisation de la forme à l'état solide destiné à être administré à des patients.

La principale motivation de ce travail de thèse vient de ce que de nombreux problèmes fondamentaux et pratiques ne peuvent pas être traités efficacement dans l'état de l'art actuel en pharmacie. Les stratégies actuelles sont essentiellement empiriques. Une approche plus fondamentale est nécessaire qui a motivé le choix de cette étude. Un programme de recherche portant sur l'état physique des composés de base des médicaments - des petites molécules organiques - a été entrepris. Cette problématique de recherche fondamentale avec une finalité appliquée a impliqué des investigations des situations de métastabilités, de l'état vitreux, de confinement et des transformations de phases et évolutions hors équilibre induites par des perturbations de natures diverses comme la température.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme de coopération inter-régional INTERREG 4A 2mers IDEA 2010-2013 (Improving Drug Efficacy And Availability) regroupant les universités Lille1, Lille2, Cambridge, East Anglia, Gand, ainsi que la PME Flamande SEPS PHARMA.

Introduction

Dans leur grande majorité des principes actifs des médicaments sont, à l'heure actuelle, formulés à l'état cristallin, ce qui leur offre une grande stabilité mais limite fortement leur solubilité, quel que soit le milieu de dissolution. Cette limitation intrinsèque à l'état cristallin associée à la forte hydrophobicité de la quasi totalité des principes actifs limite leur biodisponibilité. Le recours par l'industrie pharmaceutique à des excipients et matrices polymériques pour améliorer, après sa dispersion, la solubilité et la biodisponibilité du principe actif présente l'inconvénient de produire, lors de leur dégradation *in vivo*, des résidus qui représentent la principale source de toxicité des médicaments mis sur le marché. Pour ces raisons, la possibilité de formuler les principes actifs sous d'autres formes physiques, par exemple des formes polymorphiques métastables ou des états amorphes, moins stables mais plus solubles, motive des recherches très actives, aussi bien dans le domaine industriel qu'en recherche fondamentale en sciences des matériaux.

L'importance, pour l'industrie pharmaceutique, de la connaissance des conditions de stabilité et des propriétés thermodynamiques d'une forme polymorphique peut être illustrée par le cas bien connu de la production du Ritonavir, un principe actif utilisé dans l'accompagnement du VIH. Après deux années de production sous une forme apparemment stable, ce médicament a dû être reformulé en urgence suite à la découverte de sa transformation spontanée en une forme plus stable mais moins efficace thérapeutiquement que la précédente. Ce principe actif a depuis été formulé sous trois autres formes polymorphiques. De façon générale, l'absence de méthode autre que la recherche systématique par variations des conditions de cristallisation rend la recherche de nouvelles formes polymorphiques fastidieuse.

Malgré l'importance des moyens informatiques actuels à prédire numériquement des structures cristallines, leur utilisation afin de guider la recherche pharmaceutique sur les polymorphes reste limitée dès qu'il s'agit de prédire les stabilités relatives de ces polymorphes ainsi que leurs propriétés thermodynamiques. Ainsi, dans leur grande majorité, les méthodes numériques actuelles, ne peuvent être mises en oeuvre efficacement que sur des systèmes simples, composés

d'atomes ou de très petites molécules, formant des phases données, et ce dans des gammes de températures limitées. Les prédictions numériques des propriétés thermodynamiques, notamment à la fusion, n'ont donc actuellement été réalisées que sur des systèmes atomiques ou composés de petite molécules ou de sphères dures sans que la détermination du diagramme de phase d'une molécule plus complexe telle celle d'un principe actif n'ait pu être effectuée. De même, le grand nombre de structures d'une entité chimique donnée qui peuvent être prédites par les méthodes de prédiction de structure cristalline mise en regard du nombre limité de structures observées expérimentalement montre la nécessité actuelle de disposer d'une méthode fiable permettant de prévoir fidèlement les stabilités relatives des formes polymorphiques sur de larges gammes de températures.

Bien que les phases amorphes présentent une solubilité et une biodisponibilité plus importante que les phases cristallines, leur utilisation au sein de l'industrie pharmaceutique reste limitée par leur faible stabilité. Cette dernière conduit notamment à des cristallisations lorsque ces matériaux sont placés dans un milieu de dissolution ou même simplement entreposés entre la formulation du principe actif et son administration. De plus, la cristallisation du principe actif amorphe lorsque ce dernier se trouve en présence d'un solvant engendre une difficulté dans la prédiction du gain de solubilité que peuvent présenter les phases amorphes, y compris en utilisant les valeurs expérimentales des paramètres thermodynamiques du système pur.

Ces constatations montrent que les seules propriétés thermodynamiques des différentes phases physiques d'un composé ne suffisent pas à expliquer et prédire leurs écarts de solubilité. En revanche les interactions entre solvant et soluté doivent intervenir avec une importance fondamentale dans l'explication de la solubilité mais également dans celle de la stabilité en solution et de la cristallisation. Ces interactions ont été largement étudiées numériquement dans le cas de solutions, généralement aqueuse, de polymères, de protéines, de petites molécules ioniques et en milieu confiné. Elles restent cependant peu explorées dans le cas des solutions de principes actifs, notamment du fait de la difficulté d'accéder expérimentalement aux propriétés de l'eau d'hydratation.

La déstructuration de l'eau d'interface a été largement étudiée dans le cas de matériaux possédant différents groupes polaires et apolaires pour tenter de comprendre les effets hydrophobes. A l'heure actuelle, aucun consensus n'est encore trouvé concernant l'effet des surfaces hydrophobes sur la structure de l'eau d'interface. Il a été suggéré que la dynamique de l'eau d'interface subit un ralentissement près de la surface. Dans ce cadre, on ne sait toujours pas si l'origine des anomalies de la dynamique translationnelle que présente l'eau à l'interface doit être attribuée à un désordre géométrique ou un désordre énergétique. De plus, malgré l'importance de l'interaction avec le solvant lors de la dissolution d'un soluté ou lors de la recristallisation (et donc la stabilité) d'une phase amorphe, aucune étude portant sur la différence des effets déstructurant des surfaces amorphes et cristallines sur un solvant n'a jusqu'à présent été menée. L'explication du gain de solubilité de la phase amorphe est ramenée à la faiblesse de son énergie de cohésion par rapport au cristal. Ces phénomènes d'interaction entre solvant et soluté sont d'autant plus importants pour l'industrie pharmaceutique qu'ils interviennent non seulement dans la dissolution, et donc dans l'efficacité du composé, mais également dans la formulation puisque les cinétiques de transformations de phases sont plus rapides en présence de solvant que lors de transition entre phase solides.

Ainsi, même en supposant que l'on puisse avoir une connaissance complète des propriétés thermodynamiques du système, l'absence de données concernant les paramètres cinétiques gouvernant la transition de phase telles que la mobilité moléculaire, l'agrégation et l'assemblage moléculaires en réseau ainsi que les cinétiques de nucléation et de croissance du cristal empêche la réalisation d'une prédiction numérique fine des conditions dans lesquelles une forme peut être obtenue ou du temps pendant lequel cette forme restera stable.

Dans le premier chapitre de cette thèse, nous rappelons les concepts physiques et les avancées récentes des recherches associées à notre étude. Ces rappels comprennent l'étude du polymorphisme, notamment la prédiction numérique des stabilités relatives entre polymorphes, de l'eau d'interface, en particulier par les anomalies dans le comportement dynamique et la

déstructuration par rapport à l'eau pure que l'eau d'interface présente, et finalement l'étude de l'agrégation moléculaire en nous concentrant principalement sur les agrégats en présence de solvant et pouvant conduire à la nucléation puis cristallisation du soluté.

Le second chapitre de cette thèse présentera dans une première partie les méthodes numériques et algorithmes associés à la dynamique moléculaire que nous serons amenés à utiliser au sein des chapitres suivants. Dans une seconde partie, ce chapitre nous permettra de rappeler les principes de la méthode à deux phases thermodynamiques que nous utiliserons pour le calcul de l'entropie suite à une simulation de dynamique moléculaire dans le troisième et le quatrième chapitre. Enfin un exemple concret d'application de cette méthode sera fourni dans le cas d'une petite molécule, l'eau.

Le troisième chapitre est consacré à l'application de la méthode à deux phases thermodynamiques à des systèmes constitués de polymorphes de molécules à intérêt pharmaceutique afin de valider son utilisation pour la détermination des diagrammes de phase et des propriétés thermodynamiques de matériaux composés de molécules organiques complexes.

Le quatrième chapitre aborde les interactions entre le principe actif et le solvant en déterminant l'origine des effets déstructurant et des anomalies de diffusion de l'eau d'hydratation. Cette étude sera effectuée au sein d'un milieu confiné en contact avec des surfaces hydrophiles, composée de Tréhalose, qui est un excipient largement utilisé en formulation pharmaceutique, et hydrophobes, constituée d'un principe actif modèle, la Griséofulvine, dans des phases cristallines et amorphes.

Le cinquième chapitre concerne l'étude de la cinétique d'agrégation et des premiers stades d'association moléculaire en milieu aqueux de la Griséofulvine.

Chapitre 1 Présentation du problème

1.1 Polymorphisme

1.1.1 Description du polymorphisme

Le polymorphisme correspond à la capacité d'un composé organique à cristalliser selon au moins deux phases cristallines aux conformations moléculaires et/ou arrangement cristallins différents^{1, 2, 3, 4}. On utilise le terme de solvate lorsque les changements d'arrangement cristallin apparaissent suite à la présence de solvant au sein de la structure cristalline initiale⁵. Notamment, les solvates peuvent être générés relativement facilement en atmosphère humide, volontairement ou non, lorsque ce solvant est de l'eau. Les différences que présentent deux polymorphes d'un même composé s'accompagnent de variations de toutes leurs propriétés physiques et chimiques telles que, par exemple, les températures de fusion et de sublimation, la stabilité, la solubilité, la cinétique de dissolution, la chaleur spécifique, la densité, la conductivité. Le polymorphisme est ainsi fondamental dans l'industrie pharmaceutique car il impacte considérablement la biodisponibilité et la toxicité des principes actifs et des excipients^{1, 2, 6, 7, 8}.

La stabilité et la réactivité chimique à l'état solide sont directement liées à la structure cristalline et à la conformation moléculaire du composé. Une étude sur deux formes polymorphiques de la Fenrétinide a ainsi montré que la forme la plus stable pouvait être laissée à 25°C pendant 4 semaines sans dégradation notable tandis que la seconde forme, instable, présentait 8% de dégradation dans les mêmes conditions⁹. Bien plus, la dégradation d'une des formes de la Zanoterone par hydrolyse engendre un produit de dégradation toxique tandis que les autres formes ne présentent pas un tel effet¹⁰. Les transitions entre différentes formes polymorphiques sont généralement indésirables d'un point de vue pharmaceutique. Elles sont cependant inévitables comme conséquences des variations de température, de pression et d'hydrométrie au cours du stockage ou simplement par vieillissement lorsqu'un principe actif est formulé dans une forme métastable. L'utilisation d'une telle phase métastable peut en effet être rendue nécessaire par une propriété physique propre à une phase métastable comme la capacité de la forme II du Paracétamol

à supporter la compression et donc la fabrication sous forme de comprimés, du fait de la présence de nombreux plan de glissement au sein de la structure cristalline¹¹. La seule phase thérapeutiquement active du principe actif peut aussi être une phase métastable comme par exemple dans le cas du palmitate de chloramphénicol^{2, 12}.

1.1.2 Diagramme de phase d'un système de polymorphes

La transformation d'une formes polymorphique en une autre se fait par le biais d'une transition de phase.¹³ Dans le cas où cette transition de phase est réversible, les deux phases sont dites énantiotropes et la transition lors du chauffage de l'échantillon est endothermique. Dans le cas où cette transition est irréversible, les deux phases sont dites monotropes et une seule phase stable existe dans ce système quel que soit la température (voir figure 1.1). Dans ce dernier cas, la transformation d'une phase instable vers la phase stable est un processus exothermique.^{14, 15, 16} Une phase instable peut, pour des raisons cinétiques, exister dans un domaine du diagramme de phase dans laquelle une autre phase stable existe et sera dite métastable dans ce domaine. La capacité d'un système à subir des transitions de phases spontanées à pression constante et les relations entre chaque phase, y compris polymorphiques du système sont fournies par l'évolution de l'énergie libre de Gibbs de chaque phase en fonction de la température (voir figure 1.1). Quel que soit la température, la phase la plus stable sera celle présentant l'énergie libre de Gibbs la plus faible au sein du système. Le point d'intersection entre la courbe représentant l'évolution de l'énergie libre de Gibbs en fonction de la température d'une forme cristalline et celle de la phase liquide représente le point de fusion de ce cristal (voir Figure 1.1). Si les courbes de deux formes polymorphiques se croisent en dessous de leurs températures de fusion respectives, une transition réversible se produit entre ces deux polymorphes.

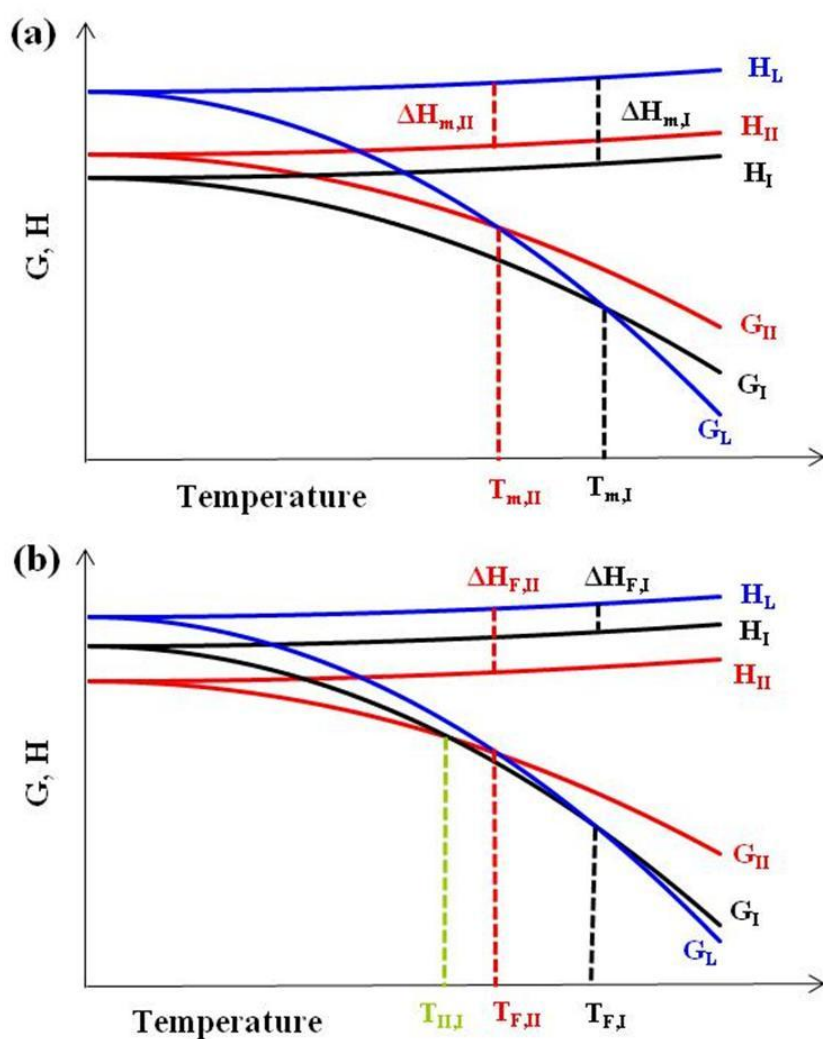


Figure 1.1 Représentation schématique des variations de l'enthalpie H et de l'énergie libre de Gibbs G de la phase liquide (en bleu) et de deux formes polymorphiques I et II (forme I en noir et forme II rouge) dans le cas où les polymorphes forment entre eux un système monotrope (Figure a) et énantiotrope (Figure b) en fonction de la température. Les températures de fusion des formes I et II sont notées $T_{m,I}$ et $T_{m,II}$. $\Delta H_{m,I}$ et $\Delta H_{m,II}$ représentent respectivement les enthalpies de fusion des formes I et II.

1.1.3 Détermination structurale des nouvelles formes polymorphiques

1.1.3.1 Aspect expérimental

La recherche expérimentale de nouvelles formes polymorphiques passe principalement par des tentatives de cristallisation sous différentes contraintes. Ainsi, la cristallisation du composé en présence de solvants présentant différentes réactivités avec le composé (par exemple dans le cas de

solvants disposant ou non de groupes polaires) conduit généralement à des structures cristallines différentes¹⁷. Ces solvants sont ensuite évaporés ou retirés par action mécanique ou thermique, conduisant ainsi à l'apparition d'une forme anhydre ou désolvaté^{18, 19}. La forme vers laquelle tendra la cristallisation ne dépend pas seulement de la nature du solvant mais également des concentrations de principes actifs dans la solution²⁰. Les vitesses et zones de nucléation et de croissance des cristaux dépendent cependant de la forme vers laquelle ils cristallisent. Des polymorphes différents peuvent ainsi être générés en fonction de la température à laquelle la cristallisation a été menée²¹. Pour les mêmes raisons, l'état à partir duquel la cristallisation est effectuée influe fortement sur le type de nucléation et de croissance, notamment via l'apparition de défauts et de fissures dans la phase amorphe initiale suite à des contraintes mécaniques²². De même, l'application d'une contrainte extérieure, telles qu'une pression, durant la cristallisation peut induire l'apparition de nouveaux polymorphes ou la transition d'une forme polymorphique vers une autre²³. La détermination complète de la structure cristalline de la nouvelle phase ainsi formée est généralement effectuée par résolution structurale à la suite d'expériences de diffraction de rayons X. L'obtention d'un monocristal stable et sans détérioration durant l'analyse est donc souvent recherché pour des raisons de simplicité liées à l'utilisation de cette méthode^{24, 25}.

1.1.3.2 Aspect numérique

Les difficultés inhérentes aux techniques expérimentales d'isolation et de stabilisation d'une phase cristalline tendent à accroître l'intérêt porté à la prédiction numérique des différentes phases possibles d'un composé donné. De nombreux programmes et algorithmes permettent la génération numérique des structures cristallines de certaines espèces chimiques, ce qui ne représente donc plus une difficulté pour la simulation²⁶. En effet, à supposer que l'on dispose de suffisamment de temps, l'utilisation d'un algorithme permettant l'échantillonnage aléatoire des molécules suivant différentes structures cristallines doit permettre de déterminer l'ensemble des polymorphes du composé souhaité. Ce travail est par exemple réalisé au CSD (Cambridge Structural Database)²⁷. Dans leur grande majorité, les structures ainsi prédites ne sont cependant pas celle des phases cristallines

stables ou métastables observées expérimentalement et peuvent être considérées, du point de vue énergétique, comme irréalistes. La détermination de l'énergie et de la stabilité relative entre les structures prédites, pour une espèce chimique donnée, reste ainsi le principal obstacle à l'utilisation de ces méthodes. L'écart entre les énergies de réseau de deux formes polymorphiques d'un même composé avoisine en général, seulement quelques $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Ce très faible écart énergétique nécessite une très bonne résolution énergétique des méthodes de résolution de structure cristalline avec une tolérance maximum de l'ordre du $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Cette contrainte de tolérance sur l'algorithme implique que, quel que soit la méthode numérique utilisée, les prédictions obtenues seront fortement dépendantes du potentiel énergétique utilisé²⁸. C'est pourquoi des méthodes quantiques ab-initio (DFT) sont menées sur le cristal et non sur la seule molécule. Ces problématiques constituent actuellement les principaux sujets de recherche sur les algorithmes de prédiction de structures cristallines. Les considérations basées sur la résolution énergétique et la diminution des temps de calcul nécessaire à l'obtention de structures cristallines réalistes aboutissent à deux catégories d'algorithmes. La première catégorie regroupe les algorithmes qui effectuent l'échantillonnage dans des régions de l'espace des configurations où l'énergie des cristaux prédits est proche des minimas énergétiques, chacun de ces minimas correspondant à un polymorphe d'un composé, tels que les recuits simulés ou la métadynamique dont nous donnerons une simplification du fonctionnement général ensuite. La seconde catégorie regroupe les méthodes qui tentent d'améliorer de manière itérative la résolution de chacune des structures cristallines prédites et conduit aux algorithmes évolutionnistes^{29, 30}.

Parmi ces algorithmes, les minimisations énergétiques sur réseau telles que les recuits simulés sont les méthodes de prédictions les plus utilisées et ont été appliquées avec succès pour la prédictions de nombreuses phases de molécules organiques, notamment d'intérêt pharmaceutique^{31, 32, 33, 34}. Dans le cadre de ces méthodes, les molécules sont dans un premier temps simulées dans la phase gazeuse à l'aide de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) afin de modéliser leur structure moléculaire. Une fois la structure moléculaire déterminée, il est possible de définir les

degrés de liberté et les groupes rigides qui lui sont associés afin de déterminer, via la mécanique moléculaire, l'énergie de conformation associée à la molécule. Différentes structures cristallines sont ensuite générées, en utilisant, par exemple, un recuit simulé. Cette méthode propose d'explorer le paysage énergétique du système grâce à une forte température qui permettra de rechercher le minimum global d'énergie du système. Les difficultés inhérentes à la simulation de la cristallisation d'un composé sont ici surmontées en contrôlant séparément les variables pilotant la géométrie de la phase cristalline (les longueurs et angles des vecteurs représentant les paramètres de maille cristalline, le nombre de molécules par maille et les distances entre les molécules au sein la maille) et le recuits, les autres degrés de liberté du système étant considérés comme figés (molécules rigides). Ainsi, de manière itérative, les variables déterminant la forme de la maille cristalline sont d'abord optimisées puis ensuite les positions des molécules sont calculées au sein de cette nouvelle maille de plus basse énergie. L'introduction des mobilités et flexibilités moléculaires permet à la suite de cette étape de minimiser l'énergie de la structure cristalline à 0 Kelvin, généralement via l'emploi de la mécanique moléculaire ou, dans des approches plus récentes, de la théorie de la fonctionnelle de la densité³¹.

Ces approches permettent de déterminer l'état le plus stable à température nulle (0 Kelvin) et ne prennent donc pas en compte les effets entropiques et les vibrations du réseau, ni la dépendance de ces systèmes par rapport à la température. De plus, le fait qu'un grand nombre de minima énergétiques (pour un composé donné, chacun de ces minima correspond à un polymorphe) s'écartent de seulement quelques $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ du minimum d'énergie global associé à la structure stable de ce composé a longtemps été une source de doute sur la validité des prédictions numériques des formes polymorphiques.^{35, 36, 37, 38, 39}

L'utilisation des approches de métadynamique pour explorer les différents minima d'énergie des structures prédites peut permettre de réduire l'ensemble des solutions⁴⁰. Cette méthode repose sur l'exploration et la recherche du minimum du paysage d'énergie libre d'un système cristallin en fonction d'un paramètre d'ordre représentant les paramètres de maille du réseau cristallin. Il tient en

compte de l'impact de la température et de la pression sur le réseau cristallin. La diminution du nombre de structures prédites résulte de la possibilité de transitions entre les phases dont la barrière énergétique les séparant est faible. Par exemple, la métadynamique permet de réduire l'ensemble des phases prédites par génération aléatoire de structures cristallines aux seules 7 phases observées expérimentalement dans le cas du benzène⁴¹. Le problème intrinsèque de la métadynamique est le choix arbitraire du paramètre d'ordre⁴⁰. De plus, cette méthode permet de déterminer l'entropie et l'énergie libre associée à une phase cristalline à une température et une pression donnée, il n'est pas possible de contrôler la forme cristalline que l'on souhaite observer via la recherche systématique du minimum d'énergie libre en fonction des paramètres de maille du système de même que la nécessité de ré-exprimer le minimum l'énergie libre du système à chaque changement de température ou de pression à partir d'un ensemble de configurations tirées aléatoirement ne permet pas de suivre directement l'évolution d'une phase donnée en fonction de la température.

1.1.4 Détermination des propriétés thermodynamiques des polymorphes

1.1.4.1 Aspect expérimental

La détermination expérimentale des paramètres thermodynamiques de chacun des polymorphes d'un composé est généralement effectuée par analyse thermique, ce qui inclut la thermogravimétrie et la calorimétrie différentielle à balayage (DSC). La DSC, qui repose sur la mesure du flux de chaleur échangé entre un échantillon et une référence, permet d'étudier les principales transitions thermodynamiques d'un composé. Elle permet de déterminer expérimentalement les températures et enthalpies de cristallisation et de fusion, à condition que la phase étudiée ne subisse pas une transition vers une autre forme avant sa fusion, ainsi que les éventuelles températures de transitions entre deux formes polymorphiques. L'analyse thermogravimétrique mesure l'évolution de la masse de l'échantillon en fonction de la température et permet ainsi d'interpréter les résultats de DSC par l'apparition de désolvatation ou dégradation chimique^{42, 43, 44, 45}.

1.1.4.2 Aspect numérique

Une fois la structure cristalline d'une forme polymorphique connue, les simulations numériques sont en mesure d'en fournir les informations de nature thermodynamique. Cette affirmation se vérifie aisément dans le cas de la densité et de l'enthalpie de vaporisation ; ces paramètres servent par ailleurs généralement à l'ajustement des variables des champs de force (voir Chapitre 2). A l'inverse, certaines propriétés thermodynamiques ne sont pas facilement accessibles en simulation numérique ou sont influencées par la mise en œuvre de contraintes particulières dues aux algorithmes des méthodes numériques telles que l'utilisation de conditions aux limites périodiques ou de vitesses de trempe extrêmement élevées (voir Chapitre 2). La surchauffe des cristaux observée au cours des simulations de dynamique moléculaire est un exemple typique de limite de l'utilisation directe de la dynamique moléculaire pour la détermination de la température de fusion, y compris dans le cas d'espèces monoatomiques⁴⁶. De même, les temps de nucléation extrêmement longs en regard des temps accessibles aux simulations (dynamique moléculaire et Monte Carlo) empêchent en général d'observer le phénomène de cristallisation lui-même à partir d'une phase liquide sous refroidie. Des méthodes spécifiques ont donc dû être mises en œuvre pour déterminer la température de fusion d'une phase cristalline à partir de simulations numériques classiques telles que la dynamique moléculaire. Ces méthodes peuvent être classées en deux grandes catégories :

- Les méthodes dites directes, qui déterminent la température de transition entre deux phases en simulant directement l'apparition de la transition au sein de la boîte de simulation. Ces méthodes présentent la difficulté de devoir reproduire la transition elle-même, ce qui s'avère fréquemment impossible dans le cas de systèmes moléculaires complexes ou à basse température du fait des fortes barrières d'énergies de nucléation à franchir pour réarranger les molécules du système, mais également de l'existence de surchauffes et de sous-refroidissements souvent associés aux phases simulées.

- Les méthodes dites indirectes, par lesquelles la détermination de la température de

transition entre deux phases ne résulte pas de la simulation d'une transition de phase mais de la connaissance de l'évolution de l'énergie libre de Gibbs en fonction de la température pour chacune des phases, plus précisément de l'évolution de la différence de cette énergie entre les deux phases. La température de transition est ainsi déterminée par l'état où a lieu l'égalité des énergies libres entre les deux phases telle que présentée dans la Figure 1.1. Puisque les simulations numériques classiques sont déterministes, ces méthodes nécessitent des calculs supplémentaires pour pouvoir déterminer l'entropie associée au système simulé. De plus, la détermination de l'entropie associée au système à partir de la seule connaissance des positions, vitesses et forces associées à chaque particule au sein du système nécessite l'emploi d'hypothèses qui peuvent limiter l'utilisation de ces méthodes à des systèmes particuliers ou des gammes de températures particulières.

1/ Parmi les méthodes dites directes, nous pouvons citer la méthode de l'hystérésis qui détermine la température de fusion grâce à l'utilisation des températures de transition entre la phase cristalline surchauffée et le liquide T_c^+ d'une part, et entre le liquide sous refroidi et la phase cristalline T_c^- d'autre part où les températures T_c^+ et T_c^- sont définies à partir des transitions directement simulées^{47, 48, 49}. La température de fusion T_f associée à ce système est définie par la relation $T_f = T_c^+ + T_c^- - \sqrt{T_c^+ T_c^-}$. Cette méthode nécessite d'observer la cristallisation du composé, et ce dans la forme voulue, limitant donc en principe son application à des systèmes très simples. Son application pratique n'a finalement été effectuée que dans le cas de systèmes composés de sphères dures⁴⁹. De plus, cette méthode reste imprécise du fait de la forte barrière d'énergie à franchir pour que des noyaux cristallins apparaissent⁴⁹.

D'autres méthodes directes ont donc été développées afin de surmonter les difficultés liées aux franchissements de barrières énergétiques lors des transitions de phases. La méthode des 'vides' propose ainsi de simuler directement la fusion d'une phase cristalline mais permet de diminuer la barrière d'énergie libre liée à la création d'une interface entre la phase solide et la phase liquide et donc de diminuer la température de fusion d'une forme cristalline⁵⁰. La surchauffe est limitée par des défauts et des espaces vides au sein de la structure cristalline^{50, 46, 51}. Les simulations utilisant

ces méthodes sont effectuées à température et densité de défauts ou de vides fixes au sein de la structure de départ. Le cristal à proximité des vides ou défauts perd, au cours de la simulation, l'agencement correct de sa structure formant ainsi des poches de liquides après équilibration de la boîte de simulation diminuant ainsi la barrière d'énergie à franchir pour que le système puisse transiter de la phase solide vers la phase liquide. Au delà d'une certaine densité de défauts dans la structure, la barrière d'énergie à franchir pour que le système puisse transiter de la phase solide vers la phase liquide sera quasiment nulle et la température de fusion du système apparaît comme indépendante de cette densité de défauts. Cette température sera définie comme étant la température de fusion de la phase cristalline considérée. Le fait qu'une densité minimum de défauts ou de vides doit être présente dans la boîte de simulation tandis qu'une quantité minimum de phase solide doit également être présente dans la boîte pour représenter correctement la phase cristalline que l'on souhaite étudier rend difficile l'application de cette méthode dans le cas de composés moléculaires complexes comme, par exemple les molécules de principes actifs. Ces méthodes ont cependant été appliquées avec succès aux systèmes atomiques simples composés de certains métaux⁵², de silicium⁵³, de néon⁵⁴, d'argon⁵⁵ ainsi qu'aux systèmes composés de très petites molécules telles que le nitrométhane⁵⁶.

Une dernière méthode dite directe qui peut être mise en œuvre avec la simulation de l'interface entre la phase cristalline et la phase liquide, où l'énergie provenant de la barrière d'énergie à surmonter pour créer l'interface entre ces deux phases à déjà été fournie au système^{57, 58}. Dans ce type de méthodes, deux procédures peuvent être suivies. La première consiste à simuler l'interface par plusieurs simulations dans l'ensemble isotherme-isobare *NPT* à des températures différentes mais à la même pression pour déterminer une propriété ou un paramètre d'ordre spécifique à chacune des phases tel que la densité, le déplacement quadratique moyen, la présence de certaines liaisons covalentes ou l'existence d'un arrangement particulier. La température à laquelle cette propriété ou cet ordre subira une discontinuité en fonction de la température sera considérée comme étant la température de fusion du système. Cette méthode a été appliquée dans

un premier temps à des systèmes simples comme des sphères dures⁵⁹ ou des métaux⁵⁷. Ces investigations ont conclu que les systèmes simulés doivent être suffisamment grands pour qu'ils puissent s'équilibrer sans subir les effets de taille finie et pour que le coût énergétique de la création et du maintien d'une interface solide-liquide dépasse le gain énergétique que crée la présence d'une phase solide. La deuxième procédure⁶⁰ consiste à rechercher les points de la courbe de coexistence entre le solide et le liquide en fonction de la pression et de la température en appliquant différentes perturbations de densité à une interface solide/liquide, précédemment équilibrée dans l'ensemble *NVE*. Celle-ci sera équilibrée à nouveau dans l'ensemble microcanonique *NVE* jusqu'à atteindre un nouvel état d'équilibre qui consistera, dans le cas d'une forte perturbation, en une fusion de la phase cristalline ou une cristallisation de la phase liquide. Dans le cas d'une faible perturbation, le nouvel état d'équilibre pourra consister en une coexistence des phases liquide et solide à une pression et une température donnée et ainsi fournir un point particulier de la courbe de coexistence solide/liquide. Ces deux procédures ont actuellement été appliquées à des petites molécules d'intérêt pharmaceutique avec les polymorphes de l'Inositol et ont conduit à une surévaluation de la température de fusion de 177 K et 532 K dans le cas de la première procédure pour le myo-inositol et le néo-inositol respectivement et de 64 et 72 K dans le cas de la deuxième procédure pour le myo-inositol et le néo-inositol respectivement⁶⁰.

Les méthodes directes nécessitent de simuler directement la transition liquide-solide, elles ne s'appliquent généralement qu'aux systèmes constitués de petites molécules. Elles sont incapables de déterminer l'ordre de stabilité entre différents polymorphes sur une large gamme de température bien qu'il soit possible de le définir à proximité des températures de fusion de chaque polymorphe. La détermination de la température de fusion d'une phase cristalline peut également être effectuée à partir de la différence d'énergie libre de Gibbs entre cette phase cristalline et la phase liquide du composé étudié en fonction de la température. Celle-ci doit s'annuler lorsque la température de fusion est atteinte. Une méthode proposant de définir la température de fusion suivant ce type de schéma pourra donc être en mesure de décrire l'évolution de la différence d'énergie libre de Gibbs

entre plusieurs formes polymorphiques et, par là même, l'ordre de stabilité entre ces polymorphes.

2/ Parmi les méthodes dites indirectes, la méthode de l'occupation unique de cellules détermine l'énergie d'un système en le connectant à un réseau virtuel au sein duquel sera mené le calcul de l'énergie libre de manière analytique en supposant que les particules ne peuvent occuper qu'une cellule de ce réseau^{61,62}. Cette méthode propose de déterminer l'entropie du système par résolution analytique des équations d'état du système à température et nombre de particules constant. Cette méthode n'a pu être appliquée qu'à des systèmes constitués de sphères dures et l'utilisation et la résolution analytique des équations d'état du système reste dissuasive pour tenter d'appliquer cette méthode à des systèmes moléculaires.

L'intégration thermodynamique basée sur le paramètre de couplage de Kirkwood⁶³ est une méthode qui est largement utilisée en simulation numérique et propose de déterminer la différence d'énergie libre entre deux phases le long d'un chemin fictif qui lie ces deux phases. Ce chemin fictif est constitué d'un ensemble d'états dont l'énergie potentielle est donnée par la somme des énergies potentielles de chacune des deux phases (notées ici 1 et 2) pondérée par une constante de couplage λ variant entre 0 et 1 ($V = \lambda V_1 + (1 - \lambda)V_2$). Cette description assure que l'on retrouve dans les cas extrêmes ($\lambda=0$ et $\lambda=1$) les énergies potentielles de chacune des phases seules. En considérant que, dans l'ensemble NVT , la variation de l'énergie libre le long du chemin fictif est similaire à celle de la moyenne spatiale de l'énergie potentielle, la différence d'énergie libre entre les deux phases peut être obtenue en intégrant la moyenne spatiale de l'énergie potentielle par rapport au paramètre de couplage $\Delta F = \int_0^1 \langle \frac{\partial V}{\partial \lambda} \rangle d\lambda$, c'est-à-dire le long du chemin fictif⁶⁴. En plus de pouvoir être appliquée à des systèmes composés d'une seule entité chimique, l'intégration thermodynamique a pu être utilisée pour déterminer les propriétés thermodynamiques de mélange (par exemple l'entropie de mélange) de systèmes binaires constitués de cuivre et de zircon à différentes concentrations⁶⁵.

L'énergie libre d'une phase solide quelconque peut ainsi être déterminée en calculant numériquement la différence d'énergie libre entre le cristal choisi et un cristal de référence, ou

cristal d'Einstein, dont la structure est identique à celle du cristal de départ. On effectue une intégration thermodynamique le long du chemin réversible reliant le cristal réel et le cristal d'Einstein. Puisque l'énergie libre d'un cristal d'Einstein peut être déterminée analytiquement, l'énergie libre du cristal de départ peut être évaluée⁶⁶. La difficulté de cette méthode réside donc dans l'intégration thermodynamique entre les deux cristaux. Cette méthode a pu être appliquée à des cristaux de chlorure de sodium⁶⁷ et différentes phases cristallines de sphères dures⁶⁶. Cette méthode ne permet cependant que de déterminer l'énergie libre au sein d'une même phase cristalline sans transition vers une autre forme, un liquide ou un gaz.

Dans le cas de la phase liquide, la phase de référence peut être choisie comme étant un gaz idéal de molécules ou atomes de l'entité chimique voulu. L'intégration thermodynamique est effectuée le long d'un chemin fictif reliant le gaz idéal à la phase liquide. L'énergie libre du gaz idéal pouvant être déterminé analytiquement par les équations de la mécanique statistique, l'énergie libre du liquide peut donc être connue. La différence d'énergie libre entre le cristal et le liquide permet de déduire la température de fusion du cristal. L'étude de phase liquide de chlorure de sodium a cependant montré que cette approche peut conduire à des déviations ou des divergences dans le calcul de l'énergie libre venant des possibilités d'agréations des molécules ou atomes lorsqu'ils sont ajoutés au sein de la phase gazeuse⁶⁷. Dans le cas de systèmes atomiques, il est possible d'éviter cet effet d'agréation en effectuant l'intégration thermodynamique le long d'un chemin constitué de la transformation progressive des sphères dures en atomes désirés par ajustement graduel des paramètres du champ de force⁶⁷.

Finalement, une autre méthode d'intégration thermodynamique dite λ -intégration, ou méthode du chemin pseudo critique, permet de calculer la différence d'énergie libre entre la phase liquide et la phase cristalline en utilisant une intégration thermodynamique directement entre la phase solide et la phase liquide via un chemin réversible constitué d'états intermédiaires fictifs^{68, 69, 70, 71, 72}. Le système est pratiquement transformé manuellement de son état liquide vers l'état solide. Cette méthode a récemment été utilisée pour déterminer les températures de fusion de composés

atomiques et ioniques simples. Les températures de fusion sont sous estimées de 1 et 20 K par rapport à l'expérience pour l'argon et le (1-n-butyl-3-méthylimadazolium chloride) respectivement⁷³. De même, son application à la détermination des températures de fusion des polymorphes de la molécule fictive, dite molécule cible VI, lors du deuxième test en aveugle de prédiction structurale⁷⁴ montre une sous évaluation allant de 12 K (dans le cas de la forme II) à 53 K (dans le cas de la forme III) par rapport à l'expérience⁷⁵. La difficulté d'application de cette méthode aux matériaux pharmaceutique provient de la difficulté de construire un chemin fictif, de plus réversible, amenant le liquide vers le cristal⁷³. Ces méthodes n'ont pas été appliquées à des systèmes composés de polymorphes mais si l'on souhaite appliquer ces méthodes à de tels systèmes, l'ensemble de ces méthodes d'intégration thermodynamique nécessitera la simulation sur des chemins fictifs entre une phase du système et l'ensemble des formes polymorphiques, et ce à chaque température désirée.

Afin de réduire la quantité et la durée des calculs nécessaires à l'obtention des différences d'énergies libres entre formes polymorphiques, il est nécessaire de pouvoir se passer des chemins fictifs que proposent les méthodes d'intégration thermodynamiques et de déterminer directement l'énergie libre associée à un système, suite à une simulation effectuée à une température donnée. La méthode à deux phases thermodynamiques (2PT) permet cette détermination des grandeurs thermodynamiques à partir de la seule connaissance de la densité d'états du système et ne nécessite donc que la simulation d'une phase du système à une température donnée pour évaluer ses grandeurs thermodynamiques^{76, 77}. Cette méthode n'a pas de restriction sur l'état dans lequel le système est simulé. L'utilisation des approximations de l'oscillateur harmonique, du gaz de sphères dures et du gaz idéal assure forcément le calcul exact des grandeurs thermodynamique que dans le cas de cristaux à basse température ou de fluides de faible densité. Cette méthode a cependant pu être appliquée sur une large gamme de températures pour déterminer de manière précise l'entropie de systèmes constitués de sphères dures⁷⁶ et de différentes petites molécules largement utilisées comme solvant⁷⁸ ainsi que l'entropie et les courbes de coexistence entre phase liquide et phase gazeuse dans le cas de différents modèles d'eau⁷⁷. L'agrégation de différents modèles de sphères

dures en dendrimère⁷⁹ ainsi que l'entropie de l'eau d'interface dans le cas de dendrimères⁸⁰ et d'hydrogels⁸¹ ont aussi été déterminées par cette méthode. De même, cette méthode a été utilisée avec succès pour déterminer la dépendance des propriétés élastiques de mélanges binaires de cuivre et de zircon⁸², les diagrammes de phases de mélanges d'aluminium et de nickel afin de prédire la composition optimale pour former un verre⁸³, et les propriétés thermodynamiques de mélanges de sphères dures⁸⁴. La méthode à deux phases thermodynamiques n'a cependant pas été appliquée à la détermination du diagramme de phase d'un système polymorphique.

1.2 Transition vitreuse

La cristallisation est un processus complexe. La tendance qu'aura un système à cristalliser dépendra 1/ de la compétition entre la variation d'énergie libre de Gibbs entre les deux phases, liquide et cristalline, servant de force motrice à la cristallisation du fait de la tendance du système à minimiser son énergie libre, 2/ de la dynamique des molécules dans la phase de départ et au cours de la transition de phase et 3/ de l'énergie libre d'interface entre le liquide et le solide⁸⁵. Un liquide peut ainsi éviter la cristallisation si les perturbations extérieures, ici les variations de températures, sont trop rapides par rapport au temps nécessaire pour que le système s'équilibre. Lorsque le temps caractéristique associé à la mobilité devient de l'ordre de grandeur de la durée de l'expérience, le système se retrouve dans un état hors équilibre et forme un verre⁸⁵. Cette vitrification est détectée par une chute de la capacité calorifique, traduisant la perte de certains degrés de liberté et donc l'impossibilité du système à explorer l'ensemble des configurations qui lui étaient accessibles dans l'état liquide. Ce rapport entre vitesse de variation des contraintes extérieures et temps de relaxation du système entraîne l'existence d'une température, notée T_g , à laquelle le système se fige dans un état vitreux. La température de transition vitreuse diminue avec la réduction de la vitesse de trempe. La transition vitreuse représente donc un phénomène cinétique et non une transition de phase au sens thermodynamique du terme. A l'approche de la transition vitreuse, l'augmentation du temps de relaxation du système entraîne une forte augmentation de la viscosité du liquide.

En représentant l'évolution de la viscosité en fonction du rapport T_g/T , où T_g est la

température de transition vitreuse du système définie, comme la température à laquelle le liquide à l'équilibre présente une viscosité conventionnelle de 10^{13} Poise, Angell a pu suggérer deux comportements possibles des systèmes qui ne dépendent que des composés étudiés (voir Figure 1.2)⁸⁶. Dans le premier cas, la dynamique reste guidée par les barrières énergétiques que le système doit franchir, généralement par simples fluctuations thermiques, et les évolutions des temps caractéristiques de la relaxation et de la viscosité suivent un comportement arrhénien⁸⁷ du type $\tau_\alpha = \tau_0 \exp\left(\frac{E_a}{T}\right)$ où τ_0 est le temps caractéristique des vibrations et E_a la barrière d'énergie, ou énergie d'activation, associée aux réarrangements structuraux. Un tel comportement caractérise un liquide dit fort que l'on rencontre principalement dans des systèmes disposant d'interactions fortes et à courte distance, par exemple des liaisons covalentes, pour lesquelles l'énergie des liaisons sont proches des énergies d'activation E_a .

D'autres liquides formant des verres, et en particulier la majorité des composés organiques, sont caractérisés par une augmentation des coefficients de transport à l'approche de la température de transition vitreuse, et ceux ci semblent diverger à une température T_0 finie et inférieure à la température de transition vitreuse T_g . Au sein de ces liquides dits fragiles, l'évolution en température des temps de relaxations structuraux ne suit plus une loi d'Arrhénius mais peut être exprimée par la loi phénoménologique de Vogel-Fulcher-Tamman $\tau_\alpha = \tau_0 \exp\left(\frac{B}{T-T_0}\right)$ dans laquelle B est une constante caractéristique du composé. Cette loi ne suffit cependant pas à décrire rigoureusement l'évolution des relaxations du système sur un large intervalle de température, notamment à haute température. Les polymères et systèmes composés de molécules organiques complexes font généralement partie des liquides fragiles et sont caractérisés par des barrières d'activation extrêmement grandes à l'approche de la température de transition vitreuse comparées à celles rencontrées dans le cas des liquides forts.

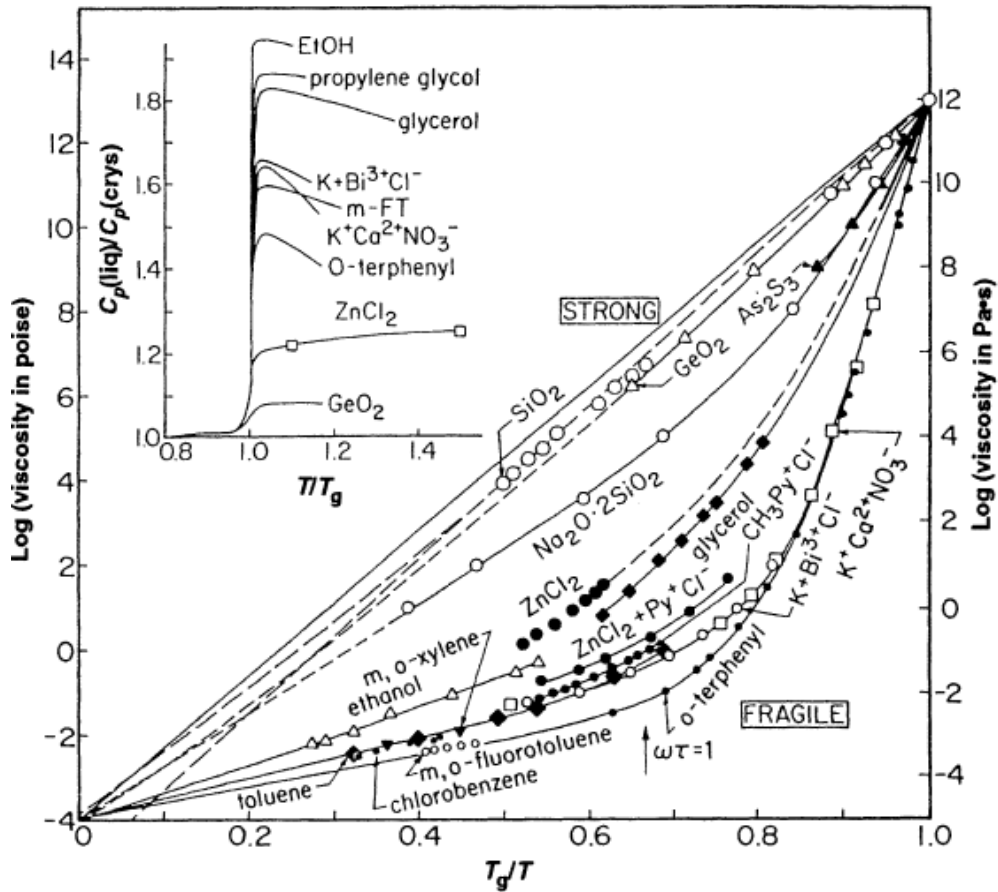


Figure 1.2 Evolution du logarithme de la viscosité en fonction de l'inverse de la température normalisée à T_g d'après la référence⁸⁶. Les liquides forts, qui suivent donc une loi d'Arrhénius, sont caractérisés dans cette représentation par une droite affine tandis que les liquides fragiles sont caractérisés par un comportement non monotone et une brusque augmentation de la viscosité pour une faible diminution de la température.

1.3 Eau d'interface

Les anomalies de diffusion et le ralentissement de la dynamique que subit l'eau à l'interface avec un soluté, sont des phénomènes communément admis et largement commentés dans le cas d'interactions entre l'eau et des protéines^{88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97}. Il a, par exemple, été noté une corrélation entre les déplacements rapides des biomolécules, qui peuvent être observés par l'intermédiaire de la dynamique de l'eau du fait du fort couplage entre les deux molécules, et les lents changements de conformations observés lors de la diminution de la concentration de soluté^{88, 89}. De même, un fort ralentissement des temps de relaxation rotationnelle et translationnelle lors de

la réduction de la quantité d'eau d'hydratation est observé expérimentalement^{90, 91, 92, 93} et en simulation^{94, 95, 96, 97}. Ces ralentissements des propriétés relaxationnelles ainsi que l'apparition de diffusions anormales marquent un changement entre le comportement de l'eau en présence d'un soluté et son comportement en 'volume' lorsque celle-ci est suffisamment éloignée et que les interactions entre les deux composés sont négligeables. Par exemple, à partir d'expériences de relaxation diélectrique, on observe que la dynamique de l'eau pure suit une simple décroissance exponentielle de Debye ($\varphi(t) = e^{-\frac{t}{\tau}}$)⁹⁸, si l'on soustrait de l'analyse les mouvements de libration correspondant aux déplacements des cortèges électroniques et des déplacements atomiques associés aux mécanismes de polarisation. La relaxation de Debye correspond donc, dans ce cas, aux mouvements lents de réorientation des moments dipolaires qui est de l'ordre de la dizaine de picosecondes pour l'eau à température ambiante⁹⁹. Lorsque l'eau est en interaction avec une interface, cette description simple de la relaxation rotationnelle par une décroissance exponentielle n'est plus valide^{100, 101}. Celle-ci peut alors être remplacée par la loi non-exponentielle de Kohlrausch-Williams-Watts^{102, 103, 104, 105} $\varphi(t) = \varphi_0 \exp\left(\left(\frac{-t}{\tau}\right)^\beta\right)$ où τ est le temps caractéristique de la relaxation propre au composé étudié ainsi qu'aux conditions de son étude (température, pression, densité...) et β un exposant cinétique fractionnaire qui représente, dans l'hypothèse de multiples environnements locaux au sein desquels les molécules relaxent de manière exponentielle^{100, 101}, la variété de population des temps caractéristiques de relaxation.

Les anomalies de diffusion que l'eau subit à l'interface avec un soluté sont caractérisées par l'écart que présente la diffusion par rapport à une diffusion Brownienne et donc par la perte du caractère linéaire de la variation temporelle de son déplacement quadratique moyen. En effet, dans le cas d'une diffusion Brownienne, le théorème de limite centrale assure que l'ensemble des variables de position du système suit une loi normale. Les régimes de diffusions anormaux peuvent être décrits par des distributions de probabilités non gaussiennes qui engendrent le caractère non linéaire du déplacement quadratique moyen¹⁰⁶. Celui-ci sera alors représenté par une loi en puissance du temps : $\langle r^2(t) \rangle \sim t^\alpha$ où α permet de distinguer les régimes de diffusion dite normale si

$\alpha=1$, balistique si $\alpha=2$ tandis que les régimes subdiffusifs et superdiffusifs sont caractérisés par $\alpha<1$ et $\alpha>1$ respectivement¹⁰⁶. Il est généralement admis que le régime subdiffusif de l'eau à l'interface d'un soluté provient soit d'un désordre géométrique, soit d'un désordre temporel. Le désordre géométrique est dû au caractère fractale de la géométrie de la surface. Dans ce cas, il existe une dépendance de la distance que peut parcourir une molécule le long de cette surface par rapport à la dimension fractale de la surface¹⁰⁷. La diffusion peut ainsi toujours être étudiée en définissant un coefficient de diffusion effectif qui dépendra de cette dimension fractale. Le désordre temporel provient des multiples minima énergétiques du paysage énergétique de la surface, qui peuvent être représentées, par exemple, par une alternance entre des domaines hydrophiles et hydrophobes¹⁰⁸. L'existence de ces minima engendre un accroissement de la corrélation dans le temps de résidence des molécules d'eau, notamment des contributions aux temps longs, qui conduit à une variation temporelle non linéaire de la diffusion. Malgré les mises en évidence expérimentales des anomalies de diffusion de l'eau^{109, 110, 111, 112}, l'origine physique de ce phénomène reste mal comprise dans le cas de l'eau d'hydratation, bien que la dynamique de l'eau puisse être décrite par les deux hypothèses^{113, 114}. Malgré l'importance largement reconnue du rôle de l'eau d'hydratation soit dans l'activation des fonctions des protéines^{115, 116, 117}, l'intérêt biologique des anomalies de diffusion n'a été étudié que récemment. Ainsi, des simulations de protéines hydratées ont pu montrer que le caractère subdiffusif de la diffusion de l'eau est un atout majeur à la formation de complexes protéiques ainsi qu'à la transduction du signal porté par la protéine¹¹⁸. Ce caractère subdiffusif permet également de quantifier, au sein de solutions hétérogènes telles que le cytoplasme, la dépendance des concentrations envers les distributions de taille et de conformation des molécules composant la solution¹¹⁸.

La structure de l'eau à proximité de surfaces biologiques ou composées de molécules organiques revêt également une importance majeure. Il a été montré que les molécules d'eau jouent un rôle particulier dans les interactions entre les peptides et les complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH) incluant le remplissage des cavités de la protéine, dans l'accroissement

de l'affinité de certains sites, notamment les épitopes, ou encore dans la possibilité qu'ont différents sites protéiques de se lier par liaison hydrogène¹¹⁹. En fonction de l'espace disponible aux molécules d'eau, chacune de ces applications peut être réalisée par une seule molécule d'eau ou un réseau structuré de molécules d'eau. Dans ce dernier cas, la plasticité du réseau peut jouer un rôle fondamental en augmentant le nombre de sites liés. De manière similaire, l'effet de soluté, notamment non polaires pour la description de l'hydrophobicité, sur la structure de l'eau a fait l'objet de nombreuses recherches^{120, 121, 122, 123}. Ces dernières ont conclu à l'existence de deux types d'interactions entre molécules d'eau autour d'un soluté, le premier type est caractérisé par des liaisons hydrogènes de faible angle, le second type étant caractérisé par des liaisons hydrogènes de fort angle. Ces auteurs ont proposé que la présence de sites polaires au niveau du soluté augmente le second type de population tandis que les solutés hydrophobes favorisent le premier type. La structure de l'eau autour de sites hydrophobes de certaines protéines et les interactions entre ces protéines et les molécules d'eau ont été suspectées de diminuer la température de cristallisation de l'eau et ainsi, de participer à l'effet antigél de ces protéines^{124, 125}.

Dans de telles conditions, la distance à laquelle l'eau d'hydratation reste déstructurée par rapport à la surface est un facteur clé dans le contrôle de l'activité biologique des protéines. De la même manière, l'interaction entre l'eau et les surfaces, qu'elles soient hydrophiles ou hydrophobes, est fondamentale pour expliquer la relation entre la structure et l'activité biologique des protéines^{126, 127, 128, 129, 130, 131, 132}. Les expériences effectuées sur l'eau d'hydratation de minéraux et d'argiles ont aussi montré que l'influence de la surface s'étend jusqu'à quatre couches de la surface, soit donc sur une épaisseur d'environ 10 Å^{133, 134, 135}. L'utilisation de simulations de dynamique moléculaire dans le cas de l'eau en interaction avec une surface peu rugueuse a cependant montré que seule l'eau de la première couche d'hydratation est fortement perturbée par la présence de l'interface^{136, 137}. La seconde couche est très légèrement affectée tandis que la troisième couche reste quasiment non perturbée et présente les mêmes variations que l'eau de volume.^{136, 137} De plus, comme nous l'avons décrit précédemment dans le paragraphe 1.1, le choix du solvant peut induire différentes cinétiques

de cristallisation vers différents polymorphes. Ainsi, la dynamique de l'eau à l'interface avec le cristal ou à l'interface avec les noyaux cristallins doit influencer la cristallisation soit en entrant en compétition avec les molécules de soluté aux sites de croissance cristalline^{138, 139}, soit en modifiant la tension de surface associée à la surface du soluté¹⁴⁰. L'étude de la dynamique de l'eau à l'interface d'une phase cristalline de Résorcinol par dynamique moléculaire a notamment permis de déterminer que les molécules d'eau sont plus fortement liées et possèdent une dynamique plus fortement perturbée lorsqu'elles sont situées sur la face du cristal disposant de la croissance la plus faible¹⁴¹.

1.4 Agrégation moléculaire

L'agrégation moléculaire est omniprésente dans la nature et participe notamment à la cristallisation, à la formation de colloïdes, aux séparations de phase dans les associations moléculaires ainsi qu'aux appariements de chaînes polypeptidiques pour former des protéines¹⁴². L'agrégation moléculaire définit l'arrangement spontané des molécules en agrégats stables par l'action de forces non covalentes et apparaît lorsque deux molécules interagissent via l'équilibre d'un ensemble de forces attractives et répulsives incluant des liaisons hydrogènes, des interactions coulombiennes et de van der Waals. Les agrégations moléculaires peuvent cependant être grossièrement divisées en deux catégories : 1/ les associations de molécules guidées par des réactions énergétiquement favorables, et qui donc évolueront vers un état d'équilibre dans lequel les molécules forment une structure ordonnée complexe et 2/ l'agrégation guidée par des interactions hydrophiles ou hydrophobes, dues à l'attraction entre groupes non polaires¹⁴⁹. Cette distinction permet de représenter simplement la cristallisation d'un composé à partir de la phase liquide comme une réaction énergétiquement favorable (dans le premier cas) et comme la cristallisation d'un composé en présence de solvant comme résultant des interactions non covalentes (dans le second cas), bien que l'agrégation d'un composé particulier puisse faire intervenir à la fois une réaction énergétiquement favorable et des interactions hydrophiles ou hydrophobes¹⁴⁹.

Dans le cas de la cristallisation d'un composé à partir de sa phase liquide, nous avons

présenté précédemment les variables et conditions thermodynamiques qui permettent de définir les domaines de stabilité des phases et formes polymorphiques (voir Chapitre 1.1). Ces conditions forment les pré-requis à l'apparition d'une transition de phase ou à la prédiction des conditions qui engendrent une telle transition de phase. Pour cela, la connaissance de la structure des arrangements moléculaires et des conditions de formation des liaisons covalentes compatibles avec un arrangement et un réseau moléculaire ordonné est nécessaire. Le fait de regarder la cristallisation comme un processus d'appariement de molécules suivant des ensembles puis des réseaux moléculaire¹⁴³ a aidé à la compréhension de l'apparition et la disparition de formes polymorphiques¹⁴⁴ et la description des interactions entre les facteurs cinétiques et thermodynamiques dans la stabilité des formes métastable¹⁴⁵. La cristallisation implique à la fois la nucléation de la nouvelle phase et sa croissance. La théorie classique de la nucléation^{146, 147} suppose ainsi que la variation d'énergie libre de Gibbs ΔG lors de la formation d'un noyau cristallin de rayon R est définie par la relation $\Delta G = \frac{4}{3}\pi R^3 \rho_s \Delta\mu + 4\pi R^2 \gamma$ où ρ_s est la densité de molécules dans la phase solide, $\Delta\mu$ est un terme correspondant à la différence d'énergie libre entre les deux phases et γ est la tension superficielle entre le solide et le liquide. Le premier terme correspond à la variation d'énergie associée à la transition des molécules d'une phase vers l'autre phase. Le deuxième terme correspond à l'énergie libre nécessaire à la création d'une interface^{146, 147}. Un plus grand raffinement peut être obtenu en ajoutant des facteurs cinétiques à cette description thermodynamique, en supposant par exemple qu'il existe un nombre fini et limité de molécules qui se lient à un noyau cristallin durant un intervalle de temps donné et/ou l'existence d'une barrière énergétique à franchir lors de la réaction de transition d'une phase vers l'autre¹⁴⁸. Sans surprise, les méthodes numériques utilisées afin de déterminer la cristallisation d'un composé à partir de sa phase liquide sont les méthodes directes (voir Chapitre 1.1). Elles permettent de déterminer la température de fusion dont nous avons déjà discuté précédemment. Ces simulations présentent l'inconvénient de ne pas prédire la phase vers laquelle le système cristallise, qui est par conséquent une donnée requise par la méthode. La description au niveau moléculaire du chemin liant les états liquides et cristallins d'un

composé pur reste donc un défi pour les méthodes numériques.

Dans la phase liquide, les molécules d'eau forment en moyenne entre elles un réseau tétraédrique de liaisons hydrogènes. La dissolution d'un soluté dans un milieu aqueux entraîne, par simple raison stérique, une déstructuration de ces forces attractives entre les molécules d'eau. La perte de ces liaisons hydrogènes et la déstructuration associée peuvent être compensées dans le cas d'un soluté ionique, par la capacité dont dispose le soluté de former des liaisons avec les molécules d'eau¹⁴⁹. Ce raisonnement peut être utilisé pour expliquer la solubilité des molécules polaires en milieu aqueux. Dans le cas d'un soluté constitué de molécules non polaires, la perte de liaisons hydrogènes entre molécules d'eau du fait des conditions stériques qu'imposent la présence des molécules de soluté ne peut être compensée par les faibles forces d'attraction de van der Waals entre les deux types de molécules. Deux cas peuvent donc apparaître naturellement en fonction de la taille et/ou de la concentration du soluté et sont représentés dans la Figure 1.3¹⁴⁹.

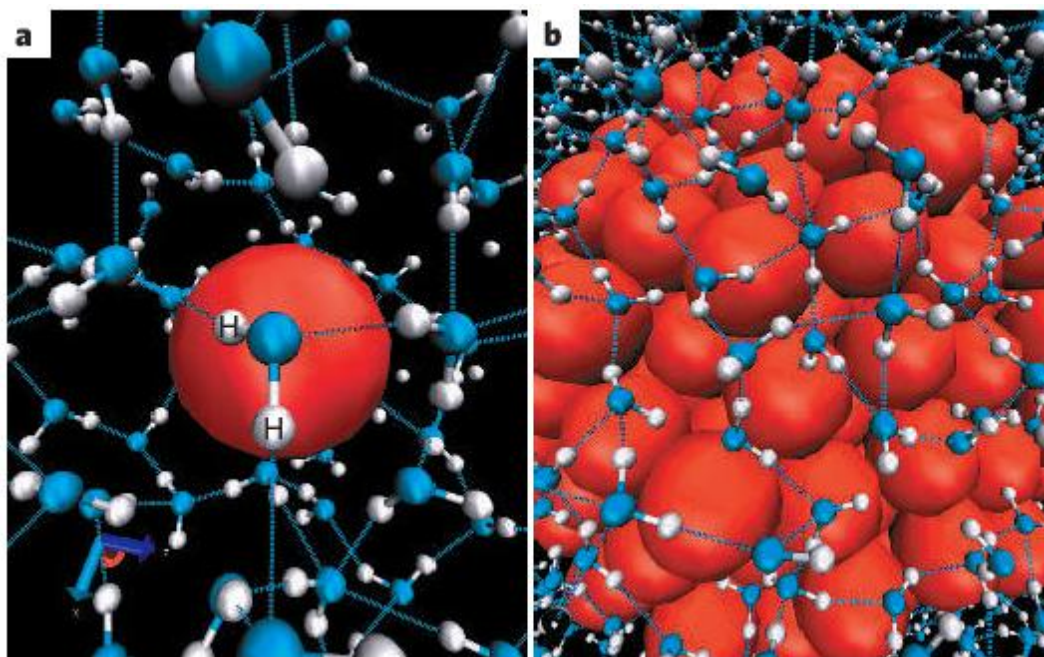


Figure 1.3 Représentation des configurations que peut prendre le réseau de liaisons hydrogènes de l'eau autour de soluté hydrophobes dans le cas (a) d'une petite molécule de soluté isolée et (b) d'un ensemble agrégé de 135 molécules de soluté d'après la référence¹⁴⁹. Les sphères rouges, bleues et blanches représentent respectivement des molécules de méthane, d'oxygène et d'hydrogène. Les lignes brisées bleues représentent les liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau.

Dans le premier cas, les molécules de soluté sont si petites et si peu concentrées dans le milieu de dissolution que le volume exclu qu'elles génèrent peut déstructurer le réseau de liaisons hydrogènes de l'eau mais ne nécessite pas de rupture de liaisons hydrogènes au sein de ce réseau, laissant les propriétés de l'eau quasiment inchangées par rapport à l'absence de soluté. Au contraire, dans le cas où les molécules du soluté possèdent une taille trop importante et/ou leur concentration dans le milieu aqueux est trop importante, les molécules d'eau ne peuvent plus conserver la totalité des connections normalement présentes au sein de leur réseau de liaisons hydrogènes. La perte d'une partie de ses liaisons hydrogènes engendre la répulsion des molécules d'eau de la surface du soluté. Cet argument a été utilisé pour définir les bases des interactions hydrophobes¹⁵⁰. Du fait de la forte hydrophobicité de la grande majorité des principes actifs, ces interactions auront un impact majeur dans la cristallisation des principes actifs en milieu aqueux mais également dans la limite de solubilité que les formes polymorphiques de ces principes actifs présentent. Les variations des variables thermodynamiques associées à la nucléation et la formation d'agrégats, même élémentaires, en solution sont similaires à celle de la nucléation à partir de la phase liquide dans le cas d'un corps pur¹⁴⁸. La définition des variables thermodynamiques doit cependant prendre en compte les variations de l'hétérogénéité du système ainsi que les différents arrangements moléculaires des agrégats. Les agrégats formant les noyaux cristallins au sein de la solution sont ensuite amenés à croître et, bien que l'on ne puisse définir clairement de transition entre la phase de nucléation et la phase de croissance cristalline, les phases de croissance et de nucléation sont directement liées à la formation et la structure des agrégats élémentaires¹³⁹.

Chapitre 2 Simulation de dynamique moléculaire et méthode à deux phases thermodynamiques

2.1 Introduction

Ce chapitre a pour objet de présenter les méthodes qui sont utilisées dans la suite de cette thèse. Les éléments présentés ici sont relatifs aux principes et aux détails des simulations mentionnées dans les chapitres suivants, à la méthode à deux phases thermodynamiques nécessaire au calcul de l'entropie à effectuer après une simulation de dynamique moléculaire.

Nous présenterons ainsi dans un premier temps les méthodes numériques et algorithmes associés à la dynamique moléculaire. Seules les méthodes les plus couramment rencontrées ainsi que celles que nous avons utilisées dans les chapitres suivants sont présentées. Un rappel est tout d'abord fourni sur les champs de forces empiriques utilisés en dynamique moléculaire ainsi que sur les algorithmes de simulation classiques tels que les simulations de mécanique moléculaire ou Monte Carlo. Nous abordons ensuite les algorithmes propres aux simulations de dynamique moléculaire puis l'utilisation des conditions aux limites périodiques qui ont par la suite une influence déterminante dans le choix des configurations initiales. Cette présentation des algorithmes est cependant succincte et le lecteur désireux d'obtenir une description plus complète sera invité à se référer à l'un des nombreux ouvrages de la littérature^{151, 152, 153}. Nous insistons finalement sur les limites associées à ces méthodes et algorithmes qui peuvent avoir une influence importante sur les investigations décrites dans les chapitres suivants.

Dans la suite de ce chapitre nous rappelons les principes de la méthode à deux phases thermodynamiques que nous utilisons pour le calcul de l'entropie à effectuer après une simulation de dynamique moléculaire. Pour ce faire, nous rappelons d'abord le lien entre la densité d'états du système et les propriétés thermodynamiques associées au système. Nous nous intéressons ensuite à chacune des approximations permettant d'évaluer numériquement les propriétés thermodynamiques

du système à partir de sa densité d'états en commençant par l'approximation de l'oscillateur harmonique, qui permet de décrire fidèlement les propriétés thermodynamiques des cristaux à basse température, puis l'approximation d'un gaz de sphères dures, qui permet la description fidèle des propriétés thermodynamiques d'un gaz parfait monoatomique, et finalement l'approximation du gaz parfait polyatomique.

2.2 Dynamique Moléculaire

Plusieurs méthodes de simulation numérique permettent de décrire et étudier les systèmes à des échelles atomiques. L'utilisation d'ordinateurs pour étudier les propriétés de la matière condensée remonte aux années 50 et aux premières simulations de liquides réalisées par des méthodes de type Monte Carlo (MC) par Metropolis et al.¹⁵⁴ et de dynamique moléculaire (DM) par Alder et Wainwright.¹⁵⁵ Depuis lors, des améliorations continues dans le matériel, les logiciels et les algorithmes ont conduit à des progrès très rapides dans ce domaine et les simulations actuelles sont appliquées à une très grande variété de domaines scientifiques. La mécanique quantique fournit la description la plus précise des interactions au sein d'un système atomique et devrait, par conséquent, s'imposer comme une technique de référence pour de telles études. Cependant, du fait d'un coût en temps de calcul souvent prohibitif, les approches quantiques restent réservées à la description de systèmes contenant un nombre restreint d'atomes et sur un intervalle de temps relativement court (quelques picosecondes). Par conséquent, une étude portant sur des systèmes constitués de plusieurs milliers d'atomes sur des durées dépassant la nanoseconde ne peut se faire, en des temps raisonnables, qu'en utilisant des approximations plus importantes que pour les méthodes quantiques. Parmi ces nouvelles approximations, celle de Born-Oppenheimer joue le plus grand rôle dans la description de tels systèmes. Cette approximation considère que les mouvements des électrons étant bien plus rapides que ceux des noyaux atomiques, leurs mouvements respectifs peuvent être découplés. Les interactions interatomiques peuvent ainsi être représentées par des fonctions empiriques dépendant des positions des noyaux. Un champ de force est ainsi créé afin de décrire analytiquement les forces agissant sur chaque atome du système considéré. Le comportement du

système est alors gouverné par les lois de la mécanique classique.

2.2.1 Champs de forces

Un champ de forces est décrit à partir d'une expression mathématique donnant la dépendance de l'énergie U d'un système à partir des coordonnées des N atomes $(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)$ qui le constituent d'une expression analytique empirique de l'énergie potentielle interatomique, $U(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)$, et d'un ensemble de paramètres : constante de raideur, rayon de van der Waals, charge électrostatique, Ces paramètres sont généralement obtenues à partir de calculs de mécanique quantique (ab initio ou semi-empiriques) ou en les ajustant sur des données expérimentales issues de la diffraction des rayons X, RMN, spectrométrie infrarouge, diffusion Raman, diffusion neutronique, ... Les molécules sont simplement modélisées comme un ensemble d'atomes maintenus par des forces harmoniques (ressort). Idéalement, l'expression de $U(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)$ doit être suffisamment simple pour être évaluée rapidement, mais suffisamment détaillée pour reproduire les propriétés intéressantes du système étudié. Il existe de nombreux champs de force disponibles dans la littérature (CHARMM¹⁵⁶, AMBER¹⁵⁷, ...), avec différents degrés de complexité, et construits pour traiter différents types de systèmes.

L'énergie d'interaction devrait, dans le cas idéal et pour un système de N atomes, être une fonction des $3N$ coordonnées des atomes formant une somme de N potentiels à i corps ($i=1, \dots, N$) :

$$V(r^N) = \sum_{i=1}^N v_1(r_i) + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>i}^N v_2(r_i, r_j) + \sum_{i=1}^{N-2} \sum_{j>i}^{N-1} \sum_{k>j>i}^N v_3(r_i, r_j, r_k) + \dots \quad (2.1)$$

où r_i correspond aux coordonnées cartésiennes des particules, v_i avec $i=1, \dots, N$ représente le potentiel à i corps. Afin de parvenir à des temps de calculs raisonnables, la plupart des champs de forces ne considèrent que l'approximation de paires, dans laquelle le développement du potentiel d'interaction est limité aux interactions de paires, tandis que les termes d'ordre supérieur sont partiellement inclus dans un potentiel de paires effectif.

Une expression typique de l'énergie dont on dérive un champ de force peut ressembler à celle-ci :

$$U = V_{liaisons} + V_{angles} + V_{torsions} + V_{impropre} + V_{LJ} + V_{Elec} \quad (2.2)$$

où les quatre premiers termes correspondent à des contributions dites « intramoléculaires » ou « liées » : étirement des liaisons covalentes, flexion d'angles, de torsion et de planéité (impropres). Les deux derniers termes décrivent les interactions « intermoléculaires » ou « non-liées » de type van der Waals modélisées à l'aide d'un potentiel de Lennard-Jones qui inclu aussi la répulsion ainsi que les interactions coulombiennes. Chaque terme est décrit plus précisément dans les sections suivantes.

Il faut souligner une petite ambiguïté dans la définition des interactions dites « intramoléculaires » et « intermoléculaires ». En fait, dans la plupart des cas, les interactions entre atomes appartenant à la même molécule mais séparés par plus de trois liaisons sont traitées de la même façon que s'il s'agissait de contributions intermoléculaires. Dans le cas de molécules totalement rigides, ce problème ne se pose évidemment pas. Pour les interactions intramoléculaires entre deux atomes liés par une liaison, ou entre trois atomes formant une liaison deux à deux (triplet d'atomes formant un angle), on considère que ces interactions sont déjà correctement décrites par les termes intramoléculaires ($V_{liaison}$ et V_{angle}). Ceci évite des problèmes numériques provenant des potentiels intermoléculaires Lennard-Jones ou électrostatique qui peuvent devenir fortement répulsif ou attractif en raison des faibles distances impliquées. Le traitement des interactions des quadruplets d'atomes dites *interactions 1-4* est particulier. Les termes de torsion intramoléculaire ($V_{torsion}$) sont généralement combinés avec des interactions intermoléculaires de van der Waals et électrostatiques pondérées d'un certain facteur. Ces interactions 1-4 sont particulièrement importantes car elles contrôlent les barrières entre positions d'équilibre des angles de torsion.

Les interactions « intramoléculaires » ou « liées » ainsi que les interactions « intermoléculaires » ou « non-liées » de type van der Waals ou électrostatiques sont détaillées ci-dessous.

2.2.1.3 Champs de force de la dynamique moléculaire

Les premiers champs de force ont été développés dans les années 60 afin de réaliser des calculs de mécanique moléculaire pour la détermination de structures moléculaires, de spectres de

vibration ou d'enthalpies de molécules isolées¹⁴⁸. Ils étaient principalement orientés vers le traitement de petites molécules organiques : à l'origine, des hydrocarbures, puis ultérieurement des molécules organiques (alcools, éthers, amides, ...) ¹⁵⁸⁻¹⁶⁴.

Depuis cette époque, le développement de nouveaux champs de force a permis de traiter des systèmes plus complexes. Par exemple, les champs de force Dreiding et Universal Force Field (UFF) contiennent les paramètres de tous les atomes du tableau des éléments périodiques et un grand nombre de groupements chimiques. Les champs de forces les plus populaires actuellement sont cependant : CHARMM¹⁵⁶, AMBER¹⁵⁷, GROMOS¹⁶⁵, OPLS¹⁶⁶, et COMPASS¹⁶⁷. Ceux-ci sont en constante évolution et sont tous suffisamment polyvalents pour les simulations de petites molécules organiques, polymères, protéines, membranes, La construction d'un champ de force qui est un travail difficile et de longue haleine, est effectuée uniquement par des groupes spécialisés. Les champs de force CHARMM¹⁵⁶, AMBER¹⁵⁷, GROMOS¹⁶⁵ sont très souvent employés dans les simulations de biomolécules. OPLS et COMPASS sont quant à eux plutôt utilisés pour simuler les propriétés de solides ou de liquides moléculaires.

Le champ de force AMBER a été principalement développé sur des systèmes composés de protéines et d'acides nucléiques. La stratégie pour le calcul des charges ponctuelles est de déterminer à partir d'une phase gazeuse, via le potentiel électrostatique, des charges ponctuelles par un calcul ab-initio en utilisant une méthode de Hartree-Fock avec une base de fonction 6-31G*. Cette approche surestime volontairement les moments dipolaires pour que la distribution de charges finale du système approxime celle qui devrait représenter une phase condensée telle un liquide¹⁶⁸. Les paramètres de liaisons et d'angles ont dans un premier temps été ajustés sur des simulations en phases gazeuse^{169,170} pour des protéines. L'ajustement des paramètres pour les hydrates a été réalisé avec le modèle TIP3P¹⁷¹ de l'eau.

Le champ de force General Amber Force Field (GAFF)¹⁷² est une généralisation de AMBER à une plus grande variété de molécules organiques en particulier aux produits pharmaceutiques tout en restant compatible avec AMBER pour la modélisation des protéines et acides nucléiques¹⁷². Ce

champ de force utilise les mêmes paramètres pour le calcul des charges partielles et de Lennard Jones que les versions précédentes de AMBER. Les paramètres de liaisons et d'angles sont déterminés à partir des paramètres de AMBER, de calculs ab initio (MP2/6-31G*) ainsi que sur la connaissance de structures cristallines venant d'expériences de diffraction de rayons X et neutronique.

Au contraire, les paramètres de liaisons du champ de force OPLS (Optimized Potential for Liquid Simulations)^{173,166} sont les mêmes que ceux de AMBER sauf dans le cas des alcanes où les paramètres du champ de forces CHARMM¹⁷⁴ sont utilisés. Les distributions de charges partielles et paramètres d'interaction de Lennard-Jones sont quant à eux optimisés pour reproduire les propriétés des liquides telles que la densité et l'enthalpie de vaporisation et l'énergie libre d'hydratation de plusieurs composés organiques^{166, 175, 176, 177} avec les modèles d'eau TIP3P et TIP4P¹⁶⁶.

Il faut aussi souligner que la plupart des champs de force sont en général non polarisables et que les premiers champs de forces polarisables PIPF¹⁷⁸, DRF90¹⁷⁹ et AMOEBA¹⁸⁰ sont seulement apparus dans les années 90. Des versions polarisables ont aussi été développées pour CHARMM, AMBER, OPLS et GROMOS dans les années 2000.

En plus des champs de forces généraux décrits ci-dessus, il existe de nombreux champs de forces spécifiquement développés pour décrire un composé particulier ou une classe de composés : SiO₂¹⁸¹, succinonitrile¹⁸². L'eau à cet égard, mérite une attention particulière en raison de son importance dans la nature. Un très grand nombre de modèles d'eau ont été proposés depuis la première simulation MC de Barker et Watts¹⁸³ démontrant le défi que pose la modélisation de ce système. Les modèles rigides non polarisables les plus usités sont : TIP3P, TIP4P, TIP5P, la SPC et SPC/E^{184, 185, 186}.

Il est très difficile de comparer les performances des champs de force existants. Le résultat dépend fortement du système (petite molécule, ions, matériaux inorganiques, protéines,...) et des propriétés étudiées (structure, dynamique ou thermodynamique). Il ressort de la littérature que chaque champ de force possède ses forces et ses faiblesses et qu'elles sont liées aux données et aux

procédures employées dans son paramétrage, de sorte que le choix d'un champ de force par rapport à un autre dépend surtout du problème particulier envisagé.

Dans ce travail de thèse, nous avons opté pour l'utilisation du champ de forces General Amber Force Field pour les simulations des principes actifs et le modèle TIP3P pour la représentation de l'eau.

2.2.1.2 Interactions intramoléculaires ou liées

La liaison chimique entre deux atomes i et j peut être modélisée simplement dans l'approximation harmonique qui assimile la liaison entre les masses de i et de j à un ressort ; le potentiel $V_{liaisons}$ s'écrit alors en sommant toutes les interactions de ce type :

$$V_{liaison} = \sum_{i,j} \frac{1}{2} k_{ij} (r_{ij} - r_{ij}^0)^2 \quad (2.3)$$

où k_{ij} est la constante de raideur du ressort associé à la liaison entre deux atomes i et j , r_{ij}^0 la longueur de référence pour le champ de forces considéré, r_{ij} la longueur de la liaison. La somme est portée sur toutes les paires d'atomes i et j formant une liaison covalente entre eux; k_{ij} peut être évaluée expérimentalement à partir des spectres de vibrations (IR ou Raman).

Cette interaction covalente directe entre deux atomes est complétée par des termes tenant compte des interactions entre trois atomes, proches voisins, ayant pour effet la déformation de l'angle de valence entre ces trois atomes (liés par liaisons covalentes); dans le cas présent de l'approximation harmonique, le potentiel est donné par :

$$V_{angle} = \sum_{i,j,k} \frac{1}{2} k_{ijk} (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (2.4)$$

où θ_{ijk} est l'angle de valence entre les atomes i, j, k , θ_{ijk}^0 l'angle de référence, k_{ijk} est la constante de raideur angulaire. La somme est portée sur tous les triplets d'atomes $\{i, j, k\}$ dont les doublets $\{i, j\}$ et $\{j, k\}$ forment entre eux des liaisons covalentes. Cette contribution est nettement plus faible que celle des élongations des liaisons reflétant le fait que moins d'énergie est nécessaire pour déformer les angles de valence que pour modifier la longueur des liaisons covalentes.

Les termes diédraux représentent les interactions à quatre corps. Ils peuvent être décomposés

en deux termes : les dièdres propres et impropres. Les dièdres propres rendent compte de la flexibilité des torsions mais également de la rigidité des cycles. Ils sont généralement décrits par une fonction sinusoïdale :

$$V_{torsion} = \sum_{i,j,k,l} k_{ijkl} [1 + \cos(m\varphi_{ijkl} + \delta_{ijkl})] \quad (2.5)$$

où k_{ijkl} traduit la barrière d'énergie entre deux positions d'équilibre de la torsion liée à l'angle diédral φ_{ijkl} formé entre les groupes d'atomes $\{ijk\}$ et $\{jkl\}$, δ_{ijkl} un déphasage lié à la géométrie de la molécule, avec m un nombre entier représentant la multiplicité du potentiel de torsion (voir Figure 2.1). La somme porte sur tous les quadruplets d'atomes $\{i, j, k, l\}$ pour les doublets $\{i, j\}$, $\{j, k\}$ et $\{k, l\}$ forment entre eux une liaison covalente.

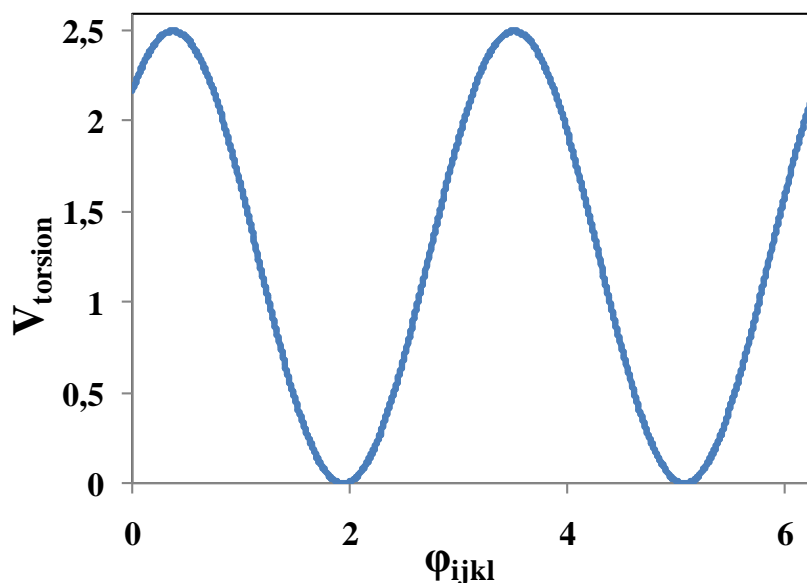


Figure 2.1 Représentation du potentiel de torsion au sein d'un groupe constitué des atomes d'oxygène, de carbone, d'azote et d'un hydrogène au sein du groupe carboxamide ($R-C(=O)NH_2$) du Carbamazépine en fonction de l'angle φ_{ijkl} entre les plans formés par l'oxygène, le carbone et l'azote d'une part et le carbone, l'azote et l'hydrogène d'autre part. Le potentiel défini par le champ de force General Amber Force Field (voir Chapitre 2.2.1.1), possède une multiplicité de 2.

Les dièdres impropres sont quant à eux utilisés pour imposer et conserver la chiralité ou la planéité autour de certains atomes et sont représentés par un potentiel harmonique :

$$V_{impropre} = \sum_{i,j,k,l} k_{ijkl} (\omega - \omega_{ijkl}^0)^2 \quad (2.6)$$

Dans cette interaction harmonique entre quatre atomes, ω est l'angle entre le plan constitué de l'atome central et de deux atomes périphériques et le plan constitué par les atomes périphériques, ω_{ijkl}^0 est l'angle d'équilibre et k_{ijkl} la constante de raideur de la torsion.

2.2.1.3 Interactions intermoléculaires ou non liés

Ces potentiels interviennent dans le cas de paires d'atomes n'appartenant pas à la même molécule ou séparés par plus de 3 liaisons covalentes.

Les interactions à courte portée sont généralement représentées par un potentiel de Lennard-Jones qui traduit l'action des forces répulsives et attractives :

$$V_{LJ} = \sum_{i,j} 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2.7)$$

où r_{ij} est la distance entre les atomes i et j , ε est la profondeur du puits de potentiel et σ est la distance d'équilibre. Le terme proportionnel à $1/r^{12}$ représente la partie répulsive du potentiel et est dû à la superposition des nuages d'électrons de deux atomes décrits par le principe d'exclusion de Pauli. Le terme proportionnel à $1/r^6$ représente la partie attractive et provient des forces de van der Waals qui découlent de différents types d'interactions dipolaires : dipôle permanent-dipôle induit (force de Debye), dipôle permanent-dipôle permanent (force de Keesom) et entre dipôles instantanés (force de dispersion de London)¹⁸⁷.

L'introduction d'une sphère de troncature avec un rayon de coupure noté R_c au delà de laquelle les interactions intermoléculaires ne sont plus prises en compte est souhaitable pour réduire les temps de calculs en réduisant le nombre de termes dans la somme de l'équation (2.7). Elle s'avère tout à fait justifiée dans le cas des interactions de van der Waals qui décroissent en $1/r^6$. Le rayon de coupure est généralement choisi comme étant 2.5σ ou 3σ mais toujours inférieur à la moitié du côté de la cellule élémentaire.

2.2.2 Méthodes pour le calcul des interactions électrostatiques

Le potentiel entre deux atomes chargés i et j s'exprime sous la forme classique d'un

potentiel coulombien :

$$V_{Coulomb} = \sum_{i,j} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2.8)$$

où r_{ij} est la distance entre les atomes i et j , q_i et q_j sont les charges des atomes i et j et ϵ_0 la permittivité du vide.

Pour des raisons pratiques liées au temps de calcul, le calcul des forces électrostatiques ne se fait généralement pas en utilisant directement une somme Coulombienne mais par le biais de techniques particulières telles que la somme d'Ewald ou la méthode du champ de réaction.

2.2.2.1 Champ de réaction

L'énergie potentielle électrostatique donnée dans l'équation 2.8 ne décroît pas assez rapidement avec la distance ($1/r$) pour permettre une utilisation directe d'un rayon de coupure comme pour un potentiel de Lennard-Jones (voir équation 2.7). Une alternative simple est d'utiliser la méthode dite du *champ de réaction*. Elle consiste à considérer le système constitué de toutes les molécules au-delà d'une certaine distance d'une molécule donnée, le rayon de coupure R_c , comme un milieu diélectrique continu (voir figure 2.2) de constante diélectrique ϵ_{RF} ¹⁸⁸. Pour un atome donné, toutes les interactions avec les autres atomes à l'intérieur de la sphère dont le rayon est R_c sont calculées explicitement. Les charges présentes à l'intérieur de cette sphère polarisent le continuum diélectrique, qui produit en réaction un champ électrique supplémentaire : le champ de réaction \vec{E}_{RF}

L'énergie potentielle électrostatique de l'équation 2.8 peut donc se réécrire comme¹⁸⁹ :

$$V_{Coulomb} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i<j} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + \sum_i \vec{\mu}_i \vec{E}_{RF} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i<j} \left(\frac{q_i q_j}{r_{ij}} + \frac{B_0 r_{ij}^2}{2r_c^3} \right) \quad (2.9)$$

$$\text{avec : } B_0 = \frac{2(\epsilon_{RF} - 1)}{(2\epsilon_{RF} + 1)} \quad (2.10)$$

où $\vec{\mu}_i$ est le moment dipolaire portée par la molécule i .

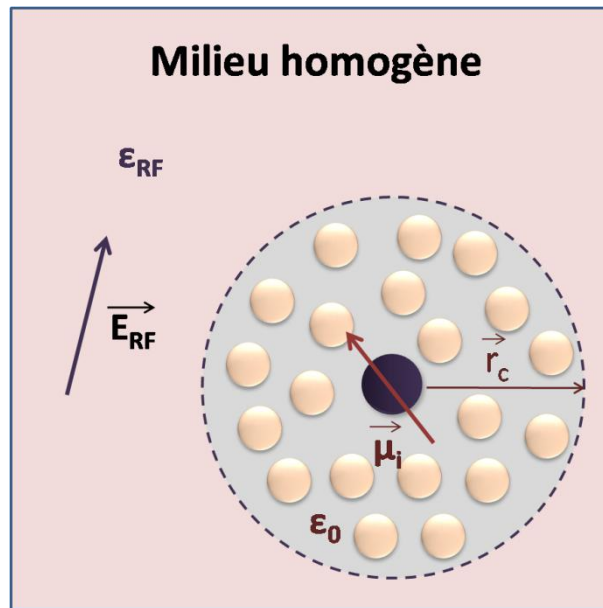


Figure 2.2 Représentation schématique de la méthode du champ de réaction. Pour chaque molécule i de moment dipolaire $\vec{\mu}_i$ du système, le calcul des interactions électrostatiques avec les autres molécules est fait de manière explicite avec les particules situées à l'intérieur de la sphère de rayon r_c et centrée sur i . Les interactions électrostatiques avec les molécules situées en dehors de la sphère de rayon r_c sont supposées comme venant de la polarisation d'un milieu homogène de constante diélectrique ϵ_{RF} générée par l'ensemble des dipôles j des molécules au sein de la sphère. En retour un champ de réaction \vec{E}_{RF} est créé.

L'équation ci-dessus nécessite évidemment de connaître la constante diélectrique ϵ_{RF} du système modélisé qui n'est généralement pas connue. Le paramètre $(\epsilon_{RF} - 1) / (2\epsilon_{RF} + 1)$ décroît cependant assez rapidement lorsque ϵ_{RF} augmente. Les résultats sont donc peu dépendants de la valeur exacte de ϵ_{RF} qui est généralement approximée par la constante diélectrique du système réel. Un autre point à prendre en considération est l'existence de corrélations dipolaires entre les molécules à l'intérieur de la cavité (voir figure 2.2). Lorsqu'une molécule quitte la cavité cette corrélation est perdue. Si celle-ci rentre de nouveau dans la cavité, elle possédera alors une orientation plus aléatoire correspondant à une situation de plus haute énergie. En conséquence, des sauts discontinus d'énergie se produisent quand une molécule quitte ou pénètre dans la cavité qui ne

s'annule pas exactement. Le système peut donc artificiellement chauffer. En outre, certains effets parasites peuvent apparaître dans la fonction de distribution radiale autour de $r \approx R_c$. La principale critique faite à la méthode du champ de réaction est l'approximation du système au-delà du rayon de coupure (de l'ordre de 10 Å) par un milieu continu. Des études ont cependant montré que cette méthode donnait des résultats comparables avec des méthodes plus précises mais plus coûteuses en temps de calcul comme la sommation d'Ewald (voir ci-dessous).

2.2.2.2 Somme d'Ewald

Une manière plus rigoureuse de traiter les interactions électrostatiques dans un système périodique consiste à prendre en compte la contribution de l'énergie potentielle de l'ensemble des images (voir figure 2.3). Dans ce cas l'équation 2.8, peut se réécrire :

$$V_{coulomb} = \sum_{\vec{n}} \sum_{i,j} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i \cdot q_j}{|\vec{r}_{ij} + \vec{n}|} \quad (2.11)$$

où \vec{n} représente le vecteur reliant la maille élémentaire à chacune de ses répliques (voir figure 2.3). Cette somme n'est que conditionnellement convergente¹⁵¹, de sorte qu'on ne peut pas l'utiliser directement pour calculer $V_{coulomb}$. Une solution élégante a été proposée par Ewald¹⁹⁰. Il s'agit d'ajouter à chaque charge ponctuelle q une distribution de charge de signe opposé $-q$. Les charges q deviennent ainsi écrantées. Le potentiel électrostatique engendré par les charges q écrantées devient de courte portée et peut ensuite être calculé dans l'espace réel comme le potentiel de Lennard-Jones (voir précédemment section 2.2). Un choix pratique est d'utiliser une distribution gaussienne $\rho(r)$ du type :

$$\rho(r) = -q \frac{\alpha^3}{\pi^{3/2}} \exp(-\alpha^2 r^2) \quad (2.12)$$

où α est un paramètre de convergence choisi de manière à ce que le potentiel soit négligeable à la valeur du rayon de coupure choisie. Il est nécessaire d'ajouter une seconde distribution gaussienne désignée opposé q qui compense celle décrite précédemment. Celle-ci peut être calculée dans l'espace réciproque de manière très efficace.

$$V_{\text{espace réel}} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_n \sum_{i < j}^N \frac{q_i \cdot q_j \operatorname{erfc}(\alpha|r_{ij} + n|)}{|r_{ij} + n|} \quad (2.13)$$

$$V_{\text{espace réciproque}} = \frac{1}{\pi\epsilon_0 L^3} \sum_{i < j} \sum_{k \neq 0}^{\infty} \frac{e^{-k^2/4\alpha^2}}{k^2} \left| \sum_{m=1}^N q_i e^{-ik \cdot r_i} \right|^2 \quad (2.14)$$

Une contribution provenant de l'interaction non physique entre la charge et la distribution gaussienne de compensation doit être traitée à l'aide du terme suivant :

$$V_{\text{correction}} = -\frac{\alpha}{\sqrt{\pi} \sum_i q_i^2} \quad (2.15)$$

L'énergie électrostatique totale est obtenue en sommant les trois termes ci-dessus :

$$V_{\text{Coulomb}} = V_{\text{espace réel}} + V_{\text{espace réciproque}} + V_{\text{correction}} \quad (2.16)$$

La convergence de la somme d'Ewald dépend de la valeur de trois paramètres : le rayon coupure R_c , le paramètre de convergence α et le nombre de répliques périodiques considéré. Ces valeurs nécessitent d'être optimisées afin de réduire le temps de calcul sans perte de précision. La valeur du rayon de coupure est normalement choisie identique à celle utilisée pour le potentiel de Lennard-Jones pour des raisons évidentes de simplicité. Ceci impose une valeur minimale pour α , afin d'obtenir une erreur relativement faible à la somme réalisée dans l'espace réel. Par exemple, pour une erreur de l'ordre 10^{-5} , il est nécessaire d'utiliser un paramètre α supérieur à $3.2/R_c$. Des valeurs élevées de α permettent de réduire encore plus cette erreur, mais au prix d'un ralentissement de la convergence de la sommation dans l'espace réciproque. Il y a donc un compromis à trouver entre les deux sommations dans l'espace réel et l'espace réciproque. En considérant la même erreur relative de l'ordre de 10^{-5} , pour une boîte de simulation cubique de côté L et en utilisant un rayon de coupure $R_c = \frac{L}{2}$, on obtient une valeur maximale de k de l'ordre de $\frac{14\pi}{L}$ ¹⁹¹.

Cette méthode conserve une complexité en $O(N^2)$ mais qui peut être réduite à $O(N^{3/2})$ par un choix judicieux de la largeur de la distribution gaussienne, α , du nombre de vecteur k et de la troncature de interactions de paire dans l'espace direct. Cette complexité reste cependant assez coûteuse en temps de calcul d'où le développement de méthodes alternatives ne présentant plus qu'une

complexité en $O(N \log N)$ telles que Particle Mesh Ewald¹⁹² et Particle-Particle Mesh Ewald¹⁹³. Leur principe consiste à discrétiser la configuration du système sur une grille, comme indiqué sur la figure 2.3. Les charges des particules sont interpolées sur cette grille et le calcul dans l'espace réciproque se fait par transformée de Fourier rapide.

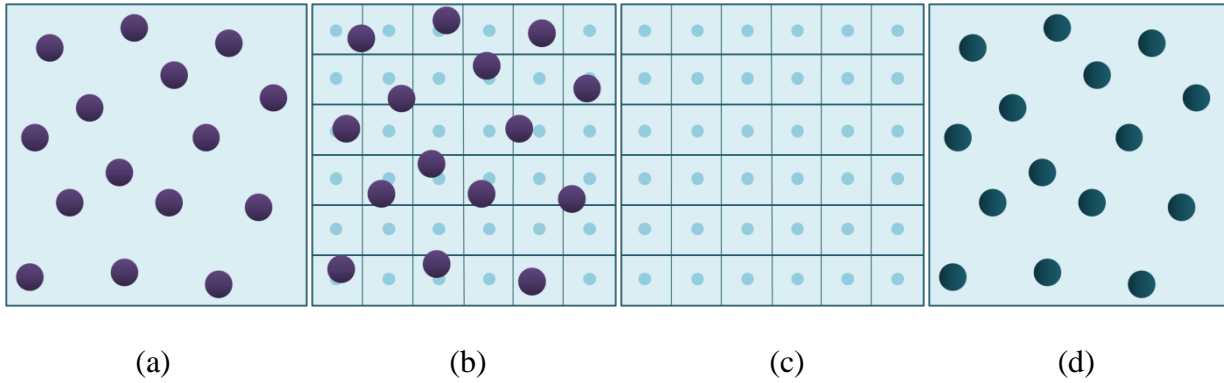


Figure 2.3 Représentation schématique des méthodes de type 'particle mesh Ewald' dans un espace à deux dimensions. On part d'un système de particules chargées dans une boîte de simulation (a) pour construire un pavage de la boîte (b) permettant d'interpoler les charges à chaque nœud du pavage. Les forces et les potentiels sont évalués à ces nœuds par transformée de Fourier rapide (c). Les forces sont interpolées en retour vers les particules dont la position est actualisée (d) (d'après la référence¹⁹⁴).

2.2.3 Dynamique moléculaire : Principes et algorithmes

En mécanique classique, un système de N particules considérées comme des points matériels est caractérisé par $6N$ variables : $3N$ relatives aux positions des particules q_i ($i = 1, \dots, 3N$) et $3N$ relatives aux moments associés p_i . Ces $6N$ coordonnées constituent l'espace des phases et chaque position dans cet espace représente un état du système appelé micro-état. Une grandeur macroscopique quelconque peut alors être calculée en réalisant une moyenne de ses valeurs sur l'ensemble des micro-états qui le caractérisent. Il faut donc explorer l'espace des phases (en utilisant un modèle d'interaction entre particules) pour pouvoir calculer ces grandeurs. L'exploration de l'espace des phases peut être réalisée soit suivant une approche stochastique (de type Monte Carlo) soit suivant une approche déterministe. Dans cette thèse, la propagation du

système dans l'espace des phases se fait en intégrant pas à pas les équations de Newton. Ces techniques sont souvent rassemblées sous la dénomination de dynamique moléculaire et elles permettent d'obtenir à la fois des caractéristiques structurales et des propriétés dynamiques et thermodynamiques relatives au système modélisé.

2.2.3.1 Équations du mouvement et algorithmes d'intégration

La dynamique moléculaire classique détermine la trajectoire de chaque atome i d'un système de N atomes par intégration des équations du mouvement de Newton en supposant chaque atome de masse m_i comme ponctuel :

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2} = \vec{f}_i(t)$$

$$\vec{f}_i(t) = -\frac{\partial V(\vec{r}^N)}{\partial \vec{r}_i(t)} \quad (2.17)$$

où \vec{r}_i est la position de l'atome i , \vec{f}_i la force s'appliquant à cet atome et $V(r^N)$ est le potentiel d'interaction provenant du champ de forces du système (voir précédemment). La description d'un système de N atomes requiert donc la résolution de $3N$ équations du second ordre couplées constituant un problème à N corps qui ne peut pas être résolu analytiquement. On résout ce problème de manière numérique par la méthode des différences finies :

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}_i(t) + \Delta t \vec{v}_i(t) + \frac{\Delta t^2}{2} \frac{\vec{f}_i(t)}{m_i} + \dots \quad (2.18)$$

où Δt est le pas de temps et \vec{v}_i la vitesse de l'atome i . Un algorithme fréquemment utilisé pour résoudre l'équation (2.17) dans l'ensemble microcanonique (NVE) où l'énergie totale est conservée, est l'algorithme de Verlet¹⁹⁵ qui ne nécessite que la connaissance des forces à l'instant t :

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = 2\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(t - \Delta t) + \Delta t^2 \frac{\vec{f}_i(t)}{m_i} + O(\Delta t^4) \quad (2.19)$$

Malgré sa simplicité, cet algorithme est efficace et donne des résultats stables. Une alternative couramment utilisée est l'algorithme dit Verlet Leapfrog¹⁹⁶ qui requiert, pour déterminer la position

d'une particule à l'instant $t+\Delta t$, les valeurs des positions et forces de la particule à l'instant t ainsi que des vitesses au demi pas de temps précédent. La première étape consiste à déterminer la valeur des vitesses des particules :

$$\vec{v}_i\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) = \vec{v}_i\left(t - \frac{1}{2}\Delta t\right) + \Delta t \frac{\vec{f}_i(t)}{m_i} \quad (2.20)$$

Les positions sont ensuite calculées à partir de ces nouvelles vitesses :

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}_i(t) + \Delta t \vec{v}_i\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) \quad (2.21)$$

Dans le cas où la connaissance des vitesses venait à être requise, un nouveau calcul s'impose pour pouvoir connaître les vitesses des particules à l'instant t , ce qui se fait en moyennant les vitesses de deux pas de temps intermédiaires consécutifs :

$$\vec{v}_i(t) = \frac{1}{2} \left[\vec{v}_i\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) + \vec{v}_i\left(t - \frac{1}{2}\Delta t\right) \right] \quad (2.22)$$

L'algorithme velocity Verlet¹⁹⁷ permet d'échapper à cette dernière étape en supposant que les positions, vitesses et forces sont connues à chaque pas de temps. Comme pour Verlet leapfrog, les deux premières étapes consistent à déterminer les vitesses à un demi-pas de temps pour pouvoir en déduire les positions au pas de temps suivant :

$$\vec{v}_i\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) = \vec{v}_i(t) + \frac{1}{2}\Delta t \frac{\vec{f}_i(t)}{m_i} \quad (2.23)$$

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}_i(t) + \Delta t \vec{v}_i\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) \quad (2.24)$$

Les forces agissant sur chaque particule i sont recalculées grâce à ce nouveau jeu de coordonnées, ce qui permet de remettre à jour les vitesses :

$$\vec{v}_i(t + \Delta t) = \vec{v}_i\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) + \frac{1}{2}\Delta t \frac{\vec{f}_i(t + \Delta t)}{m_i} \quad (2.25)$$

Les équations ainsi résolues produisent des trajectoires dans l'ensemble microcanonique NVE où le nombre de particules, le volume et l'énergie sont constants. L'Hamiltonien du système s'écrit alors :

$$H_{NVE} = \sum_i \frac{1}{2} m_i v_i^2 + U \quad (2.26)$$

Il est, cependant, parfois plus pratique de fixer des contraintes telles qu'une pression et/ou une température constante. On se place ainsi dans d'autres ensembles thermodynamiques comme, par exemple, l'ensemble canonique (*NVT*) ou l'ensemble canonique isotherme-isobare (*NPT*) ce qui se fait par l'emploi de barostats et de thermostats.

Dans le cas des systèmes polyatomiques, les mouvements intramoléculaires, incluant les élongations et étirements des liaisons, angles et torsions, lient les positions atomiques entre elles et ne permettent pas d'approximer de telles molécules comme rigides. Les longueurs de liaisons intramoléculaires de ces systèmes peuvent être considérées comme constantes car leurs variations sont très rapides par rapport aux autres mouvements, par exemple de torsion ou de diffusion au sein du système. Il existe donc plusieurs algorithmes s'ajoutant à la résolution des équations de Newton qui permettent de satisfaire ces contraintes particulières tout en réduisant le temps de calcul nécessaire à la résolution de ces équations. Le seul algorithme de contrainte que nous avons utilisé est SHAKE¹⁹⁸, un algorithme de contraintes permettant de garder la géométrie des liaisons d'un système en appliquant les contraintes de chaque liaison une à une par ajustement des coordonnées des atomes. Cette procédure est répétée de manière itérative jusqu'à ce que toutes les contraintes soient satisfaites à un degré de tolérance près. La contrainte de la longueur de liaison par l'algorithme SHAKE permet d'utiliser un pas de temps δt significativement plus grand et donc de pouvoir simuler des systèmes sur des temps plus long.

2.2.3.2 Thermostats

Afin de simplifier les expressions et les rendre plus lisibles, nous omettons par la suite les indices atomiques dans les équations.

Thermostat de Berendsen

La méthode de couplage faible consiste à placer le système en équilibre avec un bain thermique. La vitesse des atomes est modifiée de manière à relaxer la température cinétique instantanée $T(t)$ vers la température T_0 du thermostat¹⁹⁹.

$$\frac{dT(t)}{dt} = \frac{T_0 - T(t)}{\tau_T} \quad (2.27)$$

où τ_T représente le temps de relaxation des fluctuations de température et la température instantanée

$T(t) = \frac{1}{2} \sum_i m_i v_i^2(t)$ est déterminée à partir des vitesses instantanées. L'énergie cinétique du

système est donc modifiée à chaque instant d'une quantité ΔE :

$$\Delta E = \frac{1}{2} (\chi^2 - 1) N k_B T(t) \quad (2.28)$$

où le facteur χ sert à réajuster les vitesses à chaque pas. Ce facteur χ est donné par la relation :

$$\chi = \sqrt{\left(1 + \frac{\Delta t}{\tau_T} \left(\frac{T_0}{T(t)} - 1\right)\right)} \quad (2.29)$$

Cette méthode possède l'avantage de ne pas conduire à une réponse oscillante aux changements de température. Il a été prouvé qu'elle ne conduit pas à une distribution canonique rigoureuse des vitesses contrairement à la méthode de Hoover décrite ci dessous¹⁵¹.

Thermostat de Nosé-Hoover

La méthode de Hoover²⁰⁰ place le système en équilibre thermodynamique avec un bain thermique qui est introduit dans l'Hamiltonien du système comme un degré de liberté supplémentaire associé à une masse artificielle. Le Hamiltonien du système devient donc

$H_{NVT} = \frac{p^2}{2m} + \frac{1}{2}U + \frac{1}{2}Q\chi(t)^2 + \frac{Q}{\tau_T^2} \int_0^t \chi(s) ds$. Les équations du mouvement (2.17) sont ainsi

modifiées en :

$$\frac{d\vec{r}(t)}{dt} = \vec{v}(t) \quad (2.30)$$

$$\frac{d\vec{v}(t)}{dt} = \frac{\vec{f}(t)}{m} - \chi(t)\vec{v}(t) \quad (2.31)$$

Le coefficient de friction χ est déterminé par une équation différentielle du premier ordre :

$$\frac{d\chi(t)}{dt} = \frac{N_f k_B}{Q} (T(t) - T_0) \quad (2.32)$$

où $Q = N_f k_B T_0 \tau_T^2$ est la masse effective du thermostat, τ_T est une constante de temps, N_f le nombre

de degrés de liberté du système et $T(t)$ la température instantanée du système à l'instant t .

2.2.3.3 Barostats

Barostat de Berendsen

Le barostat de Berendsen¹⁹⁹ est une extension de la méthode utilisée pour le thermostat dans laquelle la variable thermodynamique à corriger est le volume de la boîte élémentaire. Pour ce faire on doit modifier les positions atomiques. Les équations du mouvement sont modifiées en fonction de la pression instantanée $P(t)$ déterminée à partir du théorème du viriel²⁰¹ afin de converger vers la pression P_0 désirée :

$$\frac{dP(t)}{dt} = \frac{P_0 - P(t)}{\tau_P} \quad (2.33)$$

où τ_P représente le temps de relaxation des fluctuations de pression. En réajustant les coordonnées atomiques et la taille de la boîte périodique d'un facteur ζ , on modifie le volume de la boîte de $\Delta V = (\zeta^3 - 1)V$ entraînant par la même une variation de pression ΔP :

$$\Delta P = \frac{1}{\beta} \frac{\Delta V}{V} \quad (2.34)$$

avec β la compressibilité isotherme, ζ s'écrit donc :

$$\zeta = 1 - \frac{\beta \delta t}{\tau_P} (P_0 - P(t)) \quad (2.35)$$

Barostat de Nosé-Hoover

De la même manière que pour le barostat de Berendsen, le barostat de Nosé-Hoover²⁰² est une extension du thermostat dans lequel les corrections du volume de la boîte élémentaire se fait en introduisant une variable au Hamiltonien du système. Le Hamiltonien du système devient donc

$$H_{NPT} = \frac{p^2}{2m} + \frac{1}{2}U + \frac{1}{2}Q\chi(t)^2 + \frac{1}{2}W\eta(t)^2 + \int_0^t \left(\frac{Q}{\tau_T^2} \chi(s) + k_B T_0 \right) ds \quad \text{et les équations du mouvement}$$

(2.18) sont ainsi modifiées en :

$$\frac{d\vec{r}(t)}{dt} = \vec{v}(t) + \eta(\vec{r}(t) - \vec{r}_0) \quad (2.36)$$

$$\frac{d\vec{v}(t)}{dt} = \frac{\vec{f}(t)}{m} - (\chi(t) + \eta(t))\vec{v}(t) \quad (2.37)$$

$$\frac{d\chi(t)}{dt} = \frac{N_f k_B}{Q} (T(t) - T_0) + \frac{1}{Q} (W\eta^2(t) - k_B T_0) \quad (2.38)$$

$$\frac{d\eta(t)}{dt} = \frac{3}{W} V(t) (P(t) - P_0) - \chi(t)\eta(t) \quad (2.39)$$

$$\frac{dV(t)}{dt} = 3\eta(t)V(t) \quad (2.40)$$

où $Q = N_f k_B T_0 \tau_T^2$ est la masse effective du thermostat, $W = N_f k_B T_0 \tau_P^2$ est la masse effective du barostat, τ_T et τ_P sont les constantes de temps pour, respectivement, les fluctuations de température et de pression, N_f le nombre de degrés de liberté du système, η est le coefficient de friction du barostat, r_0 le centre de masse du système et $T(t)$, $P(t)$ et $V(t)$ la température, pression et volume instantanés du système à l'instant t .

2.2.4 Conditions aux limites périodiques

Pour des raisons de temps de calculs, notamment dûs aux calculs des interactions intermoléculaires, les systèmes étudiés en dynamique moléculaire restent limités à des boîtes dont la taille varie de 30 à 100 Å soit 10^4 à 10^6 particules. Dans de tels systèmes, les effets de surface sont trop élevés pour représenter correctement un comportement proche de ce qui peut être étudié expérimentalement (avec un nombre de particules de l'ordre de 10^{23}). Afin de remédier à cet inconvénient, les simulations numériques ont généralement recours aux conditions aux limites périodiques. Celles-ci consistent à répliquer à l'infini la boîte de simulation élémentaire dans les trois directions de l'espace. Chaque particule i de la boîte élémentaire interagit avec les particules j de la boîte élémentaire mais également avec leurs images dans les boîtes répliquées (voir Figure 2.4). A la correction des effets de surface peuvent s'ajouter des approximations aux traitements des interactions électrostatiques (voir section 2.2.2) venant du caractère pseudo-infini du système ainsi créé. On utilise en général l'approximation dite de 'l'image minimale'. Celle-ci suppose que chaque particule i de la boîte élémentaire n'interagit qu'avec l'image de la particule j la plus proche. Le rayon de coupure est donc inférieur ou égal à la demi-longueur de la cellule. Toute géométrie de la

cellule élémentaire permettant un pavage de l'espace peut servir à former ces conditions aux limites périodiques mais lorsqu'aucune contrainte n'est imposée par la topologie de l'étude, comme dans le cas des cristaux, nous nous contentons d'une boîte élémentaire cubique.

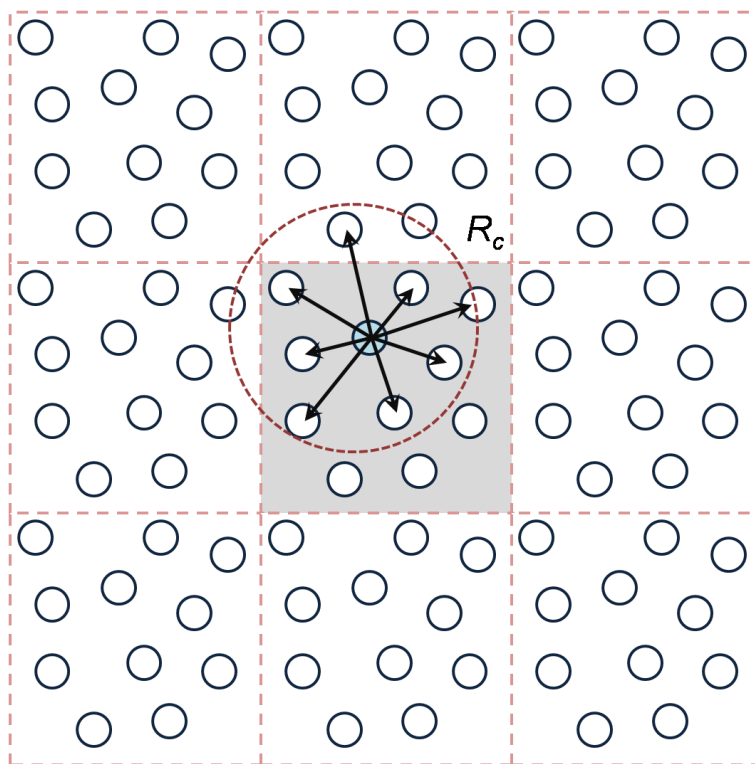


Figure 2.4 Représentation schématique des conditions aux limites périodiques dans un système à deux dimensions. L'image minimale est représentée en gris.

2.3 Détermination de l'entropie par la méthode à deux phases thermodynamiques

Dans cette section, nous introduisons les fondements de la méthode à deux phases thermodynamiques et présentons son application en simulation numérique, ce qui permet de déterminer l'entropie d'un système à la suite d'une simulation de dynamique moléculaire. La connaissance de l'entropie nous permettra d'obtenir l'expression de l'énergie libre de Gibbs de chaque forme polymorphique en fonction de la température dans l'application qui en sera faite dans le chapitre 3, ainsi que la contribution de l'entropie dans la déstructuration et les anomalies du comportement dynamique associé à l'eau d'interface dans le chapitre 4.

2.3.1 Introduction

En considérant l'énergie potentielle d'un système de molécules comme connue, on doit en

principe être capable de déterminer numériquement les variables thermodynamiques à partir des équations de la mécanique statistique. En pratique, si l'on s'intéresse à l'état liquide, deux problèmes doivent être surmontés. Le premier est de savoir de quelle manière apporter une correction quantique aux grandeurs thermodynamiques classiques que l'on peut obtenir en simulation (que ce soit en dynamique moléculaire, Monte-Carlo ...) afin de les comparer avec l'expérience. Le second vient de l'obtention de l'énergie libre et de l'entropie à partir d'une simulation. Une possibilité, explorée en 1983 par P.H Berens & al²⁰³ est d'appliquer la statistique quantique aux modes normaux de vibration (théorie de Debye des cristaux), ce qui ne requiert que la connaissance de la densité d'états vibrationnel (obtenue par transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation des vitesses).

Cette méthode suppose que les éventuelles anharmonicités qui affectent principalement les basses fréquences dans le spectre de la densité d'état se comportent de manière classique tandis que les fréquences plus élevées du spectre, où la déviation par rapport à la mécanique classique est plus importante, font intervenir suffisamment de déplacements harmoniques pour que la correction quantique puisse s'appliquer dans une approximation harmonique. De la sorte, Berens a supposé qu'une correction quantique avec une approximation harmonique pourra être appliquée à toutes les fréquences : à basse fréquence, où elle est inappropriée, elle sera de faible amplitude, à haute fréquence où son amplitude deviendra importante, l'approximation harmonique sera justifiée et reproduira fidèlement le système. Cependant étendre cette méthode au cas des fluides ne se fait pas de manière triviale : alors que la densité d'état à fréquence nulle d'un solide est nulle ou négligeable, ce n'est plus le cas pour un fluide où elle est directement liée à la diffusion dans le système. Ainsi la supposition selon laquelle l'approximation de l'oscillateur harmonique peut être appliquée aux basses fréquences puisque l'amplitude de la densité d'états à fréquence nulle est négligeable n'est plus justifiée pour des fluides. De plus, les vibrations à basses fréquences sont en général anharmoniques ce qui impose une autre limite à l'utilisation de la seule approximation harmonique. Pour surmonter cette difficulté, S Lin & al⁷⁶ ont proposé un modèle thermodynamique à deux

phases (2PT). Dans ce modèle, la densité d'états se décompose en la somme d'une composante gazeuse et d'une composante solide pour laquelle la densité d'états s'annule à fréquence nulle. Ce modèle, motivé par l'observation de la densité d'états classique du liquide (voir Figure 2.5), suppose que l'on peut décomposer la densité d'états du liquide en une composante solide et une composante gazeuse. De plus, le résultat obtenu dans le cas d'un gaz idéal ou d'une phase solide doit aboutir respectivement à l'approximation d'un système de sphères dures ou à l'approximation d'un système d'oscillateurs harmoniques.

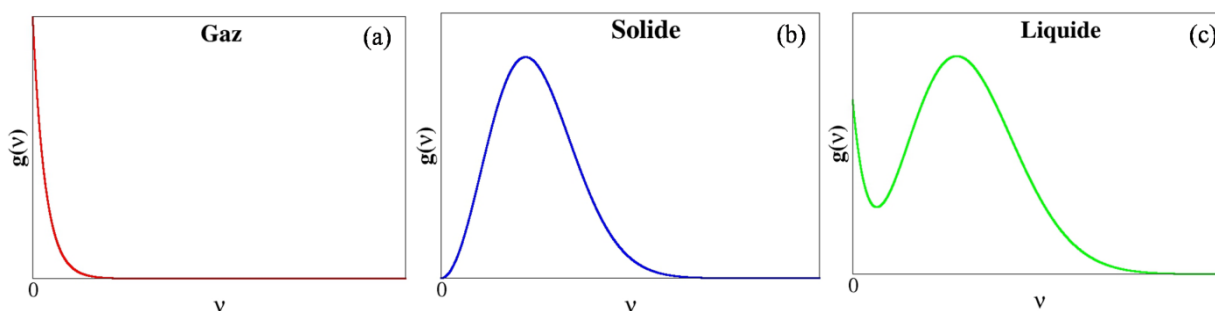


Figure 2.5 Représentation schématique de la densité d'état pour un gaz (a), un solide (b) et un liquide composé de particules simples (c) en fonction de la fréquence v . En général la densité d'état du solide est nulle à fréquence nulle et passe par un maximum à fréquence finie. Celle du gaz présente un maximum à fréquence nulle et suit une décroissance monotone. La densité d'état du liquide est non nulle à fréquence nulle puis passe par un maximum local de type 'solide' avant de décroître de manière monotone.

Nous rappelons, dans un premier temps, les propriétés de la densité d'états d'un système ainsi que les relations utiles à son application pour la détermination des variables thermodynamiques. Dans un deuxième temps, nous décrivons le lien entre la densité d'états et l'approximation harmonique, soit donc la correction quantique apportée à l'énergie de la simulation, ce qui nous mène directement au traitement de la partie vibrationnelle de la densité d'états par l'approximation de l'oscillateur harmonique. Dans un troisième temps, nous abordons la séparation des parties translationnelles et rotationnelles de la densité d'états en composantes gazeuse et solide ainsi que de leur traitement dans les approximations d'un gaz de sphères dures et d'un gaz parfait

polyatomique, respectivement.

2.3.2 Densité d'états et correction quantique à la dynamique moléculaire

2.3.2.1 Densité d'états

La densité d'états $g(\nu)$ d'un système correspond à la densité des modes normaux de fréquence ν du système.

$$g(\nu) = \sum_{i=1}^{3N} [\delta(\nu - \nu_i) + \delta(\nu + \nu_i)] \quad (2.41)$$

Le nombre de modes de fréquence ν d'un système classique de N atomes à l'équilibre est calculé numériquement à partir de la contribution de chaque atome et est défini par :

$$g(\nu) = \frac{2}{k_B T} \sum_{k=1}^3 \sum_{j=1}^N m_j g_j^k(\nu) \quad (2.42)$$

où k représente les trois coordonnées (x,y,z), m_j est la masse de l'atome j , g_j^k est la densité spectrale de l'atome j . Les densités spectrales de chaque atome j sont déterminées à partir de la transformée de Fourier des vitesses de coordonnées v_j^k :

$$g_j^k(\nu) = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{\left| \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \right|^2}{\int_{-\tau}^{\tau} dt} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{2\tau} \left| \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \right|^2 \quad (2.43)$$

Où $v_j^k(t)$ est la $k^{\text{ième}}$ composante de la vitesse de l'atome j à l'instant t .

La distribution des modes normaux peut également être obtenue par transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation des vitesses. La fonction d'autocorrélation des vitesses totales $C(t)$ d'un système de N atomes est définie comme la somme des fonctions d'autocorrélation des vitesses de chaque atome pondérées par leur masse respective :

$$C(t) = \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^3 m_j c_j^k(t) \quad (2.44)$$

où $c_j^k(t)$ est la fonction d'autocorrélation de la $k^{\text{ième}}$ composante de l'autocorrélation de la vitesse de

l'atome j .

$$c_j^k(t) = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{\int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t' + t) v_j^k(t') dt'}{\int_{-\tau}^{\tau} dt'} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{2\tau} \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t' + t) v_j^k(t') dt' \quad (2.45)$$

En utilisant le théorème de Wiener-Khintchine, les densités spectrales g_j^k de chaque atome j s'obtiennent simplement par transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation de la vitesse de l'atome j .

$$\begin{aligned} g_j^k(\nu) &= \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{2\pi} \left| \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \right|^2 \\ &= \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{2\tau} \int_{-\tau}^{\tau} \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t' + t) v_j^k(t) dt dt' \\ &= \lim_{\tau \rightarrow \infty} \int_{-\tau}^{\tau} c_j^k(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \end{aligned} \quad (2.46)$$

On peut donc calculer la distribution de modes normaux $g(\nu)$ à partir de la transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation des vitesses $C(t)$:

$$\begin{aligned} g(\nu) &= \frac{2}{k_B T} \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^3 m_j g_j^k(\nu) \\ &= \frac{2}{k_B T} \int_{-\tau}^{\tau} \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^3 m_j c_j^k(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \\ &= \frac{2}{k_B T} \lim_{\tau \rightarrow \infty} \int_{-\tau}^{\tau} C(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \end{aligned} \quad (2.47)$$

En portant l'intégration sur la totalité des fréquences positives, on obtient :

$$\int_0^{+\infty} g(\nu) d\nu = \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{+\infty} g(\nu) d\nu = \frac{1}{k_B T} \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^3 m_j \int_{-\infty}^{+\infty} g_j^k(\nu) d\nu \quad (2.48)$$

En appliquant l'égalité de Parseval $\left[\int_{-\infty}^{+\infty} \lim_{\tau \rightarrow \infty} \left| \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t) e^{-i2\pi\nu t} dt \right|^2 d\nu = \int_{-\infty}^{+\infty} v_j^k(t)^2 dt \right]$ pour relier l'intégration des densités d'états individuelles g_j^k de chaque atome à la moyenne de leur vitesse, il vient :

$$\int_0^{+\infty} g_j^k(\nu) d\nu = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{2\tau} \int_{-\tau}^{\tau} v_j^k(t)^2 dt = \overline{v_j^k(t)^2} \quad (2.49)$$

En utilisant le théorème d'équipartition de l'énergie dans sa limite classique²⁰⁴, l'équation (2.48)

s'écrit alors :

$$\int_0^{+\infty} g(v)dv = \frac{1}{k_B T} \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^3 m_j \overline{v_j^k(t)^2} = 3N \quad (2.50)$$

Le théorème d'équipartition de l'énergie peut ici être supposé valable dans la mesure où généralement le potentiel défini en simulation de dynamique moléculaire ne dépend que des positions des particules et où l'énergie totale se limite aux termes quadratiques (potentiels de paires). Cette restriction du potentiel aux termes quadratiques permet également de s'assurer qu'un système de N oscillateurs harmoniques couplés est équivalent à N oscillateurs harmoniques fictifs indépendants, les modes normaux du système²⁰⁴.

Dans un fluide composé de particules de masse m , la densité d'états à fréquence nulle ($g(0)$) est reliée au coefficient de diffusion D . Le coefficient de diffusion s'exprime en fonction de la fonction d'autocorrélation des vitesses selon la relation²⁰⁵ :

$$D = \frac{1}{3} \int_0^{\infty} c(t)dt = \frac{1}{6} \int_{-\infty}^{\infty} c(t)dt = \frac{1}{6mN} \int_{-\infty}^{\infty} C(t)dt \quad (2.51)$$

soit en posant la fréquence à zéro dans l'équation (2.47)

$$g(0) = \frac{2}{k_B T} \int_{-\infty}^{\infty} C(t)dt = \frac{12mND}{k_B T} \quad (2.52)$$

2.3.2.2 Approximation harmonique et correction quantique

La correction quantique des variables thermodynamiques se fait en utilisant l'approximation de l'oscillateur harmonique. Cette correction est basée sur la distinction des dynamiques dans l'espace des fréquences : les basses fréquences peuvent être traitées par la mécanique classique et sont responsables des principaux effets anharmoniques tandis que les hautes fréquences peuvent être considérées comme harmoniques et sont donc représentées fidèlement par l'approximation de l'oscillateur harmonique²⁰³.

Les équations reliant la fonction de partition Q aux différentes variables thermodynamiques sont²⁰⁴ :

$$E = k_B T^2 \frac{\partial \ln Q}{\partial T} \quad (2.53)$$

$$S = k_B T \frac{\partial \ln Q}{\partial T} + k_B \ln Q \quad (2.54)$$

où E est l'énergie et S l'entropie.

Dans la limite harmonique, une analyse des modes normaux nous permet de décrire le système comme un ensemble de $3N$ oscillateurs harmoniques. La fonction de partition du système peut donc s'exprimer comme le produit des fonctions de partition q_j de chaque mode j :

$$Q = \prod_{j=1}^{3N} q_j \Leftrightarrow \ln Q = \sum_{j=1}^{3N} \ln q_j \quad (2.55)$$

Si les fréquences propres du système sont distribuées de manière continue, la relation (2.55) devient :

$$\ln Q = \int_0^{\infty} \ln(q(\nu)) g(\nu) d\nu \quad (2.56)$$

où $g(\nu)$ est la densité des modes normaux de fréquence ν .

La fonction de partition d'un oscillateur harmonique quantique est donnée par la relation :

$$q(\nu) = \frac{e^{-u/2}}{1 - e^{-u}} \quad (2.57)$$

avec $u = \beta h \nu$, $\beta = (k_B T)^{-1}$ et h la constante de Planck.

En substituant les relations (2.56) et (2.55) dans les équations (2.53) et (2.54) on obtient :

$$E = V_0 + k_B T \int_0^{\infty} g(\nu) W_E(\nu) d\nu \quad (2.58)$$

$$S = k_B \int_0^{\infty} g(\nu) W_S(\nu) d\nu \quad (2.59)$$

avec les expressions suivantes des fonctions de pondération :

$$W_E(\nu) = \left(\frac{u}{2} + \frac{u}{e^u - 1} \right) \quad (2.60)$$

$$W_S(\nu) = \left(\frac{u}{e^u - 1} - \ln(1 - e^{-u}) \right) \quad (2.61)$$

L'ajout du terme V_0 à ces équations a été proposé par Berens & al²⁰³ afin de permettre au minimum d'énergie V_0 d'être défini arbitrairement comme l'énergie du système traité classiquement si tous les oscillateurs sont figés.

En partant de l'expression (2.61), il est évident que la fonction de pondération associée à l'entropie diverge à fréquence nulle. Les fonctions de pondération W_E et W_S sont représentées en fonction de la fréquence dans la Figure 2.6. Ainsi l'approximation de l'oscillateur harmonique quantique ne peut être utilisée sur l'intégralité du domaine des densités d'états que si il n'y a pas de contribution à basses fréquences ou si ces contributions peuvent être négligées. Un exemple de système satisfaisant ces conditions peut être trouvé dans les cristaux à faible température^{205, 206}.

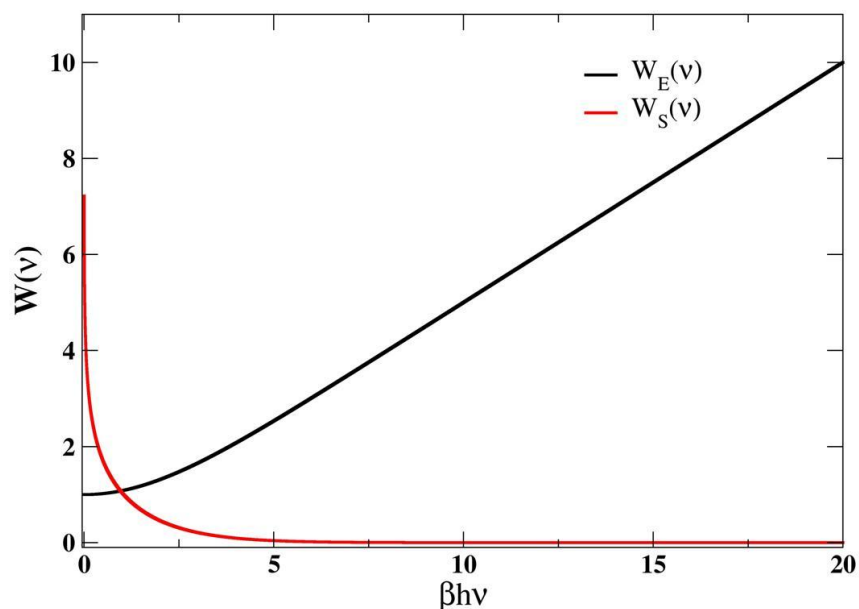


Figure 2.6 Représentation des fonctions de pondération de l'énergie W_E (en noir) et de l'entropie W_S (en rouge) en fonction de la fréquence en unité réduite.

2.3.3 Méthode à deux phases thermodynamiques

La phase liquide ou gazeuse d'un système constitue un exemple pour lequel l'approximation harmonique n'est plus valide. Ces systèmes voient leurs propriétés physiques dominées par les modes à basse fréquence, correspondant aux mouvements de diffusion et de libration, fortement anharmoniques. De plus l'existence d'une singularité de l'entropie d'un oscillateur harmonique à fréquence nulle conduit forcément au calcul d'une entropie infinie dans le cas de son utilisation dans

la région des basses fréquences de la densité d'états d'un fluide. L'application directe de l'approximation harmonique se voit donc fortement restreinte. Une proposition permettant de surmonter cette difficulté a été donnée par S. T. Lin & al ⁷⁶ en prenant l'exemple d'un gaz composé d'atomes de Lennard Jones.

2.3.3.1 Systèmes monoatomiques : approximation d'un gaz de sphères dures

L'idée de surmonter la difficulté que pose le calcul de l'entropie d'une simulation d'un fluide en utilisant l'approximation d'un gaz de sphères dures a été motivée par l'observation des allures de la densité d'états dans les cas d'un solide, d'un gaz et d'un liquide. Dans le cas d'un solide (voir Figure 2.7), la densité d'états est généralement nulle à fréquence nulle (ce qui correspond à une absence de diffusion) puis passe par un maximum à fréquence finie pour finalement décroître à fréquences plus élevées. Pour un gaz, la densité d'états possède un maximum à fréquence nulle et décroît de manière monotone lorsque la fréquence augmente. Un liquide quant à lui voit généralement sa densité d'états avoir une intensité non nulle à fréquence nulle, décroître jusqu'à un minimum à fréquence finie puis passer par un maximum de 'type solide' pour finalement décroître de manière monotone. Ainsi, Lin & Al ont proposés ⁷⁶ de décomposer la densité d'états d'un liquide en deux composantes : une partie solide ayant une intensité nulle à fréquence nulle pouvant être complètement traitée à l'aide de l'approximation de l'oscillateur harmonique présentée dans la section précédente et une partie gazeuse, rendant compte de la diffusion et des anharmonicités du système et caractérisée uniquement par la fraction de composante gazeuse dans le système et la densité d'états à fréquence nulle. La densité d'état du système peut donc s'écrire :

$$g(\nu) = g^S(\nu) + g^G(\nu) \quad (2.62)$$

avec $g(\nu)$ la densité totale d'états du système, $g^S(\nu)$ la composante solide de la densité d'états et $g^G(\nu)$ la composante gazeuse de la densité d'état. Cette proposition ne peut être valable que si l'on suppose que, dans les phases denses, les degrés de liberté de vibration et de translation sont indépendants. Cette décomposition permet ainsi, pour tout type de fluides monoatomiques, de restreindre la complexité de la détermination de l'entropie au seul cas de la description statistique d'un gaz

monoatomique et de déterminer l'entropie d'un système suite à une simulation de courte durée, typiquement de l'ordre de la dizaine de picosecondes, nécessaires au calcul de la fonction d'autocorrélation des vitesses (voir équation 2.47). Cette description doit donc permettre de déterminer exactement, dans la limite des approximations de l'oscillateur harmonique d'une part et de l'approximation d'un gaz de sphères dures d'autre part, les entropies d'un solide et d'un gaz.

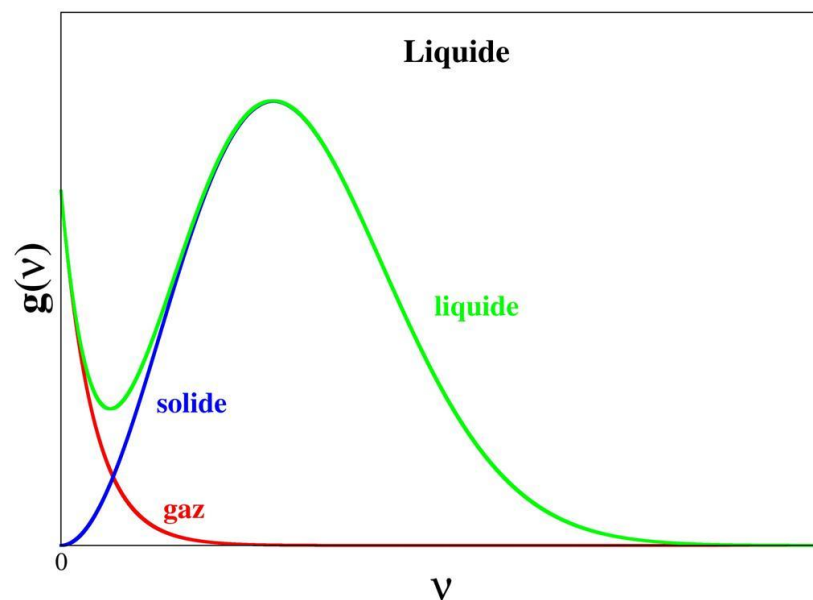


Figure 2.7 Représentation schématique de la densité d'état d'un liquide composé d'atomes de Lennard-Jones et de sa décomposition en partie solide et gazeuse telle que proposée dans la référence⁷⁶.

La densité d'états d'un gaz monoatomique provient uniquement des mouvements de translations des atomes. La détermination de l'entropie d'un gaz de molécules monoatomiques est donc obtenue à partir de la thermodynamique classique d'un gaz de sphères dures. En supposant un système composé d'un fluide de N atomes et donc $3N$ degrés de liberté, la composante gazeuse de la densité d'état g^G correspond à $3N^G=3fN$ degrés de liberté avec f la fraction de gaz dans le système. La composante solide de la densité d'état est obtenue en soustrayant la composante gazeuse à la densité totale d'états; et elle doit ainsi satisfaire l'absence de diffusion dans la composante solide ($g(0)=0$). Il vient naturellement que le nombre de degrés de liberté correspondant à la composante solide vaut : $3N^S=3N-3N^G=3N(1-f)$. Une propriété thermodynamique P d'un tel système sera déterminée par la somme des intégrations de chaque composante de la densité d'états, pondérée par

des fonctions de poids appropriées :

$$P = \int_0^{\infty} g^S(v) W_P^{HO}(v) dv + \int_0^{\infty} g^G(v) W_P^G(v) dv \quad (2.63)$$

où W_P^{HO} est la fonction de poids associée à la composante solide et W_P^G est la fonction de poids associée à la composante gazeuse.

On peut déterminer la composante gazeuse de la densité d'états en utilisant la décroissance exponentielle de l'autocorrélation des vitesses d'un gaz de sphères dures $c^{HS}(t)$ ²⁰⁵ :

$$c^{HS}(t) = c^{HS}(0) e^{-\alpha t} = \frac{3k_B T}{m} e^{-\alpha t} \quad (2.64)$$

avec α le coefficient de friction de Enskog représentant les collisions entre sphères dures au sein du gaz.

La composante gazeuse de la densité d'états s'obtient en effet à partir de la partie réelle de la transformée de Fourier de l'équation (2.64) :

$$\begin{aligned} g^G(v) &= g^{HS}(v) = \frac{4}{k_B T} \int_0^{\infty} \sum_{j=1}^{N^G} \sum_{k=1}^3 m_j c_j^k(t) \cos(2\pi vt) dt \\ &= \frac{4}{k_B T} \int_0^{\infty} 3N^G k_B T e^{-\alpha t} \cos(2\pi vt) dt \\ &= \frac{12N^G \alpha}{\alpha^2 + 4\pi^2 v^2} \end{aligned} \quad (2.65)$$

avec $N^G = fN$, N et f représentant respectivement le nombre effectif et la fraction de sphères dures dans le système. Le paramètre f donne une estimation de la 'fluidité' du système et est lié à la densité d'états à fréquence nulle par la relation :

$$g^{HS}(0) = \frac{12fN}{\alpha} \quad (2.66)$$

ce qui permet de récrire l'équation (2.60) :

$$g^G(v) = \frac{g(0)}{1 + \left(\frac{\pi g(0)v}{6fN}\right)^2} \quad (2.67)$$

La composante gazeuse de la densité d'états est donc complètement déterminée par les paramètres $g(0)$ et f ; $g(0)$ étant la valeur de la densité d'états totale à fréquence nulle, on est certain qu'il n'y

aura pas de contribution de la composante solide de la densité d'états à la diffusivité.

Il reste donc, pour pouvoir définir la composante gazeuse de la densité d'états et par la même sa composante solide, à déterminer le facteur de fluidité f ; f définissant la fraction entre les composantes gazeuses et solides du système, on souhaite qu'il satisfasse deux conditions représentant les cas limites auxquels le système peut être soumis :

- ❖ Dans la limite des faibles densités et/ou des hautes températures, le système doit se comporter comme un système de sphères dures. Le facteur de fluidité vaut alors 1 et aucune composante solide ne peut exister.
- ❖ Dans la limite des fortes densités (cas d'un système solide), le facteur de fluidité doit être nul et aucune composante gazeuse n'apparaîtra donc dans ce système.

La diffusion satisfaisant les deux conditions, Lin & al ont proposé une définition de f telle que ce facteur soit proportionnel au coefficient de diffusion dans le système à la température T et à la densité ρ , $D(T, \rho)$.

$$f = \frac{D(T, \rho)}{D_0^{HS}(T, \rho, \sigma^{HS})} \quad (2.68)$$

avec σ^{HS} le diamètre des sphères dures, D_0^{HS} le coefficient de diffusion des sphères dures déterminé dans la limite des pressions nulles selon la théorie de Chapman-Enskog²⁰⁷ :

$$D_0^{HS}(T, \rho, \sigma^{HS}) = \frac{3}{8\rho(\sigma^{HS})^2} \left(\frac{k_B T}{\pi m} \right)^{1/2} \quad (2.69)$$

Seule la connaissance de σ^{HS} est nécessaire à la détermination du facteur de diffusivité. Cette détermination du diamètre des sphères dures peut se faire à partir de la diffusion du gaz de sphères dures à la température T à laquelle le système est simulé et à la densité $f\rho$, où ρ représente la densité de la simulation. Cette diffusion est calculée à partir de la fonction d'autocorrélation des vitesses :

$$D^{HS}(T, f\rho) = \frac{1}{3} \int_0^\infty c^{HS}(t) dt = \frac{k_B T}{m\alpha} = \frac{k_B T g^{HS}(0)}{12mfN} \quad (2.70)$$

La théorie de Enskog définit la déviation des diffusions d'un système de sphères dures de densité finie et dans la limite de pression nulle par :

$$D^{HS}(T, f\rho) = D_0^{HS}(T, f\rho, \sigma^{HS}) \frac{4fy}{z(fy) - 1} \quad (2.71)$$

où z est le facteur de compressibilité du système, déterminée à partir de l'équation d'état de Carnahan-Starling pour les sphères dures²⁰⁸ est donnée par :

$$z(y) = \frac{1 + y + y^2 - y^3}{(1 - y)^3} \quad (2.72)$$

avec y la compacité définie comme :

$$y = \frac{\pi\rho}{6} (\sigma^{HS})^3 \quad (2.73)$$

Ainsi, pour une valeur donnée de f , on peut déterminer y et donc σ^{HS} en utilisant les équations (2.70) et (2.71). Cependant, f dépend lui même de σ^{HS} .

Le facteur de fluidité f peut être obtenu d'une autre manière. En utilisant la relation (2.73) et le fait que $g(0)=g^{HS}(0)$ on a :

$$g(0) = \frac{12mND(T, \rho)}{k_B T} = g^{HS}(0) \quad (2.74)$$

en remplaçant $g^{HS}(0)$ dans la relation (2.70), il vient naturellement :

$$D^{HS}(T, f\rho) = \frac{D(T, \rho)}{f} \quad (2.75)$$

De plus, il vient naturellement avec l'équation (2.69) que $D_0^{HS}(T, f\rho) = \frac{D_0^{HS}(T, \rho)}{f}$. En incluant ces résultats dans la relation (2.71), on obtient :

$$\frac{D(T, \rho)}{f} = \frac{D_0^{HS}(T, \rho, \sigma^{HS})}{f} \frac{4fy}{z(fy) - 1} \quad (2.76)$$

en utilisant la relation (2.68), il vient que :

$$1 = \frac{4y}{z(fy) - 1} \quad (2.77)$$

soit donc :

$$2y^3 f^3 - (y + 6y^2) f^2 + (2 + 6y) f - 2 = 0 \quad (2.78)$$

Cette équation est indépendante du système étudié et détermine le facteur de fluidité f à partir de y .

Il vient de la relation (2.78) que f décroît de manière monotone lorsque y croît. Les limites sont : aucune composante gazeuse ($f=0$) si la densité réduite des sphères dures y tend vers l'infini et aucune composante solide ($f=1$) dans le cas où la densité réduite des sphères dures tend vers 0. En substituant l'expression (2.69) dans la relation (2.68) et en exprimant f en fonction de y à partir de (2.78), il vient :

$$f = \Delta(T, \rho, m, g(0))y^3 \quad (2.79)$$

où Δ représente la constante de diffusion normalisée :

$$\Delta(T, \rho, m, G(0)) = \frac{2g(0)}{9N} \left(\frac{\pi k_B T}{m} \right)^{1/2} \rho^{1/3} \left(\frac{6}{\pi} \right)^{2/3} \quad (2.80)$$

Ainsi Δ ne dépend que des conditions de simulation incluant le nombre de particules N , le volume V et la température T et de la densité d'état à fréquence nulle $g(0)$. En incluant la relation (2.79) dans (2.78), on peut déterminer le facteur de fluidité f de manière unique sans autres données que celles nécessaires pour Δ :

$$2\Delta^{-9/2} f^{15/2} - 6\Delta^{-3} f^5 - \Delta^{-3/2} y^{7/2} + 6\Delta - 3/2 f^{5/2} + 2f - 2 = 0 \quad (2.81)$$

Ainsi la composante gazeuse de la densité d'état est déterminée de manière univoque à partir du résultat de la simulation et, par conséquent, la composante solide également. Pour la détermination d'une grandeur thermodynamique à partir de la relation (2.63), il reste à définir la fonction de pondération W_P^G propre à cette grandeur P pour la partie gazeuse. Dans le cas de la détermination de l'entropie et de l'énergie, Lin et al. ont suggéré d'associer les fonctions de pondération de la partie gazeuse à celles d'un gaz de sphère dure⁷⁶ :

$$W_E^G(v) = 0.5 \quad (2.82)$$

$$W_S^G(v) = \frac{1}{3} \frac{S^{HS}}{k_B} \quad (2.83)$$

où S^{HS} est l'entropie d'un fluide de sphères dures²⁰⁵ :

$$\frac{S^{HS}}{k_B} = \frac{5}{2} + \ln \left[\left(\frac{2\pi m k_B T}{h^2} \right)^{3/2} \frac{V}{fN} z(y) \right] + \frac{y(3y-4)}{(1-y)^2} \quad (2.84)$$

et h est la constante de Planck.

Le calcul d'une grandeur thermodynamique, par exemple l'entropie, se fera par :

$$S = k_B \left[\int_0^\infty g^S(v) \left(\frac{u}{e^u - 1} - \ln(1 - e^{-u}) \right) dv + \frac{1}{3k_B} \int_0^\infty g^G(v) S^{HS} dv \right] \quad (2.85)$$

2.3.3.2 Systèmes polyatomiques : approximation des gaz parfait polyatomiques

L'application de la méthode 2PT à un système polyatomique simple composé de petites molécules organiques telles que l'eau ou le chloroforme ou de systèmes complexes tels ceux formés par différents polymorphes de principes actifs, n'est pas immédiate. Ces systèmes possèdent en plus des modes d'excitation translationnels, des modes d'excitation rotationnels et de vibrations internes, correspondant à leurs différents degrés de liberté, et ils ne peuvent être complètement décrits dans leur phase gazeuse par l'approximation d'un gaz de sphères dures. En supposant tous les degrés de libertés, indépendants les uns des autres, la fonction de partition du système se calcule à partir de celle d'une molécule qui se décompose comme :

$$q = q_{trn} \cdot q_{rot} \cdot q_{vib} \quad (2.86)$$

le premier terme correspondent aux degrés de liberté de translation (mouvements du centre de masse de la molécule), le deuxième aux degrés de liberté de rotation et le troisième aux degrés de liberté de vibrations. Les deux premiers termes peuvent être traités pour toutes les molécules, sauf l'hydrogène et le deutérium, par la mécanique classique tandis que le troisième terme doit être traité de manière quantique²⁰⁴.

En considérant les molécules comme des rotateurs rigides, la fonction de partition rotationnelle d'une molécule polyatomique s'écrit :

$$q_{rot} = \frac{\pi^{1/2}}{\sigma} \left(\frac{T^3}{\Theta_A \Theta_B \Theta_C} \right)^{1/2} \quad (2.87)$$

où σ est le facteur de symétrie rotationnelle de la molécules, et Θ_i avec $i=A,B,C$ sont les températures rotationnelles :

$$\Theta_i = \frac{h^2}{8\pi I_i k_B} \quad (2.88)$$

avec I_i le moment principal d'inertie suivant l'axe i .

La définition du facteur de symétrie rotationnelle repose sur l'hypothèse selon laquelle les noyaux identiques d'une même molécule sont indiscernables. Si la molécule ne possède qu'un axe de symétrie d'ordre n , σ sera égal à n . Si la molécule a plusieurs axes de symétrie, il faut en choisir un sous-ensemble parmi eux permettant de définir toutes les transformations de la molécule en elle-même par rotation, puis calculer le facteur de symétrie pour chaque axe de ce sous-ensemble et multiplier ces résultats entre eux pour obtenir σ .²⁰⁴

De même que pour la décomposition de la densité d'états en composantes gazeuse et solide avec l'approximation d'un gaz de sphères dures dans le cas d'un fluide monoatomique, S. T. Lin & al ont proposé de séparer les composantes rotationnelles et translationnelles de la densité d'état totale en composantes gazeuse et solide⁷⁷. Les composantes solides, comme la partie vibrationnelle, sont traitées dans l'approximation de l'oscillateur harmonique quantique. Les composantes gazeuses doivent être traitées avec les approximations adéquates. Les mouvements de translation des molécules pouvant être assimilés à ceux de leur centre de masse, la détermination de la densité d'état translationnelle $g_{trm}(v)$ se fait à partir de la fonction d'autocorrélation des vitesses des centres de masse de chaque molécule. La description des mouvements de translation (diffusion et librations des molécules) et de vibration a déjà été fournie dans les sections précédentes. La contribution de la partie translationnelle aux grandeurs thermodynamiques se fait donc à partir des équations (2.82) à (2.85) en portant la densité d'états translationnelle à fréquence nulle dans l'expression (2.68) au lieu de la densité d'états totale du système.

Il ne reste plus qu'à déterminer la contribution de la partie rotationnelle de la densité d'état aux grandeurs thermodynamiques. La densité d'état rotationnelle est déterminée à partir de la transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation des vitesses angulaires ω :

$$g_{rot}(v) = \frac{1}{k_B T} \sum_{l=1}^N \sum_{k=1}^3 \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{I_l^k}{\tau} \left| \int_{-\tau}^{\tau} \omega_l^k(t) e^{-i2\pi v t} dt \right|^2 \quad (2.89)$$

où N est le nombre de molécules dans le système, les I_l^k sont les moments principaux d'inertie de la

molécule l et ω_l^k la projection de la vitesse angulaire de la molécule l sur le $k^{\text{ième}}$ axe principal d'inertie.

La vitesse angulaire ω est déterminée à partir du moment angulaire L et de la matrice principale d'inertie I :

$$\vec{L} = \sum_j m_j (r_j \times v_j) = I\vec{\omega} \quad (2.90)$$

où r_j est la distance entre l'atome j d'une molécule et son centre de masse, \vec{v}_j et m_j sont respectivement la vitesse et la masse de l'atome j . La vitesse rotationnelle $\vec{v}_{j,rot}$ est déterminée à partir de la vitesse angulaire :

$$\vec{v}_{j,rot} = \vec{\omega}_j \times \vec{r}_j \quad (2.91)$$

La vitesse translationnelle \vec{v}_{trn} d'une molécule est celle de son centre de masse et la vitesse instantanée d'un atome \vec{v}_j est donnée directement par la simulation de dynamique moléculaire, la détermination de la vitesse vibrationnelle (correspondant aux mouvements de vibration intramoléculaires) d'un atome est directement donnée par l'expression :

$$\vec{v}_{j,vib} = \vec{v}_j - \vec{v}_{j,trn} - \vec{v}_{j,rot} \quad (2.92)$$

La détermination de la composante gazeuse de la partie rotationnelle de la densité d'états se fait de la même manière que pour la partie translationnelle :

$$g_{rot}^G(v) = \frac{g_{rot}(0)}{1 + \left[\frac{\pi g_{rot}(0)v}{6f_{rot}N} \right]^2} \quad (2.93)$$

Le facteur de fluidité de la densité d'états rotationnelle f_{rot} est déterminé à l'aide de la relation (2.81) comme pour le facteur de fluidité de la densité d'états translationnelle f_{trn} .

La fonction de pondération, pour la composante gazeuse de la partie rotationnelle, propre à chaque grandeur thermodynamique que l'on souhaite calculer, est déterminée dans l'approximation des gaz parfaits polyatomiques. Ainsi les fonctions de pondération pour l'énergie et l'entropie sont :

$$W_{rot,E}^G(v) = 0.5 \quad (2.94)$$

$$W_{rot,S}^G(\nu) = \frac{1}{3} \frac{S^R}{k_B} \quad (2.95)$$

avec S^R l'entropie rotationnelle d'un corps rigide, définie par ²⁰⁴ :

$$\frac{S^R}{k_B} = \ln \left[\frac{\pi^{1/2}}{\sigma} \left(\frac{T^3}{\theta_A \theta_B \theta_C} \right)^{1/2} \right] \quad (2.96)$$

La composante gazeuse de la partie translationnelle est intégrée avec les fonctions de poids liées à l'approximation des fluides de sphères dures définies dans la section précédentes (relations (2.82) et (2.83)). La partie vibrationnelle et les composantes solides des parties rotationnelles et translationnelles sont intégrées avec les fonctions de pondérations liées à l'approximation de l'oscillateur harmonique (relations (2.60) et (2.61)). On trouve donc les expressions suivantes pour le calcul de l'énergie et de l'entropie :

$$E = V_0 + k_B T \left(\int_0^\infty \left(g_{vib}(\nu) + g_{trn}^S(\nu) + g_{rot}^S(\nu) \right) W_E^{HO}(\nu) d\nu + \int_0^\infty \left(g_{trn}^G(\nu) W_{trn,E}^G(\nu) + g_{rot}^G(\nu) W_{rot,E}^G(\nu) \right) d\nu \right) \quad (2.97)$$

$$S = k_B \left[\int_0^\infty \left(g_{vib}(\nu) + g_{trn}^S(\nu) + g_{rot}^S(\nu) \right) W_S^{HO}(\nu) d\nu + \int_0^\infty \left(g_{trn}^G(\nu) W_{trn,S}^G(\nu) + g_{rot}^G(\nu) W_{rot,S}^G(\nu) \right) d\nu \right] \quad (2.98)$$

où les fonctions de pondération associées à l'oscillateur harmonique (W^{HO}), au gaz de sphères dures (W_{trn}^G) et au gaz parfait polyatomique (W_{rot}^G) sont respectivement exprimées à partir des relations fournies en conclusion des paragraphes 2.3.2.2, 2.3.3.1 et 2.3.3.2 (relations 2.60, 2.61, 2.82, 2.83, 2.94 et 2.95) et doivent être évaluées à la suite de chaque simulation pour un composé donné.

À l'aide de ces deux équations, il est possible de déterminer l'énergie libre de Gibbs G :

$$G = E - TS + PV \quad (2.99)$$

où P et V sont respectivement la pression et le volume du système et sont déterminés directement par la simulation. En répétant l'opération pour différentes phases d'un système à différentes températures on peut, à l'aide de la méthode 2PT, déterminer le diagramme de phase du système avec des simulations de quelques dizaines de picosecondes pour chaque phase à chaque température.

Nous avons donc maintenant à notre disposition une méthode qui permet de déterminer la stabilité relative entre différentes formes polymorphiques et les différents états de la matière d'un composé ainsi que les propriétés thermodynamiques associées à chaque état de la matière ou forme polymorphique. Il reste cependant à déterminer dans quelle mesure les approximations de cette méthode limitent les applications que l'on peut en faire pour des systèmes constitués de polymorphes ou de molécules complexes et nous montrons dans le chapitre 3 que cette méthode peut être appliquée sans modification à des systèmes constitués de polymorphes de molécules complexes à intérêt pharmaceutique en fournissant des résultats fidèles aux observations expérimentales.

2.3.4 Exemple d'application de la méthode 2PT : cas de l'eau

Dans cette section, nous présentons brièvement une application de la méthode à deux phases thermodynamiques pour une molécule simple, à savoir l'eau. Pour représenter l'eau, nous avons utilisé le modèle TIP3P afin de présenter un exemple incluant le traitement du terme de vibration intramoléculaire²⁰⁹.

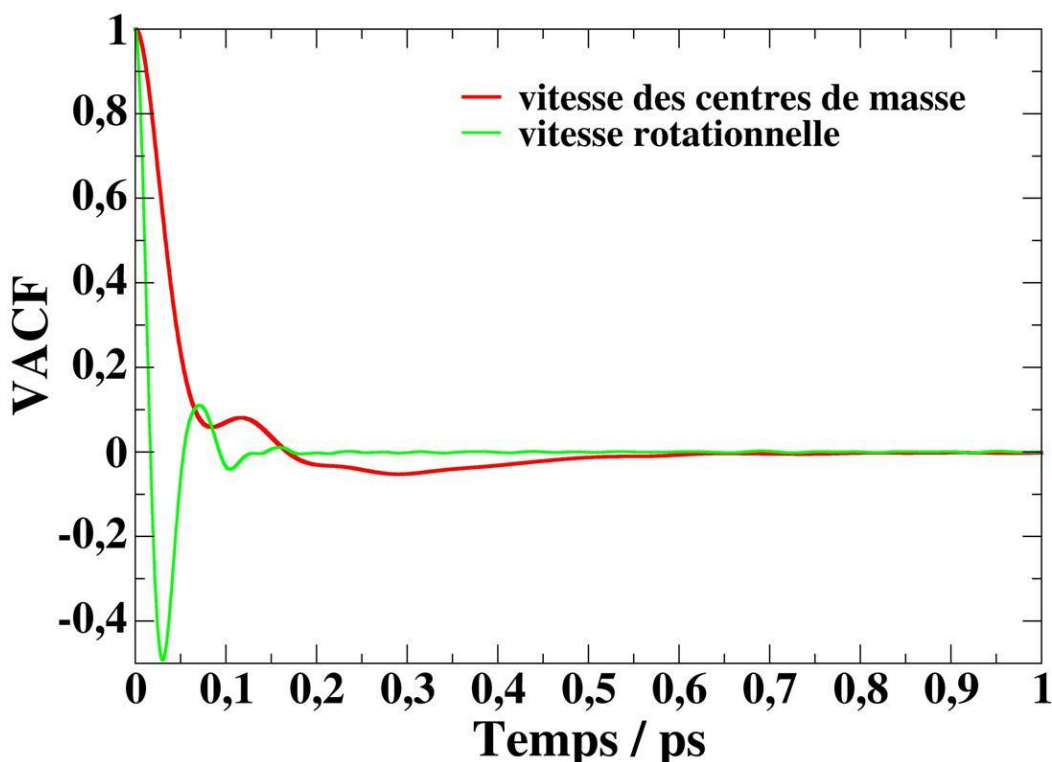


Figure 2.8 Représentation de l'autocorrélation des vitesses translationnelles et rotationnelles. Pour

des raisons de lisibilité, les autocorrélations des vitesses totales et de la partie vibrationnelle des vitesses ne seront pas représentées et un agrandissement est effectué sur la première picoseconde de l'autocorrélation.

Une configuration initiale de 512 molécules d'eau a été équilibrée à 300 K par une simulation de 1 ns avec un pas de temps de 0.5 fs dans l'ensemble *NPT* utilisant un barostat et un thermostat de Hoover avec une constante de couplage de 2.0 et 0.2 ps respectivement. Les interactions électrostatiques ont été calculées à l'aide d'une somme d'Ewald. Les trajectoires des molécules d'eau ont été collectées durant les 30 dernières picosecondes d'une simulation de 1 ns dans l'ensemble *NVT* avec un pas de temps de 0.5 fs. La température a été contrôlée et maintenue à 300 K avec un thermostat de Hoover ayant une constante de couplage de 0.2 ps et le calcul des interactions électrostatiques a été effectué à l'aide d'une somme d'Ewald. Les vitesses instantanées sont fournies directement par la simulation de dynamique moléculaire. La vitesse translationnelle de chaque molécule est définie comme étant la vitesse de son centre de masse.

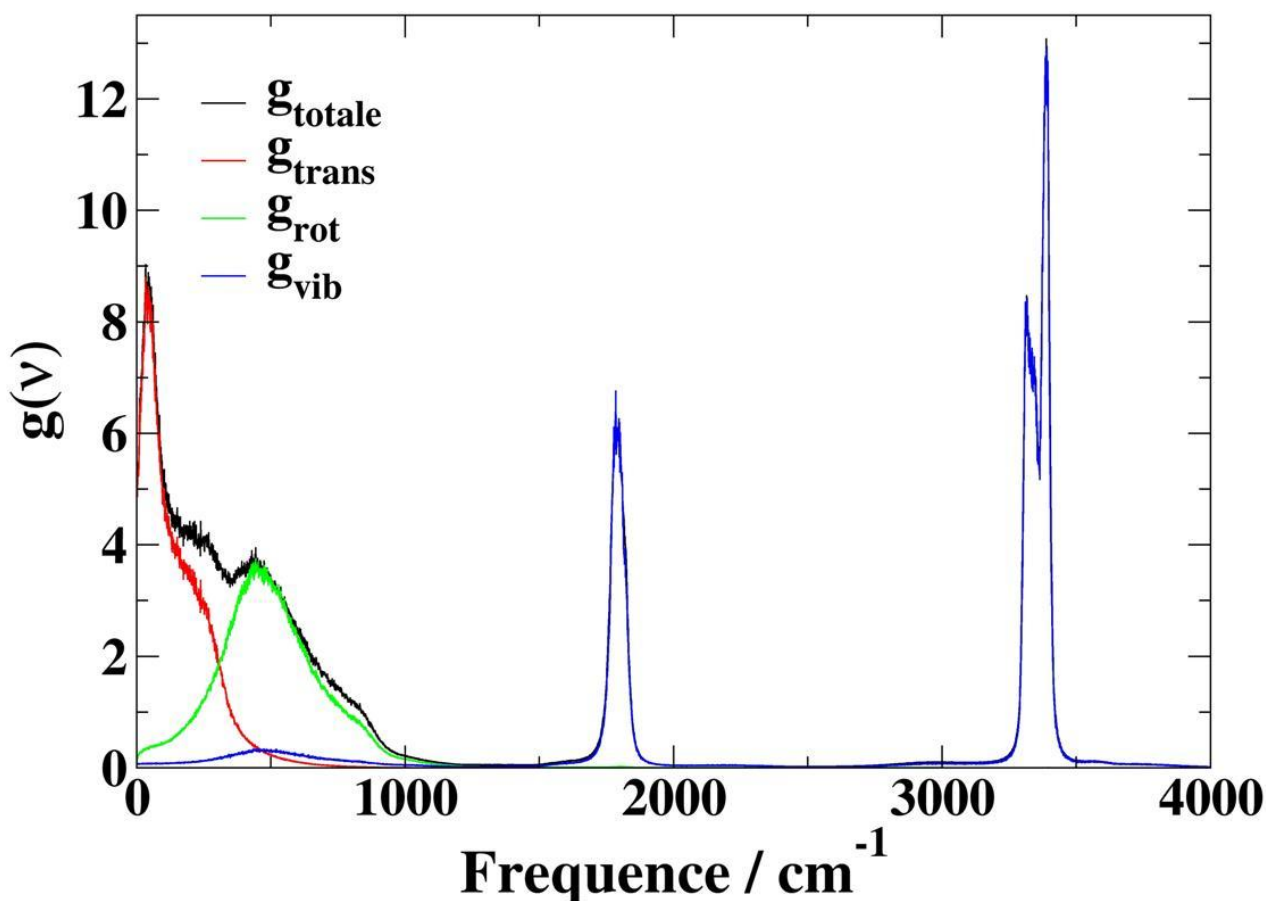


Figure 2.9 Décomposition de la densité d'états totale du système en composantes translationnelle (g_{trans}), rotationnelle (g_{rot}) et vibrationnelle (g_{vib}).

Les vitesses angulaires sont déterminées à partir de l'équation (2.91). Une fois les composantes translationnelles et rotationnelles calculées, la composante de vitesse relative à la vibrations intramoléculaires peut être calculée en soustrayant les composantes translationnelles et rotationnelles à la vitesse instantanée de chaque atome. A chaque type de vitesse calculée, la densité d'états est obtenue en calculant la transformée de Fourier de sa fonction d'autocorrélation (voir figure 2.8 et 2.9). On obtient ainsi la décomposition de la densité d'état totale en composante translationnelle, rotationnelle et vibrationnelle dans laquelle seules les composantes translationnelle et rotationnelle présentent une densité d'état non nulle à fréquence nulle avec respectivement $g_{tm}(0)=5.17$ et $g_{rot}(0)=0.097$. Ainsi, seules ces deux composantes vont être séparées en partie solide et partie gazeuse.

La séparation des parties solides et gazeuses ne requiert que la connaissance de la valeur de la densité d'états à fréquence nulle et du facteur de fluidité f associé à chacune de ces deux composantes. Pour déterminer le facteur de fluidité, nous avons montré précédemment que l'on doit trouver la racine de l'équation (2.80) dans laquelle le paramètre Δ est connu et vaut $\Delta_{tm}=0.25$ et $\Delta_{rot}=0.0047$ pour les composantes translationnelles et rotationnelles respectivement. La recherche des racines de l'équation (2.80) pour chacune des composantes a été effectuée avec une méthode de Newton-Raphson et fournit les valeurs $f_{tm}=0.29$ et $f_{rot}=0.03$ pour les composantes translationnelles et rotationnelles respectivement. Ces valeurs sont proches de celles déterminées par Lin et al⁷⁷ pour le modèle TIP3P original avec $f_{tm}=0.34$ et $f_{rot}=0.08$. Nous pouvons ainsi définir la dépendance des parties solides et gazeuses des composantes translationnelles et rotationnelles de la densité d'état en fonction de la fréquence d'après l'équation (2.66) (voir figure 2.10).

Les températures rotationnelles sont déterminées par l'équation (2.87) et valent $\theta_1=13.4$ K, $\theta_2=21.1$ K et $\theta_3=37.1$ K, ce qui est en bon accord avec les valeurs de $\theta_1=13.4$ K, $\theta_2=20.9$ K et

$\theta_3=40.1$ K trouvées dans la littérature²⁰⁴. Le facteur de symétrie est imposé au système avec une valeur de 2²⁰⁴. La partie gazeuse de la densité d'état translationnelle est ensuite intégrée selon l'équation (2.84) pour obtenir une entropie de $S_{tr}^G=25.40$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹. De la même manière, l'intégration de la partie gazeuse de la densité d'état rotationnelle nous permet de définir une entropie $S_{rot}^G=1.52$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹.

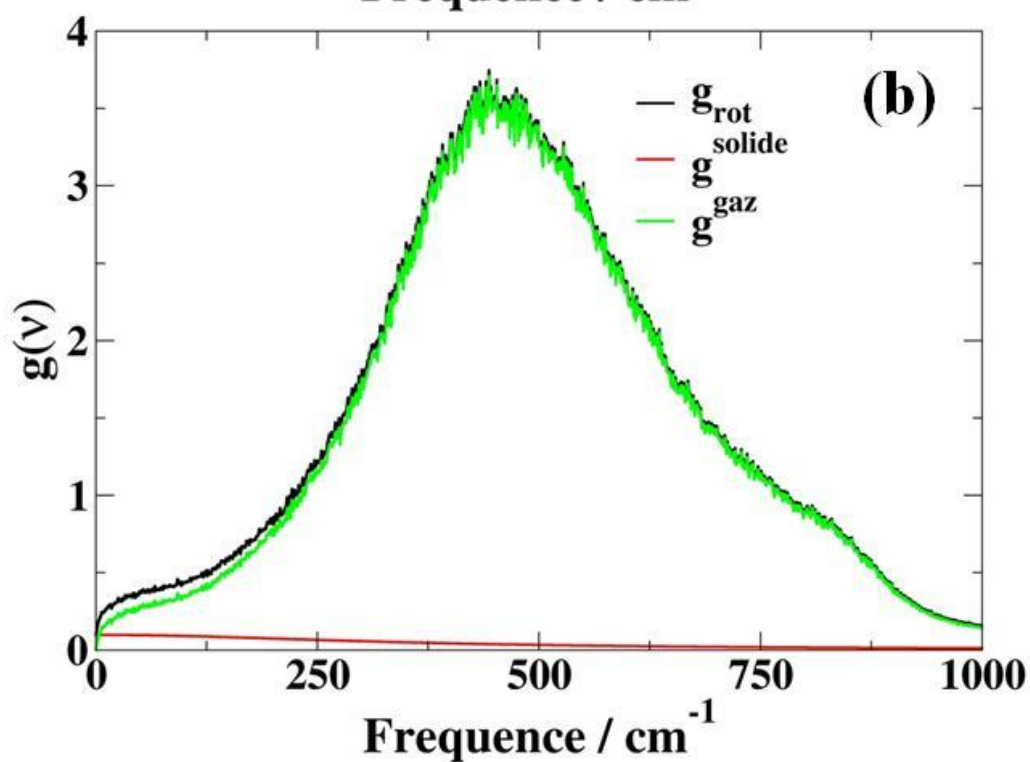
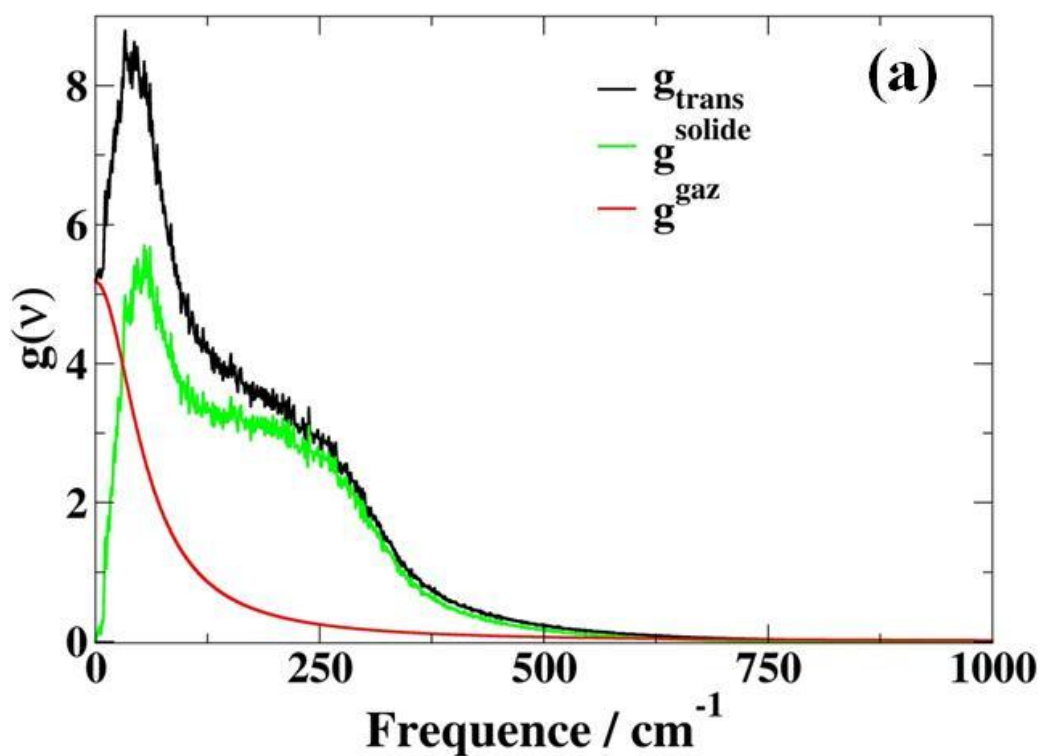


Figure 2.10 Représentation des décompositions en partie solide (en vert) et gazeuse (en rouge) des densités d'états (a) translationnelle et (b) rotationnelle. Les densités d'état déterminées par transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation des vitesses sont représentées en noir.

Entropie	Valeur /kcal.mol⁻¹.K⁻¹	Valeur Lin et al. /kcal.mol⁻¹.K⁻¹
S_{totale}	65,75	68,49
S_{trn}	52,24	55,59
S_{rot}	12,15	12,90
S_{trn}^s	26,84	-
S_{trn}^g	25,40	-
S_{rot}^s	10,62	-
S_{rot}^g	1,52	-
S_{vib}	1,35	N. A.

Tableau 2.1 Résumé de la contribution de chacune des composantes de la densité d'états à l'entropie de la boîte d'eau. Lorsque cela a été possible, une comparaison a été donnée avec les valeurs de Lin et al pour un modèle TIP3P rigide d'après la référence⁷⁷.

Les intégrations des parties solides des composantes translationnelle et rotationnelle de la densité d'états ainsi que de la partie vibrationnelle suivant les équations 2.59 et 2.61, avec la fonction de poids correspondant au traitement de l'entropie dans le cadre de l'approximation de l'oscillateur harmonique (voir figure 2.6) nous permettent d'obtenir respectivement $S_{\text{trn}}^s=26.84$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹, $S_{\text{rot}}^s=10.62$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹ et $S_{\text{vib}}=1.35$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹. Les valeurs sont résumées dans le tableau 2.1. L'entropie totale de la boîte d'eau est finalement de $S=65.75$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹. Cette valeur est inférieure d'environ 3 kcal.mol⁻¹.K⁻¹ à celle trouvée par Lin et al⁷⁷ et vient principalement d'un écart observé sur l'entropie translationnelle avec $S_{\text{trns}}=52.24$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹ dans notre cas par rapport à la valeur de $S_{\text{trns}}=55.59$ kcal.mol⁻¹.K⁻¹ de la référence⁷⁷.

2.4 Limites de la dynamique moléculaire

La simulation de dynamique moléculaire est devenue un outil d'étude particulièrement important de l'état physique des matériaux moléculaires composés de petites molécules et/ou de molécules biologiques soumis à des perturbations de natures diverses : variations de température ou de pression, déshydratation,... Elle a montré sa capacité à permettre l'analyse des situations de métastabilités, de l'état vitreux et des transformations de phases et évolutions hors équilibre induites par ces perturbations sur des matériaux variés dont ceux appartenant au domaine pharmaceutique et agro-alimentaire.^{210, 211}

Les simulations de dynamique moléculaire présentent deux avantages appréciables par rapport aux outils expérimentaux classiques de laboratoire : le premier avantage est une très bonne résolution à la fois spatiale et temporelle; la résolution spatiale est généralement à l'échelle atomique alors que la résolution temporelle est souvent de l'ordre de la femtoseconde (10^{-15} s), une échelle de temps qui n'est pas facilement accessible par les techniques classiques de laboratoire. Le second avantage est qu'une même simulation donne plusieurs types d'informations en même temps, à la fois sur la structure, la dynamique et la thermodynamique. Les techniques expérimentales ont souvent accès à ces données séparément.

Plusieurs limites intrinsèques à cette technique méritent cependant d'être rappelées et font l'objet de cette section.

Une limite importante de la dynamique moléculaire se situe dans ses fondements : l'intégration des équations du mouvement nécessite des pas de temps infinitésimaux, généralement de quelques femtosecondes, voire moins. Cette valeur doit être suffisamment faible pour échantillonner correctement chaque mouvement dans le système sans erreur de discrétisation. La limite haute de cette valeur est donc donnée par les mouvements les plus rapides du système, les vibrations intermoléculaires. Dans de telles conditions, les temps de calculs empêchent l'obtention de simulations de plus d'une centaine de nanosecondes pour des systèmes de taille modeste

composés de quelques milliers d'atomes. Il s'agit d'une limitation importante pour l'étude des liquides profondément sous refroidis. Cette limitation sera décrite avec détails dans la section suivante.

L'étude de la cristallisation par simulation présente aussi des difficultés fondamentales dues à la petite taille du système simulé. Certaines études ont montré l'importance d'utiliser un nombre d'atomes ($N \sim 10^5 - 10^6$) largement supérieur à ceux couramment utilisés ($N \sim 10^3$) pour limiter les effets de taille²¹⁰. Les conditions aux limites utilisées engendrent aussi un certain nombre d'artefacts souvent négligés. Par exemple, on peut se poser la question de l'influence de la forme de la boîte de simulation (cubique, orthorhombique,...) sur la symétrie de la phase cristalline formée. De même, une amplification du nombre de noyaux cristallins formés en raison de la présence des répliques périodiques de la boîte de simulation doit certainement aussi jouer un rôle dans les mécanismes de nucléation. Ceux-ci ne sont peut-être donc pas décrits correctement par les théories classiques de nucléation^{210, 212}.

Une autre limitation intrinsèque à la dynamique moléculaire réside dans les paramètres du champ de forces. Ces derniers ne prennent généralement pas en compte la polarisabilité atomique mais n'en considère généralement que les effets moyens. De même, la détermination de certains paramètres d'un champ de forces tels que les barrières de potentiels des angles dièdres reste délicat¹⁸². Une dernière limitation se situe dans le traitement classique des interactions car un traitement quantique du système, ou au moins d'une partie du système par des méthodes ab-initio s'avère nécessaire pour étudier les réactions chimiques.

2.5 Détermination de la température de transition vitreuse par dynamique moléculaire

Comme nous l'avons indiqué dans le paragraphe 1.2, un liquide refroidi suffisamment rapidement peut empêcher la cristallisation et former un verre à savoir un solide amorphe (désordonné) où la mobilité moléculaire est si lente que les molécules semblent figées sur l'échelle de temps de l'observation. La température, notée T_g , à laquelle ce phénomène apparaît est appelée

température de transition vitreuse.

La température de transition vitreuse peut être déterminée expérimentalement de plusieurs manières différentes :

- à partir de données calorimétriques; dans ce cas, la température de transition vitreuse correspond à la température à laquelle un saut de chaleur spécifique est observé.
- à partir de données de relaxation diélectrique; dans ce cas, la température de transition vitreuse correspond à la température à laquelle le temps caractéristique de la mobilité moléculaire atteint la valeur conventionnelle de 100 s.
- à partir de données de dilatation thermique; la dilatation va diminuer lorsque le système passe de l'état liquide (état d'équilibre) à l'état vitreux (état hors équilibre), ainsi un changement de pente du volume tracé en fonction de la température est attendu au passage de la transition vitreuse; il existe des preuves expérimentales confirmant que le volume spécifique montre en effet un changement de pente à l'approche de la transition vitreuse (voir Figure 2.11)²¹³, la température de transition vitreuse peut donc être exprimée simplement comme le point d'intersection entre les branches haute (liquide) et basse (verre) dans le diagramme représentant le volume en fonction de la température.

Cette dernière méthode, par la représentation de l'évolution du volume en fonction de la température (voir Figure 2.5), est celle utilisée en dynamique moléculaire pour déterminer la température de transition vitreuse des polymères^{214, 215, 216, 217, 218} et de certains carbohydrates²¹⁹. Le problème d'une détermination fiable et rapide de la température de transition vitreuse reste cependant un défi courant des méthodes numériques. A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus dans la littérature concernant les valeurs de la température de transition vitreuse obtenue à la suite de simulations de dynamique moléculaire. Certains travaux ont montré un accord parfait avec les données expérimentales^{214, 219} tandis que d'autres ont présenté des valeurs de la température de transition vitreuse simulées nettement plus élevées que les valeurs réelles²¹⁵.

Il faut souligner que ce problème provient des échelles de temps accessibles à la dynamique moléculaire qui sont de l'ordre de la pico- ou de la nanoseconde. Celles ci doivent être comparées

aux échelles de temps expérimentales qui sont de l'ordre de la seconde, la minute ou l'heure. Ainsi, les résultats numériques sur la température de transition vitreuse ne peuvent pas être directement comparés aux valeurs expérimentales sans ignorer cette différence intrinsèque entre les simulations de dynamique moléculaire et les expériences. Par exemple, les vitesses de refroidissement (trempe) obtenues numériquement sont de plusieurs ordres de grandeur plus élevées que celles pratiquées dans les expériences. Le refroidissement d'un système en simulation de dynamique moléculaire correspond donc intrinsèquement à une hyper-trempe très marquée. Celle-ci est de nature à engendrer une surestimation nette des valeurs de la température de transition vitreuse par rapport à celles observées expérimentalement. De plus, les verres formés par la simulation seront moins denses que ceux formés expérimentalement et posséderont une énergie plus élevée²¹⁰.

Pour les formateurs de verre dits forts (dépendance de type arrhénius de la mobilité par rapport à la température) tels que la silice SiO_2 fondue, ce problème a été étudié avec soin²²⁰, et des écarts d'environ 1000°C entre la température de transition vitreuse déterminée à partir de simulation de dynamique moléculaire et les expériences ont été obtenus²¹⁵. Pour les formateurs de verre dits fragiles (comportement fortement non-arrhénien de la mobilité par rapport à la température) comme les composés pharmaceutiques, en raison de la variation beaucoup plus marquée du temps de la relaxation structurale près de la température de transition vitreuse on n'observe pas, bien sûr, de tels effets dramatiques, bien que des effets des vitesses de trempe soient aussi clairement visibles^{210, 215},

²²¹ .

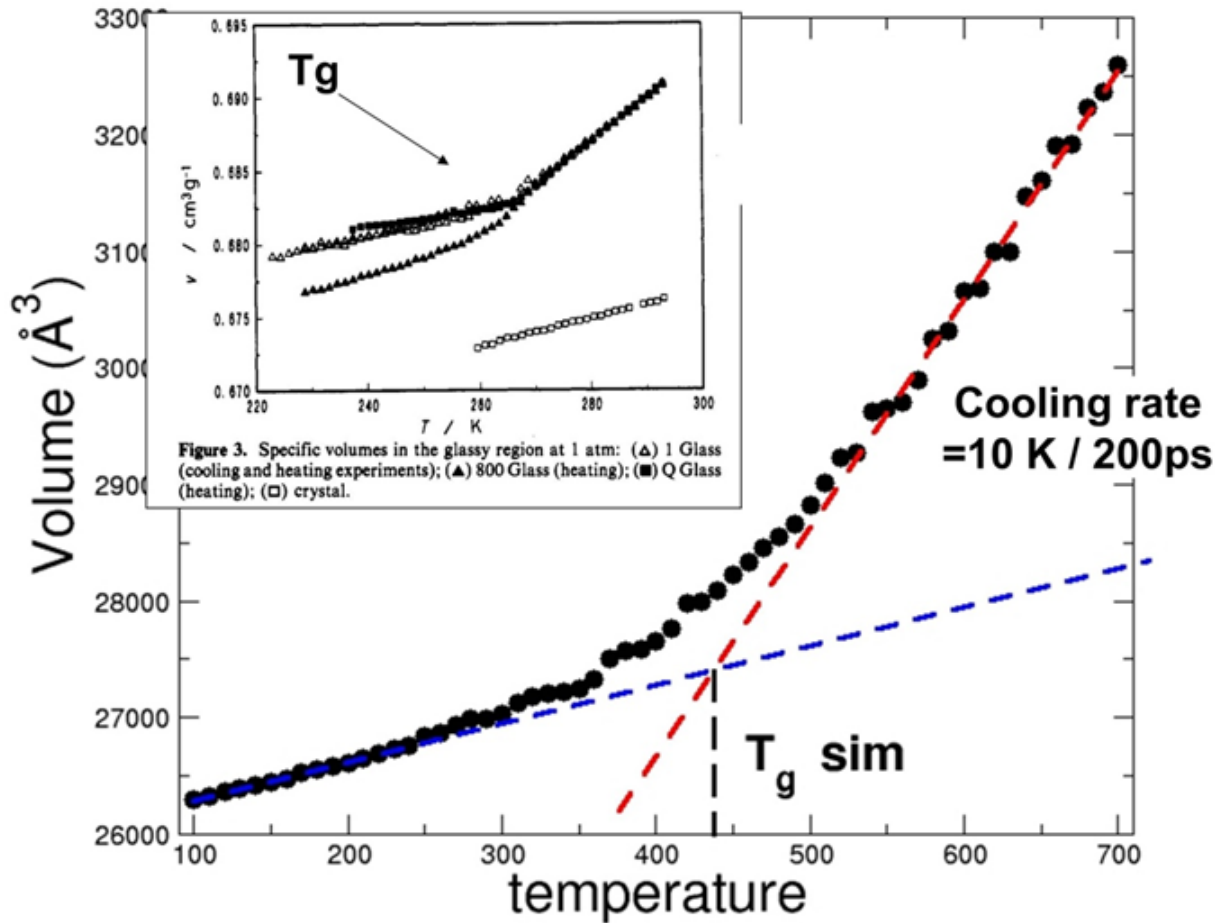


Figure 2.11. Détermination de la température de transition vitreuse. Représentation du volume en fonction de la température pour un système simulé par dynamique moléculaire. Chaque point correspond à une simulation effectuée à une température T qui a permis de déterminer le volume V . Les domaines à hautes et basses températures peuvent être ajustés par des droites. L'intersection entre deux droites permet de déterminer la température de transition vitreuse T_g . En inset, données expérimentales de l'évolution du volume en fonction de la température dans le cas du sorbitol montrant le même comportement selon la référence²¹³.

Chapitre 3 Prédiction de la stabilité de polymorphes cristallins de composés pharmaceutiques

3.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous abordons la prédiction numérique du diagramme de phases de matériaux moléculaires constitués de molécules complexes d'intérêt pharmaceutique ainsi que certaines propriétés thermodynamiques de chacune des phases simulées. Peu de travaux numériques ont été réalisés jusqu'à maintenant dans ce domaine. La connaissance de la stabilité des polymorphes ainsi que de leurs propriétés thermodynamiques, notamment de fusion, reste une étape primordiale dans l'obtention d'une description complète de la physique des transitions de phases d'un système donné.

Notre objectif est ici de valider l'utilisation et d'évaluer les capacités de la méthode à deux phases thermodynamiques lors de telles prédictions, spécialement dans le cas de molécules présentant un intérêt pharmaceutique. Afin de satisfaire cet objectif, notre étude doit non seulement être capable de mettre en évidence l'ordre relatif de formes polymorphiques de différentes molécules complexes observées expérimentalement sur une large gamme de températures. Il s'agit également de reproduire fidèlement les propriétés thermodynamiques, en comparant par exemple les propriétés de fusion de chacune des formes (température, enthalpie) lorsque leurs données expérimentales sont disponibles.

Pour ce faire, nous appliquons directement la méthode à deux phases thermodynamiques à différents composés d'intérêt pharmaceutique en commençant par les deux polymorphes de l'Indométacine et les trois formes polymorphiques du Paracétamol qui constituent des molécules de référence largement documentés dans la recherche sur le polymorphisme cristallin des principes

actifs. Les différences d'énergie rencontrées entre différentes formes cristallines au cours de prédiction de structures cristallines ayant été extrêmement faibles, nous étudions ensuite des systèmes présentant un très riche polymorphisme avec les quatre polymorphes du Carbamazépine et les cinq polymorphes du Sulfathiazole afin d'explorer les limites de la prédiction et de la résolution de cette méthode. Dans chaque cas, la comparaison avec les observations expérimentales nous permettrons d'évaluer les capacités prédictives de la méthode 2PT.

Le polymorphisme représente la capacité dont dispose un composé solide à s'organiser en plusieurs arrangements cristallins et/ou plusieurs conformations moléculaires. Des formes polymorphiques peuvent également survenir avec l'inclusion de molécules de solvant ou d'hydrates dans leurs structures cristallines et sont généralement désignées comme solvates^{3, 222}.

Du fait des différences dans leurs structures cristallines, les polymorphes d'un même composé présentent des propriétés physiques et chimiques différentes, incluant les propriétés mécaniques, la stabilité physique et chimique, la solubilité, faisant ainsi de l'étude des polymorphes un sujet d'importance majeure en science des matériaux, chimie et recherche pharmaceutique^{144, 223, 224, 225, 226, 227}. Dans le cas de produits pharmaceutiques, les propriétés critiques d'un principe actif telles que la solubilité, la vitesse de dissolution, la morphologie des agrégats et la tolérance à la compression influent directement sur la biodisponibilité, quel que soit la voie d'administration, ainsi que sur les capacités de production⁴⁴.

Les polymorphes sont généralement obtenus expérimentalement par cristallisation; certaines formes sont cependant accessibles seulement dans des conditions particulières (de température, de pression ou d'utilisation de solvants particuliers) au sein du processus de cristallisation.⁴⁴ Si un composé possède un polymorphe stable, c'est-à-dire disposant parmi tous les autres polymorphes de l'énergie libre de Gibbs la plus faible, des conditions de température et de pression données alors que dans d'autres conditions de température et de pression un polymorphe différent du premier représente l'état stable de ce composé, alors ces deux polymorphes sont dits énantiotropes. Dans ce cas, il existe des transitions réversibles entre ces deux formes polymorphiques. Certains systèmes

polymorphiques possèdent cependant un seul polymorphe stable quel que soient les conditions de température et de pression en dessous de la température de fusion des différents polymorphes et toute transformation entre une forme métastable et la forme stable sera donc irréversible. Les polymorphes d'un tel système sont dits monotropes (voir Figure 1.1).

Puisque les formes polymorphiques métastables ont tendance à transiter spontanément vers la forme stable, cette dernière est généralement la forme la plus utilisée pour la production ou la formulation. Les formes métastables présentent cependant toujours une plus grande solubilité et seront donc préférées pour leur plus grande biodisponibilité et utilisées dès que la possibilité d'une transformation rapide vers une autre forme sera écartée. Les systèmes de polymorphes ayant de fortes barrières d'activations entre les différentes formes polymorphiques seront préférés et la connaissance des propriétés thermodynamiques de chaque polymorphe est indispensable à cette fin. De plus, pour différentes formes polymorphiques, le gain de solubilité (c'est-à-dire le ratio de solubilité entre deux formes) peut être estimé à partir des propriétés thermodynamiques de chaque forme^{228, 229}. Il peut être estimé à partir de la seule connaissance des températures, enthalpies de fusion et chaleurs spécifiques de chaque forme. L'obtention de ces données est souvent difficile expérimentalement du fait de la grande instabilité de certains polymorphes et elle peut devenir laborieuse et coûteuse en fonction des techniques nécessaires à l'obtention de certaines formes polymorphiques ainsi que de la quantité d'expériences nécessaires à l'obtention de résultats reproductibles.

En comparaison, les simulations de dynamique moléculaire appliquées aux produits pharmaceutiques permettent a priori de fournir de manière rapide et économique une prédiction des stabilités relatives de différents polymorphes ainsi que des propriétés thermodynamiques, à condition de pouvoir déterminer précisément l'entropie d'un système. De plus, l'utilisation de méthodes numériques dans l'étude des polymorphes peut être appliquée à des systèmes qui ont été déterminés par prédiction structurale mais dont les conditions de production n'ont pas encore été déterminées et ainsi guider la recherche sur les polymorphes en fonction des propriétés physiques

choisies. Au cours de ce chapitre, nous appliquons la méthode 2PT (voir Chapitre 2) à la détermination de l'énergie libre de Gibbs de différents composés organiques d'intérêt pharmaceutique présentant différentes formes polymorphiques. Ce travail permet de valider l'utilisation des méthodes numériques pour la détermination des diagrammes de phase de tels systèmes ainsi que les propriétés thermodynamiques et les gains de solubilité des différentes phases. Ce chapitre est organisé de la manière suivante après avoir décrit le détail des simulations sur les polymorphes en dynamique moléculaire, nous nous intéressons à ce qui est considéré comme le 'vrai' polymorphisme, ce qui exclu donc les solvates (défini par la présence de solvant ou d'hydrate au sein de la structure cristalline), avec l'étude des systèmes composés des polymorphes de l'Indométacine, du Paracétamol, du Carbamazépine et du Sulfathiazole.

3.2 Principes et détails des simulations

La détermination du diagramme de phase des différents polymorphes en fonction de la température requiert la connaissance de l'entropie et de l'énergie de chaque système à différentes températures. Ces deux grandeurs peuvent être déterminées dans les mêmes approximations à l'aide de la méthode 2PT définie dans le chapitre 2 à la suite de simulations de dynamique moléculaire courtes, de l'ordre de quelques dizaines de picosecondes. L'expression de l'énergie libre de Gibbs G en fonction de la température T est ensuite immédiate en utilisant la relation :

$$G = E - TS + PV \quad (3.1)$$

où E et S sont l'énergie et l'entropie du système telles que calculées à l'aide de la méthode 2PT décrite dans le chapitre 2, P et V sont respectivement la pression et le volume du système et sont donnés directement par la simulation.

Comme cela a été présenté au chapitre 2, la détermination du diagramme de phase des différents polymorphes en fonction de la température peut être fait avec la méthode 2PT en simulant chaque polymorphe aux températures souhaitées avec des simulations très courtes, de l'ordre de la dizaine de picosecondes, dans l'ensemble NVT . Cela suppose cependant que la configuration de départ de la simulation utilisée pour déterminer l'énergie et l'entropie se fasse sur un système dans

un état d'équilibre thermodynamique.

Toutes les simulations de dynamique moléculaire pour les différents systèmes étudiés ont été réalisées en utilisant les conditions décrites ci-dessous.

Les distributions de charges de chaque molécule ont été déterminées avec le logiciel Gaussian²³⁰ à l'aide de la base de fonctionnelle HF/6-31G*. Le calcul des forces électrostatiques au sein des simulations de dynamique moléculaire a été effectué par une somme d'Ewald. Un rayon de coupure de 10 Å a été appliqué au calcul des forces intermoléculaires. Les paramètres d'interaction (incluant les potentiels de liaisons, angles, torsions et interactions non liées de type Lennard-Jones) ont été déterminés à partir du champ de forces General Amber Force Field (GAFF)¹⁷². La longueur de toutes les liaisons covalentes de chaque molécule ont été considérées comme figées en utilisant l'algorithme SHAKE¹⁹⁸. Les barostats et thermostats de Hoover (dans le cas de l'Indométacine) ou Berendsen (dans tous les autres cas) ont été utilisés avec des temps de relaxation respectifs de 2 ps et 0.2 ps.

Les configurations de départ pour les formes cristallines de chaque système sont les structures obtenues auprès du Cambridge Crystallographic Data Centre²³¹. Une minimisation énergétique à 0 K a été réalisée pendant 200 ps puis suivie d'une chauffe jusqu'à 500 K par pas de 50 K dans l'ensemble isobare-isochoire *NPT*. Chaque simulation, d'une durée de 200 ps, a été effectuée avec un pas d'intégration pour les équations du mouvement de 0.5 femto-seconde.

Les configurations de départ de la phase liquide ont été réalisées en plaçant aléatoirement 64 molécules de principe actif dans une boîte cubique. Une trempe a ensuite été réalisée en partant de la configuration de départ stabilisée à 700 K jusque 1 K par pas de 50 K. Chacune de ces simulations a été réalisée dans l'ensemble *NPT* avec une durée de 500 ps avec un pas d'intégration de 0.5 fs.

Les densités et les paramètres de maille moyens des boîtes au cours de chaque simulation dans l'ensemble *NPT* sont déterminés à partir de leurs moyennes respectives sur les 100 dernières picosecondes de la simulation. Les configurations de départ pour les simulations des cristaux dans

l'ensemble *NVT* sont créées à partir de la dernière configuration de l'ensemble *NPT* à laquelle on impose les paramètres de maille moyens. Ces configurations sont ensuite simulées dans l'ensemble *NVT*, avec les mêmes conditions que pour les simulations dans l'ensemble *NPT* hormis pour le barostat. Quatre configurations sont extraites de la simulation dans l'ensemble *NVT* après 5, 50, 200 et 500 ps de relaxation et sont utilisées comme configurations de départ. Ces quatre simulations permettent de fournir une estimation de l'erreur statistique lors de la détermination de l'énergie libre de Gibbs *G*. Dans le cas des liquides, 4 à 6 configurations de départ sont extraites à partir d'une même simulation dans l'ensemble *NPT* d'une durée totale de 500ps. Ces configurations sont extraites après 200, 300, 400 et 500 ps de simulation dans l'ensemble *NPT* dans le cas de l'Indométacine où 4 configurations ont été sélectionnées. Dans le cas du Paracétamol, du Carbamazépine et du Sulfathiazole, pour lesquels 6 configurations ont été sélectionnées, ces configurations sont extraites après 250, 300, 350, 400, 450 et 500 ps de simulation. On impose à chaque configuration le volume moyen de la simulation de 500 ps obtenue dans l'ensemble *NPT* puis une relaxation de chacune des configurations est effectuée dans l'ensemble *NVT* pendant 500 ps. Une courte simulation de 30 ps dans l'ensemble *NVT* avec un intervalle entre deux configurations de 2 fs est ensuite effectuée pour réaliser l'analyse 2PT.

3.3 Stabilité des polymorphes de l'Indométacine

3.3.1 Description du système

L'Indométacine [1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indole-3-acetic acid] est un anti inflammatoire non stéroïdien couramment utilisé dans le traitement de la fièvre, de l'arthrite et des douleurs musculaires sous forme de crème, de gel ou de pansement adhésif. L'Indométacine présente cependant une faible solubilité aqueuse, de l'ordre de 5 µg/ml²³², et a donc fait l'objet de nombreuses recherches via complexation avec des cyclodextrines^{233, 234, 235}, ou par mélange avec des dendrimères poly-amidoamines²³⁶ et différents additifs²³⁷.

forme	α	γ
réseau	monoclinique	triclinique
groupe d'espace	P2₁	PI
Z	6	2
a / Å	5,46	9,23
b / Å	25,31	9,62
c / Å	18,15	10,88
α / °	90	69,9
β / °	102,9	87,33
γ / °	90	69,5
ρ / g.cm⁻³	1,39	1,35

Tableau 3.1 Description de la structure cristalline et des paramètres de maille des formes cristallines α et γ de l'Indométacine. La structure de la forme α est donnée à 200 K d'après la référence²³⁸ et celle de la forme γ est donnée à 200 K d'après la référence²³⁹.

L'Indométacine présente deux formes polymorphiques non-solvatées : les formes α et γ dont les paramètres de mailles sont donnés dans le Tableau 3.1. Celles-ci forment un système monotropique et peuvent être obtenues à partir de différents solvants sous différentes conditions^{240, 241, 242}. La température de fusion de la forme γ a été estimée expérimentalement à 434 K avec une enthalpie de fusion à 9,40 kcal.mol⁻¹, tandis que la forme α , qui a une meilleure solubilité aqueuse que la phase γ mais une plus faible stabilité, a une température de fusion de 428 K et une enthalpie de fusion de 7,78 kcal.mol⁻¹²⁴³. Ce système monotrope présente cependant une inversion entre la stabilité et la densité du système avec une phase α plus dense que la phase γ (voir figure 3.1).

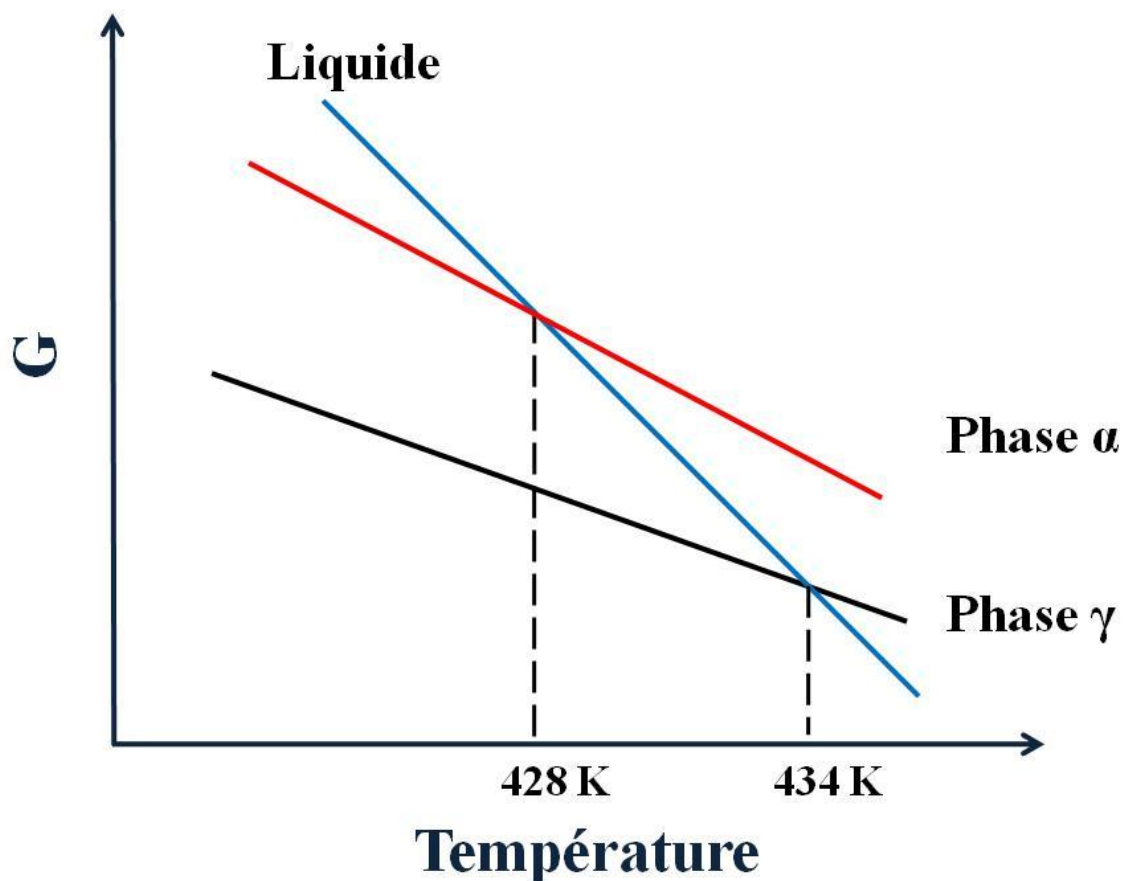


Figure 3.1 Représentation schématique du diagramme de phase attendu dans le cas des formes α et γ de l'Indométacine.

Cette inversion est attribuée à l'organisation locale des molécules de chaque polymorphe. Elle limite ainsi l'activité chimique de la phase la moins dense^{238, 244}. Les molécules de la phase γ forment des dimères en liant leurs groupes carboxyles par liaisons hydrogènes (voir Figure 3.2a) tandis que les molécules de la phase α s'organisent en trimères avec deux molécules liées via leur groupes carboxyles par liaisons hydrogènes et la troisième molécule liée via son groupe carboxyle au groupe cétone de sa plus proche voisine (voir Figure 3.2b). Cette association supplémentaire au sein de la forme α génère un arrangement cristallin plus compact et présente donc une densité plus importante que celle possible avec l'arrangement de la forme γ .

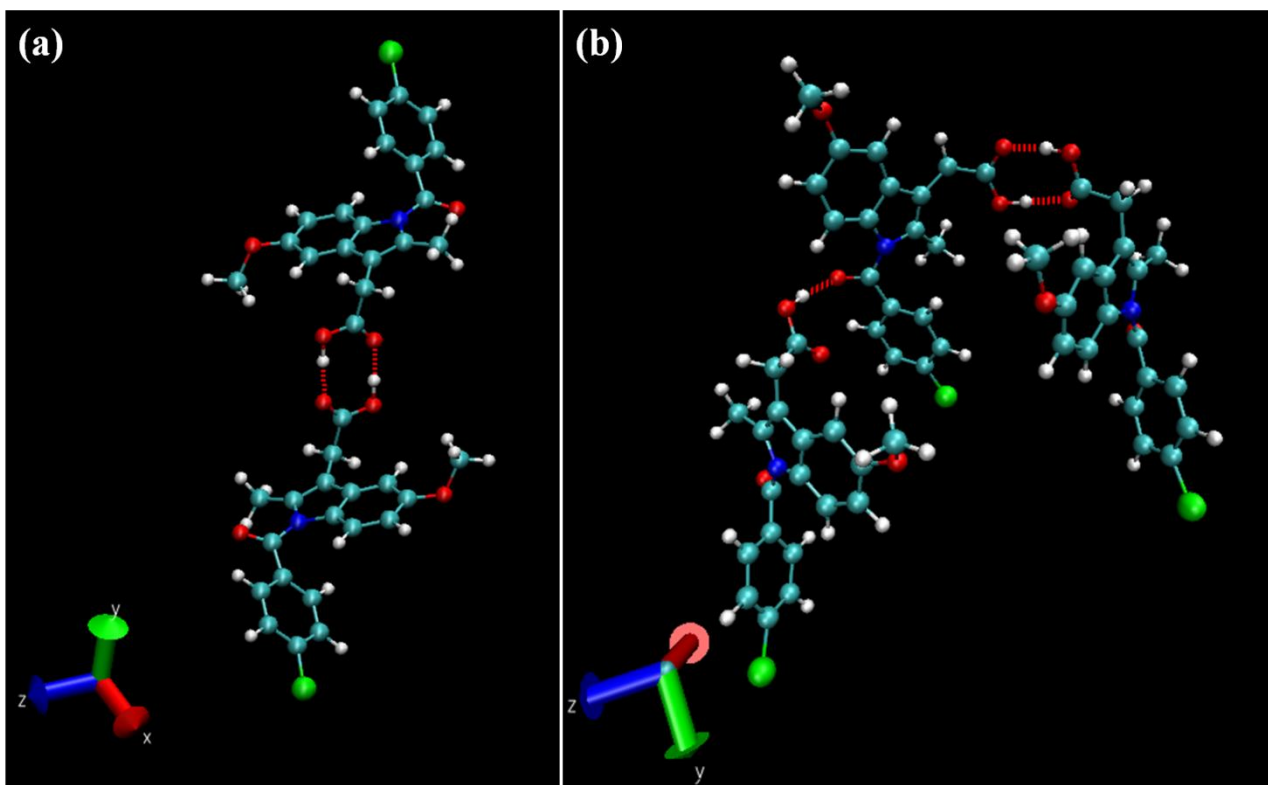


Figure 3.2 Représentation des conformations des deux polymorphes de l'Indométacine avec (a) la conformation en dimères de la phase γ et (b) la conformation en trimères de la phase α . Les liaisons hydrogènes liant deux molécules d'Indométacine sont représentées par des traits pointillés.

3.3.2 Simulations et résultats

Les variations de densité en fonction de la température pour chacune des formes cristallines et liquide sont données dans la Figure 3.3. Cette densité est comparée aux données expérimentales à 200 K. La forme γ de l'Indométacine est reproduite correctement par le champ de force GAFF et ne présente qu'une déviation de $0.02 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ seulement par rapport à la valeur expérimentale à 200 K²³⁹. De plus, cette phase peut être surchauffée jusqu'à 500 K, soit environ 70 K au dessus de sa température de fusion expérimentale. La phase α de l'Indométacine n'a pu être reproduite correctement sur tout l'intervalle de température souhaité. Une légère sous estimation de la densité, d'environ $0.03 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, est obtenue par rapport à l'expérience²³⁸ à 200 K. De plus, on observe la fusion de cette phase bien au dessous du point de fusion expérimental. Cette fusion se caractérise par une baisse brutale de la densité au dessus de 300 K caractéristique de la disparition de la

structure cristalline dans la boîte de simulation. Les comparaisons des paramètres de maille des différentes phases cristallines au cours de la simulation par rapport aux données de résolution structurale sont résumées dans le Tableau 3.2.

forme	a / Å	b / Å	c / Å	α / °	β / °	γ / °	ρ / g.cm⁻³
α simulation	5,36	25,49	18,23	90	102,9	90	1,39
α expérience	5,46	25,31	18,15	90	94,38	90	1,42
γ simulation	9,94	9,88	10,29	69,9	87,33	69,5	1,35
γ expérience	9,23	9,62	10,88	69,89	87,32	69,5	1,37

Tableau 3.2 Comparaison entre les paramètres de mailles et les densités des phases cristallines α et γ obtenues par simulation à 200 K et par résolution structurale à partir d'expériences de diffraction de rayon X à 200 K d'après la référence²³⁸ pour la phase α et d'après la référence²³⁹ pour la phase γ .

Aucune donnée expérimentale ne rapporte, à notre connaissance, la densité de l'Indométacine dans sa phase liquide et nous ne pouvons donc pas comparer directement la densité de la phase liquide avec une valeur expérimentale. La valeur de la densité à basse température du liquide semble cependant raisonnable par rapport à celles des phases cristallines. L'évolution de la densité du liquide nous permet néanmoins de déterminer la température de transition vitreuse simulée de l'Indométacine à 390 K soit une surestimation attendue de 75 K par rapport à la température de transition vitreuse de 315 K déterminée expérimentalement²³⁸. Cette différence provient de la vitesse de trempe très élevée de 0,1 K par picoseconde au sein de nos simulations et est discutée dans le chapitre 2.2.5.

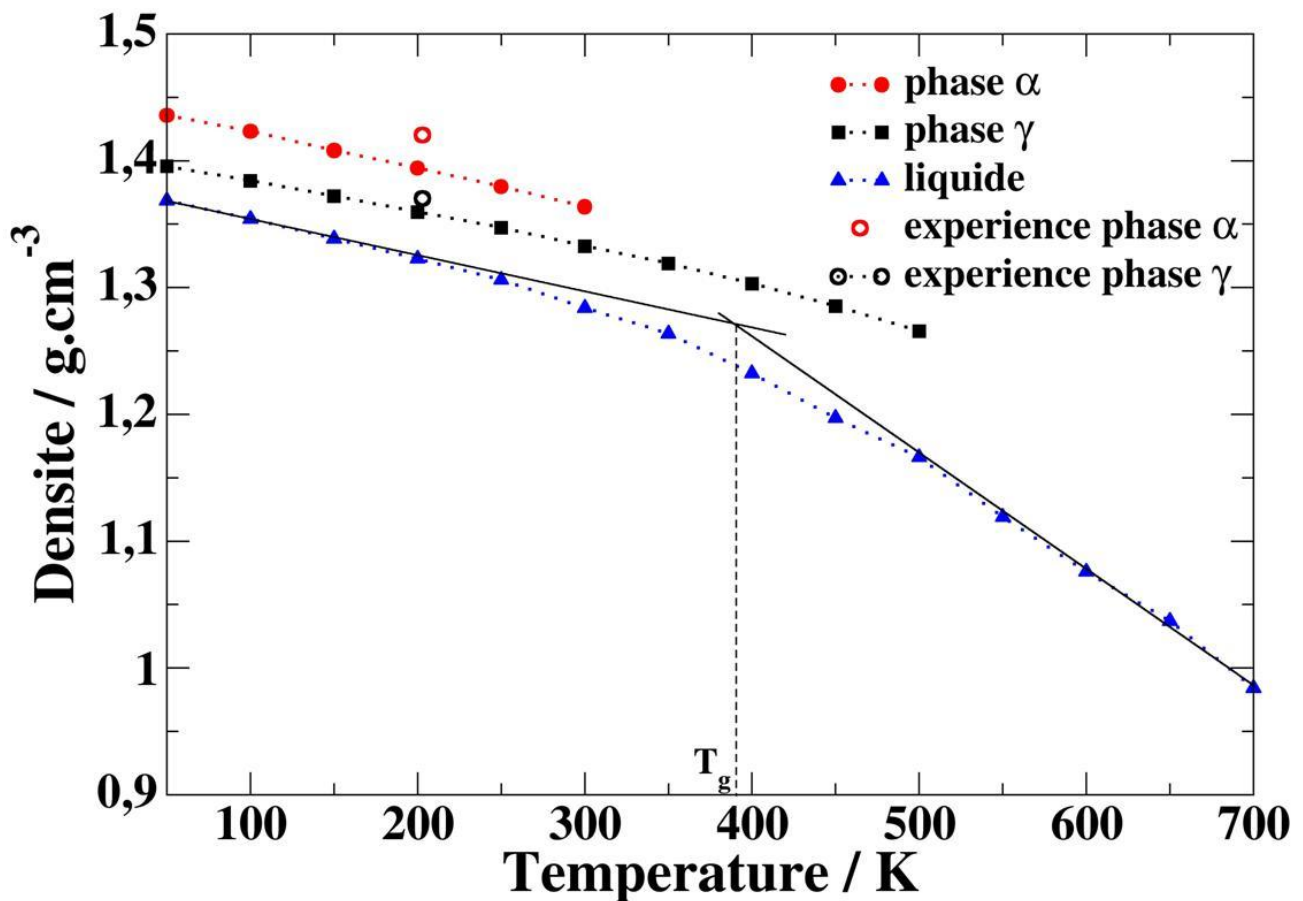


Figure 3.3 Représentation de la densité des phases cristallines α et γ , et de la phase liquide de l'Indométacine en fonction de la température. Les valeurs expérimentales sont données à 200 K par les symboles vides. Un ajustement linéaire de la partie à basse température et à haute température de la densité du liquide (lignes pointillés noirs) permet d'estimer la température de transition vitreuse T_g .

Les densités d'états vibrationnelles calculées $g(\nu)$ des formes cristallines α et γ ainsi que de la phase liquide de l'indométacine sont représentées sur la figure 3.4(a) pour les basses fréquences. La susceptibilité Raman obtenue expérimentalement^{245, 246} est aussi représentée sur la même figure 3.4(b) pour comparaison. La susceptibilité Raman $\chi''(\nu)$ est reliée à la densité d'états vibrationnels $g(\nu)$ selon la relation²⁴⁷ :

$$\chi''(\nu) = C(\nu) \cdot g(\nu) / \nu \quad (3.2)$$

où $C(\nu)$ est le coefficient de couplage lumière-vibration dont la dépendance en fréquence ν n'est pas connue. Il a été suggéré que $C(\nu) \sim \nu$ dans le domaine des très basses fréquences²⁴⁷. En se plaçant dans cette hypothèse, une comparaison approximative entre la susceptibilité Raman $\chi''(\nu)$ et la densité d'états vibrationnels calculée par simulation de dynamique moléculaire est donc possible.

Les figures 3.4a et 3.4b montrent que l'allure générale des densités d'états vibrationnelles calculées à l'aide du champ de force GAFF dans la région 0-250 cm^{-1} est comparable aux spectres expérimentaux. La comparaison est cependant difficile car les intensités des différentes bandes et leurs formes diffèrent significativement. Une comparaison plus poussée avec les résultats expérimentaux de diffusion Raman nécessiterait le calcul de la polarisabilité moléculaire nécessaire pour déterminer les intensités Raman. Ce type de calcul requiert cependant des simulations beaucoup plus lourdes mettant en jeu des méthodes de dynamique moléculaire ab-initio²⁴⁸ et n'a pas été réalisé dans le cadre de cette thèse faute de temps. Nous observons cependant un assez bon accord pour la densité d'états de l'amorphe avec des pics ou des épaulements bien reproduits à environ $\alpha_1 \sim 50$, $\alpha_2 \sim 100$, $\alpha_3 \sim 150$ et $\alpha_4 \sim 200 \text{ cm}^{-1}$ (voir figure 3.4a et 3.4b). Pour la forme cristalline γ , on retrouve par simulation, les modes proches des fréquences $\gamma_1 \sim 30$, $\gamma_2 \sim 50$, $\gamma_3 \sim 75$, $\gamma_4 \sim 100$, $\gamma_5 \sim 150$ et $\gamma_6 \sim 210 \text{ cm}^{-1}$ mais avec des intensités très différentes pour certaines contributions. De même, pour la forme cristalline α , on retrouve les contributions proches des fréquences $\alpha_1 \sim 50$, $\alpha_2 \sim 80$, $\alpha_3 \sim 150 \text{ cm}^{-1}$. L'accord n'est pas parfait car un mode de vibration calculé à la fréquence $\alpha_4 \sim 200 \text{ cm}^{-1}$ ne semble pas être présent expérimentalement.

Dans le domaine des plus hautes fréquences (voir figure 3.5), proche de la fréquence d'oscillation de la liaison C=O vers 1700 cm^{-1} par exemple, un accord seulement très qualitatif est obtenu. Ce résultat démontre une limitation du champ de force GAFF à reproduire fidèlement la totalité de la densité d'états des matériaux moléculaires. Des résultats similaires ont été obtenus par Lin et al.⁷⁸ sur le chloroforme avec des décalages de 50 à 100 cm^{-1} de certains modes de haute fréquence. Ces différences ne semblent cependant pas affecter le calcul des propriétés

thermodynamiques car les modes de haute fréquence contribuent de façon beaucoup moindre à la thermodynamique que les modes de basses fréquences⁷⁸.

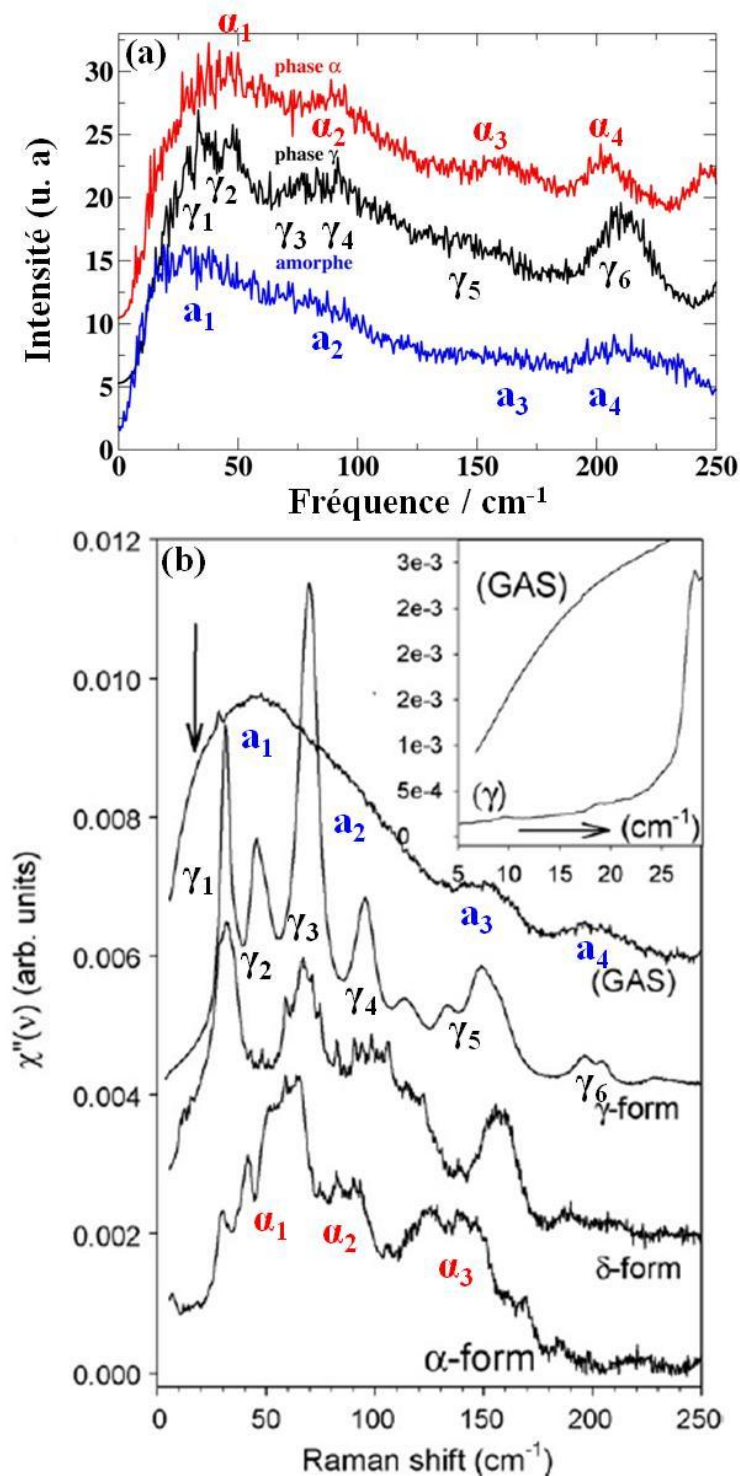


Figure 3.4 Densités d'états dans le domaine à basses fréquences des différentes formes cristallines de l'indométacine et de la phase liquide obtenues (a) à la suite de nos simulations à 300 K et (b) d'après la référence²⁴⁵.

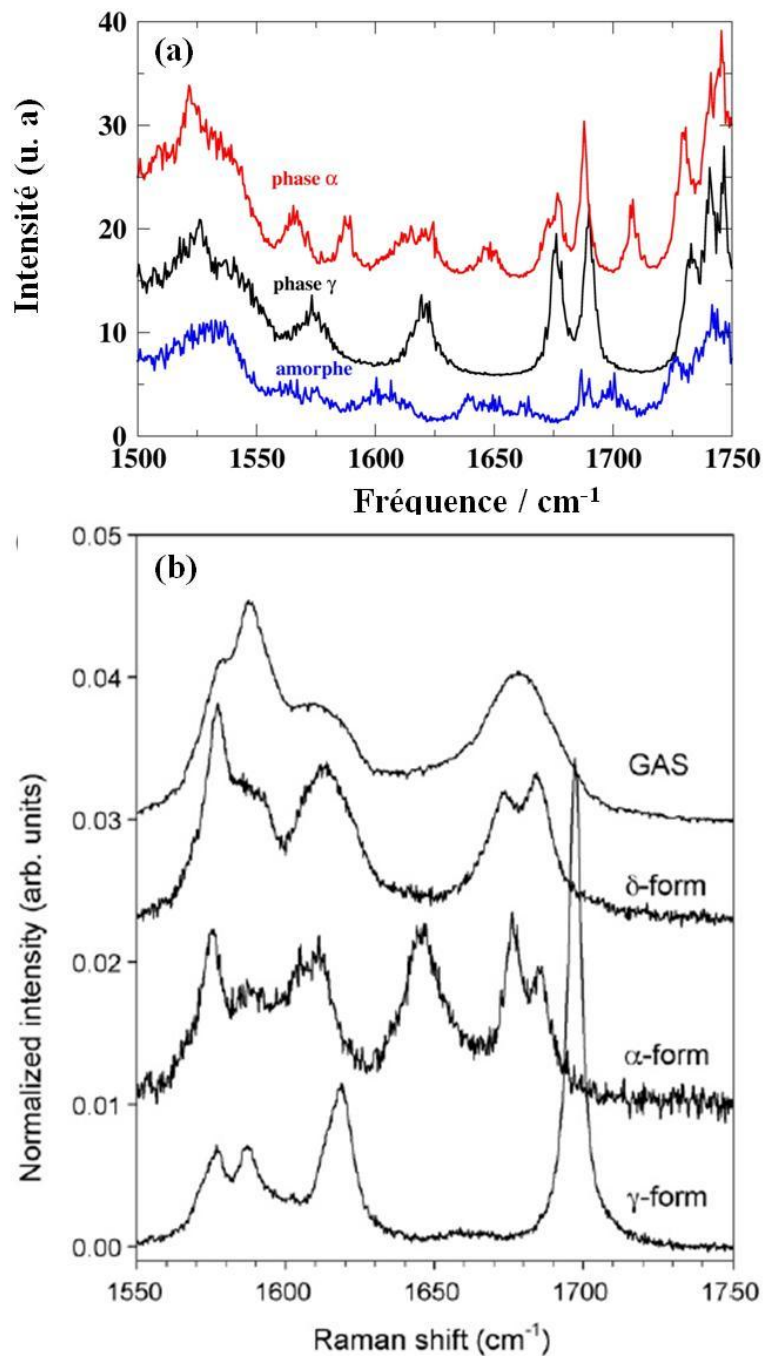


Figure 3.5 Densités d'états du domaine de fréquences de la longueur de liaison C=O des différentes formes cristallines de l'indométacine et de la phase liquide obtenues (a) à la suite de nos simulations à 300 K et (b) d'après la référence²⁴⁵.

L'énergie libre de Gibbs, l'enthalpie et l'entropie de chaque phase cristalline et du liquide sont représentées dans les Figures 3.6 et 3.7. La monotropie et l'inversion entre densité et stabilité du système constitué des deux polymorphes α et γ de l'Indométacine sont reproduites correctement

par le champ de force GAFF et la méthode 2PT. La phase γ , qui est moins dense que la phase α , possède une énergie libre de Gibbs d'environ 2 kcal.mol^{-1} inférieure à celle de la phase α (voir Figure 3.6). La simulation de la phase liquide permet de plus d'estimer la température de fusion T_m de la phase γ à partir de la condition $G_{\text{liquide}}(T_m) - G_{\gamma}(T_m) = 0$. La température de fusion T_m de la phase γ est estimée à 487 K soit une surestimation de 53 K de la température de fusion expérimentale déterminée à 434 K²³⁸ obtenue à partir de calorimétrie différentielle à balayage. Il doit être noté que la différence d'énergie libre de Gibbs entre la phase et le liquide ne peut être connue que pour une seule température au delà de la température de fusion. Il est donc difficile d'estimer précisément l'incertitude sur la détermination de la température de fusion à l'aide d'une régression. En joignant les valeurs extrêmes de l'énergie libre de Gibbs (c'est-à-dire prenant en compte les incertitudes provenant de la simulation) pour les températures qui entourent la température de fusion de la phase γ , il est possible d'estimer l'incertitude associée à la température de fusion de la phase γ à environ $\pm 60 \text{ K}$.

Nous utilisons par la suite cette méthode pour estimer les incertitudes associées aux températures de fusion. La valeur de l'entropie de fusion ΔS_m (et de l'enthalpie de fusion ΔH_m) de la phase γ peut être déterminée directement en soustrayant la valeur des entropies (et des enthalpies) de la phase liquide à celle de la phase γ (voir Figure 3.7 et 3.8) prises à la température de fusion T_m . L'utilisation de la méthode 2PT avec le champ de force GAFF montre une sous estimation de l'enthalpie de fusion de la phase γ d'environ $16,82 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ($4,02 \text{ kcal.mol}^{-1}$) à 487 K, au lieu des $39,33 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ($9,40 \text{ kcal.mol}^{-1}$) à 434 K déterminés expérimentalement²⁴⁹. La méthode 2PT permet également de déterminer l'entropie de fusion de la phase γ avec une valeur de $34 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ à 487 K (voir Figure 3.7). La figure 3.8 présente l'évolution de la différence des enthalpies des différentes phases de l'Indométacine en fonction de la température. Il doit être noté que l'écart observé entre les différentes phases est quasiment constant. L'incertitude sur la détermination de l'enthalpie de fusion de la phase γ peut ainsi être considérée comme indépendante de la valeur de la température de fusion. Cette incertitude sera donc supposée égale à l'incertitude issue de la détermination de

l'enthalpie avec la méthode 2PT soit donc environ $0.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Un résumé comparatif des valeurs prédites et expérimentales des propriétés thermodynamiques de chaque forme est fourni dans le tableau 3.3.

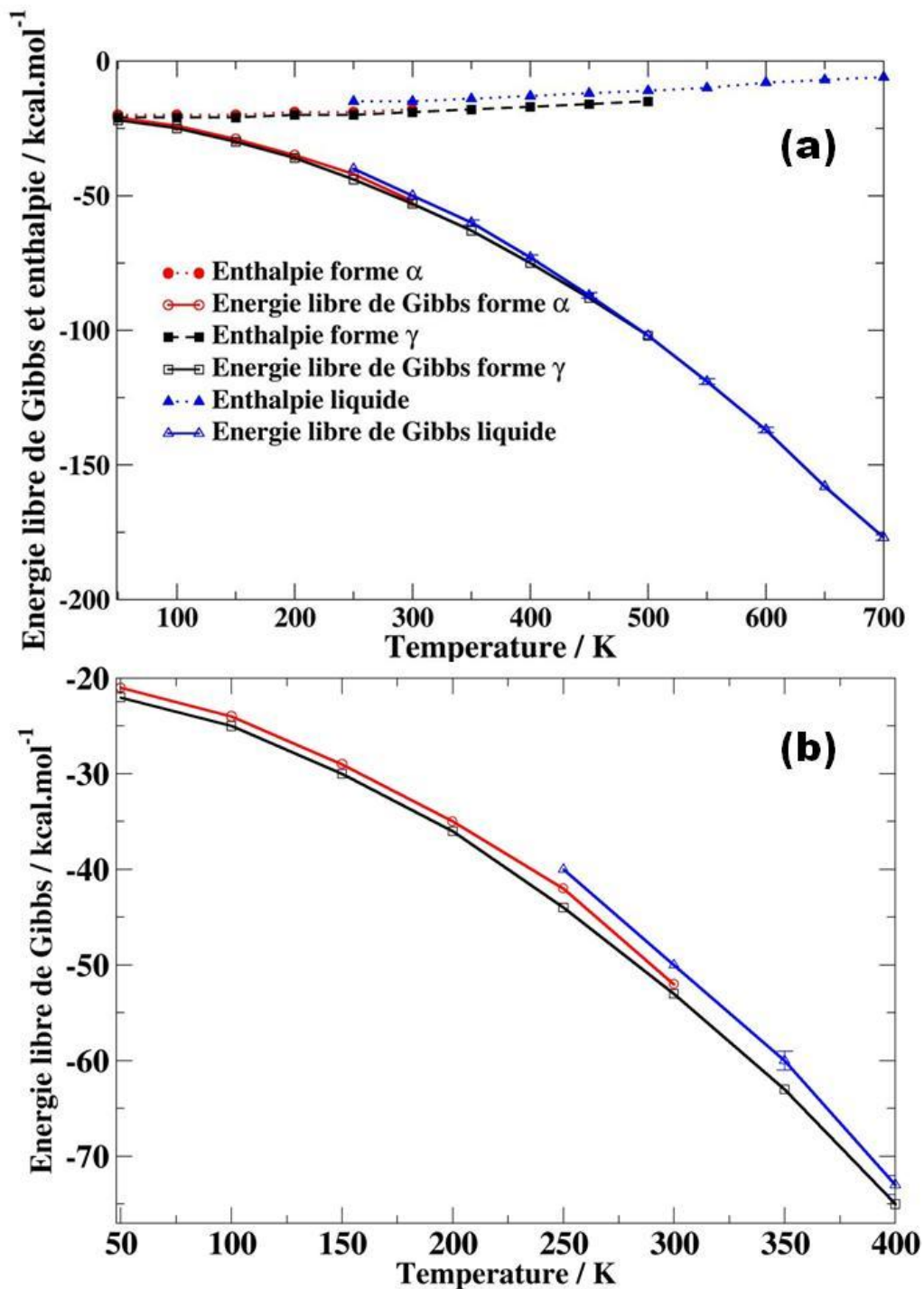


Figure 3.6 Evolution de l'énergie libre de Gibbs et de l'enthalpie calculées à l'aide de la méthode 2PT en fonction de la température pour les différentes formes polymorphiques de l'Indométacine avec la phase γ en noir, la phase α en rouge, et la phase liquide en bleu. L'enthalpie est représentée par les lignes pleines et l'énergie libre de Gibbs en lignes pointillées.

	$T_{m,simulation} / K$	$T_{m,expérience} / K$	$H_{m,simulation} / kcal.mol^{-1}$	$H_{m,expérience} / kcal.mol^{-1}$
Forme α	-	428	-	-
Forme γ	487 ± 60	434	$4,02 \pm 0,5$	9,4

Tableau 3.3 Comparaison entre des valeurs prédites et expérimentales de la température de fusion T_m et de l'enthalpie de fusion ΔH_m des phases α et γ de l'Indométacine.

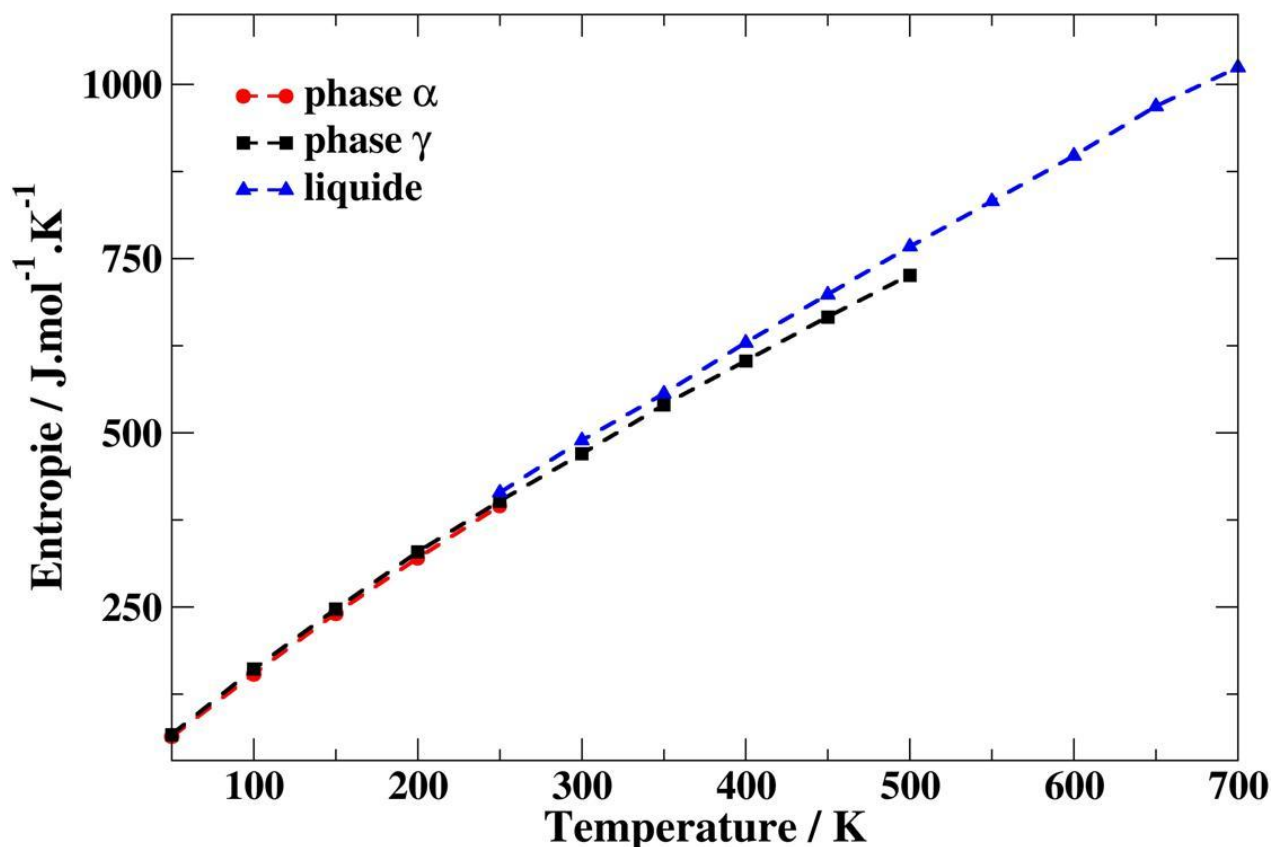


Figure 3.7 Evolution de l'entropie calculée à l'aide de la méthode 2PT en fonction de la température pour les différentes formes polymorphiques de l'Indométacine avec la phase γ en noir, la phase α en rouge, et la phase liquide en bleu.

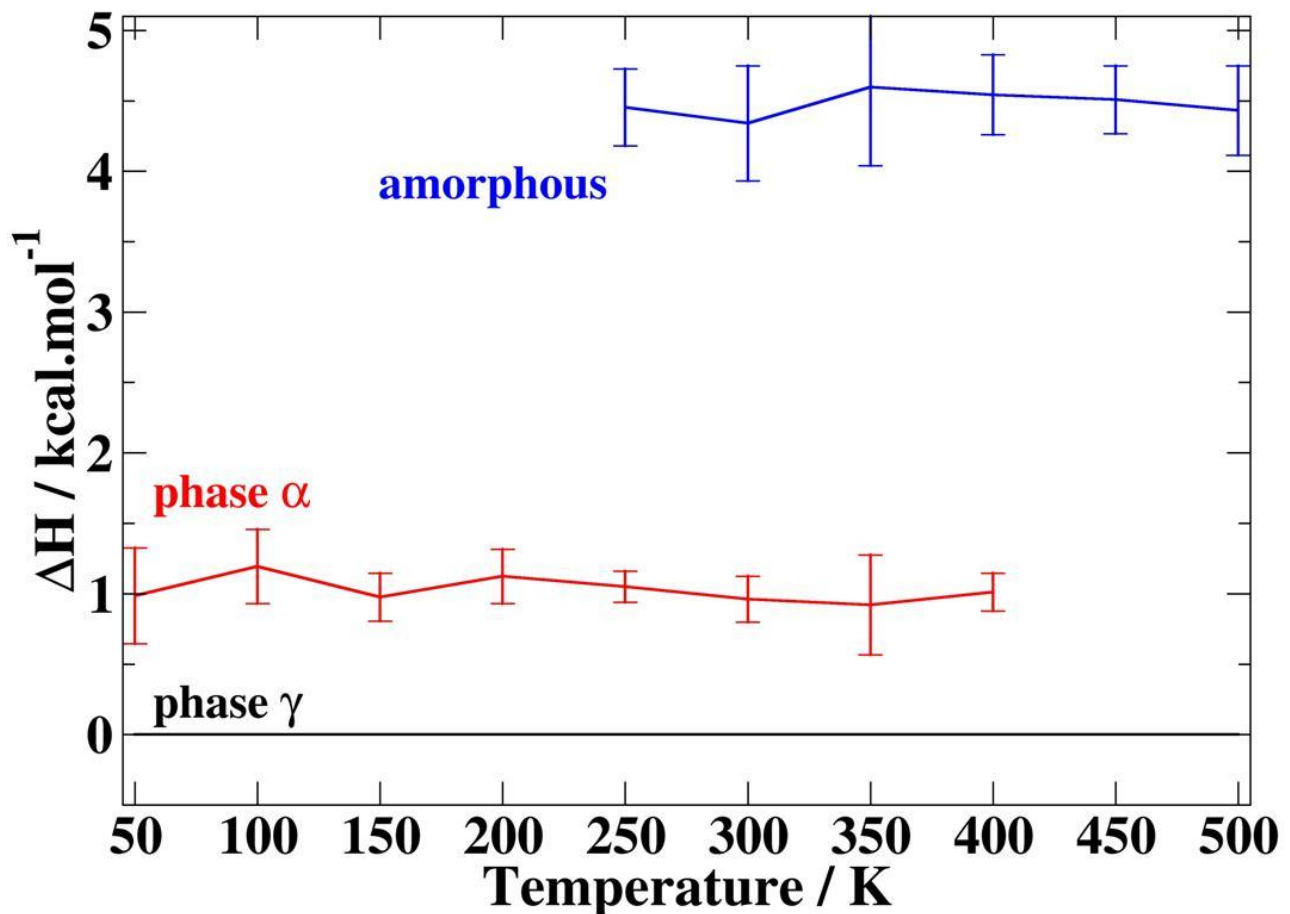


Figure 3.8 Variation de la différence d'enthalpie entre les différentes phases de l'indométacine en fonction de la température. La phase γ est choisie comme référence.

Il n'est possible expérimentalement que de déterminer la différence d'entropie ou d'énergie libre de Gibbs, d'un système à celle d'un état de référence pour une température donnée. Il est cependant possible d'estimer les variations de l'énergie libre de Gibbs et de l'entropie entre une phase cristalline et la phase liquide à partir des seules températures de fusion et enthalpies de fusion, en utilisant la relation de Hoffman qui s'écrit :

$$\Delta G = \frac{\Delta H_m (T_m - T) T}{T_m^2} \quad (3.3)$$

où T_m et ΔH_m sont respectivement la température de fusion et l'enthalpie de fusion de la phase cristalline considérée. Une fois les différences d'énergie libre de Gibbs entre la phase liquide et les deux formes polymorphiques connues, il est possible d'évaluer la différence d'énergie libre de Gibbs entre les deux formes polymorphiques.

En utilisant, dans notre cas, la phase γ comme référence, on peut aussi comparer les prédictions numériques des variations de l'énergie libre de Gibbs avec leurs déterminations expérimentales. Ces différences d'énergie libre de Gibbs sont présentées dans la Figure 3.9. Un aspect général similaire est obtenu entre les données expérimentales et numériques. Un décalage venant de la différence de température de fusion est cependant obtenu. Ce décalage entre la prédiction et l'expérience dans l'aspect général se traduit, dans le cas du liquide et de la phase γ , par une différence d'énergie libre de Gibbs d'environ $1.71 \text{ kcal.mol}^{-1}$, et dans le cas de la phase α et de la phase γ , à une différence de $0.855 \text{ kcal.mol}^{-1}$, ce qui dans chaque cas reste de l'ordre de l'erreur estimée pour ce système.

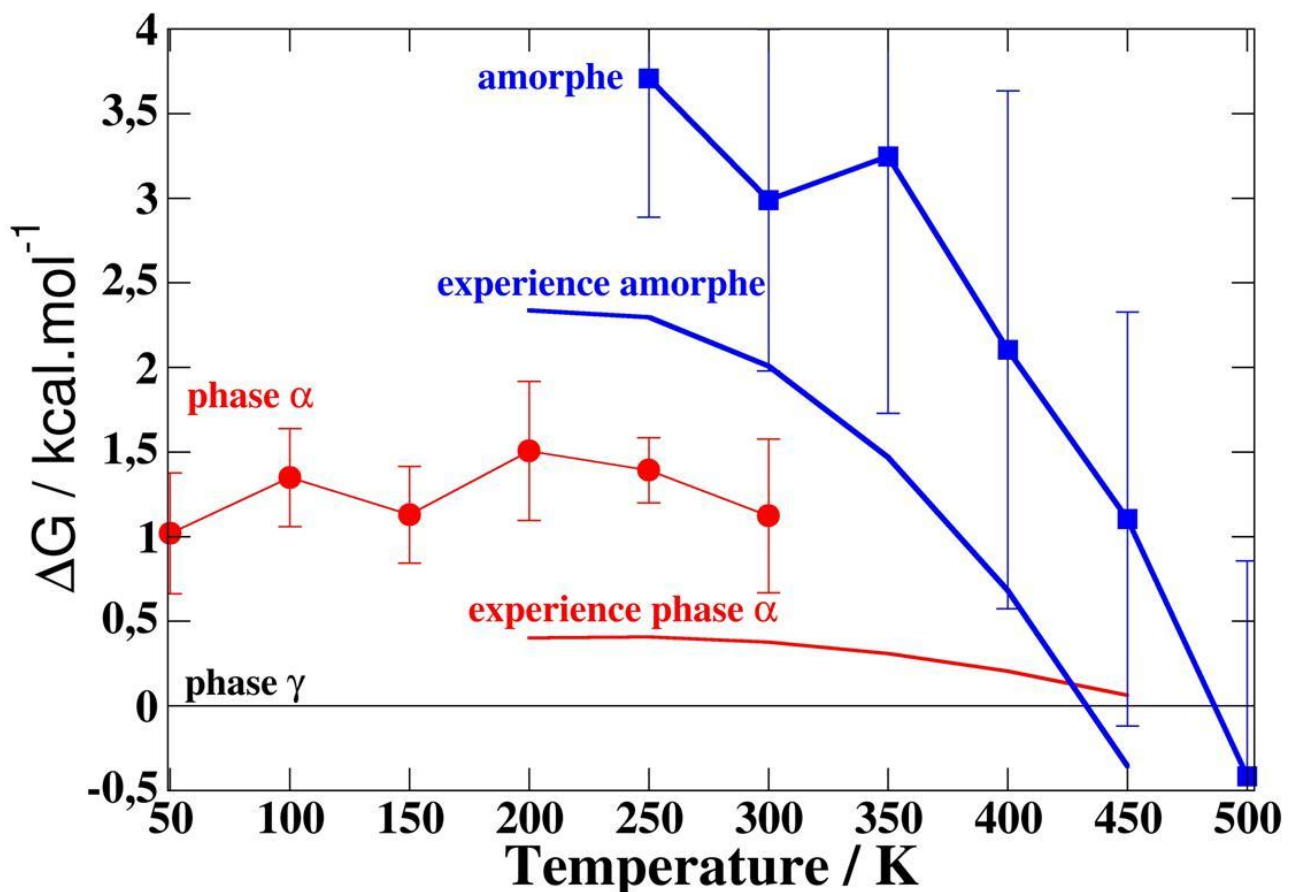


Figure 3.9 Variations expérimentales et numériques des énergies libres de Gibbs entre les phases α et γ (en rouge) et entre la phase γ et le liquide (en bleu) en fonction de la température. La phase γ utilisée comme référence est ici représentée en noir. Les courbes pleines (rouges et bleues) représentent respectivement les prédictions semi expérimentales basées sur l'équation de Hoffman (Eq. 3.3) d'après la référence²³⁸ pour la phase α et l'état amorphe.

La connaissance de la différence d'énergie libre de Gibbs entre deux phases permet de déterminer théoriquement le ratio de solubilité qui existe entre ces deux phases et donc d'en déduire l'avantage, du point de vue de la solubilité qu'offrirait une forme polymorphique plutôt qu'une autre. Ce ratio de solubilité, entre deux phases cristallines se détermine à partir de l'égalité des potentiels chimiques dans le cas d'une solution idéale, on écrit :

$$\Delta G(T) = G_{cristal\ 1}(T) - G_{cristal\ 2}(T) = RT \ln \left(\frac{a_2}{a_1} \right) \quad (3.4)$$

où R est la constante des gaz parfaits, a_1 et a_2 sont respectivement les activités relatives des deux phases cristallines. Ces activités peuvent être écrites $a_i = f_i x_i$ avec f_i le coefficient d'activité et x la concentration de composé i . Dans le cas d'une solution idéale, on a $f_1 = f_2 = 1$ ce qui simplifie l'équation (3.4) en :

$$\Delta G(T) = RT \ln \left(\frac{x_2}{x_1} \right) \quad (3.5)$$

Le ratio x_2/x_1 est défini comme étant le ratio de solubilité de la phase cristalline 2 par rapport à la phase cristalline 1 et décrit une situation idéale correspondant à un maximum de solubilité²³². Ce ratio peut être déterminé expérimentalement à l'aide de mesures de solubilité, mais aussi prédit grâce à des données calorimétriques. En supposant une différence entre les capacités calorifiques ΔC_p des phases considérées indépendante de la température, il est possible d'estimer ce ratio en approximant la différence d'énergie libre de Gibbs à partir de l'équation de Hoffman :

$$\Delta G(T) = \Delta H(T) - T \Delta S(T) \quad (3.6)$$

où $\Delta G(T)$, $\Delta H(T)$ et $\Delta S(T)$ sont respectivement les différences d'énergie libre de Gibbs, d'enthalpie et d'entropie à la température T entre les deux phases considérées en approximant les expressions de $\Delta H(T)$ et $\Delta S(T)$ par :

$$\Delta H(T) = \Delta H_m + \Delta C_p (T_m - T) \quad (3.7)$$

$$\Delta S(T) = \Delta S_m + \Delta C_p \ln \left(\frac{T_m}{T} \right) \quad (3.8)$$

avec $\Delta S_m = \Delta H_m / \Delta T_m$

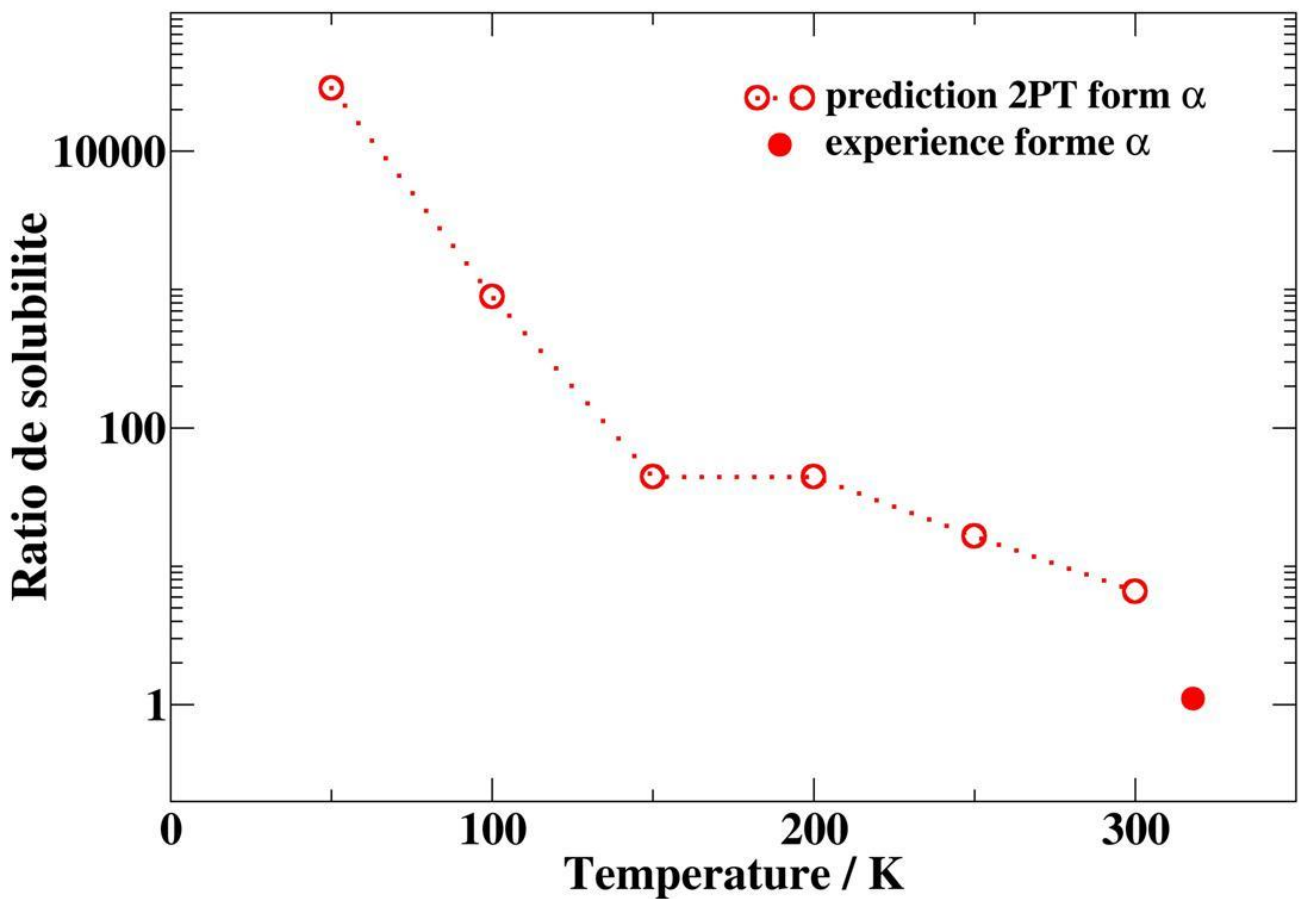


Figure 3.10 Estimation du ratio de solubilité de la forme polymorphique α par rapport à la forme polymorphique γ en fonction de la température. Le ratio de solubilité expérimental obtenu par mesures directes à 313 K est représenté par un cercle plein rouge. Les prédictions issues de la méthode 2PT sont représentées par des cercles.

L'estimation du ratio de solubilité entre les deux polymorphes s'écarte fortement du comportement observé expérimentalement révélant une surestimation de la différence entre les énergies libres de Gibbs des deux polymorphes (voir Figure 3.9). A basse température, il est évident que la différence des énergies libres de Gibbs entre les deux polymorphes tend à être constante et la relation (3.3) peut être approximée par une fonction de la température uniquement qui divergera à basse température.

ratio de solubilité	prédiction 2PT	prédiction expérience	expérience (mesure directe)
α / γ	6,5	1,1 – 1,2	1,1

Tableau 3.4 Comparaison entre les prédictions des ratios de solubilité entre les différentes phases cristallines de l'Indométacine obtenue par la méthode 2PT à 300 K, par prédiction en utilisant l'équation de Hoffman à 298 K et par une mesure expérimentale directe à 298 K d'après la référence²³².

3.3.3 Conclusion

L'application de la méthode 2PT aux polymorphes de l'Indométacine à l'aide du champ de force GAFF permet, non seulement, de reproduire numériquement le diagramme de phases de ce système à pression atmosphérique en respectant l'ordre de stabilité entre les polymorphes, mais également de reproduire l'inversion entre stabilité et densité que présente ce système. Nous avons pu prédire la température de fusion de la forme γ avec un accord satisfaisant par rapport à l'expérience en présentant une surévaluation de seulement 53 K. La prédiction numérique de l'enthalpie de fusion de la forme γ est cependant sous évaluée par rapport à la valeur observée expérimentalement. De plus, l'incapacité du champ de force GAFF à reproduire correctement la forme α à haute température nous empêche de fournir des prédictions sur la température et l'enthalpie de fusion de cette forme. Proche de la fusion, les différences d'énergie libre de Gibbs entre les différentes phases des systèmes ne dépassent pas $1.71 \text{ kcal.mol}^{-1}$ par rapport à l'expérience. Cet écart est de l'ordre de l'erreur statistique estimée au sein de nos systèmes. Nous pouvons donc suggérer que la méthode 2PT est capable de reproduire les diagrammes de phases de composés organiques complexes présentant plusieurs formes polymorphiques avec une précision raisonnable vis à vis des valeurs expérimentales. Nous avons, de plus, montré une possibilité afin de déterminer les ratios de solubilité entre les différentes phases cristallines à l'aide de l'équation (3.3). Celle-ci est limitée à basse température par la divergence de l'équation de Hoffman. L'étude du ratio de solubilité entre les différentes phases d'un système sera donc limitée par la suite aux valeurs proches

de la température ambiante où il existe généralement des valeurs expérimentales avec lesquelles nous pouvons effectuer une comparaison (voir Tableau 3.4).²⁵⁰ Il faut cependant préciser que la surévaluation des températures de fusion généralement obtenue par simulation par rapport à l'expérience entraînera forcément une surévaluation du ratio de solubilité entre deux phases.

3.4 Stabilité des polymorphes du Paracétamol

3.4.1 Description du système

Le Paracétamol qui est un principe actif très largement utilisé en tant qu'analgésique et antipyrétique, est principalement produit sous forme de comprimés¹¹. Le Paracétamol présente trois formes polymorphiques connues. Ces formes cristallines sont habituellement notées I, II et III. Les paramètres structuraux sont résumés dans le Tableau 3.5 et leur maille dans la Figure 3.12. Les trois polymorphes forment entre eux un système monotropique dans lequel la forme I est la forme la plus stable et la forme III est la moins stable (voir figure 3.11). La forme I, qui est la principale forme utilisée commercialement, n'est pas adaptée à la compression directe en tablettes du fait du manque de plans de glissement dans sa structure cristalline^{11, 251}. Ceux-ci sont des pré-requis pour l'apparition de déformations plastiques lors de la compression. La structure de la forme II possède un grand nombre de plans de glissements et peut donc supporter des déformations plastiques lors de la compression¹¹ mais elle est relativement difficile à produire à grande échelle^{11, 252, 253, 254, 255}. Les formes I et II du Paracétamol présentent une inversion entre leur stabilité et leur densité. La stabilité de la forme I est expliquée par la faiblesse des liaisons hydrogènes issues des groupes OH et NH au sein de la forme II par rapport à la forme I d'environ 3 kcal.mol⁻¹²⁵⁶. Les interactions faibles de van der Waals, qui engendrent une structure en couches plus compactes que celles issues des liaisons hydrogène pour ce composé, sont plus importantes au sein de la forme II et expliquent ainsi le gain de densité que présente cette forme par rapport à la forme I (voir Figure 3.12b)²⁵⁶. Très peu d'informations sont cependant disponible concernant la forme III du fait de son instabilité^{253, 16}.

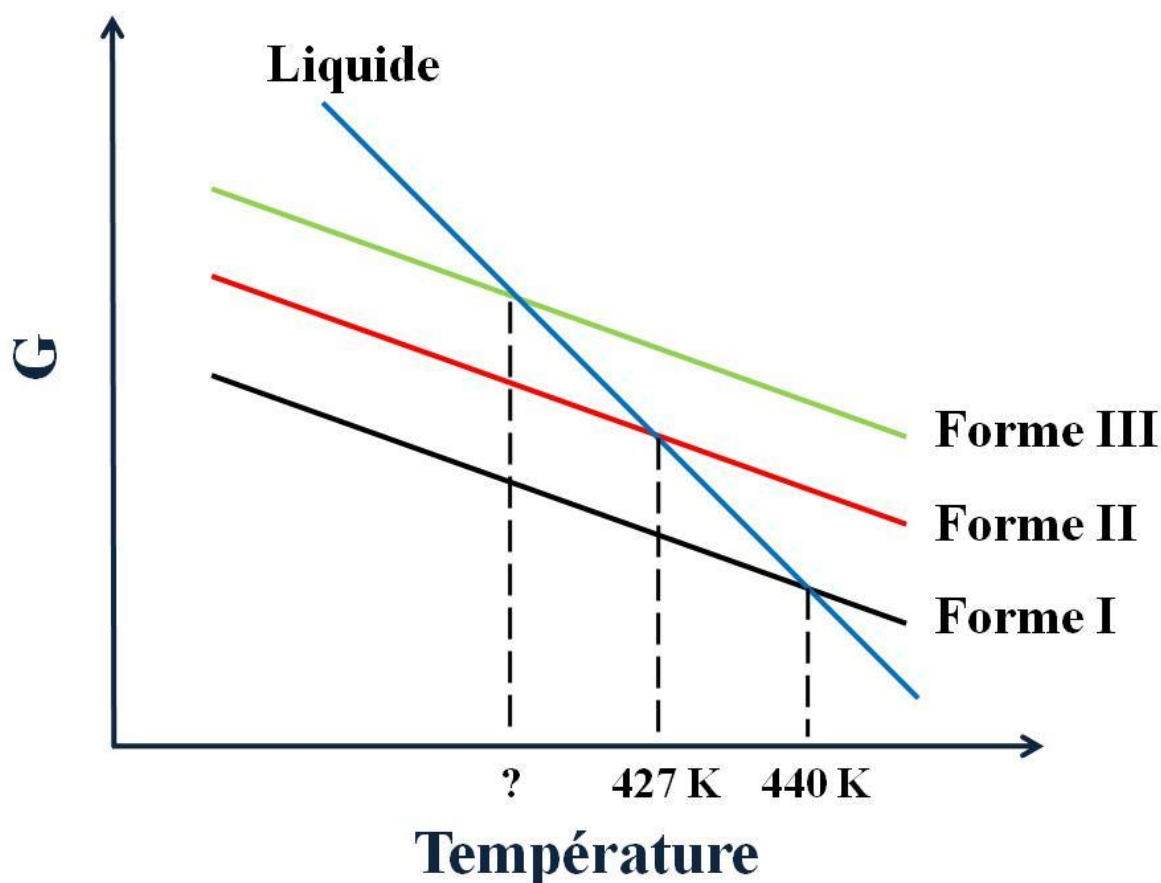


Figure 3.11 Représentation schématique du diagramme de phase attendu dans le cas des formes I, II et III du Paracétamol.

forme	I	II	III
réseau	monoclinique	orthorombique	orthorombique
groupe d'espace	$P2_1/n$	$Pbca$	$P2_1/c$
Z	4	8	8
$a / \text{Å}$	7,09	11,765	11,835
$b / \text{Å}$	9,211	7,187	8,56
$c / \text{Å}$	11,597	17,167	14,819
$\alpha / ^\circ$	90	90	90
$\beta / ^\circ$	97,844	90	90
$\gamma / ^\circ$	90	90	90
$\rho / \text{g.cm}^{-3}$	1,338	1,383	1,337

Tableau 3.5 Description de la structure cristalline et des paramètres de maille des formes cristallines I, II et III du Paracétamol. Les structures des formes I et II sont données à 100 K d'après la référence²⁵⁶ et celle de la forme III est donnée à 300 K d'après la référence²⁵⁷.

La température de fusion de la forme I expérimentalement se situe entre 440 et 445 K^{11, 255-262} tandis que celle de la forme II est comprise entre 427 et 433 K^{263, 11, 253, 259, 260, 264, 15, 265, 16, 266, 267, 268, 262}. Les enthalpies de fusion des formes I et II sont respectivement comprises entre 6.21 et 8.15 kcal.mol⁻¹^{255, 258, 259, 262-274} et 6.19 et 8.00 kcal.mol⁻¹^{15, 16, 259, 262-268}. La difficulté d'isolation de la forme III du Paracétamol ainsi que sa conversion en forme II entre 393 et 398 K²⁶³ rendent difficile l'acquisition de données expérimentales sur la fusion de la forme III, de sorte que aucune donnée concernant la fusion de cette forme n'a été portée à notre connaissance.

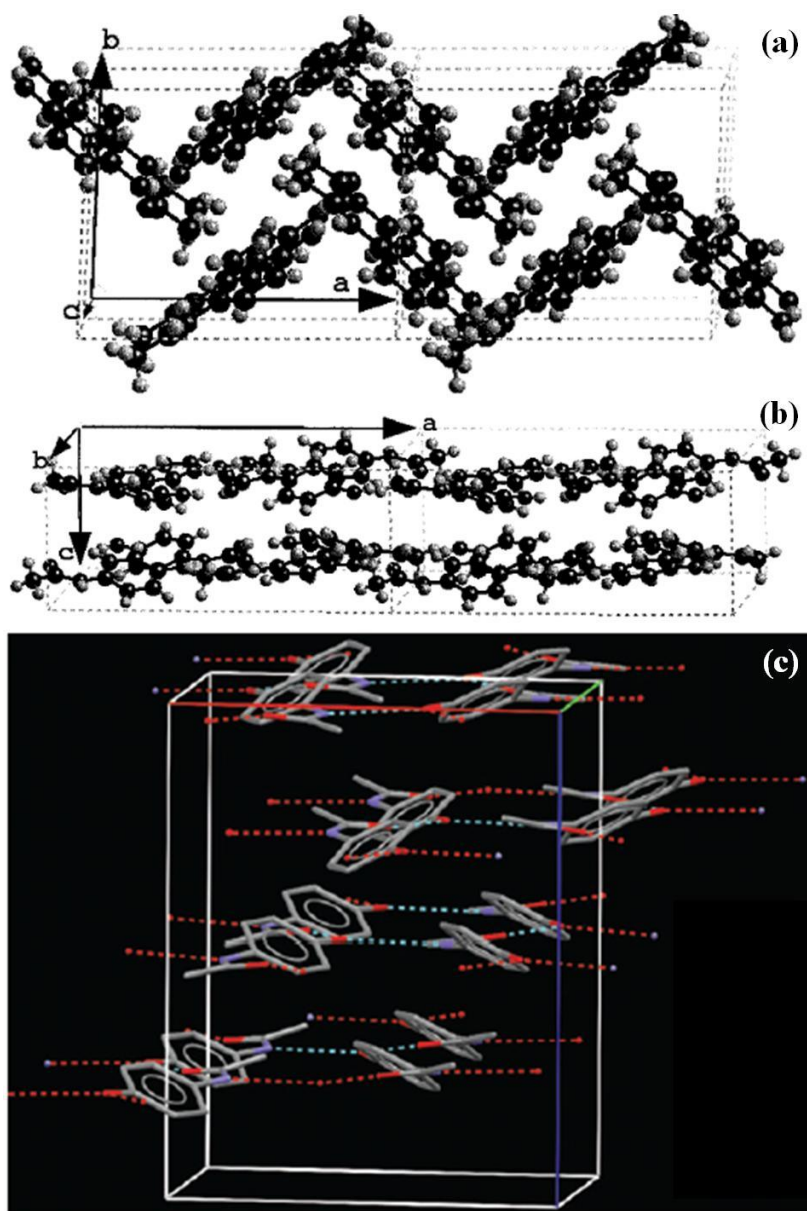


Figure 3.12 Représentation des mailles élémentaires des différents polymorphes du Paracétamol d'après la référence²⁷⁶ (figures a et b) et la référence²⁵⁷ (figure c).

3.4.2 Simulations et résultats

Les densités des différentes phases cristallines et de la phase liquide du Paracétamol obtenues à la suite des simulations dans l'ensemble *NPT* sont représentées dans la Figure 3.13. La simulation de la forme I présente le plus grand décalage de densité par rapport à l'expérience parmi les phases cristallines simulées avec environ 0.04 g.cm^{-3} à 300 K et 0.05 g.cm^{-3} à 400 K²⁶². Cette différence entre simulation et expérience est cependant suffisamment faible pour que l'on puisse considérer la forme I du Paracétamol reproduite correctement par la simulation jusqu'à 550 K. Au dessus de cette température, le système subit une chute brutale de densité caractéristique de la fusion de la phase cristalline qui n'est pas représentée dans la figure 3.13. Un bon accord entre les valeurs expérimentales de la densité et celles provenant de la simulation est obtenu dans le cas de la forme II avec un écart par rapport à l'expérience compris entre environ 0.002 g.cm^{-3} à 300 K et 0.006 g.cm^{-3} à 375 K²⁶². Cette forme peut être maintenue à l'état cristallin jusqu'à, au moins 600 K. Il doit être noté que la forme III simulée est d'environ 0.01 g.cm^{-3} moins dense que la valeur expérimentale à 300 K²⁵⁷ et a pu être représentée sans fusion du système jusqu'à 525 K. Un résumé comparatif des paramètres de mailles expérimentaux et simulés des différentes formes cristallines est fourni dans le Tableau 3.6.

forme	a / Å	b / Å	c / Å	α / °	β / °	γ / °	ρ / g.cm^{-3}
I simulation	7,166	7,31	11,721	90	97,844	90	1,295
I expérience	7,09	9,211	11,597	90	97,844	90	1,337
II simulation	11,811	7,215	17,235	90	90	90	1,366
II expérience	11,765	7,187	8,56	90	90	90	1,334
III simulation	11,753	8,501	14,716	90	90	90	1,328
III expérience	11,835	17,167	14,819	90	90	90	1,337

Tableau 3.6 Comparaison entre les paramètres de maille expérimentaux et simulés des différentes formes du Paracétamol. Les structures expérimentales des formes I, II et III est donnée à 300 K d'après la référence²⁵⁷.

L'écart expérimental de densité entre la forme II et la forme III à 300 K est correctement reproduit par nos simulations avec des densités de $1,328 \text{ g.cm}^{-3}$ ($1,337 \text{ g.cm}^{-3}$ expérimentalement)

pour la forme III et $1,326 \text{ g.cm}^{-3}$ ($1,383 \text{ g.cm}^{-3}$ expérimentalement) pour la forme II²⁵⁷. Ce faible écart nous permet de supposer une représentation correcte du système composé des différentes formes polymorphiques du Paracétamol par le champ de force GAFF. On peut ainsi en conclure que le champ de force GAFF associé aux conditions de simulations décrites dans la partie 3.2 représente correctement chaque forme cristalline du Paracétamol et permet ainsi une surchauffe respective d'environ 100 et 270 degrés des formes I et II. Aucune donnée expérimentale ne rapporte, à notre connaissance, la densité du Paracétamol dans sa phase liquide et nous ne pouvons donc pas comparer directement la densité de la phase liquide avec une valeur expérimentale. L'évolution de la densité du liquide (voir Figure 3.13) nous permet de déterminer la température de transition vitreuse simulée du Paracétamol à 368 K soit une surévaluation de 72 K par rapport à la température de transition de 296 K déterminée expérimentalement²⁷⁵. La surestimation de la température de transition vitreuse est discutée dans la section 2.2.5.

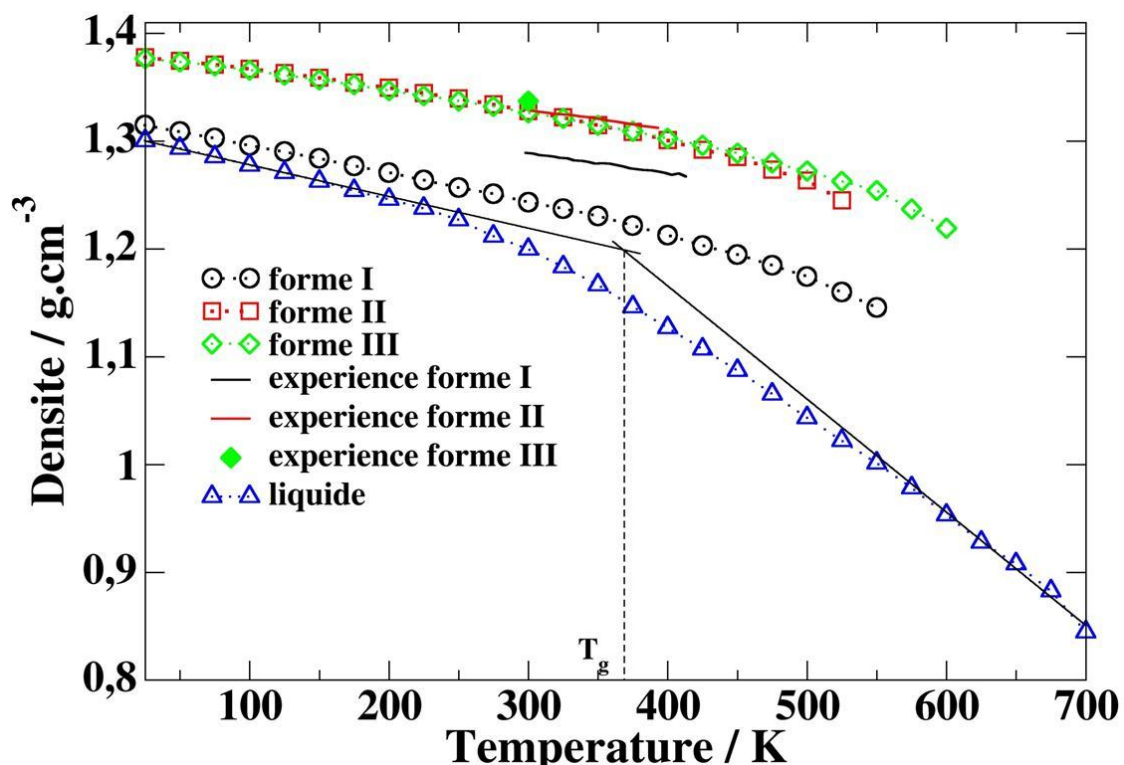


Figure 3.13 Représentation de la densité des différentes phases cristallines (forme I en noir, forme II en rouge et forme III en vert) et de la phase liquide du Paracétamol (en bleu) en fonction de la température. Les valeurs expérimentales sont représentées soit par une ligne pleine soit par un symbole plein si une seule valeur a été portée à notre connaissance.

L'utilisation de la méthode 2PT permet de reproduire la monotropie ainsi que le bon ordre de stabilité des formes I et II du Paracétamol avec une forme I plus stable que la forme II quelque soit la température (voir figure 3.14), malgré l'inversion entre stabilité et densité observée entre ces deux formes comme dans le cas de l'Indométacine décrit précédemment. La différence d'enthalpie libre est estimée à environ 1 kcal.mol⁻¹ quelque soit la température (voir figure 3.15), ce qui est en excellent accord avec l'écart de 0.9 kcal.mol⁻¹ prédit entre ces deux phases suite à des simulations de prédictions structurales.²⁷⁶ De manière similaire, la monotropie et le bon ordre de stabilité observés expérimentalement entre les formes II et III sont respectés quelque soit la température (voir figure 3.14) bien qu'une inversion entre densité et stabilité soit encore observée mais soit cette fois ci due aux conditions de simulation (voir figure 3.13). La différence d'enthalpie libre entre ces deux phases estimée par la méthode 2PT est inférieure à 1 kcal.mol⁻¹ sur toute la gamme de températures simulées. Les prédictions des températures de fusion des différentes formes polymorphiques sont en excellent accord avec l'expérience avec une température de fusion de la forme I prédite à environ 450 K ±40 K, au lieu des 440 à 445 K observés expérimentalement et une température de fusion de la forme II prédite à environ 400 K ±45 K par rapport aux 427 à 433 K observés expérimentalement. La possibilité de surchauffer la forme III jusqu'à 600 K nous permet également de fournir une prédiction de la température de fusion de cette forme à environ 390 K ±30 K, soit 10 K avant la transformation de la forme III en forme II observée expérimentalement²⁶³. Comme dans le cas de la forme II, une sous estimation de la température de fusion est attendue dans le cas de la forme III et l'écart entre la température de fusion de la forme III et la température à laquelle l'instabilité de cette forme la transforme spontanément en forme II le confirme. Nos prédictions numériques présentent une sous évaluation des enthalpies de fusion des différents polymorphes avec une enthalpie de fusion de la forme I estimée à 4.49 kcal.mol⁻¹ à 450 K par rapport aux valeurs de 6.21 à 8.15 kcal.mol⁻¹^{255, 258-274} déterminées expérimentalement et une enthalpie de fusion de la forme II estimée à 3.78 kcal.mol⁻¹ à 400 K par rapport aux 6.19 à 8.00 kcal.mol⁻¹^{15, 259, 262, 265-268} obtenues expérimentalement. La forme III présente une différence

d'enthalpie avec le liquide d'environ $2.86 \text{ kcal.mol}^{-1}$ à 390 K. L'incertitude de l'enthalpie d'une phase cristalline sera supposée égale à l'incertitude issue de la détermination de l'enthalpie avec la méthode 2PT soit donc environ $0.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Un résumé récapitulatif des valeurs prédites et expérimentales des propriétés thermodynamiques de chaque forme est fourni dans le tableau 3.7.

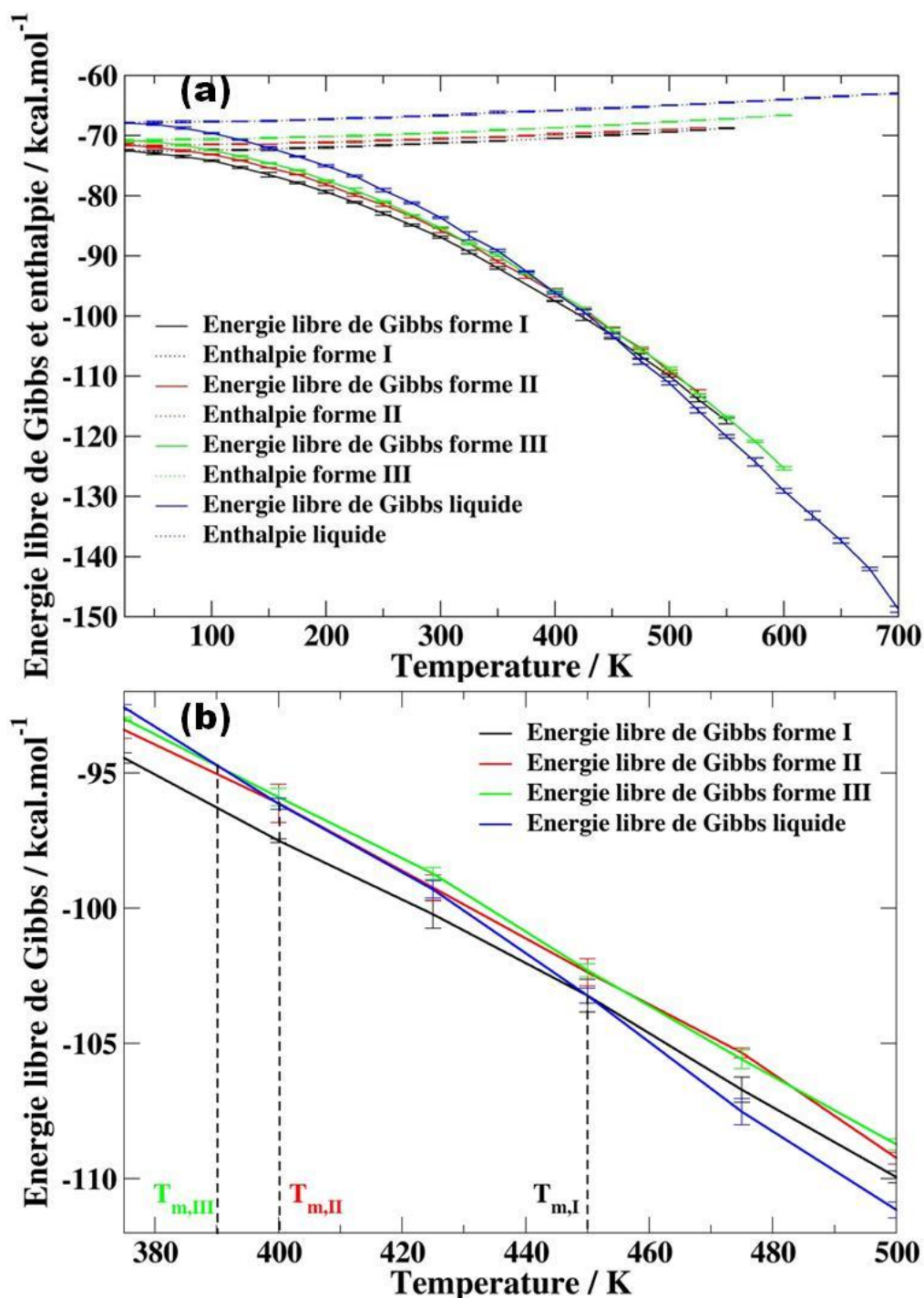


Figure 3.14 Evolution de l'énergie libre de Gibbs et de l'enthalpie en fonction de la température pour les différentes formes polymorphiques du Paracétamol avec la forme I en noir, la forme II en rouge, la forme III en vert et la phase liquide en bleu.

	$T_{m,simulation} / K$	$T_{m,expérience} / K$	$\Delta H_{m,simulation} / kcal.mol^{-1}$	$\Delta H_{m,expérience} / kcal.mol^{-1}$
Forme I	450 \pm 40	440-445	4,49 \pm 0,5	6,21-8,15
Forme II	400 \pm 45	427-433	3,78 \pm 0,5	6,19-8,00
Forme III	390 \pm 30	-	2,86 \pm 0,5	-

Tableau 3.7 Comparaison entre des valeurs prédites et expérimentales de la température de fusion T_m et de l'enthalpie de fusion ΔH_m des formes I, II et III du Paracétamol.

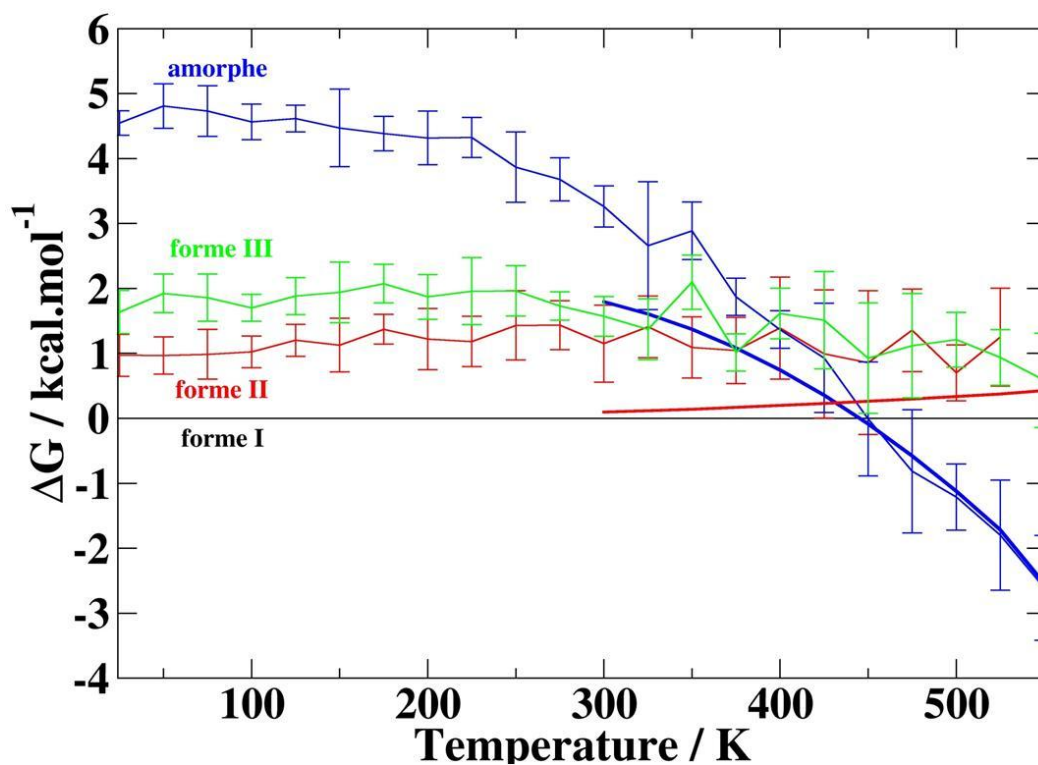


Figure 3.15 Variations expérimentales et numériques des énergies libres de Gibbs entre les formes I et II, les formes I et III et entre la forme I et le liquide en fonction de la température. La forme I qui représente la forme de référence de cette figure est représentée en noir. Les courbes pleines rouge et bleu représentent respectivement les prédictions semi expérimentales basées sur l'équation de Hoffman d'après la référence²⁵⁰ pour la forme II et la phase amorphe.

Les estimations des ratios de solubilité de la phase amorphe et des formes polymorphiques II et III par rapport à la forme I à 300 K obtenus à partir de la méthode 2PT ainsi que leur comparaison avec les prédictions utilisant les données expérimentales de la température T_m et enthalpie de fusion ΔH_m au sein de l'équation de Hoffman sont résumés dans le Tableau 3.8. Le ratio entre la forme II et la forme I prédit par la méthode 2PT est environ 5 à 6 fois supérieur à celui

donné à 303 K en utilisant l'équation de Hoffman²⁵⁰. Cette différence peut être attribuée à l'écart observé non seulement entre l'expérience et la prédiction par la méthode 2PT sur la température de fusion de la forme II mais aussi sur les enthalpies de fusion des formes I et II. Il est raisonnable de suggérer que le ratio de solubilité entre les formes III et I est également surestimé pour les mêmes raisons que dans le cas de la forme II.

ratio de solubilité	prédiction 2PT	prédiction expérience
II / I	6,8	1,2
III / I	13,9	-

Tableau 3.8 Comparaison entre les prédictions des ratios de solubilité entre les différentes phases et la forme I obtenues par la méthode 2PT à 300 K et par prédiction en utilisant l'équation de Hoffman à 303 K d'après la référence²⁵⁰.

3.4.3 Conclusion

Nous avons pu réaliser des simulations de dynamique moléculaire des trois formes polymorphiques du Paracétamol jusqu'à 550 K pour la forme I, 525 K pour la forme II, 600 K pour la forme III et 700 K pour la phase liquide. Les résultats obtenus montrent que le champ de forces GAFF permet de reproduire l'inversion entre la densité et la stabilité des formes I et II. L'application de la méthode 2PT à ce système permet de retrouver le bon ordre de stabilité entre les différentes formes polymorphiques malgré l'inversion entre stabilité et densité que présente les formes I et II ainsi qu'avec les simulation entre des formes II et III. De plus, la méthode 2PT nous a, non seulement permis d'estimer la température de fusion de la forme I avec un écart de 5 à 10 K et celle de la forme III avec un écart de 30 K par rapport aux valeurs expérimentales reportées mais également de fournir une prédiction de la température de fusion de la forme III, qui n'a pu être obtenue expérimentalement. Cette prédiction de la température de fusion de la forme III du Paracétamol est cependant sous-évaluée à la vue de la température à laquelle sa transition vers la forme II a été reportée, ce que l'on peut attribuer à la difficulté du champ de forces GAFF à

représenter correctement cette forme. Malgré l'excellent accord entre les prédictions fournies par la méthode 2PT concernant les différences d'énergie libre entre les formes I et II et les prédictions issues de détermination structurale, les enthalpies de fusions déterminées par la méthode 2PT sont en moins bon accord avec les valeurs expérimentales.

3.5 Stabilité des polymorphes du Carbamazépine

3.5.1 Description du système

Le Carbamazépine est un principe actif utilisé comme anticonvulsant pour le traitement de l'épilepsie, les troubles bipolaires et la névralgie du trijumeau. Durant des décennies, le Carbamazépine a servi de composé modèle pour l'étude du polymorphisme et a été abondamment documenté²⁷⁷⁻²⁹³.

A l'heure actuelle, quatre formes polymorphiques du Carbamazépine et une forme dihydratée ont été déterminées^{280, 287, 292}. Les paramètres des structures cristallines des quatre formes polymorphiques connues du Carbamazépine sont résumés dans le Tableau 3.9. La structure de chaque forme est également représentée dans la Figure 3.16 à partir de la référence²⁹⁴.

forme	I	II	III	IV
réseau	triclinique	rhombohédrique	monoclinique	monoclinique
groupe d'espace	$P\bar{1}$	R-3	$P2_1/n$	C2/c
Z	8	18	4	8
a / Å	5,185	35,454	7,537	26,609
b / Å	20,575	35,454	11,156	6,926
c / Å	22,241	5,253	13,912	13,957
α / °	84,194	90	90	90
β / °	87,975	90	92,86	109,702
γ / °	85,105	120	90	90
ρ / g.cm ⁻³	1,31	1,24	1,34	1,27

Tableau 3.11 Description de la structure cristalline et des paramètres de maille des formes cristallines I, II, III, et IV du Carbamazépine. La structure de la forme I est donnée à 160 K d'après la référence²⁹⁵, celle de la forme II est donnée à température ambiante (soit entre 293 et 303 K) d'après la référence²⁸¹, celle de la forme III est donnée à température ambiante (soit entre 293 et

303 K) d'après la référence²⁷⁷ et celle de la forme IV est donnée à 158 K d'après la référence²⁹³.

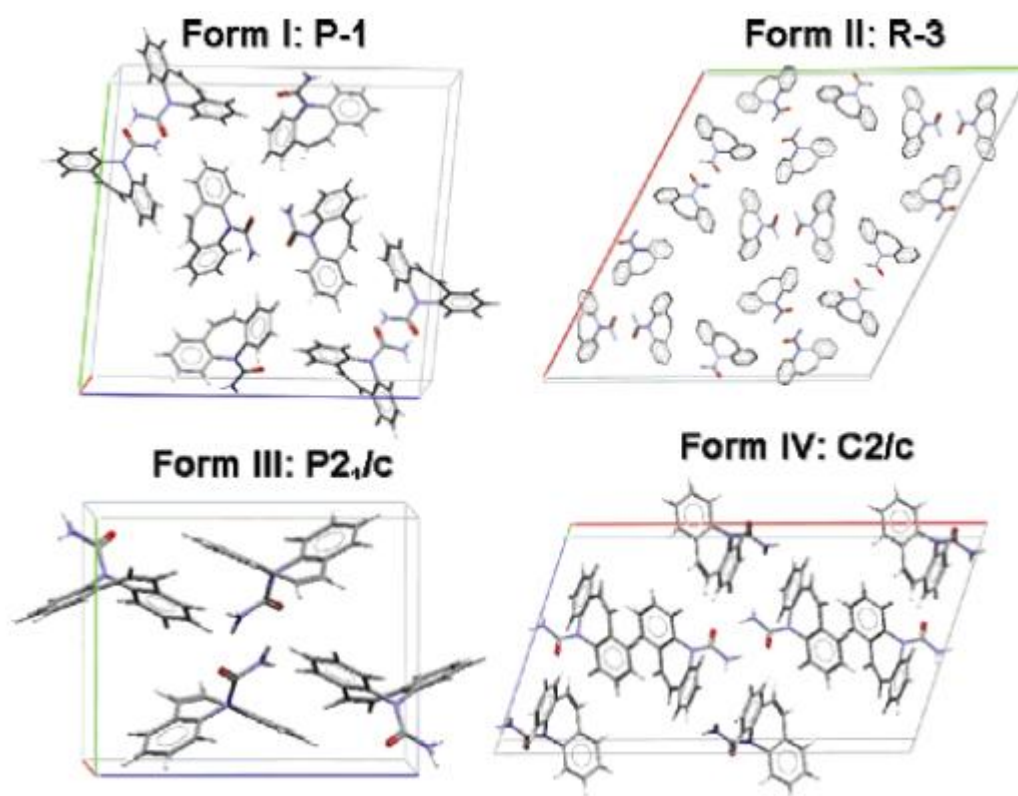


Figure 3.16 Représentation des mailles élémentaires des différentes formes cristallines du Carbamazépine d'après la référence²⁹⁴.

A notre connaissance, seules les températures de fusion de la forme I et de la forme III ont été déterminées expérimentalement; elles sont estimées à 466 K avec une enthalpie de fusion de $6.10 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour la forme I²⁹⁶ et à environ 448 K pour la forme III²⁹⁷. L'impossibilité d'obtenir les températures de fusion des autres formes cristallines vient de leur transition vers la forme I aux températures de 447 K, 460 K et comprise entre 413 et 433 K pour les formes III, IV, et II respectivement²⁹⁶. Selon la règle de la densité de Burger¹⁵, les mêmes auteurs ont proposé l'ordre de stabilité suivant pour les différentes formes polymorphiques : forme III > forme I > forme II > forme IV sans pour autant préciser la monotropie ou l'énantiotropie du système suite à des variations de température ni prendre en compte la transition de phase que subit la forme III à 447 K. On pourra cependant supposer que, si la règle de la densité s'applique à basse température, les

formes I et III forment un système énantiotrope dans lequel la forme III est stable à basse température et la forme I le devient à haute température (voir figure 3.17).

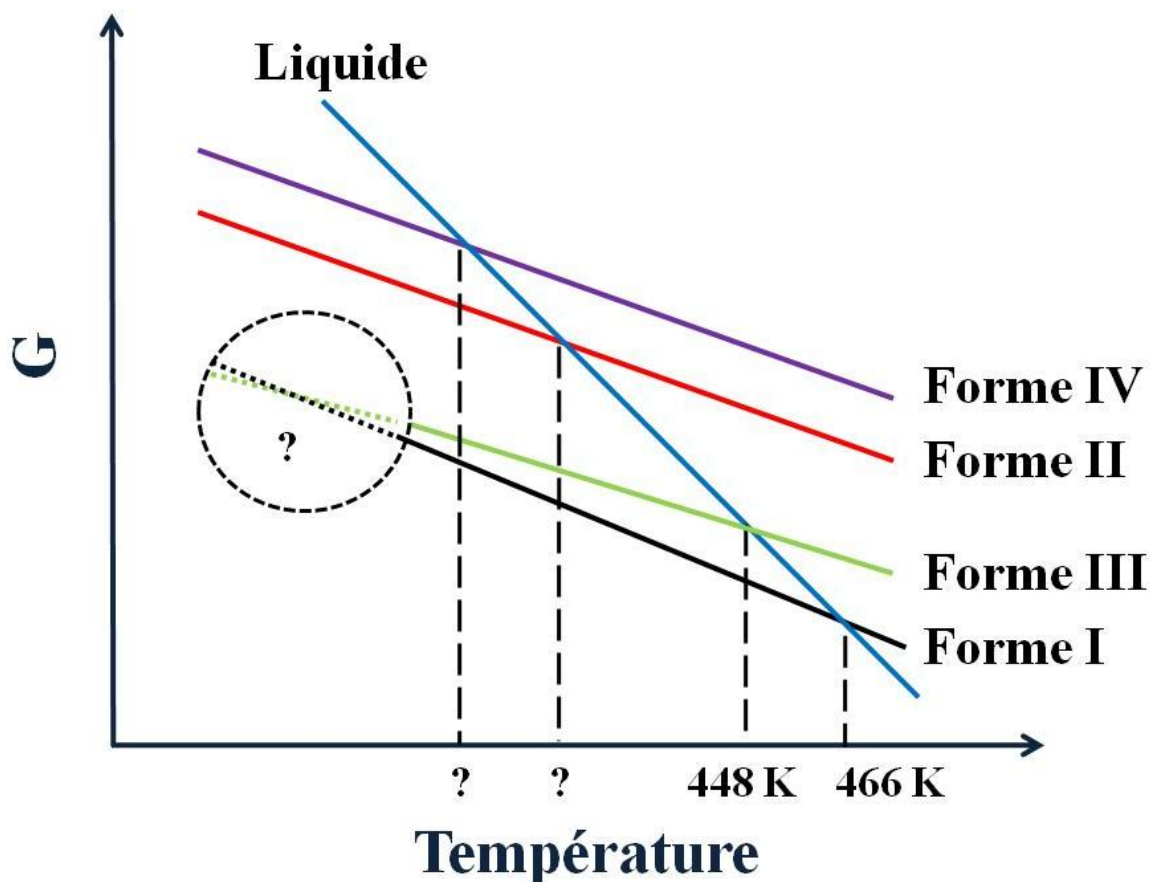


Figure 3.17 Représentation schématisée du diagramme de phase attendu dans le cas des formes I, II, III et IV du Carbamazépine.

3.5.2 Simulations et résultats

Les densités des différentes phases cristallines et de la phase liquide du Carbamazépine obtenues à la suite des simulations dans l'ensemble NPT sont représentées dans la figure 3.18. Pour toutes ces phases étudiées, on obtient par simulation une densité légèrement plus importante que la valeur expérimentale avec, dans le cas de la forme I à 160 K, une surévaluation d'environ 0.01 g.cm^{-3} ²⁸⁹. A la température de 300 K les simulations des formes II²⁸¹ et III²⁷⁸ surévaluent les densités avec des écarts par rapport à l'expérience d'environ 0.01 g.cm^{-3} et 0.02 g.cm^{-3} respectivement tandis que la simulation de la forme IV à 158 K surévaluent la densité d'environ 0.05 g.cm^{-3} ²⁹³. Hormis dans le cas de la forme IV, ces écarts par rapport à l'expérience sont très faibles et l'ordre entre les densités des différents polymorphes est respecté. De même, toutes les phases cristallines ont pu être

surchauffées jusqu'à 600 K. On peut donc supposer pour la suite que chacun des polymorphes du Carbamazépine présente un bon accord avec les valeurs expérimentales.

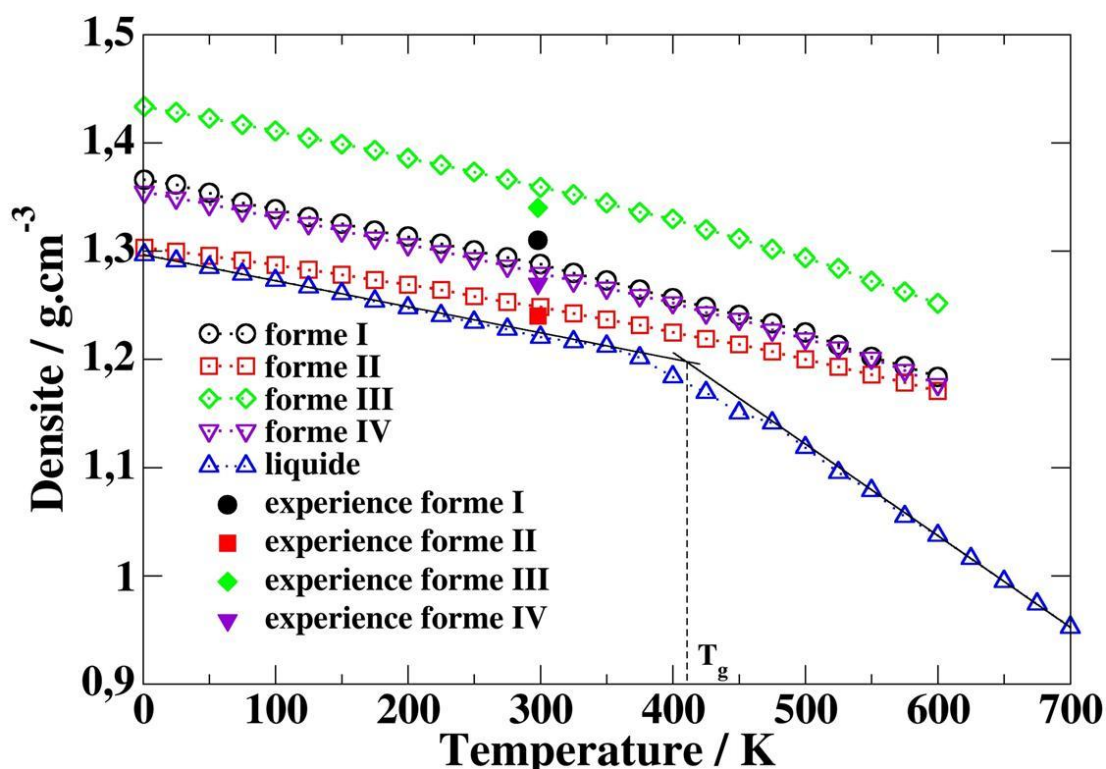


Figure 3.18 Représentation de la densité des différentes phases cristallines (forme I en noir, forme II en rouge, forme III en vert et forme IV en violet) et liquide du Carbamazépine (en bleu) en fonction de la température. Les valeurs expérimentales sont représentées soit par une ligne pleine soit par un symbole plein si une seule valeur a été portée à notre connaissance.

forme	a / Å	b / Å	c / Å	α / °	β / °	γ / °	ρ / g.cm ⁻³
I simulation	5,198	20,625	22,294	84,194	87,976	85,105	1,32
I expérience	5,185	20,575	22,241	84,194	87,975	85,105	1,31
II simulation	35,328	35,328	5,234	90	90	120	1,25
II expérience	35,454	35,454	5,253	90	90	120	1,24
III simulation	7,508	11,113	13,848	90	92,86	90	1,36
III expérience	7,537	11,156	13,912	90	92,86	90	1,34
IV simulation	26,455	6,887	13,876	90	109,7	90	1,31
IV expérience	26,609	6,926	13,957	90	109,702	90	1,27

Tableau 3.10 Comparaison entre les paramètres de maille expérimentaux et simulés des différentes formes du Carbamazépine. La structure de la forme I est donnée à 160 K d'après la référence²⁹⁵, celle de la forme II est donnée à température ambiante d'après la référence²⁸¹, celle de la forme III

est donnée à température ambiante d'après la référence²⁷⁷ et celle de la forme IV est donnée à 158 K d'après la référence²⁹³.

Un résumé comparatif des paramètres de mailles expérimentaux et simulés des différentes formes cristallines est fourni dans le Tableau 3.10.

Aucune donnée expérimentale ne rapporte, à notre connaissance, la densité du Carbamazépine dans sa phase liquide ; la densité de la phase liquide n'est donc pas comparée à une valeur expérimentale. L'évolution de la densité du liquide nous permet de déterminer la température de transition vitreuse simulée du Carbamazépine à 409 K soit une surévaluation d'environ 80 K par rapport aux températures de transition de 324 K²⁹⁸ et 329 K²⁹⁰ déterminée expérimentalement. Cette surévaluation de la température de transition vitreuse est discutée dans la section 2.2.5.

L'utilisation de la méthode 2PT sur le système formé des polymorphes du Carbamazépine révèle l'énantiotropie des formes I et III. Nos simulations de ce système indiquent que la forme III est la forme stable à basse température tel que le suggère la règle de la densité de Burger tandis que la forme I devient stable à haute température comme on l'observe expérimentalement (voir figure 3.19 et 3.20). La température de transition entre ces deux formes serait entre 140 et 240 K, bien au dessous de la température de 447 K à laquelle on observe expérimentalement la transformation spontanée de la forme III vers la forme I²⁹⁶. Ces deux formes et les formes II et IV constituent un système monotropique au sein duquel les formes II et IV sont instables. Dans cette étude de l'ensemble des formes polymorphiques, l'écart entre la forme la plus stable et la forme la moins stable est inférieure à 2 kcal.mol⁻¹. La forme II apparaît comme étant thermodynamiquement plus stable que la forme IV à basse température, ce qui est en désaccord avec la règle de la densité de Burger mais explique que la forme II ait été observée plusieurs décennies avant la forme IV. A partir de 275 K, la détermination de l'ordre de stabilité entre ces deux formes n'est pas immédiate puisque la différence d'enthalpie libre qu'elles présentent est d'environ 0.1 kcal.mol⁻¹. Celle ci est donc inférieure aux incertitudes de chaque forme. L'application de la méthode 2PT à la prédiction des températures de fusion présente, dans le cas de la forme I du Carbamazépine, une surévaluation

de la température de fusion d'environ 120 K avec une température prédite à environ $580 \text{ K} \pm 30 \text{ K}$ par rapport à la température de 466 K reportée expérimentalement²⁹⁶. L'enthalpie de fusion de cette forme, prédite à environ $5.2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ est cependant en bon accord avec les $6.1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ trouvés expérimentalement. Les simulations de la forme III permettent de prédire la température de fusion à environ $550 \text{ K} \pm 40 \text{ K}$ avec une enthalpie de fusion de $5.7 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Les formes II et IV ont toutes deux une température de fusion prédite aux environs de 520 K avec des enthalpies de fusions respectives de $4.3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ et $4.1 \text{ kcal.mol}^{-1}$. La différence d'enthalpie entre les formes I et II à 25 K a été estimée à environ $0.77 \text{ kcal.mol}^{-1}$, ce qui est en bon accord avec la valeur de $0.41 \text{ kcal.mol}^{-1}$ trouvée par prédiction structurale²⁹⁴. Ces mêmes auteurs ont trouvé une différence d'énergie de $1.48 \text{ kcal.mol}^{-1}$ entre les formes I et III qui est deux fois supérieure à la variation d'enthalpie que l'on observe à 25 K d'environ $0.64 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Les variations d'enthalpie entre les formes I et III à partir de 100 K sont comprises entre 0.5 et $0.7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ et donc proches des valeurs 0.31 à $0.86 \text{ kcal.mol}^{-1}$ observées expérimentalement lors de la transition de la forme III vers la forme I^{229, 299, 300, 301, 302}. L'incertitude de l'enthalpie d'une phase cristalline sera supposée égale à l'incertitude issue de la détermination de l'enthalpie avec la méthode 2PT soit donc environ $0.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Un résumé récapitulatif des valeurs prédites et expérimentales des propriétés thermodynamiques de chaque forme est fourni dans le tableau 3.11.

	$T_{m,\text{simulation}} / \text{K}$	$T_{m,\text{expérience}} / \text{K}$	$\Delta H_{m,\text{simulation}} / \text{kcal.mol}^{-1}$	$\Delta H_{m,\text{expérience}} / \text{kcal.mol}^{-1}$
Forme I	580 ± 30	466	$5,2 \pm 0,5$	6,1
Forme II	520 ± 40	-	$4,3 \pm 0,5$	-
Forme III	550 ± 40	448	$5,7 \pm 0,5$	-
FormIV	520 ± 40	-	$4,1 \pm 0,5$	-

Tableau 3.11 Comparaison entre des valeurs prédites et expérimentales de la température de fusion et de l'enthalpie de fusion des formes I, II, III et IV du Carbamazépine.

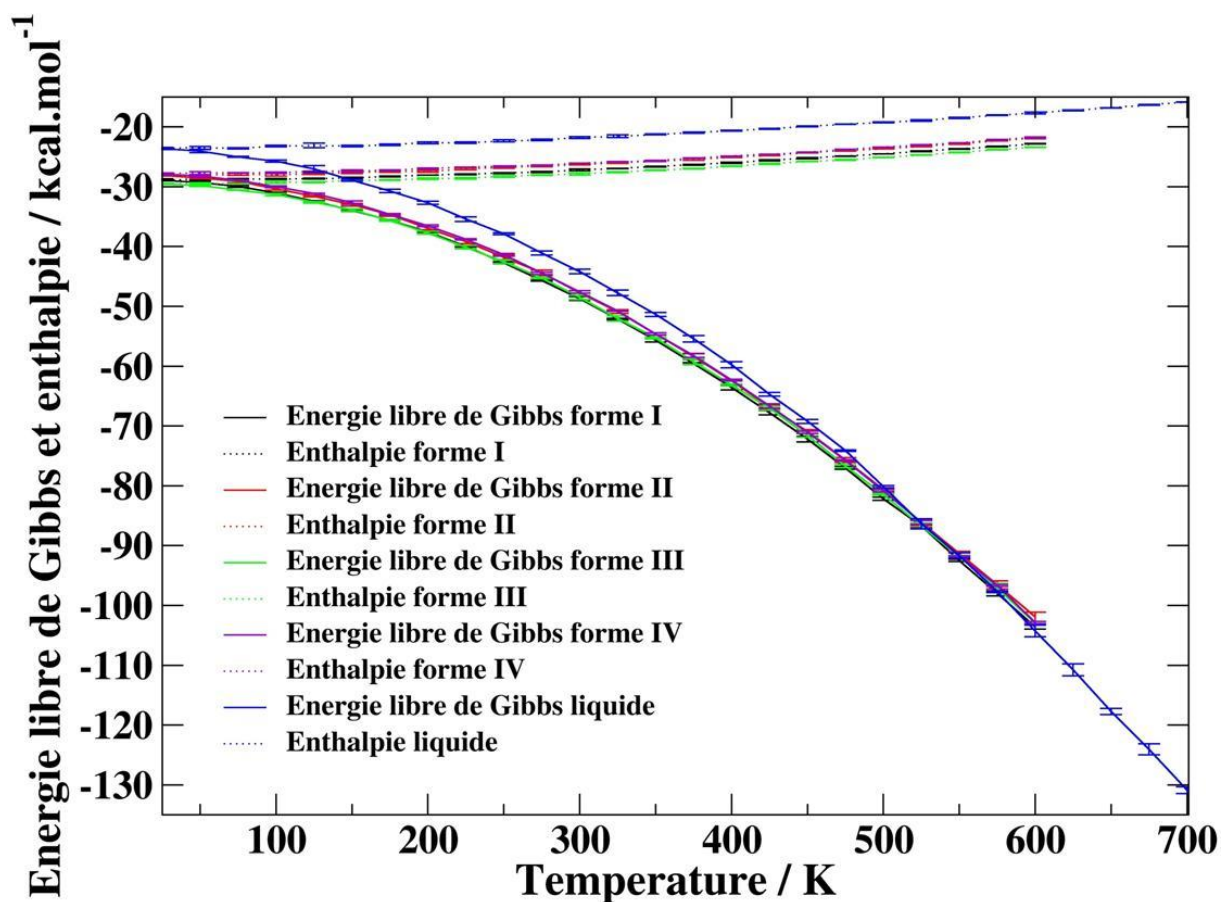


Figure 3.19 Evolution de l'énergie libre de Gibbs et de l'enthalpie en fonction de la température pour les différentes formes polymorphiques du Carbamazépine avec la forme I en noir, la forme II en rouge, la forme III en vert, la forme IV en violet et la phase liquide en bleu.

Le tableau 3.12 regroupe les estimations des ratios de solubilité des formes polymorphiques II, III et IV par rapport à la forme I à 300 K, obtenues à partir de la méthode 2PT, leur comparaison avec les prédictions utilisant les données expérimentales de température et d'enthalpie de fusion au sein de l'équation de Hoffman à 300 K²²⁹ et les valeurs obtenues à partir de mesures expérimentales menées à 298 K²³² dans le cas du ratio entre la forme III et la forme I. Il doit être souligné que le ratio de solubilité obtenu par la méthode 2PT entre la forme III et la forme I est en excellent accord avec l'expérience et offre une meilleure prédiction que par l'utilisation de l'équation de Hoffman. L'utilisation de la méthode 2PT montre également que le gain de solubilité théorique serait d'environ 4 et 6 fois supérieur dans le cas des formes II et IV respectivement par rapport à la forme I bien qu'aucune donnée expérimentale ne soit actuellement disponible afin de valider ces résultats.

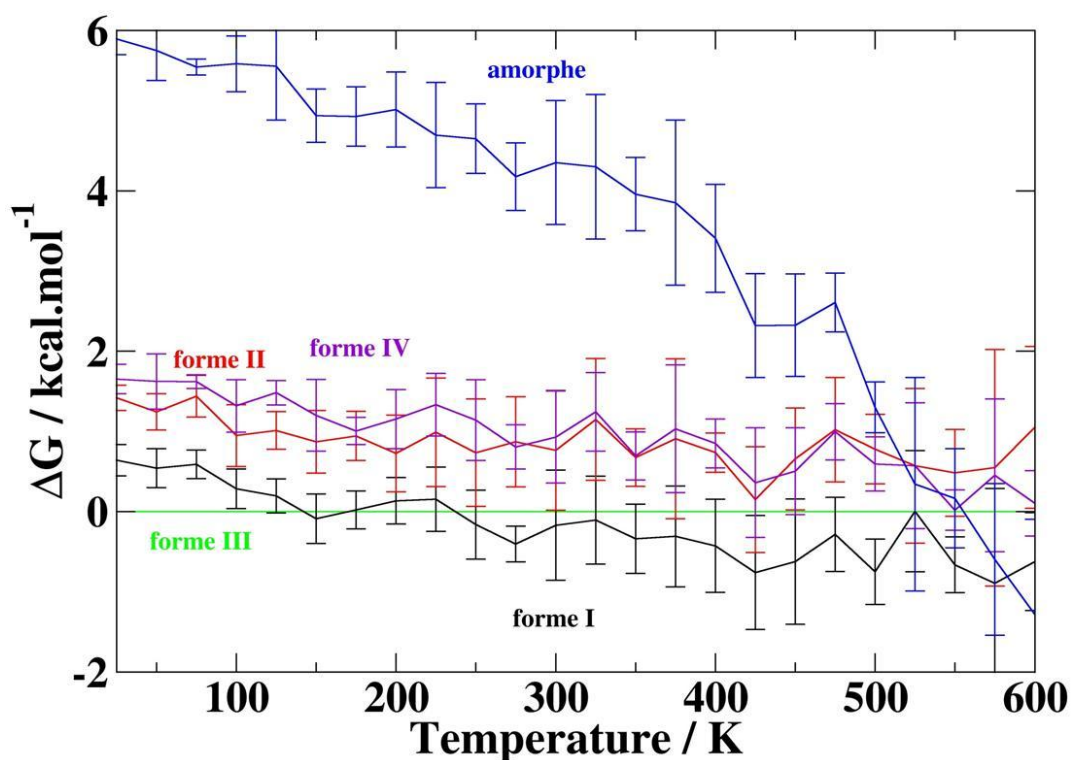


Figure 3.20 Variations expérimentale et numériques des énergies libres de Gibbs entre les formes I, les formes II, la forme IV et de la phase liquide en fonction de la température en prenant ici la forme III comme référence qui est représentée en vert.

ratio de solubilité	prédiction 2PT	prédiction expérience	expérience (mesure directe)
II / I	4,7	-	-
III / I	1,3	1,6 – 1,9	1,2
IV / I	6,3	-	-

Tableau 3.12 Comparaison entre les prédictions des ratios de solubilité entre les différentes phases et la forme I obtenues par la méthode 2PT à 300 K, par prédiction en utilisant l'équation de Hoffman à 300 K d'après la référence²²⁹ et expérimentalement à 298 K d'après la référence²³².

3.5.3 Conclusion

La prédiction de la stabilité au sein du système constitué des polymorphes du Carbamazépine constitue un réel défi des méthodes numériques du fait de la faible différence d'énergie entre les différentes formes polymorphiques (inférieure à 1 kcal.mol⁻¹). Les quatre formes

polymorphiques du Carbamazépine ont pu être simulées jusqu'à la température de 600 K. L'écart énergétique prédit entre les différentes formes est, quelque soit la température, inférieur à 2 kcal.mol⁻¹ ce qui est en bon accord avec les résultats obtenus par résolution structurale. De plus, l'ordre de stabilité prédit entre les formes polymorphiques I et III correspond à celui prédit par la règle de la densité de Burger à basse température et par l'expérience à haute température. L'absence de données expérimentales sur le monotropisme ou l'énantiotropisme des différentes formes au sein de ce système nous empêche de conclure sur la capacité de la méthode 2PT à prédire correctement le diagramme de phase de ce système. Comme nous l'avons vu dans le cas de l'Indométacine, l'estimation numérique surévalue la température de fusion de la forme I du Carbamazépine. Il doit être noté que, puisque la température de fusion de la forme I est largement surévaluée par rapport à l'expérience et du fait du faible écart entre les enthalpies libres de chaque forme polymorphique, les températures de fusion prédites des formes II, III et IV sont supérieures à la température de fusion expérimentale de la forme I et ne peuvent donc être directement extrapolées aux systèmes expérimentaux réels.

3.6 Stabilité des polymorphes du Sulfathiazole

3.6.1 Description du système

Le Sulfathiazole (4-amino-N-(2thiazolyl)benzenesulfonamide) est un principe actif utilisé comme antibiotique et largement étudié pour son polymorphisme depuis plusieurs décennies^{303, 304, 305, 306}. Le Sulfathiazole dispose de cinq formes polymorphiques connues. Dans cette étude, nous nous limitons aux formes cristalline I, II, III et IV dont les paramètres sont résumés dans le Tableau 3.13 et les mailles élémentaires représentées dans la figure 3.21.

forme	I	II	III	IV
réseau	monoclinique	monoclinique	monoclinique	monoclinique
groupe d'espace	$P2_1/c$	$P2_1/c$	$P2_1/c$	$P2_1/n$
Z	8	4	8	4
a / Å	10,534	8,193	17,448	10,774
b / Å	12,936	8,538	8,498	8,467
c / Å	17,191	15,437	15,511	11,367
$\alpha / ^\circ$	90	90	90	90
$\beta / ^\circ$	107,77	94,01	112,81	91,65
$\gamma / ^\circ$	90	90	90	90
$\rho / \text{g.cm}^{-3}$	1,52	1,51	1,6	1,57

Tableau 3.13 Description de la structure cristalline et des paramètres de mailles des formes cristallines I, II, III et IV du Sulfathiazole. Les structures des formes I, II, III et IV sont données à 150 K d'après la référence³⁰⁷.

La forme cristalline I est rapportée comme étant la forme polymorphique la plus stable à haute température avec une température de fusion de 475 K avec une enthalpie de fusion de 4.99 kcal.mol⁻¹³⁰⁸. Ces mêmes auteurs ont estimé à 469 K la température de fusion de la forme II, associée à une enthalpie de fusion de 0.06 kcal.mol⁻¹. Cette même forme subit aussi une transition partielle vers la forme I à 429 K associée à une enthalpie de transition de 1.51 kcal.mol⁻¹. Aucune fusion des formes III et IV n'a cependant été portée à notre connaissance. Ces formes présentent une transition vers la forme I aux températures respectives de 432 et 411 K avec des enthalpies de transition de 1.66 et 1.97 kcal.mol⁻¹ respectivement³⁰⁸. Du fait des transitions partielles ou totales des formes II, III et IV vers la forme I dans un intervalle de températures très restreint et avec de faibles différences d'enthalpie de transition, l'ordre de stabilité entre les différents polymorphes du Sulfathiazole n'a pas pu être clairement établi expérimentalement. On peut cependant supposer que, puisque seule la forme II subit une transition partielle vers la forme I, cette forme sera plus stable que les formes III et IV.

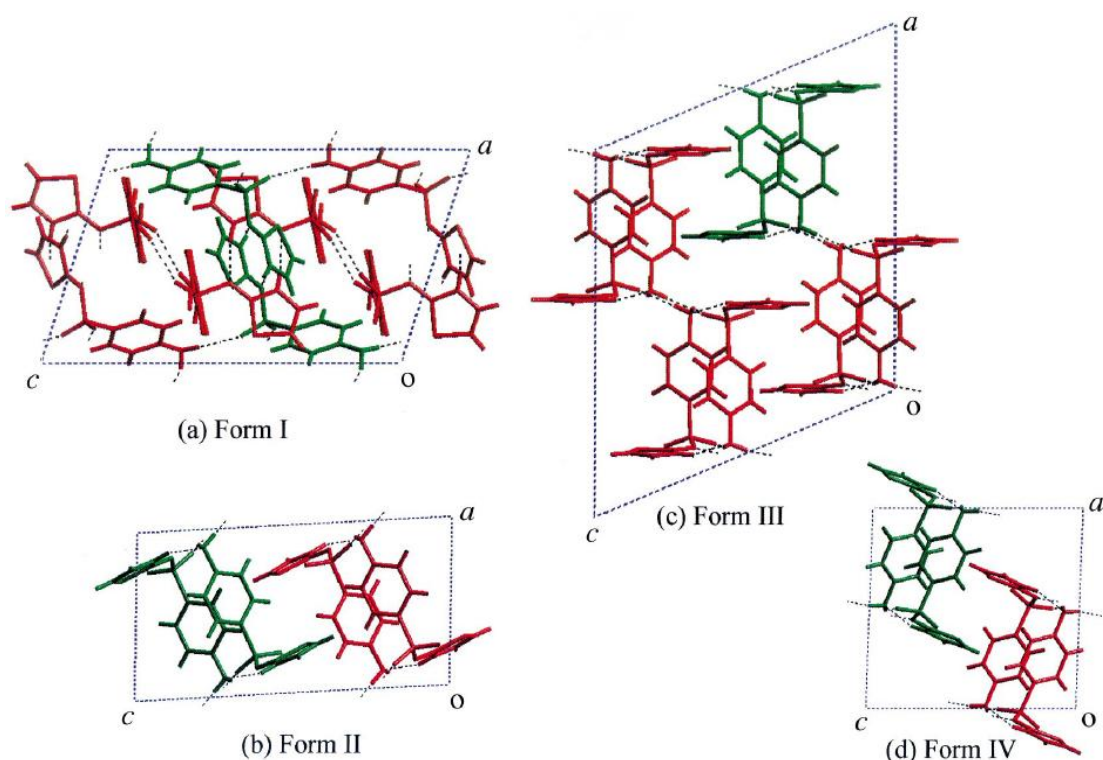


Figure 3.21 Représentation des mailles élémentaires des différentes formes cristallines du Sulfathiazole d'après la référence ³⁰⁴.

3.6.2 Simulations et résultats

Les densités des différentes phases cristallines et liquide du Sulfathiazole obtenues à la suite des simulations dans l'ensemble *NPT* sont représentées dans la Figure 3.22. L'écart entre les valeurs expérimentales et simulées de la densité des différentes formes ne dépasse pas les 0.05 g.cm^{-3} avec une surévaluation de la densité à 150 K de 0.02 g.cm^{-3} pour la forme I et de 0.05 g.cm^{-3} ³⁰⁷ pour les forme II et IV ainsi qu'une sous évaluation de la densité de 0.02 g.cm^{-3} à 150 K ³⁰⁷ dans le cas de la forme III. Malgré ce bon accord entre les simulations et les valeurs expérimentales, et malgré le faible écart de densité observé expérimentalement entre les différentes formes polymorphiques, on observe une inversion de l'ordre de densité entre les formes I et II, avec un écart de 0.01 g.cm^{-3} à 150 K, ainsi qu'entre les formes III et IV avec un écart de 0.04 g.cm^{-3} à 150 K. Aucune donnée expérimentale ne rapporte, à notre connaissance, la densité du Sulfathiazole dans sa phase liquide. Ceci nous empêche donc de comparer directement la densité de la phase liquide avec une valeur expérimentale. De manière similaire, la densité de la phase amorphe simulée est d'environ 0.01

$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ supérieure à celle des formes I et II à 150 K. La forme cristalline I a cependant pu être surchauffée jusqu'à 600 K tandis que les formes cristallines II, III et IV ont pu être surchauffées jusqu'à 525 K, soit respectivement 125 K et 50 K au dessus de la température de fusion expérimentale de la forme la plus stable³⁰⁸. L'évolution de la densité du liquide nous permet de déterminer la température de transition vitreuse simulée du Sulfathiazole à 341 K soit une surévaluation de 7 K par rapport à la température de transition de 334 K déterminée expérimentalement³⁰⁹. La surestimation de la température de transition vitreuse est discutée dans la section 2.2.5.

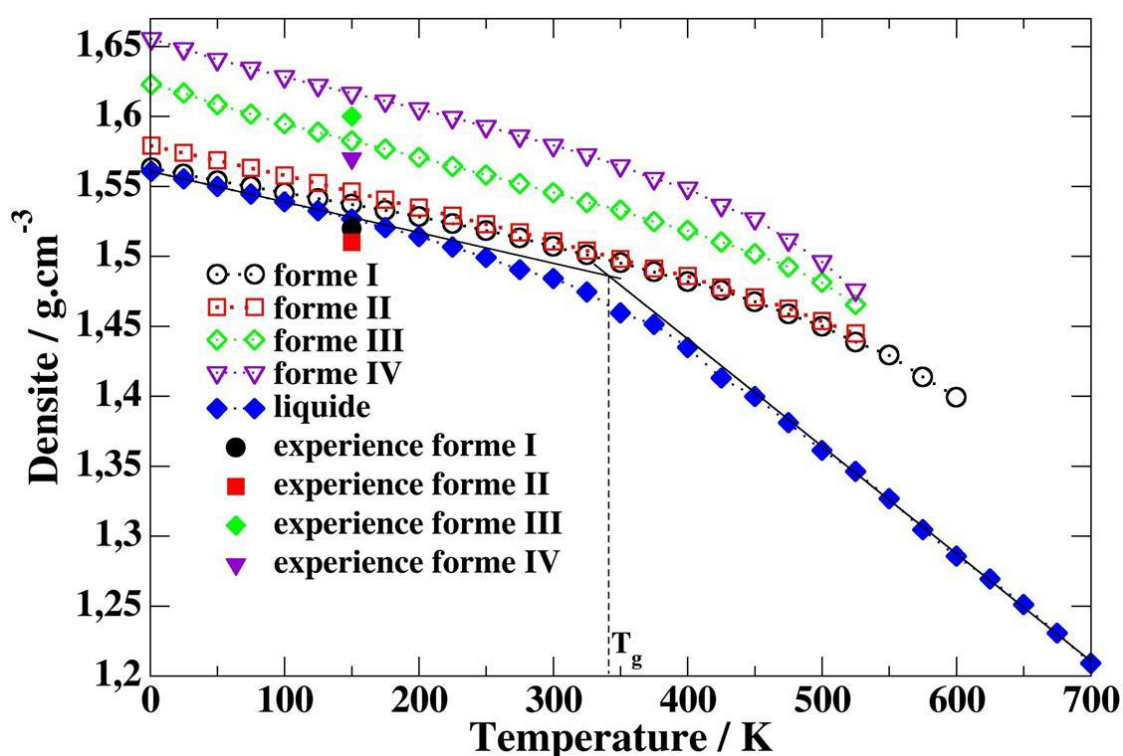


Figure 3.22 Représentation de la densité des différentes phases cristallines (forme I en noir, forme II en rouge, forme III en vert, forme IV en violet) et liquide du Sulfathiazole (en bleu) en fonction de la température.

Un résumé comparatif des paramètres de mailles expérimentaux et simulés des différentes formes cristallines est fourni dans le Tableau 3.14.

forme	a / Å	b / Å	c / Å	α / °	β / °	γ / °	ρ / g.cm ⁻³
I simulation	10,495	12,888	17,128	90	107,77	90	1,53
I expérience	10,534	12,936	17,191	90	107,77	90	1,52
II simulation	8,242	8,589	15,529	90	94,01	90	1,54
II expérience	8,193	8,538	15,437	90	94,01	90	1,51
III simulation	17,511	8,528	15,567	90	112,81	90	1,58
III expérience	17,448	8,498	15,511	90	112,81	90	1,6
IV simulation	10,817	8,501	11,412	90	91,65	90	1,61
IV expérience	10,774	8,467	11,367	90	91,65	90	1,57

Tableau 3.14 Comparaison entre les paramètres de maille expérimentaux et simulés des différentes formes du Sulfathiazole. La structure de la forme I, II, III et IV sont données à 150 K d'après la référence³⁰⁷.

L'application de la méthode 2PT aux polymorphes du Sulfathiazole permet de prédire qu'à haute température, la forme I est plus stable que les autres formes polymorphiques (voir figure 3.23), ce qui est en bon accord avec les observations expérimentales³⁰⁸. A basse température, les prédictions numériques de la méthode 2PT suggèrent une inversion de stabilité entre la forme I et la forme II bien que la différence d'énergie libre entre les deux formes ne dépasse pas les 0.2 kcal.mol⁻¹ à 25 K. Cette différence étant de l'ordre de grandeur de l'erreur estimée pour la méthode 2PT, nous ne pouvons pas conclure sur la validité de cette transition. Nous pouvons cependant remarquer que la différence d'énergie libre de Gibbs entre les formes I et II ainsi qu'entre les formes I et III augmente avec la température. Cette différence entraîne donc une diminution de la stabilité de la forme I relativement aux formes II et III qui est en bon accord avec une inversion possible de la stabilité entre ces formes à des températures inférieures à 100 K. La différence d'enthalpie libre entre les formes I, II, III et IV reste de l'ordre de 1 kcal.mol⁻¹ quelque soit la température et rend donc difficile l'estimation de l'ordre de stabilité entre les formes II, III et IV lorsque la température dépasse les 350 K. En dessous de 350 K, la forme II est prédite comme étant la plus stable des trois formes et la forme IV apparaît comme étant la moins stable. La température de fusion de la forme I est estimée à environ 540 K \pm 100 K avec une enthalpie de fusion d'environ 3 kcal.mol⁻¹, soit une surestimation d'environ 70 K de la température de fusion et une sous évaluation de l'enthalpie de

fusion d'environ 1 kcal.mol^{-1} par rapport aux valeurs expérimentales obtenue par calorimétrie³⁰⁸. Les fortes variations d'énergie libre de Gibbs des formes II, III et IV rendent difficiles la prédiction des températures de fusion de ces formes. On peut cependant estimer que ces températures se situent entre 465 et 505 K pour l'ensemble de ces formes. Dans cette gamme de températures, nous pouvons estimer l'enthalpie de fusion de la forme II à $3.1 \text{ kcal.mol}^{-1}$, celle de la forme III à $2.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$ et celle de la forme IV à $2.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$. En supposant que le décalage observé entre les températures de fusion prédites et expérimentales est constant quelque soit la forme polymorphique et d'environ 70 K (comme dans le cas de la forme I), nous pouvons suggérer que les événements endothermiques observés par calorimétrie entre 411 et 432 K pour les formes II, III et IV (qui ont été suggérées être les températures de transitions entre ces formes et la forme I³⁰⁸) correspondent à des fusions au moins partielles de ces formes métastables suivies de recristallisation de l'échantillon vers la forme I. Si ces événements correspondent bien aux fusions de ces formes, les enthalpies de fusion obtenues par simulation qui y sont associées sont surestimées d'environ 2 kcal.mol^{-1} pour les formes II et III et de $0.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour la forme IV, ce qui reste comparable aux variations observées dans le cadre de la fusion de la forme I. L'incertitude sur l'enthalpie d'une phase cristalline sera supposée égale à l'incertitude issue de la détermination de l'enthalpie avec la méthode 2PT soit donc environ $0.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Un résumé récapitulatif des valeurs prédites et expérimentales des propriétés thermodynamiques de chaque forme est fourni dans le tableau 3.15.

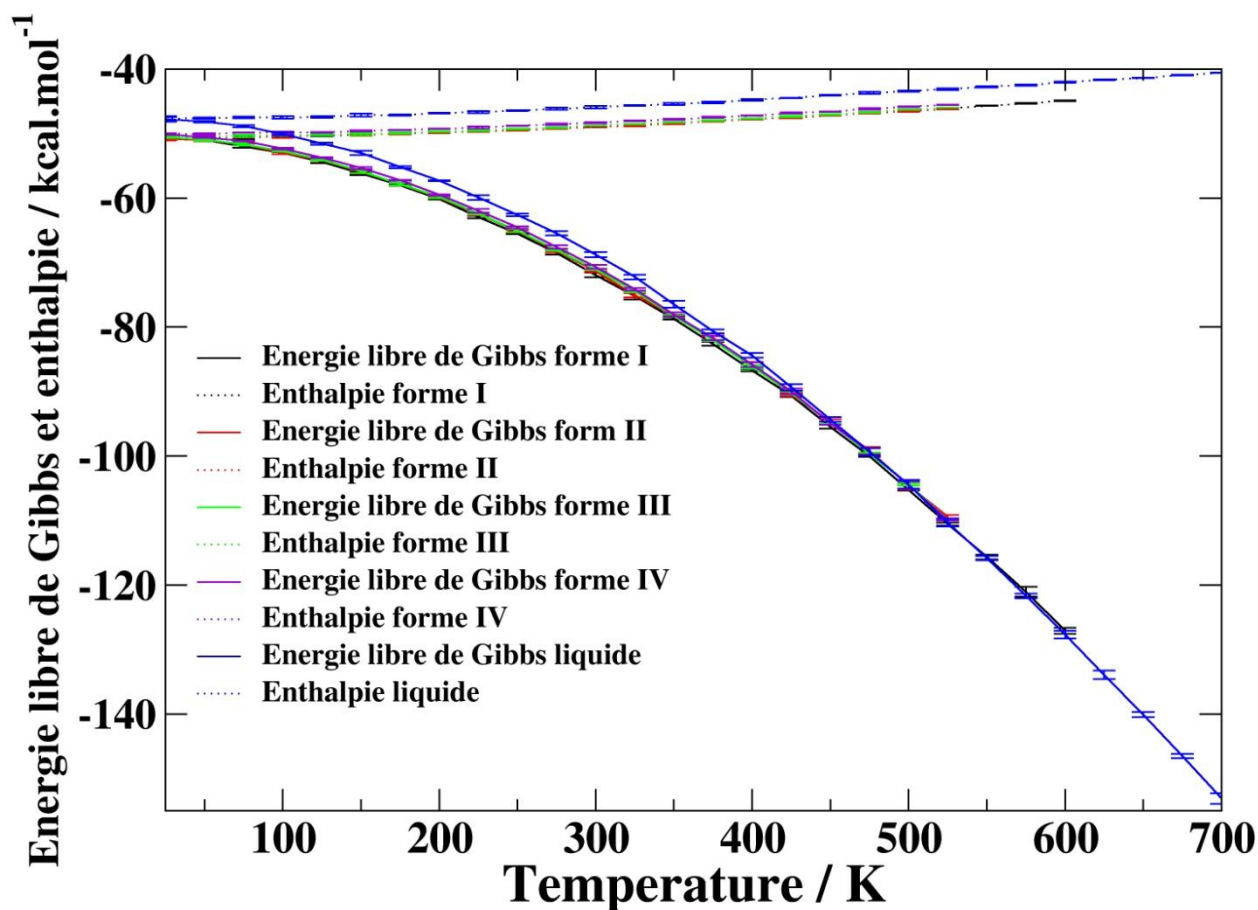


Figure 3.23 Evolution de l'énergie libre de Gibbs et de l'enthalpie en fonction de la température pour les différentes formes polymorphiques du Sulfathiazole avec la forme I en noir, la forme II en rouge, la forme III en vert, la forme IV en violet, et la phase liquide en bleu. L'énergie libre de Gibbs est représentée par des traits pleins tandis que l'enthalpie est représentée par des lignes pointillées. Il doit être noté que les barres d'erreurs sur chaque point sont ajoutées à la figure.

	$T_{m,simulation} / K$	$T_{m,expérience} / K$	$\Delta H_{m,simulation} / kcal.mol^{-1}$	$\Delta H_{m,expérience} / kcal.mol^{-1}$
Forme I	540 ± 100	475	$3 \pm 0,5$	4,99
Forme II	465-505	469	$3,1 \pm 0,5$	-
Forme III	465-505	-	$2,9 \pm 0,5$	-
FormIV	465-505	-	$2,5 \pm 0,5$	-

Tableau 3.15 Comparaison entre des valeurs prédites et expérimentales de la température de fusion T_m et de l'enthalpie de fusion ΔH_m des formes I, II, III, et IV du Sulfathiazole.

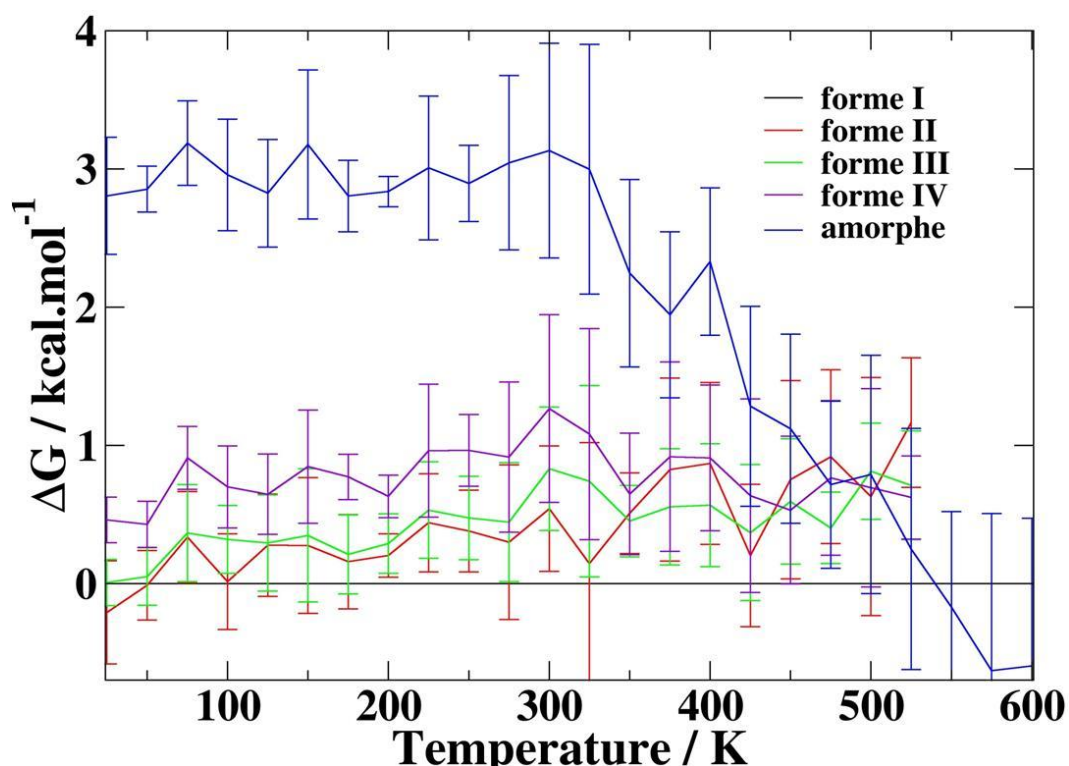


Figure 3.24 Variations numériques des énergies libres de Gibbs entre les formes II et I (en rouge), les formes III et I (en vert), les formes IV et I (en violet), et la forme I et le liquide (en bleu) en fonction de la température. La forme I servant ici de référence est représentée en noir. Les barres d'erreur de chaque point calculé comprennent la somme de l'erreur estimée sur la forme I ainsi que sur la forme avec laquelle la différence d'énergie libre est faite.

Le tableau 3.16 rassemble les estimations des ratios de solubilité de la phase amorphe et des formes polymorphiques II, III et IV par rapport à la forme I à 300 K obtenus dans les conditions suivantes :

- à partir de la méthode à deux phases thermodynamiques.
- à partir des prédictions utilisant les données expérimentales de la température et enthalpie de fusion au sein de l'équation de Hoffman à 303 K¹¹.
- à partir de mesures expérimentales directes^{310, 311} menées à 310 K dans le cas du ratio entre la forme III et la forme I.

Les estimations à partir de la méthode 2PT du ratio de solubilité entre les formes III et I sont

environ deux fois plus importantes que le ratio déterminé expérimentalement. Comme dans le cas des composés précédemment étudiés, cet écart par rapport à l'expérience peut être attribué à la surévaluation des températures et enthalpies de fusion de chaque composé. Malgré ces difficultés, la prédiction numérique du ratio de solubilité entre ces deux formes reste en bon accord avec l'expérience. Il doit être noté que malgré la faible différence entre les énergies libres des formes polymorphiques I, II, III et IV de l'ordre de 1 kcal.mol^{-1} , le gain de solubilité entre ces différentes formes varie de 2 à 8 fois la valeur de la solubilité de la forme la plus stable.

ratio de solubilité	prédiction 2PT	prédiction expérience	expérience (mesure directe)
II / I	2,4	-	-
III / I	4	1,2	1,7
IV / I	8,3	-	-

Tableau 3.16 Comparaison entre les prédictions des ratios de solubilité entre les différentes phases et la forme I obtenues par la méthode 2PT à 300 K, par prédiction en utilisant l'équation de Hoffman à 303 K d'après la référence¹¹ et expérimentalement à 298 K d'après la référence³¹¹.

3.6.3 Conclusion

Les quatre formes polymorphiques connues ainsi que la phase liquide du Sulfathiazole ont été simulées par dynamique moléculaire afin d'obtenir le diagramme de phase à pression atmosphérique. Les simulations dans l'ensemble *NPT* montrent que l'ordre entre les densités des différents polymorphes n'est pas totalement respecté au sein de nos simulations malgré les faibles écarts observés entre les valeurs expérimentales et simulées de la densité. De même, la densité simulée du liquide surfondu semble présenter une surestimation avec une valeur supérieure aux données expérimentales à 150 K. Ces écarts de densité que présentent chacune des phases montrent l'incapacité du champ de force GAFF à reproduire correctement l'intégralité du système. Malgré ces limitations, l'utilisation de la méthode 2PT a permis de retrouver la phase la plus stable de ce système à haute température et de prédire une inversion de stabilité entre les formes I et les formes II à très basse température. Cette méthode suggère que les événements endothermiques observés

expérimentalement par mesures calorimétriques associés aux formes polymorphiques II, III et IV comme étant les fusions de ces formes et non les transitions entre ces formes et la forme I tel que cela a été précédemment suggéré³⁰⁹.

3.7 Conclusion

Ce chapitre avait pour objectif de valider l'utilisation et d'évaluer la capacité de la méthode à deux phases thermodynamiques (2PT) de prédire numériquement le diagramme de phase de systèmes constitués de molécules complexes présentant un intérêt pharmaceutique. La majorité des formes polymorphiques de l'Indométacine, du Paracétamol, du Carbamazépine et du Sulfathiazole ont été simulées puis analysées. Les propriétés thermodynamiques de ces systèmes ont pu être reproduites fidèlement sur une large gamme de températures. Dans chaque cas, la comparaison avec les observations expérimentales nous a permis de valider les capacités prédictives de la méthode 2PT.

A l'aide de simulations de systèmes formés des polymorphes connus de l'Indométacine, du Paracétamol, du Carbamazépine et du Sulfathiazole, nous avons donc montré la capacité de la méthode 2PT à reproduire les diagrammes de phases de composés organiques complexes. Dans chaque cas, la phase cristalline définie comme stable par l'expérience a été trouvée avec succès par cette méthode à haute température, malgré les inversions entre stabilité et densité que présentent certains systèmes tels que le Paracétamol, l'Indométacine et le Carbamazépine.

Cette méthode a également permis de prédire une transition entre la phase la plus stable et une phase métastable à haute température dans le cas du Carbamazépine et du Sulfathiazole. Ces prédictions devront évidemment être confirmées par une étude expérimentale.

Nous avons également mis en évidence l'aptitude de la méthode 2PT à reproduire l'ordre de stabilité de polymorphes ayant de faibles différences d'énergie entre eux, en général de l'ordre de 1 kcal.mol⁻¹, et le bon accord avec les expériences et simulations de détermination et prédiction structurale.

Une surestimation de la température de fusion par rapport aux résultats expérimentaux allant jusqu'à 70 K a cependant été observée au sein de nos systèmes (voir figure 3.25). De telles surestimations sont fréquemment observées lors de tentatives de détermination de la température de fusion à l'aide de simulations numériques⁶⁰. De même, une sous évaluation de l'enthalpie de fusion pouvant atteindre 3 kcal.mol⁻¹ par rapport aux valeurs expérimentales apparaît de manière quasi systématique dans nos simulations.

Ces différences peuvent sans doute trouver une partie de leur explication dans la méthode 2PT et dans la limite du champ de forces utilisé pour la représentation de certaines formes polymorphiques. On peut également invoquer la vitesse de refroidissement de la phase liquide imposée par la durée limitée des simulations de dynamique moléculaire (décrite dans la section 2.2.5), produisant ainsi des états vitreux de plus hautes énergies et de plus basses densités que ceux observés expérimentalement. Il ne semble cependant pas possible de corrélérer les comportements observés entre les surestimations des températures de fusion et de transition vitreuse. En effet, malgré un décalage constant d'environ 80 K entre les températures de transition vitreuses simulées et expérimentales, une forte dispersion est observée entre les températures de fusions simulées et expérimentales. Par exemple, seul le Sulfathiazole montre une température de transition vitreuse simulée en bon accord avec l'expérience mais de forts écarts sont observés entre les températures de fusion simulée et expérimentales de ses formes polymorphiques. Cet écart est similaire à celui déterminé dans le cas de l'Indométacine et supérieur à ceux des polymorphes du Paracétamol. De même, les exemples des formes I et II du Paracétamol et du Sulfathiazole montrent clairement l'absence de corrélation entre la température à laquelle la transition vitreuse se produit au sein de nos simulations et la variation observée entre les températures de fusion. Ces résultats suggèrent que si un décalage des températures de fusion peut venir du piégeage du système dans un état de haute énergie, cet effet se produit à plusieurs centaines de Kelvins de la température de transition vitreuse simulée. Cette hypothèse est liée à la fragilité des composés étudiés (voir Chapitre 1.2) et suppose que l'écart observé entre les températures de fusion simulées et expérimentales diminueront

lorsque la fragilité augmente. L'importance que l'on peut attribuer intuitivement à l'impact de la succession des états dans lesquels le système se fige sur les températures de fusion prédites nous incite cependant à ne pas rejeter la relation possible entre la simulation de la transition vitreuse au sein de notre phase liquide et le décalage observé entre les températures de fusion prédites et expérimentales et une étude complémentaire s'avère nécessaire, prenant notamment en compte des composés de différentes fragilités.

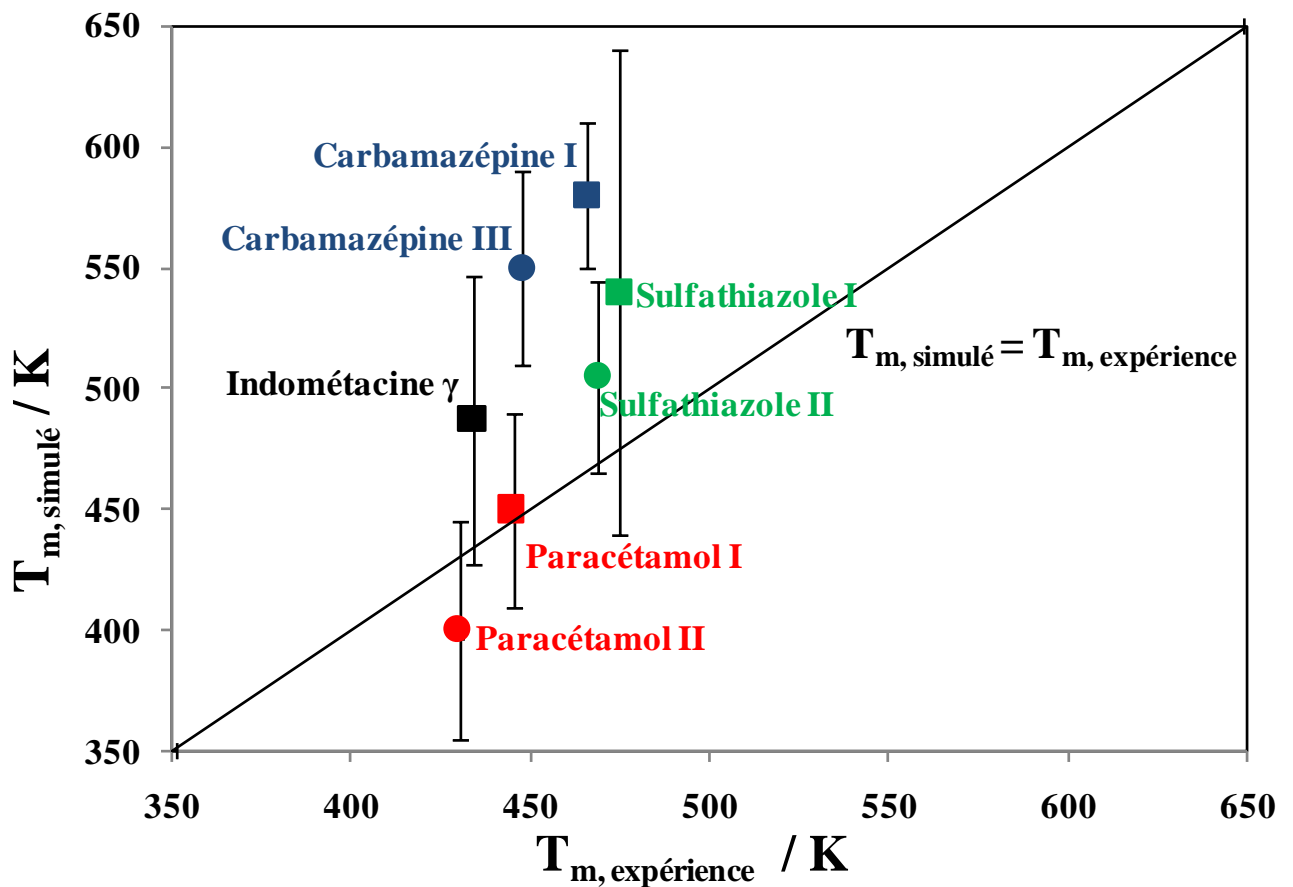


Figure 3.25 Représentation des températures de fusions prédites via la méthode 2PT en fonction des températures de fusion observées expérimentalement.

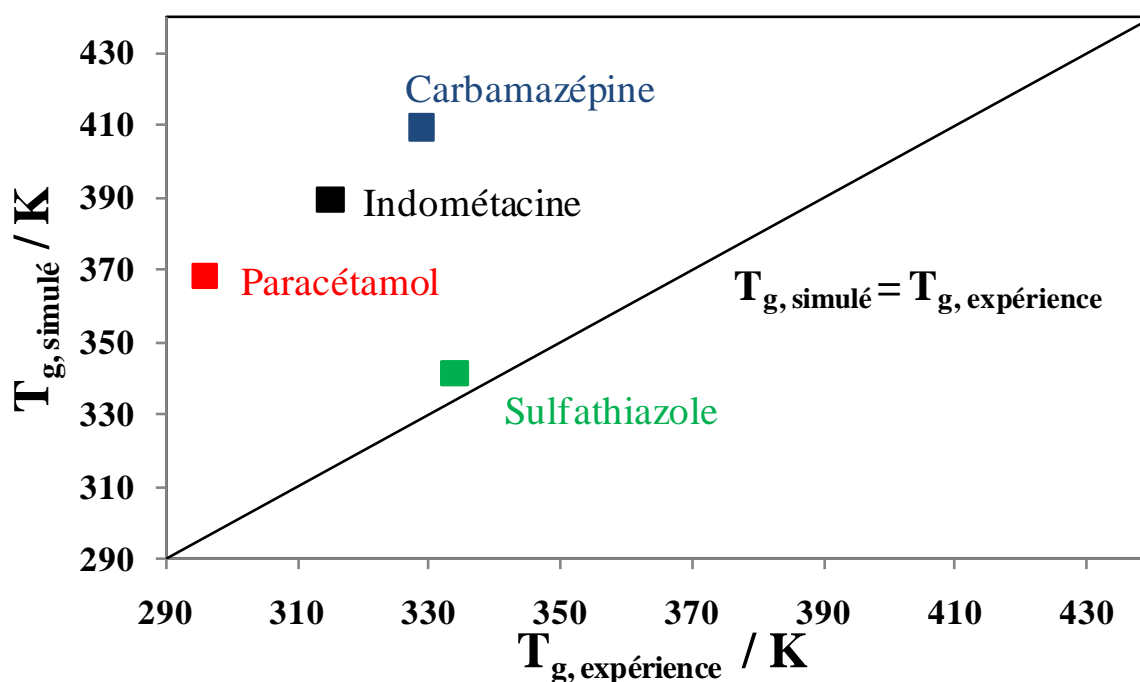


Figure 3.26 Représentation des températures de transition vitreuse déterminées par simulation de dynamique moléculaire en fonction des températures de transition vitreuses observées expérimentalement.

Bien que l'équation de Hoffman ait déjà montré ses limites dans la détermination du ratio de solubilité sur la base des valeurs expérimentales de l'enthalpie et de la température de fusion, son utilisation suite à l'application de la méthode 2PT est, non seulement limitée à basse température par la divergence de cette équation, mais également à haute température par le décalage des prédictions des températures et enthalpies de fusions des différentes formes. En effet, il doit être noté que malgré la faible différence entre les énergies libres des formes polymorphiques I, II, III et IV du Sulfathiazole qui a été trouvée inférieure à 1 kcal.mol^{-1} , le gain de solubilité entre ces différentes formes s'étend de 2 à 8 fois la valeur de la solubilité de la forme la plus stable. Cette sensibilité limite fortement l'utilisation de la méthode 2PT dans la détermination du ratio de solubilité entre différentes formes polymorphiques. Les prédictions effectuées avec la méthode 2PT ont cependant permis de définir les événements endothermiques observés expérimentalement par mesures calorimétriques sur les formes polymorphiques II, III et IV comme étant probablement des fusions partielles de ces formes suivies de recristallisation et non les transitions de phase entre ces formes et

la forme I tel que cela a été précédemment suggéré. La rapidité et la fiabilité de la méthode 2PT montrent que son utilisation combinée à des méthodes de prédictions structurales peut permettre, non seulement la découverte de nouveaux polymorphes d'un composé donné, mais également la détermination de leur propriétés thermodynamiques et ainsi guider la recherche pharmaceutique sur les polymorphes.

La possibilité de connaître le diagramme de phases de systèmes polymorphiques composés de molécules complexes constitue une première étape importante et nécessaire dans l'obtention d'une description complète de la physique des transitions de phases d'un système, Les paramètres cinétiques n'ont pas encore été considérés. Par exemple, on ne pourra déterminer la durée d'existence d'une phase métastable, ou simplement les conditions de cristallisation d'une phase donnée et une étude séparée de ces paramètres cinétiques doit être menée en ce sens. Les paramètres cinétiques liés à une transition de phase sont variés et dépendent de la transition étudiée. Les recherches concernant les conditions de nucléation et de croissance de polymorphes cristallins se faisant principalement en milieu aqueux, les effets déstructurants que l'interface aura sur l'eau d'hydratation et l'agrégation du principe actif feront parti des nombreux facteurs cinétiques à devoir être pris en compte et font l'objet des chapitres 4 et 5 respectivement.

Chapitre 4 Propriété de l'eau à l'interface de matériaux cristallins et amorphes

4.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous abordons l'influence des surfaces hydrophiles et hydrophobes sur l'eau d'hydratation, et en particulier leurs effets destructurants. Ces effets sont amenés à jouer un rôle primordial sur les cinétiques de cristallisation, sur la croissance de cristaux à partir de solutions aqueuses ainsi que sur les cinétiques de dissolution des principes actifs. L'impact résultant de la présence de groupes polaires ou de la rugosité des surfaces en contact avec l'eau a largement été étudié^{312, 313, 314, 315, 316}. Une investigation détaillée des différences de déstructuration entre surfaces amorphes et cristallines dans les cas hydrophiles et hydrophobes n'a cependant pas encore été réalisée, ce qui motive le travail décrit dans ce chapitre.

Cette étude nous permet de préciser l'impact de la cristallinité sur la déstructuration de l'eau d'hydratation et ses anomalies dynamiques en simulant explicitement les molécules des interfaces et celles du solvant. Un confinement important est imposé à l'eau d'hydratation du fait de l'emploi de conditions aux limites périodiques (voir Chapitre 2) dans nos systèmes. Celui-ci nous a contraint à étudier l'évolution des propriétés des systèmes simulés suivant différents degrés de confinement afin d'en déduire l'influence sur l'évolution de la structure, la dynamique et la thermodynamique de l'eau. Finalement la détermination de l'entropie de l'eau à l'aide de la méthode 2PT (voir Chapitre 2), nous permet de lier son évolution à celle de la structure et de la dynamique de l'eau en fonction de la distance entre l'eau et la surface afin de préciser l'importance relative des contributions énergétiques et géométriques sur les origines des anomalies dynamiques.

Après avoir rappelé les concepts fondamentaux de notre étude dans la suite de cette introduction puis présenté les configurations et conditions de simulations utilisées dans ce chapitre, nous abordons l'étude de la densité de l'eau d'hydratation. Cette information nous permettra de nous

assurer de la bonne représentation de l'hydratation dans nos milieux fortement confinés. Nous nous intéressons ensuite à la structure de l'eau d'hydratation avec l'étude de la tétraédralité et l'évolution du réseau de liaisons hydrogènes en fonction de la distance avec l'interface. Une étude des dynamiques translationnelle et rotationnelle des molécules d'eau et de leurs anomalies est ensuite présentée. Nous terminons notre étude par la détermination de l'entropie associée aux différentes couches d'hydratation et ses influences sur les origines des anomalies dynamiques.

Les interactions entre l'eau et la surface des principes actifs, ou excipients, que ces surfaces soient hydrophiles ou hydrophobes, jouent un rôle majeur à la fois dans les processus d'agrégation et de dissolution de ces composés. Ces processus ne se limitent, bien sûr, pas qu'aux matériaux composés de petites molécules et s'étendent aux biomolécules (peptides, protéines...) ^{312, 313, 314, 315, 316}. Pour ces raisons, un grand nombre de simulations et d'expériences ont été menées pour préciser la structure, la dynamique et la thermodynamique de l'eau à la proximité de surfaces hydrophiles ou hydrophobes. Dans le cas de simulations d'eau confinée entre deux surfaces de principe actif, on s'attend naturellement à observer une influence de la rugosité de la surface et de la présence de groupes polaires sur les interactions avec l'eau. Ce type d'interaction tend de façon générale à ralentir la dynamique rotationnelle et translationnelle de l'eau. Les mécanismes physiques impliqués restent cependant mal compris et rien n'indique la portée à laquelle la surface peut modifier la dynamique de l'eau et si cela se produit, par quels moyens cela intervient. On peut par exemple penser à l'intervention d'interactions à longue portée (donc directe), via par exemple les potentiels électrostatiques, modifiant le réseau de liaisons hydrogènes de l'eau et engendrant un gel de la dynamique sur plusieurs couches d'eau à partir de l'interface. Ce type d'effet peut être observé par l'étude des dynamiques translationnelle et rotationnelle en fonction de la distance entre l'eau et la surface. La dynamique de l'eau à la proximité de surfaces biologiques et organiques montre un ralentissement par rapport à l'eau de volume et présente un comportement singulier incluant un régime de diffusion dispersif (caractérisé par une densité de probabilité non gaussienne de la distribution des déplacements ³¹⁷) et un ralentissement de la dynamique rotationnelle. L'origine de

ces comportements divise cependant les opinions^{97, 113, 108}. Par exemple, il n'est pas clairement établi que l'origine de la diffusion dispersive de l'eau de surface vienne d'un désordre géométrique (du fait de la géométrie fractale de la surface) ou alors d'un désordre énergétique (aussi dit temporel) qui trouve son origine dans les multiples minima locaux d'énergie dans le paysage énergétique exploré par les molécules d'eau en contact avec la surface^{108, 109, 318, 319}.

Les matériaux amorphes ont fait l'objet de nombreuses études au cours des dernières dizaines d'années pour leur capacité à améliorer la dissolution d'un grand nombre de principes actifs extrêmement peu solubles²³². A l'heure actuelle, aucune étude n'a été menée pour estimer, de manière quantitative ou qualitative, les différences produites par les surfaces amorphes et cristallines des principes actifs sur la structure et la dynamique de l'eau. La dissolution améliorée dans le cas d'un solide amorphe par rapport à celle d'un solide cristallin, semble cependant indiquer que la géométrie de la surface reste un facteur primordial dans les processus de dissolution, en particulier dans le cas où l'effet déstructurant de l'interface, cristalline ou amorphe, sur l'eau d'hydratation reste confinée aux premières couches d'hydratation. Des simulations de dynamique moléculaire des expériences de résonance magnétique nucléaire ont montré qu'en présence d'une interface, seule les molécules en contact direct avec la surface ont une dynamique fortement perturbée par rapport à l'eau de volume^{314, 315, 316}. L'utilisation de la spectroscopie infrarouge ultra rapide (de l'ordre de la femtoseconde) a montré que la géométrie du système étudié avait moins d'effet sur la structure de l'eau que la surface elle-même et que la perturbation de l'eau induite par une surface dans le cas de structures lamellaires et de micelles inversées n'est que de faible portée³²⁰. L'étude de l'interface entre un principe actif, dans ses phases cristallines et amorphes, et l'eau peut ainsi permettre de déterminer la part que prend la géométrie de l'interface dans la modification de la dissolution par rapport aux autres paramètres tels que l'énergie de cohésion du cristal. La connaissance de l'effet déstructurant de l'interface d'un composé hydrophile peut aussi apporter des informations sur le comportement d'un composé possédant une bonne solubilité aqueuse ainsi que l'identification des parts respectives entre l'affinité du composé avec l'eau et sa cristallinité. De bons

exemples de composés solubles hydrophiles sont les sucres utilisés comme excipients dans l'industrie pharmaceutique. Ces sucres, comme le Tréhalose, sont utilisés comme additifs protecteurs lors de procédés de lyophilisation. L'étude de solutions eau/Tréhalose par diffusion neutronique, spectroscopie Raman et dynamique moléculaire, ont montré que l'effet du Tréhalose sur la structure de l'eau consiste en une déstructuration du réseau tétraédrique formé par les liaisons hydrogènes de l'eau évitant la formation de glace très défavorable à la stabilité des biomatériaux^{321, 322}. Les effets déstructurant des surfaces hydrophiles et hydrophobes sur l'eau confinée ont largement été étudiés par simulation de dynamique moléculaire. Ces simulations ont montré que la structuration de l'eau en présence d'une surface hydrophile est un phénomène à longue portée et que les phénomènes de structuration ne sont pas spécialement représentatifs des surfaces hydrophobes³²³. De telles observations sont toutefois en contradiction avec les résultats de précédentes simulations montrant que les perturbations de l'eau par des surfaces hydrophiles et hydrophobes n'ont lieu qu'à courte portée³²⁴.

L'effet de la présence d'une surface sur l'eau d'hydratation ne se limite pas aux seules perturbations de sa structure. L'étude de la dynamique rotationnelle a ainsi montré que l'eau à la surface d'une protéine est contrôlée par ses interactions électrostatiques avec la surface tandis que les liaisons hydrogènes formées entre l'eau et la protéine détruisent la nature quasi isotrope de la relaxation dipolaire, comme on l'observe dans l'eau pure³²⁵. D'autre part, le ralentissement de la dynamique rotationnelle à proximité de la surface a été attribué aux conditions stériques induisant une incapacité de la part des molécules d'eau à la surface de trouver de nouveaux partenaires pour se lier par liaison hydrogène³²⁶. Cette description ne relie pas ce ralentissement à un accroissement de l'énergie des liaisons hydrogènes entre l'eau et la surface, ce qui a, par la suite, été prouvé³²⁷ en incluant à la théorie de l'état de transition des considérations de volume exclu lié à la présence de la surface. Ce ralentissement de dynamique est expliqué par une modification des échanges entre liaisons hydrogènes au sein de l'eau du fait de la modification de la barrière énergétique d'activation de formation de ces liaisons³²⁷.

Une comparaison des dynamiques translationnelles des molécules d'eau au contact de surfaces hydrophiles et hydrophobes étendues a précédemment permis d'interpréter la diminution du coefficient de diffusion proche des surfaces hydrophiles comme une conséquence de la structuration de l'eau en couches sur de longues distances, tandis que la dynamique translationnelle de l'eau, dans le cas de surfaces hydrophobes, est décrite comme accélérée par rapport à l'eau³²³.

4.2 Systèmes étudiés et détails des simulations

4.2.1 Systèmes étudiés

L'étude de l'effet de l'hydrophobicité d'un principe actif sur l'eau a été réalisée en choisissant la Griséofulvine comme système modèle. La Griséofulvine est un principe actif antifongique³²⁸ qui peut être employé pour traiter à la fois les infections humaines et vétérinaire de la peau telles que tinea pedis (aussi connu sous le nom pied d'athlète), tinea capitis ...³²⁹. L'utilisation de cette molécule a aussi récemment été proposée comme traitement potentiel de certains cancers^{330, 331}.

La Griséofulvine, de formule $C_{17}H_{17}ClO_6$, cristallise dans une phase tétragonale avec un groupe d'espace $P4_1$, de paramètres de maille : $a=b=8.967 \text{ \AA}$, $c=19.904 \text{ \AA}$ pour $Z=4$ ³³². Le cristal de Griséofulvine fond à 220 °C et la température de transition vitreuse de ce composé est d'environ 91 °C^{332, 333}. Ce principe actif est très peu soluble dans l'eau avec une solubilité de sa forme cristalline dans l'eau estimée à 64 µg/ml à 25 °C³³⁴. Cette faible solubilité aqueuse entraîne une faible biodisponibilité lorsque la molécule est administrée par voie orale sous sa forme cristalline. Pour cette raison, la Griséofulvine est répertoriée comme médicament de classe II, c'est à dire dont la biodisponibilité n'est limitée que par la faible dissolution, par le système de classification biopharmaceutique (BCS). Il s'agit donc d'un principe actif insoluble dans l'eau qui, une fois dissout, est bien absorbé par l'appareil digestif³³⁵.

L'amélioration de la solubilité de la Griséofulvine présente un fort intérêt et ce composé a fait l'objet de plusieurs études. La plupart des techniques qui ont été utilisées, telles que la dispersion solide, ont pour effet de transformer la forme cristalline de la Griséofulvine en une phase

amorphe^{336, 337}. Zhu et al ont montré que, pour la Griséofulvine, la croissance d'une phase cristalline à partir d'une phase amorphe, et ce à des températures inférieures à la température de transition vitreuse, est caractérisée par deux étapes avec, dans un premier temps, une rapide croissance de la phase cristalline à la surface de la phase amorphe, puis, dans un deuxième temps, une croissance de la phase cristalline au sein même de la phase amorphe³³⁸.

Afin de quantifier et interpréter l'action de la Griséofulvine sur son eau d'hydratation, des simulations de dynamique moléculaire ont été réalisées dans les mêmes conditions de la Griséofulvine et avec du Tréhalose, un excipient hydrophile très largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Le Tréhalose (α -D-glucopyranosyl-(1-1)- α -D-glucopyranoside) est un sucre naturel qui est synthétisé par certaines bactéries, champignons, plantes et animaux invertébrés. Le rôle du Tréhalose au sein de tels organismes peut être à la fois celui de source d'énergie et de protecteur naturel contre le gel et la déshydratation³³⁹. Le Tréhalose possède des propriétés physiques et chimiques qui le différencient des autres sucres du fait de la présence d'unités glucosidiques liés de manière symétrique et de l'absence de groupes réducteurs. En plus de ces caractéristiques, une méthode de production en masse à moindre coût du Tréhalose à partir d'amidon a fait du Tréhalose une molécule attractive pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires depuis que le Tréhalose a été montré sans danger pour une utilisation en tant qu'aliment en accord avec les recommandations actuelles des Pratiques de Fabrication³⁴⁰. Un des principaux avantages du Tréhalose vient de sa solubilité aqueuse, estimée à 68.9 g pour 100 g d'eau à 20 °C³⁴⁰.

La forme cristalline anhydre du Tréhalose, est une structure monoclinique de groupe d'espace ($P2_1$) contenant deux molécules de Tréhalose par maille avec les paramètres de maille suivants : $a=12.971 \text{ \AA}$, $b= 8.229 \text{ \AA}$, $c=6.789 \text{ \AA}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=98.12^\circ$ et $\gamma=90^\circ$. Tous les groupes hydroxyles de cette structure sont liés par des liaisons hydrogènes de même que les oxygènes de chaque cycle³⁴¹. Cette phase fond à la température de 215°C³⁴¹. Le Tréhalose dispose d'une température de transition vitreuse de 106°C³⁴².

La Griséofulvine et le Tréhalose ont été simulés dans leurs états amorphes et cristallins en présence de molécules d'eau. Deux modèles d'eau, SPC/E³⁴³ et TIP3P¹⁷¹, sont très utilisés dans la littérature pour représenter l'eau d'hydratation. Pour notre étude, le modèle TIP3P a été choisi pour représenter les molécules d'eau dans le système. Le choix de TIP3P est basé sur le fait que les paramètres de la plupart des champs de force (CHARMM, AMBER, GAFF) ont été développés pour une solvation avec ce modèle d'eau (voir Chapitre 2). Le modèle SPC/E impose de plus une structure locale de l'eau très rigide avec une forme tétraédrique parfaite^{343, 344} ce qui est très contraignant pour des simulations avec un ancrage fort à une surface et n'a donc pas été retenu pour ces simulations. Les boîtes d'eau, de Griséofulvine et de Tréhalose, amorphe ou cristallin, sont construites séparément et sont ensuite accolées suivant l'une de leurs sections. Cette construction permet d'étudier le comportement de l'eau à l'interface avec le matériau et en fonction de la distance par rapport à celui-ci. En prenant en compte les conditions aux limites périodiques, les boîtes de simulation forment une succession infinie de bicouches matériau/eau dont un exemple avec le cristal et l'amorphe de Griséofulvine est représenté sur la figure 4.1. Le confinement extrême qu'impose la petite taille des boîtes de simulation en dynamique moléculaire engendre des effets qui ont largement été étudiés à la fois sur les propriétés dynamiques et structurales des systèmes^{312, 313, 314, 315, 316, 324, 345, 346, 347, 348}. Afin de distinguer les effets du confinement et de la surface qui pourraient être observés sur l'eau d'hydratation, chaque système (eau/Griséofulvine et eau/Tréhalose) a été construit avec deux confinements différents en modifiant le nombre des molécules d'eau. A deux systèmes équivalents en termes d'hydrophobicité et de cristallinité (même composé chimique pour représenter le matériau et même phase), les boîtes ayant la plus petite taille sont par la suite décrites comme ayant un confinement fort et celles dont la taille est la plus grande seront décrites comme ayant un confinement faible, bien que par rapport à l'expérience toutes deux sont dans des conditions de confinements extrêmement forts (de l'ordre de la dizaine de nanomètre). Il faut souligner que la dimension minimale de la boîte de simulation est contrainte par le rayon de coupure utilisé pour le calcul des forces intermoléculaires non liantes (voir Chapitre 2). Chaque

bloc de composé (Griséofulvine ou Tréhalose) ou d'eau ne doit en effet pas interagir avec sa réplique dans une boîte voisine. Le composé ne devant pas interagir avec sa réplique dans la direction du confinement impose une taille minimale au bloc d'eau dans cette direction. Le même principe s'applique à l'eau et impose une taille minimale au bloc de composé. Dans les deux autres directions de l'espace, les atomes ne doivent pas interagir avec leur réplique dans les boîtes répliquées par conditions aux limites périodiques. Le calcul des forces intermoléculaires non liantes impose naturellement une taille minimum dans toutes les directions.

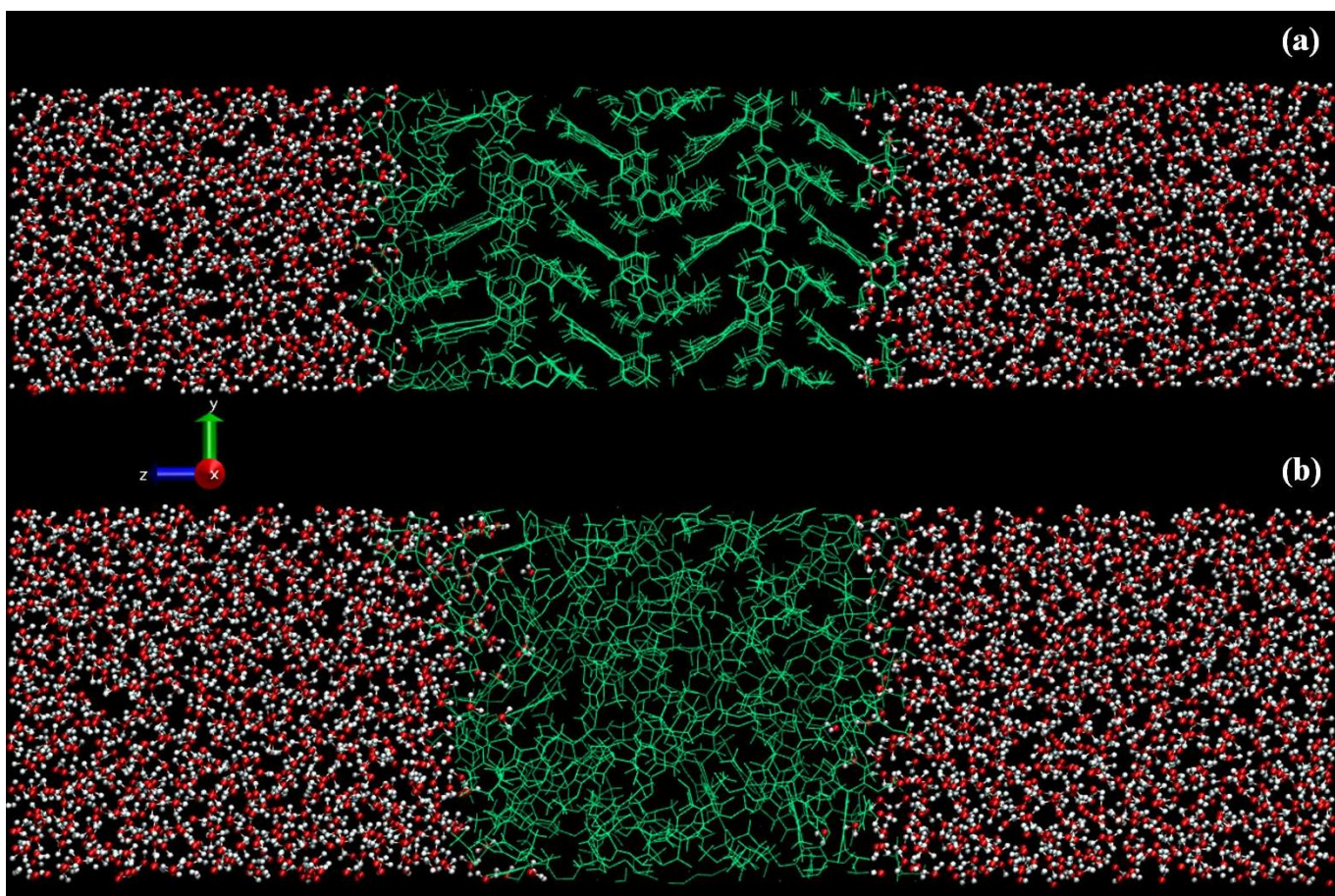


Figure 4.1 Exemples de construction en bicouche avec la configuration de départ des simulations dans l'ensemble NVT pour (a) la boîte simulant 72 molécules de Griséofulvine dans la phase cristalline et 1608 molécules d'eau du modèle TIP3P et (b) la boîte simulant 64 molécules de Griséofulvine dans la phase amorphe et 2136 molécules d'eau du modèle TIP3P.

4.2.2 Paramètres et préparation des simulations

Les topologies de la Griséofulvine et du Tréhalose ont été créées à l'aide des paramètres du

champ de force General Amber Force Field (*GAFF*).¹⁷² Les distributions de charges ont été calculées avec Gaussian²³⁰ à l'aide de la fonctionnelle HF/6-31G*. Les simulations dans l'ensemble isobare-isochore *NPT* ont été réalisées avec les thermostats et barostats de Berendsen avec des temps de relaxation respectifs de 0.2 ps et 2 ps. Le rayon de coupure des interactions de van der Waals et électrostatiques a été porté à 10 Å. Le calcul des interactions électrostatiques a été effectué à l'aide de la méthode du champ de réaction. La valeur de la constante diélectrique ϵ_{RF} du milieu homogène a été choisie à 5 dans le cas des composés (Griséofulvine et Tréhalose) seuls et 80 lorsque ceux-ci sont en contact avec l'eau. Cette valeur de la constante diélectrique proche de celle de l'eau a été choisie pour représenter le plus fidèlement possible la structure et la dynamique de l'eau sans ajouter d'artefacts de simulation du seul fait du calcul des interactions électrostatiques³⁴⁹. Ces simulations ont été réalisées à une pression d'une atmosphère avec un pas de temps d'une femtoseconde pour l'intégration des équations du mouvement.

Les simulations dans l'ensemble *NVT* présentées utilisent les mêmes paramètres que les simulations dans l'ensemble *NPT*, sauf mention contraire.

Les structures de départ des formes cristallines ont été récupérées auprès du Cambridge Crystallographic Data Centre. Des boîtes contenant 54 molécules de Tréhalose³⁴¹ et 72 molécules de Griséofulvine en phase cristalline³³² ont été créées, puis leur énergie a été minimisée à 0 K. Elles ont ensuite été portées à 300 K par pas de 100 K à l'aide de simulations successives dans l'ensemble *NPT* d'une durée de 200ps. Les configurations de départ pour les boîtes amorphes ont été réalisées en plaçant 54 molécules de Tréhalose ou 64 molécules de Griséofulvine de manière aléatoire. Elles ont ensuite été refroidies de 700 K à 300 K par pas de 10 K à l'aide de simulations successives de 200 ps dans l'ensemble *NPT*. Dans chaque cas, la densité moyenne et les paramètres de maille moyens de la boîte de simulation à 300 K ont été déterminés à partir des 100 dernières picosecondes de la simulation à 300 K.

Pour les blocs d'eau qui seront accolés aux blocs de Griséofulvine ou de Tréhalose, nous avons utilisé une boîte d'eau contenant 11115 molécules d'eau et qui a été stabilisée durant 500 ps à

300 K dans l'ensemble *NPT*. Nous avons choisi arbitrairement d'accoler les blocs d'eau et de Griséofulvine ou de Tréhalose suivant l'axe z du système (voir figure 4.1). En première approximation, ce choix n'importe pas dans le cas de la phase amorphe mais contraint l'interface au plan réticulaire [001] des deux cristaux. La direction z de la boîte de simulation ainsi définie peut, dans une première approximation, être considérée comme la normale à l'interface des deux composés. La boîte d'eau est ajustée dans les directions x et y pour correspondre aux dimensions de la boîte de composé pharmaceutique. Les deux boîtes, d'eau et de composé pharmaceutique, sont ensuite accolées avec une séparation de 3 Å entre elles pour éliminer les recouvrements des positions atomiques de chaque molécule. L'eau de la boîte ainsi formée est stabilisée à la suite d'une simulation dans l'ensemble *NPT* pendant 20 ps en gelant les mouvements du composé pharmaceutique. L'ensemble de la boîte (l'eau et le composé) est ensuite relaxé dans l'ensemble *NPT* pendant 2 ns. La moyenne des paramètres de maille de la boîte est ensuite utilisée pour effectuer les simulations dans l'ensemble *NVT*. Les analyses portant sur des propriétés pour lesquelles une moyenne temporelle est appliquée ont été réalisées sur des simulations de 10 ns avec un pas d'intégration de 1 fs et une sauvegarde des configurations toutes les picosecondes. Les analyses portant sur des autocorrélations temporelles ont été réalisées sur des simulations de 300 ps avec un pas d'intégration de 0.5 fs et une sauvegarde des configurations toutes les 10 fs. Le calcul de l'entropie a été réalisé sur des simulations de 60 ps avec un pas d'intégration de 0.5 fs et une sauvegarde des configurations à chaque pas.

Pour comparer les résultats avec une référence indépendante des conditions de simulation, une boîte comportant 512 molécules d'eau du modèle TIP3P a également été simulée dans les mêmes conditions que les boîtes contenant l'eau et le composé pharmaceutique.

4.3 Effet sur les propriétés structurales

4.3.1 Profil de densité

Le profil de densité du solvant en fonction de sa distance par rapport au composé

pharmaceutique permet dans un premier temps de vérifier l'organisation souhaitée de la boîte de simulation. La plupart des propriétés structurales d'un système étant liées à la densité du composé, la connaissance de cette dernière permet d'avoir une première idée de l'influence du composé pharmaceutique sur la structure de l'eau. Nous verrons par la suite que la valeur de la densité permet de discriminer parmi plusieurs hypothèses lors de l'interprétation de l'évolution d'un paramètre donné : ordre tétraédrique, diffusion, entropie... . La Figure 4.2 représente la densité du solvant dans la boîte de simulation, centrée sur le centre de masse des molécules de composé pharmaceutique, en fonction de sa position suivant l'axe z avec une résolution de 0.2 Å. Il apparaît clairement que le profil de densité du solvant dépend de l'affinité du composé pharmaceutique avec l'eau et de son état (amorphe ou cristallin). Loin de la surface de la Griséofulvine amorphe, l'eau présente un bon accord avec la valeur de notre eau de référence seule (1,045 g.cm⁻³) avec des valeurs de 1,008 g.cm⁻³ et 1,009 g.cm⁻³ pour les boîtes avec un confinement respectivement fort et faible. En revanche, l'eau dans la Griséofulvine cristalline présente la perte de densité la plus marquée de tous les principes actifs, avec des valeurs de 0,961 g.cm⁻³ et 0,983 g.cm⁻³ pour les boîtes avec un confinement respectivement fort et faible. Cette perte de la densité se caractérise par une tendance à retrouver la valeur de l'eau pure en présence de Griséofulvine ou Tréhalose amorphe lorsqu'un confinement moins important est imposé (avec des valeurs de la densité de 0,993 g.cm⁻³ et 1,008 g.cm⁻³ pour les boîtes avec un confinement respectivement fort et faible du Tréhalose amorphe). On peut donc supposer que cette perte n'est qu'un artefact de la simulation. Les molécules d'eau en présence de Tréhalose amorphe et cristallin présentent elles aussi des pertes de densité dans les boîtes subissant un confinement important, ce qui confirme l'origine de la perte de densité comme un artefact de simulation en milieu confiné.

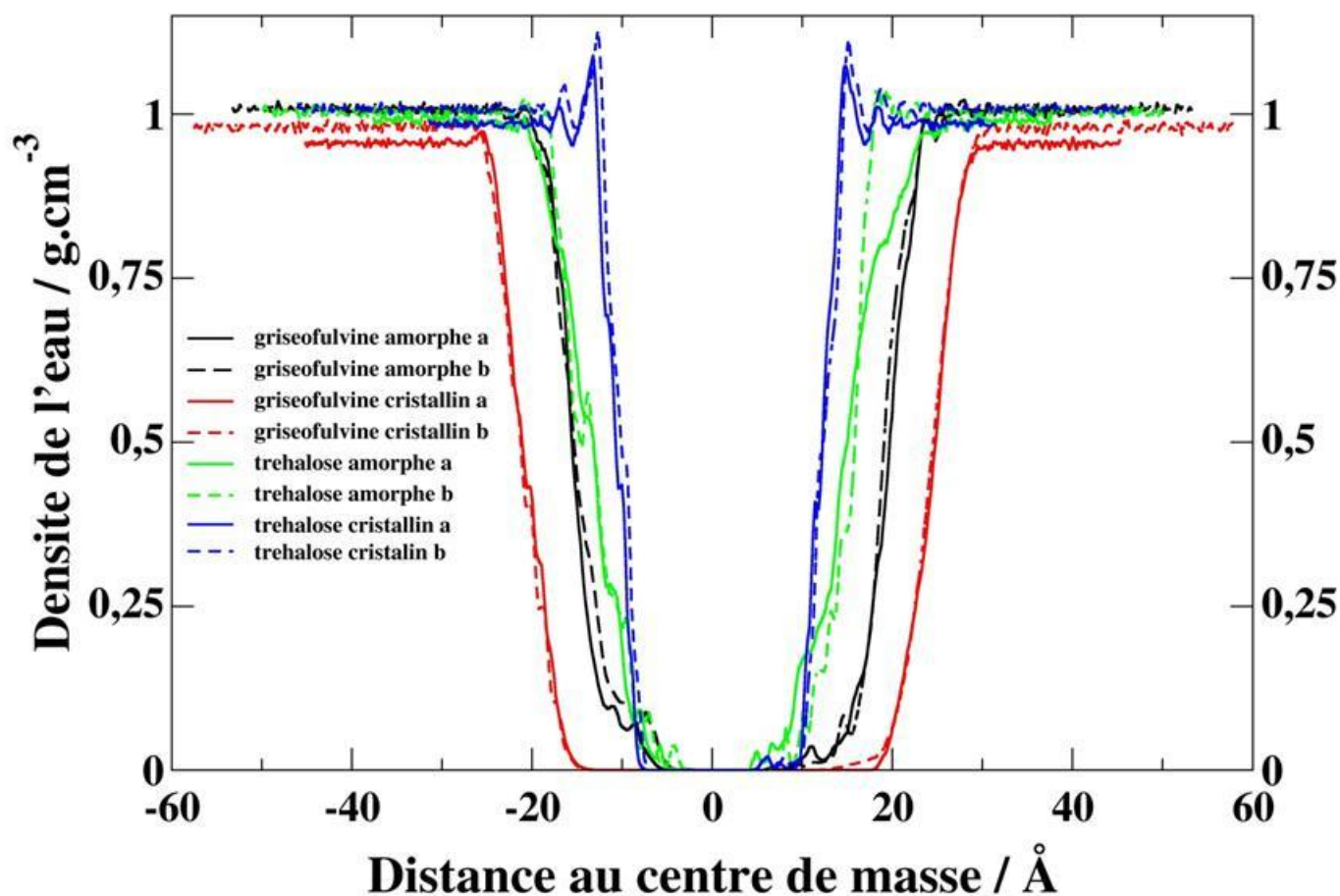


Figure 4.2 Représentation du profil densité de l'eau le long de l'axe z. La Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes subissant un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en lignes pleines tandis que les boîtes de simulation subissant un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par une ligne pointillée. Dans cette représentation, le centre de masse du bloc de composé pharmaceutique est utilisé comme origine des coordonnées.

A l'interface entre le composé pharmaceutique et l'eau, l'eau s'organise en couches quasi discrètes^{350, 351, 352, 353} dont la signature se manifeste sous la forme d'oscillations dans le profil de densité. Cet agencement en couches a déjà été étudié dans le cas d'un liquide composé de sphères dures en interaction avec une surface purement répulsive^{354, 355}. Dans ce cas, il a été trouvé, du fait de l'augmentation de ces oscillations de la densité par réduction de la surface en interaction avec le liquide, que la structure en couches du liquide était imposée par le potentiel répulsif. Dans notre cas,

les surfaces des interfaces sont approximativement de la même taille (d'environ 25 Å de côté) et les oscillations de densité sont les plus importantes en présence de surface hydrophile (voir figure 4.2). De telles oscillations de la densité de l'eau autour des protéines ont également été observées en simulation³⁵⁶, et ont été interprétées comme une preuve de l'existence de différentes couches d'hydratation de la protéine avec un premier pic correspondant aux molécules d'eau interagissant avec les groupes polaires de la protéine et un second pic représentant les molécules d'eau autour des groupes non polaires. On remarque cependant sur les figures 4.2 et 4.3 un accroissement des oscillations dans le cas d'une surface cristalline hydrophile. Dans le cas du cristal de Tréhalose, cette organisation s'étend jusqu'à trois couches de la surface. Dans le cas des boîtes simulant la phase amorphe du Tréhalose, on n'observe pas d'oscillations aussi prononcées que dans le cas du cristal et la portée de ces oscillations est moindre (voir figure 4.3). On ne peut donc pas supposer que cet effet soit uniquement dû à des conditions d'affinité entre l'eau et la surface mais que la topologie de la surface doit également être prise en compte. De telles structurations à l'interface liquide/solide de l'hexane³⁵⁰ et du tetrakis(2-ethylhexoxy)silane³⁵¹ ont déjà été observées expérimentalement mais également à la surface de protéines^{356, 357}, de nanopores³⁴⁸ et à l'interface liquide/vapeur de l'eau³³¹. Ces observations ajoutées à l'absence de variation de l'intensité des oscillations en fonction du degré de confinement semblent écarter l'hypothèse d'un artefact de la simulation. Deux propositions ne s'excluant pas l'une de l'autre peuvent être émises pour définir les origines de cette organisation :

- ❖ La porosité des matériaux permet à certaines molécules d'eau d'être piégées dans des cavités positionnées le long de la surface du matériau pharmaceutique, en particulier de manière régulière dans le cas cristallin (voir Figure 4.1), expliquant ainsi l'accroissement d'organisation que présente l'eau en présence d'une phase cristalline, pour laquelle les lacunes au sein de la structure cristalline, issues du procédé de création de la boîte de simulation, engendrent une plus grande porosité (voir Figure 4.4).

- ❖ La présence de groupements particuliers (notamment des groupements OH) interagissant fortement avec le solvant peut imposer une orientation préférentielle aux molécules en interaction avec ces sites. Ces molécules d'eau imposeront à leur tour une position et une orientation privilégiée.

Ces deux propositions auront forcément un impact non négligeable sur les propriétés structurales, dynamiques et thermodynamiques de l'eau. Il faut cependant déterminer les limites qu'aurait la seule utilisation d'une seule, ou de ces deux propositions, à décrire l'ensemble des effets observés dans nos systèmes. Par exemple la deuxième proposition permet, entre autres, d'expliquer la plus grande capacité à créer ces couches que présentent les matériaux pharmaceutiques hydrophiles mais, seule, elle ne convient pas à la description de l'accroissement des oscillations dues à la cristallinité des matériaux. De plus, des cavités sont artificiellement ajoutées lors de la création de la boîte de simulation représentant l'interface entre le composé pharmaceutique et l'eau. Bien qu'il soit attendu de la surface amorphe qu'elle soit moins structurante que la surface cristalline, ces cavités peuvent également résulter de l'utilisation de conditions aux limites périodiques lors des simulations du composé pharmaceutique seul ce qui nous impose de regrouper les atomes d'une même molécule sur un côté de la boîte dans la direction z afin de créer l'interface. La périodicité des phases cristallines permet au système de conserver une structure ordonnée lors de cette procédure ce qui engendre une régularité dans la position et la forme des cavités ainsi créées (voir Figure 4.4). De plus, la conservation de cette structure ordonnée permet de maintenir une forte énergie de cohésion entre les molécules composant le cristal, limitant la mobilité des molécules à la surface du cristal et permettant ainsi à la surface de garder sa structure à la suite de la relaxation du système dans l'ensemble NPT (une telle configuration est représentée dans la figure 4.4 avec l'exemple d'une configuration de départ pour les simulations dans l'ensemble NVT). Dans le cas d'une phase amorphe, la configuration issue du regroupement des molécules de composé pharmaceutique sur un côté de la boîte afin de créer une interface sera moins structurée que dans le

cas du cristal et l'énergie de cohésion entre les molécules constituant l'amorphe sera plus faible. Une telle configuration offrira une mobilité plus importante aux molécules à la surface de la phase amorphe par rapport à la phase cristalline lors de l'étape de relaxation du système constituée de simulations dans l'ensemble *NPT*. Ce gain de mobilité théorique de la phase amorphe permet de justifier de la plus grande facilité de la densité de l'eau à atteindre une valeur d'équilibre proche de l'eau pure dans le cas d'une interaction avec l'amorphe de Griséofulvine en comparaison avec le cristal de Griséofulvine. Ce gain de mobilité devrait donc, dans le cas d'un composé hydrophile, favoriser le contact entre les groupes hydrophiles et les molécules d'eau au sein de la phase amorphe par rapport à la phase cristalline et, par là même, l'organisation en couches des molécules d'eau à proximité de l'interface avec le composé pharmaceutique, bien que l'inverse soit observé dans le cas des simulations du Tréhalose. Cette hypothèse ne suffit donc pas à la description de l'accroissement de la structure en couches de l'eau d'hydratation par à la cristallinité des matériaux. Son effet ne peut toutefois pas être exclu, notamment dans le cas des interfaces entre le Tréhalose et l'eau, du fait de la présence de groupes hydroxyles. Ainsi, tant que ces groupes restent en contact avec l'eau, ils agissent comme des sites sur lesquels les molécules d'eau peuvent rester piégées, du fait de la faible énergie nécessaire à l'adsorption des molécules d'eau sur ces sites par rapport à celles des surfaces hydrophobes (dont les contributions viennent des potentiels d'interaction-répulsion)³⁵⁸. Il a été montré que cette adsorption était dépendante des espèces et des groupes actifs à l'interface^{359, 360, 361, 362}. Celle-ci serait à l'origine de la formation de petits agrégats de molécules d'eau autour des groupes hydroxyles³⁶³. Aucune des deux suppositions ne peuvent cependant expliquer, prises séparément, à la fois les effets de la cristallinité des composés pharmaceutiques étudiés et de leur affinité avec l'eau.

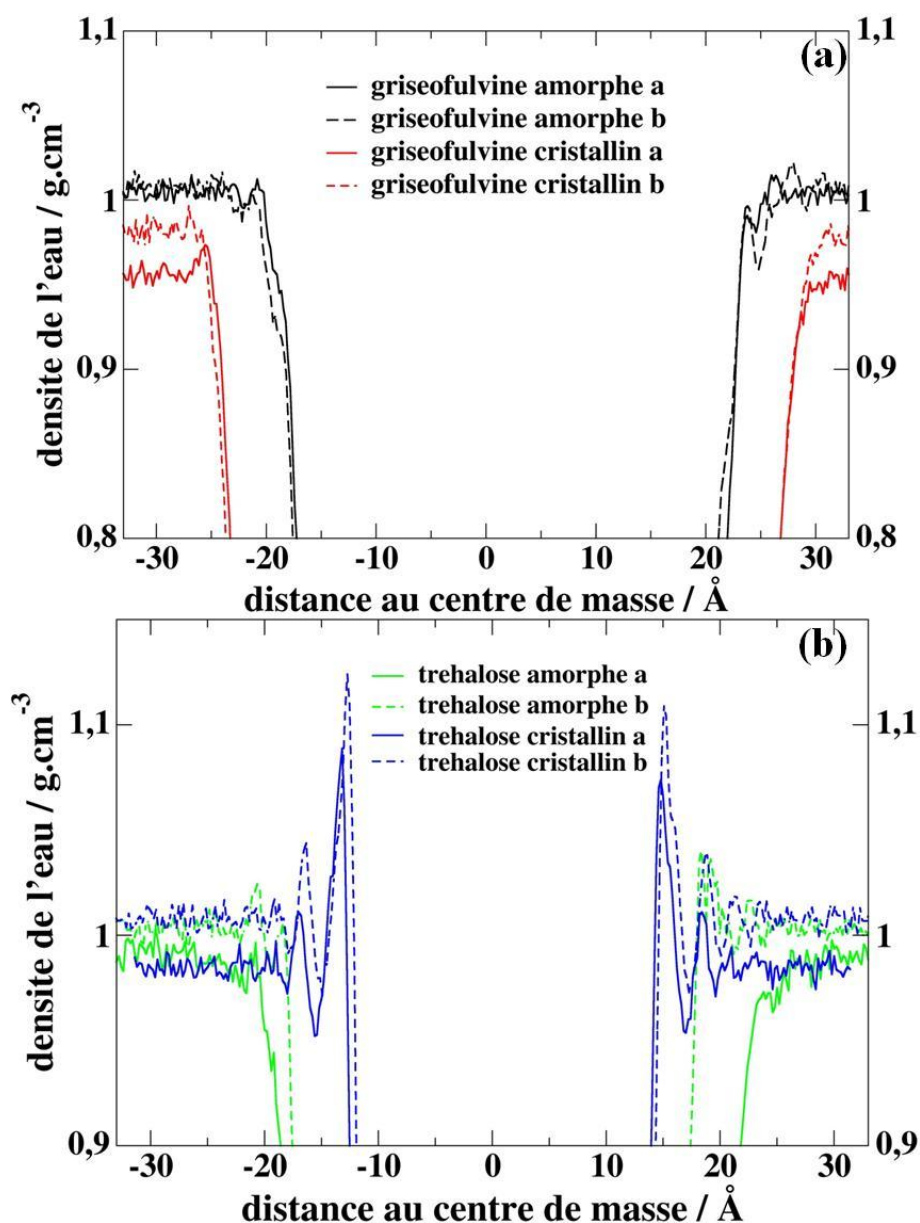


Figure 4.3 Agrandissement du profil densité de l'eau le long de l'axe z à proximité de l'interface avec le composé pharmaceutique dans le cas de (a) la Griséofulvine et (b) le Tréhalose.

En général, la présence de couches sur quelques angströms de distance peut s'expliquer par la structuration des couches d'hydratation des molécules d'eau ancrées à la surface^{364, 365, 366}. L'absence d'un tel comportement du solvant en présence de Griséofulvine indique que presque aucune interaction entre le solvant et la Griséofulvine ni pénétration du solvant dans le bloc de Griséofulvine ne peut être mis en évidence. Pour l'amorphe comme pour le cristal de Griséofulvine, aucun groupe n'a la capacité d'interagir fortement avec l'eau. Ces constatations

suggèrent que, dans le cas de l'amorphe de Griséofulvine, la mobilité dont les molécules de Griséofulvine qui constituent la surface peuvent faire preuve lors de la relaxation du système dans l'ensemble *NPT* (étapes de créations et de thermalisation des boîtes dont les configurations n'ont pas été sauvegardées pour analyse) est dirigée par des interactions hydrophobes. Cette mobilité pourrait ainsi permettre une réorganisation des molécules de Griséofulvine à la surface du principe actif limitant ainsi le nombre de cavités à la surface minimisant ainsi les interactions avec l'eau.

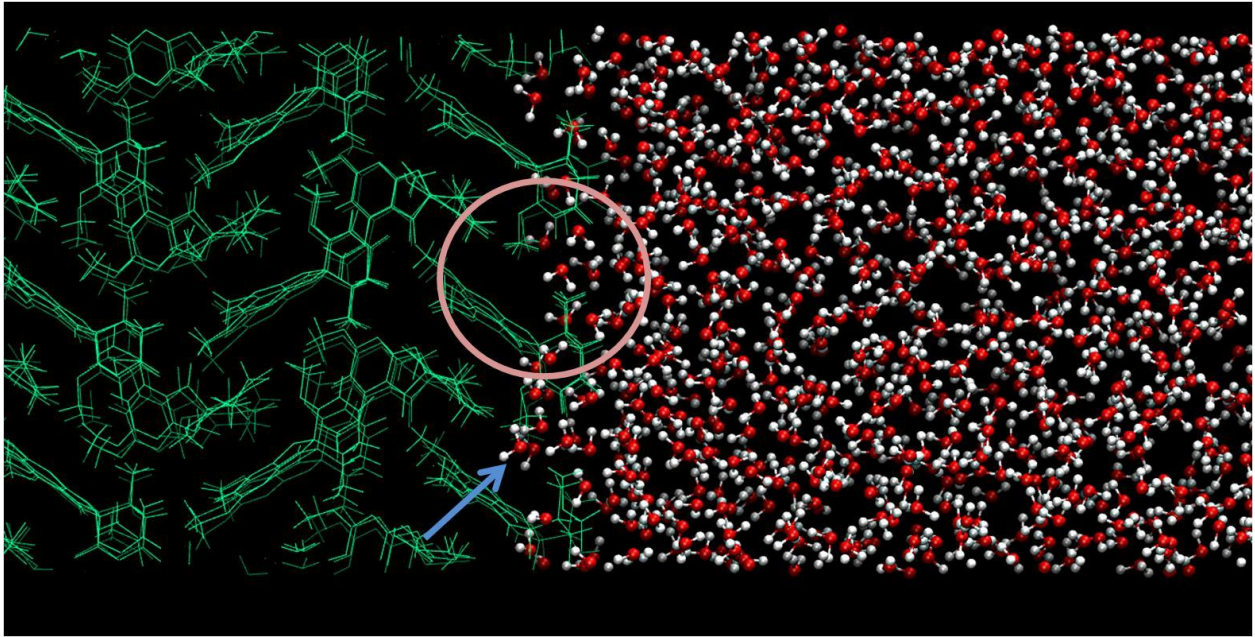


Figure 4.4 Représentation de l'arrangement des molécules d'eau à l'interface entre l'eau et le cristal de Griséofulvine. Un exemple de cavité est donné au centre du cercle. Il doit être noté que dans ce cas cristallin ces cavités se répliquent périodiquement le long de la surface permettant ainsi l'infiltration de molécules d'eau (flèche bleue). L'organisation des cavités à la surface du cristal ne semble pas avoir évolué suite à la relaxation dans l'ensemble *NPT*.

L'épaisseur de l'interface entre le composé pharmaceutique et l'eau peut être déterminée en réalisant un fit du profil de densité $\rho(z)$ à l'aide d'une fonction arbitraire³⁶⁷ :

$$\rho(z) = A_1 + A_2 \tanh\left(\frac{z-z_1}{\Delta z}\right) + A_2 \tanh\left(\frac{z-z_2}{\Delta z}\right) \quad (4.1)$$

où Δz est l'épaisseur de l'interface, A_1 est la valeur moyenne de la densité loin de la surface, A_2 la différence de densité entre l'eau loin de la surface et à l'interface, z_1 et z_2 représentent les positions

des interfaces. Les épaisseurs des interfaces pour chacun des systèmes sont résumées dans le tableau 4.1. On peut remarquer que l'épaisseur de l'interface est quasiment constante pour l'ensemble de nos simulations d'eau en présence de Griséofulvine avec une épaisseur d'environ 3 Å. Dans le cas de la Griséofulvine, les boîtes constituées de Griséofulvine amorphe semblent cependant minimiser leurs interactions avec l'eau et montrent, par exemple, une épaisseur de l'interface pour la boîte de Griséofulvine amorphe subissant un fort confinement, plus faible d'environ 0,4 Å par rapport aux cristaux de Griséofulvine. Les amorphes de Tréhalose présentent au contraire une nette augmentation (d'un facteur 2) de l'épaisseur de leur interface avec l'eau par rapport aux cristaux de Tréhalose. Il doit, de plus, être remarqué que les cristaux, de Tréhalose ou de Griséofulvine, ne présentent quasiment pas de variations d'épaisseur de leur interface avec l'eau en fonction du confinement. Cette observation tend à confirmer la supposition selon laquelle la surface des cristaux ne subit pas de réorganisation à la suite de la relaxation dans l'ensemble *NPT*. Au contraire, les phases amorphes, de Tréhalose et de Griséofulvine, présentent des variations de l'épaisseur de l'interface en fonction du confinement de l'ordre de 0,4 Å. Cette observation associée à l'augmentation (respectivement la diminution) de l'épaisseur dans le cas de surface hydrophile (respectivement hydrophobe) décrite précédemment tend également à confirmer la supposition selon laquelle les composés pharmaceutiques amorphes ont pu bénéficier d'une réorganisation de leur surface lors de la phase de relaxation dans l'ensemble *NPT*. La différence d'épaisseur entre les cristaux de Griséofulvine et de Tréhalose (avec une épaisseur plus importante dans le cas de la Griséofulvine que dans le cas du Tréhalose) ne nous permet cependant pas d'utiliser ce paramètre afin de définir précisément le rôle de l'affinité entre l'eau et le composé pharmaceutique sans une étude complémentaire de la topologie de la surface du composé pharmaceutique.

	$\Delta z / \text{\AA}$
griséofulvine amorphe a	$2,84 \pm 0,03$
griséofulvine amorphe b	$3,21 \pm 0,04$
griséofulvine cristal a	$3,23 \pm 0,03$
griséofulvine cristal b	$3,31 \pm 0,02$
tréhalose amorphe a	$3,93 \pm 0,05$
tréhalose amorphe b	$3,52 \pm 0,09$
tréhalose cristal a	$1,79 \pm 0,05$
tréhalose cristal a	$1,86 \pm 0,04$

Tableau 4.1 Epaisseur Δz de l'interface au sein de chacun des systèmes déterminée à l'aide de l'équation 4.1.

4.3.2 Paramètre d'ordre tétraédrique

Les propriétés structurales et dynamiques de l'eau dépendent du réseau de liaisons hydrogènes créées entre les molécules d'eau. L'atome d'oxygène d'une molécule d'eau peut former deux liaisons hydrogènes en tant qu'accepteur via ses doublets non liants. Deux autres liaisons hydrogènes en tant que donneur peuvent être formées par la molécule d'eau via les deux atomes d'hydrogène. Lorsqu'une molécule d'eau forme quatre liaisons hydrogènes avec ses quatre voisins, elle s'organise selon une structure tétraédrique aussi nommée pentamère de Walrafen (voir Figure 4.5).³⁶⁸ L'espace tridimensionnel peut être rempli de ces pentamères sans vide ni recouvrement. La déviation qu'une molécule d'eau et son voisinage peuvent avoir par rapport à un arrangement parfaitement tétraédrique se calcule à l'aide du paramètre d'ordre tétraédrique q ³⁶⁹.

$$q_k = 1 - \frac{3}{8} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=i+1}^4 \left(\cos \theta_{ikj} + \frac{1}{3} \right)^2 \quad (4.2)$$

où θ_{ikj} est l'angle formé entre la molécule centrale k et deux de ses voisins i et j . Un paramètre d'ordre q prenant la valeur $q=1$ correspond à un arrangement tétraédrique parfait et est représenté dans la Figure 4.5, tandis que la valeur $q=0$ correspond à une situation complètement désordonnée.

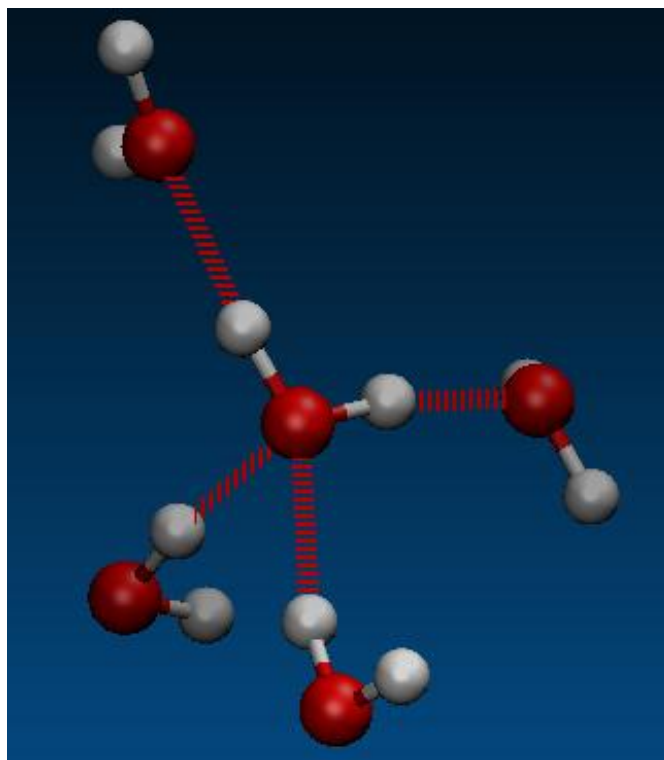


Figure 4.5 Arrangement tétraédrique de l'eau en un pentamère de Walrafen par formation de liaisons hydrogènes (représentées par les lignes pointillées) entre la molécule d'eau centrale et ses quatre plus proches voisines.

Le paramètre d'ordre tétraédrique fait parti des grandeurs dépendantes des conditions stériques. Un arrangement parfaitement tétraédrique autour d'une molécule d'eau centrale ne peut être trouvé que si les quatre molécules plus proches voisines peuvent se placer sans restriction autour de la molécule centrale. Il est évident que la présence d'une interface limite l'espace disponible autour de la molécule et engendre une diminution du paramètre d'ordre q . On s'attend donc à observer une diminution de q en présence de l'interface pour des raisons purement stériques comme indiqué dans la figure 4.6. La réduction de q des molécules en contact direct avec l'interface est plus marquée dans le cas du Tréhalose qu'avec la Griséofulvine. Ce comportement ne peut donc être complètement expliqué par des raisons stériques. On peut attribuer cette différence aux groupes interagissant fortement avec l'eau (groupement OH), qui imposent ainsi une orientation particulière aux molécules d'eau qui sont en interaction avec ces groupes et qui perturbent ainsi la structure du réseau de liaisons hydrogènes.

Pour quantifier l'effet déstructurant que les différentes surfaces peuvent avoir sur la structure

tétraédrique de l'eau ainsi que leur portée dans le solvant, le paramètre d'ordre tétraédrique a été calculé pour chaque molécule d'eau en fonction de leur distance par rapport à la surface du composé pharmaceutique. Ces valeurs ont ensuite été moyennées sur des couches d'eau de 5 Å d'épaisseur. A proximité de la surface, une discrétisation supplémentaire plus fine de l'eau en couche est utilisée. Cette discrétisation s'étend de la première couche comprenant les molécules d'eau en contact direct avec la surface du composé pharmaceutique (entre 5 Å et 10 Å de distance avec la surface du composé pharmaceutique) à la seconde couche d'eau (entre 10 Å et 15 Å de distance avec la surface du composé pharmaceutique). Les couches d'eau définies par cette discrétisation supplémentaire ont toujours une profondeur de 5 Å. Chacune de ces nouvelles couches est translatée de 1 Å, définissant ainsi des couches d'eau dont les distances à la surface du composé pharmaceutique sont comprises entre 6 Å et 11 Å, entre 7 Å et 12 Å, entre 8 Å et 13 Å et entre 9 Å et 14 Å. Cette discrétisation permet d'évaluer les grandeurs en incluant progressivement dans le calcul, des molécules d'eau qui ont un comportement proche de l'eau de volume car sans interactions avec la surface. L'inclusion progressive de ces molécules permet, dans le cas de grandeurs ne dépendant pas de conditions stériques (comme par exemple l'entropie), d'interpréter les résultats en termes de molécules interagissant directement avec le principe actif. Au contraire, dans le cas de grandeurs dont le calcul dépend des conditions stériques (comme par exemple le paramètre d'ordre tétraédrique), l'augmentation progressive du ratio de molécules d'eau n'étant pas en contact direct avec la surface par rapport aux molécules d'eau interagissant avec la surface permet d'estimer l'impact des conditions stériques sur ces grandeurs.

Quel que soit le matériau pharmaceutique et sa phase, toutes les boîtes de simulations montrent que le paramètre d'ordre tétraédrique q de l'eau atteint une valeur constante pour environ 3 Å de distance de l'interface (voir figure 4.6). Il s'agit de la distance à partir de laquelle les contraintes dues aux conditions stériques ne sont plus influentes. La valeur constante du paramètre d'ordre à partir de cette distance peut être considérée comme étant la valeur de volume pour ces systèmes. La valeur du paramètre q de l'eau confinée reste cependant inférieure ($q=0,58$ pour le

Tréhalose, $q=0,565$ pour la Griséofulvine) à la valeur obtenue dans le cas d'une boîte d'eau pure simulée avec le modèle TIP3P ($q=0,62$). Cette différence ne semble dépendre ni de la cristallinité ni du degré de confinement, sauf dans le cas des cristaux de Griséofulvine (voir figure 4.6). La valeur de q dans l'eau éloignée de la surface pour les cristaux de Griséofulvine tend vers celle obtenue pour la Griséofulvine amorphe et peut donc être imputée à la perte de densité que présentent ces deux boîtes. Il doit également être noté que, la déviation du paramètre d'ordre tétraédrique par rapport à l'eau pure, pour l'eau éloignée ou proche de l'interface est plus prononcée dans le cas de la Griséofulvine que dans le cas du Tréhalose. Quel que soit le matériau pharmaceutique avec lequel l'eau est en contact, cette déstructuration du réseau de liaisons hydrogènes est attribuée à la faible capacité que disposent les molécule d'eau à recréer un réseau de liaisons hydrogènes organisé dans un environnement contraint par un confinement et des conditions aux limites périodiques appliquées de manière anisotrope à la boîte d'eau.

L'analyse du paramètre q pour l'eau en contact direct avec la surface doit prendre en compte les conditions stériques auxquelles les molécules et leur voisinage sont contraints. A la surface du principe actif, q ne dépend pas que de l'hydrophilicité du matériau pharmaceutique mais également de la cristallinité et du degré de confinement. La portée de l'effet déstructurant des composés hydrophobes apparaît plus importante, d'environ 1 Å, où celui des composés hydrophiles. On peut mesurer cette portée à l'aide de la distance à partir de laquelle l'eau atteint sa valeur de volume (voir figure 4.6). Les interactions entre les molécules d'eau et le matériau pharmaceutique, et donc leur temps de relaxation translationnelle et rotationnelle, étant supposé être plus lents entre l'eau et le Tréhalose (voir section 4.4), on peut supposer que les molécules d'eau en interaction avec le Tréhalose n'interviennent que peu dans la dynamique du réseau de liaisons hydrogènes tandis que les molécules d'eau en contact avec la Griséofulvine ont une influence, et donc une participation plus importante à l'organisation du réseau de liaisons hydrogènes. On peut supposer que, de part la plus grande mobilité des molécules à la surface lors de la relaxation du système dans l'ensemble *NPT*, les phases amorphes des principes actifs tendent à réduire l'écart de comportement observé

entre les deux types de principe actif en favorisant les interactions entre les groupes hydrophiles avec l'eau dans le cas du Tréhalose et en défavorisant les interactions entre les groupes hydrophobes avec l'eau dans le cas de la Griséofulvine, augmentant ou limitant ainsi le nombre de molécules d'eau subissant un ancrage particulier et perturbant le réseau de liaisons hydrogènes.

L'effet de la surface sur l'eau confinée ne semble donc pas se limiter uniquement à la première couche d'hydratation. Le paramètre d'ordre tétraédrique seul ne suffit cependant pas à discriminer l'origine de cet effet à longue distance entre une interaction directe de la surface via les potentiels d'interaction non liés, une interaction indirecte via la modification du réseau de liaison hydrogène ou du fait de la périodicité et du confinement des boîtes.

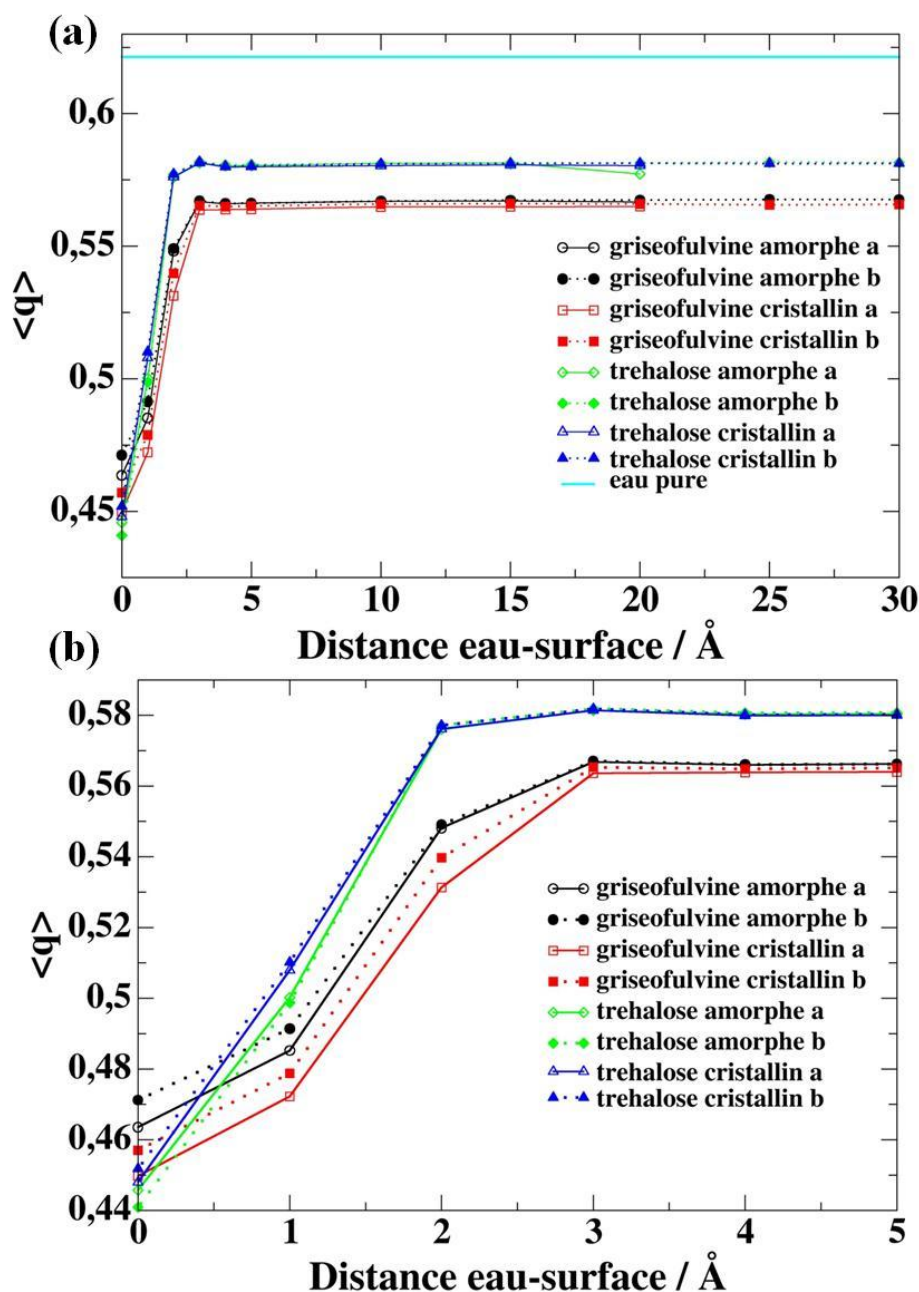


Figure 4.6 Comparaison du paramètre d'ordre tétraédrique q de chaque système simulé en fonction de la distance à l'interface. La Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes de simulation qui sont soumises à un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en traits pleins tandis que les boîtes de simulation qui sont soumises à un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par un trait pointillé. La Figure (b) est un agrandissement de la Figure (a) a proximité de la surface.

De nombreuses études ont utilisé la distribution de probabilité du paramètre d'ordre q pour étudier les propriétés de l'eau en fonction de la température³⁶⁹, les effets destructurants de différents disaccharides³⁷⁰ ou encore l'eau d'hydratation de différentes molécules biologiques³⁷¹. La distribution du modèle d'eau TIP3P simulé à température ambiante est présentée dans la figure 4.7. On observe clairement la présence de deux contributions à $q=0.75$ et $q=0.55$ associées respectivement à l'eau structurée dans un arrangement de type glace et l'eau non structurée dite dans un arrangement de type liquide³⁷⁰.

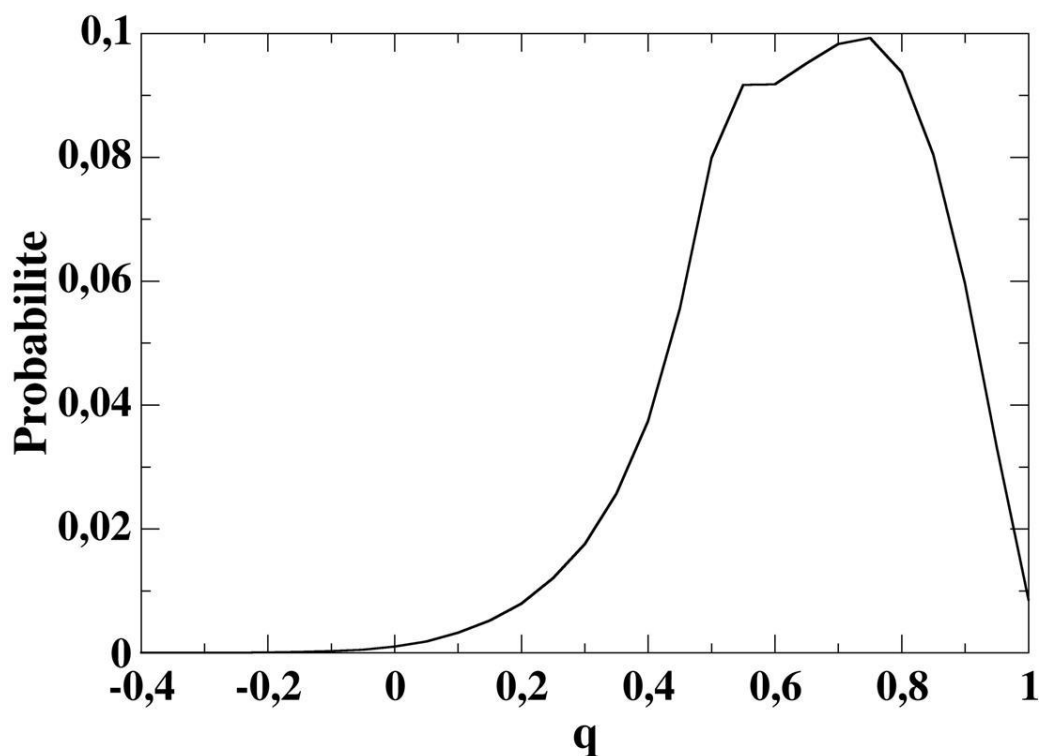


Figure 4.7 Représentation de la distribution de probabilité du paramètre d'ordre tétraédrique du modèle d'eau TIP3P à 300 K. Il s'agit d'une distribution bimodale qui peut être décomposée en deux contributions : un pic à $q=0.75$ qui représente l'eau structurée dans l'arrangement glace et un pic à $q=0.55$ qui représente l'eau 'déstructurée' aussi dite dans l'arrangement liquide.

La figure 4.8 représente l'évolution de la distribution de probabilité du paramètre d'ordre q pour chacune des boîtes de simulation dans la première couche d'eau en contact direct avec l'interface, ainsi que dans la couche comprenant les molécules d'eau situées entre 3 et 8 Å de distance avec la surface. On constate qu'au delà d'une distance de 3 Å (voir figure 4.8b) entre les

molécules d'eau et la surface, les distributions de probabilité de chaque boîte de simulation restent inchangées. Pour toutes les simulations, le pic correspondant à l'eau 'déstructurée' à $q=0,55$ montre peu de déviation par rapport à l'eau pure mais correspond à la configuration la plus probable. Le pic correspondant à l'eau structurée ($q=0,75$) est moins intense que dans le cas de l'eau pure et présente un comportement similaire à celui observé dans la littérature par augmentation de la température^{369, 371}, ou par dilution dans des solutions eau/disaccharide. Cet effet est moins prononcé dans le cas du Tréhalose. Comme nous l'avons remarqué pour la valeur moyenne du paramètre d'ordre q , le confinement n'influence pas l'eau distante d'au moins 3 Å du matériau pharmaceutique excepté dans le cas de la Griséofulvine cristalline. En raison de la chute de la densité, cette influence se traduit par un accroissement des configurations de molécules moins corrélées avec leur entourage ($q<0,5$) au détriment du pic d'eau 'déstructurée' ($q=0,55$).

Proche de l'interface avec le matériau pharmaceutique (voir figure 4.8a), le pic d'eau structurée dans l'arrangement glace est fortement diminué et le pic d'eau dans l'arrangement liquide est aussi diminué et déplacé vers des valeurs de q plus faibles. Ce dernier constitue toujours la configuration la plus favorable au sein du système. Cette perte de la structure tétraédrique du réseau de liaisons hydrogènes ne se fait plus au profit des configurations représentant l'eau 'déstructurée' comme dans le cas de l'eau de volume (figure 4.8b) mais au profit d'un liquide sans structure ($q<0,5$) en raison des conditions stériques. De plus, il apparaît que le confinement n'affecte que très faiblement la structure de l'eau en contact avec la surface et son influence se limite principalement au pic d'eau 'déstructurée'. La réduction du degré de confinement et la présence de l'interface d'un matériau pharmaceutique amorphe favorise donc très légèrement les configurations d'eau dans l'arrangement liquide ($q=0,55$) au détriment des configurations non corrélées ($q=0,5$) sans affecter l'arrangement de type glace.

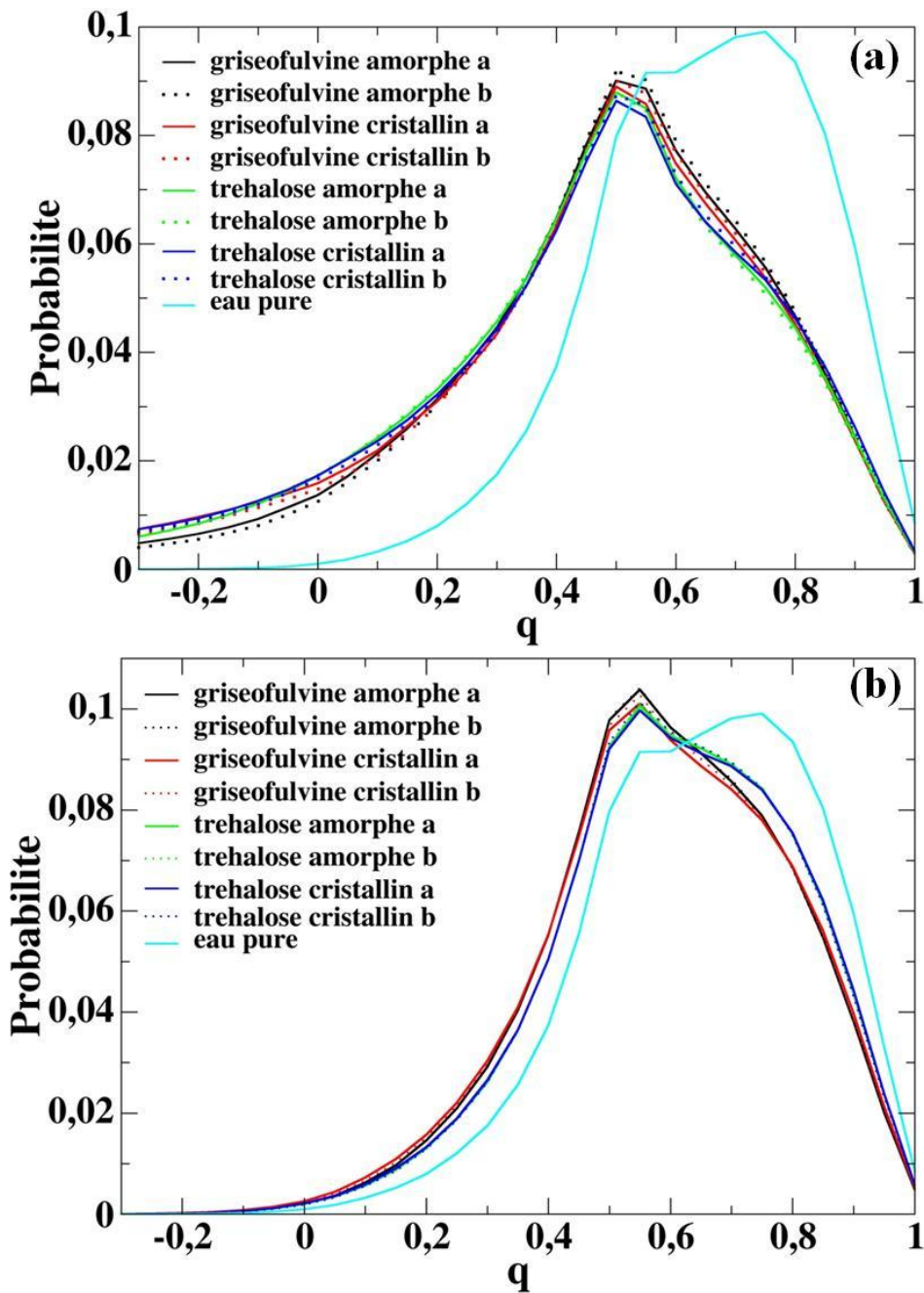


Figure 4.8 Représentation de la distribution de probabilité du paramètre d'ordre tétraédrique q dans les couches 0-5 Å (Figure a), 3-8 Å (Figure b). Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair, la Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes qui sont soumises à un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en trait plein tandis que les boîtes de simulation qui sont soumises à un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par un trait pointillé.

4.3.4 Structure du réseau de liaison hydrogène

Nous avons utilisé un critère géométrique pour définir les liaisons hydrogènes entre deux molécules d'eau au sein de nos systèmes. Cette géométrie peut être décrite par trois paramètres :

- ❖ la distance entre l'oxygène accepteur (O_a) et l'hydrogène échangé
- ❖ la distance entre les deux oxygènes, donneur (O_d) et accepteur (O_a)
- ❖ l'angle O_aHO_d formée par les deux oxygènes et l'hydrogène échangé.

Afin de mieux comprendre l'influence de la surface sur la structure de l'eau, les distributions de probabilités des distances entre les oxygènes O_a et O_d et entre les O_a et l'hydrogène échangé ainsi que l'angle O_aHO_d ont été étudiées en fonction de la distance avec le matériau pharmaceutique. La distribution de probabilité de distance entre oxygènes a été calculée pour des distances entre les deux oxygènes inférieures ou égales à 4 Å. Pour toutes les molécules dont les deux oxygènes sont séparés de 3.5 Å, on a calculé la distance entre l'oxygène d'une molécule et les deux hydrogènes de la seconde molécule ainsi que les angles O_aHO_d . La distance entre l'eau et la surface du matériau pharmaceutique a été calculée de la même manière que décrite précédemment dans la section 4.3.1 en choisissant cependant une épaisseur de couche de 2 Å. A partir de ces distributions, les barrières énergétiques entre deux états peuvent être sondées en calculant le potentiel de force moyenne PMF $A(\varphi)$ où la coordonnée φ peut représenter l'angle O_aHO_d , la distance entre oxygène et hydrogène ou entre les oxygènes donneurs et accepteurs :

$$A(\varphi) = -k_B T \ln[P(\varphi)] \quad (4.3)$$

avec k_B la constante de Boltzmann et $P(\varphi)$ la probabilité de la configuration φ ³⁷².

Pour chaque système simulé, l'eau confinée atteint les valeurs d'équilibre de l'eau de volume pour les paramètres géométriques définissant une liaison hydrogène à partir de 8 Å de distance avec la surface du matériau pharmaceutique. Dans la majorité des cas, ces valeurs sont atteintes dans la couche 4-6 Å. Ni la cristallinité ni le degré de confinement ne semblent influencer les distributions, excepté pour la surface du cristal de Griséofulvine dont les valeurs tendent vers l'amorphe de Griséofulvine en réduisant le degré de confinement. Cet effet est attribué à la perte de

densité dans ces boîtes de simulation (voir sections précédentes). Les distributions de probabilité des distances entre oxygènes donneurs et accepteurs sont représentées dans la Figure 4.9. Les distributions de probabilité des distances entre oxygène accepteur et hydrogène échangé sont représentées dans la Figure 4.10. Les distributions de probabilité des angles que forment les deux oxygènes avec l'hydrogène échangé sont représentées dans la Figure 4.11. Les sous-figures a et b correspondent respectivement aux couches d'eau situées à 2-4 Å et 6-8 Å (représentant les comportements de l'eau à l'interface et dans le volume) de distance avec la surface matériau pharmaceutique.

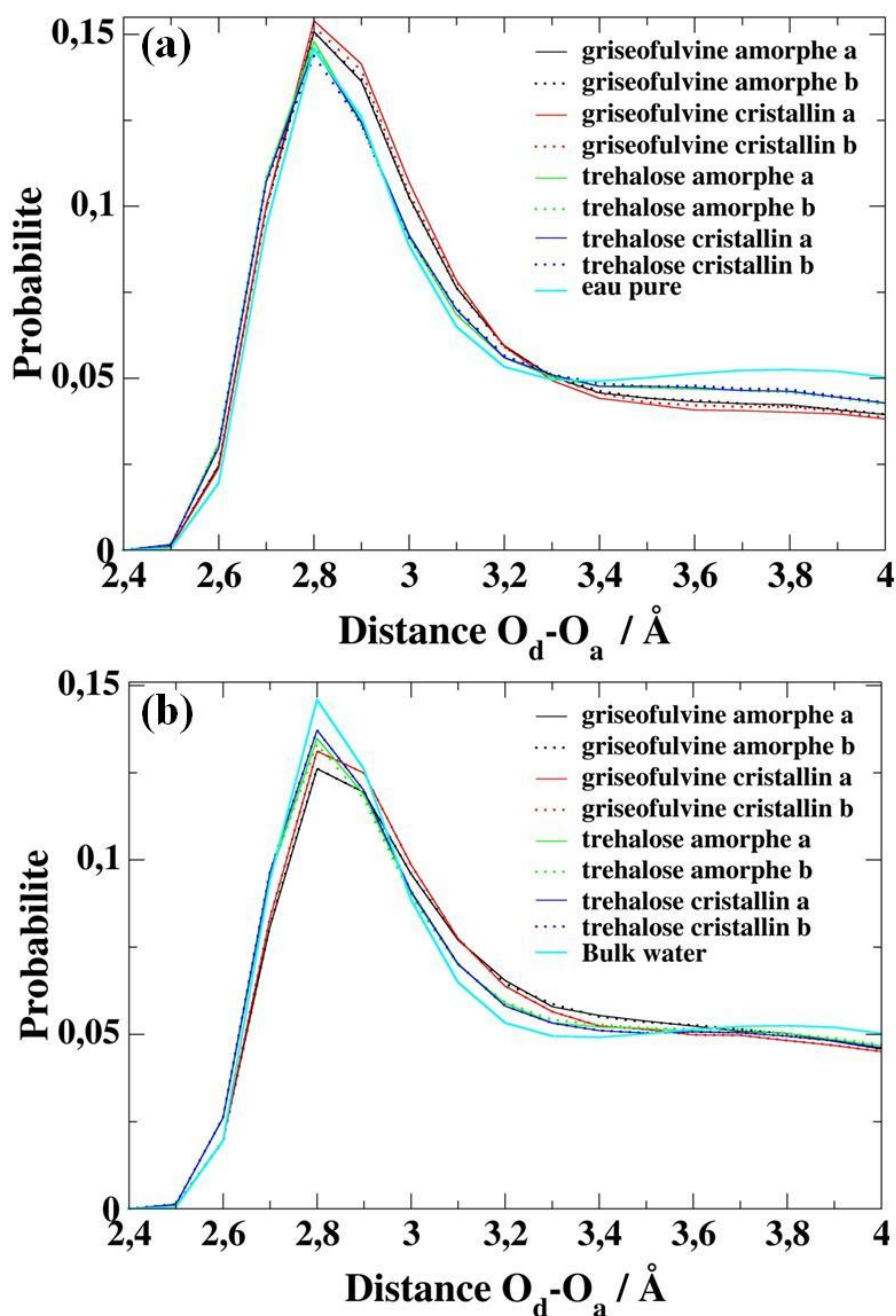


Figure 4.9 Représentation de la distribution de probabilité des distances entre oxygène donneur O_d et oxygène accepteur O_a entre molécules d'eau dans les couches distantes respectivement de (a) 2-4 et (b) 6-8 Å de l'interface. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair, la Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes qui sont soumises à un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en trait plein tandis que les boîtes de simulation qui sont soumises à un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par un trait pointillé.

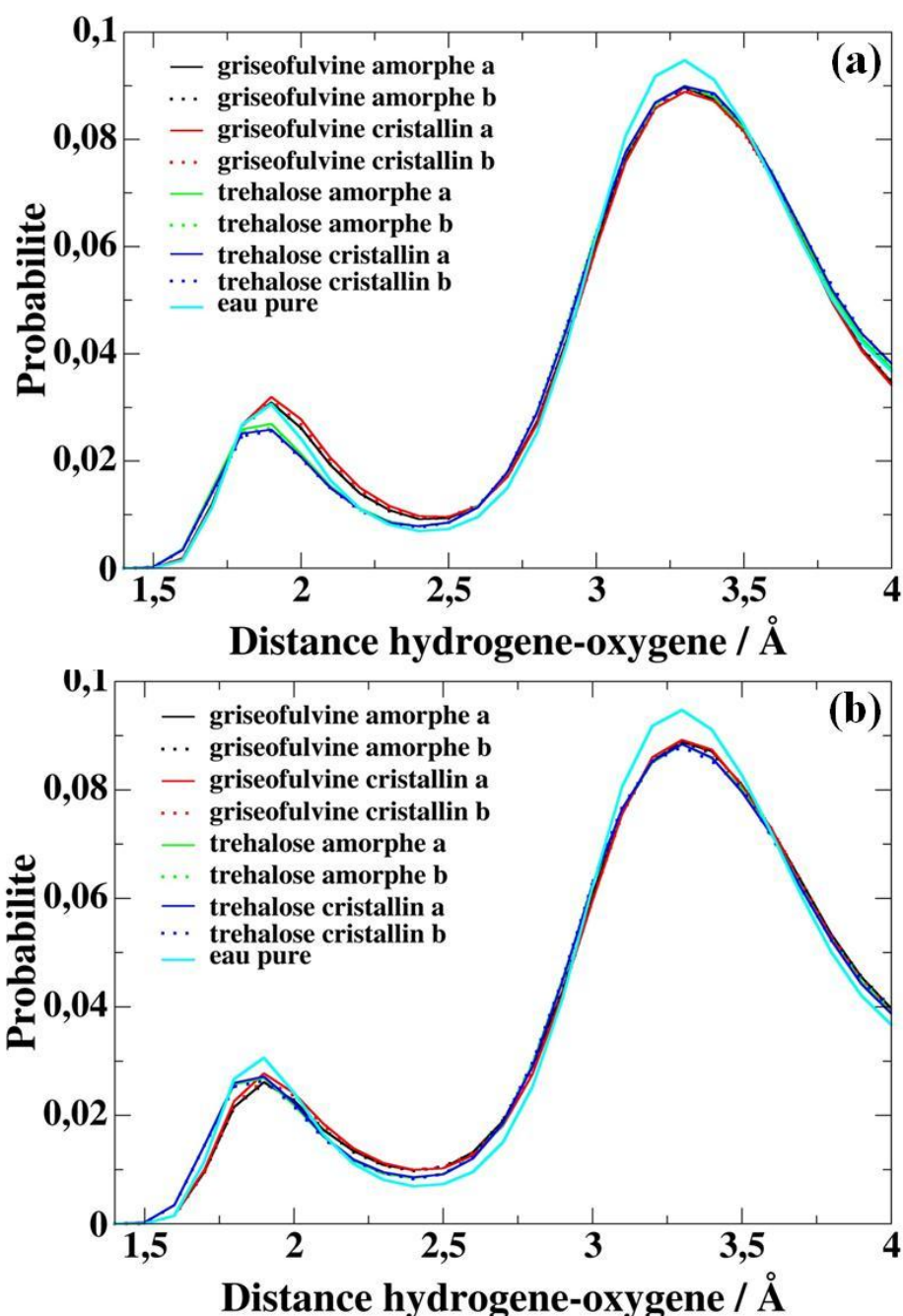


Figure 4.10 Représentation de la distribution de probabilité des distances entre hydrogène et oxygène accepteur des molécules d'eau dans les couches distantes respectivement de (a) 2-4 et (b) 6-8 Å de l'interface. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair, la Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes qui sont soumises à un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en trait plein tandis que les boîtes de simulation qui sont soumises à un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par un trait pointillé.

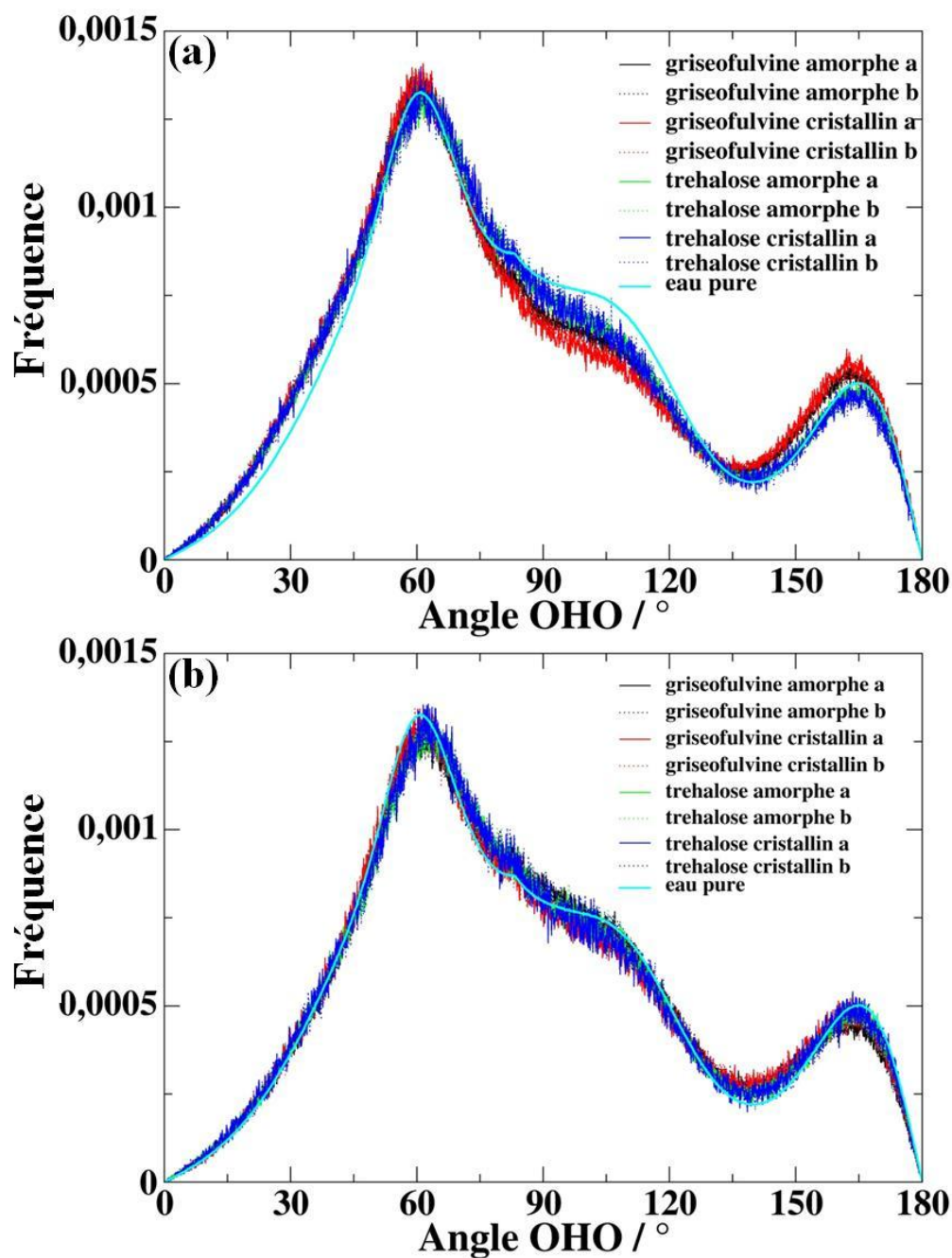


Figure 4.11 Représentation de la distribution de probabilité de former entre molécules d'eau voisines des angles O_dHO_d (avec O_d l'oxygène donneur et O_a l'oxygène accepteur) dans les couches distantes respectivement de (a) 2-4 et (b) 6-8 Å de l'interface. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair, la Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu.

Sur la figure 4.9b on observe que pour l'eau éloignée de la surface de Tréhalose, qu'il soit amorphe ou cristallin, la distribution de probabilité des distances entre les oxygènes montre un pic de premiers voisins à 2,8 Å légèrement moins intense que pour l'eau pure dans le modèle TIP3P et un second pic de faible intensité à 3,8 Å, généralement attribué à l'arrangement tétraédrique de l'eau. Ce second pic est en bon accord avec les résultats de la section précédente caractérisant une perte de la structure tétraédrique de l'eau. L'eau de volume en présence de Griséofulvine, qu'elle soit cristalline ou amorphe, présente également une très faible contribution du second pic lié à la structure tétraédrique tandis que le pic lié aux premiers voisins présente une intensité légèrement moins importante que dans le cas du Tréhalose et une largeur à mi-hauteur plus grande d'environ 0,2 Å par rapport à l'eau pure. Ce résultat indique une faiblesse et une déformation du réseau de liaison hydrogène par rapport au Tréhalose et à l'eau pure.

Un comportement similaire peut être observé avec la distribution de probabilité des distance entre oxygène accepteur hydrogène dans le cas de l'eau ayant atteint sa valeur de volume (figure 4.10b). Ainsi, dans le cas de l'eau en contact avec l'ensemble des systèmes de Tréhalose, le premier pic (à 1,9 Å) se situe à une position similaire à celle relevée dans le cas de l'eau pure mais d'intensité plus faible tandis que dans le cas de l'eau en contact avec l'ensemble des systèmes de Griséofulvine, ce pic est décalé vers des distances plus grandes avec une intensité plus faible et une largeur à mi-hauteur plus importante. La profondeur du minimum séparant les deux premiers pics de la distribution de probabilité des distances entre oxygène accepteur hydrogène (figure 4.10b) donne une indication sur la probabilité de transition entre les états liés et non liés entre les deux molécules. On observe que, quelque soit la surface avec laquelle l'eau est en contact (cristalline ou amorphe, hydrophile ou hydrophobe), la profondeur du minimum de cette distribution est moins importante que dans le cas de l'eau pure. On obtient la profondeur minimale dans le cas de l'eau en contact avec la Griséofulvine, quel que soit la phase, ce qui révèle une plus faible barrière énergétique à franchir pour briser ces liaisons hydrogènes par rapport à l'eau en contact avec le Tréhalose. Un calcul du potentiel de force moyenne permet ainsi d'estimer que la différence de

profondeur énergétique minimale entre l'eau pure et la Griséofulvine, quel que soit la phase, est d'environ $0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dans le cas d'une part, des distances entre oxygène et hydrogène et d'autre part, des distances entre oxygènes donneurs et accepteurs (voir figure 4.12b et 4.13b). De plus, il apparait clairement au sein de la figure 4.13b que cette augmentation du niveau du puit de potentiel situé à environ $1,9 \text{ \AA}$ de distance entre l'oxygène et l'hydrogène, associée à la diminution de la barrière de potentiel (à environ $2,4 \text{ \AA}$), d'environ $0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour l'eau en présence de Tréhalose et $0,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour l'eau en présence de Griséofulvine, favorise le passage des molécules de l'état lié à l'état non lié. L'ensemble de ces distributions de probabilité indique que la déstructuration du réseau de liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau qui ne sont pas en contact direct avec la surface s'accompagne d'une tendance à créer des liaisons hydrogènes plus faibles pour la probabilité de passer d'un état lié à l'état non lié. Cette tendance est d'autant plus marquée lorsque ces molécules sont en présence de Griséofulvine plutôt qu'en présence du Tréhalose, ou dans un milieu confiné avec des conditions aux limites plus fortes plutôt qu'en eau pure.

Cette tendance est confirmée par la distribution de probabilité de l'angle O_aHO_d dans la couche $6-8 \text{ \AA}$ (voir figure 4.11b) où les principales différences entre l'eau en interaction avec une surface, quel qu'elle soit, et l'eau pure apparaissent dans la région des angles compris entre 120 et 180° . En présence d'une surface hydrophile (Tréhalose) amorphe ou cristalline, l'eau présente la même probabilité de créer des liaisons hydrogènes (région de 150 à 180°) que l'eau pure dans le modèle TIP3P tandis que la profondeur du minimum dans la région de 120 à 150° est moins importante. Ce résultat révèle une barrière énergétique plus faible pour briser les liaisons hydrogènes. L'eau en présence de Griséofulvine présente le minimum le moins important et la plus faible probabilité de présenter des angles entre 150 et 180° parmi tous les systèmes simulés. Ces observations sont confirmées par l'emploi de la PMF (voir figure 4.14b) avec un maximum de la barrière énergétique d'environ 140° évalué à environ 5 kcal.mol^{-1} dans le cas de l'eau pure, $4,95 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dans le cas de l'eau en présence de Tréhalose et $4,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dans le cas de l'eau en présence de Griséofulvine. Ce résultat confirme la tendance des surfaces hydrophobes à déstructurer

le réseau de liaisons hydrogènes de l'eau en perturbant la formation de liaisons hydrogènes dans le cas de milieux confinés.

La distribution de probabilité des distances entre oxygènes de l'eau proche de la surface de Tréhalose, amorphe ou cristallin, présente un pic de premiers voisins à 2.8 Å (voir figure 4.9a) similaire à l'eau pure tandis que le pic d'ordre tétraédrique à 3.8 Å peut à peine être observé. La distribution de probabilité des distances entre hydrogène et oxygène de ce système (voir figure 4.10a) présente un premier pic à la même position que dans l'eau pure mais avec une intensité plus faible. Le minimum à 2.4 Å de cette distribution est décalé à une distance légèrement plus faible par rapport à l'eau pure mais présente la même profondeur. Ce résultat montre que, même si l'eau de la première couche d'hydratation en présence de Tréhalose reste grossièrement inchangée par rapport à l'eau pure, les molécules d'eau appartenant à cette couche d'hydratation ont une probabilité moins importante de se lier entre elles par liaison hydrogène. Il est clair que ce comportement provient des interactions entre l'eau et le Tréhalose qui défavorisent les interactions entre molécules d'eau. Cette réduction des interactions entre molécules d'eau se voit également par la réduction de probabilité de former des liaisons hydrogène fortes dans la distribution des angles O_aHO_d . Un comportement opposé est observé avec l'eau en contact direct avec une surface hydrophobe (Griséofulvine) qui présente un accroissement des interactions entre molécules d'eau. Celui-ci est caractérisé par une probabilité de former des liaisons hydrogènes fortes plus grande que dans l'eau pure (voir Figure 4.11a). Dans ce cas, toutes ces distributions présentent grossièrement les mêmes caractéristiques que l'eau pure mais avec des probabilités plus importantes d'avoir un angle O_aHO_d compris entre 160 et 180° ce qui correspond à des liaisons hydrogènes fortes. Ces observations reposent également sur l'intensité plus importante du premier pic dans les distances entre oxygènes (voir figure 4.9a) et les distances entre oxygène accepteur et hydrogène échangé (voir figure 4.10a). Ce résultat est confirmé par l'utilisation des PMF associés à chacune de ces distributions (figures 4.12, 4.13a et 4.14a), pour lesquelles les barrières de potentiel à franchir pour passer de l'état lié à l'état non lié sont abaissées, par rapport à l'eau pure, de 0.1 kcal.mol⁻¹ dans le cas des distributions

d'angle et $0,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dans le cas des distribution de distance entre hydrogènes et oxygènes. De plus, la figure 4.14a montre que, dans le cas de l'eau en présence de Griséofulvine, le puits de potentiel est légèrement plus profond d'environ $0,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ que dans le cas de l'eau pure, montrant ainsi une légère augmentation de la force des liaisons hydrogènes créées entre molécules d'eau au sein de cette couche. Cette tendance à favoriser les interactions entre molécules d'eau dans le cas de surfaces hydrophobes et à les défavoriser dans le cas de surfaces hydrophiles est inversée dès que l'eau n'est plus en contact direct avec la surface du principe actif. Ceci explique l'augmentation brutale du paramètre d'ordre tétraédrique q lorsque l'eau est en présence de Tréhalose par rapport à l'eau en contact avec la Griséofulvine (voir Figure 4.6).

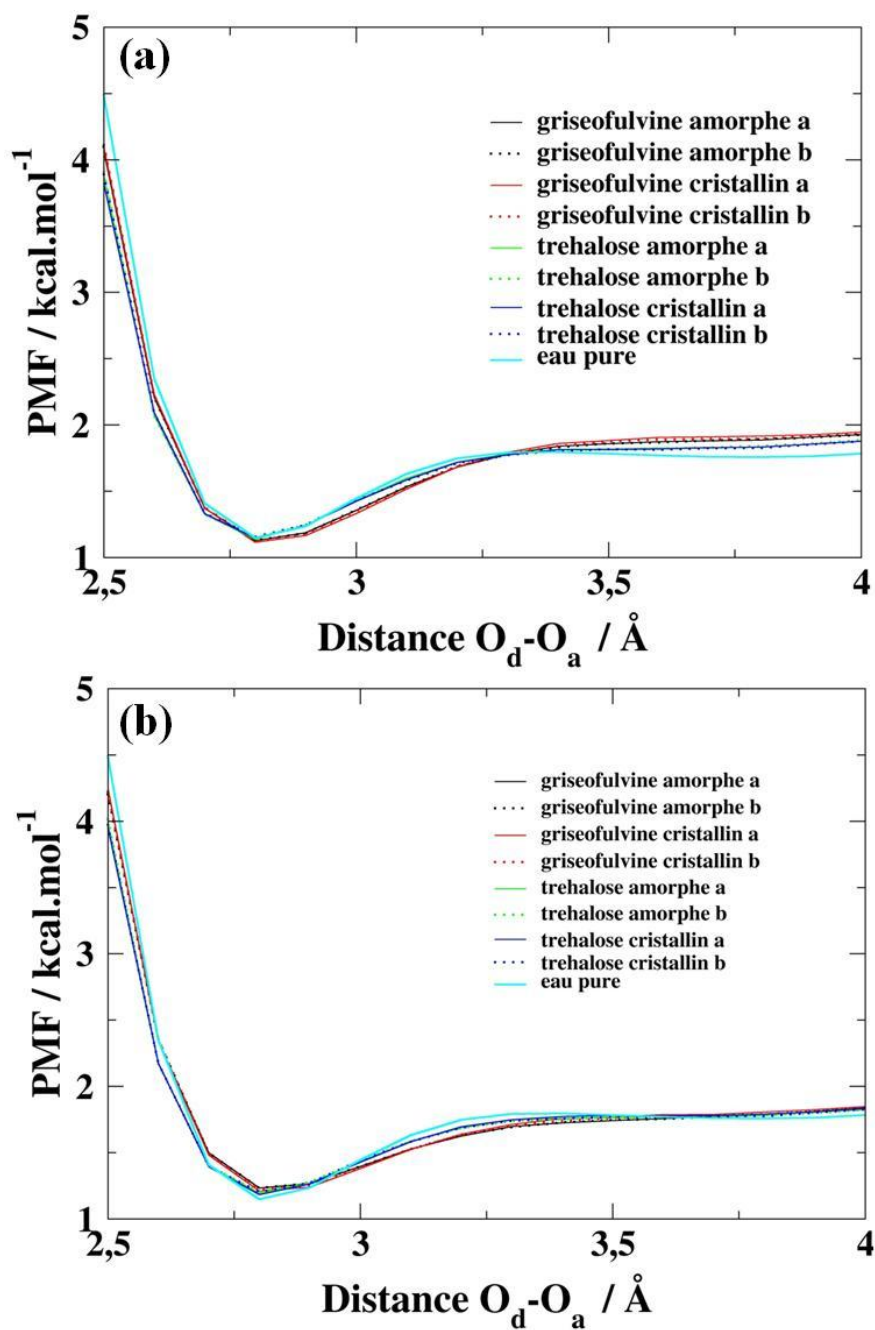


Figure 4.12 Représentations du potentiel de force moyenne issu de la distribution de probabilité de distance entre les oxygènes donneurs et accepteurs issue de la figure 4.9. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair.

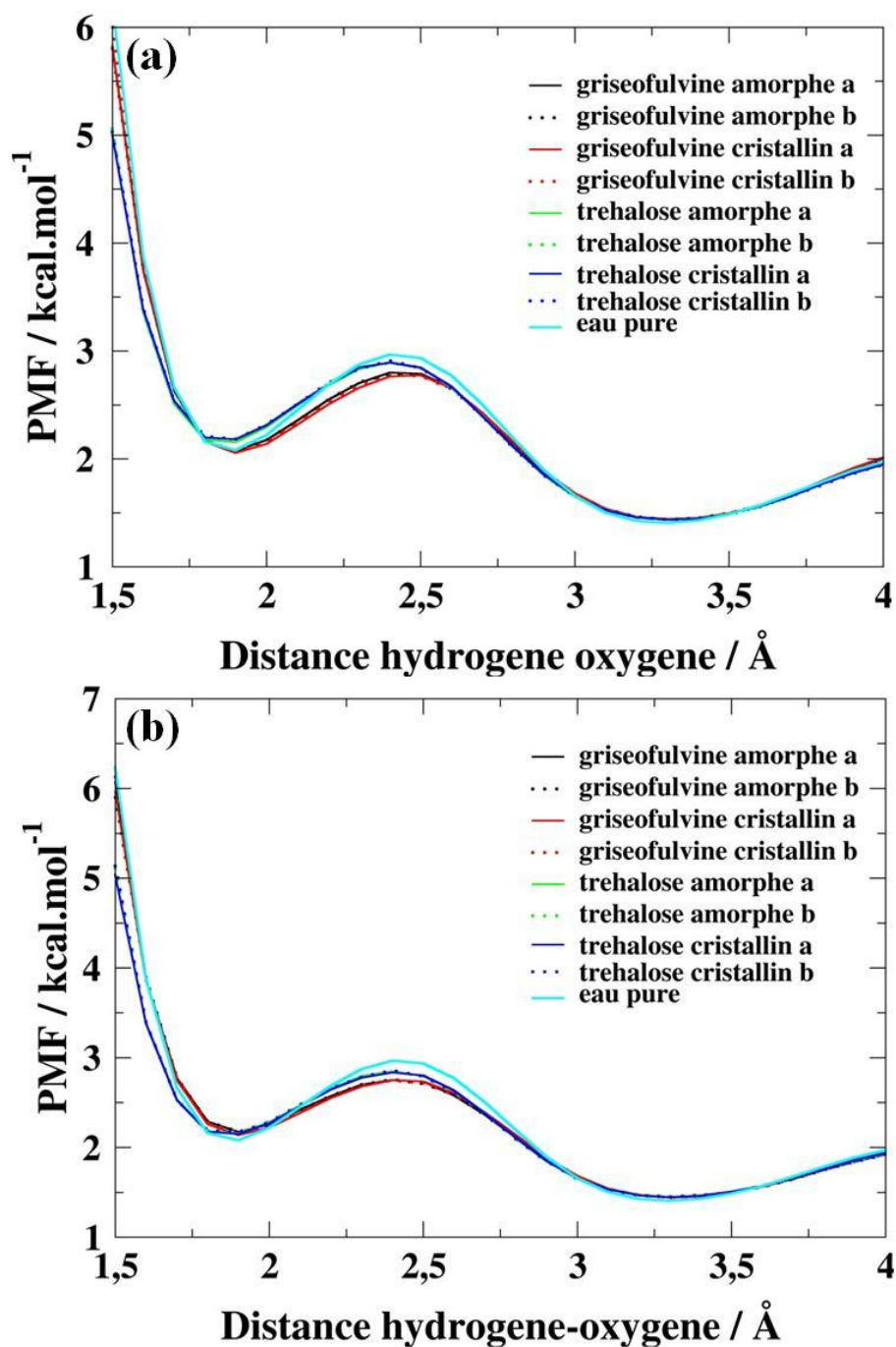


Figure 4.13 Représentations du potentiel de force moyenne issu de la distribution de probabilité de distance entre les oxygènes et les hydrogènes issue de la figure 4.10. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair.

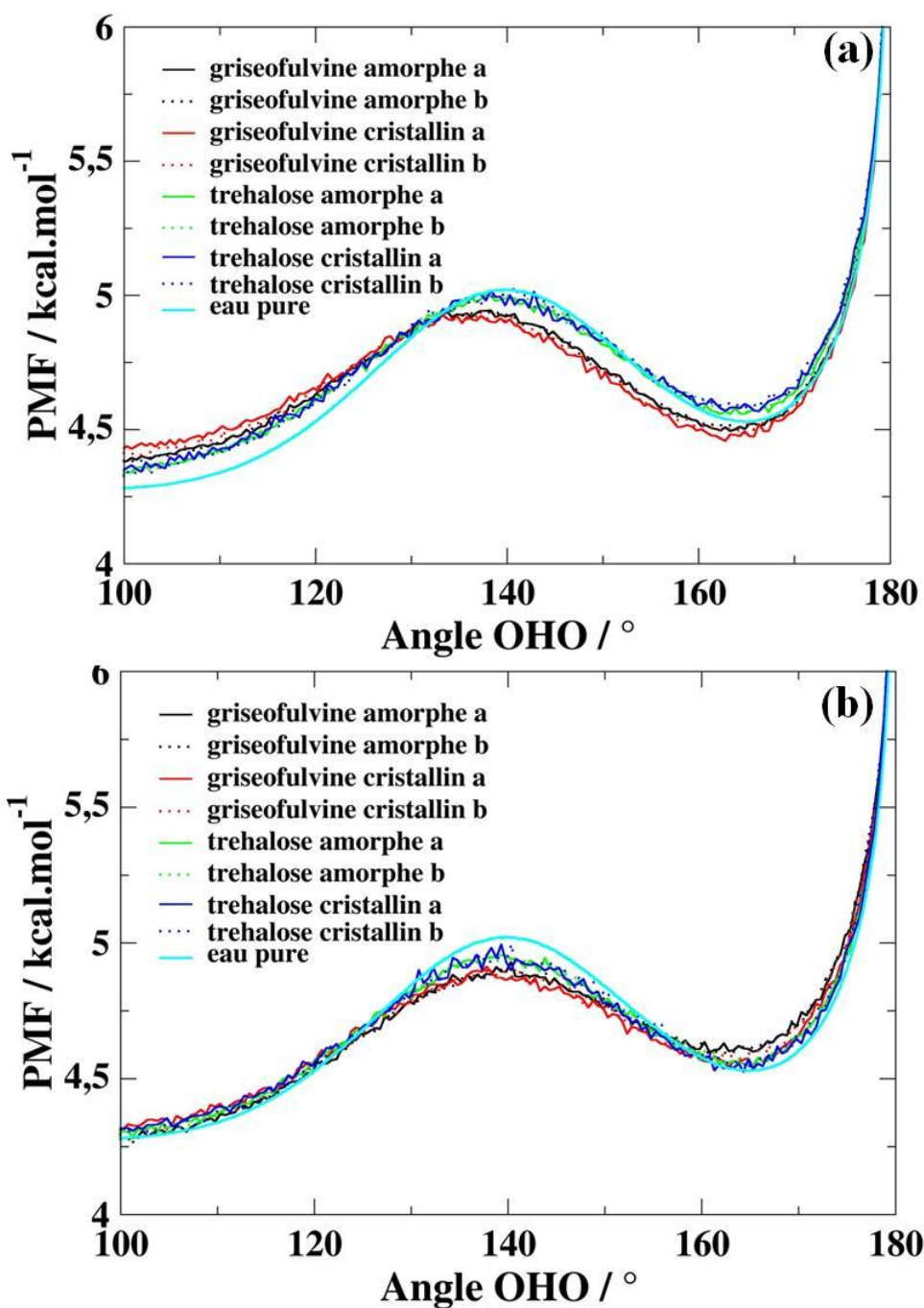


Figure 4.14 Représentations du potentiel de force moyenne issu de la distribution de probabilité d'angle O_aHO_d issue de la figure 4.11. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P seul à 300 K est représenté en bleu clair.

4.4 Propriétés dynamiques de l'eau d'interface

4.4.1 Dynamique rotationnelle

La dynamique rotationnelle de l'eau est connue pour présenter des ralentissements à

l'interface de protéines^{108, 373, 374} et de surfaces hydrophobes^{323, 324}. On peut estimer la dynamique rotationnelle des molécules à la suite d'une simulation de dynamique moléculaire par la réorientation de leur moment dipolaire $\mu(t)$. Cette réorientation peut être caractérisée à l'aide des fonctions d'autocorrélation des moments dipolaires $\langle \cos\theta(t) \rangle = \frac{\langle \mu(t) \cdot \mu(0) \rangle}{\mu(0)^2}$ où $\theta(t)$ l'angle entre le moment dipolaire d'une molécule entre l'instant t et l'instant initial. Les fonctions Γ_1 et Γ_2 sont les polynômes de Legendre du premier et deuxième ordre des fonctions d'autocorrélation des moments dipolaires moyennées sur l'ensemble des molécules et des origines de temps :

$$\Gamma_1 = \langle \cos\theta(t) \rangle \quad (4.4)$$

$$\Gamma_2 = \langle 3\cos^2\theta(t) - 1 \rangle \quad (4.5)$$

Ces fonctions sont très largement utilisées dans la mesure où il est possible de les comparer avec des résultats expérimentaux venant de mesures de relaxation diélectrique dans le cas de Γ_1 et d'expériences de RMN dans le cas de Γ_2 ³⁷⁵. Afin d'étudier l'effet de la surface sur la dynamique de l'eau, on a calculé ces deux fonctions pour chaque molécule et différentes distances par rapport à la surface. Les résultats ont ensuite été moyennés sur des couches de 5 Å de profondeur. La décroissance des fonctions Γ_1 et Γ_2 est connue pour être une exponentielle simple dans le cas de l'eau pure à température ambiante avec un temps de relaxation expérimental τ_1 pour Γ_1 qui a été estimée de l'ordre de 4.76 ps³⁷⁶ à 8.3 ps^{377, 378, 379}. Les simulations utilisant le modèle d'eau TIP3P à température ambiante ont estimé le temps τ_1 à 6.125 ps et 7.324 ps^{380, 381}. Le temps de relaxation τ_2 est plus faible que τ_1 et a été estimé expérimentalement à 1.923 ps³⁸² et 2.1 ps³⁸³. Nos calculs des temps de relaxation τ_1 et τ_2 de la boîte de simulation d'eau pure donnent les valeurs suivantes : $\tau_1=5.974$ ps et $\tau_2=2.127$ ps. Ce résultat est en bon accord avec l'hypothèse d'une diffusion rotationnelle isotrope ($\tau_1=3\tau_2$) et est utilisé dans la suite comme référence des comportements de l'eau en présence des matériaux pharmaceutiques. Les temps de relaxation τ_1 et τ_2 sont par la suite définis comme le temps nécessaire à la fonction d'autocorrélation Γ_1 ou Γ_2 pour décroître jusqu'à $1/e$.

On observe sur les figures 4.15 a et b que l'eau confinée, qui n'est pas en interaction directe

avec la surface (au delà de 5 Å), présente généralement des temps de relaxation rotationnelle plus court que l'eau pure. Ceci peut être expliqué par 1/ la perte de tétraédralité du réseau d'eau au profit d'un réseau moins structuré ainsi que par 2/ la diminution de la barrière énergétique nécessaire à la destruction d'une liaison hydrogène (voir section précédente) entre deux molécules. Ces deux effets autorisent ainsi les molécules d'eau à se réorienter plus rapidement via des sauts de liaisons hydrogènes plus fréquents. Cet effet ne dépend que du type (hydrophile ou hydrophobe) de la surface à laquelle les molécules sont exposées. Pour Γ_1 une réorientation deux fois plus rapide que l'eau pure loin de la surface est obtenue dans le cas des surfaces hydrophiles, elle est trois fois plus rapide dans le cas des surfaces hydrophobes. La fonction Γ_2 présente le même comportement que Γ_1 avec une dynamique plus rapide des molécules en présence d'une surface hydrophobe. Ce comportement a été expliqué, en incluant à la théorie de l'état de transition des considérations de volume exclu venant de la présence de la surface³²⁷. Ce ralentissement de dynamique serait lié à une modification des échanges entre liaisons hydrogènes au sein de l'eau du fait de la modification de la barrière énergétique d'activation associée à ces liaisons³²⁷. Toutes les simulations présentent un ralentissement de la dynamique rotationnelle des molécules d'eau proche de la surface (figures 4.15 a et b). Ce ralentissement correspond à une augmentation des temps de relaxation de 3 à 4 fois la valeur déterminée loin de la surface dans le cas de τ_1 et de 2 fois dans le cas de τ_2 . Dans le cas de Γ_1 , ce ralentissement ne dépend pas que de l'affinité de la surface avec l'eau mais également de son état cristallin ou amorphe. Un ralentissement plus important est obtenu dans le cas de molécules d'eau en contact avec une surface hydrophile et/ou amorphe que dans le cas de molécules en contact avec une surfaces hydrophobe et/ou cristalline. Le même comportement est observé avec le temps de relaxation τ_2 . Une dépendance de ce dernier est également observée par rapport au degré de confinement de l'eau. Une augmentation du temps de relaxation avec la réduction du degré de confinement peut ainsi être notée dans le cas d'une interaction de l'eau avec un composé pharmaceutique amorphe. Le comportement opposé est observé avec les phases cristallines. La dépendance vis-à-vis de l'affinité des surfaces avec l'eau est attribuée à la possibilité que les

molécules d'eau ont de former des liaisons fortes avec les groupes hydroxyles du Tréhalose tandis qu'aucune interaction forte entre l'eau et la Griséofulvine n'est possible. Il a été montré que la dynamique rotationnelle de l'eau présente un ralentissement lorsque ses mouvements sont contraints dans des cavités³⁸⁴. Ce ralentissement suggère que la dépendance vis à vis de la cristallinité est liée à la plus forte mobilité des molécules de matériau pharmaceutique à la surface de la phase amorphe. Comme nous l'avons supposé dans la section 4.3.1, la plus grande mobilité des molécules à la surface de la phase amorphe lors de l'étape de relaxation de la boîte dans l'ensemble *NPT* pourrait entraîner une plus grande capacité de réorganisation et donc à créer ou supprimer les cavités à la surface du composé pharmaceutique, favorisant ainsi les interaction entre l'eau et les groupes polaires sans les restreindre à un plan en particulier^{385, 386}.

Pour pouvoir valider l'idée que la mobilité de l'amorphe participe à la création/destruction de cavités à la surface du matériau pharmaceutique, l'étude de l'anisotropie de la dynamique rotationnelle est utilisée. Celle-ci permet de déterminer le type d'environnement sondé par les molécules d'eau évoluent. L'anisotropie est définie par le ratio τ_1/τ_2 . Un ratio proche de 3 reflète une diffusion rotationnelle quasi isotrope et un ratio supérieur à 3 a été décrit comme reflétant des rotations contraintes à l'intérieur de surfaces coniques^{325, 386}. La Figure 4.16 présente ce ratio d'anisotropie en fonction de la distance au composé pharmaceutique. L'eau loin de la surface présente une valeur du ratio d'anisotropie proche de la valeur de l'eau pure ($\tau_1/\tau_2 \approx 2,8$). Proche de la surface, on observe une augmentation significative de ce ratio ainsi qu'une anisotropie plus importante pour le Tréhalose que pour la Griséofulvine. Ainsi, l'eau proche de la surface de l'amorphe de Tréhalose possède l'anisotropie la plus grande tandis que l'amorphe de Griséofulvine présente l'anisotropie la plus faible. Les valeurs calculées du facteur d'anisotropie semblent confirmer la capacité de l'amorphe de Tréhalose à créer des cavités, favorisant ainsi ses interactions avec l'eau ainsi que celle de l'amorphe de Griséofulvine à détruire ses cavités, minimisant ainsi les interactions avec l'eau. La valeur de ce ratio proche de la surface reste cependant largement supérieur à 3 ce qui, dans le cas des surfaces hydrophobes ne peut s'expliquer uniquement par des

mouvements restreints à des surfaces coniques du fait de l'absence de groupes hydrophiles. De tels ratios d'anisotropie ont déjà été décrits comme représentatifs du mécanisme de réorientation de molécules faiblement liées entre elles effectuant principalement de petits déplacements diffusifs des molécules d'eau plutôt que de larges sauts angulaires intervenant dans l'échange de partenaires pour la formation de liaisons hydrogènes^{373, 387}.

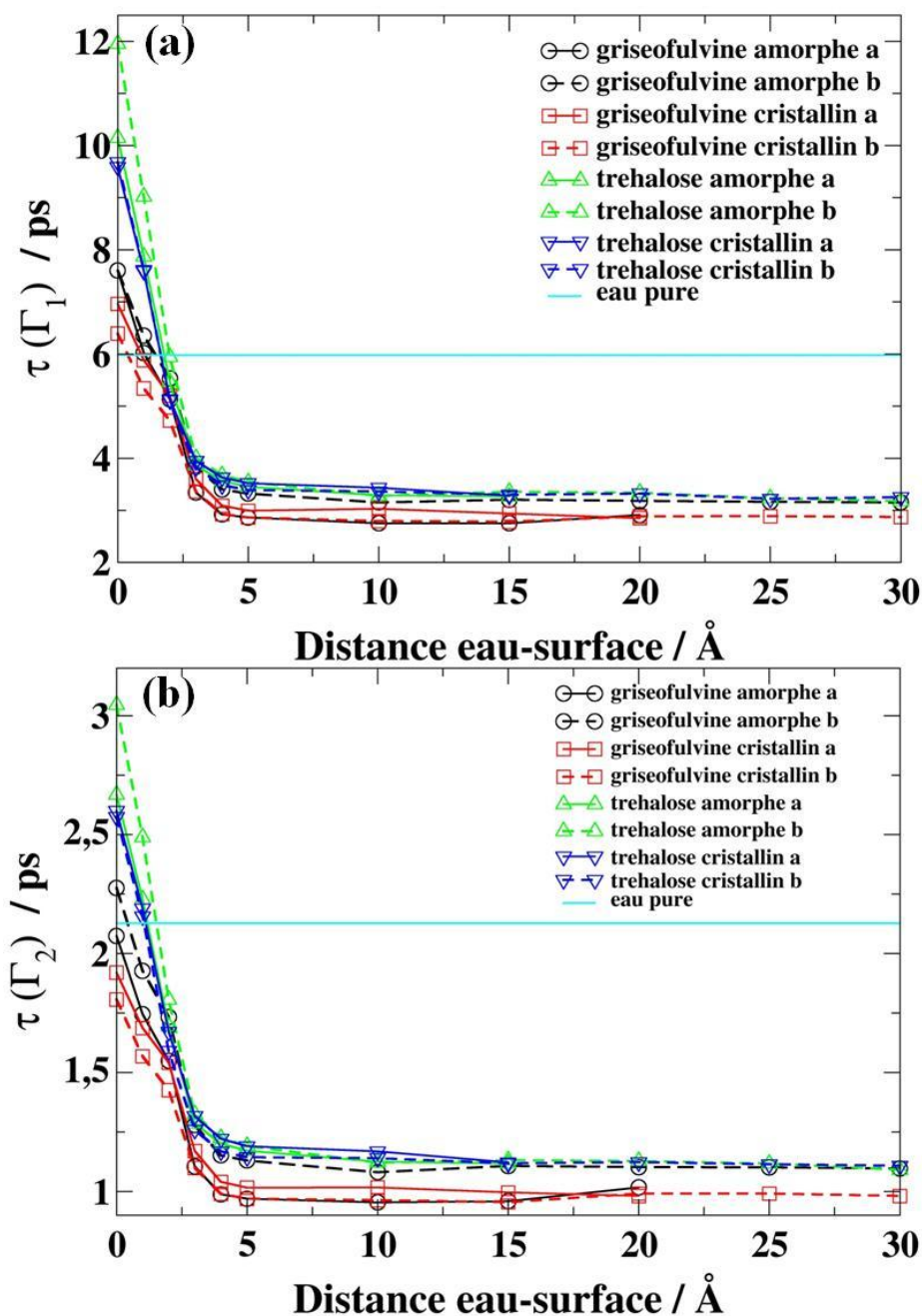


Figure 4.15 Variation des temps de relaxations (a) τ_1 de la fonction Γ_1 et (b) τ_2 de la fonction Γ_2 à différentes distances de la surface du composé pharmaceutique. Les mêmes codes couleurs et type de lignes que dans la figure 4.8 sont utilisés.

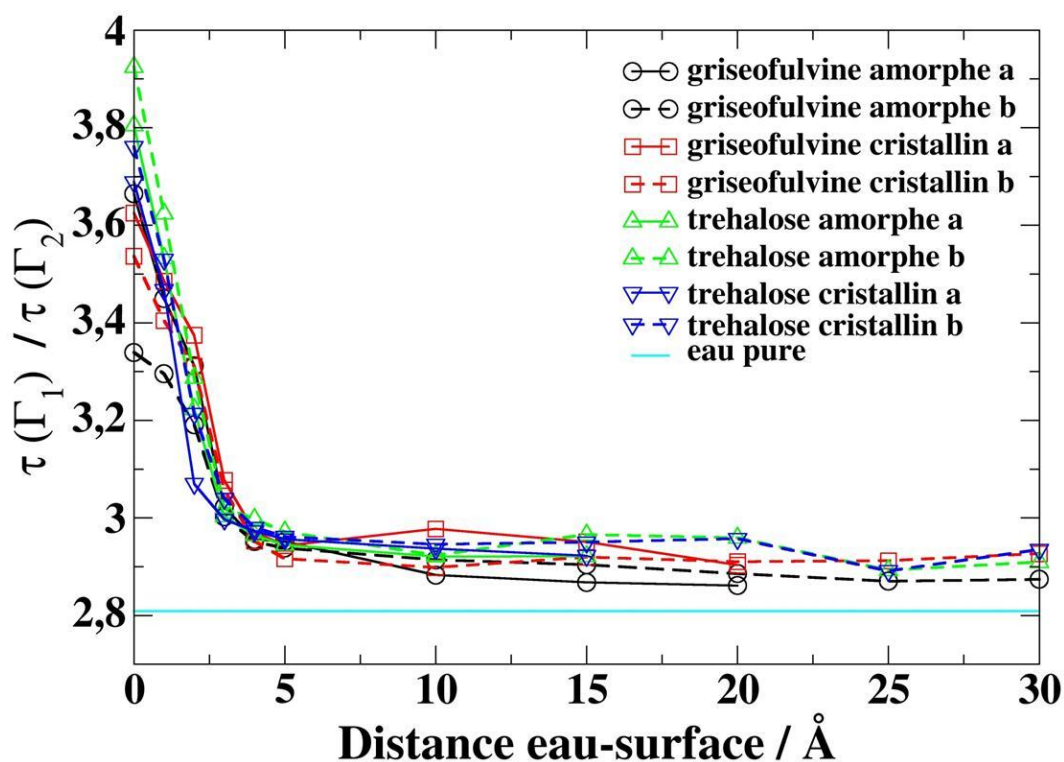


Figure 4.16 Variation du ratio τ_1/τ_2 à différentes distances de la surface du principe actif. La valeur du modèle d'eau TIP3P est représentée en bleu clair. Une valeur de ce ratio proche de 3 indique une isotropie de la dynamique rotationnelle. Les mêmes codes couleurs et type de lignes que dans la figure 4.8 sont utilisés.

4.4.2 Dynamique translationnelle

La description de la dynamique translationnelle des molécules d'eau peut être étudié à l'aide du déplacement quadratique moyen $\langle r^2 \rangle$ défini à l'instant t par :

$$\langle r^2(t) \rangle = \langle |\vec{r}(t) - \vec{r}(0)|^2 \rangle \quad (4.6)$$

où $\langle \rangle$ représente la moyenne sur toutes les molécules et les origines de temps. Il est bien connu que ce paramètre présente un comportement non-linéaire en fonction du temps dans le cas de systèmes confinés et de systèmes soumis à un désordre spatial (venant de la géométrie de la surface) ou temporel (venant du désordre énergétique, notamment des sites polaires de la surface)^{348, 373}. Dans ces deux cas, la dépendance du déplacement quadratique moyen en fonction du temps suit une loi en puissance :

$$\langle r^2(t) \rangle \sim t^\alpha \quad (4.7)$$

avec $\alpha=1$ dans le cas d'une diffusion dans un milieu homogène (diffusion normale) et $\alpha<1$ dans le cas d'une diffusion dans un milieu inhomogène (diffusion anormale). La diffusion anormale de l'eau a été observée à la surface de diverses biomolécules. Celle-ci proviendrait de la rugosité de la surface et d'inhomogénéités de l'intensité des interactions entre l'eau et la biomolécule le long de sa surface^{108, 109, 94, 95}. Le coefficient de diffusion des molécules peut également être déterminé à partir de leur déplacement quadratique moyen via la relation d'Einstein¹⁵¹.

Le calcul du déplacement quadratique moyen de l'eau en présence d'une surface de composé pharmaceutique a été effectué en fonction de la distance des molécules d'eau avec la surface. Les résultats ont ensuite été moyennés sur des couches de 5 Å de profondeur. Le comportement du déplacement quadratique moyen dans le cas des simulations de l'eau pure suivant le modèle TIP3P doit suivre une diffusion normale. Une attention particulière doit cependant être apportée au calcul des forces électrostatiques, en particulier quant à l'utilisation des mêmes conditions entre l'eau pure et l'eau en interaction avec une surface pour pouvoir les comparer. Le coefficient de diffusion des molécules d'eau à température ambiante a été estimé entre 0.23 et 0.7 Å².ps⁻¹ pour les versions originales et modifiées du modèle TIP3P. Il a été montré que l'utilisation de la somme d'Ewald pour le calcul des forces électrostatiques conduit à une surestimation du coefficient de diffusion D par rapport à l'expérience^{388, 389, 390} avec $D=0.5$ Å².ps⁻¹. Au contraire, l'utilisation de la méthode du champ de réaction avec un rayon de coupure pour les interactions non liées de 12 Å conduit au calcul d'un coefficient de diffusion plus proche de l'expérience avec $D=0.23$ Å².ps⁻¹³⁹¹. Dans notre cas (utilisation de la méthode du champ de réaction avec un rayon de coupure de 10 Å) nous obtenons un coefficient de diffusion $D=0.209$ Å².ps⁻¹. Ce bon accord avec l'expérience pourrait s'expliquer par le fait que le modèle TIP3P ait été optimisé pour les méthodes utilisant des troncatures^{390, 392}.

Les coefficients de diffusion sont représentés sur la figure 4.17. Quelle que l'affinité du matériau pharmaceutique avec l'eau, le fait que l'eau soit confinée tend à accroître sa dynamique

translationnelle par rapport à l'eau pure. Le coefficient de diffusion total de l'eau confinée loin de la surface est ainsi supérieur à celle de l'eau pure, quel que soit le système et atteint une valeur d'équilibre à environ 4 Å de distance avec la surface. On observe aussi que la dynamique translationnelle montre une dépendance marquée avec l'affinité avec le composé pharmaceutique. Ainsi, une accélération de la dynamique translationnelle est observée dans le cas de l'eau proche d'une surface hydrophobe, y compris proche de la surface. Bien que l'on puisse raisonnablement suggérer que l'augmentation de la dynamique translationnelle présentée par la Griséofulvine cristalline soit dû à la diminution de la densité au sein de ces systèmes, il est difficile de distinguer l'influence de la perte de densité sur l'augmentation de la dynamique au sein des autres systèmes simulés. En effet, malgré la diminution de densité que présentent les boîtes de simulations fortement confinées de Tréhalose à la fois amorphe et cristallin (voir section 4.3.1) par rapport aux boîtes soumises à un faible confinement, ces systèmes ne présentent pas, entre eux, de différences marquées du coefficient de diffusion. De plus, les systèmes constitués d'eau en présence de Tréhalose montrent une diminution de la dynamique translationnelle par rapport à l'eau en présence de Griséofulvine amorphe, quel que soit le confinement appliqué. Dans ce dernier cas, la densité de l'eau ne dépend pas de la réduction du confinement et reste supérieure à la densité des systèmes d'eau fortement confinée en présence de Tréhalose (voir section 4.3.1). Si l'on ne peut pas déterminer directement l'influence de la densité sur nos coefficients de diffusion, on peut cependant remarquer que cette augmentation de la dynamique translationnelle dans le cas de surfaces hydrophobes est en accord avec l'évolution du paramètre d'ordre tétraédrique discuté précédemment (voir section 4.3.2). Nous pouvons ainsi supposer que l'arrangement de l'eau en structure de type 'liquide déstructuré' favorise la diffusion au sein du système. Dans tous les cas, la surface induit une diminution d'un facteur deux du coefficient de diffusion translationnelle. Cette hypothèse se voit renforcée par le ralentissement de la dynamique translationnelle avec la réduction du degré de confinement, qui favorise également l'organisation de l'eau dans la forme liquide déstructurée. Cette tendance est bien observée dans les formes cristallines de la Griséofulvine (voir figure 4.17).

Quel que soit le type de surface avec laquelle l'eau est en contact, on observe que l'accroissement du coefficient de diffusion se fait de manière progressive jusqu'à la valeur de volume 4 Å. Ces observations sont en bon accord avec l'observation de la structuration du réseau de liaisons hydrogènes de l'eau, avec l'augmentation de la distance à la surface présentée précédemment. A la surface du composé pharmaceutique, il doit également être noté que la différence de dynamique observée entre les systèmes hydrophiles et hydrophobes peut être imputée aux molécules qui peuvent fortement se lier aux groupes hydroxyles du Tréhalose, créant ainsi un ancrage fort des molécules avec la surface qui n'apparaît pas avec la Griséofulvine.

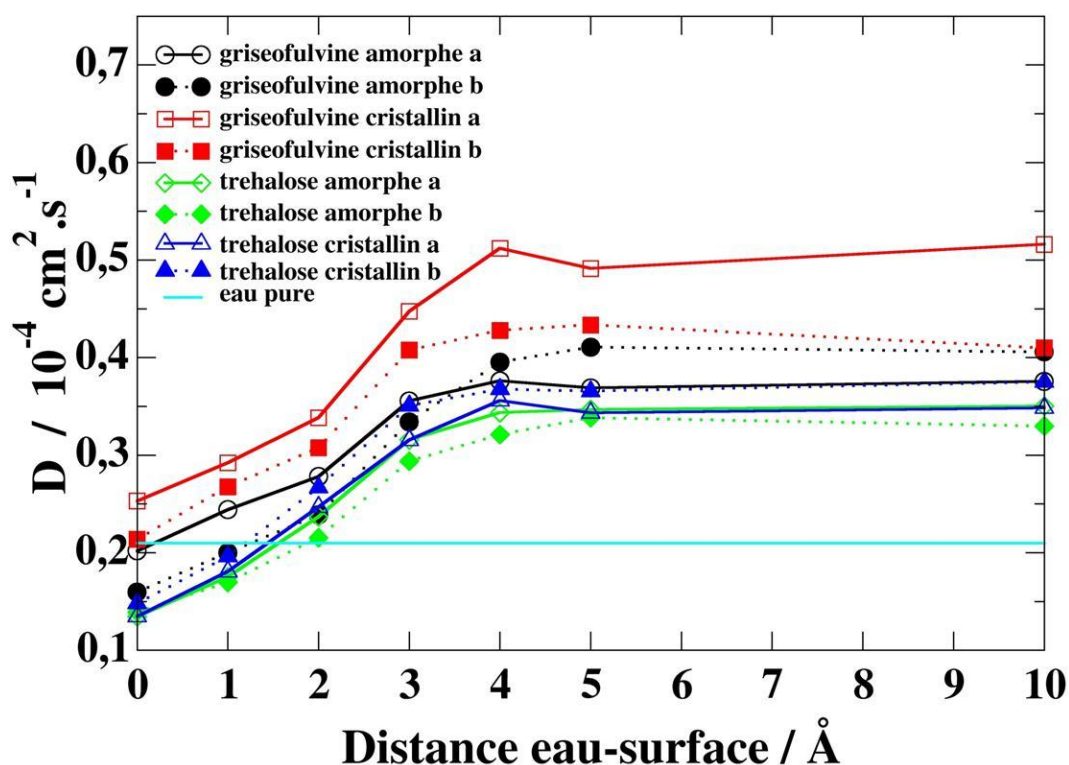


Figure 4.17 Evolution des coefficients de diffusion des molécules d'eau en fonction de la distance avec la surface. Le résultat obtenu pour le modèle TIP3P est représenté en bleu clair, la Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes subissant un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en lignes pleines tandis que les boites de simulation subissant un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par une ligne pointillée.

Comme attendu dans le cas de simulations de systèmes confinés, toutes les simulations montrent un régime de diffusion dispersif (caractérisé par une densité de probabilité non gaussienne de la distribution des déplacements³¹⁷), avec, par conséquent, un coefficient $\alpha < 1$ (voir figure 4.18). On observe que cette anomalie de diffusion n'est pas très marquée dans le cas de nos simulations puisque le coefficient α y est proche de 1. Ainsi, pour chacun de nos systèmes, la valeur du coefficient α loin de la surface est comprise entre 0,92 et 0,96 excepté dans le cas de la Griséofulvine amorphe subissant un faible confinement et la Griséofulvine cristalline subissant un fort confinement. De plus, ce coefficient passe par un minimum entre 3 et 4 Å de distance par rapport à la surface. La position de ce minimum correspond à la distance pour laquelle les grandeurs précédemment calculées rejoignent leur valeur du volume. Cette distance correspond au maximum du coefficient de diffusion au sein de chacun des systèmes. Nous pouvons ainsi suggérer que le minimum observé du coefficient α ne soit dû qu'à la discrétisation en couches de notre calcul, limitant ainsi la valeur maximale du déplacement quadratique moyen suivant la direction z à une valeur finie. La valeur du coefficient α augmente ainsi lorsque les molécules d'eau se rapprochent de la surface. Nous devrions cependant nous attendre à ce que les anomalies de diffusion proches de la surface soient renforcées par la présence d'un désordre énergétique³⁹³ résultant des nombreux extrema de l'énergie le long de la surface du fait de la présence de groupes polaire et apolaires. Cet effet dynamique particulier n'est sondé que par ce paramètre.

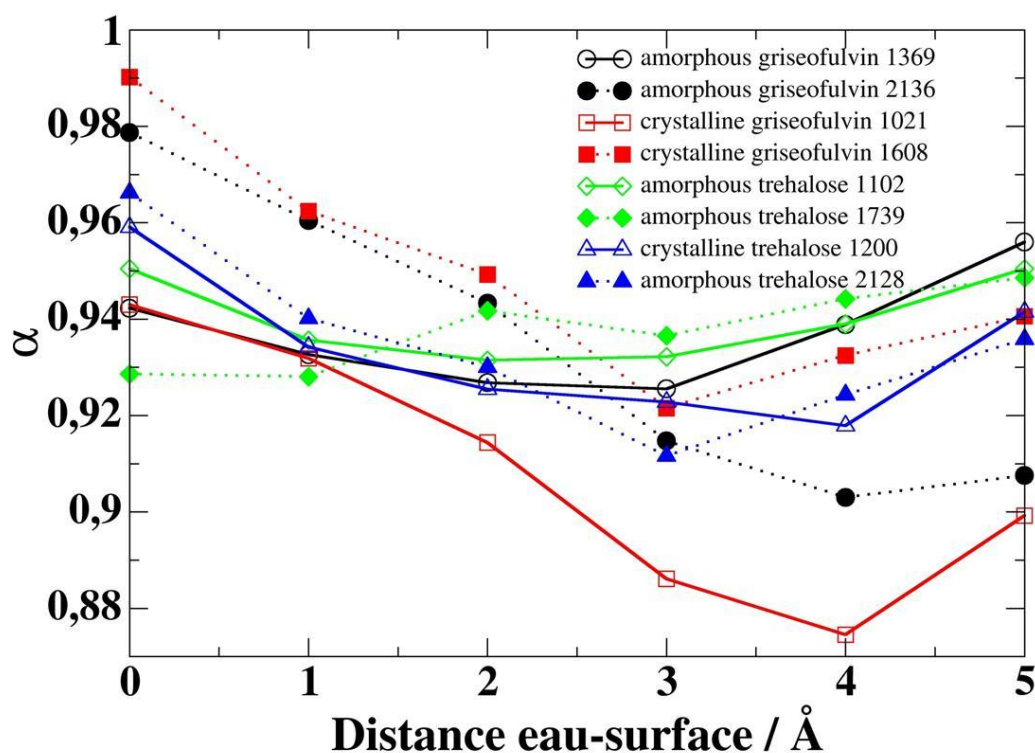


Figure 4.18 Evolution du coefficient α en fonction de la distance avec la surface. La Griséofulvine amorphe est représentée en noir, la Griséofulvine cristalline en rouge, le Tréhalose amorphe en vert et le Tréhalose cristallin en bleu. Les boîtes subissant un confinement important sont notées avec un 'a' dans la légende et sont représentées en lignes pleines tandis que les boîtes de simulation subissant un confinement faible, notées avec un 'b' dans la légende, sont représentées par une ligne pointillée.

4.5 Entropie de l'eau de solvation

Un grand nombre d'effets de la dynamique de l'eau en présence d'une interface ont été expliqués par l'apparition d'effets entropiques. Compte tenu de la difficulté de détermination de l'entropie, peu d'études ont reportées les variations d'entropie d'un liquide proche d'une interface^{394, 395, 396}. De telles recherches ont cependant pu être effectuées pour des systèmes de sphères dures³⁹⁴, les systèmes métalliques³⁹⁵, et les systèmes hydrocarbonés³⁹⁶. L'entropie a récemment été calculée dans le cas de l'eau de surface de biomolécules³⁹⁷. Ces études ont montré que l'entropie configurationnelle du liquide décroît près de la surface du fait d'un effet d'encombrement stérique qui trouve son origine dans le nombre de configurations accessibles pour un arrangement du liquide.

La partie vibrationnelle de l'entropie est dépendante de l'augmentation du volume local accessible aux atomes. Au contraire de la partie configurationnelle, la partie vibrationnelle de l'entropie du liquide est considérée comme constante puisque à l'équilibre le volume accessible au liquide reste le même que ce soit dans le volume ou proche de l'interface. Comme pour les systèmes précédents, l'influence de la surface de biomolécules sur l'eau a montré qu'une réduction de l'entropie configurationnelle devrait être attribuée à une structuration plus importante de l'eau, en utilisant le ralentissement de la dynamique rotationnelle comme argument³⁹⁷.

La méthode 2PT présentée dans le chapitre 2 et utilisée dans le chapitre 3 sur divers systèmes moléculaires a prouvé son efficacité dans le calcul de l'entropie de l'eau avec des valeurs proches de l'expérience, y compris pour le modèle TIP3P⁷⁷. Il est possible de déterminer l'entropie configurationnelle de l'eau à l'aide de la méthode 2PT du fait de la séparation du calcul de l'entropie en composantes solide (contenant les contributions vibrationnelles du système) et fluide (contenant les contributions configurationnelles) (voir Chapitre 2.6). L'utilisation de la méthode 2PT donne pour le modèle TIP3P une valeur référence de l'entropie de 62.69 J/mol.K. Cette valeur est légèrement inférieure à la valeur déjà calculée de 68.49 J/mol.K⁷⁷. Cette différence pourrait être attribuée aux différentes méthodes de traitement utilisées pour le calcul des forces électrostatiques dans les deux types de simulations (reaction field dans notre calcul, une somme d'Ewald dans le calcul de la référence⁷⁷).

La figure 4.19 présente l'évolution des entropies totale et configurationnelle de l'eau en fonction de la distance entre les molécules d'eau et l'interface. Quel que soit le type de surface avec laquelle l'eau est en contact, une augmentation de l'entropie est observée pour l'eau loin de la surface comparée à la valeur référence. D'après la définition même de l'entropie, cela correspond à une augmentation du nombre de configurations accessibles aux molécules, ce qui est en bon accord avec l'accélération des dynamiques translationnelles et rotationnelles permettant ainsi aux molécules d'eau de visiter un nombre plus important de configurations³⁹⁸. Pour les mêmes raisons, la plus faible de probabilité des molécules d'eau à rester dans l'arrangement de type 'glace' au profit

d'une structure de type liquide 'déstructuré' est également en bon accord avec l'augmentation de l'entropie dans l'eau loin de la surface. Ce résultat démontre la validité, au moins qualitative, du calcul de l'entropie de l'eau par couches avec la méthode 2PT. La surface induit une diminution de l'entropie de l'eau qui se limite dans tous les cas principalement à la première couche d'hydratation de la surface. La diminution de l'entropie de l'eau en contact avec des groupes hydrophobes a déjà été observée à la suite de simulations de bicouches de lipides³⁹⁷ mais n'a été attribuée qu'à une structuration de l'eau proche de la surface. Elle a ainsi été interprétée comme une preuve du modèle de l'iceberg³⁹⁹ qui suppose que les molécules d'eau proches de groupes hydrophobes se figent en bloc avec une structure proche de la glace. Nos précédentes observations concernant la distribution de probabilité du paramètre d'ordre tétraédrique q à l'interface entre l'eau et le matériau pharmaceutique suggèrent cependant que cette diminution ne peut être attribuée à une structuration plus importante des molécules au sein de leur propre réseau de liaisons hydrogènes. En effet, puisque l'eau de la première couche d'hydratation de la surface doit se soumettre aux conditions topologiques de la surface, ces molécules ne peuvent échantillonner autant de configurations que l'eau de volume. Comme cela a déjà été observé précédemment³⁹⁷, la perte d'entropie de l'eau à la surface dans nos systèmes est due à une perte d'entropie configurationnelle (Figure 4.9). On remarque également que la perte d'entropie configurationnelle est plus importante dans le cas des surfaces hydrophiles. Cette perte pourrait venir des interactions plus fortes qui existe entre l'eau et le Tréhalose (notamment via la création de liaisons hydrogènes) par rapport aux interactions entre l'eau et la Griséofulvine. Ce résultat est en bon accord avec la diminution des dynamiques rotationnelle et translationnelle dans le cas de l'eau proche de la surface et l'ordre relatif de cette diminution entre les différents systèmes.

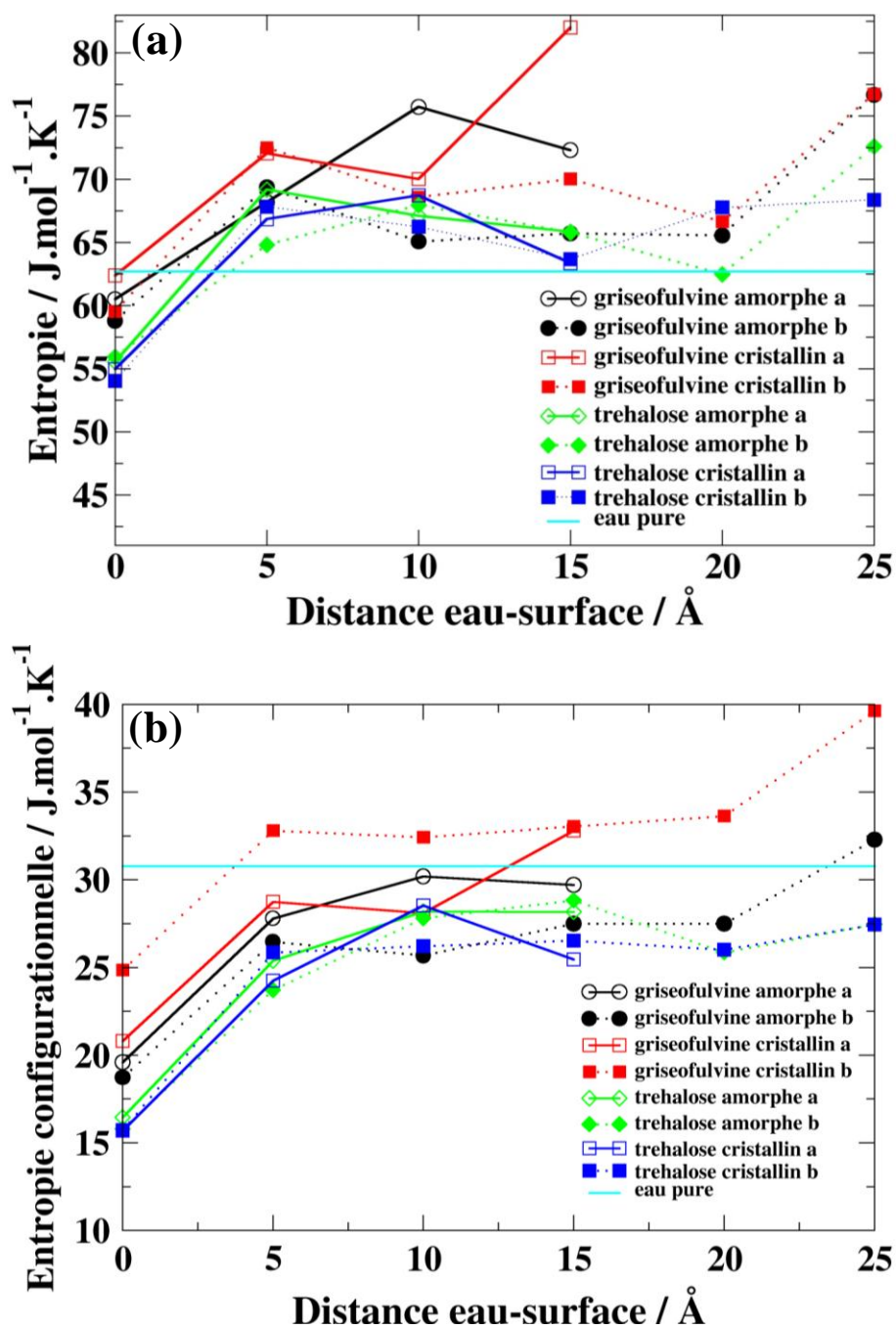


Figure 4.19 (a) Variation de l'entropie de l'eau en fonction de la distance par rapport à l'interface pour les différentes boîtes de simulation; (b) Variation, en fonction de la distance à la surface, de l'entropie configurationnelle obtenue par la méthode 2PT à partir de la composante gazeuse de la densité d'état. Les mêmes codes couleurs et type de lignes que dans la figure 4.8 sont utilisés.

4.6 Conclusion

Ce chapitre avait pour objectif d'aborder l'influence de surfaces, à la fois hydrophiles et hydrophobes dans des états cristallins et amorphes, sur l'eau d'hydratation. Les origines des anomalies dynamiques ont pu être discutées en ayant connaissance de l'influence des effets énergétiques et géométriques. De même, les effets trouvant leur origine dans le confinement des boîtes de simulation ont pu être séparés des autres paramètres en vue de compléter notre analyse.

Nous avons montré que quel que soit l'affinité de la surface avec l'eau, l'interaction se fait principalement avec la première couche d'hydratation (jusqu'à environ 4 à 5 Å) et cette couche seulement est fortement perturbée par la présence d'une interface. Cet effet destructurant s'atténue rapidement en s'éloignant de la surface. Dans le cas de simulations en milieu confiné, les molécules d'eau de cette première couche d'hydratation sont dépendantes des molécules d'eau du reste de la boîte et inversement. Des effets propres aux techniques de simulations et à leurs algorithmes peuvent en résulter, tel que le confinement, et doivent être isolés avec précaution. Nous avons montré que le confinement affecte l'eau loin de la surface, principalement en destructurant son réseau de liaisons hydrogènes. Cette déstructuration se caractérise par une prépondérance du réseau de l'eau dans l'arrangement 'liquide déstructuré' au détriment de l'arrangement 'glace' ce qui entraîne une diminution de la densité. De plus, cette réorganisation du voisinage des molécules d'eau induit une augmentation de l'entropie vibrationnelle grâce à l'augmentation du volume local de chaque molécule. Cette augmentation de volume engendre également un accroissement de la constante de diffusion et un isotropisme de la relaxation rotationnelle ($\tau_1=3\tau_2$) caractérisé par une part égale entre des petits pas de diffusion et les grands sauts angulaires (intervenants dans les échanges de partenaires lors de la création/destruction de liaison hydrogènes) dans le mécanisme de réorientation. On peut suggérer que le ralentissement de la relaxation rotationnelle en milieu confiné proviendrait de la difficulté des molécules d'eau à trouver de nouveaux partenaires pour les échanges de liaisons hydrogènes dans les systèmes peu denses. Le confinement de la boîte d'eau selon une direction induit également une perte de l'entropie de configuration pour l'eau loin de l'interface.

Les effets induits par la surface lorsque les molécules d'eau s'en rapprochent sont généralement caractérisés par une réduction graduelle de la structure du réseau de liaison hydrogène de l'eau engendrant un ralentissement et une anisotropie de la dynamique rotationnelle. Cette anisotropie progressive de la dynamique rotationnelle se fait par un mécanisme faisant moins appel à des sauts angulaires de larges amplitudes entre partenaires, que de création de liaisons hydrogènes au profit d'étapes de diffusion translationnelle des molécules. Ces propriétés structurales et dynamiques induisent une perte de l'entropie de l'eau au fur et à mesure de son rapprochement avec l'interface qui se caractérise principalement par une chute de l'entropie de configuration. Les différences entre surfaces hydrophile et hydrophobe ainsi que cristalline et amorphe se caractérisent par des comportements qui ne peuvent pas être restreints au comportement général décrit précédemment. L'étude du profil de densité a montré que l'organisation en couches de l'eau au contact d'une interface est largement favorisée par les surfaces hydrophiles et les phases cristallines. Les surfaces hydrophobes et/ou amorphes présentent des effets déstructurants sur une plus grande distance de l'interface, caractérisés par une diminution plus prononcée du paramètre d'ordre tétraédrique q ainsi qu'une augmentation de la probabilité de deux molécules d'eau de se lier fortement entre elles. Les surfaces hydrophiles et/ou cristallines montrent une plus grande capacité à ralentir à la fois les relaxations rotationnelles et translationnelles des molécules d'eau. Il ne nous a pas été possible de déterminer précisément l'origine des anomalies de diffusion de l'eau au sein de nos systèmes, notamment du fait de la difficulté de distinguer les effets entre les composés hydrophiles et hydrophobes ainsi qu'entre les surfaces amorphes et cristallines. Toutes les anomalies observées sont cependant de faibles amplitudes, à la fois par rapport au type de composé constituant la surface et par rapport à la distance séparant l'eau de la surface. Ces observations nous permettent de supposer que l'origine des anomalies au sein de nos systèmes sont principalement dues à un désordre géométrique lié à la perte de densité et de structuration du réseau de liaisons hydrogènes plutôt que d'un désordre géométrique issu de la présence des groupes polaires et apolaires à la surface.

Ces observations sur l'évolution de la cinétique et la structure de l'eau d'hydratation en présence d'une interface que l'on peut contrôler nous permettent ainsi d'appréhender les contraintes subies par un soluté en cours d'agrégation ou de dissolution. Cette étude ne peut cependant déterminer la cinétique de la dite agrégation ou dissolution. De plus, dans le cas d'une agrégation, cette seule connaissance des contraintes exercées sur le milieu par l'interface sont insuffisantes pour expliquer ou prédire la structure et la morphologie des agrégats et ainsi de déterminer le chemin que suivra une transition de phase entre deux états. Nous tentons ainsi de décrire et de trouver une relation entre la cinétique d'agrégation et la structure des agrégats dans le chapitre 5.

Chapitre 5 Cinétique d'agrégation de la

Griséofulvine

5.1 Introduction

Ce chapitre a pour objectif de décrire le lien entre la cinétique d'agrégation en milieu aqueux et la structure des agrégats d'un composé constitué de molécules complexes à intérêt pharmaceutique, ne disposant pas de groupes fonctionnels lui permettant d'assurer de fortes liaisons avec d'autres molécules de la même entité chimique. D'une façon générale, les cinétiques d'agrégation jouent un rôle primordial dans la capacité d'un composé à cristalliser sous plusieurs formes polymorphiques⁴⁰⁰. En simulation comme en expérience, la cristallisation, à partir de la phase liquide, d'un composé constitué de molécules complexes est fortement réduite par une faible mobilité moléculaire; cette dernière peut être compensée par un effet de dilution. Nous avons précédemment étudié, à l'aide de simulations de dynamique moléculaire, les propriétés thermodynamiques entraînant l'apparition d'une transition de phase puis l'évolution des contraintes auxquelles l'eau d'interface est soumise. Ces données ne sont cependant pas suffisantes pour pouvoir prédire la structure et la morphologie des agrégats et ainsi préciser le chemin que suivra une transition de phase entre deux états. Les molécules d'intérêt pharmaceutique sont généralement très fortement hydrophobes; elles s'apparient donc spontanément en milieu aqueux même en absence d'affinité particulière entre elles⁴⁰¹. Elles peuvent cependant former différentes formes polymorphiques énergétiquement favorables en fonction des conditions d'agrégation⁴⁰⁰. Ceci restreint l'utilisation courante du seul effet hydrophobe afin d'expliquer les différentes morphologies. Une étude comparative de l'évolution de la structure et de la topologie des agrégats en fonction de l'évolution de la cinétique d'agrégation dans le cas d'un principe actif fortement hydrophobe dont les molécules n'ont pas d'affinité particulièrement forte entre elles semble donc pertinente.

Dans ce chapitre, nous rappelons tout d'abord les concepts fondamentaux de notre étude

dans la suite de l'introduction puis présentons les configurations et conditions des simulations utilisées. Nous abordons ensuite l'étude de la cinétique d'agrégation en déterminant, en premier lieu, l'état d'équilibre que nos systèmes doivent atteindre ainsi que le chemin d'agrégation suivi pour arriver à cet état d'équilibre. La cinétique d'agrégation est ensuite décrite en présentant les états transitoires de l'agrégation ainsi que l'évolution temporelle de la polydispersité et de la compacité des agrégats. L'étude de la morphologie des agrégats nous permet de définir un cadre à l'étude structurale de chaque agrégat au sein des systèmes étudiés et fait le lien entre les cinétiques d'agrégation et l'étude finale de la structure des agrégats.

La Griséofulvine est un composé d'intérêt pharmaceutique hydrophobe et très peu soluble avec une solubilité aqueuse estimée à 64 µg/ml à 25°C³³⁴. Il a été montré que les nanosuspensions de Griséofulvine faites à l'aide de microémulsions amélioreraient significativement l'accroissement de sa vitesse de dissolution⁴⁰². L'utilisation de nanocapsules à matrice polymérique réalisées par nanopréciipitation en milieu aqueux est une autre méthode qui a aussi permis d'améliorer la solubilité de la Griséofulvine⁴⁰³. Dans chacune de ces deux approches, l'agrégation naturelle de la Griséofulvine en milieu aqueux est un facteur défavorable que l'on cherche à limiter. L'agrégation des molécules d'un même principe actif devient même un problème de premier ordre lorsqu'elle apparaît avec des composés hydrotropes normalement utilisés pour augmenter la solubilité des produits pharmaceutiques en milieu aqueux⁴⁰⁴. Une compréhension des procédés d'agrégation de la Griséofulvine en milieu aqueux est donc nécessaire afin de pouvoir prédire à la fois le choix et l'interaction d'hydrotropes ou de polymères avec la Griséofulvine. Un choix adéquat d'hydrotropes ou de polymères pour un composé pharmaceutique donné permet d'augmenter les concentrations de surfactant ou encore la vitesse de dissolution du produit pharmaceutique. Une bonne adéquation entre principe actif et polymère permet donc une libération de manière plus contrôlée du principe actif. Jusqu'à présent, aucune étude particulière, expérimentale ou numérique, n'a été réalisée sur l'agrégation de la Griséofulvine en milieu aqueux. Les méthodes numériques, et en particulier la dynamique moléculaire, ont toutefois montré leur efficacité pour comprendre les processus

d'agrégation de systèmes colloïdaux ou de systèmes aussi complexes que des peptides^{405, 406, 407, 408}.

Les processus d'agrégation ont donc fait l'objet d'un grand nombre de recherches et de généralisations dans le cas de systèmes colloïdaux. Suite à des expériences et simulations sur des particules colloïdales d'or, silice et polystyrène⁴⁰⁹, il a été montré que les processus d'agrégation pouvaient être décrits en deux régimes :

- ❖ un régime rapide qui n'est piloté que par le processus aléatoire de rencontre des particules ou agrégats et donc par leur diffusion; ce régime d'agrégation est dit agrégation colloïdale limité par diffusion (DLCA)^{410, 411, 412}.
- ❖ un régime lent au cours duquel l'agrégation de particules ou d'agrégats déjà formés entre eux est à la fois limitée par les processus de rencontres aléatoires mais également par le fait qu'ils doivent entrer en contact selon une conformation favorable à l'agrégation; ce régime est appelé agrégation colloïdale limité par réaction (RLCA)^{412, 413, 414}.

Dans ces deux régimes, les agrégats ont toujours une structure fractale avec une masse d'agrégats, ou un nombre de particules les constituant, évoluant comme une certaine puissance du rayon de giration (R_g) de cet agrégat ($N \sim R_g^a$). Dans le cas d'agrégats de particules colloïdales simples, cette valeur est constante avec une puissance de 1.8 pour DLCA et de 2.1 pour RLCA⁴¹⁵. Dans le cas où les particules ne sont plus simples, des valeurs dépendantes du système étudié et généralement plus faibles que celles du régime DLCA ont été prédites dans le cas d'agrégation colloïdale de polymères chargés^{415, 416, 417}.

Dans le cas où le processus d'agrégation semble limité par la conformation selon laquelle deux molécules ou agrégats entrent en contact, comme par exemple dans le cas de molécules ayant différents types de groupes polaires ou apolaires, une étude de la topologie des agrégats devient nécessaire pour prédire la formation des agrégats et l'évolution de l'agrégation. L'analyse des agrégats se fait généralement en déterminant leurs distributions de taille et de masse moyenne, ainsi que leurs nombres d'agrégation (c'est-à-dire de la taille moyenne des agrégats et pondérées soit par

le nombre d'agrégats, soit par la masse des agrégats). De telles analyses ont été utilisées avec succès pour déterminer la topologie d'agrégats composés d'ibuprofène et d'acide cholique et pour montrer la réduction de taille de ces agrégats lorsque du dodecylphosphocholine y est incorporé⁴¹⁸. Des simulations similaires ont permis de définir les procédés d'agrégation et la structure interne des agrégats de sels de bile⁴¹⁹. Une telle analyse des agrégats à partir de simulations de dynamique moléculaire de micelles d'octyl glucoside a permis, à partir de la topologie de l'agrégat, de montrer que les propriétés structurales des micelles sont fortement dépendantes de la structure de l'amphiphile et donc de la contrainte géométrique que l'agrégation impose aux molécules⁴²⁰.

5.2 Systèmes étudiés et détails des simulations

La Griséofulvine est un système bien adapté à l'étude de l'agrégation, compte tenu de sa forte hydrophobicité. L'étude numérique de l'agrégation de la Griséofulvine en présence d'eau a été réalisée en utilisant le modèle d'eau TIP3P déjà présenté dans le Chapitre 4. Les études menées sur la Griséofulvine ont été réalisées avec le champ de force GAFF¹⁷² en utilisant une distribution de charges déterminée par le code Gaussian 98 avec la base HF/6-31G*²³⁰. Une boîte de 11 115 molécules d'eau TIP3P a été équilibrée pendant 1 ns dans l'ensemble isobare isochore (NPT) à une pression de 1 atm et une température de 300 K. La température et la pression ont été imposées grâce à un thermostat et un barostat de Nosé-Hoover affectés des temps de relaxations respectifs de 2.0 fs et 0.2 fs. Les molécules de Griséofulvine ont été ajoutées à la boîte d'eau précédemment équilibrée avec des positions et des orientations aléatoires afin de ne pas favoriser une conformation particulière. Afin d'éviter la superposition des molécules de Griséofulvine et des molécules d'eau, les molécules d'eau se trouvant à une distance inférieure à 3 Å d'un atome appartenant à une molécule de Griséofulvine ont été enlevées. La Griséofulvine dispose d'une très faible solubilité aqueuse, estimée à 64 µg/ml à 25°C³³⁴. En pratique, atteindre cette limite de solubilité nous imposerait de créer des boîtes de simulation contenant au moins environ $3 \cdot 10^5$ molécules d'eau par molécule de Griséofulvine. Les boîtes de simulation que nous avons créées auront donc forcément une concentration de Griséofulvine supérieure à la limite de solubilité de ce composé et une

agrégation spontanée des molécules est attendue. De plus, la Griséofulvine est connue pour avoir une forte hydrophobicité, de sorte qu'une agrégation rapide peut être attendue au cours de la simulation. La concentration en Griséofulvine aura forcément un impact sur la cinétique d'agrégation au sein de nos systèmes. Son impact sur la topologie des agrégats n'est cependant pas, a priori, un facteur déterminant et cet impact peut être en première approximation négligé. De plus, la taille des agrégats peut être un facteur contraignant et source d'artefacts de simulation dans le cas où ceux-ci atteignent une certaine taille, au point au point qu'ils interagissent avec leurs propres répliques du fait des conditions aux limites périodiques (voir Chapitre 2). Afin d'éviter des problèmes tels que l'interaction des agrégats avec leurs répliques, nous avons limité le nombre de molécules de Griséofulvine (et donc la taille maximale d'un agrégat) à 20 pour les boîtes contenant le plus de molécules de Griséofulvine. On peut également supposer que la cinétique d'agrégation dépendra des conformations selon lesquelles deux molécules ou agrégats entrent en contact. L'étude de plusieurs boîtes de simulation ayant des configurations initiales différentes dans les positions et orientations des molécules de Griséofulvine peut donc s'avérer utile afin de ne pas contraindre nos propos sur l'agrégation de cette molécule à une configuration particulière et en sortir un schéma général. Des boîtes de simulations contenant moins de 20 molécules de Griséofulvine peuvent apporter à la fois une cinétique plus lente à l'agrégation mais également un échantillonnage plus important des configurations des agrégats de taille faible et moyenne dans le système. Quatre configurations de départ contenant les ratios suivants de molécules de Griséofulvine par molécules d'eau : 8/10770, 10/10693, 15/10483, 20/10271 ont ainsi été générées.

Toutes les simulations ont été réalisées dans l'ensemble *NPT* avec un rayon de coupure de 10 Å pour la troncation des termes d'interactions non liées. Le calcul des interactions électrostatiques a été réalisé par la méthode du champ de réaction en utilisant une constante diélectrique ϵ_{RF} de 80. Un pas de temps de 0.5 fs a été choisi pour l'intégration des équations du mouvement. Les barostats et thermostats de Nosé-Hoover ont été mis en œuvre avec des constantes de temps respectives de 0.2 ps et 2.0 ps.

Dans un premier temps, nous avons équilibré les molécules d'eau des configurations de départ en simulant la boîte durant 100 ps tout en immobilisant les molécules de Griséofulvine. Une deuxième simulation de 200 ps a ensuite permis de relaxer de toutes les particules de la boîte de simulation en relâchant la contrainte exercée sur la Griséofulvine. L'agrégation de la Griséofulvine a ensuite été étudiée pour chaque boîte, en effectuant une simulation de 5 ns dans l'ensemble *NPT*. L'ensemble *NPT* a été choisi pour cette étude afin de permettre la relaxation du volume de la boîte de simulation au fur et à mesure de l'agrégation du principe actif sans contraindre certaines propriétés telles que la densité à la fois de l'eau et du principe actif. En effet, l'agrégation de la Griséofulvine est ici une transition vers un état d'équilibre thermodynamique. Son étude sous entend donc l'étude d'un système hors équilibre. On ne peut donc pas imposer un volume constant lors de la dynamique de transition sans influencer fortement les propriétés physiques du système. L'exemple le plus intuitif dans ce cas est celui de la densité de l'eau : supposons que l'on soit à volume constant et que deux molécules de Griséofulvine, occupant chacune un volume V_G lorsqu'elles sont entourées d'eau, entrent en contact pour former un agrégat. L'agrégat une fois formé à un volume $V_A \neq 2V_G$ et la différence entre le volume que l'eau pouvait occuper avant l'agrégation et le volume qu'elle peut occuper après est $\Delta V_E = V_A - 2V_G$. Ainsi, l'utilisation d'un nombre de particules N et d'un volume V constant aurait un impact direct sur la densité de l'eau lors de l'agrégation. On a, de plus, montré au Chapitre 4.3 qu'une perte de densité, même faible, de l'eau avait un impact important sur ses propriétés structurales et dynamiques. L'ensemble *NPT* qui apparaît être l'ensemble naturel dans lequel mener de telles études, a ainsi été choisi pour permettre au volume de la boîte de s'équilibrer suite aux agrégations successives.

5.3 Analyse des agrégats

5.3.1 Détermination de l'état d'équilibre et du chemin d'agrégation

Une première description du phénomène d'agrégation qui apparaît dans chaque boîte de simulation peut être décrite à l'aide de l'évolution temporelle du nombre de molécules libres de Griséofulvine présentes dans chaque boîte de simulation (voir Figure 5.1a). Les molécules libres

sont celles qui ne sont pas appariées à d'autres molécules de Griséofulvine sous forme d'agrégat. Il doit être noté que le nombre de molécules libres au début de la simulation n'est pas obligatoirement égal au nombre de molécules au sein du système; ceci est directement attribué à une agrégation des molécules pendant la période de relaxation du système. La décroissance graduelle du nombre de molécules libres montre que les molécules de Griséofulvine s'agrègent spontanément entre elles pour toutes les concentrations simulées (voir figure 5.1a). Il ne reste quasiment pas de molécules de Griséofulvine libres à la fin de la simulation de 5 ns pour les boîtes de simulations contenant 20, 15 et 10 molécules de Griséofulvine. Au sein de ces systèmes, deux molécules libres ou moins restent présentes après 3.5 ns de simulation. On observe un processus d'agrégation plus lent au sein de la boîte ne contenant que 8 molécules de Griséofulvine pour laquelle seulement 5 molécules sont appariées à un agrégat après 4 ns de simulation.

L'agrégation de molécules libres entre elles, ou avec des agrégats déjà formés, apparaît dans toutes nos boîtes de simulation comme un processus graduel, du fait du faible nombre de molécules de principe actif. Cette gradation indique que l'agrégation se fait pas à pas en fonction de la probabilité que les molécules et agrégats ont de se rencontrer. On peut également noter que très peu d'événements, pour lesquels une molécule de principe actif déjà appariée se sépare des autres molécules avec lesquelles elles forment un agrégat pour constituer à nouveau des molécules libres (caractérisés par une augmentation du nombre de molécules libres), peuvent être observé quelle que soit la boîte de simulation (voir figure 5.1a). Cette observation souligne l'importance des effets hydrophobes qui dirigent l'agrégation de la Griséofulvine. De plus, au cours de ce processus d'agrégation, les molécules libres de Griséofulvine montrent un grand nombre de tentatives avortées de s'apparier avec d'autres molécules libres ou agrégats. Ces tentatives sont caractérisées par des oscillations du nombre de molécules libres sur des périodes de temps très courtes au terme desquelles le nombre de molécules libres au sein du système retourne au niveau initial (voir figure 5.1a). On peut supposer que ces tentatives avortées trouvent leur origine dans les conditions d'appariement défavorables. Les molécules doivent ainsi se rencontrer selon des conformations

spécifiques pour qu'une agrégation puisse se produire. Si l'agrégation ne peut se produire que selon certaines configurations, la structure et la topologie des agrégats devra en porter les traces via des configurations dont les probabilités sont plus élevées que la moyenne ou au contraire sous représentée. Une preuve tangible de l'existence de ces configurations favorables est donnée dans les sections 5.3.5 et 5.3.6 avec des discussions sur la morphologie et la structure des agrégats. Durant les premiers instants de la simulation (jusqu'à environ 500 ps), le nombre moyen des tentatives avortées des molécules de principe actif de s'agréger est bien plus élevé dans les boîtes possédant un grand nombre de molécules de principe actif par simple effet statistique (voir Figure 5.1b). En effet, puisque la taille totale de la boîte à partir de laquelle nous avons construit les mélanges est au départ la même, nous pouvons grossièrement considérer que la différence entre les différentes boîtes réside dans le ratio de molécules de Griséofulvine par molécules d'eau. Plus ce ratio augmente, plus la distance entre molécules de Griséofulvine est petite et plus les chances que les molécules de Griséofulvine ont de se rencontrer augmentent. Le laps de temps durant lequel ce nombre de tentatives est élevé définit les premières étapes de l'agrégation, au cours de laquelle on peut observer un grand nombre d'appariements de molécules libres entre elles. Une forte augmentation du nombre d'agrégats de petite taille dans le système est alors observée (voir figure 5.2 et 5.3). Après les premières centaines de picosecondes de la simulation, le nombre moyen des tentatives avortées d'agrégation tend à diminuer lorsque l'on augmente le nombre de molécules de principe actif, du fait du faible nombre de molécules libres restantes après 500 ps de simulation. Les boîtes contenant le moins de molécules de Griséofulvine ont toujours un grand nombre moyen de tentatives avortées ce qui montre qu'elles n'ont pas passées cette première étape de la simulation après 4 ns.

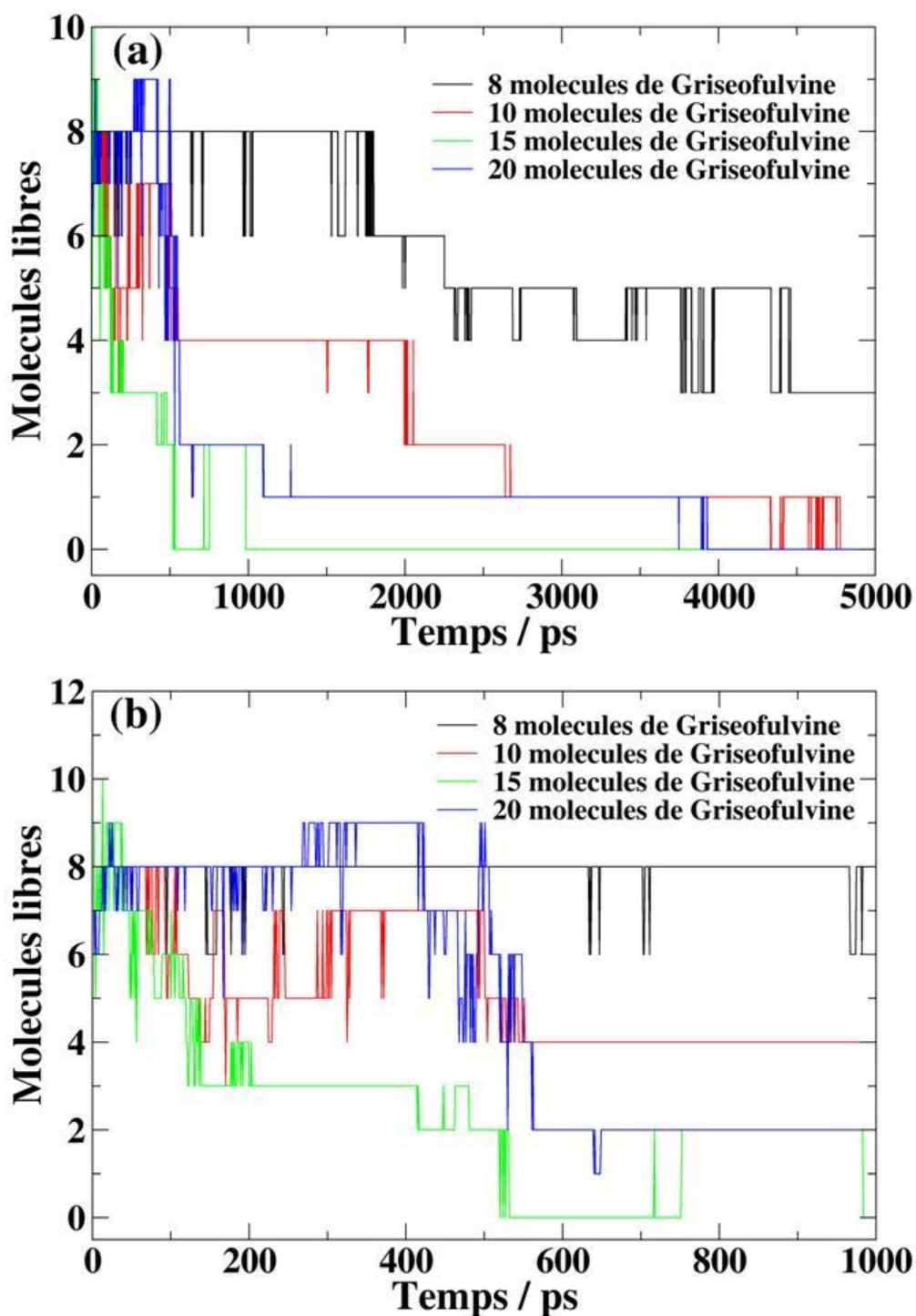


Figure 5.1 (a) Représentation du nombre de molécules libres en fonction du temps de simulation au sein des différentes boîtes. (b) Agrandissement de l'évolution temporelle du nombre de molécules libres au cours de la première nanoseconde de simulation.

L'évolution de la probabilité de taille (ou nombre de molécules) des agrégats moyennée sur l'ensemble de la simulation est présentée dans la figure 5.2. Ce paramètre, qui ne peut être utilisé en

lien avec la cinétique d'agrégation que si le système reste dans le même état pendant l'analyse, peut cependant nous fournir des informations sur le chemin général que l'agrégation suit par la présence ou l'absence de certaines configurations. On peut ainsi noter l'absence de certaines tailles intermédiaires d'agrégats au sein des boîtes de 10 et 15 molécules de Griséofulvine (par exemple des agrégats constitués de 3, 4, 6 et 7 molécules au sein de la boîte de 15 molécules). Cette absence prouve que les agrégats de taille supérieure ou égale à 6 molécules se sont formés par appariement entre agrégats. L'agrégation suivie par ces systèmes ne se fait donc pas uniquement par appariement entre molécules ou de molécules libres avec des agrégats, mais aussi entre agrégats entre eux.

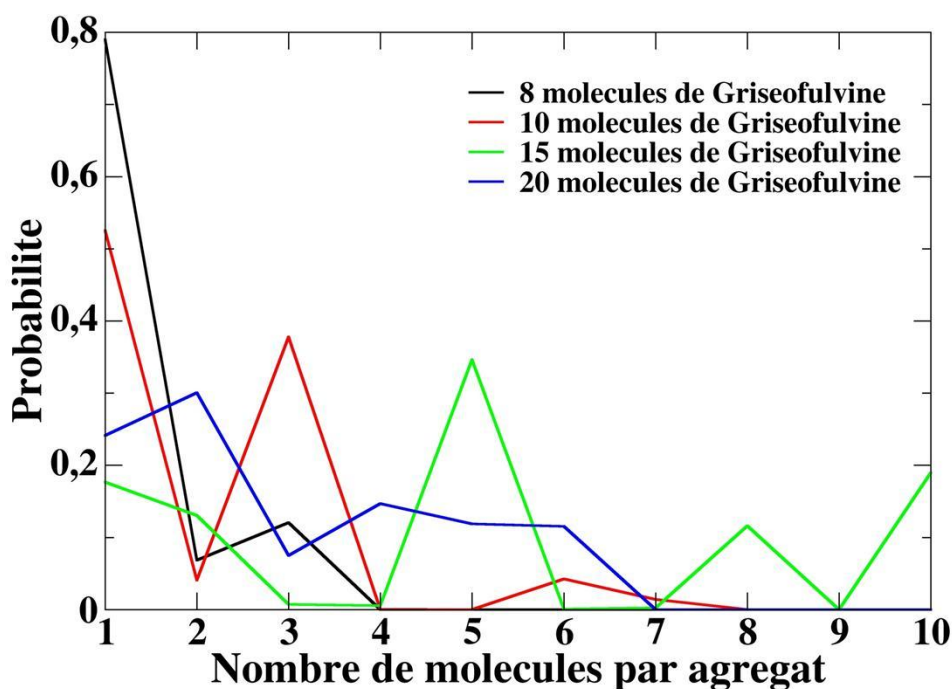


Figure 5.2 Représentation de la probabilité de taille des agrégats moyennée sur l'ensemble de la simulation pour les différentes boîtes. Les agrégats de taille 1 correspondent ici aux molécules libres.

Une description plus fine du processus d'agrégation en milieu aqueux peut être obtenue grâce à l'analyse de l'évolution des agrégats durant leur formation. Pour déterminer si une molécule appartient ou non à un agrégat, c'est-à-dire si elle est appariée ou non à une ou plusieurs autres molécules, un critère de connectivité doit être établi. La formation de liaisons chimiques (hydrogènes, halogènes...) entre deux molécules permettrait de définir un critère naturel de connectivité entre ces deux molécules. Aucune liaison chimique n'a pu cependant être mise en

évidence dans la structure cristalline de la Griséofulvine³³² ni apparaît clairement par l'étude de la structure d'une molécule de Griséofulvine. Nous avons donc utilisé un critère géométrique simple pour déterminer la connectivité entre deux molécules. Deux molécules de Griséofulvine sont considérées liées si la distance entre au moins deux atomes lourds de chaque molécule est inférieure à 4.5 Å³⁵⁷. Si une connexion entre deux molécules est déterminée et que l'une des deux molécules appartient déjà à un agrégat, la seconde molécule est immédiatement appariée à l'agrégat déjà formé. Nous pouvons ainsi établir une distribution des molécules agrégées en groupes distincts tels que chaque molécule appartienne seulement à un groupe unique.

L'évolution du nombre d'agrégats au sein du système, représentée dans la Figure 5.3, permet de connaître plus précisément l'état d'équilibre final vers lequel le système tend et quels sont les différentes étapes de l'agrégation. On peut ainsi déterminer par exemple si le système converge vers un état d'équilibre dans lequel il existe plusieurs petits agrégats ou un seul agrégat contenant la quasi totalité des molécules de soluté du système. Il a été montré que la taille des agrégats croît exponentiellement avec le temps⁴¹³. Les paramètres basés sur l'évolution des agrégats pourront donc être plus lents à converger vers un état d'équilibre par rapport à d'autres paramètres tels que l'évolution temporelle du nombre de molécules libres au sein de la boîte de simulation.

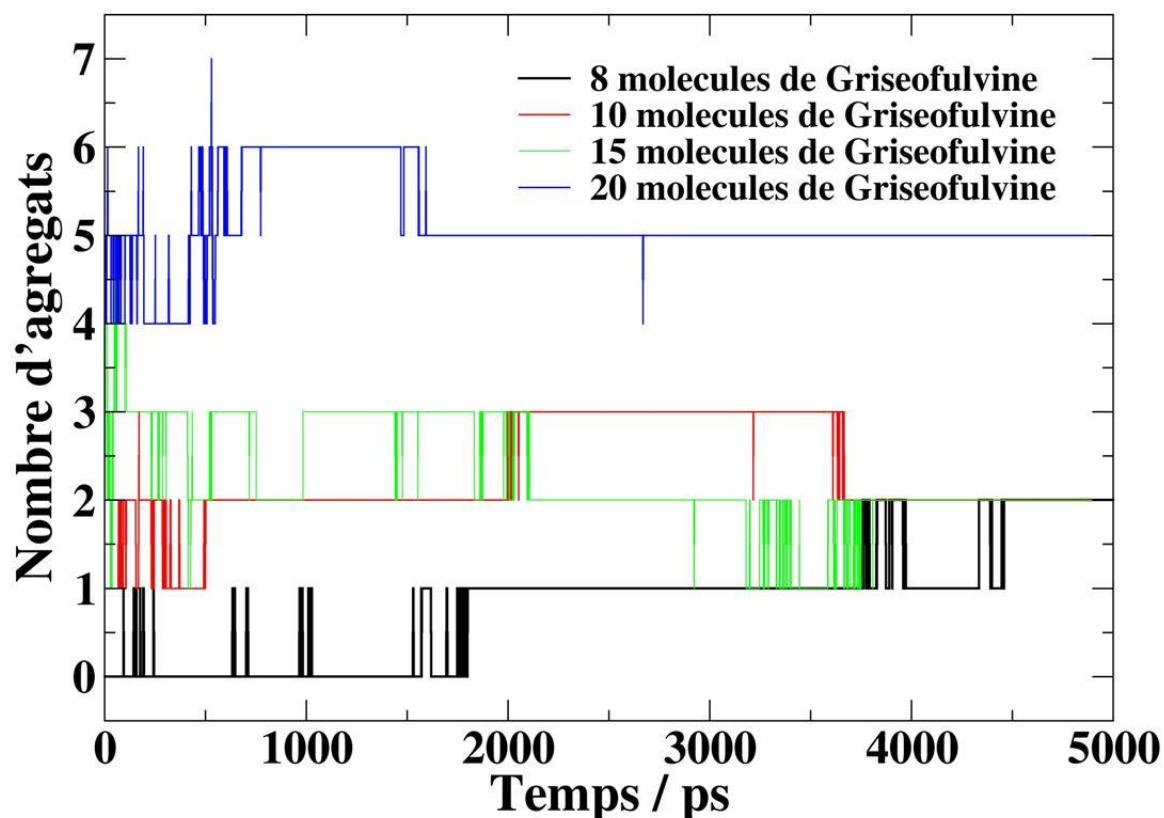


Figure 5.3 Représentation de l'évolution temporelle du nombre d'agrégats dans les boîtes de simulation.

Les premières étapes de l'agrégation, ne sont constituées que de l'appariement rapide des molécules libres de Griséofulvine avec leurs proches voisins. Celles-ci correspondent aux premières 500 ps pour les boîtes de 10, 15 et 20 molécules de Griséofulvine d'après l'évolution du nombre de molécules libres dans la figure 5.1. La figure 5.3 montre que le nombre d'agrégats augmente au cours de ces premières étapes. Un tel comportement est observé dans le système contenant 10 molécules de Griséofulvine jusqu'à 2 ns après le début de la simulation. Les boîtes contenant plus de molécules de Griséofulvine présentent également cette première étape mais elle est limitée à la première nanoseconde de la simulation. Pour ces boîtes, plusieurs agrégats sont déjà formés, ce qui suggère que l'agrégation a débuté lors de l'équilibration des boîtes de simulation. Nous pouvons ainsi constater avec les deux boîtes ayant les concentrations les plus fortes (15 et 20 molécules de Griséofulvine) la très forte tendance que possède la Griséofulvine à l'auto-agrégation et la rapidité de ce processus avec cette molécule. La simulation de ce processus d'agrégation au

sein de la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine reste limitée à cette première étape de l'agrégation avec une augmentation graduelle du nombre d'agrégats durant les 5 ns effectuées. Cette augmentation graduelle du nombre total d'agrégats est nettement marquée dans cette boîte avec l'apparition d'un premier agrégat stable à environ 2 ns et d'un second à environ 4,5 ns (voir figure 5.3). On peut cependant constater qu'au sein de cette boîte un grand nombre de tentatives d'appariement n'aboutissent pas à la création d'un agrégat stable. Ceci suggère que la probabilité que possèdent deux molécules ou agrégats d'entrer en contact n'est pas la seule limitation au processus d'agrégation de la Griséofulvine, ce qui a été décrit comme un régime de type RLCA précédemment. Il apparaît donc que la probabilité d'appariement des molécules de Griséofulvine est dépendante de la concentration de soluté avec une forte augmentation de la vitesse d'agrégation par ajout de moins de 10 molécules de Griséofulvine (par exemple entre les boîtes de 8 et 15 molécules de Griséofulvine). La boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine montre également que le processus de formation d'agrégats dans ces systèmes n'est pas uniquement limité par la diffusion des molécules de Griséofulvine au sein du système mais également par les conditions géométriques de l'appariement. Cette dernière limitation peut ralentir la formation d'un agrégat pendant plusieurs nanosecondes, comme le montre, par exemple, la figure 5.3 entre 0 et 2 ns pour la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine, ou entre 3 et 4 ns pour la boîte contenant 15 molécules. Des conclusions similaires peuvent être tirées en s'intéressant au nombre de molécules dans le plus grand agrégat formé (voir Figure 5.4). Ce paramètre permet de définir complètement le système équilibré dans le cas où le processus d'agrégation se fait par accréation de molécules ou de petits agrégats avec l'agrégat principal.

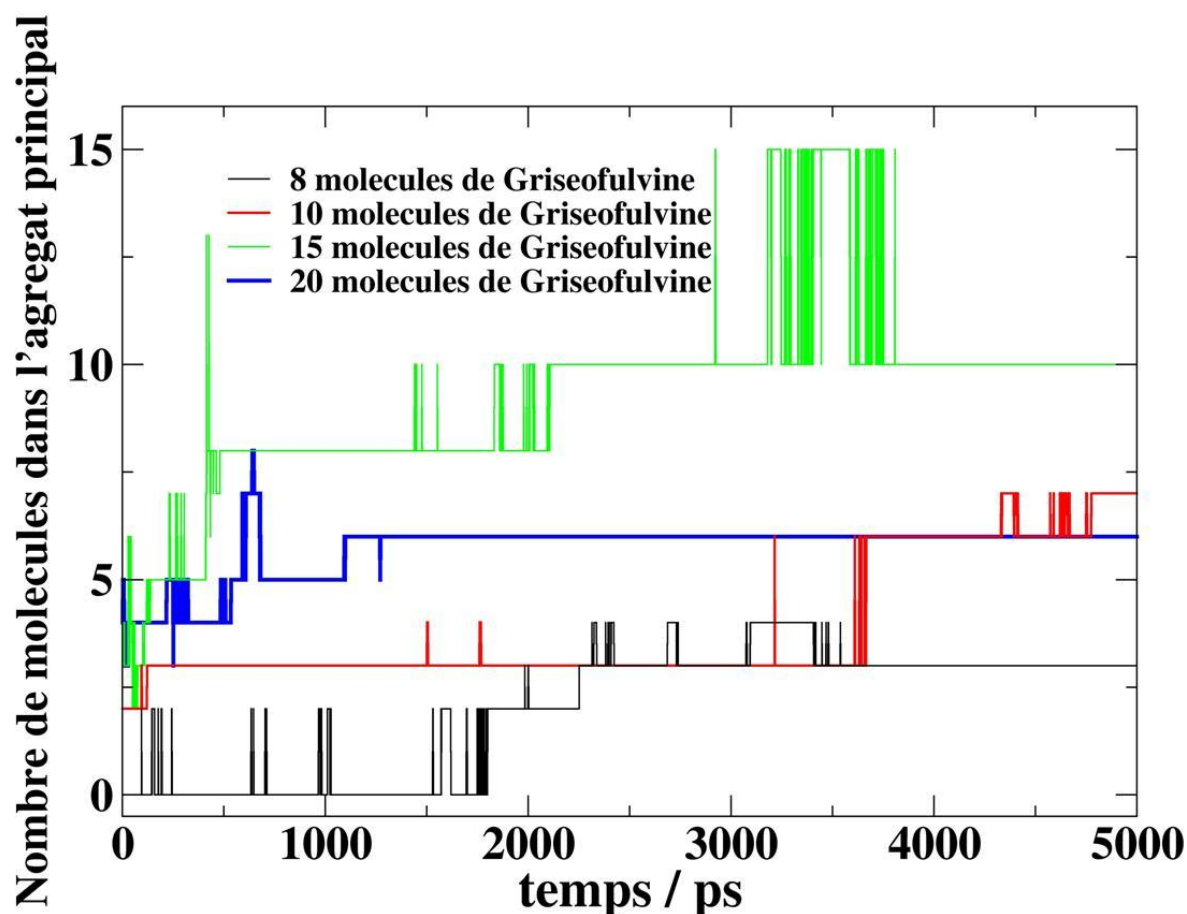


Figure 5.4 Représentation de l'évolution temporelle du nombre de molécules dans l'agrégat le plus important du système.

On peut supposer que les étapes suivantes de l'agrégation sont constituées de réorganisations de la structure interne des agrégats (ce que nous démontrons ultérieurement) et/ou de l'appariement d'agrégats, entre eux ou avec les dernières molécules libres de la boîte. Il doit être noté que, hormis pour la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine qui reste au premier stade de l'agrégation tout au long de la simulation (voir figure 5.4), les autres boîtes de simulation montrent deux états finaux différents.

Le premier type d'état final s'observe avec les boîtes contenant 10 et 15 molécules de Griséofulvine qui tendent vers un état d'équilibre constitué d'un agrégat principal contenant la plupart des molécules de la boîte (voir Figure 5.4). Après 5 ns de simulation, l'agrégat principal de la boîte de 10 molécules contient 7 molécules de Griséofulvine et celui au sein de la boîte de 15 molécules en contient 10. On peut également remarquer, avec la boîte de 15 molécules de

Griséofulvine, que le système n'a pas encore atteint son état d'équilibre avec des tentatives d'appariement entre les deux agrégats restants. A la suite de ces simulations, il est logique de s'attendre à ce que chacun des systèmes tende vers un état d'équilibre dans lequel toutes les molécules de Griséofulvine appartiennent à un même agrégat et donc vers une démixtion de ce système binaire. Cet agrégat unique devrait être obtenu à condition que l'on laisse le système relaxer suffisamment longtemps. L'évolution du nombre d'agrégats (voir Figure 5.3) et du nombre de molécules dans le plus gros agrégat (voir Figure 5.4) nous permet de définir l'état d'équilibre vers lequel tend la boîte de simulation contenant 20 molécules de Griséofulvine comme un ensemble d'agrégats de petite taille contrairement aux autres boîtes. Il est cependant légitime de supposer que la boîte contenant 20 molécules de Griséofulvine doit suivre le même chemin d'agrégation que les autres boîtes et tendre donc vers un état d'équilibre constitué d'un seul agrégat. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour donner une explication à cette différence :

- ❖ La diminution de la diffusion des agrégats par rapport aux molécules libres lorsque le nombre de molécules en leur sein augmente, limite la probabilité que deux agrégats entre en contact pour s'apparier; de même, une perte de mobilité (notamment rotationnelle) des agrégats lorsque le nombre de molécules en leur sein augmente, peut réduire la probabilité de deux agrégats d'entrer en contact suivant une configuration favorable à leur appariement; cette hypothèse suppose que le système n'a pas atteint son état d'équilibre à la fin de la simulation et que le système suit un chemin d'agrégation similaire à celui des boîtes de 10 et 15 molécules.
- ❖ La quasi-impossibilité des molécules, au sein d'un agrégat, de se séparer pour reformer une configuration plus favorable à l'apparition d'un agrégat de taille plus élevée peut engendrer une dépendance du système vis à vis de sa configuration de départ; comme pour l'hypothèse précédente, cette hypothèse suppose que le système n'a pas atteint son état d'équilibre à la fin de la simulation, et que le chemin suivi lors de l'agrégation a amené le système dans un état métastable.

- ❖ L'état du système représente bien l'état d'équilibre au sein de la boîte de simulation, mais il ne correspond pas à l'état d'équilibre que l'on pourrait observer expérimentalement; cela peut être possible du fait d'artefacts liés aux algorithmes de la simulation dont on a déjà mentionné l'existence et les effets dans les chapitres 2 et 4; par exemple, la combinaison de deux agrégats ou plus, entre eux, peut interagir avec sa réplique grâce aux conditions aux limites périodiques⁴²¹; Du fait du faible nombre de molécules de Griséofulvine au sein de nos systèmes, ceci n'est possible sur de petits agrégats dans les cas traités, que si ceux-ci s'empilent selon une seule direction de l'espace.

L'absence de variation du nombre de molécules dans l'agrégat principal entre 1 et 5 ns de simulation montre que celui-ci ne subit pas de tentatives d'agrégation. De plus, une seule tentative d'agrégation entre deux agrégats est visible sur la même période. Ces résultats permettent donc de supposer par la suite que le système de 20 molécules de Griséofulvine n'a pas atteint son état d'équilibre du fait de la faible vitesse de diffusion des agrégats, limitant la probabilité de rencontres entre agrégats. Cette supposition est confirmée par des études menées sur des systèmes constitués d'hydrates de méthane⁴²² dans lesquelles il a été montré que la vitesse d'appariement entre agrégats influence fortement la cinétique de nucléation au sein du système. L'accrétion à l'agrégat principal est notamment plus difficile et plus longue lorsque les agrégats ont déjà atteint une taille critique aussi du fait de l'influence de ces petits agrégats sur les appariements successifs, ce qui constitue les étapes transitoires de l'agrégation⁴¹³.

5.3.2 Description des étapes transitoires de l'agrégation

La description des seules premières étapes de l'agrégation ainsi que de l'état d'équilibre ne suffit pas à déterminer complètement le chemin que suit le système. En effet, une étape transitoire constituée d'une succession d'états hors équilibre lie les premiers appariements entre proches voisins à l'état d'équilibre du système. Dans une première représentation simple de cette étape transitoire, nous pouvons suggérer que l'on puisse distinguer deux temps au sein de cette étape avec,

dans un premier temps, un grand nombre d'appariements de petits agrégats entre eux ou avec les dernières molécules libres au sein du système et, dans un deuxième temps, l'apparition d'un agrégat principal auquel vont s'agréger l'ensemble des agrégats de plus petite taille.

Au cours du premier temps de cette étape transitoire, aucun agrégat particulier ne se distingue des autres agrégats par ses propriétés analogue à la taille. Ainsi, si l'évolution du nombre de molécules présentes dans l'agrégat de plus grande taille permet de décrire l'état d'équilibre du système et éventuellement les premiers instants de l'agrégation lorsqu'un seul agrégat est présent dans le système (comme dans le cas de la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine jusqu'à environ 4 ns voir figure 5.3), ce paramètre ne convient cependant pas à la description des étapes intermédiaires de l'agrégation. Dans le cas où tous les agrégats sont de taille similaire, l'analyse ne devra plus porter sur les propriétés d'un seul agrégat mais sur la moyenne des propriétés de l'ensemble des agrégats au sein du système (voir figure 5.5).

Durant le second temps de l'étape transitoire, une suite d'appariements successifs entre agrégats de petite taille fait émerger la formation d'un agrégat principal (de taille plus importante que les autres). La distinction entre cette étape et la configuration d'équilibre du système viendra du fait que durant le deuxième temps de l'étape transitoire, la taille de l'agrégat principal restera proche d'un ou plusieurs autres agrégats au sein du système. L'existence de plusieurs agrégats de petite taille permet toujours de décrire le système à l'aide de la moyenne des propriétés effectuée sur l'ensemble des agrégats. On aura cependant retiré l'agrégat de plus grande taille de ces moyennes puisque, par définition, les propriétés de ce dernier s'écarteront fortement des propriétés des autres agrégats.

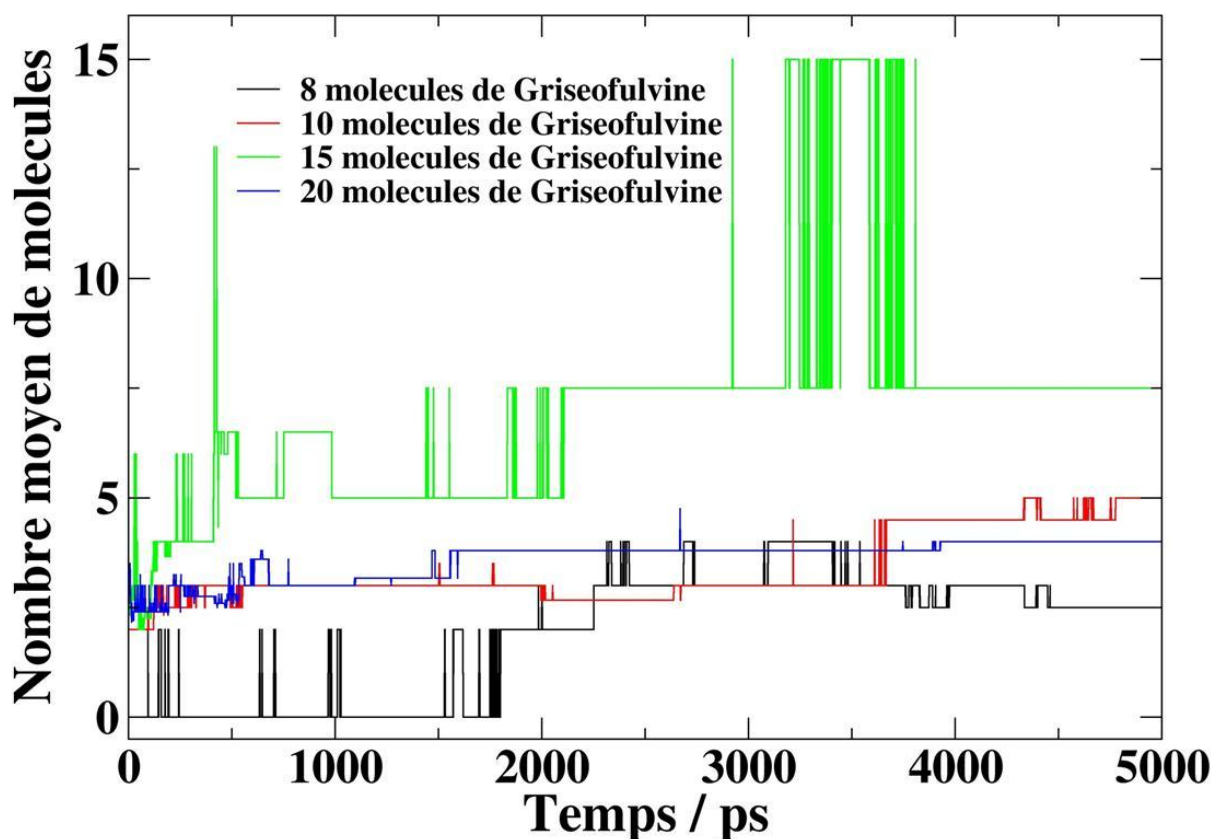


Figure 5.5 Représentation de l'évolution temporelle de la moyenne du nombre de molécules par agrégat effectuée sur l'ensemble des agrégats du système.

Dans la mesure où les états transitoires ne sont atteints qu'après 4 ns de simulation pour la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine, le système sera complètement décrit avant 4 ns par l'analyse de l'agrégat principal. Entre 4 et 5 ns, le nombre moyen de molécules par agrégat autre que l'agrégat principal (figure 5.6) indique que le système subit l'appariement de ses dernières molécules libres entre elles. A l'aide de la Figure 5.3, il apparaît clairement que les états transitoires au sein de la boîte contenant 10 molécules de Griséofulvine n'apparaissent qu'après la première nanoseconde de simulation. La première étape de cette évolution transitoire s'étend, dans ce système, jusqu'à 3.5 ns de simulation et la deuxième étape persiste jusqu'à la fin de la simulation. Dans le système constitué de 15 molécules de Griséofulvine, il est difficile de distinguer entre le début de l'agrégation (appariement entre molécules libres proches voisines) et les premiers états transitoire (constitués d'un grand nombre d'agrégats de petite taille) avant les premières 500 ps, principalement du fait de la rapidité du début d'agrégation. La deuxième étape de l'évolution transitoire correspond

dans ce système à un ensemble presque homogène d'agrégats entre 500 ps et 2 ns qui tendent vers un état d'équilibre ne contenant qu'un agrégat. Au-delà des deux premières nanosecondes, l'utilisation du nombre moyen de molécules au sein d'un agrégat auquel on a retiré l'agrégat principal permet d'établir que l'appariement de deux agrégats de taille importante est soumis à des contraintes particulières qui rendent difficile l'agrégation. Par exemple, il apparaît clairement que les très nombreuses tentatives d'appariement durant une nanoseconde dans la boîte contenant 15 molécules de Griséofulvine ne se font qu'entre deux agrégats, l'un constitué de 10 molécules et l'autre de 5 molécules, sans que ces agrégats réussissent finalement à s'apparier. Cette observation confirme l'hypothèse selon laquelle la perte de mobilité, en particulier rotationnelle, des agrégats lorsque le nombre de molécules en leur sein augmente, réduit la probabilité de deux agrégats à entrer en contact suivant une configuration favorable à leur appariement. Elle tend donc à confirmer que la boîte de 20 molécules de Griséofulvine n'a pas encore atteint son état d'équilibre. Pour cette dernière boîte, ce paramètre montre que le système reste au premier stade de l'évolution transitoire pendant toute la durée de la simulation avec un nombre moyen de molécules par agrégats de l'ordre de 3 molécules (figure 5.5 et 5.6). De plus, ce paramètre montre que quelques tentatives infructueuses d'appariement entre agrégats apparaissent tandis que les dernières molécules libres de la boîte de simulation s'apparient aux agrégats existants. Cela confirme l'hypothèse selon laquelle l'évolution de cette boîte vers un état d'équilibre est restreinte par la capacité des agrégats à entrer en contact les uns avec les autres.

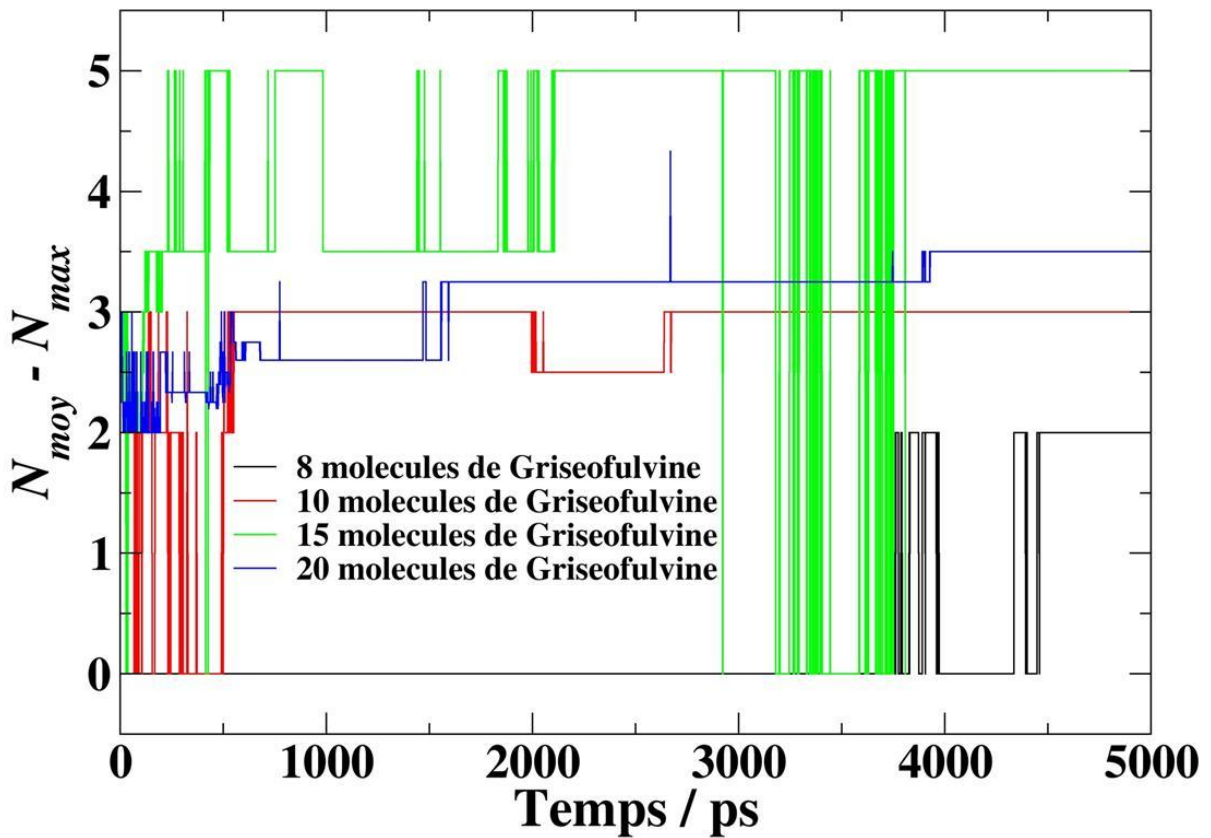


Figure 5.6 Représentation de l'évolution temporelle de la moyenne du nombre de molécules par agrégat effectuée sur l'ensemble des agrégats du système auquel on a retiré l'agrégat de plus grande taille.

5.3.3 Nombre d'agrégation et polydispersité des agrégats

Comme nous l'avons vu précédemment, l'écart de taille entre chaque agrégat au sein du système permet de représenter le passage d'une étape de l'agrégation vers une autre. La connaissance et le contrôle de la polydispersité a montré son importance dans la libération contrôlée des principes actifs, la biodisponibilité et la réduction de certains de leurs effets secondaires⁴²³. La polydispersité des agrégats peut être étudiée en utilisant le ratio N_w/N_n où N_n représente la taille moyenne des agrégats et N_w représente la taille moyenne des agrégats pondérée par la taille des agrégats qui sont définis par⁴²⁴:

$$N_w = \frac{\sum_{i>1}^N i^2 H_i}{\sum_{i>1}^N i H_i} \quad (5.1)$$

$$N_n = \frac{\sum_{i>1}^N iH_i}{\sum_{i>1}^N H_i} \quad (5.2)$$

où i est le nombre de molécules de chaque agrégat, N le nombre de molécules de soluté dans le système et H_i le nombre d'agrégats de contenant i molécules. L'évolution de ces deux nombres au cours de l'agrégation est représentée dans la Figure 5.7. Ces nombres permettent généralement de définir, à un instant donné, la taille la plus probable d'un agrégat au sein du système et l'écart entre ces deux nombres permet de définir la largeur de la distribution de taille des agrégats. Puisque la taille maximale des agrégats ne peut excéder le nombre de molécules N , les nombres d'agrégation sont fortement dépendants du nombre N . Cette tendance se traduit également par une augmentation de ces nombres d'agrégation suite à l'augmentation du nombre de molécules de soluté et confirme bien qu'un système formé de molécules de Griséofulvine solvaté tend à s'auto-agrégater en un agrégat principal sous la forme d'une séparation entre les molécules de Griséofulvine et d'eau (pour laquelle ces nombres d'agrégation tendront vers N) et non sous la forme d'une solution polydisperse. Cette observation ne s'applique cependant pas à la boîte contenant 20 molécules de Griséofulvine, pour laquelle les nombres d'agrégation sont inférieurs à ceux de la boîte de 10 molécules de Griséofulvine, et confirme que cette solution est polydisperse à la fin des 5 ns de simulation. Il n'est cependant pas certain qu'il s'agisse de son état d'équilibre comme discuté dans la section 5.3.1.

Le ratio N_w/N_n , est appelé indice de polydispersité, mesure l'homogénéité des agrégats au sein du système. Plus ce ratio est élevé, plus le système est hétérogène. Quel que soit le système, les premières étapes de l'agrégation, qui correspondent à un appariement de molécules libres avec leurs proches voisines en petits agrégats, sont caractérisées par une augmentation de cet indice (voir Figure 5.8). Deux chemins peuvent être suivis par le système pour passer des premières étapes de l'agrégation vers l'état d'équilibre. Les évolutions transitoires dans les boîtes contenant 10 et 15 molécules de Griséofulvine sont caractérisées soit par une augmentation de l'indice de polydispersité, ce qui consiste en une agrégation progressive des petits agrégats avec l'agrégat principal. Suivant ce schéma, l'indice de polydispersité doit diminuer lorsqu'un seul agrégat constitue le système.

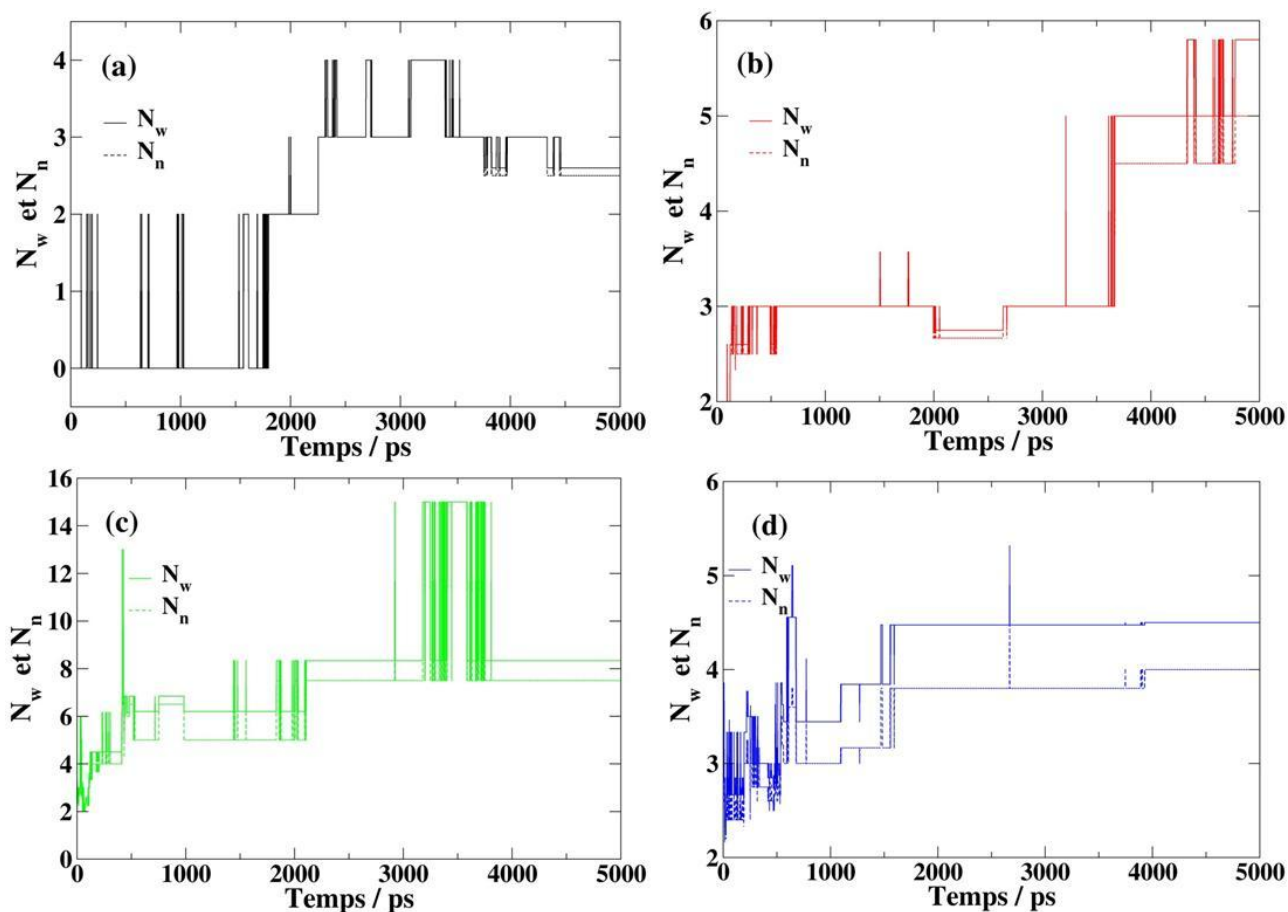


Figure 5.7 Evolution temporelle des nombre d'agrégation dans les différentes boîtes de simulation comprenant 8(a), 10 (b), 15 (c) et 20 molécules de Griséofulvine (d).

Un autre chemin d'agrégation peut être observé avec la boîte contenant 20 molécules de Griséofulvine. Cette boîte présente le plus grand indice de polydispersité parmi les différents systèmes, bien que ses nombres d'agrégation soit relativement bas du fait du faible nombre de molécules dans les systèmes. Cela indique que cette boîte présente une grande hétérogénéité de taille des agrégats. La décroissance graduelle de son indice de polydispersité montre cependant que ces agrégats tendent vers une situation dans laquelle leur taille est plus homogène. L'évolution transitoire ainsi représenté fait apparaître une suite d'appariements entre petits agrégats sans qu'un agrégat principal puisse être distingué dans le système. Les deux types d'états transitoires doivent mener au même état d'équilibre mais on peut constater que l'agrégation se faisant principalement avec l'agrégat principal semble être à la fois la plus favorable et la plus rapide pour de petits systèmes, ce qui a déjà été proposé précédemment dans le cas d'hydrates de méthane⁴²².

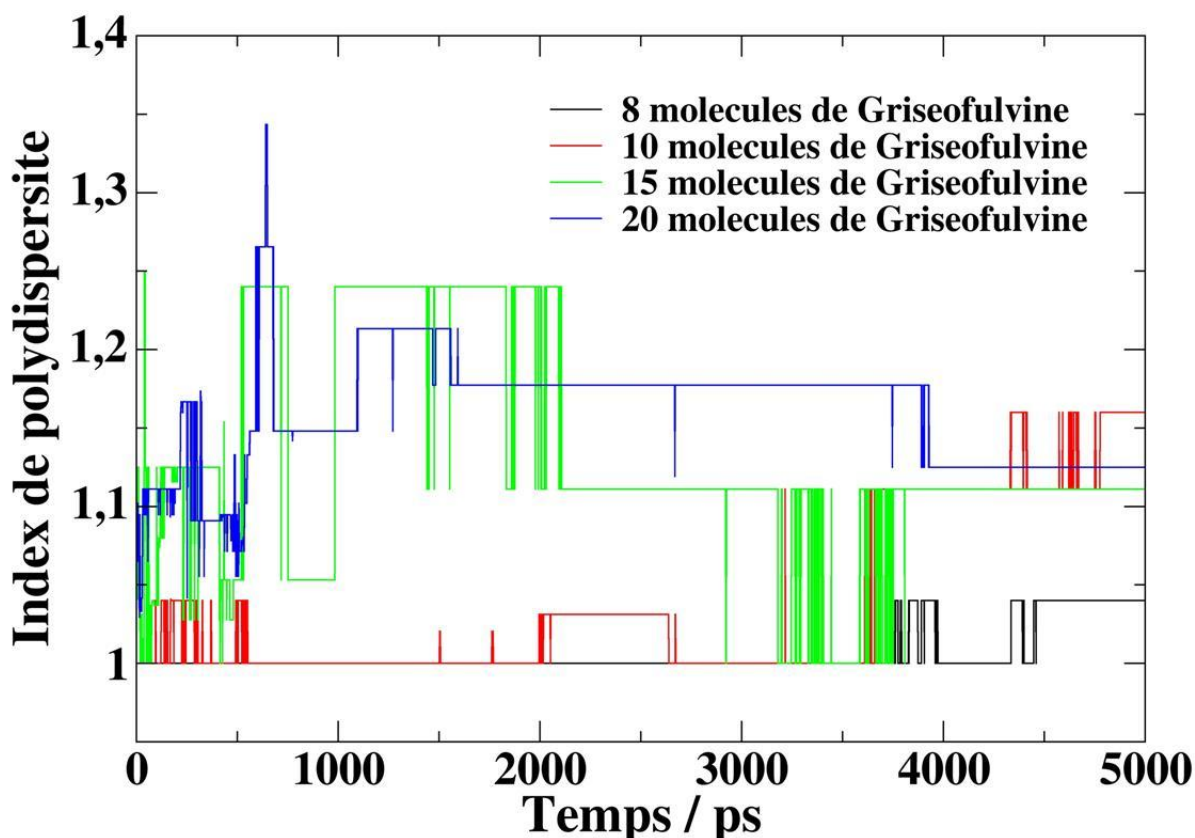


Figure 5.8 Evolution du ratio N_w/N_n (appelé indice de polydispersité) au cours de l'agrégation.

5.3.4 Rayon de giration

L'extension spatiale des agrégats peut être étudiée à l'aide de leur rayon de giration R_g qui se détermine par⁴²⁵ :

$$R_g = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N m_i (\vec{r}_i - \vec{r}_0)^2}{\sum_{i=1}^N m_i}} \quad (5.3)$$

où N est le nombre total de molécules constituant l'agrégat considéré, $(\vec{r}_i - \vec{r}_0)^2$ représente le carré de la distance entre une molécule i appartenant à l'agrégat considéré et le centre de masse r_0 de cet agrégat et m_i est la masse de la molécule i (voir figure 5.9).

L'expression 5.3 est en fait une extension de l'expression usuelle du rayon de giration. Cette dernière peut cependant être fortement influencée par les tentatives infructueuses d'appariements liées à l'existence de conformations défavorables. En effet, dans ce dernier cas, si deux molécules ou agrégats se rencontrent brièvement en ne connectant qu'une partie de leurs extrémités, il en

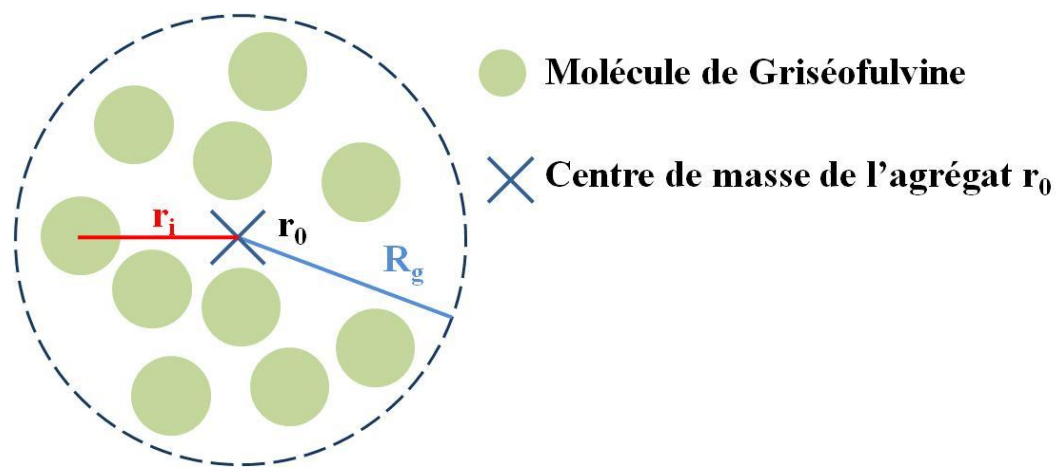


Figure 5.9 Représentation schématique du rayon de giration d'un agrégat

résultera une brusque augmentation du rayon de giration, instantanément suivie d'une diminution. On peut raisonnablement supposer qu'à la suite d'un de ces types de contact, les deux agrégats ne s'éloignent pas immédiatement l'un de l'autre et que de nombreuses autres tentatives similaires soient observées sur un court laps de temps. Des tests ont été réalisés et ont montré que ces événements se répercuteront sur l'évolution temporelle du rayon de giration en bruitant fortement le signal (figure non représentée). Nous avons donc utilisé une définition du rayon de giration (expression 5.3) basée sur la distance séparant le centre de masse de l'agrégat et les centres de masse des molécules constituant cet agrégat. Ce paramètre présente toujours de brusques variations en cas de tentative infructueuse d'appariement mais est moins influencé par ces dernières que la version usuelle du rayon de giration. La conservation par ce paramètre des brusques variations décrites précédemment peut, de plus, être utilisée pour prouver que les tentatives d'appariement infructueuses qui sont observées, sont dues à l'existence de conformations d'appariement défavorables et non à un autre facteur.

Il doit cependant être noté que l'observation de ces brusques variations n'est clairement visible et par suite, discutée que dans le cas de la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine où, comme nous l'avons vu avec la figure 5.4, le système suit un processus d'agrégation facilement identifiable. Pour les autres boîtes de simulation, un lissage de l'évolution du rayon de giration est utilisé pour des raisons de clarté.

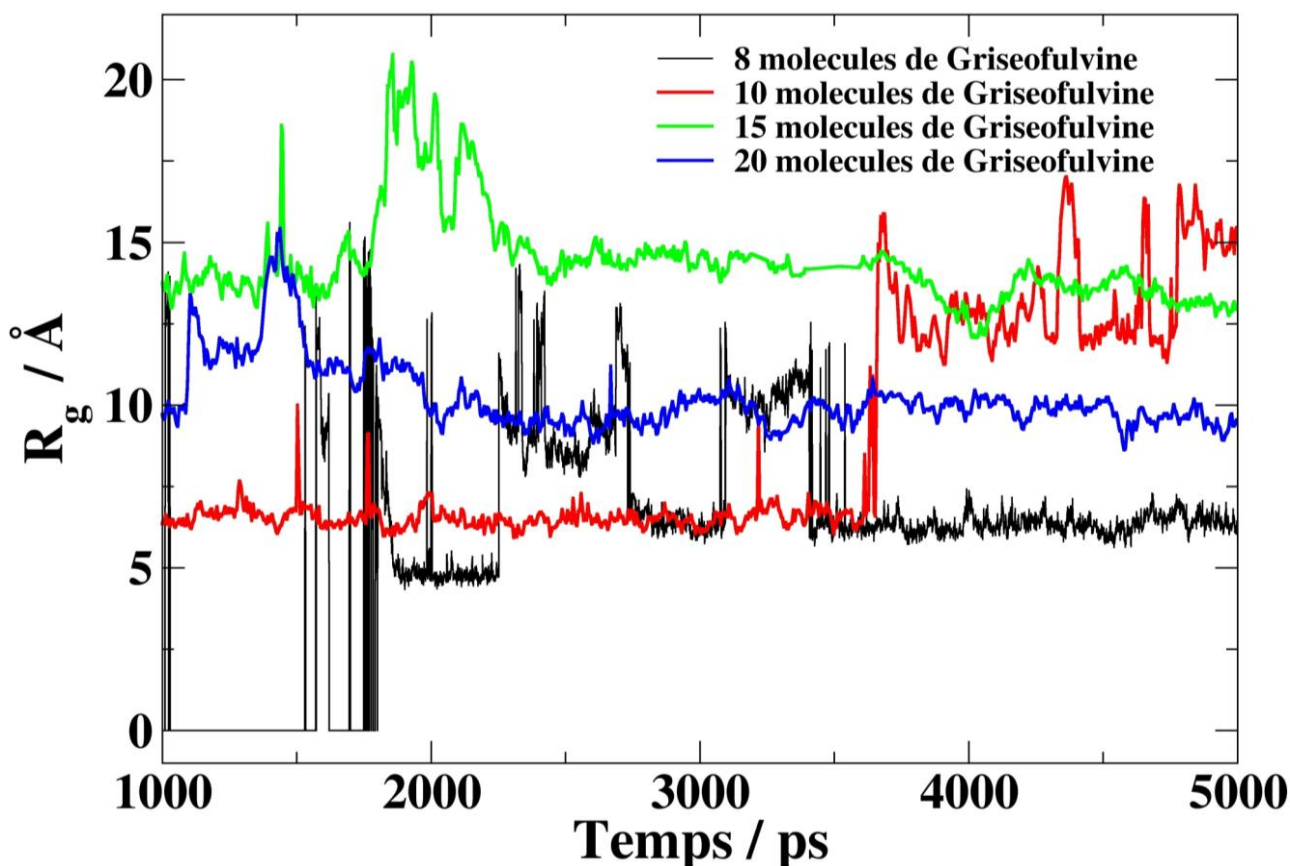


Figure 5.10 Evolution temporelle du rayon de giration R_g de l'agrégat de plus grande taille au sein des différentes boîtes de simulation. Le calcul de R_g se fait en prenant en compte les distances entre les centres de masse des molécules constituant l'agrégat et le centre de masse de l'agrégat (voir expression 5.3). Ce choix est donc moins sensible aux tentatives d'appariement selon des configurations non favorables à l'agrégation. Pour plus de lisibilité, un lissage a été réalisé sur les boîtes contenant 10, 15 et 20 molécules de Griseofulvine et les tentatives d'appariements entre l'agrégat de 10 et 5 molécules au sein de la boîte contenant 15 molécules de Griseofulvine ont été supprimées.

Au cours des 1.8 premières nanosecondes de simulation de la boîte contenant 8 molécules de Griseofulvine, on observe que les tentatives d'appariement qui ont échouées à créer un agrégat présentaient toutes un rayon de giration d'environ 8 Å à 15 Å. Nous avons vu avec la description du nombre de molécules, dans l'agrégat principal (voir figure 5.4) que l'agrégat constitué de deux molécules présent entre 1.9 et 2.2 ns est un agrégat stable. Cet agrégat est caractérisé par un rayon

de giration d'environ 4.4 Å. Ainsi les rayons de girations des configurations ne conduisant pas à un agrégat stable, sont 2 à 4 fois supérieurs à ceux des agrégats stables. Cette observation s'applique à toutes les boîtes utilisées et, quelle que soit la taille de l'agrégat, il est plus aisé de s'en rendre compte avec un seul agrégat dont on peut déterminer précisément l'évolution. Cette observation confirme l'hypothèse de départ selon laquelle les tentatives avortées d'appariement entre molécules sont dues à des configurations défavorables des molécules. Une observation similaire portée sur les boîtes de 15 et 20 molécules de Griséofulvine permet de confirmer que des configurations d'appariements défavorables entre agrégats sont à l'origine des difficultés qu'ont ces systèmes à atteindre l'état d'équilibre et que l'agrégation n'est pas limitée uniquement par la diffusion des agrégats (ce qui correspond à un régime de type RLCA dans un système colloïdal, voir section 5.1).

Il peut aussi être noté que les molécules de Griséofulvine forment, dans tous les systèmes étudiés, des agrégats extrêmement compacts avec, par exemple, des rayons de giration d'environ 4,4 Å à 4,8 Å et 6,6 Å dans le cas d'agrégats de 2 et 3 molécules respectivement (voir figure 5.4 et 5.12 avec la boîte de 8 molécules de Griséofulvine pour les agrégats de 2 et 3 molécules et la boîte de 10 molécules de Griséofulvine pour les agrégats de 3 molécules). La faible valeur du rayon de giration nous permet d'émettre l'hypothèse que les molécules de Griséofulvine s'apparient par empilement sous forme de plans π parallèles (voir la figure 5.16 de la section 5.3.6). Cette hypothèse est confirmée par la suite avec l'étude de la topologie et de la structure des agrégats. De plus, les molécules de Griséofulvine pouvant être représentées grossièrement par deux plans perpendiculaires l'un à l'autre (voir la figure 5.15), un appariement dans lequel les deux plans π de chaque molécule sont parallèles sera non seulement la configuration qui limitera la surface accessible au solvant, et par conséquent les interactions entre l'eau et les groupes hydrophobes. Il n'est donc pas surprenant que l'on observe une contraction de son rayon de giration au cours du temps comme le montre la figure 5.11.

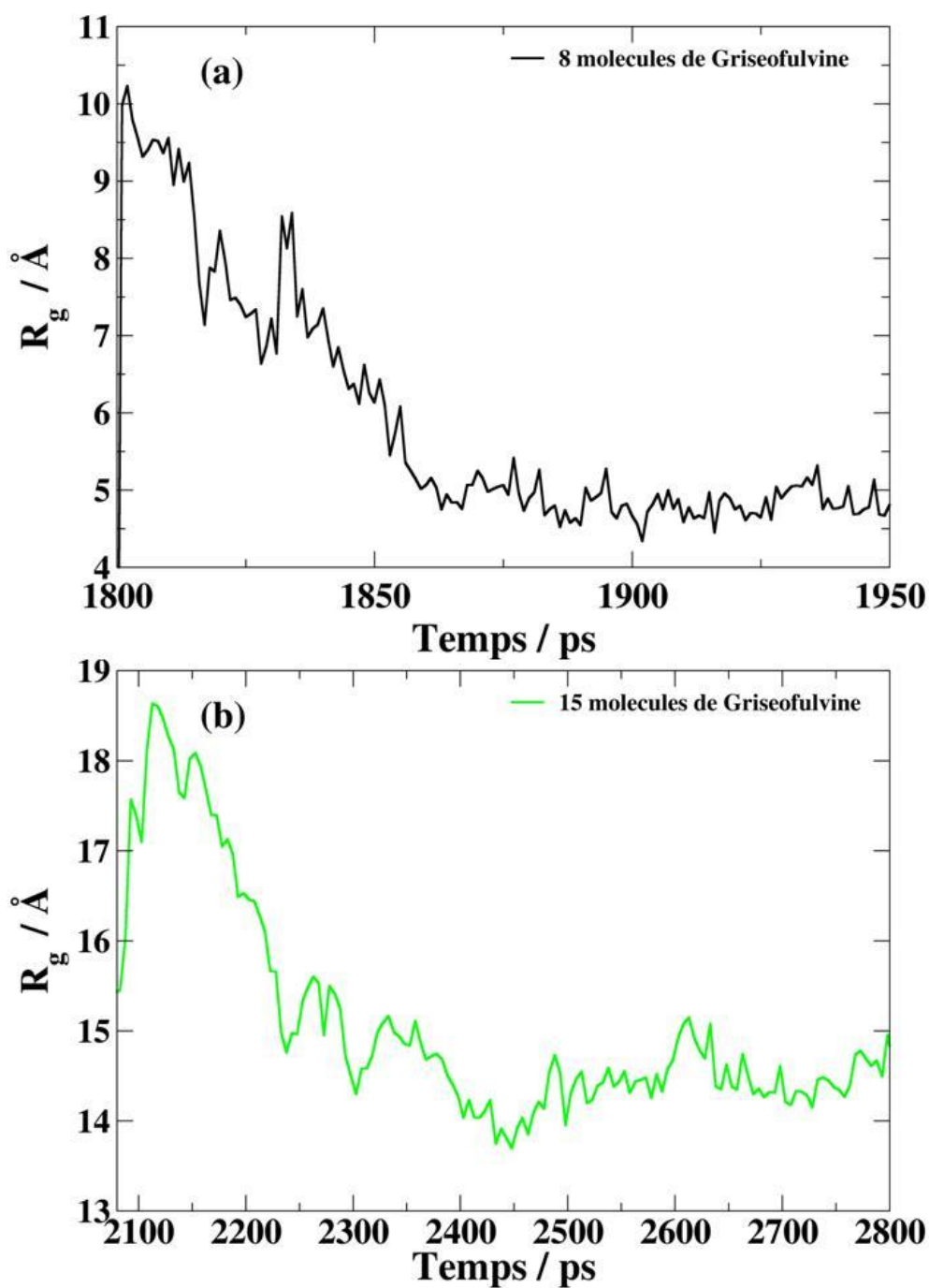


Figure 5.11 Contraction du rayon de giration de l'agrégat principal à la suite de l'appariement avec de nouvelles molécules dans le cas de (a) un agrégat de 2 molécules au sein de la boîte de 8 molécules de Griséofulvine (b) et un agrégat de 10 molécules au sein de la boîte de 15 molécules de Griséofulvine.

L'augmentation de taille d'un agrégat par appariement d'une molécule ou d'un autre agrégat engendre une augmentation brutale du rayon de giration (par exemple de 15,5 à 18,5 \AA sur la figure

5.11b). La variation du rayon de giration qui s'en suit est généralement caractérisée par une réduction progressive de la taille dont la durée augmente avec le nombre de molécules constituant l'agrégat. Dans le cas de la formation d'un agrégat de 2 molécules au sein de la boîte de 8 molécules de Griséofulvine après environ 1,8 ns (voir figure 5.4), cette durée est d'environ 50 ps (voir figure 5.11a). Dans le cas d'un agrégat constitué de 10 molécules (venant de la boîte contenant 15 molécules de Griséofulvine) juste après sa formation entre 2 et 2,5 ns (voir figure 5.4), elle est d'environ 100 à 200 ps (voir figure 5.11b). Cela montre qu'une fois l'appariement effectué, les agrégats subissent différents mécanismes de réorganisation. Ceux-ci semblent ralentis par les interactions entre molécules de Griséofulvine ou leur forte hydrophobicité ce qui limite les déplacements collectifs des molécules constituant les agrégats de grande taille. La figure 5.12b présente la variation de la moyenne des rayons de giration sur tous les agrégats moins l'agrégat principal dans la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine. Cette moyenne est constituée dans ce cas d'un seul agrégat de deux molécules (voir figures 5.3 et 5.8). On observe que l'appariement de deux molécules peut se passer suivant différentes configurations mais que les configurations minimisant le rayon de giration de l'agrégat sera favorisée suite à des mécanismes de réorientation. En effet, le rayon de giration de cet agrégat est durant environ 200 ps d'environ 6,5 Å puis réduit à la valeur de 4,6 Å. Cette valeur de 6,5 Å du rayon de giration correspond à la valeur observée durant plusieurs centaines de picosecondes avec l'agrégat principal (voir inset figure 5.12b) de cette boîte lorsqu'il est constitué de 2 molécules (entre 1,8 et 2,3 ns de simulation, voir figure 5.10). Nous pouvons donc légitimement supposer que cette dernière configuration correspond à la configuration stable d'un agrégat de deux molécules. Le fait que la configuration présentant un rayon de giration d'environ 3,2 Å soit présente pendant environ 200 ps ne nous permet cependant pas de la définir comme une configuration instable et l'on peut supposer que plusieurs configurations sont possibles pour un appariement de deux molécules. Cette configuration présente cependant un rayon de giration similaire à l'agrégat principal de la boîte contenant 10 molécules de Griséofulvine lequel n'est constitué que de trois molécules (voir figure 5.4 Et 5.10 entre 1 et

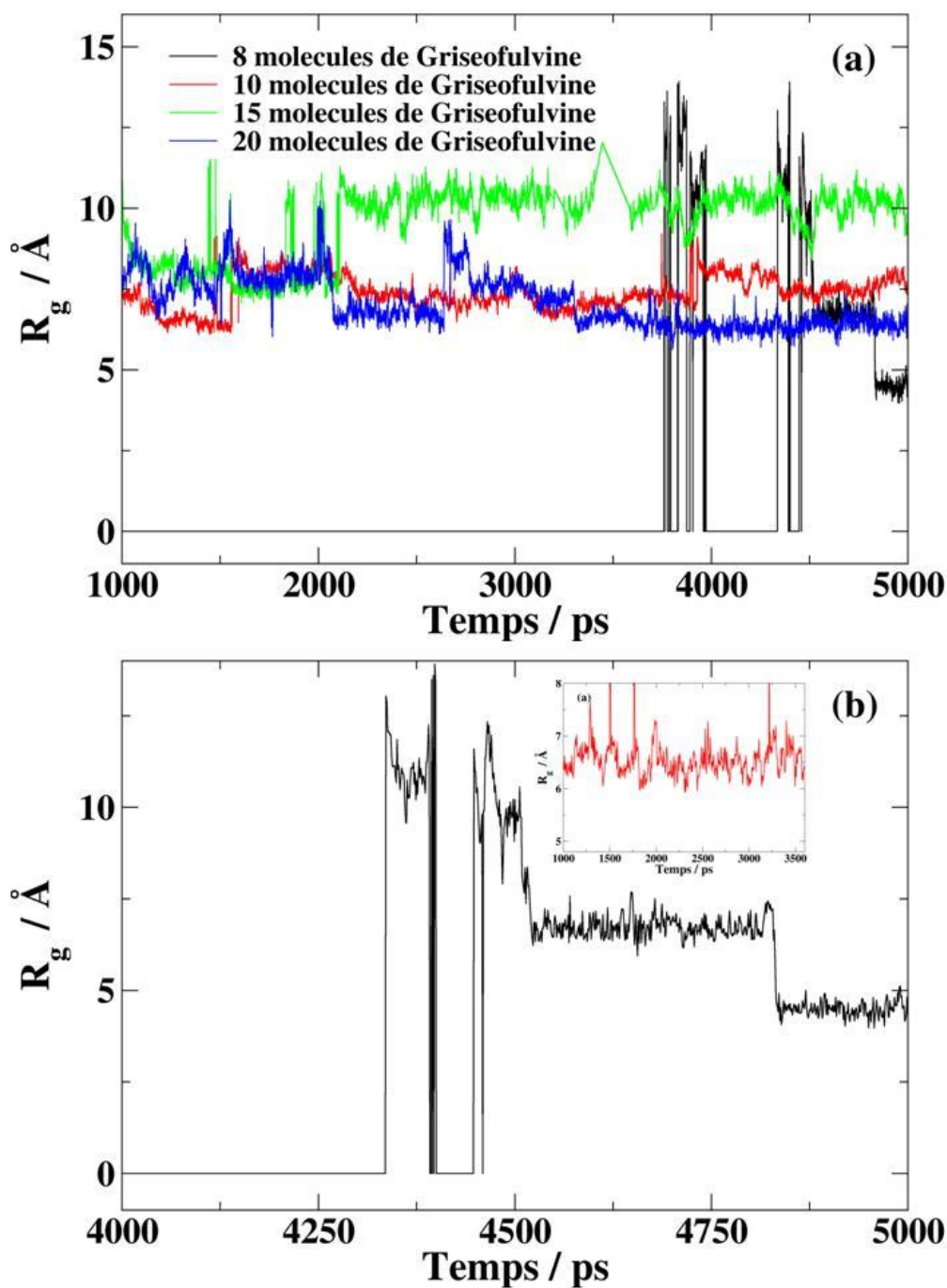


Figure 5.12 Evolution temporelle de la moyenne du rayon de giration R_g des agrégats au sein des différentes boîtes de simulation. Les tentatives d'appariement entre l'agrégat de 10 molécules et l'agrégat de 5 molécules au sein de la boîte contenant 15 molécules de Griséofulvine entre 3 et 4 ns de simulations ne sont pas représentées pour des raisons de lisibilité. Un agrandissement de la réorganisation interne d'un agrégat de deux molécules au sein de la boîte contenant 8 molécules est donné dans la sous figure b (en noir) et est comparé avec un agrégat stable de trois molécules (en rouge).

3,5 ns). Ces observations nous permettent de suggérer que si plusieurs configurations existent pour l'appariement de deux molécules, une seule configuration est stable.

5.3.5 Topologie des agrégats

La topologie générale d'un agrégat peut être décrite en utilisant le ratio entre ses principaux moments d'inertie. Une telle description a déjà été utilisée pour analyser la morphologie de micelles formées par l'agrégation de molécules d'Ibuprofène avec de l'acide cholique⁴¹⁸. En notant que les principaux moments d'inertie de sorte que $I_1 < I_2 < I_3$, les ratios entre ces moments d'inertie I_1/I_2 et I_2/I_3 sont reliés à la géométrie d'un agrégat et les relations bien connues de la mécanique classique permettent d'en définir la tendance générale :

- ❖ Dans le cas d'une égalité entre tous les moments d'inertie, $I_1=I_2=I_3$ et donc $I_1/I_2=I_2/I_3=1$, l'agrégat aura une géométrie sphérique.
- ❖ Si deux des moments d'inertie sont égaux et de valeur négligeable par rapport au troisième, $I_1=I_2 \ll I_3$ et donc $I_1/I_2=1$ et $I_2/I_3=0$, dans ce cas l'agrégat possédera une géométrie discoïdale.
- ❖ Si deux des moments d'inertie sont égaux et la valeur du troisième est négligeable, $I_1 \ll I_2=I_3$ et donc $I_1/I_2=0$ et $I_2/I_3=1$, dans ce cas, l'agrégat aura la forme d'un bâtonnet, ce que nous décrirons plus tard par une géométrie cylindrique.

Ces ratios sont déterminés au sein de chaque boîte de simulation en moyennant sur l'ensemble des agrégats et l'ensemble de la simulation. On peut noter, à l'aide de la figure 5.13, que tous les agrégats, dans chaque boîte de simulation, présentent une morphologie similaire avec une géométrie cylindrique très marquée ($I_1/I_2 \approx 0$ et $I_2/I_3 \approx 1$). Cette géométrie cylindrique confirme que l'agrégation se fait par un empilement linéaire des molécules de Griséofulvine (voir section 5.3.6). Il apparaît également à l'aide de la figure 5.13 que chacune des boîtes ne porte que la trace de cette géométrie cylindrique. Celles-ci est donc conservée durant toute l'agrégation et ce, quelle que soit la boîte de simulation et l'étape de l'agrégation. La conservation de cette géométrie a cependant tendance à diminuer la cinétique d'agrégation lorsque le nombre de molécules au sein des agrégats

augmente, en limitant la probabilité que deux agrégats se rencontrent en joignant les extrémités de leurs bâtonnets, et donc a fortiori en les joignant selon une configuration favorable à l'appariement. La boîte contenant 15 molécules de Griséofulvine est cependant la seule dont la morphologie d'au moins un agrégat s'écarte légèrement du schéma précédent avec une géométrie cylindrique et donc à une déviation d'un schéma d'agrégation linéaire avec un empilement des molécules. Cette configuration correspond à l'agrégat de 10 molécules (voir figure 5.14). Puisque cet agrégat est celui qui présente la plus grande taille parmi tous nos systèmes et que la boîte de simulation qui le contient présente la vitesse d'agrégation la plus élevée (voir figure 5.1), sa topologie semble confirmer que la limitation de l'appariement aux extrémités d'agrégats est un facteur limitant de la

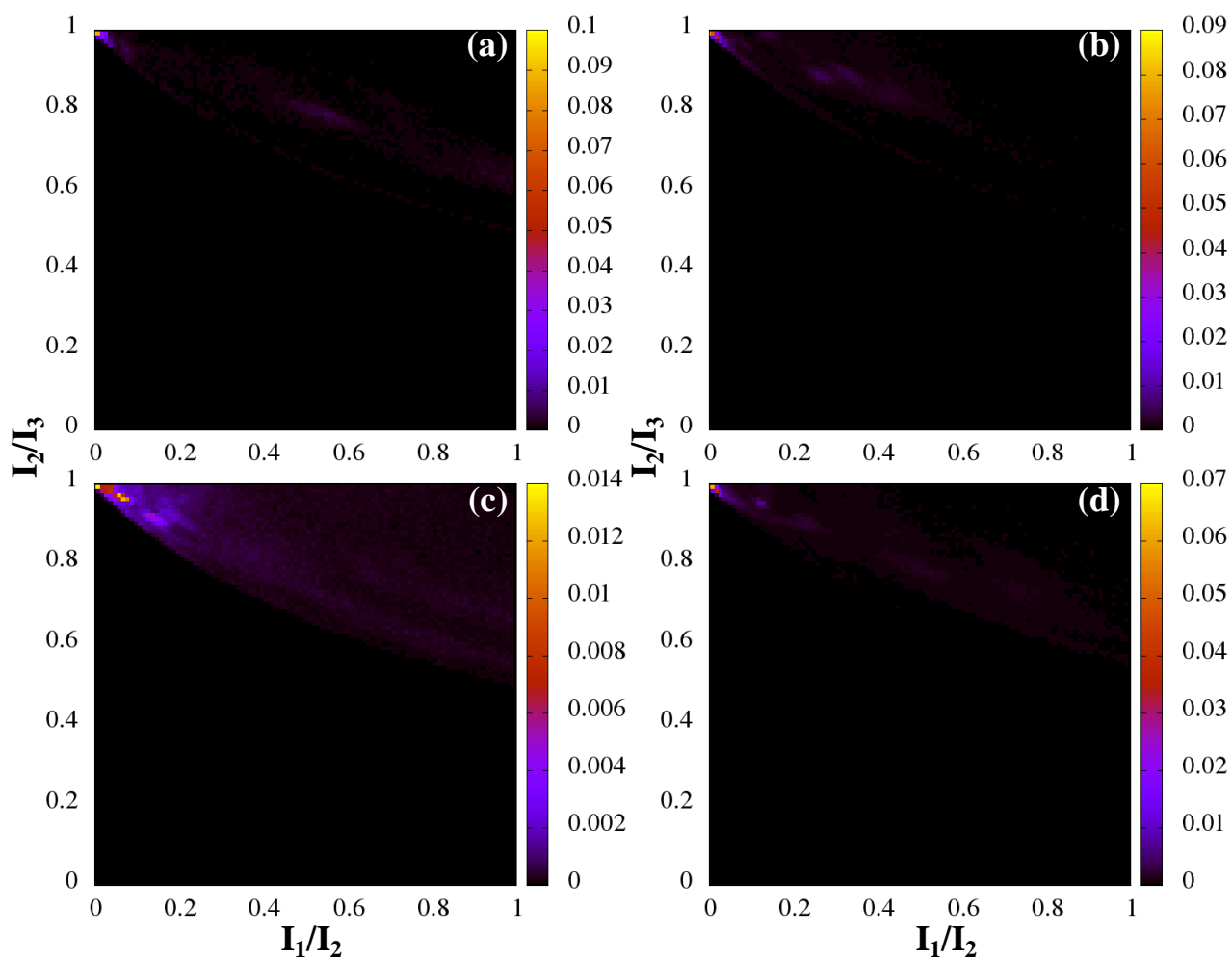


Figure 5.13 Probabilité d'obtenir des rapports de moments d'inerties I_2/I_3 en fonction de I_1/I_2 au sein des différentes boîtes de simulation comprenant 8(a), 10 (b), 15 (c) et 20 molécules de Griséofulvine (d).

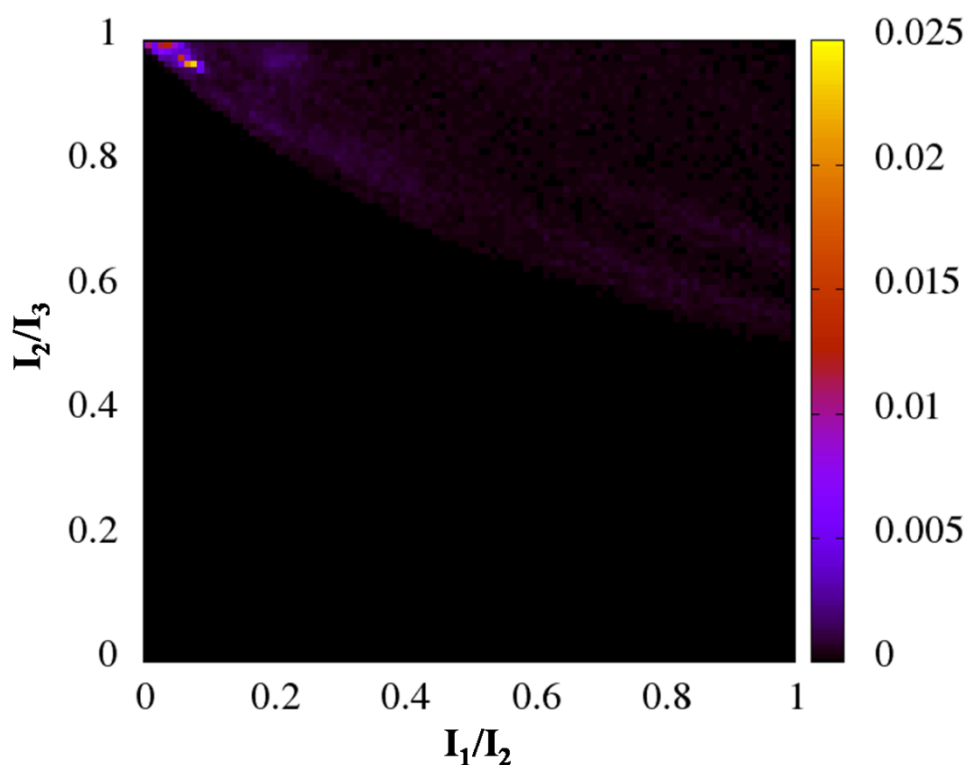


Figure 5.14 Probabilité d'obtenir des rapports de moments d'inerties I_2/I_3 en fonction de I_1/I_2 au sein de l'agrégat de 10 molécules dans la boîte de simulation contenant 15 molécules de Griséofulvine. Cette Figure doit être comparée avec la Figure 5.12 (c) et montre que l'écart que présente cette boîte avec la géométrie cylindrique vient de l'agrégat de 10 molécules.

cinétique d'agrégation. Les raisons qui engendrent un tel schéma d'agrégation doivent être recherchées dans les configurations favorables à l'appariement et donc dans la structure interne des agrégats.

5.3.6 Structure des agrégats

5.3.6.1 Description de l'analyse

La fonction de distribution radiale de paires est un outil classique pour sonder l'organisation structurale d'un système¹⁵¹. L'utilisation de la fonction de distribution de paire $g(r)$ n'est cependant pas adéquate pour la description d'agrégats non sphériques⁴²⁶. Les résultats précédents concernant la morphologie des agrégats indiquent que la formation des agrégats n'est pas isotrope et ne suit pas une structure sphérique. L'utilisation de la fonction de distribution de paires, s'appliquera donc

difficilement à l'étude des agrégats formés dans nos systèmes. On peut cependant obtenir une description de la structure des agrégats proche de ce que la fonction de distribution de paire pourrait fournir, notamment concernant l'ordre à courte portée, à l'aide de la probabilité de distance $N(r)$ entre centres de masse de deux molécules appartenant au même agrégat. Une analyse des conditions d'agrégation doit tenir compte de la probabilité $N(r)$ en fonction de la taille de l'agrégat. Afin d'obtenir une compréhension profonde de l'agrégation de la Griséofulvine, l'étude de la probabilité $N(r)$ en fonction de la distance entre les deux centres de masses des molécules ne peut porter sur la moyenne de l'ensemble des agrégats. L'utilisation de la probabilité $N(r)$; dans le cas d'une étude portant sur une moyenne concernant des agrégats ayant un nombre différents de molécules, ne permet pas de faire la distinction entre plusieurs configurations possibles que peuvent avoir une paire de molécules similaires, c'est-à-dire ayant les mêmes positions relatives au sein des agrégats (premiers voisins, ...).

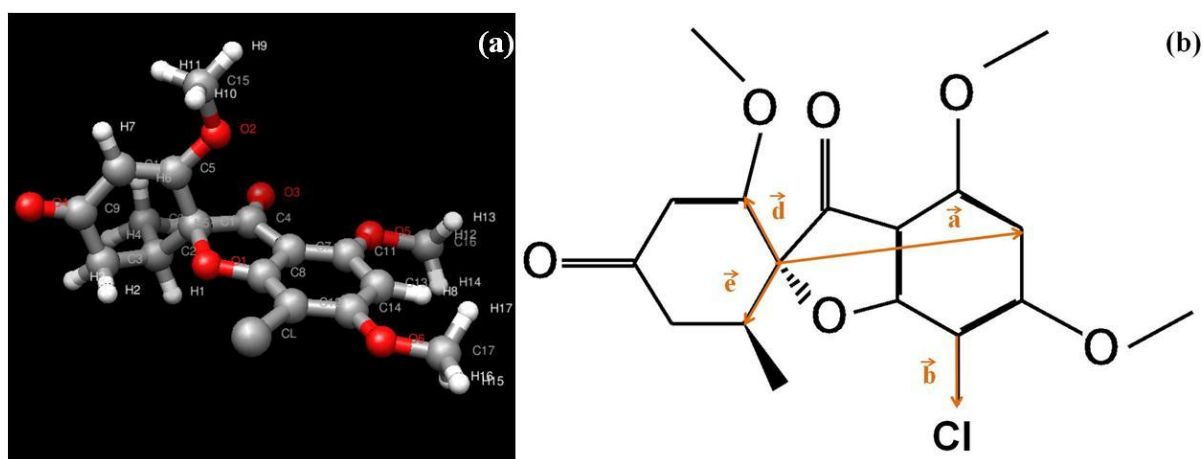


Figure 5.15 Représentation schématique d'une molécule de Griséofulvine. Nous définissons le plan π comme étant le plan contenant les vecteurs \vec{a} et \vec{b} , et le plan π' comme étant le plan contenant les vecteurs \vec{d} et \vec{e} .

De manière similaire, une moyenne portant sur tous les agrégats ne nous permettra pas de différencier facilement les configurations venant de contacts défavorables aux appariements des configurations favorables. Le grand nombre d'occurrences de ces configurations défavorables (voir figure 5.3 et 5.5) pourra engendrer des pics de probabilités ou un fort bruit de fond dans le spectre de $N(r)$. De plus, effectuer cette moyenne sur l'ensemble des agrégats, toutes tailles confondues

demande d'échantillonner un grand nombre de configurations. Dans ce contexte, le fait qu'une configuration d'équilibre d'une paire de molécules similaire soit modifiée par l'ajout d'une autre molécule dans l'agrégat pourra ne pas être clairement visible dans le spectre de $N(r)$.

L'étude de la seule probabilité $N(r)$ permet de fournir des informations sur les configurations les plus favorables au sein d'un agrégat, mais ces informations sont insuffisantes pour définir la structure des agrégats en termes d'orientations relatives entre molécules. Pour deux molécules appartenant à un même agrégat, l'étude de l'organisation de leur orientation relative peut être menée grâce aux variations de certains angles caractéristiques des orientations moléculaires en fonction de la distance qui sépare ces deux molécules. Pour ce faire, on suppose dans une première approximation, que les molécules de Griséofulvine sont constituées de trois cycles dont deux restent dans le même plan π (contenant les vecteurs \vec{a} et \vec{b} , voir figure 5.15) et le troisième définit un second plan π' (contenant les vecteurs \vec{d} et \vec{e} , voir figure 5.15). Chacun de ces plans peut, dans un premier temps, être décrit par son vecteur normal que nous noterons $\vec{c} = \vec{a} \wedge \vec{b}$ dans le cas de π et $\vec{f} = \vec{d} \wedge \vec{e}$ dans le cas de π' . La description de la coplanarité de deux molécules (i et j) appartenant à un même agrégat, ainsi que l'orientation relative des deux molécules peut être obtenue précisément à l'aide du produit scalaire entre deux des vecteurs définis précédemment appartenant à deux molécules distinctes. Nous pouvons ainsi définir quatre angles, α , β , γ et δ tels que :

$$\cos\alpha = \frac{\vec{a}_i \cdot \vec{a}_j}{\|\vec{a}_i \cdot \vec{a}_j\|} \quad (5.4)$$

$$\cos\beta = \frac{\vec{b}_i \cdot \vec{b}_j}{\|\vec{b}_i \cdot \vec{b}_j\|} \quad (5.5)$$

$$\cos\gamma = \frac{\vec{c}_i \cdot \vec{c}_j}{\|\vec{c}_i \cdot \vec{c}_j\|} \quad (5.6)$$

$$\cos\delta = \frac{\vec{c}_i \cdot \vec{f}_j}{\|\vec{c}_i \cdot \vec{f}_j\|} \quad (5.7)$$

où i et j sont les indices associés à chacune des deux molécules appartenant au même agrégat.

A l'aide des paramètres γ et δ , la détermination de la coplanarité entre deux plans de deux molécules est immédiate : deux molécules ont leurs plans π respectivement parallèles, antiparallèles et perpendiculaires si $\cos \gamma=1$, $\cos \gamma=-1$ ou $\cos \gamma=0$. Un exemple simple de configuration pour laquelle nous devrions trouver des plans π parallèles est représenté sur la figure 5.16.

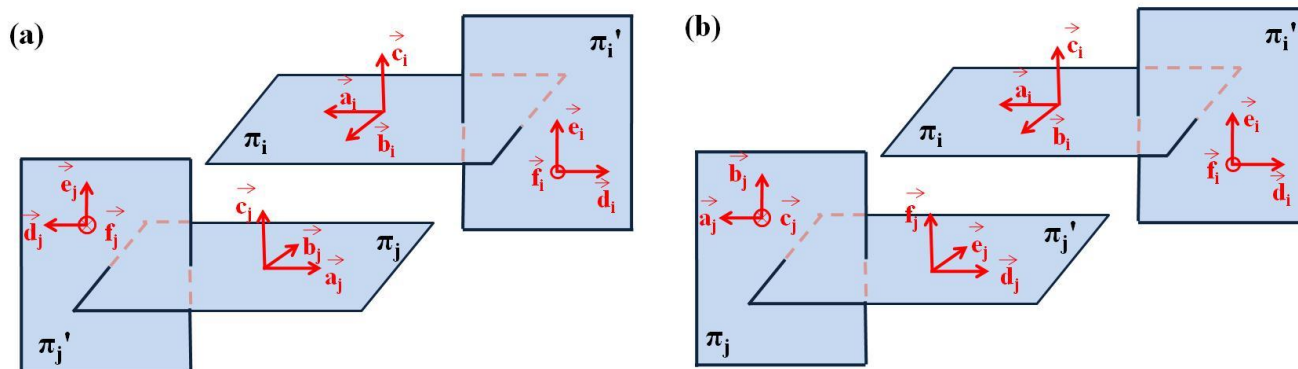


Figure 5.16 Schéma d'un empilement entre deux molécules i et j avec (a) des plans π parallèles et (b) des plans π' parallèles.

Dans le cas où les plans π ne sont pas parallèles, l'étude du facteur γ permet de détecter l'éventuel parallélisme ou l'anti-parallélisme entre les plans π et π' par les cas où $\cos \gamma=1$ ou $\cos \gamma=-1$ respectivement. Une représentation des paramètres γ et δ en fonction de la distance r entre les centres de masses des deux molécules nous permet de renforcer l'analyse que l'on peut obtenir à partir de $N(r)$. Dans le cas où les plans π sont parallèles ou anti-parallèles, les paramètres α et β peuvent déterminer l'orientation entre les deux molécules avec, par exemple, deux plans parallèles si $\cos \alpha$ et $\cos \beta$ valent tous les deux 1 ou -1. Le cas où $\cos \alpha=0$ ou/et $\cos \beta=0$ doivent être traités avec soin car cela peut correspondre à des plans π parallèles mais tournés de 90° mais cela peut aussi signifier que ces plans sont perpendiculaires. Cette situation peut être discriminée avec l'étude du paramètre δ .

Nous avons également montré à l'aide de la distribution de probabilité de taille de agrégats (voir figure 5.2) que l'agrégation des molécules de Griséofulvine ne se fait pas uniquement par appariement de molécules libres éventuelles ou à des agrégats déjà formés mais également par appariements d'agrégats entre eux. Dans ce contexte, deux types de systèmes présentent un intérêt immédiat :

- ❖ Les agrégats de petites taille, contenant 3 molécules ou moins, permettent de définir les configurations préférentielles d'association entre les molécules de Griséofulvine (en particulier dans le cas de l'appariement de seulement deux molécules de Griséofulvine) ainsi que la possibilité d'observer les changements de configuration entre deux molécules lors de l'ajout de molécules à l'agrégat. L'étude de ces agrégats permet également de décrire la structure des 'briques élémentaires' qui constitueront les agrégats de plus grande taille.
- ❖ Les agrégats de taille supérieure ou égale à 4 molécules permettent de définir les conditions d'appariements entre agrégats ; dans le cas d'agrégats contenant 6 molécules ou moins, il faudra cependant prendre soin de distinguer les agrégats formés par appariements successifs de molécules libres des agrégats formés par appariements entre agrégats de plus petite taille.

5.3.6.2 Agrégats de deux molécules

L'analyse de la probabilité $N(r)$ dans le cas d'agrégats contenant 2 molécules représente l'étude des proches voisins au sein d'un agrégat. La probabilité $N(r)$ est représentée dans la figure 5.17. Les simulations sur les boîtes contenant 8, 15 et 20 molécules de Griséofulvine montrent une même configuration préférentielle entre deux proches voisins entre 4.6 et 4.8 Å. Il peut cependant être noté que les boîtes de 8 et 15 molécules de Griséofulvine présentent d'autres configurations possibles pour les appariements de deux molécules aux alentours de 6 à 7 Å. Au sein de la boîte de 8 molécules de Griséofulvine, ce second pic présente une intensité 3 fois plus faible que le premier pic. Il est évident que le premier pic entre 4.6 et 4.8 Å correspond à la configuration de l'agrégat défini comme stable dans la section 5.3.4. La configuration de l'agrégat avec deux molécules séparées de 6 à 7 Å est donc une configuration favorable à l'appariement mais qui est instable et subira une réorganisation interne si elle dispose de suffisamment de temps.

Tous les agrégats de deux molécules dans les boîtes de simulations possèdent une configuration stable (rayon de giration d'environ 4.6 Å et molécules séparées de 4.6 à 4.8 Å et représenté dans la figure 5.18a) sauf pour ceux de la boîte contenant 10 molécules de Griséofulvine qui possède une configuration dans laquelle les deux plus proches voisins sont séparés d'environ 5.1

à 5.3 Å. Puisque cette configuration est la seule configuration d'un agrégat de deux molécules présente dans cette boîte de simulation, nous pouvons supposer qu'elle constitue une configuration stable de ce système. Ainsi, les agrégats de deux molécules présentent au moins deux configurations stables mais puisqu'aucun système ne présente les deux configurations, on peut supposer que la barrière énergétique à franchir doit être trop élevée pour permettre au système de passer d'une configuration à l'autre.

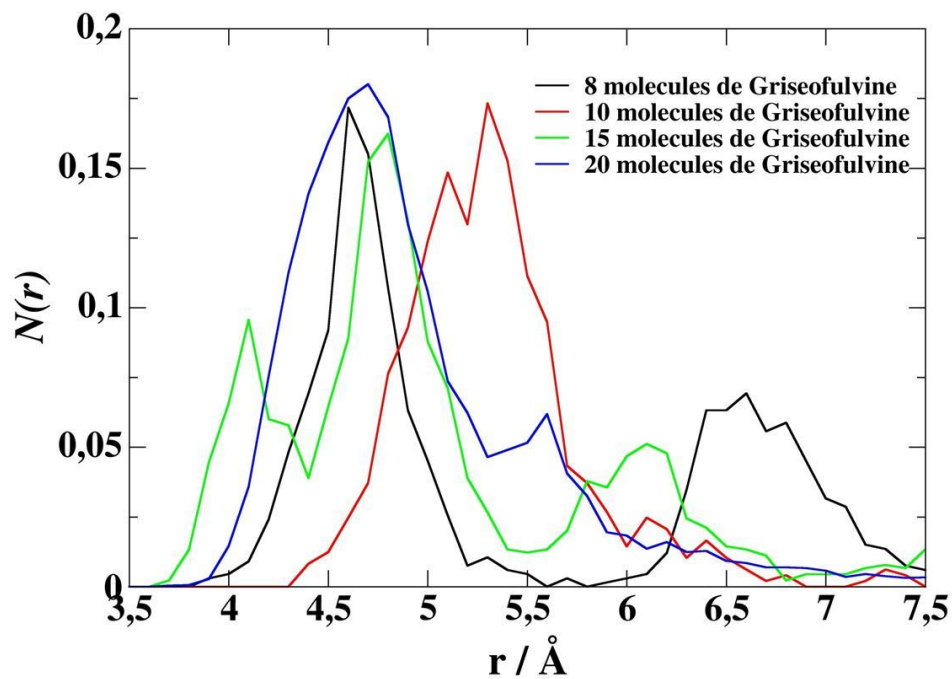


Figure 5.17 Représentation de la probabilité $N(r)$ dans le cas d'agrégats de deux molécules au sein des différentes boîtes de simulation

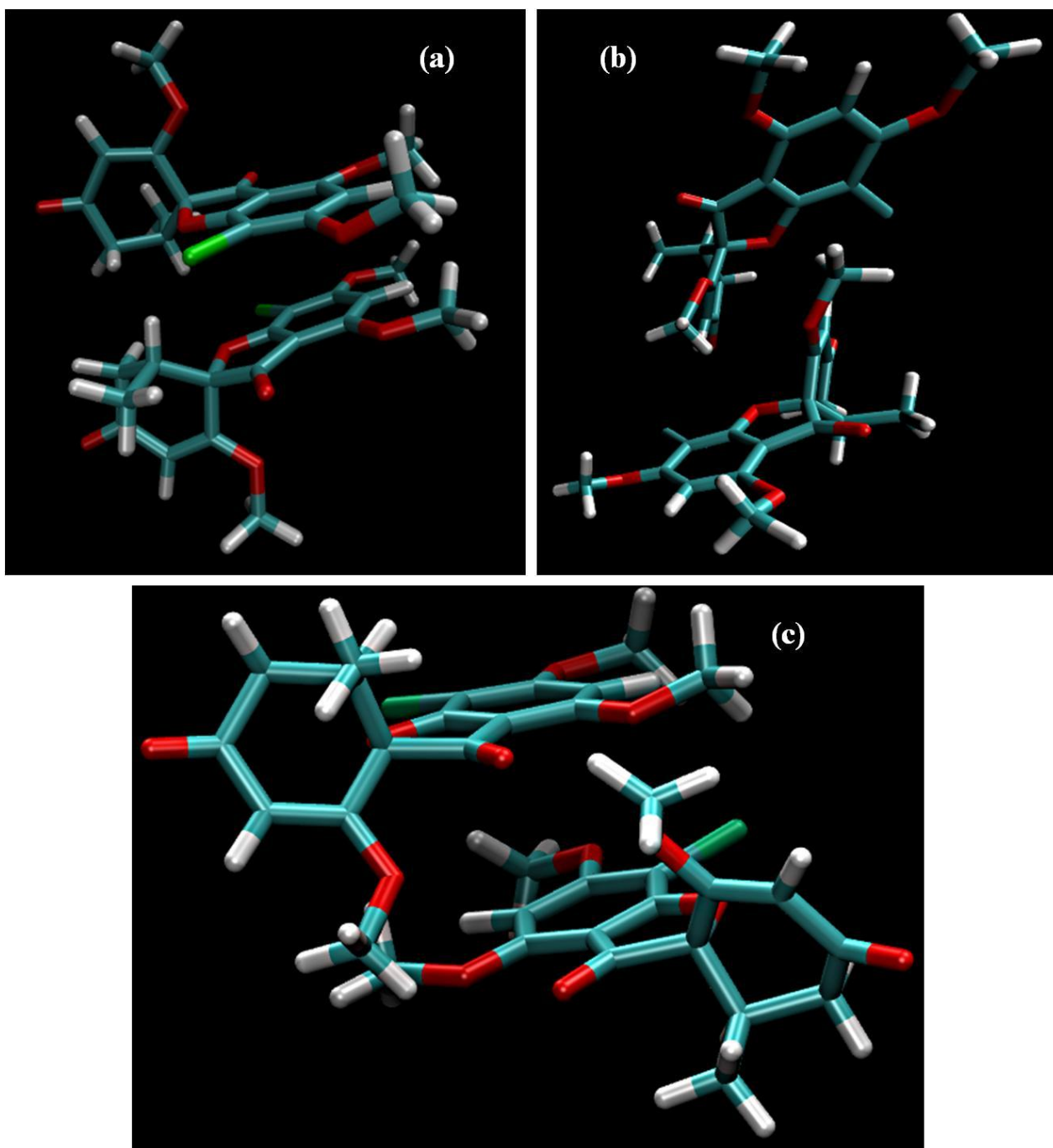


Figure 5.18 Exemples de configuration d'appariement de deux molécules de Griséofulvine avec (a) l'appariement stable avec plans π parallèles au sein de la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine, (b) l'appariement instable avec plans π' parallèles au sein de la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine et (c) l'appariement stable avec plans π parallèles au sein de la boîte contenant 10 molécules de Griséofulvine.

A l'aide de la distribution de probabilité de l'angle $\cos \gamma$ en fonction de la distance r entre les

centres de masses des molécules (figure 5.19), nous pouvons constater que la configuration préférentielle avec des premiers voisins séparés d'environ 4.6 à 4.8 Å possède deux états possibles avec des occurrences de plans π parallèles, observées dans les boîtes contenant 8, 10 et 20 molécules de Griséofulvine, et antiparallèles observés dans les boîtes contenant 15 et 20 molécules de Griséofulvine. Dans la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine, la configuration antiparallèle se fait avec une rotation entre les plans de $\cos \alpha=0.5$ et $\cos \beta$ compris entre 0 et -0.5 (voir figure 5.20) et, l'autre configuration antiparallèle mais avec $\cos \alpha=-1$ correspond à la configuration où les plans π et π' sont parallèles aux alentours de 4 Å (voir figure 5.20). De la même manière, la boîte contenant 10 molécules dont les agrégats contenant deux molécules ne présente que la configuration antiparallèle des plans π présente une rotation entre les deux plans avec des angles $\cos \alpha=0$ et $\cos \beta=0.5$. Dans les deux cas, les oscillations de ces paramètres autour de leurs valeurs d'équilibre sont dues aux mouvements de faible amplitude de chaque molécule. Dans la boîte à 15 molécules de Griséofulvine, la configuration dans laquelle les plans π sont parallèles (aux alentours de 4 Å de distance entre les centres de masse des deux molécules) présente elle aussi une rotation entre les deux molécules avec $\cos \alpha=0.5$ et $\cos \beta=0.5$ tandis que la configuration antiparallèle (aux alentours de 4.8 Å de distance entre les centres de masse des deux molécules) ne montre pas de rotation avec des vecteurs \vec{a} parallèles et \vec{b} antiparallèle. La boîte à 20 molécules présente deux arrangements particuliers, un arrangement dans lequel les deux molécules ont leur centre de masse séparés d'environ 4.8 Å avec des plans π parallèles et tournés l'un par rapport à l'autre pour avoir $\cos \alpha=0.5$ et $\cos \beta=0.5$. Le second arrangement apparaît lorsque les centres de masses de molécules sont séparés d'environ 4 Å et présentent un parallélisme entre les plans π et π' (voir figure 5.21) avec les cycles benzénique du plan π' opposés car les vecteurs \vec{a} sont antiparallèles (voir figure 5.20). On retrouve cette configuration à la même distance dans la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine. Il doit être noté que parmi toutes ces configurations, celle présentant des plans π antiparallèle avec une rotation entre ces deux plans d'angles $\cos \alpha=0$ et $\cos \beta=0.5$ n'est échantillonnée que par la boîte contenant 10 molécules de Griséofulvine. De plus, cette

dernière boîte n'échantillonne que cette configuration, ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle le passage de cette configuration vers celles qui sont observées dans les autres boîtes est limité par le franchissement d'une barrière énergétique. Cette configuration est représentée dans la figure 5.18c. Sa différence avec les autres configurations présentant elles aussi des plans π coplanaires se trouve dans l'orientation entre les plans des deux molécules, avec une rotation entre ces plans de 90° dans un cas et -90° dans l'autre (voir figure 5.19). On peut supposer que la différence de distance entre les centres de masses pour ces configurations (voir figure 5.17) et l'existence d'une forte barrière énergétique à franchir pour passer d'une configuration à l'autre trouvent leurs origines dans la disposition des groupes C-O-CH₃ de chacune des deux molécules, empêchant ainsi les deux molécules d'effectuer une rotation complète l'une par rapport à l'autre sans renoncer à leur appariement.

A l'aide de la figure 5.19a, nous observons la configuration favorable à l'appariement de deux molécules mais qui est instable au sein de la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine (avec une distance entre les centres de masse d'environ 6,6 Å). Cette configuration correspond à une situation dans laquelle les plans π des deux molécules sont quasiment perpendiculaires, mais dont les plans π' sont coplanaires (voir figure 5.21a). L'appariement entre les deux molécules se fait alors par juxtaposition de leur plans π' (voir figure 5.18b).

Nous pouvons donc résumer l'étude sur l'appariement de deux molécules de Griséofulvine de la manière suivante : il existe une configuration stable préférentielle, non unique, des positions relatives entre les deux molécules localisées entre 4.6 à 4.8 Å. Quelle que soit la distance entre les centres de masse, y compris pour la configuration stable préférentielle, l'orientation implique généralement le parallélisme ou l'antiparallélisme des plans π ou plus rarement un parallélisme entre les plans π et π' , avec des rotations entre les deux plans, limitées, pour les cosinus des angles α et β , aux valeurs -1, -0.5, 0.5 et 1. L'existence et la définition de la structure de ces configurations préférentielles à l'appariement finit de prouver que l'agrégation est limitée par leur existence.

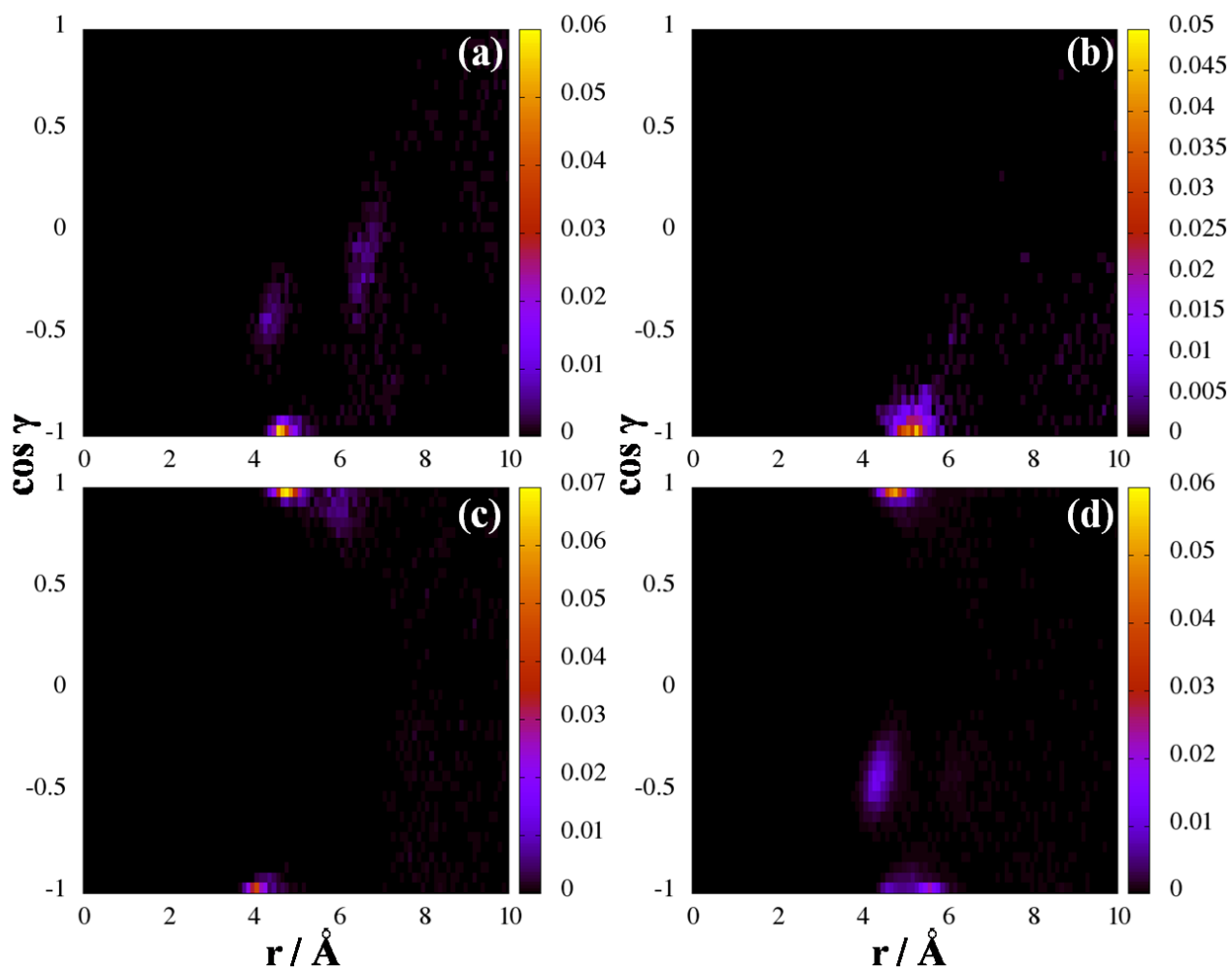


Figure 5.19 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle γ que forment les plans π de deux molécules appartenant à un même agrégat de deux molécules en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement 8(a), 10 (b), 15 (c) et 20 molécules de Griséofulvine (d).

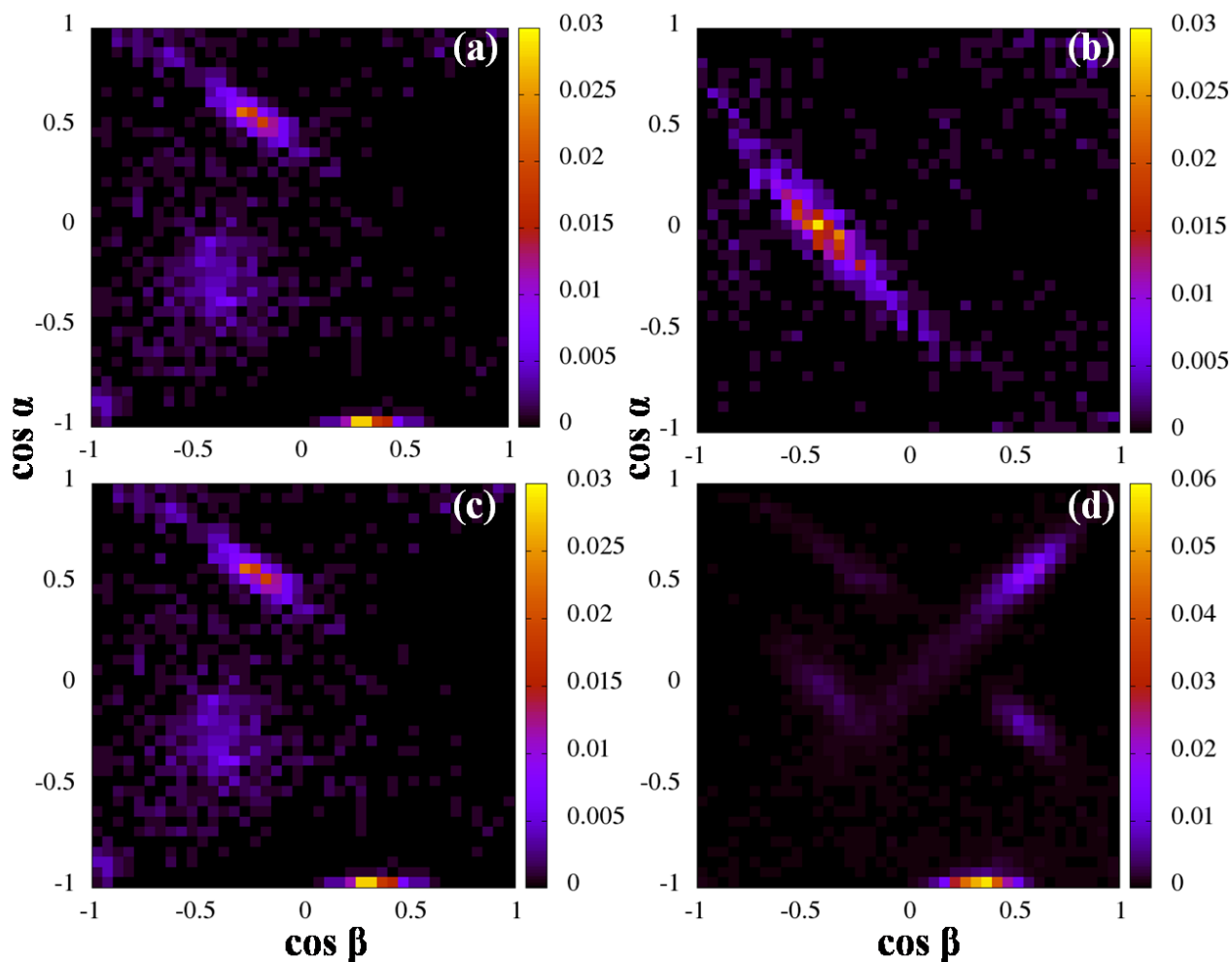


Figure 5.20 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle α en fonction du cosinus de l'angle β formés par les plans π de deux molécules appartenant à un même agrégat de deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement 8(a), 10 (b), 15 (c) et 20 molécules de Griséofulvine (d).

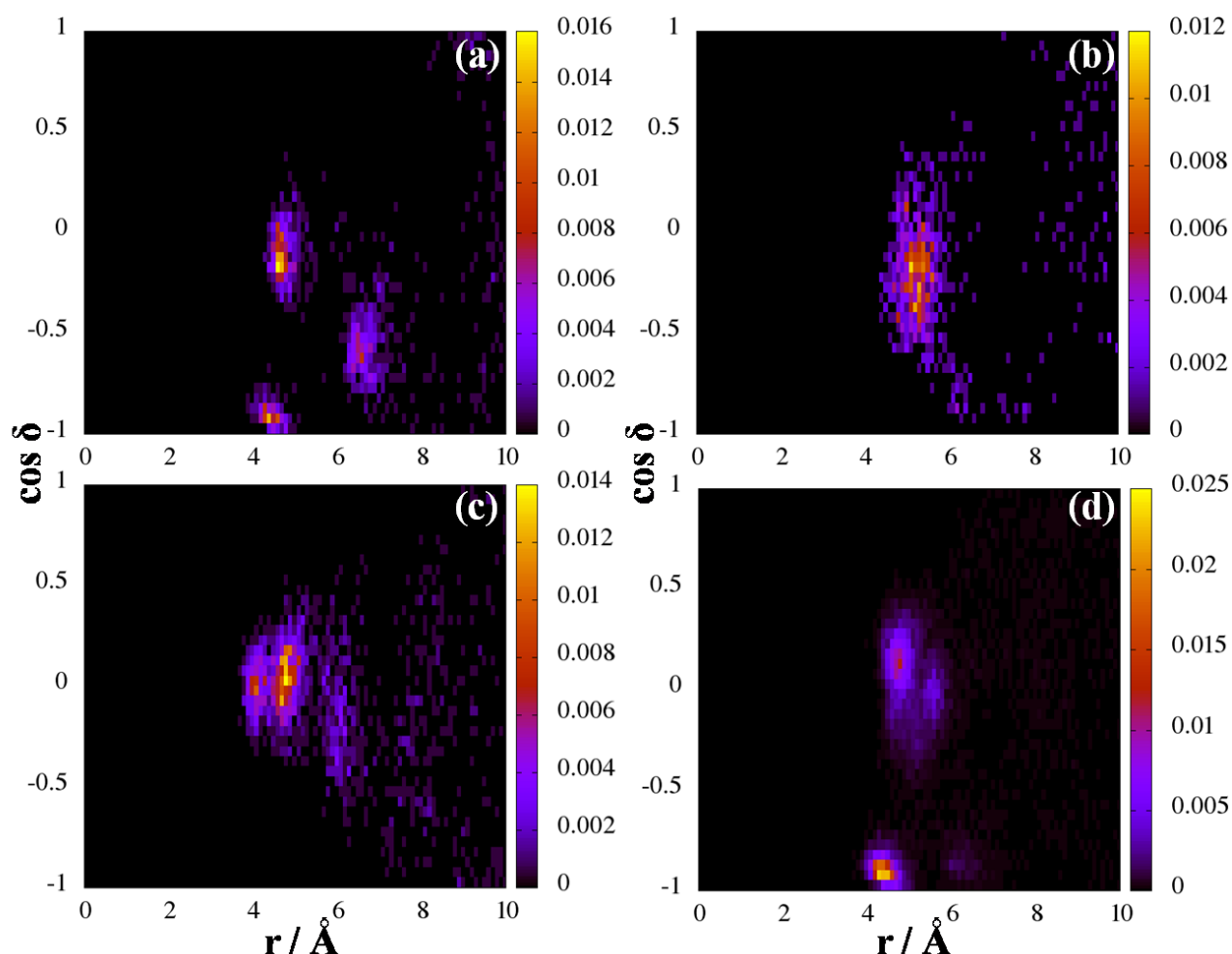


Figure 5.21 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle δ que forment les plans π et π' de deux molécules appartenant à un même agrégat de deux molécules en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement 8(a), 10 (b), 15 (c) et 20 molécules de Griséofulvine (d).

5.3.6.3 Agrégats de trois molécules

Pour l'étude de ce type d'agrégat, les données concernant la boîte contenant 15 molécules de Griséofulvine ne seront pas présentées car trop peu d'agrégats de 3 molécules ont été échantillonnés au cours de cette simulation (voir figure 5.2). La configuration préférentielle observée entre deux proches voisins est identique à celle décrite pour des agrégats de deux molécules avec une distance entre centres de masses comprise entre 4.6 à 4.9 Å (voir figure 5.22), un parallélisme ou antiparallélisme des plans π (voir figure 5.23) de chaque molécules avec des rotations entre les deux

plans limitées pour les cosinus des angles α et β aux doublets de valeurs -1 et 1, ou -0.5, 0.5 et 0 (voir figure 5.23). Dans ces boîtes de simulations, la position du pic de deuxièmes voisins dans ces boîtes sont d'environ 8.8 Å soit environ deux fois la distance entre premiers voisins. Nous pouvons ainsi supposer que l'agrégation se fait de manière linéaire avec empilement successifs des molécules le long de la normale à leur plan π . Ce résultat est confirmé par la faible probabilité d'observer plusieurs pics de premier voisins ainsi que par le parallélisme et l'antiparallélisme des plans π (voir figure 5.23) des boîtes contenant respectivement 10 et 20 molécules de Griséofulvine aux alentours de 9 Å.

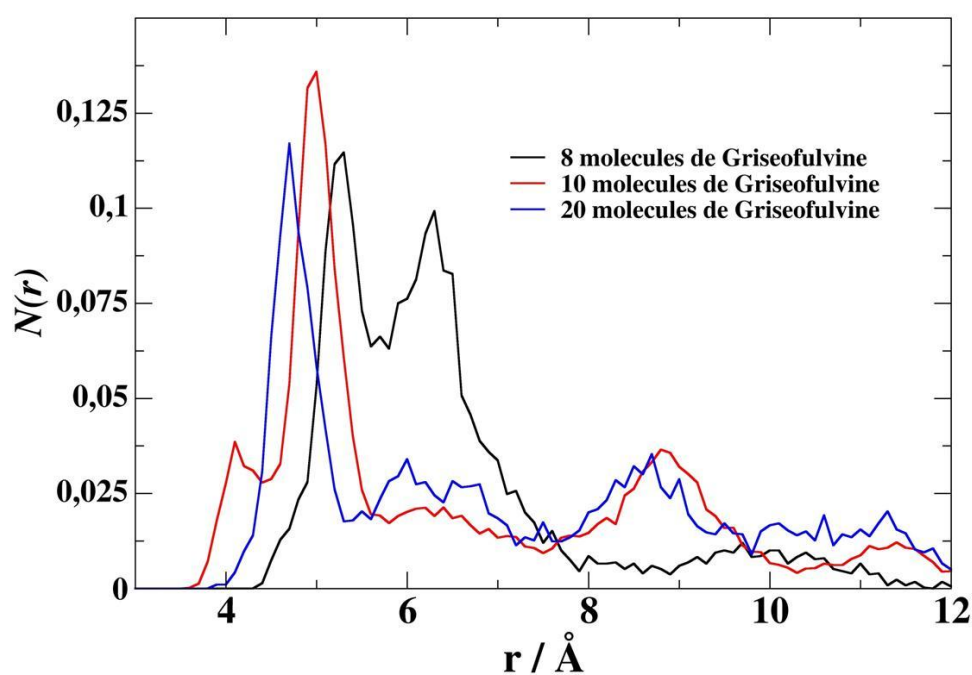


Figure 5.22 Représentation de la probabilité $N(r)$ dans le cas d'agrégats de trois molécules au sein des différentes boîtes de simulation.

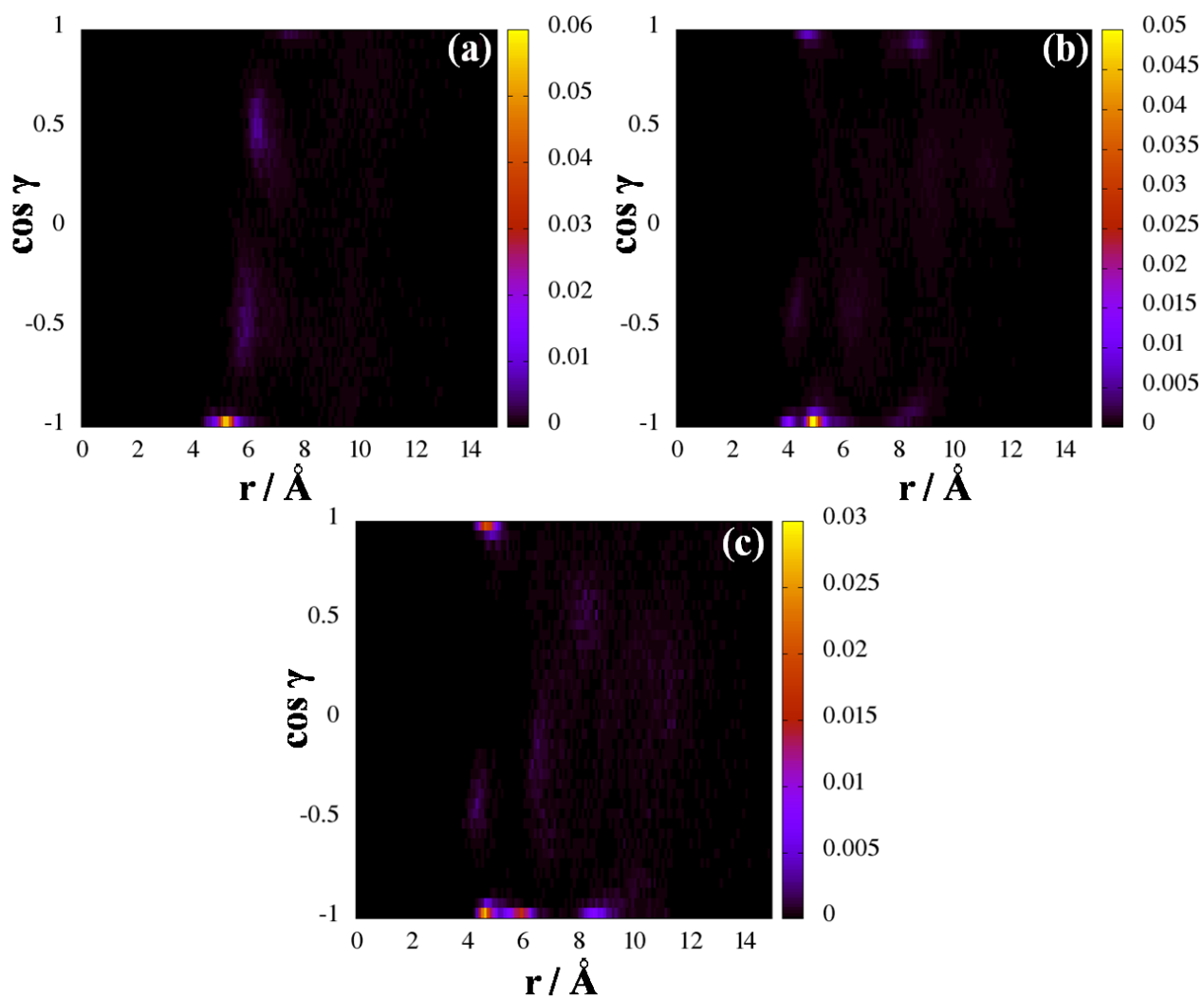


Figure 5.23 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle γ que forment les plans π de deux molécules appartenant à un même agrégat de trois molécules en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement 8(a), 10 (b) et 20 molécules de Griséofulvine (c).

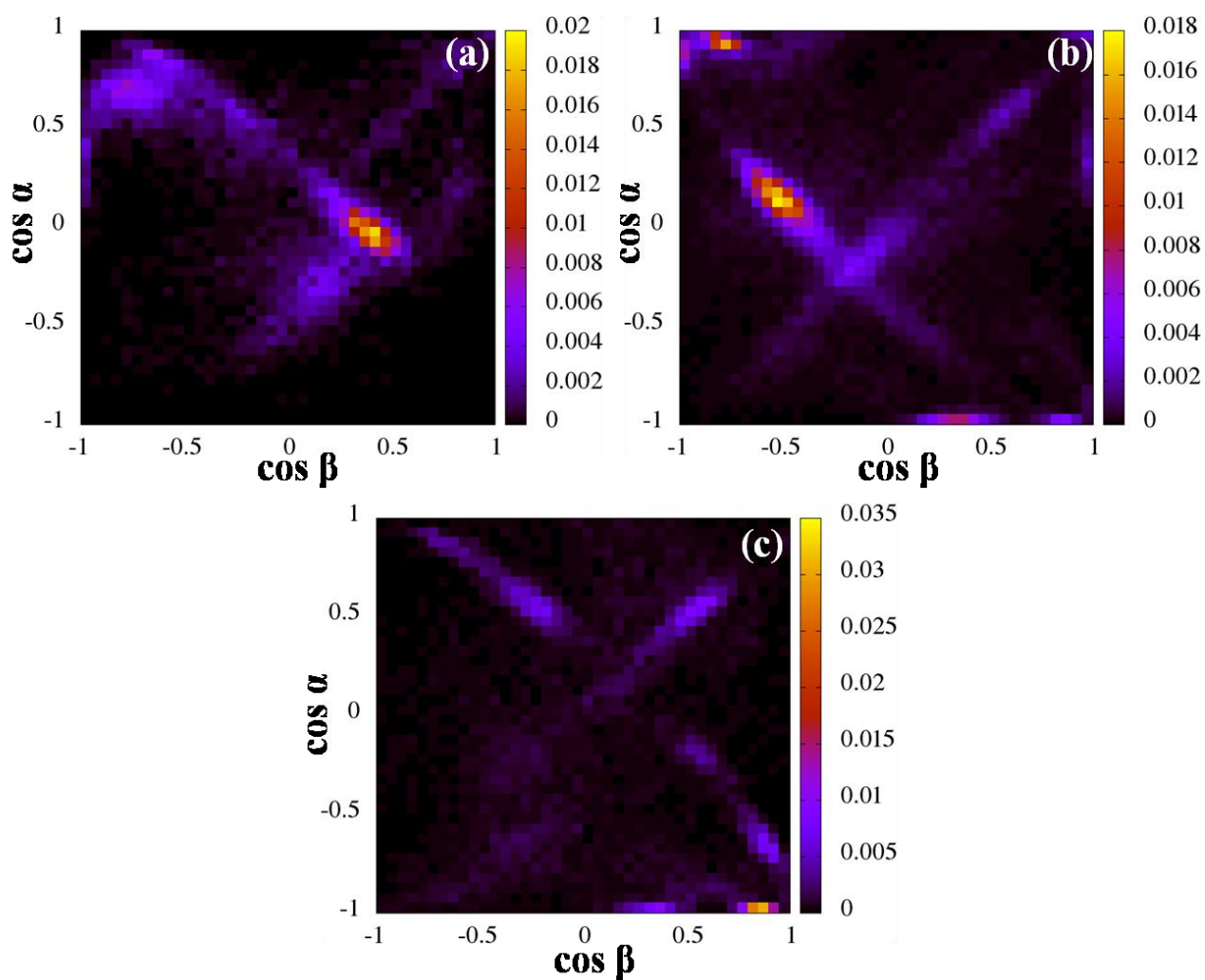


Figure 5.24 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle α en fonction du cosinus de l'angle β formés par les plans π de deux molécules appartenant à un même agrégat de trois molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement 8(a), 10 (b) et 20 molécules de Griséofulvine (c).

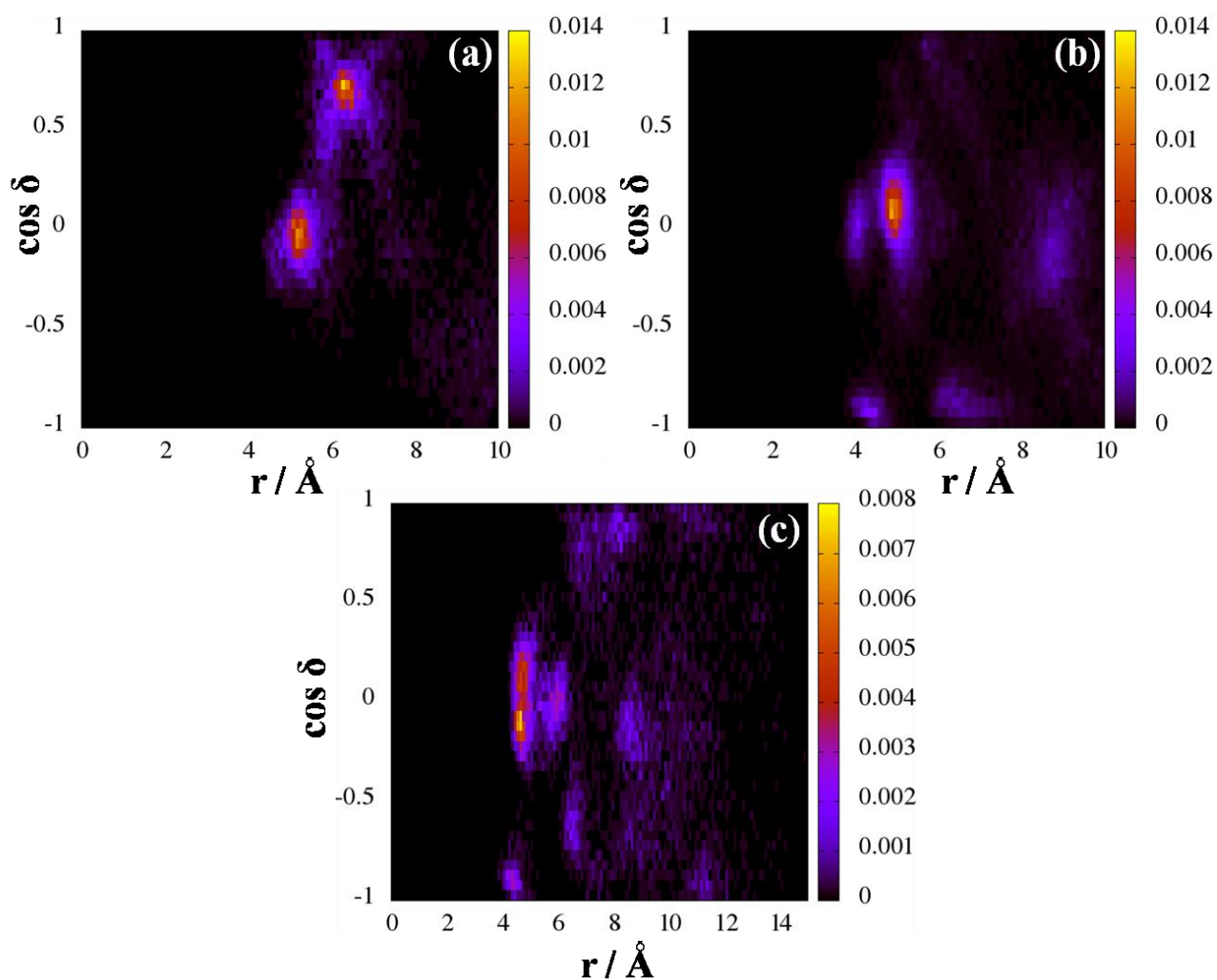


Figure 5.25 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle δ que forment les plans π et π' de deux molécules appartenant à un même agrégat de trois molécules en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement 8(a), 10 (b) et 20 molécules de Griséofulvine (c).

La simulation portant sur la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine montre cependant que l'empilement linéaire des molécules n'est pas la seule configuration possible d'agrégat à 3 molécules (voir figure 5.26). La probabilité $N(r)$ de cette boîte présente une distribution bimodale nettement marquée dont les intensités sont proches de celles observées avec les pics de premiers voisins des boîtes de 10 et 20 molécules de Griséofulvine (voir figure 5.22). Le premier pic à 5.2 Å de cette distribution bimodale correspond à un antiparallélisme de plans π (voir figure 5.23 (a)) qui sont, de plus, tournés l'un par rapport à l'autre de 90° (voir figure 5.24 (a)), pour deux des trois

molécules de Griséofulvine. Cet appariement entre deux molécules a déjà été observé dans le cadre d'agrégats de deux molécules. Le deuxième pic à 6.3 Å correspond à l'interaction entre les deux molécules précédentes (que l'on notera indistinctement i et j pour plus de clarté) et la troisième molécule (que l'on notera k) dans une configuration dans laquelle la troisième molécule n'est plus empilée de manière linéaire avec les deux autres mais tournée de façon à s'approcher d'un parallélisme entre le plan π_k de la troisième molécule et les plans π_x ' (avec $x=i,j$) des deux autres molécules (voir figure 5.25 (a)). On peut cependant remarquer, à l'aide de la figure 5.23 (a), que les distances respectives entre cette troisième molécule et les deux molécules empilées de manière coplanaire sont extrêmement proches mais ne sont pas rigoureusement identiques, avec une proximité plus importante entre k et i (avec un angle γ_{ki} entre π_k et π_i tel que $\cos \gamma_{ki}=-0.5$) qu'entre les molécules k et j (avec un angle γ_{kj} , de signe opposé à γ_{ki} du fait de l'antiparallélisme entre j et i , entre π_k et π_j tel que $\cos \gamma_{kj}=0.5$). On doit noter que cette disposition modifie légèrement l'appariement entre les deux molécules i et j par rapport aux configurations décrites pour les agrégats de deux molécules avec un accroissement de la distance moyenne entre les centres de masse de ces deux molécules. De plus, cette configuration n'a pu être mise en évidence que dans le cas d'un agrégat au sein d'une boîte de simulation, et on peut émettre l'hypothèse qu'elle est moins stable qu'un empilement linéaire des trois molécules tel qu'observé dans les boîtes de 10 et 20 molécules de Griséofulvine, ou que les conditions nécessaires à un tel appariement sont moins favorables. Le fait que cette configuration reste inchangée durant 2.5 ns (voir figure 5.4) suggère que les conditions requises à un tel appariement sont moins probables que celles nécessaires à l'obtention d'un empilement linéaire.

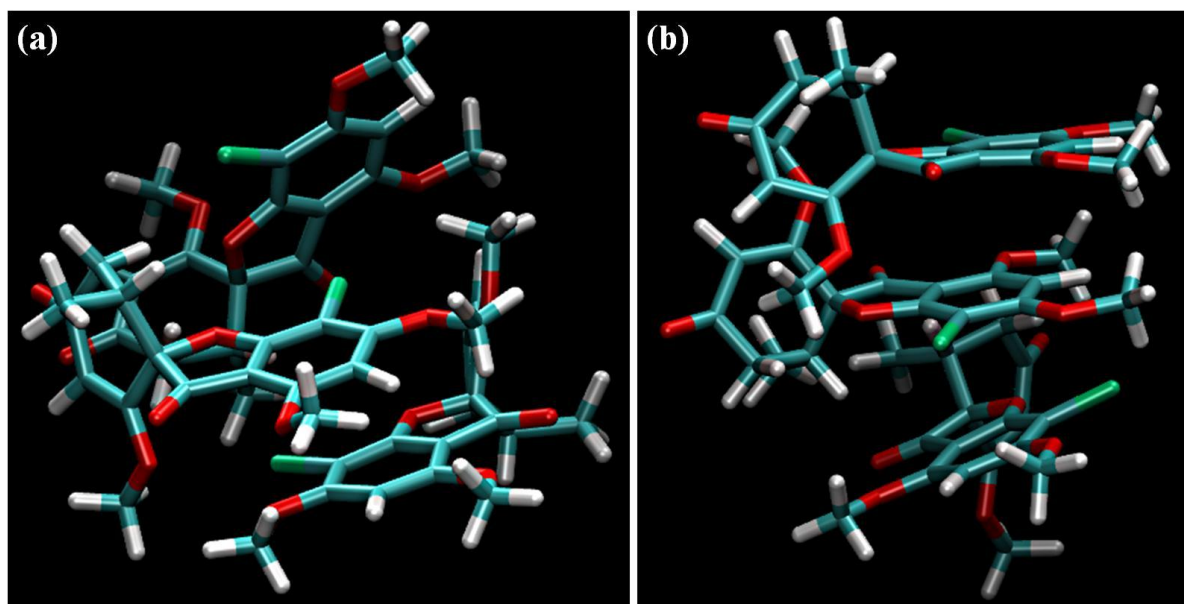


Figure 5.26 Exemples de configurations d'appariement de trois molécules de Griséofulvine au sein de (a) la boîte contenant 8 molécules de Griséofulvine et (b) la boîte contenant 10 molécules de Griséofulvine.

5.3.6.4 Agrégats de cinq molécules et plus

L'étude de la structure d'agrégats contenant plus de trois molécules permet de déterminer l'importance des structures observées dans les agrégats de petite taille sur leurs appariements et la formation d'agrégats de taille plus importante. Pour éviter la redondance dans notre propos et pour plus de clarté, nous appliquons notre analyse structurale à l'ensemble des agrégats contenant 5 et 10 molécules. L'agrégat de taille maximale (10 molécules) présente l'intérêt d'avoir un arrangement structural présentant un grand nombre de configurations. Son étude n'est cependant rendue possible que par sa longue durée de vie (environ 3 ns) dans la boîte de 15 molécules de Griséofulvine (voir figure 5.4). Notre choix concernant l'étude des agrégats contenant 5 molécules a été motivé par son échantillonnage important au sein de nos boîtes de simulations (voir figure 5.2). A l'instar de l'agrégat composé de 10 molécules, sa présence dans la boîte contenant 15 molécules de Griséofulvine durant 3 ns et les tentatives d'appariement avortées avec l'agrégat de 10 molécules laissent supposer que ces configurations au sein de cette simulation représentent un état stable qui ne sera modifié que par une augmentation de sa taille.

La probabilité $N(r)$ des agrégats de 5 molécules présente les mêmes variations pour les deux boîtes simulées, à savoir 5 pics notables (voir figure 5.27). Il doit être noté que tous les pics sauf la celui située avant 4.5 Å correspond à des configurations dans lesquelles les plans π des deux molécules constituant la paire sont parallèles ou antiparallèles (voir figure 5.28 et 5.29). La configuration située avant 4.5 Å présente un parallélisme entre les plans π et π' (voir figure 5.30) et a déjà été décrite dans le cas des agrégats de deux molécules. Cette configuration est aussi probable que la configuration dans laquelle les plans π sont parallèles avec une intensité similaire dans la probabilité $N(r)$. La configuration présentant un parallélisme entre les plans π et π' de deux molécules à 4.5 Å ne pouvant être associé à un pic, les deux premiers pics aux alentours de 4.7 et 5.5 Å représentent deux positions d'équilibre pour les premiers voisins et correspondent aux distances observées dans les agrégats de deux et trois molécules. En plus de présenter un parallélisme entre plans π , les pics suivants sont espacés les uns des autres d'environ 4 Å ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle ces agrégats sont appariées sous forme d'un empilement linéaire des molécules (voir figure 5.31). Il est cependant peu probable que la formation de ces agrégats surviennent uniquement par appariement de molécules libres et on peut supposer que l'appariement entre deux agrégats intervient ici dans les mêmes conditions que l'agrégation de deux molécules, la seule limitation étant la perte de mobilité qu'un agrégat aura avec l'augmentation de son nombre de molécules. Cette limitation a largement été documentée dans le cas de l'agrégation colloïdale limitée par diffusion (DLCA)^{415, 416, 417}.

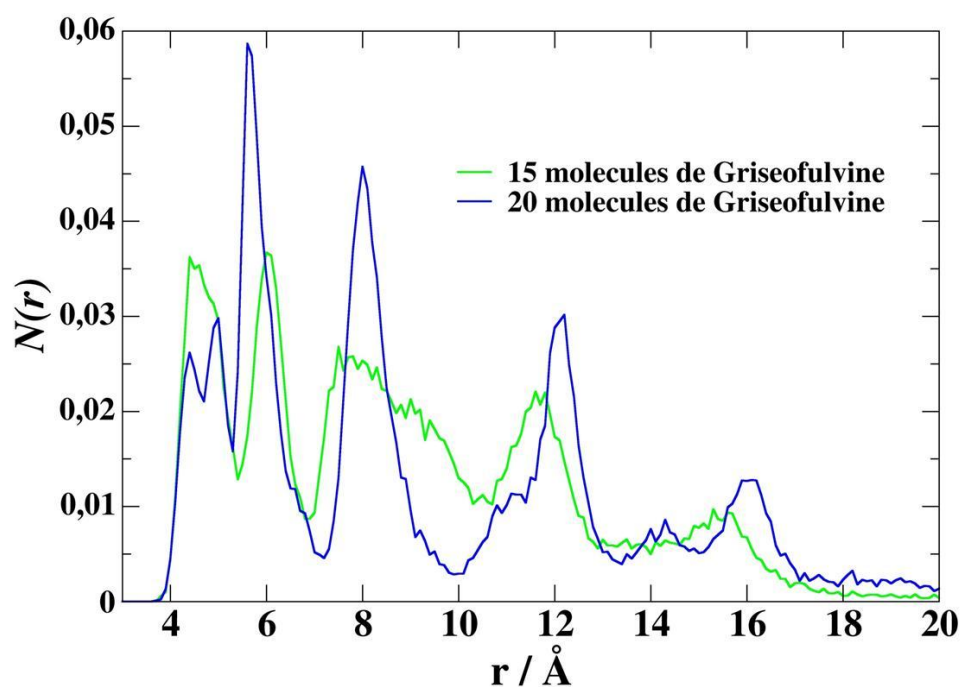


Figure 5.27 Représentation de la probabilité $N(r)$ dans le cas d'agrégats de cinq molécules au sein des différentes boîtes de simulation.

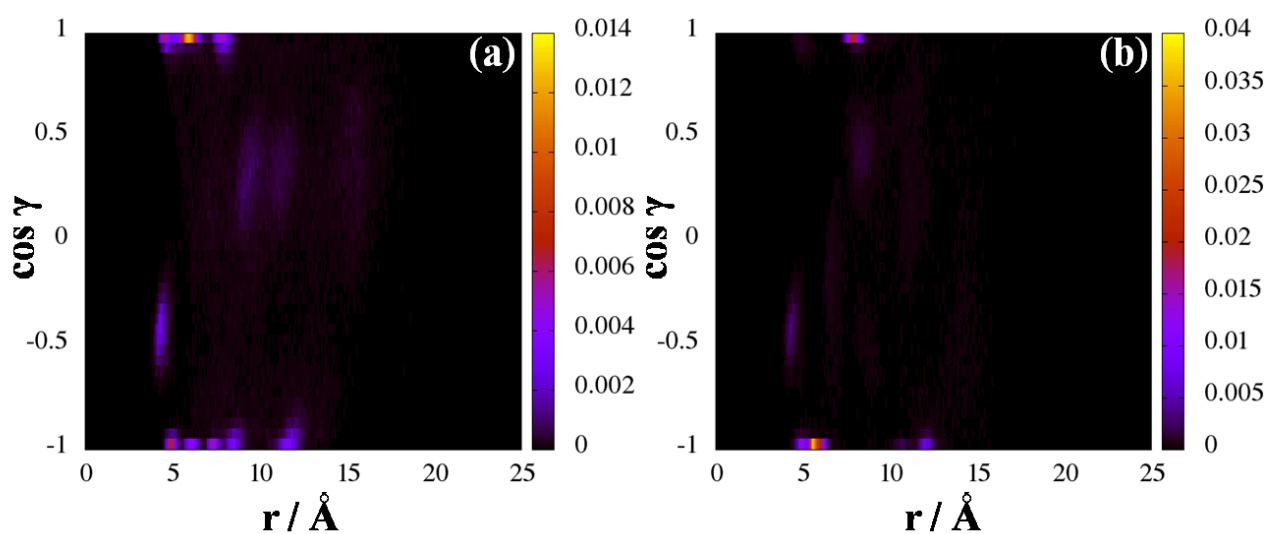


Figure 5.28 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle γ que forment les plans π de deux molécules appartenant à un même agrégat de cinq molécules en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement (a) 15 molécules de Griséofulvine et (b) 20 molécules de Griséofulvine.

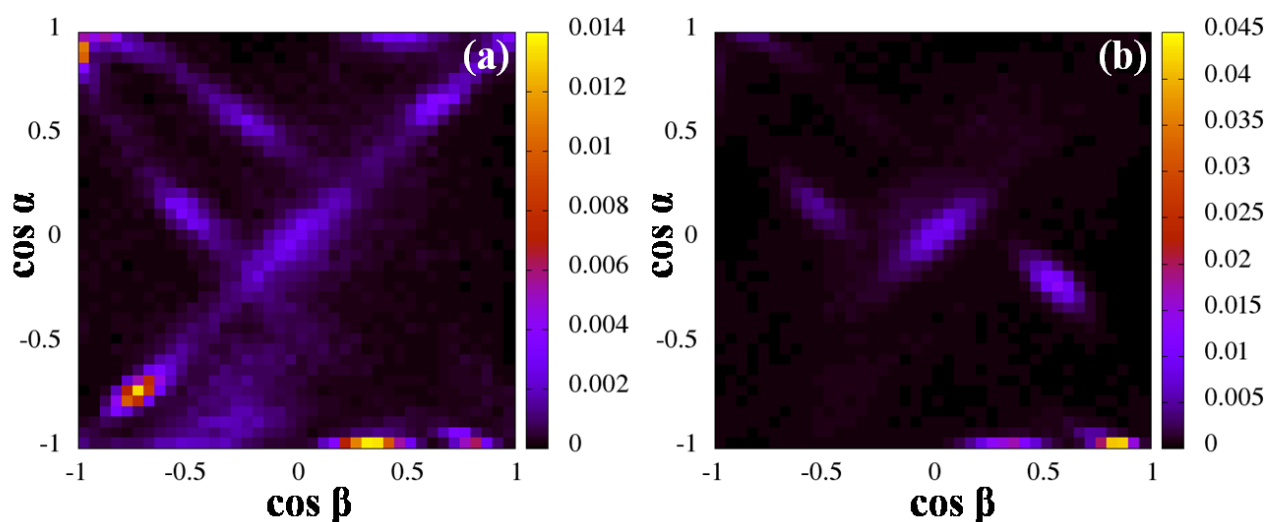


Figure 5.29 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle α en fonction du cosinus de l'angle β formés par les plans π de deux molécules appartenant à un même agrégat de 5 molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement (a) 15 molécules de Griséofulvine et (b) 20 molécules de Griséofulvine.

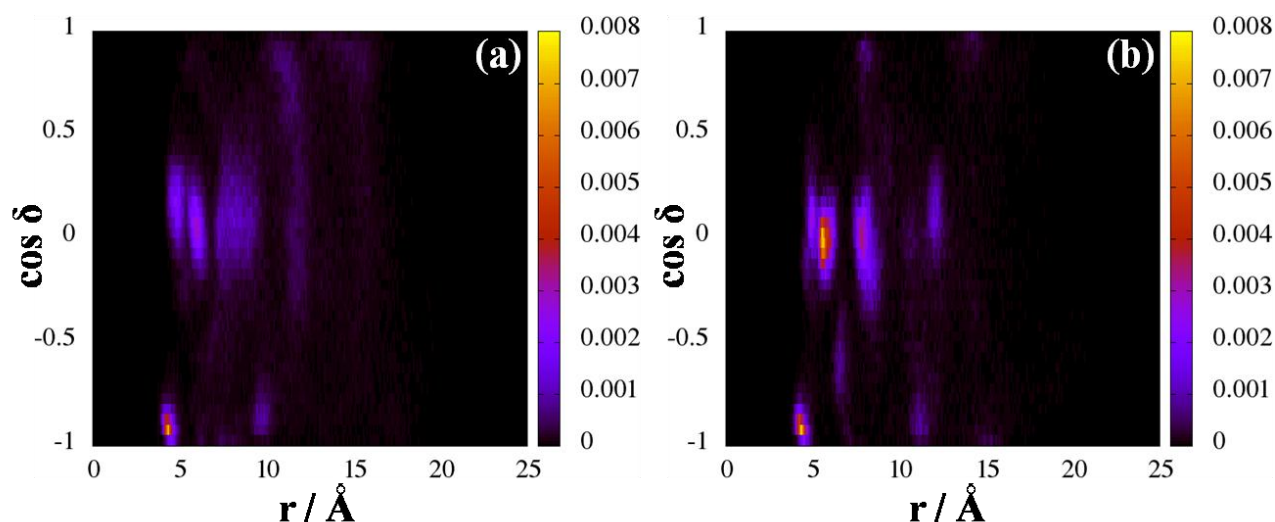


Figure 5.30 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle δ que forment les plans π et π' de deux molécules appartenant à un même agrégat de cinq molécules en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules. Chaque sous figure correspond à une boîte de simulation contenant respectivement (a) 15 molécules de Griséofulvine et (b) 20 molécules de Griséofulvine.

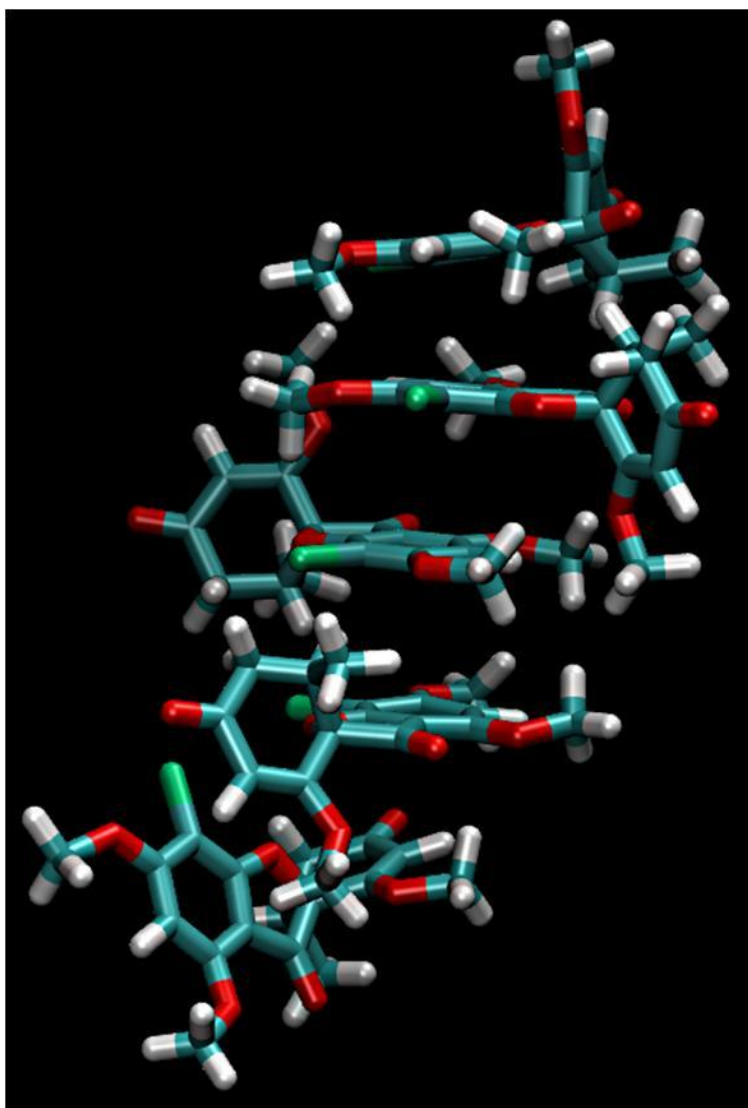


Figure 5.31 Exemple de configuration d'appariement de cinq molécules de Griséofulvine au sein de la boîte contenant dix molécules de Griséofulvine.

Il apparaît clairement sur la figure 5.32 que l'agrégat de 10 molécules s'écarte d'une configuration dans laquelle toutes les molécules sont appariées de manière linéaire. On peut cependant distinguer que cet agrégat est constitué de trois blocs au sein desquels les molécules s'empilent linéairement. Les pics à 4.8 et 5.8 Å de la probabilité $N(r)$ (voir figure 5.33) ont été décrits précédemment comme correspondant à des arrangements dans lesquels les plans π sont parallèles et correspondent aux appariements linéaires entre proches voisins. Ces distributions de probabilité ainsi que le parallélisme et l'antiparallélisme des plans π jusqu'à des distances supérieures à 15 Å (voir figure 5.34) montrent la prédominance du caractère linéaire de cette

agrégation avec un empilement des molécules. Le pic dans la probabilité $N(r)$ en dessous de 4.5 Å a également déjà été décrit précédemment comme un parallélisme entre plans π et π' .

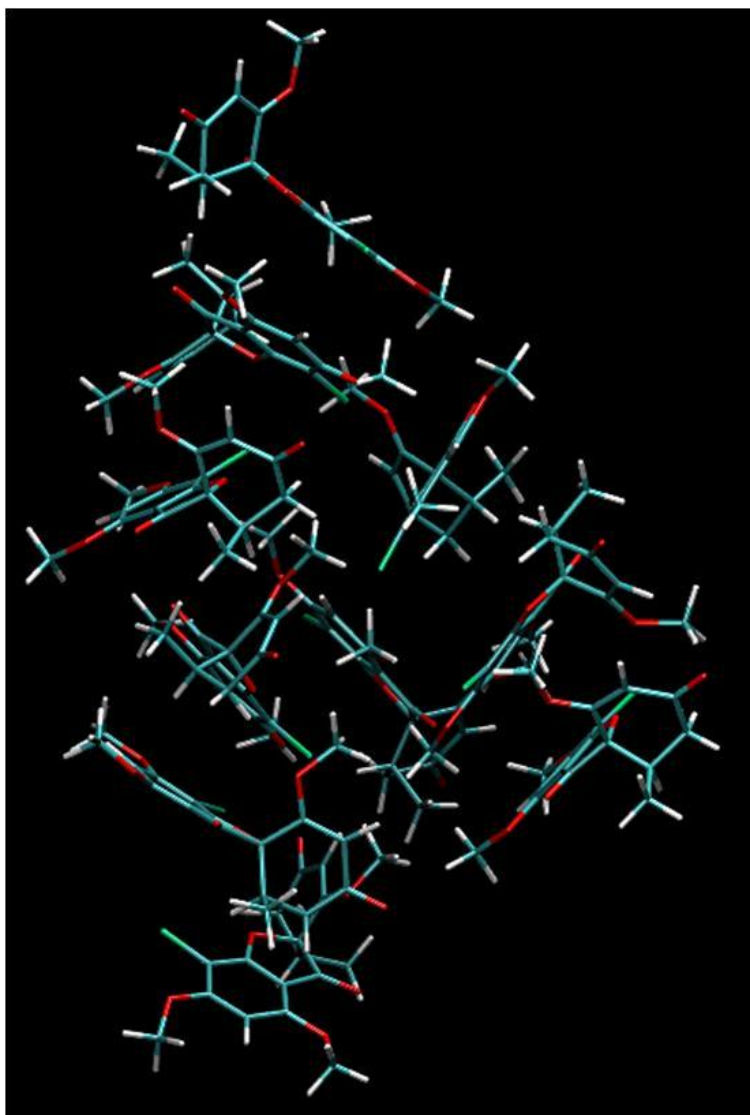


Figure 5.32 Exemple de configuration d'appariement de dix molécules de Griséofulvine au sein de la boîte contenant quinze molécules de Griséofulvine.

Nous pouvons remarquer que les pics de premiers voisins de la distribution de probabilité $N(r)$ ne sont pas modifiés. De même, les configurations les plus probables correspondent aux distributions de probabilité des angles α et β (voir figure 5.35) ont toutes été décrites dans les cas d'agrégats de taille plus petite. On peut donc en déduire que l'appariement entre agrégats respecte les conditions nécessaires à l'appariement entre molécules observées précédemment, bien que la modification de ces dernières soit possible, principalement par modification, de faible amplitude, des distances entre

centres de masse. Cette configuration, avec une distance entre centres de masse des proches voisins inférieure à 4.5 \AA , permet ici aux différents agrégats de petite taille de se joindre entre eux, ce qui peut être remarqué par la répétition, jusqu'à 15 \AA , des configurations où les plans π et π' sont parallèles (voir figure 5.36) représentant l'apparition de cette configuration jusqu'aux troisièmes et quatrièmes voisins, soit donc les extrémités d'agrégats de trois et quatre molécules. Dans le cas des molécules de Griséofulvine, les conditions d'appariement entre agrégats permettent à l'agrégation de s'affranchir de son caractère linéaire mais en introduisant cependant des défauts dans la structure linéaire.

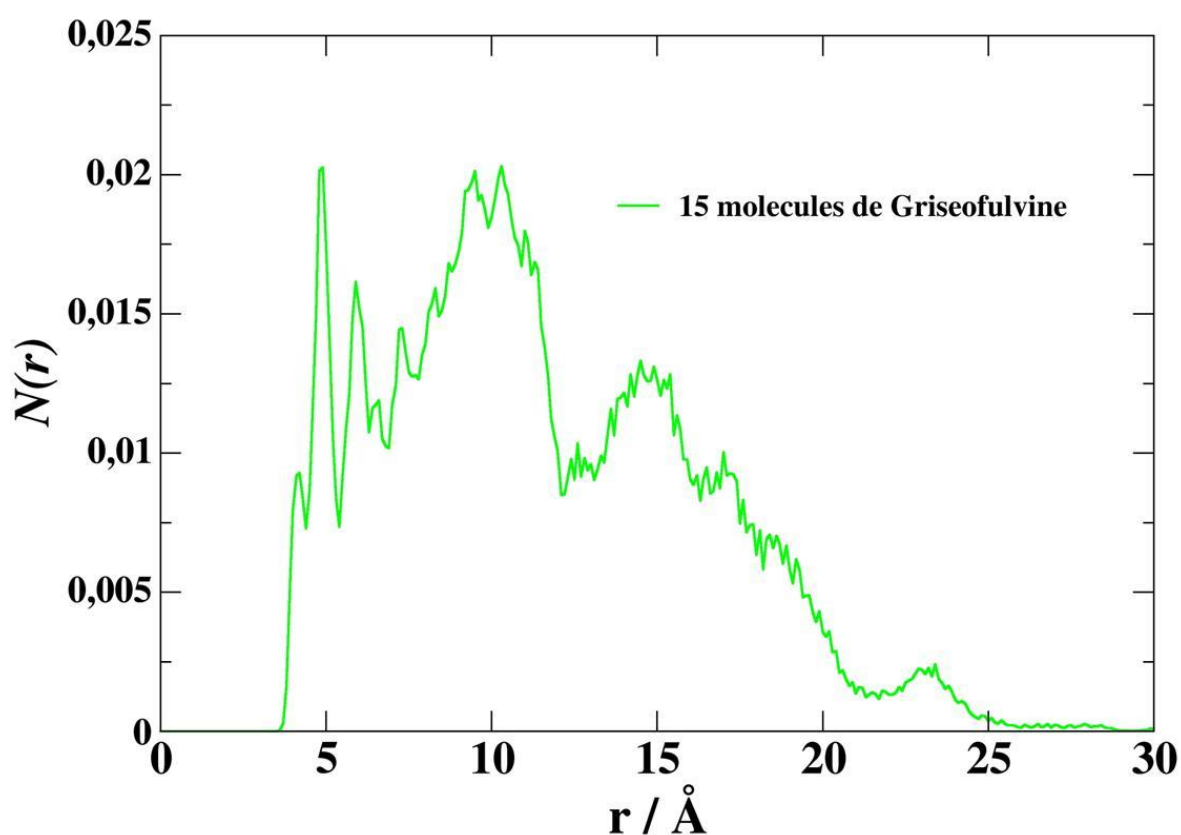


Figure 5.33 Représentation de la probabilité $N(r)$ dans le cas de l'agrégat de dix molécules au sein de la boîte de simulation contenant quinze molécules de Griséofulvine.

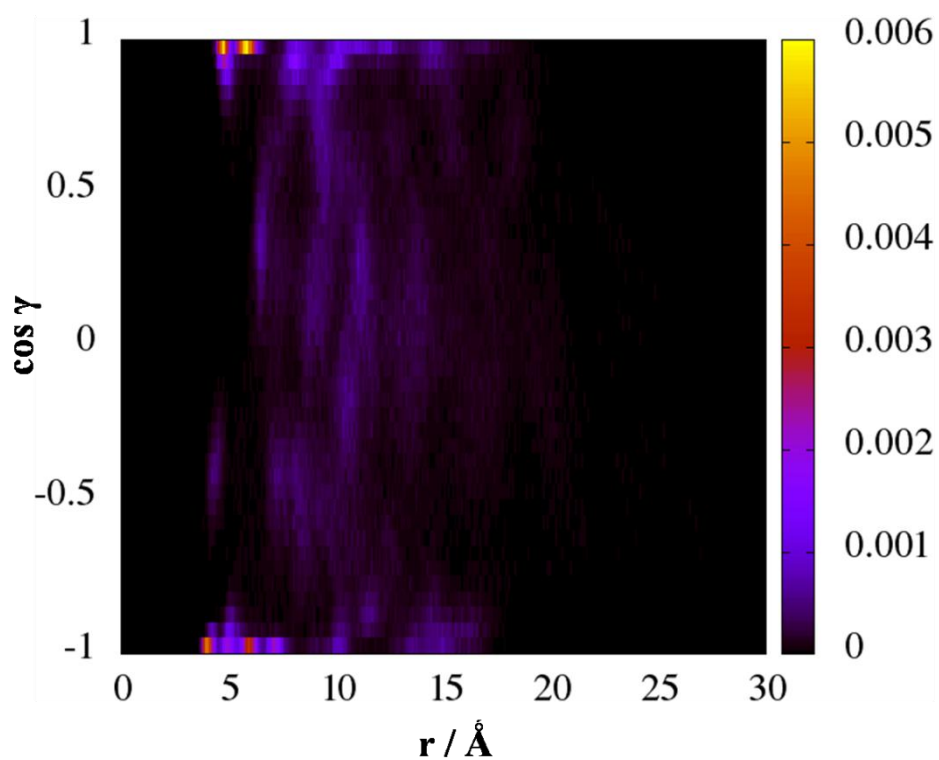


Figure 5.34 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle γ que forment les plans π de deux molécules appartenant à l'agrégat de dix molécules au sein de la boîte de simulation contenant quinze molécules de Griséofovine en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules.

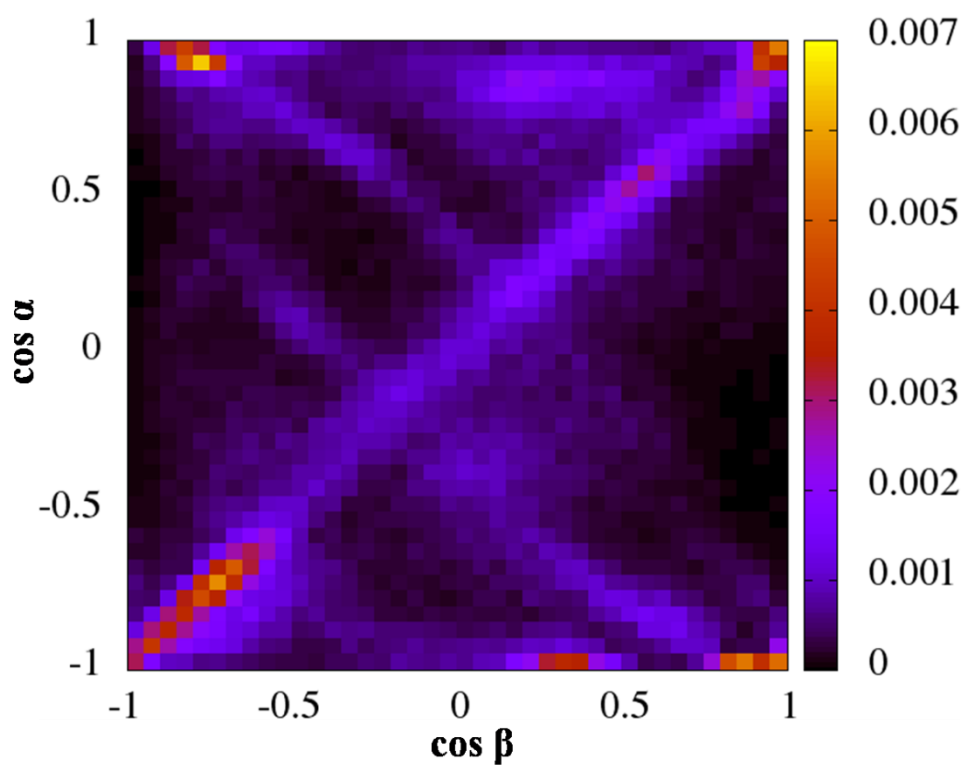


Figure 5.35 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle α en fonction du cosinus de l'angle β formés par les plans π de deux molécules appartenant l'agrégat de dix molécules au sein de la boîte de simulation contenant quinze molécules de Griséofulvine.

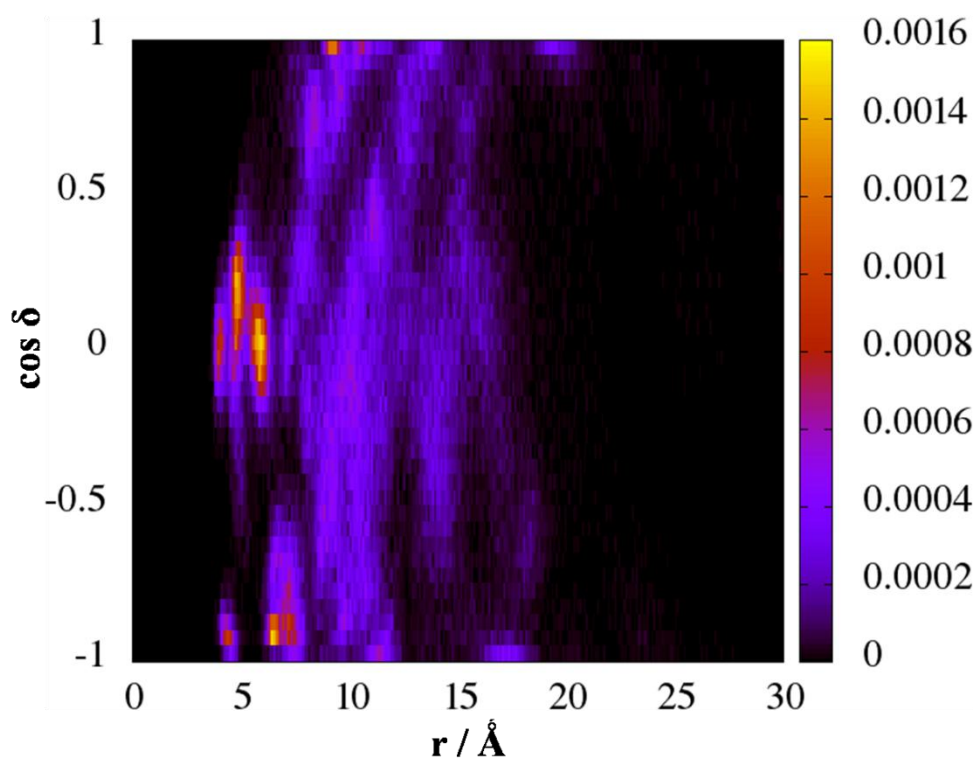


Figure 5.36 Représentation de la distribution de probabilité du cosinus de l'angle δ que forment les plans π et π' de deux molécules appartenant à l'agrégat de dix molécules au sein de la boîte de simulation contenant quinze molécules de Griséofulvine en fonction de la distance r entre les centres de masse des deux molécules.

La comparaison de la structure des agrégats obtenus dans nos simulations ne peut pas être directement effectuée avec les structures cristallines de la Griséofulvine à l'aide de paramètres tel que le spectre de diffraction par rayon X du fait de la petite taille de nos agrégats. Nous pouvons cependant comparer les empilements observés au sein de nos agrégats avec l'empilement de la structure cristalline de la forme stable de la Griséofulvine³³² (voir figure 5.37) ainsi qu'avec la structure de la forme instable⁴²⁷ (voir figure 5.38). Nous pouvons remarquer que chacune des deux structures cristallines présente une seule configuration, laquelle permet de mettre les plans π parallèles entre eux. Cette configuration est particulièrement bien visible dans les figures 5.37 b et c et dans la figure 5.38 et impose aux deux molécules d'être strictement parallèles entre elles. Au sein de nos agrégats, comme nous l'avons indiqué précédemment, les configurations représentant les plans π de deux molécules parallèles ne se font pas avec deux molécules strictement parallèles entre

elles mais avec une molécule subissant une rotation de 90° par rapport à la deuxième molécule (voir figures 5.18, 5.26 et 5.31). De plus, il apparaît clairement dans les figures 5.37 b et c et 5.38 a et b qu'au sein des deux structures cristallines les configurations représentant les plans π de deux molécules parallèles subissent également une translation suivant au moins un des vecteur de base de la maille cristalline. De tels plans de glissement n'ont pas pu être mis en évidence au sein de la structure de nos agrégats. Il est évident que ces deux facteurs permettent aux molécules de nos agrégats de s'apparier de manière plus compacte que dans le cas des structures cristallines dans au moins une direction de l'espace (celle de l'empilement) mais limitent néanmoins son expansion dans les autres directions.

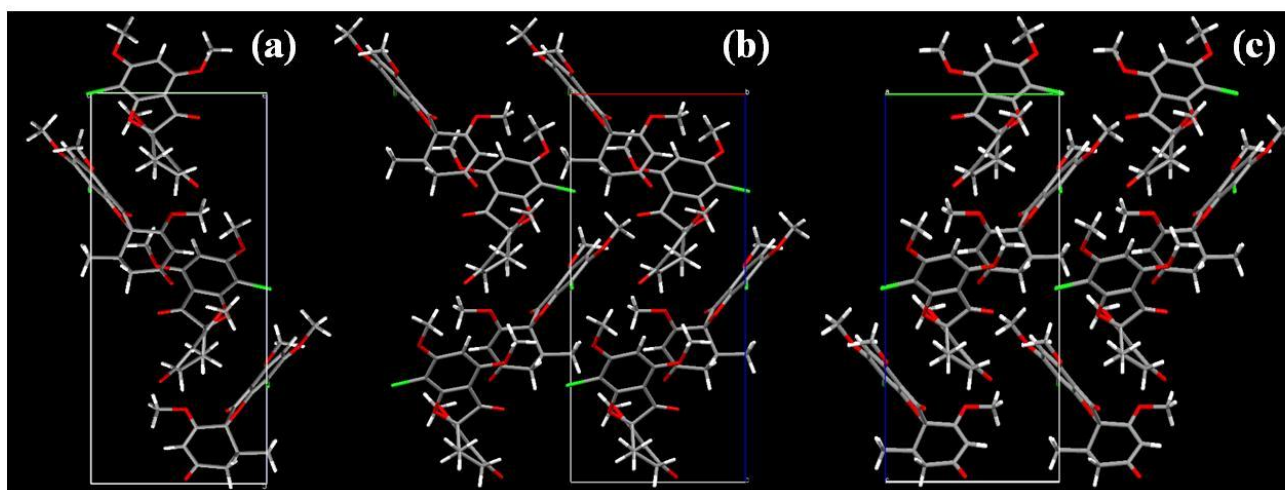


Figure 5.37 Organisation des molécules dans le cristal de Griséofulvine d'après la référence³³² avec l'empilement des molécules suivant le vecteur de base \vec{c} au sein de la maille élémentaire (figure a), l'empilement des molécules suivant le vecteur de base \vec{a} (figure b) et suivant le vecteur de base \vec{b} (figure c).

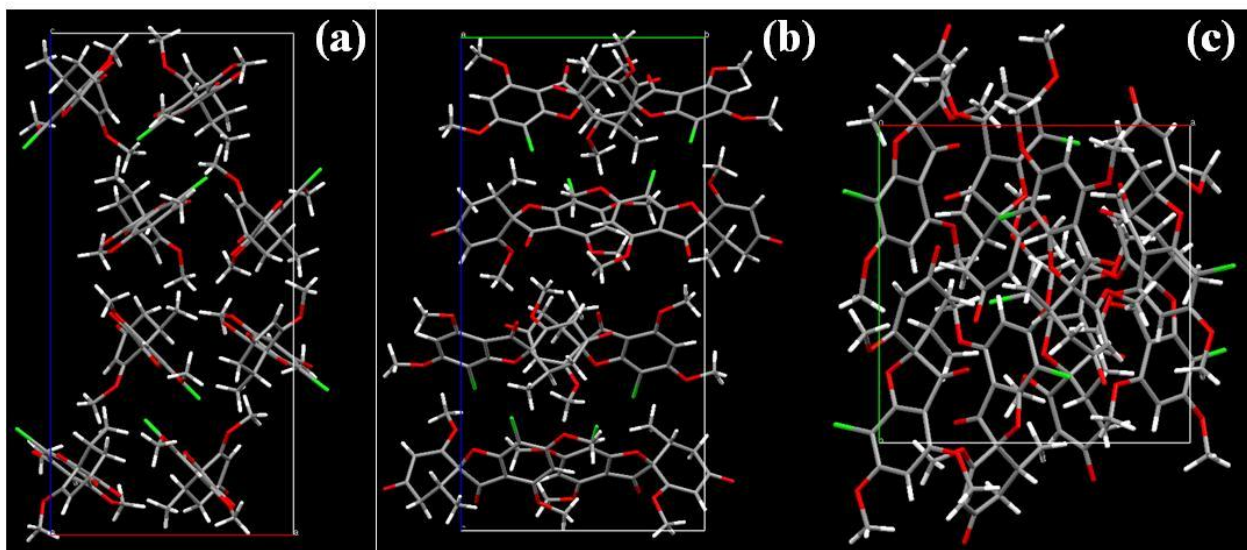


Figure 5.38 Organisation des molécules dans le cristal de Griséofulvine d'après la référence⁴²⁷ avec l'empilement des molécules dans le plan défini par les vecteurs de base \vec{a} et \vec{c} au sein de la maille élémentaire (figure a), dans le plan défini par les vecteurs de base \vec{b} et \vec{c} (figure b) et dans le plan défini par les vecteurs de base \vec{a} et \vec{b} (figure c).

5.4 Conclusion

Ce chapitre a mené l'étude comparative de l'évolution de la structure et de la topologie des agrégats en fonction de l'évolution de la cinétique d'agrégation dans le cas d'un principe actif fortement hydrophobe, la Griséofulvine, dont les molécules n'ont pas d'affinité particulièrement forte entre elles.

En utilisant des simulations de dynamique moléculaire, nous avons montré que la Griséofulvine en solution aqueuse s'agrège spontanément selon des configurations préférentielles. Ces dernières configurations limitent ainsi la cinétique d'agrégation, non seulement par les dynamiques translationnelles des molécules et agrégats, influant sur leur probabilité d'entrer en contact (ce qui a été décrit comme un régime de type DLCA dans le cas de l'agrégation dans des systèmes colloïdaux), mais également par la probabilité que deux molécules ou agrégats entrent en contact selon une configuration favorable et par des mécanismes de réorientation des molécules et agrégats. L'étude de la polydispersité a également montré que, malgré des configurations favorables

à l'appariement ne dépendant que de la structure des molécules, plusieurs chemins d'agrégation sont possibles avec une agrégation rapide lorsque les boîtes de simulation sont constituées de 10 et 15 molécules de Griséofulvine jusqu'à former un agrégat principal contenant quasiment toutes les molécules, tandis que dans la boîte contenant 20 molécules de Griséofulvine se forme une solution polydispersée constituée de plusieurs petits agrégats. Ces chemins ne dépendent pas de la morphologie des agrégats mais peuvent être influencés par 1/ la configuration initiale arbitrairement choisie et 2/ le nombre de molécules de soluté au sein de la simulation. Une étude complémentaire prenant en compte plusieurs configurations initiales pour un même ratio de molécules de soluté par molécule de solvant serait donc nécessaire. La morphologie des agrégats adopte, dans la majeure partie des cas, une géométrie cylindrique et est caractéristique, dans nos simulations avec un très faible nombre de molécules de soluté, d'une agrégation linéaire. Cette géométrie s'avère être un facteur limitant de la cinétique de l'agrégation. Son absence de dépendance vis à vis de la taille de l'agrégat ou des concentrations simulées, comme cela a pu être observé dans l'agrégation de micelles⁴²⁸, prouve qu'elle est imposée par la structure des molécules via l'existence de configurations favorables à l'agrégation. La préférence des molécules à s'apparier suivant des plans π parallèles ou antiparallèles impose aux agrégats leur géométrie cylindrique et limite la cinétique d'agrégation : par limitation du nombre de combinaisons possibles à un appariement et également par conservation du nombre de points de branchement favorable à une agrégation au sein d'un agrégat, quelle que soit sa taille. L'analyse de la structure des agrégats a aussi montré que d'autres configurations d'appariement sont possibles pour favoriser la constitution d'un agrégat, et que ces configurations conduisent aux agrégats de plus grande taille au sein de nos systèmes ainsi qu'aux cinétiques d'agrégation les plus rapides. Il a été observé que ces configurations sont constituées de blocs d'empilements linéaires liés entre eux par la présence de défauts. Cela nous laisse supposer que ces configurations apparaissent lorsque la vitesse d'agrégation dépasse le temps nécessaire à la réorganisation au sein des agrégats permettant ainsi l'appariement de deux agrégats selon de nouveaux points de branchement issus de configurations instables d'au moins un des agrégats. La

possibilité d'utiliser de nouveaux points de branchement permet d'expliquer l'augmentation de la cinétique d'agrégation ainsi que l'apparition de défauts dans la structure. Ces configurations peuvent être fortement dépendantes de l'état initial du système.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

Au cours de cette thèse, nous avons validé l'application de la méthode à deux phases thermodynamiques à la détermination du diagramme de phase de systèmes composés de molécules organiques complexes. L'application de cette méthode à des systèmes présentant de nombreuses formes polymorphiques nous a permis de retrouver avec succès la phase connue du système comme étant la plus stable, ce malgré les inversions entre densité et stabilité observées expérimentalement. La différence d'énergie libre de Gibbs observée entre chacune des formes polymorphiques, souvent faible, est de l'ordre du kcal.mol^{-1} et est en très bon accord avec les valeurs prédites expérimentalement ou numériquement par prédictions structurales à 0 Kelvin. Une sous-estimation des enthalpies de fusion prédites par rapport aux valeurs expérimentales pouvant atteindre 5 kcal.mol^{-1} est cependant obtenue dans la majorité de nos systèmes de même qu'une surévaluation de la température absolue de fusion pouvant atteindre 15 à 20 % des valeurs expérimentales. Les vitesses de trempe extrêmement élevées que subissent les phases liquides simulées par rapport à l'expérience jouent un rôle dans les écarts observés entre valeurs expérimentale et prédite des paramètres thermodynamiques en piégeant le système dans un état de très haute énergie au cours de la trempe. Le gain de solubilité que pourrait présenter une phase polymorphique par rapport à une autre n'a cependant pas pu être évalué en utilisant les seuls paramètres thermodynamiques déduits de la méthode 2PT, avec un accord satisfaisant avec l'expérience.

Malgré sa fiabilité et sa flexibilité, cette méthode ne permet toutefois pas de déterminer les conditions dans lesquelles une transformation peut apparaître entre deux phases, ce qui est nécessaire pour prédire, entre autres, les conditions et contraintes de formulation d'une phase donnée, ainsi que le temps pendant lequel un système restera piégé dans une phase métastable lorsqu'elle est produite. Pour ce faire la description des facteurs cinétiques de la transformation doit être prise en compte. Dans les cas particuliers de la dissolution d'un composé dans un solvant ou de

la cristallisation d'un composé en solution, les interactions entre le soluté et le solvant ainsi que l'influence que l'un de ces composés aura sur la dynamique du second sera donc un facteur déterminant. L'impact d'une surface sur la dynamique et la structure a été étudié dans le cas de l'eau pour différencier l'influence des surfaces hydrophiles et hydrophobes à la fois cristallines et amorphes.

L'étude de l'influence, sur l'eau, de surfaces hydrophiles et hydrophobes, dans les états amorphes et cristallins, a montré que les molécules d'eau n'étaient fortement perturbées que dans la première couche d'hydratation quel que soit le type de surface. Un effet de confinement est inévitable dans le cas de simulation avec conditions aux limites périodiques et se caractérise, dans nos investigations, principalement par une déstructuration du réseau de liaisons hydrogènes. Celle-ci est caractérisée par une forte probabilité de l'eau de se trouver dans un état dit de liquide déstructuré au détriment de l'arrangement en structure de type glace, observé dans un état non confiné. Nous avons montré que cette perte de structure de l'eau entraîne une perte de la densité et que de cette augmentation du volume local (due à la baisse de densité et la perte de structure du réseau de liaisons hydrogènes) de chaque molécule génère une augmentation de l'entropie de vibration de l'eau (caractérisée par une baisse de l'entropie configurationnelle et une augmentation de l'entropie totale par rapport à l'eau non confinée), un accroissement de la constante de diffusion ainsi que l'isotropisme de la relaxation rotationnelle. Cette perte de densité spécifique par rapport au milieu confiné engendre aussi un ralentissement de la relaxation rotationnelle du fait de la perte du nombre de partenaires éventuels pour effectuer des échanges de liaisons hydrogènes. Nous avons également montré que l'origine des anomalies au sein de nos systèmes est principalement due à un désordre géométrique lié à la perte de densité et de structure du réseau de liaisons hydrogène, plutôt qu'à un désordre géométrique issu de la présence des groupes polaires et apolaires à la surface.

A l'interface avec le soluté, nous avons montré que les mécanismes induisant le ralentissement et l'anisotropie de la dynamique rotationnelle se composent principalement de mouvements de diffusion translationnelle de faible amplitude et non de sauts angulaires de larges

amplitude entre partenaires potentiels de formation de liaisons hydrogène. Ces anomalies de la dynamique associées à la déstructuration du réseau de liaisons hydrogène engendrent une forte perte de l'entropie configurationnelle de l'eau d'hydratation par rapport à l'eau de volume.

Il a été observé que les surfaces hydrophiles et/ou cristallines induisent une forte organisation en couches, de l'eau en contact avec la surface. Nous pouvons raisonnablement attribuer cet effet aux fortes perturbations du paysage énergétique que ces surfaces entraînent, et donc à un désordre temporel, par rapport aux surface hydrophobes et/ou amorphes. Cette augmentation du désordre temporel à l'interface avec des surfaces hydrophiles et/ou cristallines engendre une augmentation des temps caractéristiques des relaxations rotationnelles et translationnelles. Nos simulations sur le Tréhalose et la Griséofulvine montrent que ces perturbations de l'eau d'hydratation ont une dépendance plus marquée avec l'affinité dont dispose la surface du soluté avec le solvant qu'avec sa rugosité. L'eau en présence de surfaces hydrophobes et/ou amorphes présente une déstructuration du réseau de liaison hydrogène sur une distance plus importante que dans le cas des surfaces hydrophiles et/ou cristallines. Celles-ci dépendent principalement de l'affinité entre la surface du soluté avec le solvant que de sa rugosité. Nous pouvons ainsi émettre l'hypothèse qu'au moins une partie de la forte tendance que présentent les surfaces hydrophobes et/ou amorphes à cristalliser en solution vient d'un accroissement des forces guidant l'appariement des molécules et est due à la portée de l'effet déstructurant de ces surfaces, laquelle a pu être estimé à environ 4 Å.

Nous avons également montré que la Griséofulvine en solution aqueuse s'agrège spontanément selon des configurations préférentielles. L'existence de ces configurations fait donc que la cinétique d'agrégation de cette molécule est limitée, non seulement par la dynamique translationnelle des molécules et des agrégats, mais également par 1/ la probabilité que deux molécules ou agrégats entrent en contact selon une configuration favorable et 2/ les mécanismes de réorientation des molécules et des agrégats. Il apparaît que les configurations préférentielles d'appariement ne dépendent que de la structure et la géométrie de la molécule et non de la taille de

l'agrégat auquel les molécules tentent de s'apparier ou de la concentration de soluté dans la solution. Ces configurations préférentielles imposent ainsi à tous nos systèmes une agrégation linéaire, caractérisée par une géométrie cylindrique des agrégats. Cette agrégation en empilement n'autorise, au sein de l'agrégat, que deux points d'appariements favorables à l'agrégation, à savoir aux extrémités de la structure formée, quelle que soit la taille de l'agrégat. Nous avons également montré que d'autres configurations sont possibles à l'appariement de deux molécules et que ces configurations permettent d'accélérer la cinétique d'agrégation. Ces configurations apparaîtraient dans le cas où l'accrétion survient avant que la structure d'au moins un agrégat ait pu relaxer jusqu'à atteindre une configuration stable permettant ainsi la présence de défauts dans la structure de l'agrégat final. La présence de ces défauts permet à la cinétique d'agrégation de se soustraire du schéma d'agrégation linéaire en créant de nouveaux points de branchements aux agrégats. Ces configurations apparaissent lorsque la cinétique d'agrégation est plus rapide que le temps de relaxation structurale des agrégats.

Perspectives

La validité de la méthode à deux phases thermodynamiques pour les systèmes constitués de molécules organiques complexes présentant plusieurs polymorphes cristallins a été démontrée. L'utilisation directe de cette méthode pour des systèmes moléculaires plus complexes comme les polymères ou des associations de molécules, comme les solutions ou les cocristaux, nécessite cependant plusieurs études complémentaires. Il sera important déterminer ses limites d'utilisation ainsi que les paramètres et algorithmes influençant le bon accord du résultat simulé par rapport aux valeurs expérimentales et les degrés d'incertitudes que présentent les résultats. L'influence du champ de force sur les valeurs prédites des propriétés thermodynamiques doit aussi être définie, notamment via la détermination de l'écart observé entre les valeurs prédites par différents champs de forces pour un même système. Les effets de taille du système en présence de conditions aux limites périodiques peuvent affecter les propriétés thermodynamiques du système, notamment dans

le cas de phases cristallines; ils doivent être étudiées. Une investigation de l'influence de la taille du système sur l'évolution de la densité d'états et de la fraction de fluide en fonction de la température pourrait permettre de définir les critères nécessaires à la détermination de la taille minimum pour laquelle un système peut être étudié par cette méthode ainsi que de ses conséquences sur les valeurs prédites. La manière dont le liquide se fige dans un état vitreux et influe sur les valeurs prédites reste encore à déterminer afin de prouver que les écarts observés des températures de fusion dans nos systèmes sont liés aux états de haute énergie dans lesquels le liquide est piégé. Nous avons montré, grâce aux simulations d'eau à l'interface de composés pharmaceutiques, que les effets déstructurants de ces surfaces sur l'eau d'hydratation viennent principalement d'un désordre géométrique. Nous n'avons cependant pas pu considérer précisément la contribution des cavités qui sont présentes à la surface du composé pharmaceutique. L'influence de leur morphologie, de leur accessibilité pour l'eau et de l'ancrage qu'elles permettent sur les propriétés structurales et dynamique de l'eau peut aider à cerner les phénomènes cinétiques contribuant à la dissolution des molécules de composé pharmaceutique. Dans le cas de l'agrégation, nous avons montré que certaines configurations favorisent la cinétique d'agrégation en créant de nouveaux points de branchements mais en incluant des défauts au sein des agrégats. Il a été supposé que ces configurations apparaissent lorsque la cinétique d'agrégation est plus rapide que le temps de relaxation structurale des agrégats. Nous n'avons cependant pas pu déterminer une concentration critique à partir de laquelle ces configurations sont favorisées plutôt que celles issues d'une agrégation linéaire. De même, nous n'avons pas pu établir clairement le lien entre la configuration de départ de nos simulations et la cinétique d'agrégation ou la morphologie des agrégats. Ainsi, il est légitime de se poser la question de l'influence de nouvelles conditions de départ, notamment dans le cas de l'inclusion de noyaux cristallins, sur la cinétique de l'agrégation.

Références

- 1 J. Haleblian, W. McCrone, *J. Pharm. Sci.* **1969**, 58, 911-929.
- 2 J. Haleblian, *J. Pharm. Sci.* **1975**, 64, 1269.
- 3 S. R. Byrn, R.R. Pfeiffer, J. G. Stowell, *Solid State Chemistry of Drugs*, SSCI-Inc., **1999**.
- 4 G. R. Desiraju, *Organic Solid State Chemistry*, Elsevier, Amsterdam **1987**.
- 5 R. K. Morris, *Pharmaceutical Solids*, H. G. Brittain, Ed., Marcel Dekker, **1999**.
- 6 D. Giron, *Labo-Pharma-Probl. Techn.* **1981**, 307,151.
- 7 D. Giron, *S.T.P. Pharma* **1988**, 4, 330.
- 8 D. Giron, *S.T.P. Pharma* **1990**, 6, 87.
- 9 W. D. Walkling, W. R. Sisco, M. P. Newton, B. Y. Fegely, H. N. Plampin, F. A. Chrzanowski, *Acta Pharm. Technol.* **1986**, 32, 10.
- 10 W. L. Rocco, C. Morphet, S. M. Laughlin, *Int. J. Pharm.* **1995**, 122, 17.
- 11 P. Di Martino, A. M. Guyot-Hermann, P. Conflant, M. Drache, J. C. Guyot, *Int. J. Pharm.* **1996**, 128, 1-8.
- 12 A. Koda, S. Ito, S. Itai, K. Yamamoto, *J. Pharm. Sci. Technol.* **2000**, 60, 43.
- 13 J. Bernstein, *Polymorphism in Molecular Crystals*, Oxford University Press, **2008**.
- 14 A. Buerger, *Acta Pharm. Technol. Suppl.* **1979**, 7, 107.
- 15 A. Buerger, R. Ramberger, *Mikrochim. Acta* **1979**, II, 259.
- 16 A. Buerger, *Acta Pharm. Technol.* **1982**, 28, 1-20.
- 17 J. Aaltonen, M. Allesø, S. Mirza, V. Koradia, K. C. Gordon, J. Rantanen, *European Journal of Phamaceutics and Biopharmaceutics* **2009**, 71, 23-37.
- 18 S. Mirza, I. Miroshnyk, J. Heinämäki, L. Christiansen, M. Karjalainen, J. Yliruusi, Influence of solvents on the variety of crystalline forms of erythromycin, *AAPS PharmSci* 5 (**2003**) (Article 12).
- 19 I. Miroshnyk, L. Khriachtchev, S. Mirza, J. Rantanen, J. Heinämäki, J. Yliruusi, *Cryst.*

-
- Growth Des.* **2006**, *6*, 369–374.
- 20 T. Threlfall, *Organic Process Research and Development* **2000**, *4*, 384-390.
- 21 M. Kitamura, K. Nakamura, *J. Cryst. Growth* **2002**, *236*, 676–686.
- 22 C. Bhugra, R. Shmeis, M. J. Pikal, *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 4446-4458.
- 23 S. V. Goryainova, E. N. Kolesnika,c, E. V. Boldyreva , *Physica B* **2005**, *357*, 340–347.
- 24 M. A. Neumann, F. J. J. Leusen, G. E. Engel, S. Wilke, C. Conesa-Moratilla, *Int. J. Mod. Phys. B* **2002**, *16*, 407-414.
- 25 H.G. Brittain, *Am. Pharm. Rev.* **2002**, *5*, 74-76.
- 26 P. Verwer, F. J. Leusen, *J. Rev. Comput. Chem.* **1998**, *12*, 327-365.
- 27 G. M. Day et al., *Acta Cryst.* **2009**, *B65*, 107-125.
- 28 H. R. Karfunkel, F. J. J. Leusen, R. J. Gdanitz, *J. Comp. Aided Mat. Des.* 1994, *1*, 177
- 29 A. R. Organov, C. W. Glass, *J. Chem. Phys.* 2006, *124*, 244704-244715
- 30 T. S. Bush, C. R. A. Catlow, P. D. Battle, *J. Mater. Chem.* 1995, *5*, 1269
- 31 G. M. Day, J. Chisholm, N. Shan , W. D. S. Motherwell, W. Jones, *Crystal Growth and Design* **2004**, *4*, 1327-1340.
- 32 G. M. Day, W. D. S. Motherwell, W. Jones, *Crystal Growth and Design* **2005**, *5*, 1023-1033.
- 33 A. J. Cruz Cabeza, G. M. Day, W. D. S. Motherwell, W. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14466-14467 .
- 34 A. J. Cruz Cabeza, G. M. Day, W. Jones , *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 12808-12816.
- 35 A. Gavezzotti, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 309-314.
- 36 A. Gavezzotti, *Cryst. Eng. Comm.* **2002**, *4*, 343-347.
- 37 J. D. Dunitz, *Chem. Commun.* **2003**, *5*, 545-548.
- 38 J. D. Dunitz, H. A. Scheraga, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 14309-14311.
- 39 G. R. Desiraju, *Nat. Mater.* **2002**, *1*, 77-79.
- 40 R. Martoňák, A. Laio, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90*, 075503.
- 41 P. Raiteri, R. Martonak, M. Parrinello, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 3769-3773.

-
- 42 D. Giron, *Thermochim. Acta* **1995**, 248, 1-59.
- 43 D. Giron, *J. Therm. Anal.* **1999**, 56, 1285-1304.
- 44 D. Giron, *J. Therm. Anal.* **2001**, 64, 37-60.
- 45 D. Giron, *J. Therm. Anal.* **2002**, 68, 335-357.
- 46 P. M. Agrawal, B. M. Rice, D. L. Thompson, *J. Chem. Phys.* **2003**, 118, 9680.
- 47 S. Luo, T. J. Ahrens, *App. Phys. Lett.* **2003**, 82, 1836.
- 48 S. Luo, T. Ahrens, T. Cagin, A. Strachan, W. Goddard, D. Swift, *Phys. Rev. B* **2003**, 68, 134206.
- 49 S. Luo, A. Strachan, D. Swift, *J. Chem. Phys.* **2004**, 120, 11640.
- 50 C. Kittel, *Introduction à la Physique des Solides*, 5ieme édition, Wiley **1976**, p 538.
- 51 S. Alavi, D. L. Thompson, *Mol. Simul.* **2006**, 32, 999.
- 52 S. R. Phillpot, J. F. Lutsko, D. Wolf, S. Yip, *Phys. Rev. B* **1989**, 40, 2831.
- 53 J. F. Lutsko, D. Wolf, S. R. Phillpot, S. Yip, *Phys. Rev. B* **1989**, 40, 2841.
- 54 J. Solca, A. J. Dyson, G. Steinebrunner, B. Kirchner, H. Huber, *Chem. Phys.* **1998**, 108, 4107.
- 55 J. Solca, A. J. Dyson, G. Steinebrunner, B. Kirchner, H. Huber, *Chem. Phys.* **1997**, 224, 253.
- 56 P. M. Agrawal, B. M. Rice, D. L. Thompson, *J. Chem. Phys.* **2003**, 119, 9617.
- 57 J. R. Morris, C. Z. Wang, K. M. Ho, C. T. Chan, *Phys. Rev. B* **1994**, 49, 3109-3115.
- 58 A. B. Belonoshko, R. Ahuja, B. Johansson, *Phys. Rev. Lett.* **2000**, 84, 3638.
- 59 J. R. Morris, X. Song, *J. Chem. Phys.* **2002**, 116, 9352-9358.
- 60 S. W. Watt, J. A. Chisholm, W. Jones, S. Motherwell, *J. Chem. Phys.* **2004**, 121, 9565-9573.
- 61 W. Hoover, F. Ree, *J. Chem. Phys.* **1967**, 47, 4873.
- 62 W. Hoover, F. Ree, *J. Chem. Phys.* **1968**, 49, 3609.
- 63 J. G. Kirkwood, *J. Chem. Phys.* **1935**, 3, 300.
- 64 D. Frenkel, B. Smit, *Understanding Molecular Simulation*, Academic Press, San Diego, **2000**.
- 65 J. P. Harvey, A. E. Gheribi, P. Chartrand, *J. Chem. Phys.* **2011**, 135, 084502-084513.
- 66 D. Frenkel, A. Ladd, *J. Chem. Phys.* **1984**, 81, 3188-3193.

-
- 67 J. Anwar, D. Frenkel, M. G. Noro, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 728-735.
- 68 G. Grochola, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 2122.
- 69 G. Grochola, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 046101.
- 70 D. Eike, J. Brennecke, E. Maginn, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 014115.
- 71 D. Eike, E. Maginn, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 164503.
- 72 S. Jayaraman, E. J. Maginn, *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 214504.
- 73 Y. Zhang, E. J. Maginn, *J. Chem. Phys.* **2012**, *136*, 144116-144127.
- 74 D. A. Bardwell, C. S. Adjiman, Y. A. Arnautova, E. Bartashevich, S. X. M. Boerrigter, D. E. Braun, A. J. Cruz-Cabeza, G. M. Day, R. G. D. Valle, G. R. Desiraju, B. P. van Eijck, J. C. Facelli, M. B. Ferraro, D. Grillo, M. Habgood, D. W. M. Hofmann, F. Hofmann, K. V. J. Jose, P. G. Karamertzanis, A. V. Kazantsev, J. Kendrick, L. N. Kuleshova, F. J. J. Leusen, A. V. Maleev, A. J. Misquitta, S. Mohamed, R. J. Needs, M. A. Neumann, D. Nikylov, A. M. Orendt, Pal, C. C. Pantelides, C. J. Pickard, L. S. Price, S. L. Price, H. A. Scheraga, J. van de Streek, T. S. Thakur, S. Tiwari, E. Venuti, I. K. Zhitkov, *Acta Crystallogr.* **2011**, *B67*, 535-551.
- 75 Y. Zhang, E. J. Maginn, *Journal of Chemical Theory and Computation* **2013**, publication en ligne.
- 76 S. T. Lin, M. Blanco, W. A. Goddard, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 11792-11805.
- 77 S. T. Lin, P. K. Maiti, W. A. Goddard III, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 8191-8198.
- 78 T. A. Pascal, S. T. Lin, W. A. Goddard III, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 169-181.
- 79 Y. Li, S. T. Lin, W. A. Goddard III, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1872-1885.
- 80 S. T. Lin, P. K. Maiti, W. A. Goddard III, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 8663-8672.
- 81 T. A. Pascal, Y. He, S. Jiang, W. A. Goddard III, *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 1757-1760.
- 82 G. Duan, M. L. Lind, M. D. Demetriou, W. L. Johnson, W. A. Goddard III, T. Çağın, K. Samwer, *App. Phys. Lett.* **2006**, *89*, 151901-151903.
- 83 G. Zhang, Q. An, W. A. Goddard III, *J. Chem. Phys. C* **2011**, *115*, 2320-2331.

-
- 84 P. K. Lai, C. M. Hsieh, S. T. Lin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 15206-15213.
- 85 G. Tammann, *J. Soc. Glass Technol.* **1925**, *9*, 166-185.
- 86 C. A. Angell, *Relaxations in Complex systems. Strong and fragile liquids.* Washington D. C.: U. S. GPO. **1985**.
- 87 S. G. Brush, *Chemical Reviews* **1962**, *62*, 513-528.
- 88 J. H. Roh, J. E. Curtis, S. Azzam, V. N. Novikov, I. Peral, Z. Chowdhuri, R. B. Gregory, A. P. Sokolov, *Biophys. J.* **2006**, *91*, 2573-2588.
- 89 U. Lehnert, V. Reat, M. Weik, G. Zaccai, C. Pfister, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 1945-1952.
- 90 M. C. Bellissent-Funel, J. M. Zanotti, S. H. Chen, *Faraday Discuss.* **1996**, *103*, 281-294.
- 91 S. Dellerue, M. C. Bellissent-Funel, *Chem. Phys.* **2000**, *258*, 315-325.
- 92 D. Russo, R. Murarka, G. Hura, E. Verschell, J. Copley, T. Head-Gordon, *J. Phys. Chem. B.* **2004**, *108*, 19885-19893.
- 93 C. Bon, A. J. Dianoux, M. Ferrand, M. S. Lehmann, *Biophys. J.* **2002**, *83*, 1578-1588.
- 94 A. Bizzarri, S. Cannistraro, *Phys. Rev. E.* **1996**, *53*, 3040-3043.
- 95 A. Bizzarri, C. Rocchi, S. Cannistraro, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *263*, 559-566.
- 96 M. Tarek, D. Tobias, *Biophys. J.* **2000**, *79*, 3244-3275.
- 97 M. Marchi, F. Sterpone, M. Ceccarelli, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6787-6791.
- 98 R. Buchner, J. Barthel, J. Stauber, *Chemical Physics Letters* **1999**, *306*, 57-63
- 99 U. Kaatze, *Subsurface Sensing Technologies and Applications* **2000**, *1*, 377-391.
- 100 M. D. Ediger, C. A. Angell, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 13200-13212.
- 101 P. G. Debenedetti, F. H. Stillinger, *Nature* **2001**, *410*, 259-267.
- 102 R. Kohlrausch, *Ann. Phys.* **1847**, *12*, 393.
- 103 G. Williams, D.C. Watts, *Trans. Faraday Soc.* **1970**, *66*, 80.
- 104 J. Klafter, M.F. Shlesinger, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1986**, *83*, 848.
- 105 M. O. Vlad, R. Metzler, T. F. Nonnenmacher, M. C. Mackey, *J. Math. Phys.* **1996**, *37*, 2279.
- 106 R. Metzler, J. Klafter, *Physics Reports* **2000**, *339*, 1-77.

-
- 107 J. P. Bouchaud, A. Georges, *Physics Reports* **1990**, *195*, 127-293.
- 108 C. Rocchi, A. R. Bizzarri, S. Cannistraro, *Phys. Rev. E* **1998**, *57*, 3315.
- 109 M. Settles, W. Doster, *Faraday Discuss.* **1996**, *103*, 269-279.
- 110 I. M. Tolić Nørrelykke, E. L. Munteanu¹, G. Thon, L. Oddershede, K. Berg Sørensen, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93*, 078102-078105.
- 111 M. Köpf, C. Corinth, O. Haferkamp, T.F. Nonnenmacher, *Biophysical Journal* **1996**, *70*, 2950–2958.
- 112 T. H. Solomon, E. R. Weeks, H. L. Swinney, *Phys. Rev. Lett.* **1993**, *71*, 3975–3978.
- 113 A. R. Bizzarri, S. J. Cannistraro, *Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 6617- 6633.
- 114 A. R. Bizzarri, A. Paciaroni, S. Cannistraro, *Phys. Rev. E* **2000**, *62*, 3991.
- 115 M. Chaplin, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 861-866.
- 116 Y. Levy, J. N. Onuchic, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2006**, *35*, 389-415.
- 117 V. Helms, *Chem. Phys. Chem.* **2007**, *8*, 23-33.
- 118 M. Weiss, M. Elsner, F. Kartberg, T. Nilsson, *Biophys. J.* **2004**, *87*, 3518-3524.
- 119 P. M. Petrone, A. E. Garcia, *J. Mol. Biol.* **2004**, *338*, 419-435.
- 120 B. Madan, K. Sharp, *Biophys. Chem.* **1999**, *78*, 33-41
- 121 K. R. Gallagher, K. A. Sharp, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9853-9860.
- 122 T. Raschke, M. Levitt, *J. Chem. Phys. B* **2004**, *108*, 13492-13500.
- 123 T. Raschke, M. Levitt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 6777-6782.
- 124 K. R. Gallagher, K. A. Sharp, *Biophys. Chem.* **2003**, *105*, 195-209.
- 125 C. Yang, K. A. Sharp, *Proteins* **2005**, *105*, 195-209.
- 126 J. A. Rupley, G. Carerri, *Adv. Prot. Chem.* **1991**, *41*, 37.
- 127 M. F. Colombo, D. C. Rau, A. V. A. Parsegain, *Science* **1992**, *256*, 655.
- 128 J. Smith, *Rev. Biophys.* **1991**, *24*, 227.
- 129 P. J. Steinbach, P. R. Brooks, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1993**, *90*, 9135.
- 130 V. Lounnas, B. M. Pettitt, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1994**, *18*, 148.

-
- 131 V. Lounnas, B. M. Pettitt, G. N. Philips, *Biophys. J.* **1994**, *66*, 601.
- 132 V. Lounnas, B. M. Pettitt, L. Findsen, L., S. Subramaniam, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 7157.
- 133 J. J. Fripiat, J. M. Cases, M. François, M. J. Letellier, *Colloid Interface Sci.* **1982**, *89*, 378.
- 134 L. J. Michot, F. Villieras, M. François, J. Yvon, R. Le Dred, J. M. Cases, *Langmuir* **1994**, *10*, 3765.
- 135 S. Partyka, F. Rouquerol, J. Rouquerol, *J. Colloid Interface Sci.* **1979**, *68*, 21.
- 136 I. Brovchenko, A. Geiger, *J. Mol. Liq.* **2002**, *195*, 96-97.
- 137 I. Brovchenko, A. Geiger, A. Oleinikova, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 1958.
- 138 A. F. Wells, *Discuss. Faraday Soc.* **1949**, *5*, 197.
- 139 I. Weissbuch, R. Popoviti-biro, M. Lahav, I. Leiserowitz, *Acta Crystallogra. Sect. B* **1995**, *51*, 115.
- 140 J. R. Bourne, R. J. Davey, *J. Cryst. Growth* **1976**, *36*, 278-287.
- 141 M. Hussain, J. Anwar, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8583-8591.
- 142 P. Ball, *The Self-Made Tapestry: Pattern Formation in Nature*. Oxford University Press, **2001**.
- 143 G. M. Frankenbach, M. C. Etter, *Chem. Mater.* **1992**, *4*, 272-278.
- 144 J. D. Dunitz, J. Bernstein, *Accounts Chem. Res.* **1995**, *28*, 193-200.
- 145 E. Shalaev, G. Zographi, *Amorphous Food and Pharmaceutical Systems* **2002**, *281*, 11-30.
- 146 J. W. Gibbs, *Collected Works*, Yale University Press, New Haven, **1948**.
- 147 M. Volmer, *Kinetic der Phasenbildung*, Steinkopf, Leipzig, **1939**.
- 148 A. Gavezzotti, *Molecular Aggregation: structure analysis and molecular simulation of crystals and liquids*, Oxford University Press, **2007**.
- 149 D. Chandler, *Nature* **2005**, *437*, 640.
- 150 F. H. Stillinger, *J. Solution Chem.* **1973**, *2*, 141.
- 151 M. P. Allen, D. J. Tildesley, *Computer Simulation of liquids*, Oxford University Press, **1991**
- 152 A. R. Leach, *Molecular Modeling: Principles and Applications*, second edition, Pentice Hall, **2001**

-
- 153 D. C. Rapaport, *The Art of Molecular Dynamics Simulation*, Cambridge University Press, **2004**
- 154 N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, E. Teller, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 1087-1092.
- 155 B. J. Alder, T. E. Wainwright, *J. Chem. Phys.* **1957**, *27*, 1208–1209.
- 156 F. A. Momany, R. Rone, *J. Comp. Chem.* **1992**, *13*, 888-900.
- 157 D. A. Case, T. A. Darden, T.E. Cheatham, III, C. L. Simmerling, J. Wang, R. E. Duke, R. Luo, R. C. Walker, W. Zhang, K. M. Merz, B. Roberts, S. Hayik, A. Roitberg, G. Seabra, J. Swails, A. W. Goetz, I. Kolossváry, K. F. Wong, F. Paesani, J. Vanicek, R. M. Wolf, J. Liu, X. Wu, S. R. Brozell, T. Steinbrecher, H. Gohlke, Q. Cai, X. Ye, J. Wang, M. J. Hsieh, G. Cui, D. R. Roe, D. H. Mathews, M. G. Seetin, R. Salomon-Ferrer, C. Sagui, V. Babin, T. Luchko, S. Gusarov, A. Kovalenko, P. A. Kollman, *AMBER 12*, University of California, San Francisco, **2012**.
- 158 M. Margottin-Maclou, *Le Journal de Physique et le Radium* **1960**, *21*, 634-644.
- 159 S. Lifson, A. Warshel, *J. Chem. Phys.* **1968**, *49*, 5, 116-5130.
- 160 R. G. Snyder, G. Zerbi, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* **1967**, *23*, 391-437.
- 161 H. Wieser, W. G. Laidlaw, P. J. Krueger, H. Fuhrer, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* **1968**, *24*, 1055-1089.
- 162 J. Jakes, S. Krimm, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* **1971**, *27*, 19-34.
- 163 B. Fanconi, W. L. Peticolas, *Biopolymers* **1971**, *10*, 2223-2229.
- 164 O. Ermer, S. Lifson, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 4121-4132.
- 165 W. F. van Gunsteren, H. J. C. Berendsen, *Groningen Molecular Simulation (GROMOS) Library Manual*, Biomos, Groningen, The Netherlands, **1987**, 1-221.
- 166 W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11225-11236.
- 167 H. Sun, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 7338-7364.

-
- 168 L. F. Kuyper, R. N. Hunter, D. Ashton, K. M. Merz, P. A. Kollman, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 6661-6666.
- 169 S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. T. Nguyen, A. Case, *J. Comput. Chem.* **1986**, *7*, 230-252
- 170 W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5179-5197
- 171 W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926-935.
- 172 J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, D. A. Case, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157-117.
- 173 W. L. Jorgensen, J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1657-1666.
- 174 A. D. MacKerell, Jr., D. Bashford, M. Bellott, R. L. Dunbrack, J. D. Evanseck, M. J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, D. Joseph-McCarthy, L. Kuchnir, K. Kuczera, F. T. K. Lau, C. Mattos, S. Michnick, T. Ngo, D. T. Nguyen, B. Prodhom, W. E. Reiher, B. Roux, M. Schlenkrich, J. C. Smith, R. Stote, J. Straub, M. Watanabe, J. Wiorkiewicz Kuczera, D. Yin, M. Karplus, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 3586-3616.
- 175 N. A. McDonald, W. L. Jorgensen, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 8049.
- 176 R. C. Rizzo, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4827.
- 177 M. L. Price, D. Ostrovsky, W. L. Jorgensen, *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 1340.
- 178 W. Xie, J. Pu, A. D. MacKerell, J. Gao, *J. Chem. Theory. Comput.* **2007**, *3*, 1878-1889.
- 179 M. Swart, P. Van Duijnen, *Molecular Simulation* **2006**, *32*, 471-484.
- 180 P. Y. Ren, J. W. Ponder, *J. Comput. Chem.* **2002**, *23*, 1497-1506.
- 181 G. J. Kramer, N. P. Farragher, B. W. H. van Beest, R. A. van Santen, *Phys. Rev. B* **1991**, *43*, 5068-5080.
- 182 X. Feng, B. B. Laird, *Molecular Physics: An International Journal at the Interface Between Chemistry and Physics* **2005**, *103*, 2795-2801.
- 183 J. A. Baker, R. O. Watts, *Chem. Phys. Lett.* **1969**, *3*, 144-145.

-
- 184 C. Vega, E. Sanz, J. L. F. Abascal, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 114507.
- 185 E. Sanz, C. Vega, J. L. F. Abascal, L. G. MacDowell, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 255701.
- 186 C. Vega, J. L. F. Abascal, M. M. Conde, J. L. Aragones, *Faraday Discuss.* **2009**, *141*, 251–276.
- 187 P. W. Atkins, *Chimie Générale* **1992**, InterEditions.
- 188 M. J. Neumann, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 5663-5672.
- 189 W. Smith, T. R. Forester, *The DLPOLY User Manual*, CCLRC, Daresbury Laboratory, Warrington, England **2001**.
- 190 P. Ewald, *Ann. Phys.* **1921**, *64*, 253-287.
- 191 I. T. Todorov, W. Smith, K. Trachenko, M. T. Dove, *Journal of Materials Chemistry* **2006**, *16*, 1911-1918.
- 192 T. A. Darden, D. M. York, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 10089-10092.
- 193 R. W. Hockney, J. W. Eastwood, *Computer Simulation using Particles*, 2nd ed., Institute of Physics, Bristol **1998**.
- 194 C. Chipot, *Les méthodes numériques de la dynamique moléculaire*, www.edam.uhp-nancy.fr/Permanents/ChrisChipot/ecole.pdf, **2003**.
- 195 L. Verlet, *Phys. Rev.* **1967**, *159*, 98-103.
- 196 R. W. Hockney, *Meth. Comp. Phys.* **1970**, *9*, 136-211.
- 197 W. C. Swope, H. C. Anderson, P. H. Berens, K. R. Wilson, *J. Chem. Phys.* **1982**, *76*, 637-649.
- 198 J. P. Ryckaert, G. Ciccotti, H. J. C. Berendsen, *J. Comput. Phys.* **1997**, *23*, 327-341.
- 199 H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 3684-3690.
- 200 W. G. Hoover, *Phys. Rev. A* **1985**, *31*, 1695-1697.
- 201 A. Münster, *Statistical Thermodynamics*, Springer Academic Press, Berlin/New York, **1969**
- 202 S. Nosé, *Mol. Phys.* **1984**, *52*, 255-268.

-
- 203 P. H. Berens, D. H. J. Mackay, G. M. White, K. R. Wilson, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 2375-2389.
- 204 B. Diu, C Guthmann, D. Lederer, B. Roulet, *Physique Statistique*, 1ère édition, **1989**, Hermann, Paris
- 205 D. A. Mc Quarrie, *Statistical Mechanics*, Harper and Row, New York, **1976**.
- 206 R. J. Harrison, J. A. Cox, G. H. Bishop, and S. Yip, *Computer Simulation for Materials Application*, edited by R. J. Arsenault, J. R. Beeles and J. A. Simmons, NBS Nuclear Metallurgy, Washington, D. C., **1976**, Vol. 20, p. 604.
- 207 S. Chapman, T. G. Cowling. *The mathematical theory of non-uniform gases. An account of the kinetic theory of viscosity, thermal conduction and diffusion in gases.* Third edition, prepared in co-operation with D. Burnett. Cambridge University Press, London, **1970**.
- 208 N. F. Carnahan, K. E. Starling, *J. Chem. Phys.* **1969**, *51*, 625-636.
- 209 C. W. WONG, *The DLFIELD User Manual*, SFtC, Daresbury Laboratory, Warrington, England **2011**.
- 210 P. G. Debenedetti, *Metastable Liquids Concepts and Principles*, Princeton University Press, Princeton, New Jersey, **1995**
- 211 Y. Cui, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, *100*, 2000-2019.
- 212 D. A. Porter , K. E. Easterling, *Phase Transformations in Metals and Alloys*, CRC Press **1992**
- 213 M. Naoki, K. Ujita, S. Kashima, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 12356.
- 214 M. Maus, K. G. Wagner, A. Kornherr, G. Zifferer, *Molecular Simulation* **2008**, *34*, 1197.
- 215 J. Buchholz, W. Paul, F. Varnik, K. Binder, *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 7364.
- 216 A. Soldera, N. Metatla, *Phys. Rev. E* **2006**, *74*, 061803.
- 217 J. Han, R. H. Gee, R. H. Boyd, *Macromolecules* **1994**, *27*, 7781.
- 218 J. H. McAliley, D. A. Bruce, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 3756.
- 219 A. Simperler, A. Kornherr, R. Chopra, P. A. Bonnet, W. Jones, S. Motherwell, G. Zifferer, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 19678.

-
- 220 K. Vollmayr, W. Kob, K. Binder, *Phys. Rev. B* **1994**, *54*, 15808.
- 221 S. Peter, H. Meyer, J. Baschnagel, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* **2006**, *44*, 2951.
- 222 Q6A International Conference on Harmonisation; Guidance on Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances, *Federal Register*, **2000**, *65*, 83041– 83063.
- 223 J. Bernstein, *Polymorphism in Molecular Crystals*, Clarendon Press, Oxford, UK, **2002**.
- 224 J. Bernstein, Chapter 14: Conformational Polymorphism in Solid State Chemistry, *Organic Solid State Chemistry*, ed., G. R. Desiraju, Elsevier, Amsterdam, **1987**.
- 225 H. G. Brittain, *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, Marcel Dekker, New York, **1999**, 95.
- 226 J. Bernstein, *Chem. Comm.*, **2005**, 5007.
- 227 W. I. F. David, K. Shankland, C. R. Pulham, N. Blagden, R. J. Davey and M. Song, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 7032.
- 228 D. J. W. Grant, T. Higuchi, *Solubility behavior of organic compounds*, 1st ed., John Wiley & Sons, New York, **1990**.
- 229 R. J. Behme, D. Brooke, *J. Pharm. Sci.* **1991**, *80*, 986–990.
- 230 M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, R. E. Stratmann, J. C. Burant, et al Gaussian 98 Gaussian, Inc.: Pittsburgh, PA, USA, **1998**.
- 231 www.ccdc.cam.ac.uk
- 232 B. C. Hancock, M. Parks, *Pharmaceutical Research*, **2000**, *17*, 397-404.
- 233 Y. Hamada, N. Nambu, T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, *23*, 1205-1211.
- 234 T. Hoshino, Y. Tagawa, F. Hirayama, M. Otagiri, K. Uekama, *Yakugaku Zasshi*, **1982**, *102*, 1184-1190.
- 235 S. Jambhekar, R. Casella, T. Maher, *International Journal of Pharmaceutics*, **2004**, *270*, 149-166.

-
- 236 A. S. Chauhan, N. K. Jain, P. V. Diwan, A. J. Khopade, *J. Drug Target.* **2004**, *12*, 575-583.
- 237 Y. Nagai, H. Yamamoto, H. Takeuchi, *Funtai Kogaku Kaishi* **2006**, *43*, 640-647.
- 238 V. Andronis, G. Zografi, *J. Non-Cryst. Solids.* **2000**, *271*, 236-248.
- 239 P. J. Cox, P. L. Manson, *Acta Cryst.* **2003**, *E59*, 986-988.
- 240 H. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1968**, *16*, 17.
- 241 L. Borka, *Acta Pharm. Suec.* **1974**, *11*, 295.
- 242 R. Pakula, L. Pichnej, S. Sychala, K. Butkiewicz, *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* **1977**, *29*, 151.
- 243 M. O'Brien, J. McCauley, E. Cohen, in: K. Florey (Ed.), *Analytical Profiles of Drug Substances*, American Pharmaceutical Association, Washington, DC, **1984**, p. 125.
- 244 B. Legendre, Y. Feutelais, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2004**, *76*, 255-264.
- 245 A. Hedoux, L. Paccou, Y. Guinet, J.-F. Willart, M. Descamps, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2009**, *38*, 156-164.
- 246 A. Hedoux, Y. Guinet, M. Descamps, *International Journal of Pharmaceutics* **2011**, *417*, 17-31.
- 247 N. V. Surovtsev, A. P., Sokolov, *Phys. Rev. B* **2002**, *66*, 054205.
- 248 M. Thomas, M. Brehm, R. Fligg, P. Vöhringer, B. Kirchner, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 6608-22.
- 249 S. Desprez, *Transformation de phase induites par broyage dans un composé moléculaire: l'Indométhacine*, Thèse de Doctorat, Université de Lille 1, **2004**.
- 250 M. Pudipeddi, A. T. M. Serajuddin, *J. Pharm. Sci.* **2005**, *94*, 929-939.
- 251 A. Rossi, A. Savioli, M. Bini, D. Capsoni, V. Massarotti, R. Bettini, A. Gazzaniga, M. E. Sangalli, F. Giordano, *Thermochimica Acta* **2003**, *406*, 55-67.
- 252 M. Haisa, S. Kashino, H. Maeda, *Acta Cryst.* **1974**, *B30*, 2510.
- 253 P. Di Martino, P. Conflant, M. Drache, J. P. Huvenne, A.M. Guyot-Hermann, *J. Thermal Anal. Calorim.* **1997**, *48*, 447.
- 254 N. Al-Zoubi, I. Nikolakakis, S. Malamataris, *J. Pharm. Pharmacol.* **2002**, *54*, 325.

-
- 255 G. Nichols, C.S. Frampton, *J. Pharm. Sci.* **1998**, *87*, 684.
- 256 Y. V. Nelyubina, I. V. Glukhov, M. Y. Antipin, K. A. Lyssenko, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3469-3471.
- 257 M. A. Perrin, M. A. Neuman, H. E. Elmaleh, L. Zaske, *Chem. Commun.* **2009**, *22*, 3181-3183.
- 258 H. A. Garekani, J. L. Ford, M. H. Rubinstein, A. R. Rajabi-Siahboomi, *Int. J. Pharm.* **1999**, *187*, 77-89.
- 259 F. Giordano, A. Rossi, R. Bettini, A. Savioli, A. Gazzaniga, C. S. Novak, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2002**, *68*, 575-590.
- 260 M. Kuhnert-Brandstatter, *Thermomicroscopy in the analysis of pharmaceuticals*. Oxford, UK, Pergamon, **1971**, p 183.
- 261 D. Zhou, G. G. Z. Zhang, D. Law, D. J. W. Grant, E. A. Schmitt, *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91*, 1863-1872.
- 262 P. Espeau, R. Céolin, J. L. Tamarit, M. A. Perrin, J. P. Gauchi, F. Leveiller, *J. Pharm. Sci.* **2005**, *94*, 524-539.
- 263 J. C. Burley, M. J. Duer, R. S. Stein, R. M. Vrcelj, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, *31*, 271-276.
- 264 J. E. Fairbrother, Acetaminophen. In: Florey K, editor. *Analytical profiles of drug substances*, **1974**, Vol. 3. New York: Academic Press, 5-109.
- 265 L. Yu, *J. Pharm. Sci.* **1995**, *84*, 966-974.
- 266 M. Szelagiewicz, C. Marcolli, S. Cianferani, A. P. Hard, A. Vit, A. Burkhard, M. von Raumer, U. Hofmeier, A. Zilian, E. Francotte, R. Schenker, *J. Therm. Anal. Calorim.* **1999**, *57*, 23-43.
- 267 M. Sacchetti, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2001**, *63*, 345-350.
- 268 A. A. Politov, V. G. Kostrovskii, V. V. Boldyrev, *Russ. J. Phys. Chem.* **2001**, *75*, 1903-1911.
- 269 D. J. W. Grant, M. Mehdizadeh, A. H. L. Chow, J. E. Fairbrother, *Int. J. Pharm.* **1984**, *18*, 25-38.

-
- 270 R. H. Manzo, A. A. Ahumada, *J. Pharm. Sci.* **1990**, *79*, 1109-1115.
- 271 S. Romero, A. Reillo, B. Escalera, P. Bustamante, *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 1061-1064.
- 272 S. H. Neau, S. V. Bhandarkar, E. W. Hellmuth, *Pharm. Res.* **1997**, *14*, 601-605.
- 273 G. R. Lloyd, D. Q. M. Craig, A. Smith, *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 991-996.
- 274 R. A. Granberg, A. C. J. Rasmuson, *J. Chem. Eng. Data.* **1999**, *44*, 1391-1395.
- 275 S. Qi, P. Avalle, R. Saklatvala, D. Q. M. Craig, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**, *69*, 364-371.
- 276 T. Beyer, G. M. Day, S. L. Price, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5086-5094.
- 277 V. L. Himes, A. D. Mighell, W. H. De Camp, *Acta Crystallogr. Sect. B-Struct. Sci.* **1981**, *37*, 2242-2245.
- 278 J. P. Reboul, B. Cristau, J. C. Soyfer, J. P. Astier, *Acta Crystallogr. Sect. B-Struct. Sci.* **1981**, *37*, 1844-1848.
- 279 G. Reck, G. Dietz, *Cryst. Res. Technol.* **1986**, *21*, 1463-1468.
- 280 F. U. Krahn, J. B. Mielck, *Pharm. Acta Helv.* **1987**, *62*, 247-254.
- 281 M. M. J. Lowes, M. R. Caira, A. P. Lötter, J. G. Van Der Watt, *J. Pharm. Sci.* **1987**, *76*, 744-752.
- 282 R. Suryanarayanan, *Pharm. Res.* **1989**, *6*, 1017-1024.
- 283 R. Suryanarayanan, T. S. Wiedmann, *Pharm. Res.* **1990**, *7*, 184-187.
- 284 W. W. L. Young, R. Suryanarayanan, *J. Pharm. Sci.* **1991**, *80*, 496-500.
- 285 G. Reck, W. Thiel, *Pharmazie* **1991**, *46*, 509-512.
- 286 J. Dugué, R. Céolin, J. C. Rouland, F. Lepage, *Pharmaceut. Acta. Helv.* **1991**, *66*, 307-310.
- 287 Y. Matsuda, R. Akasawa, R. Teraoka, M. Otsuka, *J. Pharm. Pharmacol.* **1994**, *46*, 162-167.
- 288 L. E. McMahon, P. Timmins, A. C. Williams, P. York, *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 1064-1069.
- 289 R. Ceolin, S. Toscani, M. F. Gardette, V. N. Agafonov, A. V. Dzyabchenko, B. Bachet, *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 1062-1065.
- 290 Y. H. Li, J. Han, G. G. Z. Zhang, D. J. W. Grant, R. Suryanarayanan, *Pharm. Dev. Technol.* **2000**, *5*, 257-266.

-
- 291 Y. Kobayashi, S. Ito, S. Itai, K. Yamamoto, *Int. J. Pharm.* **2000**, *193*, 137-146.
- 292 C. Rustichelli, G. Gamberini, V. Ferioli, M. C. Gamberini, R. Ficarra, S. Tommasini, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2000**, *23*, 41-54.
- 293 M. Lang, J. W. Kampf, A. J. Matzger, *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91*, 1186-1190.
- 294 A. J. Cabeza, . M. Day, W. D. Samuel Motherwell, W. Jones, *Cryst. Growth Des.* **2006**, *6*, 1858-1866.
- 295 P. Fernandes, K. Shankland, A. J. Florence, N. Shankland, A. Johnston, *J. Pharm. Sci.* **2007**, *96*, 1192.
- 296 A. L. Grzesiak, M. Lang, K. Kim, A. J. Matzger, *J. Pharm. Sci.* **2003**, *92*, 2260-2271.
- 297 A. J. Cabeza, . M. Day, W. D. Samuel Motherwell, W. Jones, *Chem. Commun.* **2007**, *13*, 1600-1602.
- 298 E. Marti, E. Kaisersberger, G. Kaiser, W. Y. Ma, Thermoanalytical characterization of pharmaceuticals, 1st edition, Selb, Germany, Netzsch-Gerätebau GmbH, **2000**
- 299 B. Mannfors, K. Palmo, S. Krimm, *J. Mol. Struct.* **2000**, *556*, 1-21.
- 300 K. Urakami, Y. Shono, A. Higashi, K. Umemoto, M. Godo, *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 263-267.
- 301 K. Park, J. M. B. Evans, A. S. Myerson, *Cryst. Growth Des.* **2003**, *3*, 991-995.
- 302 C. H. Gu, D. J. W. Grant, *J. Pharm. Sci.* **2001**, *90*, 1277-1287.
- 303 J. Anwar, S. Tarling, P. Barnes, *J. Pharm. Sci.* **1989**, *78*, 337-342.
- 304 N. Blagden, R. Davey, H. Lieberman, L. Williams, R. Payne, R. Roberts, R. Rowe, R. Docherty, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1998**, *94*, 1035-1044.
- 305 S. Khoshkhoo, J. Anwar, *J. Phys. D* **1993**, *26*, B90-B93.
- 306 D. C. Apperley, R. A. Fletton, R. K. Harris, R. W. Lancaster, S. Tavener, T. L. Threlfall, *J. Pharm. Sci.* **1999**, *88*, 1275-1280.
- 307 T. Gelbrich, D. S. Hughes, M. B. Hursthouse, T. L. Threlfall, *Cryst. Eng. Comm.* **2008**, *10*, 1328-1334.

-
- 308 J. A. Zeitler, D. A. Newnham, P. F. Taday, T. L. Threlfall, R. W. Lancaster, R. W. Berg, C. J. Strachan, M. Pepper, K. C. Gordon, T. Rades, *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 2486-2498.
- 309 J. Kerč, S. Srčić, *Thermochimica Acta* **1995**, *248*, 81-95.
- 310 G. Milosovich, *J. Pharm. Sci.* **1964**, *53*, 11-24.
- 311 M. Lagas, C. F. Lerk, *Int. J. Pharm.* **1981**, *8*, 11-24.
- 312 M. Meyer, H. E. Stanley, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 9728-9730.
- 313 A. I. Kolesnikov, J. M. Zannotti, C. K. Loong, P. Thiyagarajan, A. P. Moravsky, R. O. Loutfy, C. J. Burnham, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93*, 035501-035504.
- 314 J. Faeder, B. M. Ladanyi, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 1033–1046.
- 315 S. Y. Bhide, M. L. Berkowitz, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 094711–094717.
- 316 C. Lopez, S. O. Nielsen, M. L. Klein, P. B. Moore, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 6603–6610.
- 317 T. Zavada, N. Sudland, R. Kimmich, T. F. Nonnenmacher, *Phys. Rev. E* **1999**, *60*, 1292-1298.
- 318 M. Tarek, D. Tobias, *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 275501.
- 319 J. Klafter, G. Zumofen, A. Blumen, *Chem. Phys.* **1993**, *177*, 821.
- 320 D. E. Moilanen, E. E. Fenn, D. Wong and M. D. Fayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8318-8328.
- 321 C. Branca, S. Magazù, F. Migliardo, P. Migliardo, *Physica A*, **2002**, *304*, 314-318.
- 322 C. Branca, V. Magazù, G. Maisano, F. Migliardo, A.K. Soper, *Appl. Phys. A* **2002**, *74*, 450-451.
- 323 M. Ø. Jensen, O. G. Mouritsen, G. H. Peters, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 9729.
- 324 S. H. Lee, P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.* **1994**, *100*, 3334.
- 325 F. Pizzitutti, M. Marchi, F. Sterpone, P. J. Rossky, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 7584-7590.
- 326 D. Laage, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 7697–7701.
- 327 D. Laage, G. Stirnemann, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 2428–2435.
- 328 L. De Carli, L. Larizza, *Mutat. Res.* **1988**, *195*, 91–126.
- 329 C. Y. Chan, S. F. Friedlander, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2004**, *17*, 97–103.

-
- 330 Y. S. Ho, J. S. Duh, J. H. Jeng, Y. J. Wang, Y. C. Liang, C. H. Lin, C. J. Tseng, C. F. Yu, R. J. Chen, J. K. Lin, *Int. J. Cancer* **2001**, *91*, 393–401.
- 331 D. Panda, K. Rathinasamy, M. K. Santra, L. Wilson, *PNAS*, **2005**, *102*, 9878-9883.
- 332 Puttaraja, K. A. Nirmala, D. S. Sakegowda, W. L. Duax, *J. Crystallogr. Spectrosc. Res.* **1982**, *12*, 415-423.
- 333 A. A. Elamin, C. Ahlneck, G. Alderborn, C. Nystrom. *Int. J. Pharm.* **1994**, *111*, 159–170.
- 334 M. Westerberg, C. Nyström, *Int. J. Pharm.* **1993**, *90*, 1-17.
- 335 G. L. Amidon, H. Lennernas, V. P. Shah, J. R. Crison. *Pharm Res.* **1995**, *12*, 413-420.
- 336 W. L. Chiou, S. Reigelman, *J. Pharm. Sci.* **1971**, *60*, 1281-1302.
- 337 W. L. Chiou, S. Niazi, *J. Pharm. Sci.* **1976**, *65*, 1212-1214.
- 338 L. Zhu, J. Jona, K. Nagapudi, T. Wu, *Pharmaceutical Research*, **2010**, *27*, 1558-1567.
- 339 S. Nwaka, H. Holzer, Molecular biology of trehalose and the trehalases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In K. Moldave (Ed.). *Progress in nucleic acid research and molecular biology*. New York: Academic Press, **1998** (Vol. 58, pp. 197–237)
- 340 A. B. Richards, S. Krakowka, L. B. Dexter, H. Schmid, A. P. Wolterbeek, D. H. Waalkens-Berendsen, A. Shigoyuki, M. Kurimoto, *Food and chemical toxicology*, **2002**, *40*, 871-898.
- 341 G. A. Jeffrey, R. Nanni, *Carbohydrate Research* **1985**, *137*, 21-30.
- 342 K. D. Roe, T. P. Labuza, *International Journal of Food Properties*, **2005**, *8*, 559-574.
- 343 H. J. C. Berendsen, J. R. Grigerq, T. P. Straatsma, *J. Chem. Phys.* **1987**, *91*, 6269.
- 344 S. Chatterjee, P. G. Debenedetti, F. H. Stillinger, R. M. Lynden-Bell, *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 124511-124519.
- 345 Y. Zhu, S. Granick, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *87*, 096101-096104.
- 346 U. Raviv, S. Perkin, P. Laurat, J. Klein, *Langmuir* **2004**, *20*, 5322-5332.
- 347 Remi Busselez, Propriétés des fluides vitrifiables bioprotecteurs nanoconfinés, Thèse de Doctorat, **2008**.
- 348 I. Brovchenko, A. Geiger, A. Oleinikova, D. Paschek, *Eur. Phys. J. E* **2003**, *12*, 69-76.

-
- 349 G. Lamoureux, A. D. MacKerell, B. Roux, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 5185-5197.
- 350 A. K. Doerr, M. Tolan, T. Seydel, W. Press, *Physica B*, **1998** *248*, 263.
- 351 C. J. Yu, A. G. Richter, A. Datta, M. K. Durbin, P. Dutta, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 2326.
- 352 A. K. Doerr, M. Tolan, J. P. Schlomka, W. Press, *Europhys. Lett.* **2000**, *52*, 330.
- 353 I. Brovchenko, A. Geiger, A. Oleinikova, *J. Phys.: Condens. Matter* **2004**, *16*, S5345.
- 354 G. A. Chapela, G. Saville, J. S. Rowlinson, *Faraday Disc. Chem. Soc.*, **1975**, *59*, 22.
- 355 G. A. Chapela, G. Saville, S. M. Thompson, J. S. Rowlinson, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1977**, *73*, 1133.
- 356 N. Smolin, R. Winter, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 15928-15937.
- 357 I. Brovchenko, A. Krukau, N. Smolin, A. Oleinikova, A. Geiger, R. Winter, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 224905.
- 358 S. Picaud, P. N. M. Hoang, S. Hamad, J. A. Mejias, A. S. Lago, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 5410-5415.
- 359 M. Maddox, D. Ulberg, K. E. Gubbins, *Fluid Phase Equilib.* **1995**, *104*, 145.
- 360 E. A. Müller, L. F. Rull, L. F. Vega, K. E. Gubbins, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1189.
- 361 E. A. Müller, K. E. Gubbins, *Carbon* **1998**, *36*, 1433.
- 362 C. L. McCallum, T. J. Badosz, S. C. McGrother, E. A. Müller, K. E. Gubbins, *Langmuir* **1999**, *15*, 533.
- 363 Y. I. Tarasevich, E. V. Aksenenko, *Colloids Surf. A* **2003**, *215*, 285.
- 364 B. Gustavo, A. Chapela, G. Saville, J. S Rowlinson, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1975**, *59*, 22-28
- 365 B. Gustavo, A. Chapela, G. Saville, S.M. Thompson, J. S Rowlinson, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, **1977**, *73*, 1133-1144.
- 366 F. van Swol, J. R. Henderson, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, **1986**, *82*, 1685-1699.
- 367 R. E. Rozas, J. Horbach, *EPL* **2011**, *93*, 26006.
- 368 R. Ludwig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1808-1827.

-
- 369 J. R. Errington, P. G. Debenedetti, *Nature*, **2001**, *409*, 318.
- 370 P. Bordat, A. Lerbret, J. P. Demaret, F. Affouard, M. Descamps, *Europhys. Lett.* **2004**, *65* (1), 41–47.
- 371 S. Melchionna, G. Briganti, P. Londei, P. Cammarano, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 158101.
- 372 B. Roux, *Computer Physics Communication* **1995**, *91*, 275-282.
- 373 A. Oleinikova, N. Smolin, I. Brovchenko, *Biophys. J.* **2007**, *93*, 2986–3000.
- 374 R. Abseher, H. Schreiber, O. Steinhauser, *Proteins: Struct. Funct. Genet.* **1996**, *25*, 366.
- 375 B. Halle, H. Wennerstrom, *J. Chem. Phys.* **1981**, *75*, 1928.
- 376 A. C. Belch, M. Berkowitz, *Chem. Phys. Lett.* **1985**, *113*, 278-282.
- 377 U. Kaatze, *J. Chem. Eng. Data* **1989**, *34*, 371.
- 378 J. Barthel, K. Bachhuber, R. Buchner, H. Hetzenauer, *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *165*, 369.
- 379 J. T. Kindt, C. A. Schmuttenmaer, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 10373.
- 380 P. Hocht, S. Boresch, W. Bitomsky, O. J. Steinhauser, *Chem. Phys.* **1998**, *109*, 4927.
- 381 A. Chandra, T. Ichiye, *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 2701.
- 382 G. Barabino, C. Gavotti, M. Marchesi, *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *104*, 478-484.
- 383 J. Jonas, T. DeFries, D. J. Wilbur, *J. Chem. Phys.* **1976**, *65*, 582.
- 384 M. S. P. Sansom, D. Kerr, J. Breed, R. Sankararamkrishnan, *Biophys. J.* **1996**, *70*, 693- 702.
- 385 F. Sterpone, G. Marchetti, C. Pierleoni, M. Marchi, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 11504-11510.
- 386 O. Borodin, D. Bedrov, G. Smith, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 5194-5199.
- 387 D. Laage, J. T. Hynes, *Science*, **2006**, *311*, 832-835.
- 388 S. E. Feller, R. W. Pastor, A. Rojnucharin, S. Bobusz, B. R. Brooks, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 17011-17020.
- 389 V. A. Makarov, M. Feig, B. K. Andrews, B. M. Pettitt, *Biophys. J.* **1998**, *75*, 150.
- 390 S. G. Dastidar, C. Mukhopadhyay, *Phys. Rev. E* **2004**, *70*, 061901.
- 391 D. Eisenberg, W. Kauzmann, *The Structure and Properties of Water* **1969**, Oxford University

Press, Oxford.

- 392 H. E. Alper, D. Bassolino, T. R. Stouch, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 9798.
- 393 J. Klafter, M.F. Shlesinger, G. Zumofen, *Philos. Mag. B* **1992**, *65*, 755.
- 394 F. Spaepen, *Acta Metallurgica*, **1975**, *23*, 729-743.
- 395 F. Spaepen, R. B. Meyer, *Scripta Metallurgica*, **1976**, *10*, 257-263.
- 396 D. Turnbull, F. Spaepen, *Journal of Polymer Science: Polymer Symposium*, **1978**, *63*, 237-243.
- 397 A. Debnath, B. Mukherjee, K. G. Ayappa, P. K. Maiti, S. T. Lin. *J. Chem. Phys.* **2010**, *133*, 174704-14.
- 398 N. Giovambattista, S. V. Buldyrev, F. W. Starr, H. E. Stanley, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90*, 085506.
- 399 H. S. Frank, M. W. Evans, *J. Chem. Phys.* **1945**, *13*, 507-532.
- 400 L. Yu, S. M. Reutzel-Edens, C. A. Mitchell, *Organic Process Research and Development* **2000**, *4*, 396-402.
- 401 S. Schreier, S. V. P. Malheiros, E. de Paula, *Biochimica et Biophysica Acta* **2000**, *1508*, 210-234.
- 402 M. Trotta, M. Gallarate, M. E. Carlotti, S. Morel, *Int. J. Pharm.* **2003**, *254*, 235-242.
- 403 Z. Zili, S. Sfar, H. Fessi, *Int. J. Pharm.* **2005**, *294*, 261-267.
- 404 A.S. Shete, A. V. Yadav, A.P. Dabke, S. S. Sakhare, *International Journal of Pharma Sciences and Research* **2010**, *1*, 51-57.
- 405 R. Chelli, F. L. Gervasio, O. Procacci, V. Schettino, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6133-6143.
- 406 D. Zanuy, B. Ma, R. Nussinov, *Biophys. J.* **2003**, *84*, 1884-1894.
- 407 D. Zanuy, Y. Porat, E. Gazit, R. Nussinov, *Structure* **2004**, *12*, 439-455.
- 408 G. Colombo, I. Daidone, E. Gazit, A. Amadei, A. Di Nola, *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* **2005**, *59*, 519-527.
- 409 M. Y. Lin, H. M. Lindsay, D. A. Weitz, R. Klein, R. C. Ball, P. Meakin, *Nature* **1989**, *339*,

360-362.

- 410 M. Y. Lin, H. M. Lindsay, D. A. Weitz, R. Klein, R. C. Ball, P. Meakin, *J. Phys.: Condens. Matter* **1990**, 2, 3093-3113.
- 411 T. A. Witten, L. M. Sander, *Phys. Rev. B* **1983**, 27, 5686-5697.
- 412 P. Sandkühler, M. Lattuada, H. Wu, J. Sefcik, M. Morbidelli, *Advances in Colloid and Interface Science* **2005**, 113, 65-83.
- 413 M. Y. Lin, H. M. Lindsay, D. A. Weitz, R. C. Ball, R. Klein, P. Meakin, *Phys. Rev. A* **1990**, 41, 2005-2020.
- 414 A. E. González, *Phys. Rev. Lett.* **1993**, 71, 2248-2251.
- 415 A. Y. Kim, K. D. Hauch, J. C. Berg, J. E. Martin, R. A. Anderson, *Journal of Colloid and Interface Science* **2003**, 260, 149-159.
- 416 A.M. Puertas, A. Fernández-Barbero, F.J. de las Nieves, *Prog. Colloid . Polym. Sci.* **2000**, 115, 55.
- 417 A. Fernández-Barbero, B. Vincent, *Phys. Rev. E* **2001**, 63, 011509.
- 418 P. Prakash, A. Sayyed-Ahmad, Y. Zhou, D. E. Volk, D. G. Gorenstein, E. Dial, L. M. Lichtenberger, A. A. Gorfe, *Biochimica et Biophysica Acta* **2012**, 1818, 3040-3047.
- 419 D. B. Warren, D. K. Chalmers, K. Hutchison, W. Dang, C. W. Pouton, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2006**, 280, 182-193.
- 420 S. Bogusz, R. M. Venable, and R. W. Pastor, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104, 5462-5470.
- 421 J. D. Honeycutt and H. C. Andersen, *Chem. Phys. Lett.* **1984**, 108, 535.
- 422 S. Sarupria, and P. G. Debenedetti, *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, 3, 2942-2947.
- 423 A. P. Gadad., P. Sharath Chandra, P. M. Dandagi, V. S. Mastiholimath, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* **2012**, 5, 1727-1734.
- 424 P. Mukerjee, *J. Phys. Chem.* **1972**, 76, 565; R. Nagarajan, C.-C. Wang, *Langmuir* **2000**, 16, 5242-5251; T. Lazardis, B. Mallik, Y. Chen, *J. Chem. Phys. B* **2005**, 109, 15098-15106.
- 425 N. Smolin, A. Oleinikova, I. Brovchenko, A. Geiger, R. Winter, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109,

10995-11005.

426 J. D. Honeycutt and H. C. Andersen, *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 1585-1589.

427 A. Mahieu, P. Derollez, J. F. Willart, E. Dudognon, F. Danède, M. Descamps, En cours de publication.

428 M. Velinova, D. Sengupta, A. V. Tadjer, S.-J. Marrink, *LanFgmuir* **2011**, *27*, 14071-14077.