## THESE

#### Présentée à

L'Université de Lille 1 – Sciences et Technologies

En vue de l'obtention du grade de

Docteur en Sciences des Matériaux

Spécialité : Molécules et Matière Condensée

Par

Aurélien MAHIEU

# Nouvelles méthodes de détermination des diagrammes de solubilité polymère / principe actif

Soutenue publiquement le 10 décembre 2013 devant le jury composé de :

M. Juergen SIEPMANN, Professeur, Université de Lille 2, Président du Jury

M. Gérard COQUEREL, Professeur, Université de Rouen, Rapporteur

M. Guy VAN DEN MOOTER, Professeur, Université Catholique de Louvain, Rapporteur

M. Marc DESCAMPS, Professeur, Université de Lille 1, Examinateur

M. Ronan LEFORT, Maître de Conférences, Université de Rennes 1, Examinateur

M. Philippe LETELLIER, Docteur, Laboratoires Servier d'Orléans, Examinateur

Mme Emeline DUDOGNON, Maître de Conférences, Université de Lille 1, Co-directrice de thèse

M. Jean-François WILLART, Directeur de Recherches CNRS, Université de Lille 1, Directeur de thèse

### Remerciements

Cette thèse s'est déroulée au laboratoire UMET (Unité Matériaux Et Transformations) de l'université des Sciences et Technologies de Lille et a été réalisée plus précisément au sein de l'équipe Matériaux Moléculaires et Thérapeutiques (MMT). Ce travail s'est déroulé dans le cadre du programme de coopération inter-régional INTERREG 4A IDEA 2010-2013 (Improving Drug Efficacy and Availability).

Mes premiers remerciements se tournent vers le Professeur Marc Descamps pour m'avoir accordé la possibilité d'effectuer cette thèse dans son équipe de recherche. Sa passion pour la recherche est sans limite ce qui amène une motivation supplémentaire pour comprendre les phénomènes physiques se présentant à nous.

Je tiens à remercier très chaleureusement le Docteur Jean-François Willart, Directeur de Recherche CNRS ainsi que le Docteur Emeline Dudognon, Maître de Conférences à l'université de Lille 1, qui ont accepté d'encadrer cette thèse. Ces deux personnes sont pour moi des exemples pour leur patience, leur dévouement ainsi que pour leur grande culture scientifique. Leur investissement quotidien a largement contribué à la réussite de ce projet.

J'exprime ma reconnaissance au Professeur Gérard Coquerel, Professeur à l'université de Rouen ainsi qu'au Professeur Guy Van den Mooter, Professeur à l'université catholique de Louvain, pour avoir accepté de juger ce travail et d'en être les rapporteurs. Merci également au Professeur Juergen Siepmann, Professeur à l'université de Lille 2, au Docteur Ronan Lefort, Maître de Conférences à l'université de Rennes et au Docteur Philippe Letellier, Responsable de la caractérisation de l'état solide chez les laboratoires Servier, pour avoir accepté d'être les examinateurs de travail de thèse.

J'aimerais aussi remercier le Docteur Nicolas Tabary, Maître de Conférences à l'université de Lille 1, pour son enthousiasme ainsi que ses précieux conseils sur les problématiques liées aux cyclodextrines. Merci également au Docteur Patrick Derollez, Maître de Conférences à l'université de Lille 1, qui a pris le temps de m'initier à la résolution structurale des poudres cristallines.

Un grand merci à Madame Florence Danède, Ingénieur d'étude, pour la réalisation des nombreuses expériences de diffraction des rayons X nécessaires à l'aboutissement de ce travail mais également pour ses grandes qualités humaines.

Je voudrais remercier plus généralement les doctorants et post-doctorants qui m'ont apporté une aide précieuse afin d'y voir plus clair dans mes investigations au cours de cette thèse (Dr Remy Dubois, Dr Morgan Durand, Dr Mark Eddleston, Dr Jonathan Moffat, Dr Adeline Martin, Mlle Emilie Gué, M Adrien Benazzouz ,M William Pagnoux...) ainsi que toutes les personnes que j'ai eu le plaisir de rencontrer au cours de ces 3 années passées au laboratoire.

## Nouvelles méthodes de détermination des courbes de solubilité polymère / principe actif

Intro	duction générale1	l
I C	ONTEXTE GENERAL	3
II O	BJECTIFS SPECIFIQUES	5
III C	PRGANISATION DE LA THESE	7
<u>Chap</u>	<u>bitre I</u> : Rappels théoriques et bibliographiques9	)
I Les	s solides moléculaires1	1
I.A I	Dualité cristal / amorphe des matériaux moléculaires1	1
I.B F	Processus de cristallisation	2
Ι	.B.1 L'étape de nucléation homogène	3
Ι	.B.2 L'étape de croissance	7
I.C V	Vitrification	9
I.D I	Polymorphisme	2
II St	abilité des mélanges excipient / principes actif24	1
II.A	Enthalpie libre de mélange de solutions régulières	4
II.B	Potentiels et activités chimiques	0
II.C	Limite de solubilité	2
II.D loi de	Evolution de la température de transition vitreuse d'un mélange amorphe homogène : e Gordon-Taylor	4
II.E	Transformations sous broyage mécanique	5
	II.E.1 Transformations de composés purs sous broyage	5
	II.E.2. Obtention d'alliages sous broyage	7
III	Méthodes usuelles d'obtention des diagrammes de solubilité	
polyn	nère / PA	3
III.A	Présentation générale des diagrammes de solubilité polymère / PA	8
III.B (voie	Méthode par dissolution du PA dans le polymère au cours de rampes en température 2)	0
III.C (voie	Méthode par dissolution du PA dans le polymère au cours de traitements isothermes 3)	2

<u>Chapitre II</u> : Nouvelle méthode de détermination des diagram polymère / principe actif	nmes 45
I Principe de la méthode proposée pour déterminer les diagrammes de solubilité polymère / principe actif	47
I.A Comparaison des cinétiques de dissolution et de démixtion	47
I.B Protocole de détermination du diagramme de solubilité Polymère / PA	
II Détermination du diagramme de solubilité PVP K12 / Indométacine	49
II.A Présentation et propriétés physico-chimiques des matériaux	
II.A.1 Le Polyvinylpirrolidone (PVP) K12	
II.A.2 L'indométacine	52
II.B Broyage des matériaux purs	56
II.C Formation d'une solution solide sursaturée PVP K12 / Indométacine [15:85].	60
II.C.1 Tentative d'obtention d'une solution solide amorphe homogène par co-b	oroyage. 60
II.C.2 Evolution de la température de transition vitreuse de l'alliage avec la composition.	63
II.D Etablissement de la courbe de solubilité par démixtion du mélange PVP K12 / Indométacine [15 :85]	66
II.D.1 Détermination de la limite de solubilité à une température donnée	66
II.D.2 Obtention de la courbe de solubilité	69
III Analyse et discussion	72
IV Conclusion du chapitre II	74
<u>Chapitre III</u> : Détermination du diagramme de solubilité PVP K30 / griséofulvine	77
I Présentation des matériaux utilisés	79
I.A Présentation du Polyvinylpyrrolidone (PVP) K30	79
I.B Présentation de la griséofulvine	82

II Caractérisation du polymorphisme de la griséofulvine	86
II.A Mise en évidence du polymorphisme de la griséofulvine	86
II.B Rôle des fissures dans le processus de recristallisation	92
II.C Identification des domaines de nucléation des polymorphes II et III de la griséoful	vine. 94
III Résolution structurale de la forme II de la griséofulvine	101
III.A Recherche des paramètres de maille	101
III.B Affinement des paramètres de maille par méthode de LeBail	. 102
III.C Recherche du modèle structural par Monte-Carlo	. 103
III.D Affinement structural par méthode de Rietveld	. 103
III.E Comparaison des formes I et II de la griséofulvine	107
IV Détermination du diagramme de solubilité	
PVP K30 / griséofulvine	109
IV.A Effets du broyage sur la griséofulvine et le PVP K30	110
IV.A.1 Griséofulvine	. 110
IV.A.2 PVP K30	112
IV.B Etude des solutions solides PVP K30 / griséofulvine obtenues par co-broyage	115
IV.B.1 Obtention d'une solution solide amorphe sursaturée $[40:60]_m$ directemer l'état solide par co-broyage	nt à 115
IV.B.2 Evolution de la température de transition vitreuse de l'alliage avec la composition	117
IV.C Détermination de la courbe de solubilité par démixtion du mélange PVP K30 / griséofulvine [40 :60]	120
IV.C.1 Effet de la température de recuit sur la dégradation du PVPK30	120
IV.C.2 Effet du temps de recuit sur la dégradation du PVPK30	122
IV.C.3 Détermination du diagramme de solubilité du mélange PVP K30 / griséofulvine	124
V Discussion	130
VI Conclusion du chapitre III	132

<u>Chapitre IV</u> : Détermination du diagramme de solubilité B avaladaytring méthylég/ griségfulying
p-cyclodextrine methylee/ griseorurvine
I Présentation des cyclodextrines137
II Détermination de la température de transition vitreuse
de la β-cyclodextrine140
II.A Tentative d'amorphisation de la $\beta$ -cyclodextrine par trempe du liquide
II.B Amorphisation de la β-cyclodextrine sous broyage
II.C Extrapolation des températures de transition vitreuse des dérivées méthylées de la β- Cyclodextrine
II.D Co-broyage de la β-cyclodextrine native (DS=0) et de sa dérivée méthylée à 60% (DS=1.8)
II.E Conclusion
III Détermination du diagramme de solubilité
β-Cyclodextrine méthylée à 60% / griséofulvine157
III.A Formation d'une solution solide M-β-CD 60% / griséofulvine amorphe et homogène à l'état solide par co-broyage
III.B Evolution de la température de transition vitreuse de l'alliage avec la composition 160
III.C Détermination de la courbe de solubilité par démixtion du mélange M-β-CD 60% / griséofulvine [30 :70] <sub>m</sub>
III.D Etude de la complexation à l'état liquide du mélange M-β-CD 60% / griséofulvine
IV Discussion168
V Conclusion du chapitre IV171

<b><u>Chapitre V</u></b> : Détermination par simulation des diagramme	es
polymère / principe actif	173
I Méthodes de calcul numériques de l'activité chimique	176
I.A Théorie générale des interactions entre paires moléculaires	
I.B Approche COSMO-RS	
I.C Choix du modèle permettant la détermination de la répartition des charges su d'une molécule	urfaciques 181
II Méthode numérique de détermination de courbes de sol	lubilités
polymère / PA	
II.A Protocole de détermination numérique des courbes de solubilité	
II.B Modélisation numérique du polyvinylpyrrolidone	
II.B.1 Modélisation des conformations des chaînes de PVP	
II.B.2 Détermination des densités surfaciques de charge	
II.B.3 Détermination des profils $\sigma$	
II.C Modélisation numérique du principe actif	
II.C.I Cas de l'indométacine	
II.C.2 Cas de la griséofulvine	
II.D Calcul de l'activité chimique du principe actif dans le mélange PVP / indométacine et PVP / griséofulvine	
II.E Détermination des points de la courbe de solubilité polymère / PA	
III Analyse et discussion des résultats	197
IV Conclusion du chapitre V	201
Conclusion générale	203

Annexes	209
Annexe 1 : Modèle de Flory-Huggins	211
Annexe 2 : Techniques expérimentales	221
A2.A Le broyage	
A2.B L'analyse thermogravimétrie (ATG)	
A2.C L'analyse enthalpique différentielle à balayage (DSC)	
A2.D La diffraction des rayons X (DRX)	
A2.E La spectroscopie par résonnance magnétique nucléaire RMN <sup>1</sup> H	
A2.F La spectroscopie UV-visible	
Annexe 4 : Données cristallographiques supplémentaires	233 237
Annexe 5 : Détermination des constantes de complexation p spectrophotométrie	ar 241
Annexe 6 : Modèle de calcul des interactions de paires	245
A6.A Modèle d'interaction de surfaces de paires moléculaires	
A6.B Choix du Modèle de calcul des interactions entre pairs moléculaires	
Références Bibliographiques	251

Introduction générale

#### I CONTEXTE GENERAL

Une bonne solubilité dans l'eau et les fluides du corps humain est une condition "sine qua non" pour qu'un principe actif pharmaceutique soit thérapeutiquement efficace. Ce point est particulièrement crucial pour l'administration orale des médicaments qui est, de loin, le mode le plus fréquent d'administration des principes actifs. Cependant, les nouvelle molécules de principe actif sont de plus en plus complexes et donc de moins en moins solubles. La classification BCS (Biopharmaceutics Classification System [1, 2]) indique d'ailleurs que 40% des principes actifs sont considérés comme peu solubles. Ce taux atteint même plus de 70% si l'on ne considère que les médicaments en cours de développement. Face à cette situation, le développement de nouvelles stratégies de formulation visant à améliorer la solubilité des principes actifs peu solubles apparaît donc comme un défi actuel majeur du développement pharmaceutique.

Plusieurs protocoles de formulation ont déjà été développés pour tenter d'augmenter la solubilité des principes actifs. Ils impliquent généralement des modifications chimiques ou physiques des principes actifs. Les modifications chimiques incluent le développement de « prodrugs » [3], la formation de sels [4], la conception de co-cristaux [5] et la formation de complexes [6]. Les modifications physiques incluent, quant à elles, la réduction de taille des cristallites [7], la conversion vers des formes cristallines moins stables, et la formulation à l'état amorphe [8]. Ce dernier état, est généralement celui qui présente la meilleure solubilité car c'est aussi celui qui présente la plus forte enthalpie libre. Cependant, c'est aussi l'état physique le moins stable et sa tendance naturelle à recristalliser - plus ou moins rapidement - ne permet pas en général de garantir ses propriétés de solubilité accrue au stockage. L'utilisation des formes amorphes dans les protocoles de formulation nécessite donc de développer des techniques de stabilisation physique de ces formes pour augmenter leur durée de vie.

La stratégie la plus simple pour stabiliser un principe actif à l'état amorphe est de le disperser à l'échelle moléculaire dans une matrice polymère amorphe qui va gêner sa recristallisation [9]. La stabilisation peut être effective ou apparente. Elle est effective lorsque la concentration du principe actif dans la matrice polymère est inférieure à sa limite de solubilité puisque, dans ce cas, le mélange est dans un état d'équilibre qui le préserve de tout processus de démixtion. La stabilisation peut aussi être apparente pour une solution sursaturée en principe actif si la température de transition vitreuse du mélange (Tg) est située suffisamment au-dessus de la température ambiante. Dans ce cas, un processus de démixtion est inévitable mais sa cinétique et si lente qu'il peut être négligé. Par contre, si le mélange polymère/principe actif se caractérise à la fois par une sursaturation du principe actif et une transition vitreuse proche de - ou inférieure à - la température ambiante, une démixtion partielle du mélange homogène est inévitable lors du stockage. La recristallisation du principe actif et sa perte de solubilité surviennent alors très rapidement.

Plusieurs techniques ont déjà été développées pour produire des solutions solides à partir de principes actifs et de polymères individuels. Chacune d'elles doit surmonter la difficulté intrinsèque de mélanger les composants individuels résultant de la très forte viscosité des polymères [10]. Une première catégorie de techniques combine des étapes de chauffage pour diminuer la viscosité des polymères avec des forces externes destinées à mélanger les deux espèces chimiques. C'est le cas par exemple de KinetiSol® (une technologie par fusion [11, 12]) ou des procédés d'extrusion à chaud [13]. Les possibilités de dégradations chimiques des composants au cours des traitements thermiques constituent le principal inconvénient de ces méthodes thermiques. De plus, l'addition de plastifiants est parfois requise pour abaisser les points de fusion. Comme les plastifiants diminuent aussi les températures de transition vitreuse, ils peuvent avoir un impact négatif sur la stabilité physique de la solution solide finale. Une deuxième catégorie de techniques implique la dissolution des deux composants dans un solvant commun - s'il existe - pour mélanger les espèces chimiques en solution. L'état solide est ensuite obtenu par le retrait rapide du solvant de manière à obtenir une solution solide amorphe comme dans le cas du « spray drying » [14]. Cette voie de formulation ne met en jeu que des étapes courtes de chauffage ce qui permet d'éviter les dégradations chimiques [15]. Par contre, une quantité non négligeable de solvant reste généralement piégée dans le produit final qui peut entraîner une toxicité non acceptable. Une troisième catégorie de techniques dans laquelle notre laboratoire est fortement impliqué [16-21], a été récemment proposée [15, 22]. Elle consiste à co-broyer les formes solides des polymères et des principes actifs pour co-amorphiser les deux composés directement à l'état solide. L'absence d'étapes de chauffage et de dissolution dans ce procédé mécanique prévient à la fois les dégradations chimiques d'origine thermique et les traces résiduelles de solvants toxiques. Cependant ce procédé nécessite des broyages longs à haute énergie [23] de sorte que son adaptation à la formulation industrielle semble difficile à implémenter.

La formulation des principes actifs par dispersion moléculaire dans des matrices polymères implique donc une bonne connaissance de la solubilité du principe actif cristallin dans les matrices polymères ainsi qu'une caractérisation précise de la transition vitreuse des solutions solides finales. Ces deux propriétés sont particulièrement importantes pour sélectionner le polymère approprié à la formulation d'un principe actif donné puisqu'elles définissent la quantité maximum de principe actif pouvant être chargée dans le polymère sans risque de recristallisation. Cependant et jusqu'à présent, peu d'investigations ont été réalisées sur la solubilité des principes actifs pharmaceutiques dans les polymères et aucune méthode standardisée pour mesurer cette solubilité avec efficacité n'a encore été établie. La difficulté de ces investigations résulte principalement de la très forte viscosité des polymères qui rend les états saturés d'équilibre très difficiles à atteindre. Cette difficulté devient même rapidement catastrophique lorsque l'on approche le domaine vitreux de la solution saturée. La dissolution intrinsèquement très lente du principe actif dans le polymère rend également très difficile la détermination de la transition vitreuse des mélanges. De plus, la validité des équations de Gordon-Taylor [24] ou de Couchman-Karaz [25] habituellement utilisées pour décrire la transition vitreuse des mélanges reste à démontrer lorsque les espèces chimiques impliquées sont aussi différentes qu'un polymère et une molécule de faible masse moléculaire.

#### **II OBJECTIFS SPECIFIQUES**

Les travaux réalisés dans cette thèse se situent dans le cadre du projet INTERREG IDEA (Improving Drug Efficacy and Availability) qui vise à améliorer la solubilité des principes actifs pharmaceutiques peu solubles. Au cours des vingt dernières années, plusieurs voies de formulation ont été élaborées pour améliorer cet aspect. L'une des plus efficaces est la formulation sous forme de dispersions moléculaires. Ces dispersions moléculaires (ou solution solides) sont obtenues en dispersant le principe actif à l'échelle moléculaire dans une matrice polymère amorphe. Elles constituent donc des solutions solides homogènes amorphes. Ce caractère est révélé en calorimétrie par l'existence d'un saut de chaleur spécifique unique (ie: une seule transition vitreuse) indiquant qu'un nouveau matériau amorphe caractérisé par un seul processus de relaxation a été créé. Ce type de formulation présente deux avantages majeurs vis à vis de la formulation :

(1) La dispersion moléculaire du principe actif permet à la fois d'augmenter sa limite de solubilité et d'accélérer sa cinétique de solubilisation dans l'eau et les fluides du corps humain. Cette formulation à l'état amorphe améliore donc considérablement la biodisponibilité des principes actifs peu solubles qui sont par ailleurs de plus en plus nombreux.

(2) La matrice polymère permet quant à elle de stabiliser la solution solide dans un état amorphe homogène en évitant la démixtion des deux composants et par voie de conséquence, la recristallisation du principe actif. Elle permet donc de garantir l'efficacité du médicament sur une échelle de temps compatible avec les durées de stockage habituelles.

Un challenge essentiel du développement pharmaceutique est d'optimiser le choix des couples polymère / principe actif, compte tenu des impératifs d'usage, d'élaboration, et de stabilités physique et chimique. Cela nécessite en particulier une connaissance quantitative de la stabilité physique des solutions solides amorphes et des transformations qu'elles peuvent subir.

L'objectif de la thèse est donc de développer des outils expérimentaux et numériques permettant de faciliter la détermination et la prédiction des diagrammes d'états des mélanges polymère / principe actif. Ces diagrammes sont des extensions des diagrammes de phases habituels complétés par la localisation des domaines métastables ou instables correspondants aux états vitreux (cf figure 1). Il s'agit donc de déterminer la courbe de solubilité du principe actif au sein du polymère amorphe et la courbe des Tg qui décrit l'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la composition du mélange. C'est un problème difficile

qui n'a été que très peu abordé jusqu'à présent. La difficulté vient essentiellement de la très forte viscosité des polymères qui gêne fortement le mélange des deux espèces chimiques et conduit à des temps de mise en équilibre incroyablement longs. L'idée essentielle de la thèse est de contourner cette limitation cinétique intrinsèque en explorant ce diagramme d'état par forçage mécanique, c'est-à-dire en forçant la miscibilité des deux composants par co-broyage et en étudiant ensuite leur démixtion plutôt que leur dissolution pour atteindre plus rapidement les différents états d'équilibre.



La détermination expérimentale systématique des courbes de solubilité étant intrinsèquement difficile et laborieuse, un deuxième objectif de cette thèse est de tester des méthodes numériques ab initio permettant de prédire les propriétés physico chimiques des systèmes « polymère / petite molécule ». L'objectif est d'estimer la solubilité du principe actif dans le mélange en calculant son activité chimique. Le calcul de l'activité chimique de mélanges entre petites molécules est possible grâce à des logiciels tels que COSMO-RS [26]. La difficulté majeure du calcul de l'activité chimique d'un mélange polymère / petite molécule réside dans la production numérique préalable d'un polymère reflétant la réalité expérimentale. Pour résoudre ce problème, Nous avons donc eu recours à des méthodes numérique originales de génération de phase amorphe, de grosses puissances de calcul et à des codes et champs de force performants.

#### **III ORGANISATION DE LA THESE**

Dans cette thèse, nous présentons une toute nouvelle méthode expérimentale de détermination des courbes de solubilité des principes actifs pharmaceutiques dans des matrices polymères. Comparativement aux méthodes classiques, cette nouvelle méthode est beaucoup plus rapide à mettre en œuvre et présente un champ d'application plus étendue. De plus, des techniques de simulations numériques "ab-initio" fondées sur une approche quantique seront également utilisées pour tenter de prédire les courbes de solubilité.

Au chapitre I, nous rappellerons les principaux éléments nécessaires à la compréhension de ce travail. Un point rapide sera en particulier fait sur les méthodes conventionnelles actuellement utilisées pour déterminer les courbes de solubilité des systèmes polymère / PA ainsi que sur les transformations structurales des matériaux, induites à l'état solide, par broyage mécanique. Ces transformations sont en effet à la base de la nouvelle méthode que nous proposons.

Au chapitre II, nous analyserons les raisons fondamentales pour lesquelles les états saturés sont si difficiles à atteindre par les voies classiques de dissolution du principe actif dans le polymère et nous proposerons une méthode originale pour atteindre ces états saturés beaucoup plus rapidement. Cette méthode est la pierre angulaire d'un nouveau protocole de détermination des courbes de solubilité que nous avons mis au point. Ce protocole sera présenté et validé sur l'exemple du système PVPK12 / indométacine.

Au chapitre III, nous utiliserons la méthode précédente pour déterminer la courbe de solubilité du système PVPK30 / griséofulvine. Cette courbe ne peut être déterminée par les méthodes classiques en raison des dégradations chimiques fortes engendrées par les protocoles expérimentaux. Cela montre que le champ d'application de la nouvelle méthode est plus vaste que celui des méthodes conventionnelles. De plus, en marge de cette étude, nous présenterons une étude détaillée du polymorphisme cristallin de la griséofulvine qui se révèle être finalement beaucoup plus complexe qu'attendu.

Au chapitre IV, nous testerons l'applicabilité de la méthode à un excipient non polymérique sur l'exemple du système  $\beta$ -cyclodextrine partiellement méthylée / griséofulvine. A cette occasion les possibilités de complexation, en solution et à l'état solide, de ces deux composés seront discutées.

Le chapitre V sera consacré à la détermination des courbes de solubilité par simulation numérique. Nous utiliserons en particulier des programmes commerciaux (Amorphous Cell, Turbomole, COSMO-RS) pour tenter de déterminer les courbes de solubilité des systèmes polymère / PA étudiés dans les chapitres II et III. La comparaison des résultats expérimentaux et des résultats numériques permettra de juger la validité des simulations.

# **Chapitre I : Rappels théoriques et bibliographiques**

## I Les solides moléculaires

Dans ce paragraphe, nous rappelons les principaux aspects théoriques concernant les états de la matière qui sont nécessaires à la compréhension de cette thèse. Les principaux points abordés seront les suivants :

- la dualité cristal / amorphe dans les matériaux moléculaires.
- les mécanismes de nucléation / croissance qui gouvernent généralement les transformations de la phase amorphe vers la phase cristalline.
- les propriétés caractéristiques de l'état amorphe, telle que la transition vitreuse par exemple.
- le polymorphisme cristallin.

## I.A Dualité cristal / amorphe des matériaux moléculaires

Les composés solides peuvent exister sous différentes formes (figure I-1) :

- sous forme cristalline, l'état cristallin étant caractérisé par la répétition de motifs atomiques et par un ordre à longue distance.
- sous forme solide amorphe (verre), cet état ne possédant pas d'ordre à longue portée.



Figure I-1 : Représentation schématique en deux dimensions du caractère ordonné d'un cristal et du caractère désordonné d'un amorphe.

La figure I-2 représente le diagramme de Gibbs d'un composé cristallisable. Audessus de la température de fusion  $T_f$ , la phase d'équilibre correspondant à l'état ayant l'enthalpie libre G (ou énergie libre de Gibbs) la plus faible est l'état liquide tandis que l'état cristallin, possédant une enthalpie libre plus élevée, n'est pas stable. A l'inverse, en dessous de la température de fusion  $T_f$ , la phase cristalline a une enthalpie libre inférieure à celle du liquide surfondu ce qui rend l'état cristallin plus stable. Aussi, quand on le refroidit sous  $T_f$ , le liquide tend à recristalliser.



Figure I-2 : Variation de l'énergie libre en fonction de la température montrant la variation d'énergie libre  $\Delta G$  associée à la cristallisation et le degré de surfusion  $\Delta T$ .

#### I.B Processus de cristallisation

Comme nous l'avons vu et de manière générale, pour des températures inférieures à la température de fusion  $T_f$  d'un composé, l'état cristallin est thermodynamiquement plus stable que l'état liquide.

Cependant lorsqu'un liquide est refroidit à des températures inférieures à  $T_f$ , la transformation de la phase liquide vers la phase cristal n'est pas instantanée et se produit généralement en deux étapes successives [27] :

- une première étape de nucléation (ou germination) au cours de laquelle des fluctuations locales et spontanées dans le système entrainent l'apparition de germes cristallins.
- **une seconde étape de croissance** au cours de laquelle les germes formés lors de l'étape de nucléation croissent selon des processus de diffusion atomique ou moléculaire.

#### I.B.1 L'étape de nucléation homogène

L'apparition d'un germe cristallin au sein d'un liquide est accompagnée par la formation d'une interface séparant les deux phases (Figure I-3.a). La formation d'un noyau (ou germe) stable et susceptible de croître résulte donc de la compétition entre l'énergie nécessaire à la création de cette interface et la force motrice de la transformation qui est reliée à l'énergie libre entre les deux phases (Figure I-3.b).

L'enthalpie libre de Gibbs associée à la formation d'un noyau supposé sphérique de rayon r peut ainsi s'exprimer de la manière suivante :

$$\Delta G = -\frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_V + 4\pi r^2 \sigma \qquad (I-1)$$

Où  $\sigma$  représente l'enthalpie libre de l'interface entre l'état liquide / cristal par unité de surface et  $\Delta G_V$  la différence d'énergie libre par unité de volume entre l'état liquide et l'état cristallin (cf Figure I-2).  $\Delta G$  présente donc un maximum défini pour une valeur critique r\* par :

$$r^* = \frac{2\sigma}{\Delta G_V} \tag{I-2}$$

et

$$\Delta G^* = \frac{16\pi\sigma^3}{3\Delta G_V^2} \tag{I-3}$$

 $\Delta G_v$  est la force motrice de transformation :

$$\Delta G_V = G_L - G_C = \Delta H - T\Delta S \tag{I-4}$$

En considérant que, pour une faible amplitude de surfusion  $\Delta T = T_f - T$ , la différence entre la chaleur spécifique du liquide et du solide est négligeable, les variations d'enthalpies et d'entropies correspondantes sont indépendantes de la température.

A la température de fusion du cristal, son enthalpie libre est égale à celle du liquide ce qui se traduit par :

$$\Delta H_f = T_f \Delta S_f \tag{I-5}$$

$$\Delta S_f = \frac{\Delta H_f}{T_f} \tag{I-6}$$

et

A partir de l'équation (I-4) et (I-6), on déduit l'expression suivante :

$$\Delta G_V = \Delta H_f - T \frac{\Delta H_f}{T_f} = \frac{\Delta H_f \Delta T}{T_f}$$
(I-7)

La force motrice de cristallisation augmente donc à mesure que la surfusion  $\Delta T$  augmente .En remplaçant dans l'expression I-2 et I-3 :

$$r^* = \frac{2\sigma T_f}{\Delta H_f \Delta T}$$
 et  $\Delta G^* = \frac{16\pi\sigma^3 T_f^2}{3\Delta H_f^2 \Delta T^2}$  (I-8)

Seuls les noyaux ayant un rayon r>r\* sont stables et peuvent se développer. Pour qu'il y ait nucléation, il faut franchir la barrière  $\Delta G^*$ et elle s'abaisse quand la surfusion augmente.

Après que la germination ait atteint un régime stationnaire, si l'on suppose que la concentration des noyaux de taille r suit une statistique de Boltzmann, alors la vitesse de nucléation N(T) est proportionnelle au nombre de molécules par unité de volume  $c_0$  et à la fréquence d'attachement  $f_0$  d'une molécule sur le noyau de taille critique r\*. La vitesse de nucléation aura donc la forme suivante :

N(T) 
$$\propto f_0 c_0 \exp\left(-\frac{\Delta G^*}{kT}\right)$$
 (I-9)

où  $f_0$  qui représente la fréquence d'attachement d'une molécule sur le noyau de taille critique r\*. Elle rend compte de la diffusion dans le liquide jusqu'à l'interface liquide / cristal. Cette diffusion dépend de la viscosité du système qui augmente dramatiquement pour des températures approchant la température de transition vitreuse comme le montre la figure I-4.b. La fréquence d'attachement d'une molécule sur l'interface liquide/cristal chute alors dramatiquement avec la baisse de température. Ainsi, la barrière de nucléation s'abaisse quand la température diminue alors que la mobilité qui pilote la diffusion diminue. La vitesse de nucléation passe donc par un maximum comme le montre la figure I-4a.



Figure I-3 : Schéma de formation d'un noyau cristallin de rayon r depuis l'état liquide conduisant à un changement d'énergie libre. La courbe verte représente l'évolution de l'enthalpie libre de la composante volumique du noyau, la courbe rouge celle de la composante d'interface liquide/cristal et la courbe bleue représente celle des noyaux cristallins dans leur intégralité.



Figure I-4 : Représentation schématique de l'évolution de la vitesse de nucléation en fonction de la température (a) et de la viscosité en fonction de la température (b). La courbe en pointillés verts représente l'évolution de la mobilité moléculaire avec la température tandis que la courbe rouge représente l'évolution de la barrière thermodynamique de nucléation avec la température. La ligne en pointillés noirs représente la température de transition vitreuse du matériau.

#### I.B.2 L'étape de croissance

Les noyaux stables formés lors de l'étape de nucléation ( $r > r^*$ ) peuvent continuer à croître par addition de nouvelles molécules.

La vitesse de croissance C(T) est ainsi contrôlée par la diffusion de nouvelles molécules vers l'interface entre le liquide et le cristal. Elle est donnée par la loi établie par Turnbull [28]. En effectuant le bilan entre le nombre de molécule provenant du liquide qui vient s'agglomérer sur le cristal et le nombre de molécules qui quitte le cristal :

C(T) 
$$\propto c_0 \exp\left(-\frac{A}{kT}\right) \left[1 - \exp\left(-\frac{V\Delta G_V}{kT}\right)\right]$$
 (I-10)

où V représente le volume molaire, A la barrière énergétique impliquée dans les mécanismes de diffusion et k la constante de Boltzmann.

Comme nous l'avons vu précédemment, plus la température est basse et plus la mobilité des molécules diminue (figure I-4) ce qui implique un ralentissement du mécanisme de croissance. De plus, à mesure que la température se rapproche du point de fusion, la différence d'énergie libre entre le liquide et le cristal diminue (Figure I-2). Ainsi, tout comme la vitesse de germination, la vitesse de croissance passe par un maximum pour une température inférieure à la température de fusion T<sub>f</sub> mais l'énergie interfaciale jouant un rôle moins important, ce maximum n'est pas forcément confondu avec celui de la nucléation (cf figure I-5.a). La zone hachurée correspond au domaine dans lequel la cristallisation est susceptible de se produire lors du refroidissement d'une phase liquide car il y a à la fois nucléation et croissance. Dans un diagramme Temps-Température-Transformation (dit T.T.T) qui représente le taux de cristallisation en fonction de la température et du temps (cf I-5.b), c'est dans cette plage de température que la vitesse de cristallisation est maximale (« nez de cristallisation »). Si le refroidissement du liquide est lent, le liquide passe dans la zone de cristallisation. En revanche, si le refroidissement du liquide est rapide (trempe), la zone de cristallisation maximale est évitée (« nez de cristallisation »), le liquide ne cristallise pas et un verre peut être obtenu.



Figure I-5 : Représentation schématique de l'évolution des vitesses de nucléation N et de croissance C cristallines en fonction de la température (a) et Diagramme Température-Temps-Taux de transformation (T.T.T) représentant le temps nécessaire, en fonction de la température, à la cristallisation d'une certaine fraction du composé (b).

#### **I.C Vitrification**

Lorsque l'on refroidit le liquide et que l'on évite la cristallisation, le matériau est donc dans un état de liquide surfondu.

Cependant, la diminution de la température du liquide sous-refroidi entraîne un ralentissement des mouvements moléculaires de rotation et de translation.

L'exploration de l'ensemble des configurations accessibles est de plus en plus difficile, jusqu'à ce que, la température continuant à diminuer, les réarrangements structuraux nécessaires au maintien de l'équilibre interne du liquide ne soient plus possibles sur l'échelle des temps expérimentaux imposée par la vitesse de refroidissement. Les mouvements sont alors tellement lents qu'ils semblent gelés et cela se traduit par une diminution abrupte de la chaleur spécifique  $C_p$  et du coefficient de dilatation  $\alpha$  comme représenté sur la figure I-6.b. Ce saut marque le passage du liquide métastable vers un état vitreux. Il définit la transition vitreuse calorimétrique et se produit à une température notée  $T_g$ . Le saut des deux grandeurs  $C_p$  et  $\alpha$  correspond à un changement de pente dans les évolutions de l'enthalpie H

$$\left(C_P = \left(\frac{dH}{dT}\right)_P\right)$$
 et du volume V  $\left(\alpha = \frac{1}{V}\left(\frac{\partial V}{\partial T}\right)_P\right)$  respectivement (Figure I-6.a).



Figure I-6 Refroidissement d'un liquide : représentation schématique de l'évolution en fonction de la température de l'enthalpie H et du volume V (a) et de la chaleur spécifique  $C_p$  et du coefficient de dilatation  $\alpha_p$  (b).

La transition vitreuse n'est pas une transition de phase au sens thermodynamique du terme puisque aucun changement structural ne l'accompagne ; il s'agit en fait d'un phénomène cinétique qui résulte de la compétition entre l'échelle de temps de l'expérience et l'échelle de temps de la relaxation structurale du composé étudié. Le ralentissement de la mobilité moléculaire pour les températures inférieures à T<sub>f</sub> a pour conséquence une augmentation de la viscosité du liquide métastable. Le diagramme d'Angell (figure I-7) montre l'évolution en échelle logarithmique de cette viscosité  $\eta$  et du temps de relaxation des mouvements lents  $\tau$  en fonction de l'inverse de la température normalisé à T<sub>g</sub> (T<sub>g</sub> étant définie comme la température pour laquelle la viscosité vaut 10<sup>13</sup> Poises [29] où le temps de relaxation vaut 100 s).



Figure I-7 : Diagramme d'Angell représentant en échelle logarithmique l'évolution de la viscosité  $\eta$  et du temps de relaxation des mouvements lents  $\tau$ , en fonction de l'inverse de la température normalisée à Tg.

On peut remarquer suivant le matériau, un écart plus ou moins important par rapport à une évolution de type Arrhénius que l'on attendrait dans le cadre des mouvements thermiquement activés. Pour caractériser ce comportement, on définit l'indice de fragilité m donnant la pente

de la tangente à la courbe à T<sub>g</sub>  $m = \left(\frac{d(\log \tau)}{d(Tg/T)}\right)_{T=T_g}$  [30] :

- Un comportement linéaire (suivant une loi d'Arrhenius) est observé pour des systèmes vitrifiables dits « forts » caractérisés par des indices de fragilités m faibles. Ce type de comportement est généralement retrouvé pour des liquides inorganiques (SiO<sub>2</sub>) présentant des interactions atomiques fortes (liaisons covalentes).
- Un comportement non linéaire (non arrhénien) est caractéristique des systèmes vitrifiables dits « faibles » caractérisés par des indices de fragilité m élevés. Ce type de comportement est généralement retrouvé pour des liquides organiques présentant des interactions atomiques faibles.

#### I.D Polymorphisme

Le liquide quand il recristallise ne recristallise pas forcément dans sa forme de départ. Pour des conditions expérimentales précises, telles que des perturbations liées à la pression ou à la température, des germes cristallins peuvent se développer ne possédant pas les caractéristiques du cristal de départ (maille et/ou symétrie différente) ce qui conduit à une forme dite polymorphique. Ces formes polymorphiques possédant des structures cristallines différentes, n'ont pas les mêmes propriétés thermodynamiques. En particulier, leur température de fusion n'est pas la même. On distingue :

- Les polymorphes qui sont en situation de monotropisme. Comme le montre la figure I-8, l'évolution de l'enthalpie libre en fonction de la température des formes I et II ne présente aucun point de croisement. La forme cristalline I, possédant la plus faible enthalpie libre G<sub>I</sub> est stable pour des températures inférieures à sa température de fusion T<sub>fI</sub> tandis que la forme cristalline II, ayant une enthalpie libre G<sub>II</sub> plus élevée que la forme I, est métastable dans tout le domaine de température.
- Les polymorphes qui sont en situation d'énantiotropisme (cf figure I-9). L'évolution de l'enthalpie libre en fonction de la température des formes I et II présente cette fois un point de croisement à la température T<sub>t</sub> qui indique une transition entre la forme I et la forme II. La forme cristalline II est stable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fII</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et instable pour des températures inférieures à T<sub>t</sub>. Au contraire, la forme cristalline I est instable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et instable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et stable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et stable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et stable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et stable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et stable pour des températures comprises entre sa température de fusion T<sub>fI</sub> et le point de croisement T<sub>t</sub> et stable pour des températures inférieures à T<sub>t</sub>.



Figure I-8 : Schéma représentant l'évolution de l'enthalpie libre molaire de Gibbs G en fonction de la température dans le cas d'un système monotrope.



Figure I-9 : Schéma représentant l'évolution de l'enthalpie libre molaire de Gibbs G en fonction de la température dans le cas d'un système énantiotrope.

En résumé, les matériaux moléculaires peuvent, à l'état solide, se présenter sous différentes formes (cristal stable, polymorphe métastable ou amorphe) qui n'ont pas les mêmes propriétés, en particulier de stabilité. Ainsi la forme cristalline stable est la moins soluble tandis que la forme amorphe (instable) présente généralement les meilleures propriétés de biodisponibilité. Afin de maitriser ces propriétés, il est indispensable de connaitre les propriétés physiques de ces différents états.

## II Stabilité des mélanges excipient / principes actif

En pratique, les principes actifs ne sont jamais utilisés seuls, ils sont toujours associés à un excipient. Nous allons donc rappeler dans ce paragraphe les principaux éléments qui permettent de comprendre la stabilité physique de ces mélanges. Après avoir défini l'enthalpie libre de mélange de solutions régulières, nous aborderons les notions de potentiels et activités chimiques, de la limite de solubilité et nous verrons comment se comporte la température de transition vitreuse d'un mélange en fonction de sa composition.

#### II.A Enthalpie libre de mélange de solutions régulières

Soit un système de  $N_A$  molécules de A et  $N_B$  molécules de B formant un mélange homogène composé de N molécules. On considère que les molécules A et B sont des sphères de même taille et sont arrangées de façon aléatoire dans un réseau imaginaire à N cases (figure I-10) :

0	•	0	•	0	•	0	•
•	0	0	0	•	•	•	0
0	•	0	•	0	•	0	•
•	•	0	•	•	0	0	0
•	0	0	0	0	•	0	0
0	0	0	•	0	•	0	•

Figure I-10 : Réseau à 2 dimensions représentant un mélange de composés de petites tailles moléculaires A (•) et B (°).

#### \* Expression de l'entropie de mélange

Dans le cas des solutions régulières, on assimile l'entropie de mélange,  $\Delta S_{mél}$ , à l'entropie configurationnelle  $S_C$ . La formule de Boltzmann relie l'entropie configurationelle du système au nombre d'arrangements possibles des molécules dans le réseau :

$$S = k \ln \Omega \tag{I-11}$$

où

$$\Omega = \frac{N!}{N_A! N_B!} \tag{I-12}$$

En utilisant l'approximation de Stirling :

$$\ln N! = N \ln N - N \tag{I-13}$$

On obtient l'expression de  $\Delta S_{m\acute{e}l}$  :

$$\Delta S_{m\acute{e}l} = S_c = -k \left[ N_A \ln x_A + N_B \ln x_B \right]$$
(I-14)

où  $x_A$  et  $x_B$  représentent les fractions molaires de A et de B. Cette expression est équivalente à l'expression faisant intervenir les nombres de mole  $n_A$  et  $n_B$  des composés A et B respectifs :

$$\Delta S_{m\acute{e}l} = S_c = -R[n_A \ln x_A + n_B \ln x_B]$$
(I-15)

où R est la constante des gaz parfaits.

#### \* Expression de l'enthalpie de mélange

Les  $N_A$  molécules de A et les  $N_B$  molécules de B, peuvent, dans le mélange, interagir entre elles par paires, c'est-à-dire peuvent créer des interactions A-A, B-B et A-B. Le nombre de paires de chaque interaction est représenté respectivement par  $N_{AA}$ ,  $N_{BB}$  et  $N_{AB}$ .

On définit ici l'énergie interne de mélange  $U_{AB}$  comme la somme des contributions énergétiques  $\varepsilon$  (terme de valeur négative) de chaque paire moléculaire :

$$U_{AB} = N_{AA} \varepsilon_{AA} + N_{BB} \varepsilon_{BB} + N_{AB} \varepsilon_{AB}$$
(I-16)

Et le nombre de chaque paire moléculaire est définit par :

$$N_{AA} = \frac{1}{2} N_A z. P_{AA} \quad ; \quad N_{BB} = \frac{1}{2} N_B z. P_{BB} \quad ; \quad N_{AB} = \frac{1}{2} N \ z. P_{AB} \qquad (I-17)$$

où z représente le nombre de valence et  $P_{AA}$ ,  $P_{BB}$  et  $P_{AB}$  la probabilité d'existence des paires AA, BB et AB respectives. Ces probabilités sont égales à :

$$P_{AA} = x_A$$
;  $P_{BB} = x_B$ ;  $P_{AB} = 2P_{AA}.P_{BB}$  (car  $P_{AB}=P_{BA}$ ) (I-18)

où x<sub>A</sub> et x<sub>B</sub> sont les fractions molaires des molécules A et B respectivement :

$$x_A = \frac{N_A}{N}$$
 et  $x_B = \frac{N_B}{N}$  (I-19)

En remplaçant dans l'expression (I-16), on obtient l'expression de l'énergie interne de mélange  $U_{AB}$  :

$$U_{AB} = \frac{1}{2} Nz \Big[ x_A^2 \varepsilon_{AA} + x_B^2 \varepsilon_{BB} + 2x_A x_B \varepsilon_{AB} \Big]$$
(I-20)

La variation d'énergie interne du mélange  $\Delta U_{mél}$  est définie comme la différence entre l'énergie interne du mélange AB et l'énergie interne des produits purs :

$$\Delta U_{m\acute{e}l} = U_{AB} - U_A - U_B \tag{I-21}$$

où

$$U_{A} = N_{AA} \varepsilon_{AA} \quad ; \quad U_{B} = N_{BB} \varepsilon_{BB} \tag{I-22}$$

Et en utilisant les expressions (I-20) et (I-21), on obtient :

$$\Delta U_{m\acute{e}l} = N.z.x_A x_B \left[ \varepsilon_{AB} - \frac{1}{2} \left( \varepsilon_{AA} + \varepsilon_{BB} \right) \right] = W x_A x_B$$
(I-23)

$$W = Nz \left[ \varepsilon_{AB} - \frac{1}{2} \left( \varepsilon_{AA} + \varepsilon_{BB} \right) \right]$$
(I-24)

où

La variation d'énergie interne  $\Delta U_{m\acute{e}l}$  est reliée à la variation d'enthalpie de mélange  $\Delta H_{m\acute{e}l}$  par l'expression suivante :

$$\Delta U_{m\acute{e}l} = \Delta H_{m\acute{e}l} - P.\Delta V_{m\acute{e}l}$$
(I-25)

où  $\Delta V_{m\acute{e}l}$  représente la variation du volume du mélange et P la pression. En faisant l'hypothèse que la variation de volume lors du mélange est négligeable ( $\Delta V_{m\acute{e}l} = 0$ ), la variation de l'énergie interne du mélange et la variation d'enthalpie du mélange sont égales ( $\Delta U_{m\acute{e}l} = \Delta H_{m\acute{e}l}$ ). On peut alors écrire que :

$$\Delta H_{m\acute{e}l} = W x_A x_B \tag{I-26}$$
### \* Expression de l'enthalpie libre de mélange

La variation d'enthalpie libre de mélange  $\Delta G_{mél}$  est reliée à l'enthalpie de mélange  $\Delta H_{mél}$  et à l'entropie de mélange  $\Delta S_{mél}$  par l'expression suivante :

$$\Delta G_{m\acute{e}l} = \Delta H_{m\acute{e}l} - T.\Delta S_{m\acute{e}l}$$
(I-27)

En remplaçant les expressions (I-15) et (I-26) dans l'équation (I-27), on obtient alors l'expression de l'enthalpie libre de mélange  $\Delta G_{mél}$ :

$$\Delta G_{m\acute{e}l} = W x_A x_B + RT [n_A \ln x_A + n_B \ln x_B]$$
(I-28)

Suivant les valeurs de W et de T, différents cas de figures peuvent être rencontrés :

- Les interactions entre A et B sont plus favorables que les interactions AA et BB (W < 0). L'enthalpie de mélange est alors négative  $\Delta H_{m\acute{e}l} < 0$  ainsi que l'enthalpie libre de mélange  $\Delta G_{m\acute{e}l} < 0$  (Figure I-11) : il y a formation d'une solution homogène stable.
- Les interactions entre A et B, AA et BB sont équivalentes ( $\varepsilon_{AB} = \varepsilon_{AA} = \varepsilon_{BB}$ ). L'enthalpie de mélange est nulle  $\Delta H_{mél} = 0$  et l'enthalpie libre de mélange ne dépend que de la température et du terme entropique  $\Delta G_{mél} = -T \Delta S_{mél.} < 0$ : il y a formation d'une solution homogène stable (solution idéale).



Figure I-11 : Evolution de  $\Delta G_{m\acute{e}l}$ ,  $\Delta H_{m\acute{e}l}$  et T. $\Delta S_{m\acute{e}l}$  en fonction de la composition dans le cas où les interactions AB sont plus favorables que les interactions AA et BB

- Les interactions entre A et B sont moins favorables que les interactions AA et BB (W > 0) : il y a compétition entre  $\Delta H_{m\acute{e}l}$  et  $-T\Delta S_{m\acute{e}l} < 0$ .

\* Pour les hautes températures T  $\Delta S_{m\acute{e}l} > \Delta H_{m\acute{e}l}$  (Figure I-12.a) quelle que soit la composition. L'enthalpie libre de mélange a une courbure négative pour tous les points.

\* Pour les basses températures,  $T\Delta S_{m\acute{e}l}$  est plus faible.  $\Delta G_{m\acute{e}l}$  développe une courbure qui contient une portion où  $\frac{\partial^2 G}{\partial x_B^2} < 0$ . Cette portion correspond à un domaine d'instabilité entre  $x_{\alpha}$  et  $x_{\beta}$ , le système démixte et 2 phases de compositions  $x_{\alpha}$  et  $x_{\beta}$  se forment car ce système est plus stable qu'un mélange homogène (Figure I-12.b).



Figure I-12 : Evolution de  $\Delta G_{m\acute{e}l}$  en fonction de la composition dans le cas où les interactions AB sont moins favorables que les interactions AA et BB à haute (a) et basse (b) température

### **II.B** Potentiels et activités chimiques

Il est intéressant de savoir de combien varie l'enthalpie libre d'un système quand on fait varier la quantité d'un des composés. Si l'on ajoute  $dn_A$  mole de A ( $dn_A$  petit) à T, P et  $n_B$  constants, la variation de l'enthalpie libre du système dG est proportionnelle à  $dn_A$ :

$$dG = \mu_A dn_A \tag{I-29}$$

où  $\mu_A$  est une constante de proportionnalité. C'est l'énergie libre molaire partielle ou potentiel chimique de A dans le mélange.

D'une manière générale, le potentiel chimique d'un composé i dans le mélange est :

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G_i}{\partial n_i}\right)_{T,P,n_j} \tag{I-30}$$

A T et P fixées, si l'on ajoute 1 mole de mélange, sans changer la composition, l'énergie libre du mélange augmente de :

$$G = \mu_A n_A + \mu_B n_B \tag{I-31}$$

Par identification avec l'équation I-28, les potentiels chimiques des composés A et B dans la solution sont :

$$\mu_A = G_A + RT \ln x_A + W(1 - x_A)^2 \quad ; \quad \mu_B = G_B + RT \ln x_B + W(1 - x_B)^2 \quad (I-32)$$

Si la solution est idéale (W = 0):

$$\mu_A = G_A + RT \ln x_A \quad ; \quad \mu_B = G_B + RT \ln x_B \tag{I-33}$$

Cette expression est simple, aussi dans le cas où  $W \neq 0$ , on retient une expression similaire en définissant l'activité chimique des composés, a, telle que :

$$\mu_A = G_A + RT \ln a_A \quad ; \quad \mu_B = G_B + RT \ln a_B \tag{I-34}$$

Si la solution est idéale,  $a_i = x_i \text{ sinon}$  :

$$\ln \frac{a_i}{x_i} = \frac{W}{RT} (1 - x_i)^2 = \ln \gamma_i$$
 (I-35)

où  $\gamma_i = \frac{a_i}{x_i}$  est le coefficient d'activité du composé i dans la solution.

Quand on connait l'évolution en fonction de la composition de l'enthalpie libre d'un mélange AB, les potentiels chimiques  $\mu_A$  et  $\mu_B$  peuvent être obtenus en extrapolant la tangente à G(x<sub>B</sub>) pour une valeur donnée de x<sub>B</sub> (cf Figure I-13).



Figure I-13 : Schéma décrivant l'évolution de  $\Delta G_{mél}$  en fonction de la composition et illustrant la relation liant l'énergie libre  $G_i$ , le potentiel chimique  $\mu_i$  le coefficient d'activité chimique  $a_i$  d'un composé i.

Dans le cas où un système à l'équilibre est constitué de plusieurs phases, pour chaque constituant, les potentiels chimiques dans chaque phase sont égaux. Par exemple, sur la figure I-12.b,  $\mu_A^{\alpha} = \mu_A^{\beta} = \mu_A \operatorname{et} \mu_B^{\alpha} = \mu_B^{\beta} = \mu_B$ .

### II.C Limite de solubilité

Si l'on ajoute à un solvant A un composé B cristallin, à une température donnée, le composé B va se dissoudre dans A tant que le potentiel chimique de B dans le mélange  $\mu_B$  est inférieur à l'enthalpie libre du composé B cristallisé  $G_B^C$ . A cette température, la concentration de B présente dans le mélange quand l'équilibre  $\mu_B = G_B^C$  est atteint, définit la limite de solubilité du composé B dans le solvant A.

A température donnée et à l'équilibre :  $\mu_B = G_B^C$ 

$$\mu_B = G_B^L + RT \ln a_B \tag{I-36}$$

L'activité chimique du composé B peut alors être définie comme :

$$a_{B} = \exp\left(\frac{\mu_{B} - G_{B}^{L}}{RT}\right) = \exp\left(\frac{G_{B}^{C} - G_{B}^{L}}{RT}\right) = \exp\left(\frac{-\Delta G_{f}}{RT}\right)$$
(I-37)

En utilisant les équations I-5 et I-32, on obtient une relation entre la température et la concentration à saturation :

$$\frac{\Delta H_f}{RT} \left( \frac{T - T_f}{T_f} \right) = \ln x_B + \frac{W}{RT} \Delta H_f \left( 1 - x_B \right)^2$$
(I-38)

Cette relation permet de définir l'évolution de la limite de solubilité d'un composé A dans un solvant B en fonction de la température (cf figure I-14).

avec

or



Figure I-14 : Schéma de la température en fonction de la composition illustrant la limite de solubilité (courbe rouge) entre un mélange A et B liquide et une phase cristalline B.

Dans le cadre d'un mélange polymère / principe actif et en considérant que les molécules de principe actif ont le même comportement que dans le cadre des solutions régulières au sein d'une matrice polymère, on peut écrire l'équation suivante qui définit l'équilibre entre le mélange polymère/PA (terme de gauche dont la démonstration est détaillé en Annexe 1) et la phase solide de PA à une certaine température :

$$\left[\ln(\phi_B) + \left(1 - \frac{1}{x}\right)\left(1 - \phi_B\right) + \chi\left(1 - \phi_B\right)^2\right] = \frac{\Delta H_f}{RT} \left[\frac{T}{T_f} - 1\right]$$
(I-39)

La température d'équilibre des phrases peut alors être exprimée en fonction de la fraction volumique de polymère :

$$T = \frac{T_f \Delta H_f}{\Delta H_f - RT_f \left[ \ln(\phi_B) + \left(1 - \frac{1}{x}\right) (1 - \phi_B) + \chi (1 - \phi_B)^2 \right]}$$
(I-40)

Pour des températures supérieures à la courbe représentant la limite de solubilité (courbe rouge figure I-14), le mélange homogène est stable, en dessous, le mélange est instable et l'on a démixtion : il y a deux phases en présence : le mélange homogène saturé en B et l'excès de B cristallisé.

La courbe représentative de la limite de solubilité ne prend cependant pas en compte la cinétique de séparation des phases cristallines et liquides qui est intrinsèquement reliée à la mobilité moléculaire. La température de transition vitreuse du mélange homogène permet cependant de déterminer à partir de quelle température le mélange sera ralenti jusqu'à ce que les mouvements moléculaires se figent.

### **II.D** Evolution de la température de transition vitreuse d'un mélange amorphe homogène : loi de Gordon-Taylor

Nous avons vu précédemment que s'il était possible d'éviter la cristallisation d'un liquide lors de son refroidissement, on pouvait le figer dans un état solide et obtenir un verre caractérisé par la température de transition vitreuse  $T_g$ . De la même façon, quand on a un mélange homogène amorphe de 2 composés, il est possible d'obtenir ce mélange à l'état vitreux. Ce verre est caractérisé par une température de transition vitreuse qui dépend de la composition du mélange. En général, la température de transition vitreuse du mélange binaire homogène amorphe est comprise entre celles des composés purs. De nombreux auteurs ont proposé des lois pour prédire, à partir des propriétés des constituants, l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange est celle de Gordon et al [24] qui s'appuie sur la théorie de l'entropie de configuration introduite par Gibbs et Dimarzio et qui se base sur l'hypothèse d'une solution régulière (l'entropie d'excès du mélange est négligée) :

$$T_g(m\acute{e}l) = \frac{\phi_{1.}T_{g1} + K(1-\phi_{1})T_{g2}}{\phi_{1} + K(1-\phi_{1})}$$
(I-41)

où Tg représente la température de transition vitreuse de la solution amorphe et homogène, Tg<sub>1</sub> et Tg<sub>2</sub> les températures de transition vitreuse des composés purs, et K est un coefficient relié aux amplitudes des sauts de chaleur spécifique à la transition vitreuse,  $\Delta C_p$ , des composés purs :  $K = \frac{\Delta C_{p2}}{\Delta C_{p1}}$ .  $\Phi_1$  représente la fraction volumique du composé 1 dans le mélange.

### **II.E** Transformations sous broyage mécanique

Le broyage mécanique est généralement utilisé pour modifier la microstructure des poudres et en particulier diminuer la taille des grains qui la constituent [31, 32]. Il peut cependant aussi changer l'état structural du matériau.

### II.E.1 Transformations de composés purs sous broyage

Le schéma de la figure I-15 illustre les principales transformations qui sont fréquemment observées lors du broyage d'une poudre cristalline. On peut avoir, soit une transformation polymorphique vers une forme cristalline métastable, soit une amorphisation du matériau. De plus, si cette amorphisation se produit en dessous de la température de transition vitreuse du liquide correspondant, il est possible d'observer des transformations directe cristal  $\rightarrow$  verre à l'état solide. Cette possibilité offre une alternative originale à la trempe thermique classique du liquide pour l'obtention d'états amorphes. Elle permet notamment d'amorphiser des matériaux qui présentent des modifications chimiques au chauffage (dégradation [33], mutarotation [34],...)



Figure I-15 : Diagramme de stabilité de Gibbs représentant l'évolution de l'enthalpie libre G en fonction de la température au cours de la trempe du liquide ou du broyage.

Il a été montré récemment et notamment au laboratoire [20, 35, 36] que les transformations polymorphiques sont essentiellement observées lorsque les matériaux sont broyés au-dessus de leur température de transition vitreuse. C'est par exemple le cas de l'indométacine [35, 37], du modafinil [38], de la fanansérine [36], du mannitol [20] ou la sulfamérazine [39].

Les amorphisations sont ,quant à elles, plutôt observées lorsque les matériaux sont broyés en dessous de cette température de transition vitreuse. C'est par exemple le cas du lactose [40], du tréhalose [41] ou du sucrose [42].

En fait, les transformations induites par broyage résultent d'une compétition entre un processus de désorganisation structurale induit par le broyage lui-même et un processus de recristallisation qui dépend fortement de la température. Aux températures inférieures à la température de transition vitreuse, la faible mobilité moléculaire des solides désordonnés rend totalement inefficace le processus de recristallisation. Dans ce cas, une amorphisation est donc observée. Par contre, aux températures supérieures à la température de transition vitreuse, la recristallisation est beaucoup plus efficace que la mise en désordre due au broyage. On observe alors, soit aucun changements structuraux si la recristallisation s'opère vers la forme cristalline de départ, soit une transformation polymorphique si la recristallisation sous broyage dans la zone de transition vitreuse résulte donc directement de la mobilité moléculaire qui varie très rapidement dans ce domaine de température.

Des études menées au laboratoire [35] ont montré, sur l'exemple de l'indométacine  $(Tg = 46^{\circ}C)$  que la nature de la transformation induite par broyage est gouvernée par :

- l'intensité du broyage : l'indométacine broyée pendant 24h à température ambiante s'amorphise partiellement, se transforme en une phase métastable ou s'amorphise totalement pour des vitesses de rotation du broyeur respectives de 150, 200 et au-delà de 300 tours / minutes.
- la température de broyage : le broyage de l'indométacine pendant 4h à la température ambiante ou en dessous de 4°C conduit respectivement à une amorphisation partielle ou à une amorphisation totale de l'échantillon.

Ces observations suggèrent que l'état physique après broyage dépend de la température et de l'intensité à laquelle il est réalisé. Ainsi, l'amorphisation totale d'un matériau organique par broyage requiert d'être réalisé à une température d'au moins 40 degrés inférieure à la température de transition vitreuse du matériau et à une vitesse de rotation du broyeur d'au moins 300 tours / minute.

#### II.E.2. Obtention d'alliages sous broyage

Il est également possible de réaliser des alliages amorphes par cobroyage des composés cristallins purs. On parle alors de « mechanical alloying » ou mécanosynthèse d'alliages moléculaires. Ce mélange présente l'avantage pratique d'être réalisé directement à l'état solide et sans utiliser de solvant. Le succès de l'opération se traduit en calorimétrie par la présence d'un seul saut de chaleur spécifique (Cp), dans les thermogrammes, situés entre les sauts de chaleur spécifique des composés purs. Ce saut de chaleur spécifique unique prouve qu'un nouveau matériau caractérisé par un seul et même méchanisme de relaxation a été obtenu par broyage. L'évolution de la température de transition vitreuse du mélange en fonction de sa composition peut être décrite en général par une loi de Gordon-Taylor que nous avons vu dans la partie II.D de ce chapitre.

Comme pour le broyage des composés purs, l'obtention d'un alliage amorphe homogène par cobroyage n'est possible que si le broyage est réalisé à une température inférieure à la température de transition vitreuse du mélange attendue. C'est par exemple le cas des systèmes lactose/budesonide (a) [41] et lactose/mannitol (b) [41] dont l'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la fraction molaire est représentée sur la figure I-16.a et sur la figure I-16.b respectivement.



Figure I-16 : Evolution des températures de transition vitreuse des mélanges cobroyés à température ambiante lactose/budesonide (a) et lactose/mannitol (b) en fonction, respectivement, de leur fraction molaire en budesonide et en mannitol. Le trait plein représente l'ajustement sur la loi de Gordon-Taylor et le trait pointillé est un guide pour les yeux.

# III Méthodes usuelles d'obtention des diagrammes de solubilité polymère / PA

L'état amorphe instable présente en général une meilleure biodisponibilité [43] que l'état cristallin. Il est par contre systématiquement moins stable et recristallise, plus ou moins rapidement, vers des formes cristallines plus stables. D'un point de vue pratique, pour tirer parti de la biodisponibilité accrue de l'état amorphe sans avoir les inconvénients de son instabilité, il est nécessaire de recourir à des procédés permettant d'augmenter sa stabilité physique. Pour ce faire, l'une des techniques les plus couramment utilisée consiste à disperser des molécules de principe actif au sein d'un excipient polymérique de haute température de transition vitreuse [44] par différentes techniques tels que le spray drying [14], la lyophilisation (freeze drying) [45], le broyage [46] ou encore l'extrusion [47].

## III.A Présentation générale des diagrammes de solubilité polymère / PA

La dispersion moléculaire d'un principe actif au sein d'une matrice polymère est généralement utilisée pour stabiliser le principe actif à l'état amorphe. La matrice polymérique réduit alors fortement la mobilité du principe actif et donc sa capacité à recristalliser rapidement. Bien entendu, tout comme pour un solvant classique, il existe une limite à la solubilisation du principe actif dans le polymère. Il s'agit de la limite de solubilité qui dépend de la température. Au-delà de cette limite, les molécules de PA initialement dispersées se regroupent et recristallisent inévitablement. Afin d'être en mesure d'identifier les conditions pour lesquelles le PA recristallise ou non, il est indispensable de déterminer le diagramme d'état du système binaire. Ce diagramme est constitué de la courbe de solubilité du principe actif au sein du polymère et de la courbe donnant l'évolution des températures de transition vitreuse du mélange. Il permet de définir la quantité maximale de principe actif qui peut être dispersé dans le polymère sans risque de recristallisation ultérieure. La figure I-17 présente un diagramme d'état schématique typique. On y distingue 4 zones :



Figure I-17 : Schéma représentant l'évolution des concentrations d'équilibre en fonction de la température (en rouge) et l'évolution des températures de transition vitreuse du mélange (en bleu). Le croisement de ces deux courbes délimite des zones de stabilité A, B, C et D. Les voies 1, 2, 3 et 4 décrivent les manières d'obtenir un point de la courbe de solubilité.

- Zone A & Zone B (Idéales, pas de risque de recristallisation): Le mélange se situe audessus de la courbe de solubilité et en dessous de la courbe de transition vitreuse. Le PA est donc parfaitement soluble dans le polymère dans ces domaines de composition et de température pour le mélange. Cette zone est idéale pour la formulation pharmaceutique.
- Zone C (risque élevé de démixtion et recristallisation) : Le mélange se situe en dessous de la courbe de solubilité Le mélange demixte et le PA recristallise d'autant plus que la mobilité moléculaire dans cette zone de température le permet.
- Zone D (risque faible de démixtion et recristallisation) : Le mélange se situe en dessous de la courbe de solubilité mais aussi en dessous de la courbe de transition vitreuse. Le mélange est toujours sursaturé et donc instable, mais la mobilité est fortement ralentie sous la courbe des Tg du mélange. Il y a donc une tendance à la démixtion et la recristallisation du PA en excès dans le mélange mais cette recristallisation est grandement freinée par une mobilité très faible.

Jusqu'à présent, très peu d'études ont été menées pour obtenir les diagrammes de solubilité polymère / PA. Cela est dû aux nombreuses difficultés qu'impliquent de tels systèmes. La difficulté principale provient de la grande viscosité du polymère qui rend très difficile, et donc très long, le mélange de deux espèces chimiques. Cet avantage pour stabiliser les PA amorphes devient un inconvénient majeur pour la détermination de la limite de solubilité du mélange. Il existe en théorie quatre manières de déterminer les points de la courbe de solubilité (voie 1, 2, 3 et 4 de la figure I-17) :

- Voie 1 ↓ : On refroidit un mélange polymère / principe actif initialement homogène de composition donnée et on mesure la température à laquelle le principe actif commence à recristalliser.
- Voie 2 ↑ : On chauffe un mélange physique polymère / principe actif de composition donnée et on mesure la température à laquelle le principe actif est complétement solubilisé.
- Voie  $3 \rightarrow :$  A température donnée, on mesure la quantité maximale de principe actif qu'on peut solubiliser dans le polymère.
- Voie 4 ← : A température donnée, on suit la démixtion d'un mélange initialement sursaturé en principe actif et on mesure la concentration en principe actif restant dans le mélange quand l'équilibre est atteint.

Deux méthodes de détermination expérimentales des diagrammes de solubilité [48, 49] explorant les voies 2 et 3 ont déjà été proposées et sont détaillées dans la suite de ce chapitre.

### **III.B** Méthode par dissolution du PA dans le polymère au cours de rampes en température (voie 2)

Une première méthode proposée par Tao & al [49] consiste à préparer un mélange physique polymère / principe actif de composition donnée et à le chauffer in situ dans une DSC jusqu'à ce que la dissolution du principe actif dans le polymère soit totale. Comme indiqué sur le schéma I-18.a, la dissolution se traduit en DSC par un endotherme large semblable à celui d'une fusion. La température à laquelle cet endotherme se termine marque la fin du processus de dissolution.

Cela signifie que la composition du mélange saturé à cette température de fin est exactement celle du mélange physique initial. La composition initiale et la température de fin de l'endotherme permettent donc théoriquement d'obtenir un point de la courbe de solubilité. Cependant, en pratique, la position du pic de dissolution apparaît très dépendante de la vitesse à laquelle le mélange physique est chauffé. Il se déplace en particulier vers les basses températures quand la vitesse de chauffé diminue (figure I-18.a). Cet effet est clairement dû à

la très forte viscosité des polymères qui rend l'échelle de temps du processus de dissolution nettement supérieure à l'échelle de temps du scan DSC. La température marquant la fin du processus de dissolution est donc systématiquement surestimée.

Ce problème est généralement contourné en déterminant les températures de fin de dissolution du mélange physique pour différentes vitesses de chauffe et en extrapolant ces valeurs pour une vitesse de chauffe nulle (figure I-18.b). Cette valeur extrapolée correspond alors à la véritable température pour laquelle la concentration en PA du mélange physique initial correspond à la limite de solubilité.



Figure I-18 : Schéma représentant la dissolution d'un PA dans une matrice polymère au cours d'expériences de DSC pour différentes vitesses de rampes en température. Les températures de chaque fin d'endotherme sont reportées sur le diagramme représentant la vitesse de chauffe en fonction de la température (b) puis extrapolés vers une température à vitesse de rampe nulle. L'insert permet de situer la composition du mélange physique de départ sur le diagramme de solubilité ainsi que l'évolution du mélange jusque la courbe d'équilibre (en rouge).

Cette méthode est bien sûr extrêmement longue à mettre en œuvre puisqu'elle nécessite de nombreux scans DSC qui sont, pour la plupart, très lents. De plus, elle nécessite une extrapolation qui nuit à la précision des résultats. Il est à noter, que pour faciliter le processus de dissolution les auteurs de cette méthode ont proposé de co-broyer brièvement le mélange physique initial de manière à diminuer la taille des cristallites de PA et à les disperser au sein de la matrice polymère. La dispersion et la réduction de taille ont toutes les deux pour effet d'accélérer le processus de dissolution en réduisant les mécanismes de diffusion nécessaire au mélange des deux espèces chimiques. Cependant, malgré cette amélioration, la méthode reste fastidieuse à mettre en œuvre.

# **III.C** Méthode par dissolution du PA dans le polymère au cours de traitements isothermes (voie 3)

Une autre méthode, plus précise, a également été proposée par Sun & al [48] quelques années plus tard. Dans cette méthode, un mélange physique polymère / PA de composition donnée, est recuit à une température donnée pendant un temps suffisamment long (typiquement 10 heures) pour tenter d'obtenir un mélange saturé en PA par dissolution du PA au sein du polymère. Le mélange recuit est ensuite analysé par DSC pour chercher un éventuel pic endothermique de dissolution résiduelle comme illustré sur la figure I-19.



Figure I-19 : Schéma représentant le signal DSC au cours du réchauffage d'un mélange physique de composition choisie après une isotherme de 10h à deux températures différentes encadrant la courbe de solubilité (en rouge).

Si aucun pic de dissolution résiduel n'est observé - comme c'est le cas pour la courbe verte - cela indique que la dissolution a été totale au cours du recuit. Le point de la courbe de solubilité correspondant à la composition initiale est donc en fait situé à une température plus basse que la température de recuit. A l'inverse, la présence d'un pic de dissolution résiduel -

comme c'est le cas pour la courbe noire - indique que la dissolution du PA au sein du polymère au cours du recuit n'est pas totale. Le point de la courbe de solubilité correspondant à la composition initiale est donc situé à une température plus haute que la température de recuit. Cependant, dans ce cas, le caractère partiel de la dissolution peut aussi être dû à l'extrême lenteur du processus de dissolution qui n'est alors tout simplement pas arrivé à son terme à la fin du recuit. Dans ce cas, un recuit plus long (typiquement 20 heures) doit être réalisé pour vérifier ce point. En répétant cette procédure de recuit à différentes températures, il est donc possible de déterminer par dichotomie le point de la courbe de solubilité correspondant à la concentration du mélange physique initial. Cette méthode de type "essaierreur" permet d'obtenir des courbes de solubilité relativement précises mais elle nécessite la réalisation de nombreux scans DSC et de longues étapes de recuits isothermes. Cette méthode apparaît donc comme encore plus laborieuse que la précédente.

En résumé, les deux méthodes précédentes permettent de déterminer les courbes de solubilité polymère / PA mais elles nécessitent des temps de mise en œuvre extrêmement longs. En pratique, plusieurs semaines sont en général nécessaires pour établir une seule de ces courbes. Ce problème est directement lié au fait que les mélanges saturés en PA sont obtenus par dissolution du PA au sein du polymère c'est à dire par un processus de diffusion très lent. Cette lenteur devient d'ailleurs cruciale à l'approche de la température de transition vitreuse des mélanges étudiés puisque dans ce domaine de température la mobilité moléculaire décroît très rapidement. De ce fait, les méthodes précédentes sont inutilisables en dessous de la température de transition vitreuse des mélanges étudiés.

### Chapitre II : Nouvelle méthode de détermination des diagrammes polymère / principe actif

# I Principe de la méthode proposée pour déterminer les diagrammes de solubilité polymère / principe actif

### I.A Comparaison des cinétiques de dissolution et de démixtion

Nous avons vu au chapitre précédent la difficulté d'obtenir des alliages amorphes polymère / PA saturés en principe actif. Nous présentons dans ce chapitre une méthode originale permettant d'obtenir ces états saturés beaucoup plus rapidement et proposons un nouveau protocole de détermination des courbes de solubilité plus efficace.

Cette nouvelle méthode est fondée sur le fait que la cinétique de démixtion d'un alliage polymère / PA est attendue plus rapide que la cinétique de dissolution du principe actif dans un polymère sous-saturé. Cette différence est directement liée à la mobilité moléculaire du PA dans la matrice polymère qui est plus élevée dans le premier cas que dans le second. En effet, au cours du processus de dissolution, l'effet plastifiant des molécules de PA entraîne une décroissance progressive de la température de transition vitreuse de la matrice polymère comme illustré sur la figure II-1.



### Solution solide amorphe

Figure II-1 : Evolution schématique de la température de transition vitreuse (Tg) d'un mélange PA / polymère au cours du temps. Le haut de la figure correspond à la dissolution du PA dans le polymère à partir d'un mélange sous saturée en PA tandis que le bas de la figure correspond à la démixtion d'un mélange sursaturé en PA.

Cela signifie que la mobilité moléculaire dans la matrice polymère est initialement très faible, puis augmente progressivement au fur et à mesure que les molécules de PA envahissent la matrice pour atteindre l'état saturé d'équilibre. Pour un processus de démixtion on a clairement la situation inverse. Dans ce cas, les molécules de PA quittent la matrice polymère de sorte que la plastification diminue progressivement. Cet effet se manifeste par une augmentation progressive de la température de transition vitreuse de la matrice polymère comme indiqué sur la partie inférieure de la figure II-1. La mobilité moléculaire de la matrice sursaturée est donc au départ élevée puis diminue lentement au fur et à mesure que les molécules de PA quittent la matrice pour atteindre la concentration d'équilibre correspondant à l'état saturé. Le point essentiel qui ressort de la figure II-1 est que la température de transition vitreuse d'un mélange en cours de démixtion est constamment inférieure à celle du même système en cours de dissolution. Cela signifie que le mécanisme de démixtion est toujours plus rapide que le mécanisme de dissolution de sorte que le temps nécessaire pour atteindre l'état d'équilibre saturé à une température donnée est plus court dans le premier cas. Nous avons donc tiré parti de ce comportement pour développer un nouveau protocole de détermination des courbes de solubilité notablement plus rapide que les protocoles existants.

### I.B Protocole de détermination du diagramme de solubilité Polymère / PA

La première étape consiste à produire un alliage moléculaire amorphe polymère / PA sursaturé en PA. Cet alliage est ici obtenu directement à l'état solide par co-broyage du mélange physique correspondant. La possibilité d'obtenir des alliages moléculaires amorphes homogènes, directement à l'état solide, a déjà été montrée à plusieurs reprises, notamment au laboratoire. Les exemples concernent en grande majorité des mélanges de petites et moyennes molécules: (Tréhalose / Mannitol [16], Lactose / Mannitol [20], Deoxycholic acid / β-Cyclodextrine méthylée [50],  $\beta$ -Cyclodextrine native /  $\beta$ -Cyclodextrine méthylée [51]). Nous montrerons au paragraphe II.C que cette technique permet de forcer la miscibilité des deux composés ce qui permet d'atteindre des états sursaturés. Les transformations induites par broyage mécanique résultent d'une compétition entre un mécanisme d'amorphisation induit par le broyage lui-même et un mécanisme de recristallisation. L'efficacité de cette recristallisation dépend directement de la mobilité moléculaire c'est-à-dire de la température. Elle devient, de ce fait, totalement inefficace en dessous de la température de transition vitreuse. L'amorphisation d'un matériau cristallin par broyage nécessite donc que le broyage soit réalisé en dessous de sa température de transition vitreuse. Il en est de même pour les mélanges physiques qui doivent être co-broyés en dessous de la température de transition vitreuse du mélange amorphe attendu.

La deuxième étape consiste à atteindre l'état saturé à une température Tr donnée par recuit isotherme d'un échantillon sursaturé à cette température. Ce traitement thermique va donner naissance à un système biphasique constitué d'une fraction d'alliage homogène saturé en PA et d'une fraction de PA pur cristallin provenant de la démixtion. En pratique, le recuit est réalisé in-situ dans une DSC (annexe 2.C) ce qui permet, lorsque le flux de chaleur est suffisant, de suivre le processus de démixtion en temps réel et de détecter avec précision la fin de la démixtion. Un nouvel échantillon est utilisé pour chaque température de recuit. Celles-ci sont choisies dans une gamme de températures où la démixtion est suffisamment rapide pour être achevée en un temps raisonnable, compatible avec l'échelle de temps du laboratoire (c'est-à-dire quelques heures).

La troisième étape consiste à déterminer la concentration résiduelle de PA dans l'alliage saturé obtenu après démixtion. En pratique, cette concentration est déterminée en rescannant l'échantillon après le processus de démixtion et en déterminant la température de transition vitreuse de l'alliage saturé. La concentration à saturation est alors obtenue directement à partir de la courbe de Gordon-Taylor qui décrit l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange polymère / PA en fonction de sa composition. En répétant les étapes 2 et 3 pour différentes températures d'isotherme, il est possible de déterminer une grande partie de la courbe de solubilité bien plus rapidement qu'avec les méthodes classiques. Cette nouvelle méthode est appliquée dans la partie suivante sur l'exemple d'un mélange entre un principe actif, l'indométacine, et un polymère, le polyvinylpyrrolidone (PVP).

### II Détermination du diagramme de solubilité PVP K12 / Indométacine

### **II.A** Présentation et propriétés physico-chimiques des matériaux

II.A.1 Le Polyvinylpirrolidone (PVP) K12

Le polyvinylpirrolidone (PVP) (figure II-2) est un polymère fréquemment utilisé dans les domaines de la médecine, de la pharmacie et des cosmétiques depuis sa découverte dans les années 1940. Il est obtenu par polymérisation du monomère de Vinylpirrolidone [52] de masse moléculaire 111,14 g/mol, de masse volumique moyenne de 1,25 g.cm<sup>-3</sup> et de formule brute C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO. Le PVP présente de nombreux avantages vis à vis de la formulation pharmaceutique. Il est en particulier doté d'une grande solubilité dans l'eau, d'une bonne biocompatibilité, d'une résistance satisfaisante à la température ainsi qu'une inertie chimique [53]. D'un point de vue physique, ce polymère est intrinsèquement amorphe et présente une température de transition vitreuse généralement supérieure à 100°C. Toutes ces caractéristiques physico-chimiques font du PVP un candidat idéal pour la stabilisation par la réalisation de dispersions moléculaires amorphes de principes actifs pharmaceutiques au sein d'un polymère.



### Figure II-2 : Représentation du motif constitutif polyvinylpyrrolidonne. n correspond au degré de polymérisation du motif et les étoiles (\*) représentent les groupements terminaux de la chaîne.

Il existe toute une collection de PVP possédant différentes tailles moyennes de chaine et qui ont des viscosités différentes. On repère le grade de ces PVP par la lettre K suivie d'un nombre. Ainsi dans le commerce, on trouve, du plus petit au plus grand, les PVP K12, K17, K25, K30 et le K90 qui correspondent aux masses molaires moyennes en masse indiquées dans le tableau II-1.

PVP	$\overline{M}_w$
K12	2000 - 3000
K17	7000 - 11000
K25	28000 - 34000
K30	44000 - 54000
K90	1000000 - 1500000

Tableau II-1 : Distribution des masses moléculaires en masse du PVP en fonctiondu grade du polymère

Le PVP utilisé dans l'ensemble de ce chapitre est le PVP K12 qui possède la plus petite chaine moléculaire.

La figure II-3 montre le diagramme de diffraction des rayons X du PVP K12 enregistré à température ambiante. Il se caractérise par une absence de pics de Bragg et un halo de diffusion bimodal. Cette absence de pic de Bragg laisse penser que la poudre de PVP K12 est totalement amorphe.



Figure II-3 : Diagramme de diffraction du PVP K12 enregistré à température ambiante.

La figure II-4 montre la figure ATG (annexe 2.B) du PVP K12 au cours d'un chauffage à 5 °C/Min. Elle montre deux pertes de masses distinctes. La première s'étend de 25°C à 100°C et correspond à une perte d'eau. La deuxième perte de masse débute vers 200°C et se prolonge au-delà de 300°C. Elle correspond à la dégradation du polymère.



Figure II-4 : Courbe d'ATG mesurant la perte de masse d'un échantillon de PVP K12 au cours d'une rampe de température (5°C/min). Les pointillées représentent la dérivée du signal.

La figure II-5 montre le thermogramme enregistré au réchauffage dans les mêmes conditions (5°C/min). Il montre un large endotherme situé entre 25 et 85°C qui correspond à la perte d'eau détectée par ATG. A plus haute température, on observe un saut de chaleur spécifique caractéristique d'une transition vitreuse. La température de transition vitreuse correspondante est Tg = 107 °C et le saut de chaleur spécifique associé est  $\Delta$ Cp = 0.42 J/g/°C. Ce saut de chaleur spécifique associé à l'absence d'endotherme de fusion confirme que le PVP K12 utilisé dans cette étude est totalement amorphe.



Figure II-5 : Enregistrement DSC au cours d'une rampe en température à 5°C/min du PVP K12.

### **II.A.2** L'indométacine

L'indométacine est un principe actif pharmaceutique qui présente des propriétés analgésiques (contre la douleur) et antipyrétiques (contre la fièvre) utilisé notamment pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose ou encore l'arthrite goutteuse [54]. Il s'agit d'un composé peu soluble dans l'eau (0,95 mg/L à 20°C [55]) de formule brute  $C_{19}H_{16}CINO_4$  (Figure II-6) et de masse molaire de 357,79 g/mol.

L'indométacine est considérée comme un principe actif modèle et est utilisée dans de nombreuses études portant sur des questions aussi variées que : l'élaboration de co-cristaux [56, 57], les cinétiques de relargage de PA [58] ou le traitement du diabète [59] et du cancer [60]. En tant que principe actif modèle, l'indométacine a également déjà été étudiée dans le

cadre des mélanges polymère/PA [48] et notamment pour la détermination des diagrammes de solubilité correspondants. Cela nous permettra de comparer nos résultats avec ceux déjà publiés dans la littérature pour tenter de valider la nouvelle méthode de détermination des diagrammes de solubilité présentée dans ce chapitre.



Figure II-6 : Représentation schématique de la molécule d'indométacine.

L'indométacine peut exister sous 3 formes cristallines différentes : la forme  $\gamma$  [61] qui est la forme la plus stable et qui est disponible dans le commerce, la forme  $\alpha$  [62] et la forme ( $\delta$ ) [63]. Seules les structures des formes  $\gamma$  et  $\alpha$  sont connues. Les diagrammes de diffraction correspondants sont reportés sur la figure II-7 et les paramètres cristallographiques sont donnés dans le tableau II-2:

Forme	Groupe d'espace	Ζ	Paramètres de maille		Masse volumique (g.cm <sup>-3</sup> )
γ [61]	P1 (triclinique)	2	a = 9.295  Å b = 10.969  Å c = 9.742  Å	$\alpha = 69.38^{\circ}$ $\beta = 110.79^{\circ}$ $\gamma = 92.78^{\circ}$	1.37
α [62]	P2 <sub>1</sub> (monoclinique)	6	a = 5.462 Å b = 25.310 Å c = 18.152 Å	$\alpha = 90^{\circ}$ $\beta = 94.38^{\circ}$ $\gamma = 90^{\circ}$	1.42

Tableau II-2 : Paramètres cristallographiques des formes  $\gamma$  et  $\alpha$  de l'indométacine.



Figure II-7 : Diagrammes de diffraction des formes cristallines γ et α de l'indométacine enregistrés à température ambiante.

Les conditions expérimentales d'obtention de la forme  $\alpha$  ont déjà été établies précédemment et notamment au laboratoire. Cette forme  $\alpha$  peut être obtenue :

- par dissolution de la forme commerciale dans l'éthanol à 80°C, puis filtration et précipitation par l'ajout d'eau distillé à température ambiante [64]
- par broyage mécanique du liquide trempé [65].

La forme ( $\delta$ ), quant à elle, est généralement obtenue après plusieurs heures de recuit du liquide trempé entre 70°C et 90°C, mais sa structure reste à ce jour indéterminée.

La figure II-8 montre les thermogrammes enregistrés au chauffage à 5°C/min de l'indométacine cristalline  $\gamma$  commerciale (a) et de son liquide trempé (b). Le thermogramme du cristal d'indométacine (a) montre un unique pic de fusion à 160°C ± 1°C dont l'enthalpie est de  $\Delta$ H<sub>f</sub> = 108J/g ± 2J/g. Le thermogramme du liquide trempé (b) montre un saut de chaleur spécifique ( $\Delta$ C<sub>p</sub>=0.41 J/g.°C ) caractéristique d'une transition vitreuse à T<sub>g</sub> = 46°C ± 1°C. Les grandeurs thermodynamiques des autres formes cristallines de l'indométacine issues de la littérature sont reportées dans le tableau II-3.



Figure II-8 : Thermogrammes enregistrés en DSC au cours d'une rampe en température à 5°C/min de la forme cristalline γ de l'indométacine (a) et du verre issu de la trempe du liquide (b).

Forme	$T_{f}(^{\circ}C)$	$\Delta H_{\rm f}({\rm J.g}^{-1})$	référence
γ	160	108	Figure II-8
α	155	91	[66]
δ	130	-	[67]

Tableau II-3 : Température et enthalpie de fusion des formes  $\gamma$ ,  $\alpha$  et  $\delta$  de l'indométacine.

L'ATG d'un échantillon d'indométacine  $\gamma$  (Figure II-9) montre que la molécule est stable jusqu'à une température de 200°C. L'échantillon se dégrade ensuite très rapidement à partir de 240°C.



Figure II-9 : Courbe d'ATG mesurant la perte de masse d'un échantillon d'indométacine au cours d'une rampe de température (5°C/min). Les pointillées représentent le signal dérivé.

Les traitements thermiques nécessaires à la détermination de la courbe de solubilité ne nécessitent pas de dépasser la température de fusion de l'indométacine (i.e. 160°C). Il n'y a donc aucun risque de dégradation thermique des échantillons aux cours des investigations.

### **II.B Broyage des matériaux purs**

Dans l'ensemble de ce chapitre, le protocole de broyage suivant a été adopté : les échantillons sont broyés pendant un temps effectif de 8h à 400 tr/min. Le broyeur (annexe 2.A) est placé en chambre froide régulée à -8°C et dont l'atmosphère est sèche (RH  $\approx$  0%). Afin de limiter l'échauffement de l'échantillon au cours du broyage, on alterne des périodes de broyage (10 min) et des périodes de pause (5 min).

La caractérisation physique (DSC, DRX) des échantillons broyés se fait immédiatement après la fin du broyage. Les creusets de DSC et les capillaires de Lindemann sont réalisés dans la chambre froide, c'est-à-dire à basse température et sous atmosphère sèche. Les échantillons sont ensuite transportés à froid jusqu'aux dispositifs d'analyse. Ces précautions permettent de minimiser les évolutions éventuelles du matériau après broyage (recristallisation, absorption d'eau...).

La partie gauche de la figure II-10 montre les diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre enregistrés à température ambiante entre 5° et 50° en 20 du PVP et de l'indométacine, avant et après broyage. Le diffractogramme du liquide trempé d'indométacine y est également reporté pour comparaison.

Dans le cas du PVP, on observe une absence de raies de Bragg aussi bien avant broyage (a) qu'après broyage (b). Cela indique que le PVP est initialement amorphe et que son état structural n'est pas modifié par broyage mécanique.

Le diffractogramme de l'indométacine non broyé présente quant à lui des pics de Bragg caractéristiques de la forme cristalline stable  $\gamma$  [61] (e). Après broyage, ces pics disparaissent (d) totalement laissant place à un halo unimodal semblable à celui du liquide trempé (c) ce qui indique une amorphisation de l'indométacine [68].

La partie droite de la figure II-10 montre les thermogrammes (DSC) enregistrés au chauffage (5°C/min) du PVP et de l'indométacine avant et après broyage. Le thermogramme du liquide trempé y est également reporté.

Concernant le PVP, les thermogrammes avant (a) et après (b) broyage présentent un large endotherme situé entre 20°C et 85°C ainsi qu'un saut de chaleur spécifique (C<sub>p</sub>) s'étalant de 85°C à 120°C. L'endotherme correspond à une perte d'eau de l'échantillon identique à celle vu au paragraphe II.A.1 Le saut de Cp est caractéristique de la transition vitreuse. Son amplitude est de  $\Delta$ Cp<sub>PVP</sub> = 0.42 J/g/°C et la température de transition vitreuse est T<sub>g</sub> = 107°C ± 1°C) aussi bien que pour l'échantillon non broyé que pour l'échantillon broyé. Cette température de transition vitreuse constante laisse penser que la masse moléculaire du PVP K12 n'a pas été considérablement modifiée par le broyage, c'est à dire que le broyage n'a pas cassé les chaines polymères.

Dans le cas de l'indométacine, le thermogramme enregistré avant broyage (e) ne présente qu'un seul endotherme correspondant à la fusion du cristal. La température  $(T_f = 160^{\circ}C \pm 1^{\circ}C)$  et l'enthalpie ( $\Delta H_f = 108J/g \pm 2J/g$ ) de fusion sont proches des valeurs attendues pour la forme  $\gamma$  de l'indométacine [66] identifiée précédemment par diffraction.

Après broyage de l'indométacine, le thermogramme (d) montre cette fois un saut de Cp ( $\Delta$ Cp = 0.43 J/g/°C) à une température de 45°C ± 1°C caractéristique d'une transition vitreuse. Cet événement est suivi d'un large exotherme de recristallisation s'étalant de 80°C jusque 100°C et par un endotherme situé à 160°C et correspondant à la fusion de l'indométacine. Le saut ce chaleur spécifique et la recristallisation indiquent que l'échantillon cristallin a subit une amorphisation au cours du broyage. De plus, l'amplitude du saut de chaleur spécifique et l'enthalpie de recristallisation montrent que cette amorphisation est totale [69]. De plus, la température de fusion après recristallisation de l'indométacine broyée est comparable à celle de l'indométacine cristalline. Cela suggère que la recristallisation du matériau amorphisé par broyage s'effectue vers la forme cristalline  $\gamma$  de départ.



Figure II-10: Broyage du PVP amorphe et de l'indométacine cristalline
 A gauche : Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre enregistrés à T<sub>amb</sub> entre 5° et 50° en 20. Les temps d'acquisition sont de 20 minutes.

A droite : Thermogrammes correspondants enregistrés au chauffage à 5°C/min

De haut en bas :

- a) PVP commercial non broyé
  - b) PVP broyé 8h à -8°C
- c) Liquide trempé d'indométacine
- d) Indométacine broyée 8h à -8°C
- e) Indométacine commerciale cristalline

La figure II-11 montre le diagramme de diffraction des rayons X de l'indométacine amorphisée par broyage puis recristallisée par chauffage à 120°C. Ce diagramme présente clairement toutes les caractéristiques de la forme  $\gamma$  mais aucune trace des raies de Bragg de la forme métastable  $\alpha$ . Les raies de la forme  $\alpha$  situées à 8,4° et 14,6° sont en particulier indétectables. Cela confirme que l'indométacine amorphisée par broyage recristallise vers la phase  $\gamma$ . On peut noter que, les formes  $\gamma$  n'étant pas enregistrées à la même température, une légère déformation de la maille cristalline intervient qui se traduit par un léger décalage des pics de Bragg.



Figure II-11 : Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre, de bas en haut :

Formes α et γ de l'indométacine enregistrées à T<sub>amb</sub>
Forme γ commerciale d'indométacine amorphisée par broyage puis recristallisée à 120°C.
L'insert de la figure montre le diagramme de DSC de l'indométacine broyée.

### II.C Formation d'une solution solide sursaturée PVP K12 / Indométacine [15 :85]

II.C.1 Tentative d'obtention d'une solution solide amorphe homogène par co-broyage.

L'objectif de cette partie est de tester la possibilité d'obtenir un alliage moléculaire amorphe et homogène de PVP et d'indométacine par cobroyage des composés individuels. Pour cela, un mélange physique PVP K12 / Indométacine [15 :85]<sub>massique</sub> est broyé dans les conditions précédentes (8h à -8°C).

La partie gauche de la figure II-12 montre le diagramme de diffraction du mélange enregistré immédiatement après la fin du cobroyage (b). Elle montre aussi pour comparaison les diagrammes de diffraction des rayons X des composés purs broyés. L'absence de pic de Bragg suggère fortement que le mélange physique a été amorphisé au cours du cobroyage.

La partie droite de la figure II-12 montre les thermogrammes enregistrés au chauffage (5°C/min) immédiatement après la fin du cobroyage. Elle montre le thermogramme du mélange (b) et aussi ,pour comparaison, les thermogrammes des composés purs broyés. Le thermogramme du mélange présente un saut de Cp à 49°C  $\pm$  1°C d'amplitude  $\Delta$ Cp = 0.32 J/g/°C. Cette température de transition vitreuse est située entre celles du PVP pur (107°C  $\pm$  1°C) et de l'indométacine pure (45°C  $\pm$  1°C). Par ailleurs, aucune trace de saut de chaleur spécifique correspondant aux échantillons purs amorphes n'est observée sur le thermogramme du mélange cobroyé.

- Ce saut de Cp unique indique que le co-broyage des composés purs a produit une solution solide amorphe et homogène, c'est-à-dire que les deux espèces chimiques ont été mélangées à l'échelle moléculaire. L'échantillon co-broyé ne présente en particulier aucune trace de PVP pur amorphe ou d'indométacine pure amorphe.

Deux autres évènements interviennent à la suite de cet unique saut de Cp, l'un étant exothermique entre 100°C et 130°C, l'autre endothermique entre 130°C et 160°C.

- L'exotherme correspond à une recristallisation de l'indométacine provenant de l'alliage moléculaire. L'indométacine étant dispersée au niveau moléculaire dans le PVP, sa recristallisation est inévitablement accompagnée par (ou précédée par) une démixtion des deux espèces chimiques. Cette recristallisation indique que l'alliage amorphe obtenu par cobroyage est sursaturé en indométacine entre 100°C et 130°C. La solubilité diminuant avec la température, cette sursaturation est encore plus forte à la température où l'échantillon a été broyé (-8°C). Ce résultat prouve donc que le cobroyage a permis d'obtenir un alliage moléculaire amorphe fortement sursaturé en indométacine. La recristallisation de la fraction d'indométacine responsable de la sursaturation ne peut bien sûr s'effectuer que si la mobilité moléculaire dans l'alliage

est suffisante. C'est la raison pour laquelle elle ne survient que quelques dizaines de degrés au-dessus de la température de transition vitreuse de l'alliage sursaturé.

- L'endotherme correspond au phénomène inverse c'est-à-dire à la redissolution de l'indométacine issue de la recristallisation précédente. Il indique qu'au cours du réchauffage, le système coupe sa courbe de solubilité, c'est-à-dire qu'il passe dans un état de sous saturation. Le passage de l'état sursaturé à l'état sous saturé se produit à la température pour laquelle le signal DSC passe d'exothermique à endothermique. La température à laquelle survient l'inversion du signal marque l'arrivée à saturation du système. L'estimation de la température à laquelle le système est à l'équilibre est rendue difficile par la superposition des composantes exothermiques et endothermiques. On note que la température de cet endotherme de dissolution est inférieure à la température de l'endotherme de fusion de l'indométacine cristalline. Cela confirme qu'il s'agit bien d'un phénomène de dissolution.

Le co-broyage de l'indométacine et du PVP permet donc d'obtenir des alliages amorphes homogènes d'indométacine et de PVP. Il permet même de fortement sursaturer le PVP en indométacine.



Figure II-12 : Cobroyage du mélange physique [15 : 85]<sub>massique</sub> PVP / indométacine pendant 8h à -8°C
A gauche : Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre enregistrés à T<sub>amb</sub> entre 5° et 50° en 20. Les temps d'acquisition sont de 20 minutes.
A droite : Thermogrammes correspondants enregistrés au chauffage à 5°C/min De haut en bas :

a) PVP broyé 8h à -8°C
b) Mélange physique PVP / indométacine [15 : 85]<sub>massique</sub> cobroyé 8h à -8°C

c) Indométacine broyée 8h à -8°C
## *II.C.2 Evolution de la température de transition vitreuse de l'alliage avec la composition.*

Le protocole de broyage précédent a été appliqué à des mélanges de différentes compositions afin de suivre l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange d'indométacine et de PVP en fonction de la concentration d'indométacine dans le PVP. Les thermogrammes enregistrés au réchauffage (5°C/min) des mélanges physiques cobroyés correspondants à des concentrations massiques d'indométacine de 20%, 35%, 50%, 70% et 85% sont reportés sur la figure II-13.a. Les thermogrammes des composés purs broyés sont également reportés pour comparaison. Ces thermogrammes ne présentent qu'un seul saut de Cp caractéristique d'une transition vitreuse ce qui montre que les mélanges obtenus sont homogènes et amorphes. De plus, la transition vitreuse se décale vers les basses températures lorsque la concentration en indométacine augmente. Ce comportement est cohérent avec l'effet plastifiant attendu de l'indométacine sur le PVP.

Il est à noter que lors des opérations de cobroyage, la captation d'une faible fraction d'eau libre par les échantillons est quasiment inévitable. C'est particulièrement vrai pour le PVP qui est par nature hygroscopique. Cette fraction d'eau libre est généralement relarguée lors du chauffage en DSC et donne naissance à un léger endotherme vers 50°C. Dans le cas du mélange PVP/indométacine [15:85], cet endotherme masque le saut de chaleur spécifique attendu vers 50°C. Pour s'affranchir de cet inconvénient, cet échantillon a été séché à 40°C pendant 15 minutes préalablement à la réalisation du thermogramme. Ce séchage est responsable d'un phénomène de vieillissement physique du verre qui est à l'origine du petit endotherme qui termine le saut de chaleur spécifique à Tg. Ce petit endotherme n'est par contre pas visible sur les autres thermogrammes pour lesquels l'échantillon n'a pas été séché préalablement.

La figure II-13.b) montre l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange cobroyé en fonction de sa fraction massique en indométacine. Les valeurs sont également reportées dans le tableau II-4.

X <sub>indo</sub>	Tg(°C) ± 1°C	
1.00	45	
0.85	49	
0.70	68	
0.50	76	
0.35	84	
0.20	92	
0.00	107	

Tableau II-4 : Fractions massiques des mélanges PVP / indométacine obtenus par co-broyage et les Tg correspondantes déterminées par DSC.



Figure II-13 : Co-broyage de mélanges physiques PVP / indométacine de fractions massiques en indométacine de 1 (indométacine pure), 0.85, 0.70, 0.50, 0.35, 0.20 et 0 (PVP pur).

Partie haute : Thermogrammes correspondants enregistrés au chauffage à 5°C/min. Partie basse : Report des Tg en fonction de leur fraction massique en indométacine. L'ensemble des points est ajusté avec une loi de Gordon-Taylor. L'évolution de la température de transition vitreuse avec la concentration en indométacine du mélange a été ajusté par la loi empirique de Gordon-Taylor [24] :

$$T_{g}(m\acute{e}l) = \frac{X_{Indo}Tg_{(Indo)} + K(1 - X_{Indo})Tg_{(PVP)}}{X_{Indo} + K(1 - X_{Indo})}$$
(II-1)

Dans cette expression,  $Tg_{(indo)}$  et  $Tg_{(PVP)}$  représentent respectivement les températures de transition vitreuse de l'indométacine pure et du PVP pur ,  $X_{indo}$  correspond à la fraction massique d'indométacine dans le mélange et K est un paramètre d'ajustement qui caractérise l'écart au comportement linéaire de cette courbe. Le meilleur ajustement de la loi de Gordon-Taylor sur les points de la figure II-13.b est obtenu pour un paramètre K proche de 1 (K = 0.99) en accord avec la variation quasi-linéaire de la température de transition vitreuse du mélange avec la fraction massique d'indométacine.

Dans le cas théorique des solutions régulières, le coefficient K est donné par l'équation suivante :

$$K = \frac{\Delta C_{p(PVP)}}{\Delta C_{p(indo)}} = 0.98 \tag{II-2}$$

où  $\Delta Cp_{PVP} = 0.42 \text{ J/g/}^{\circ}\text{C}$  et  $\Delta Cp_{Indo} = 0.43 \text{ J/g/}^{\circ}\text{C}$  représentent respectivement les amplitudes des sauts de Cp à Tg mesurés respectivement du PVP pur et de l'indométacine pure. La valeur de K donnée par l'équation II-3 est très proche de la valeur déduite de l'ajustement (équation II-2), ce qui suggère que les interactions entre les chaines de PVP et les molécules d'indométacine sont faibles. Cette interprétation est en accord avec les investigations des mélanges PVP / indométacine cobroyés menées par Hédoux & al [70] qui ont révélé une absence d'interaction entre les molécules d'indométacine et les chaines de PVP.

La courbe de Gordon-Taylor de la figure II-13.a permet d'établir une relation univoque entre la température de transition vitreuse des mélanges et leur composition. Elle sera utilisée au paragraphe suivant pour l'établissement du diagramme de solubilité PVP / indométacine. Elle servira en particulier à déterminer la concentration de l'alliage en indométacine après démixtion des mélanges sursaturés obtenus par cobroyage.

# II.D Etablissement de la courbe de solubilité par démixtion du mélange PVP K12 / Indométacine [15 :85]

Nous avons montré au paragraphe II.C que des solutions solides amorphes sursaturées PVP / indométacine peuvent être obtenues en toutes proportions par cobroyage et que de plus, ces solution sursaturés relarguent facilement la fraction d'indométacine en excès lorsqu'elles sont chauffées au-dessus de 100°C. Nous avons donc tiré parti de ce comportement pour obtenir des mélanges saturés PVP / indométacine à différentes températures au-dessus de 100°C dans le but de déterminer la courbe de solubilité dans ce domaine de températures.

## *II.D.1 Détermination de la limite de solubilité à une température donnée*

La figure II-14 montre, à titre d'exemple, les deux étapes du protocole expérimental qui a été utilisé pour atteindre l'état saturé d'équilibre à 120°C et pour déterminer la fraction d'indométacine correspondant à cet état.

Dans la première étape, une solution sursaturée PVP/indometacine [15:85] est chauffée in-situ dans la DSC jusqu'à la température à laquelle on souhaite déterminer la limite de solubilité (120°C dans notre exemple). Le thermogramme correspondant (run1 - figure II-14) montre clairement une transition vitreuse à  $49^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$  suivie par une recristallisation qui démarre vers 100°C et qui n'est pas encore terminée lorsque l'échantillon atteint 120°C. L'échantillon est ensuite recuit à 120°C pendant 2 heures pour permettre la fin du processus de recristallisation de l'indométacine en excès et atteindre ainsi l'état saturé d'équilibre à la température de recuit. La figure II-15 montre l'évolution temporelle du flux de chaleur au cours de ces deux heures d'isotherme. Ce flux de chaleur est fortement exothermique au tout début du traitement isotherme puis diminue rapidement pour atteindre une valeur nulle après 30 minutes. Cela montre que le processus de démixtion / recristallisation ralentit progressivement au cours de l'isotherme et qu'il s'achève en moins de trente minutes à 120°C. Après chauffage et recuit à 120°C, le mélange initial sursaturé en indométacine s'est donc transformé en un système bi-phasique constitué d'un mélange amorphe homogène PVP/indométacine saturé en indométacine et d'une fraction cristalline d'indométacine provenant de la recristallisation de l'indométacine en excès dans le mélange initial.

**Dans la deuxième étape**, le système bi-phasique obtenu après le recuit à 120°C est refroidi rapidement à 20°C est ré-analysé par DSC au cours d'un chauffage à 5 °C/min. Le thermogramme correspondant (run 2) est reporté sur la figure II-14.a. Il montre une transition vitreuse à Tg = 65°C caractérisée par un saut de chaleur spécifique à Tg:  $\Delta$ Cp = 0,28 J/g/°C. Cette transition vitreuse est donc située à plus haute température et présente un saut de chaleur

spécifique nettement plus faible que celle de l'échantillon initial sursaturé en indométacine (run 1 - figure II-14.a). La température de transition vitreuse plus haute traduit une diminution de l'effet plastifiant du PA et la diminution de l'amplitude du saut de Cp traduit une fraction plus faible d'alliage amorphe. Ces changements sont donc clairement une conséquence directe de l'appauvrissement de l'alliage moléculaire en indométacine résultant du processus de démixtion. La transition vitreuse vue sur le run 2 est donc caractéristique de la concentration en indométacine du mélange amorphe saturé obtenu au court du recuit (120°C). Cette concentration peut donc être directement déduite de la courbe de Gordon Taylor du mélange (cf figure II-14.b) qui établit une relation univoque entre la température de transition vitreuse du mélange et sa composition. Dans cet exemple, la transition vitreuse de l'alliage après recuit à 120 °C se situe à 65°C ce qui indique que la concentration en indométacine du mélange saturé à 120°C est d'environ 67%. Cette démarche permet donc d'obtenir le point de la courbe de solubilité correspondant à la température de 120°C (cf figure II-14.b).





- *a)* : Run 1 (bleu) : Thermogramme d'un mélange indometacine-PVP [85 :15]<sub>masse</sub> sursaturé enregistré au chauffage à 5°C/min.
- Run 2 (rouge) : Thermogramme enregistré à 5°C/min du mélange saturé obtenu après une isotherme de 2h à 120°C.
- *b)* : Report de la Tg du mélange saturé en indométacine obtenu à 120°C sur la courbe de Gordon-Taylor (bleue) et détermination de la fraction massique d'indométacine correspondante (rouge).



Figure II-15 : Diagramme de DSC au cours d'une isotherme de 2h à 120°C d'un mélange PVP / indométacine [15 : 85]<sub>massique</sub> cobroyé 8h à -8°C. L'insert correspond au thermogramme de DSC du même mélange enregistré à 5°C/min jusque 170°C.

#### II.D.2 Obtention de la courbe de solubilité

La courbe de solubilité a pu être déterminée entre 160°C (température de fusion de l'indométacine) et 120°C en répétant la démarche précédente à différentes températures. Pour cela, des mélanges sursaturés PVP/indométacine [15:85] obtenus par co-broyage ont été recuits pendant 2 heures à 150°C, 140°C, 130°C, 120°C et pendant 28 heures à 110°C. Les thermogrammes correspondant au réchauffage (5°C/min) des échantillons recuits sont présentés sur la figure II-16. Chaque thermogramme montre un saut de Cp unique qui se décale vers les hautes températures lorsque la température de recuit diminue. Ce comportement indique une diminution de l'effet plastifiant de l'indométacine sur le PVP, c'est à dire une diminution de sa concentration résiduelle dans l'alliage après démixtion, lorsque la température de recuit diminue. Le report des températures de transitions vitreuses sur la courbe de Gordon Taylor permet, comme indiqué sur les figures II-16.a et II-16.b, de déterminer directement ces concentrations à saturation pour chaque température de démixtion. Ces valeurs sont reportées dans le tableau II-5 et la courbe de solubilité correspondante est représentée sur la figure II-16.b.

Il est à noter que les temps de recuit nécessaires à l'achèvement du processus de démixtion sont à priori inconnus. Ils ont été déterminés en adoptant la démarche suivante. L'échantillon sursaturé a été:

(i) chauffé dans la DSC (5°C/min) de 20°C jusqu'à la température de recuit

- (ii) maintenu à cette température pendant 2 heures
- (iii) refroidi à 20°C (5°C/min)
- (iv) chauffé à nouveau jusqu'à la température de recuit

les étapes (ii), (iii) et (iv) sont ensuite répétées plusieurs fois

Les thermogrammes enregistrés au cours de l'étape (iv) sont ensuite comparés. Ils présentent tous une transition vitreuse qui se décale vers les hautes températures lorsque le nombre de cycles augmente. Ce décalage est dû à l'avancement du processus de démixtion survenant au cours de l'étape (ii). Lorsqu'il cesse, on peut donc considérer que le processus de démixtion qui s'opère au cours des recuits cumulés est achevé. En pratique, nous avons constaté que la démixtion est achevée en moins de 2 heures pour les températures comprises entre 150°C et 120 °C. Elle requiert par contre 28 heures à 110°C.

t <sub>recuit</sub> (h)	T <sub>recuit</sub> (°C)	Tg(°C) ± 1°C	X <sub>indo</sub> ± 0,02
2	150	58	0,79
2	140	61	0,73
2	130	62	0,71
2	120	65	0,67
28	110	67	0.64

Tableau II-5 : Pour chaque température de recuit : valeur de la température de transition vitreuse (Tg) du mélange saturé obtenu après démixtion et concentration en indométacine correspondante (obtenue à partir de la courbe de Gordon-Taylor)



Figure II-16 : Détermination des compositions de saturation du mélange indometacine-PVP [85 :15]<sub>masse</sub> obtenues après des isothermes de 2h à T<sub>r</sub> = 120°C, 130°C, 140°C et 150°C et de 28h à T<sub>r</sub> = 110°C.

*a)* Thermogramme du mélange demixté enregistré au chauffage à 5°C/min après chaque isotherme.

b) Report des Tg de ces mélanges sur la courbe de Gordon-Taylor  $(- \blacktriangle -)$  et détermination des fractions massiques en indométacine correspondantes (•).

#### **III** Analyse et discussion

La figure II-17 présente la limite de solubilité de l'indométacine dans la PVP K12 obtenue expérimentalement à différentes températures par notre méthode (•). Elle présente également les points expérimentaux obtenus par Sun et al pour ce mélange modèle par la méthode plus classique de dissolution du principe actif dans le polymère au cours de traitements isothermes (voie 3 expliquée dans le 1<sup>er</sup> chapitre, partie III.C) (•). Les points obtenus par ces deux méthodes sont en parfait accord, ce qui valide la méthode d'obtention de la limite de solubilité par démixtion d'un mélange sursaturé que nous venons de présenter.

Dans le cadre de la théorie de Flory-Huggins (cf 1<sup>er</sup> chapitre partie II-C, ces deux jeux de données devraient suivre la loi :

$$\left(\frac{\Delta H_f}{R}\right)\left(\frac{1}{T_f} - \frac{1}{T}\right) = \ln(\upsilon_1) + (1 - \frac{1}{\lambda})\upsilon_2 + \chi(\upsilon_2)^2$$
(II-3)

On rappelle que  $\Delta H_f$  est l'enthalpie molaire de fusion et  $T_f$  la température de fusion du cristal d'indométacine; R est la constante des gaz parfait, T la température à laquelle la solubilité limite est mesurée,  $\lambda$  le ratio volumique molaire entre le PVP et l'indométacine,  $\chi$  le paramètre de solubilité qui est le paramètre ajustable et qui décrit les interactions entre le PVP et l'indométacine et  $\nu_1$  et  $\nu_2$  sont respectivement les fractions volumiques de l'indométacine et du PVP. Elles sont liées à la fraction massique en indométacine par :

$$\upsilon_{1} = \frac{\frac{x_{indo}}{\rho_{indo}}}{\frac{x_{indo}}{\rho_{indo}} + \frac{1 - x_{indo}}{\rho_{PVP}}} \quad et \quad \upsilon_{2} = 1 - \upsilon_{1}$$
(II-4)

Les paramètres utilisés pour ce calcul sont donnés dans le tableau II-6.

$\Delta H_{f}$ (kJ/mol)	R (J/mol/K)	<b>T</b> <sub>f</sub> ( <b>K</b> )	$M_{wPVP}(g/mol)^{-1}$	M <sub>Indo</sub> (g/mol) <sup>2</sup>	$\rho_{PVP}^{2}$	$\rho_{Indo}{}^3$
$38,6 \pm 0,2$	8,314	$433 \pm 1$	4577	357,788	1,25	1,37

Tableau II-6 : Valeurs des constantes expérimentales utilisées dans l'applicationdu modèle dérivé de Flory-Huggins (II-4). <sup>1</sup> mesurée par GPC dans le DMF. <sup>2</sup> donnéesfournisseur. <sup>3</sup> Référence [61]

La figure II-17 montre le meilleur ajustement par l'équation II-4 des points expérimentaux obtenus par la méthode classique (courbe en pointillés verts [48]) et par notre méthode (courbe rouge). Dans les deux cas, le modèle de Flory-Huggins s'applique assez bien et donne des paramètres d'interaction  $\chi$  très proches :  $\chi = -8.6 \pm 0.7$  par notre méthode et  $\chi = -8.2 \pm 0.6$  par la méthode classique, ce qui confirme la validité de la nouvelle méthode.



Figure II-17 : Evolution, en fonction de la fraction massique en indométacine, de la température de transition vitreuse du mélange PVP/indométacine (•) et de la limite de solubilité de l'indométacine dans ce mélange pour différentes températures (•). Les données obtenues par Sun & al [48] sont également reportées (•). L'évolution de Tg est ajustée par une loi de Gordon-Taylor et l'évolution de la solubilité par le modèle de Flory-Huggins. T<sub>croisement</sub> indique la température où la courbe de solubilité croise la courbe de

Gordon-Taylor.

On peut noter qu'en dessous de 120°C, la détermination de la courbe de solubilité devient de plus en plus difficile et qu'à la température de 110°C, le système n'a atteint la concentration à saturation qu'après un recuit de 28h (au lieu de 2h pour les autres points, en particulier celui à 120°C). Cette diminution brutale de la cinétique de démixtion est due à la diminution dramatique de la mobilité moléculaire et donc de la diffusion des molécules d'indométacine au sein du PVP à l'approche de la température de transition vitreuse du mélange.

La vitesse du processus de démixtion dépend donc grandement de l'écart entre la température d'isotherme (à laquelle a lieu la démixtion) et la température de transition vitreuse du mélange qui démixte. Le processus de démixtion ne peut donc être terminé dans une échelle de temps raisonnable qu'à la condition où la Tg du mélange –qui augmente au cours de la démixtion- reste inférieure à la température d'isotherme. La plus basse température à laquelle la méthode est applicable correspond à la température de croisement de la courbe de solubilité et de l'évolution de la transition vitreuse (courbe de Gordon-Taylor) (T<sub>croisement</sub>). Lors d'une isotherme réalisée en dessous de cette température, la mobilité moléculaire, et par conséquent le processus de démixtion, ralentiront à un tel point, qu'il sera en pratique impossible d'atteindre expérimentalement l'état de saturation d'équilibre.

### **IV** Conclusion du chapitre II

Les méthodes habituelles pour déterminer les courbes de solubilité des systèmes polymère / PA se heurtent généralement à la difficulté de mélanger les deux espèces chimiques à l'échelle moléculaire pour atteindre les états saturés d'équilibre. Cette difficulté provient essentiellement de la très forte viscosité des polymères qui ralentit fortement la diffusion des molécules de PA au sein de la matrice polymère et conduit à des temps de mise en équilibre du mélange extrêmement longs.

Dans ce chapitre, nous avons mis au point et validé une nouvelle méthode pour déterminer plus rapidement les courbes de solubilité des mélanges polymère / PA. L'idée maîtresse de la méthode consiste à atteindre les états saturés d'équilibre beaucoup plus rapidement par démixtion d'un mélange amorphe homogène sursaturé en PA plutôt que par la dissolution habituelle du PA dans le polymère. Le fait que le processus de démixtion soit systématiquement plus rapide que le processus de dissolution réside dans le fait qu'il bénéficie d'un effet plastifiant accru lié à la sursaturation en PA. Cette plastification accrue confère au mélange une mobilité moléculaire supérieure qui lui permet d'atteindre plus rapidement son état d'équilibre saturé. La mise en œuvre de cette nouvelle méthode a nécessité de s'affranchir de deux difficultés:

(i) La première concerne l'obtention de mélanges sursaturés en PA. Cette difficulté a été contournée en produisant les solutions sursaturées, directement à l'état solide, par cobroyage mécanique des composés individuels. Cela permet d'obtenir des alliages moléculaires sursaturés en toutes proportions. Cette possibilité est due au fait que l'ensemble du processus de mélange des deux espèces chimiques est ici réalisé dans des conditions de non équilibre, c'est à dire en dessous de la température de transition vitreuse de la solution finale attendue.

(ii) La deuxième difficulté concerne la détermination de la concentration de PA résiduel dans l'alliage saturé obtenu après démixtion. Cette concentration a été déterminée ici par mesure et report de la température de transition vitreuse de l'alliage saturé sur la courbe de

Gordon Taylor qui fournit une relation univoque entre la température de transition vitreuse des mélanges et leur composition.

Jusqu'à présent, les courbes de solubilité polymère / PA étaient obtenues par des méthodes de type "essai/erreur" [48] ou des méthodes d'extrapolation [49] qui nécessitent à la fois un grand nombre d'expériences et des traitements isothermes longs. A l'inverse, la nouvelle méthode présentée dans ce chapitre est directe puisque chaque expérience donne accès à un point de la courbe de solubilité. Elle est de ce fait beaucoup plus rapide à mettre en œuvre que les méthodes classiques. Cependant, bien que plus rapide, la nouvelle méthode ne permet pas de déterminer une plus grande partie de la courbe de solubilité. En particulier, comme pour les méthodes classiques, les états d'équilibre saturés deviennent rapidement impossibles à atteindre en un temps raisonnable lorsqu'ils approchent la ligne de transition vitreuse du mélange.

## Chapitre III : Détermination du diagramme de solubilité PVP K30 / griséofulvine

Dans ce chapitre, nous nous intéressons au système PVP K30 / griséofulvine. Ce système présente la particularité d'être chimiquement instable aux températures habituelles de détermination des diagrammes de solubilité, c'est-à-dire entre la température de transition vitreuse du mélange et la température de fusion du principe actif. De ce fait, le diagramme de solubilité correspondant ne peut être obtenu par les méthodes classiques qui nécessitent de réaliser de longs temps de recuit du mélange à des températures proches de la fusion du principe actif.

Nous allons utiliser ici la méthode mise au point au chapitre précédent pour tenter de déterminer la courbe de solubilité de ce système. Les temps de recuit relativement courts utilisés dans cette méthode devraient permettre de s'affranchir des problèmes de dégradation thermique. En cas de succès, ce test permettrait de montrer que la nouvelle méthode présente un domaine d'application plus étendu que celui des méthodes classiques.

Préalablement à cette étude, nous présenterons au paragraphe I les principales caractéristiques physico-chimiques connues du PVP K30 et de la griséofulvine et au paragraphe II, une étude détaillée du polymorphisme cristallin de la griséofulvine qui n'était pas connu jusqu'à présent.

### I Présentation des matériaux utilisés

Dans cette première partie, nous allons déterminer les principales propriétés physicochimiques des matériaux purs. Les investigations seront réalisées par analyse thermogravimétrique (ATG), calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et diffraction des rayons X sur poudre (DRX).

### I.A Présentation du Polyvinylpyrrolidone (PVP) K30

Le PVP K30 fourni par la société BASF possède globalement les mêmes qualités recherchées en formulation pharmaceutique que le PVP K12 (bonne solubilité, biocompatibilité, stabilité à température ambiante) décrites dans le chapitre II. Les formules chimiques du PVP K12 et du PVP K30 sont identiques et les molécules ne diffèrent que par leur longueur de chaîne (données fournisseur :  $Mw_{PVP-K12} = 2500$  et  $Mw_{PVP-K30} = 50000$ ). Ces différentes longueurs de chaine impliquent des propriétés physiques différentes que nous allons détailler ici pour le PVP K30.

L'enregistrement ATG du PVP K30 à 5°C/min de la figure III-1 montre une perte de masse continue qui peut être scindée en 2 étapes. La première s'étend de la température ambiante jusque 90°C et correspond à une perte d'eau d'environ 2,8%. La deuxième perte de masse débute vers 170°C. Elle correspond à la dégradation chimique du polymère. Cette dégradation intervient donc à plus basse température que celle du PVP K12 qui débute à 210°C (figure II-4). Une attention toute particulière sera apportée pour contrôler et éventuellement éviter cette dégradation au cours des traitements thermiques que nous serons amenés à utiliser pour le PVP K30.



Figure III-1 : Courbe d'ATG mesurant la perte de masse d'un échantillon de PVP K30 au cours d'une rampe de température à 5°C/min. Les pointillés représentent la dérivée du signal.

La figure III-2 montre le thermogramme du PVP K30 enregistré au chauffage (5°C/min). Il présente un large endotherme s'étalant de 20°C à 80°C qui correspond à la perte de masse détectée par ATG (Figure III-1). Cet endotherme peut donc être attribué à la perte d'eau contenue dans le PVP K30. A plus haute température, le thermogramme présente également un saut de chaleur spécifique ( $\Delta$ Cp = 0.28 J/(g.°C) ± 0.01 J/(g.°C)) à T<sub>g</sub> = 160°C ± 1°C. La température de transition vitreuse pour le PVP K30 (T<sub>g</sub> = 160°C) est donc plus élevée que celle du PVP K12 (T<sub>g</sub> = 107°C). Cette différence est cohérente avec la taille des chaines polymères qui est plus grande dans le cas du PVP K30. Cela implique une viscosité elle aussi plus grande et donc une transition vitreuse située à plus haute température. Cette affirmation est renforcée par l'équation (1) de Fox & Flory [71] qui permet de relier la température de transition vitreuse d'une chaine polymère à sa masse moléculaire en nombre:

$$Tg = T_{g,\infty} - \frac{K}{M_n} \tag{III-1}$$

où Tg, $\infty$  représente la température de transition vitreuse maximale correspondant à une masse moléculaire en nombre M<sub>n</sub> théoriquement infinie. K est un paramètre empirique relié au volume libre intrinsèque au polymère. De plus, l'absence d'exotherme de cristallisation ou d'endotherme de fusion sur le thermogramme de la figure III-2 indique que le PVP K30 tout comme le PVP K12, est complétement amorphe.



à 5°C/min

La figure III-3 montre le diagramme du PVP K30 obtenu par diffraction des rayons X à température ambiante. Ce diagramme est dépourvu de pics de Bragg et ne présente qu'un halo de diffusion ayant un caractère bimodal. Cette absence de pic de Bragg confirme que le PVP K30 commercial est complétement amorphe.



Figure III-3 : Diagramme de diffraction des rayons X du PVP K30 enregistré de 5° à 50° en 2θ pendant 20 minutes à température ambiante

#### I.B Présentation de la griséofulvine

La griséofulvine est un principe actif pharmaceutique aux propriétés antifongiques (destruction des champignons) [72] largement utilisé en recherche expérimentale comme matériau modèle [73-75]. La griséofulvine a montré plus récemment des qualités envers le traitement contre le cancer [76]. La formule brute de la griséofulvine est  $C_{17}H_{17}ClO_6$  et le schéma de cette molécule est représenté sur la figure III-4. Sa masse molaire est de 352,76 g/mol et sa solubilité dans l'eau est très faible (0,1 mg/L à 25°C) [77]. La griséofulvine que nous avons utilisée provient de l'entreprise CERTA et présente une pureté de 95%.



Figure III-4 : Représentation schématique de la molécule de griséofulvine.

La figure III-5 montre l'enregistrement ATG à 5°C/min d'un échantillon de griséofulvine. Elle révèle une unique perte de masse débutant à 200°C. Un examen visuel effectué à 200°C indique que la dégradation de la griséofulvine s'accompagne d'une sublimation. Tout comme pour le PVP K30, des précautions particulières devront être prises. Il faudra en particulier éviter de chauffer la griséofulvine à trop haute température et réduire au maximum les temps de recuit afin d'éviter les phénomènes de sublimation et de dégradation de la griséofulvine.



Figure III-5 : Courbe d'ATG de la griséofulvine enregistrée au chauffage à 5°C/min. Les pointillés représentent le signal dérivé.

La figure III-6 montre le diagramme de diffraction des rayons X enregistré de 5° à  $35^{\circ}$  en 20 de la griséofulvine commerciale cristalline et du liquide trempé. Le diffractogramme du produit cristallin présente une série de pics de Bragg bien définis dont l'indexation correspond à la seule forme cristalline connue qui est la forme quadratique (P4<sub>1</sub>, a=8.967 (2), c= 19.904 (9)) déjà reportée dans la littérature [78]. Le diagramme du liquide trempé ne présente aucun pic de Bragg ce qui montre que le liquide trempé est bien amorphe. On peut également noter le caractère bimodal du halo de diffusion.



Figure III-6 : Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre de la griséofulvine commerciale et de la griséofulvine obtenue par trempe depuis l'état liquide, enregistrés de 5° à 35° en 20 pendant 20 minutes

La figure III-7 montre les thermogrammes de différents échantillons de griséofulvine enregistrés au chauffage (5°C/min). Le run 1 correspond à la griséofulvine cristalline. Il ne montre qu'un pic endothermique bien défini correspondant à la fusion du cristal. Les températures et enthalpies de fusion sont respectivement  $T_f^I = 220^\circ C \pm 1^\circ C$  et  $\Delta H_f^I = 120 \text{ J/g} \pm 3 \text{ J/g}$  ce qui est en accord avec les valeurs reportées dans la littérature [79]. Le run 2 correspond au liquide trempé obtenu par un recuit de 10 minutes à 230°C suivi d'un refroidissement à 50°C/min jusque 0°C. Il montre un saut de C<sub>p</sub> ( $\Delta C_p = 0.42 \text{ J/g}/^\circ C \pm 0.01$ 

J/g/°C) à T<sub>g</sub> = 90°C qui correspond à la transition vitreuse de ce composé reportée dans la littérature [80, 81]. Ce thermogramme montre aussi un large endotherme de cristallisation de 160°C à 195°C, immédiatement suivi par deux pics de fusions situés à 205 °C  $\pm$  1°C et 214 °C  $\pm$  1°C. Ces deux pics de fusion sont clairement situés en dessous de la température de fusion de la forme commerciale cristalline (Run 1) ce qui suggère fortement le développement de deux nouvelles formes polymorphiques durant la recristallisation du liquide trempé.



Figure III-7 : Thermogrammes enregistrés au chauffage (5°C/min) de la poudre commerciale de griséofulvine (run 1) et du liquide trempé (run 2).

L'existence d'un polymorphisme cristallin de la griséofulvine est tout à fait inattendue. En effet, la griséofulvine est un matériau étudié depuis des dizaines d'années sans qu'aucune trace d'un quelconque polymorphisme n'ait été mise en évidence [73, 78, 82-87]. Nous allons donc commencer par étudier en détail le polymorphisme de la griséofulvine dans la partie suivante.

#### II Caractérisation du polymorphisme de la griséofulvine

#### II.A Mise en évidence du polymorphisme de la griséofulvine

La figure III-8 montre différents thermogrammes de la griséofulvine soumise à différents traitements thermiques.

Le run 1 correspond au chauffage (5°C/min) de la griséofulvine commerciale cristalline. Il ne présente qu'un seul pic endothermique à  $T_f = 220$ °C correspondant à la fusion du matériau.

Le run 2 correspond au refroidissement jusqu'à 0°C à la vitesse de 50°C/min de la griséofulvine fondue et maintenue à 230°C pendant 10 minutes afin d'éliminer tous germes cristallins. Aucune trace de cristallisation n'est détectée pendant cette étape de refroidissement ce qui indique que la griséofulvine fondue a été trempée avec succès. La présence d'un artefact à 30°C provient de la formation brusque de fissures au sein de l'échantillon trempé. La fissuration des liquides trempés en dessous de Tg est un phénomène fréquemment observé [88]. Elle est due au contraintes mécaniques fortes générées par le refroidissement brutal du liquide : l'insert de la figure III-8 montre deux images de microscopie optique (Leica DM1000) d'une goutte de griséofulvine obtenue par trempe du liquide à 140°C (b) et de cette même goutte après refroidissement à 30°C (a) à la vitesse de 50°C/min. On constate clairement que le refroidissement sous T<sub>g</sub> entraine la formation d'un réseau de fissures. Le suivi en temps réel de la goutte au cours du refroidissement montre que la fissuration intervient très brutalement. De plus, la répétition de cette expérience révèle que la température à laquelle les fissures apparaissent est erratique mais qu'elle se situe systématiquement entre 20°C et 40°C.

Le run 3 a été enregistré immédiatement après le run 2 et montre le réchauffage (5°C/min) de la griséofulvine vitrifiée par trempe à 0°C. Il présente un saut de chaleur spécifique, marquant la transition vitreuse à Tg = 90°C  $\pm$  1°C, suivi à plus haute température d'un exotherme de cristallisation s'étendant de 160°C à 195°C. L'exotherme de cristallisation est immédiatement suivi de deux pics de fusion localisés à 205°C  $\pm$  1°C et 214°C  $\pm$ 1°C. Ces pics sont clairement situés en dessous de la température de fusion de la forme cristalline initiale (run 1) ce qui indique que deux nouvelles formes polymorphiques se sont développées durant la recristallisation du liquide trempé. Nous appellerons par la suite « forme III » celle qui fond à 205°C et « forme II » celle qui fond à 214°C. On peut aussi noter que le run 3 ne présente aucune trace de fusion à 220°C ce qui indique que la forme I de départ est absente du processus de recristallisation.

Le run 4 a été enregistré au chauffage (5°C/min) après trempe du liquide à 0°C et recuit pendant 600 minutes à 190°C, c'est-à-dire dans le domaine de recristallisation détecté sur le run 3. La température de recuit a été atteinte en chauffant le liquide trempé de 0°C à 150°C à 5°C/min puis de 150°C à 190°C à 50°C/min. Cette dernière vitesse de chauffe plus rapide est appliquée pour s'assurer que la majorité de la cristallisation -qui s'amorce à partir de 160°C- s'effectue durant l'isotherme à 190°C. Le run 4 enregistré après ce traitement thermique montre un seul pic endothermique à 214°C correspondant à la fusion de la forme II. De plus quand cet échantillon, recuit 600 min à 190°C, est refroidi à 0°C, son réchauffage à 5°C/min ne montre aucune trace de saut de C<sub>p</sub> à T<sub>g</sub>. Cela indique que la cristallisation survenue au cours des 600 minutes d'isotherme à 190°C est totale. L'enthalpie de fusion peut alors être déterminée directement par intégration du pic de fusion :  $\Delta H_{m}^{\parallel} = 81 \text{ J/g} \pm 3 \text{ J/g}.$ 



- Run 1 : poudre commerciale (5°C/min)

- Run 2 : refroidissement du liquide (50°C/min)

- Run 3 : réchauffage du liquide trempé (5°C/min)

- Run 4 : réchauffage (5°C/min) du liquide trempé à 0°C et recuit à 190°C pendant 600 min

- Insert : Clichés de microscopie optique d'une goutte de griséofulvine enregistrée à 140°C b) et à 30°C a) au cours de son refroidissement

Les expériences de diffraction des rayons X ont été réalisées pour confirmer l'existence des formes II et III. La figure III-9 montre les diagrammes de diffraction des formes II et III enregistrés à température ambiante ainsi que celui de la forme I pour comparaison. La forme II a été produite directement dans la DSC en utilisant un traitement thermique rigoureusement identique à celui du run 4 de la figure III-8. A savoir : le liquide a été trempé à 0°C, recuit à 190°C pendant 600 minutes, refroidi à 20°C, retiré du creuset de DSC et placé dans un capillaire de Lindemann pour caractérisation. On constate sur la figure III-9 que le diagramme de diffraction des rayons X correspondant est clairement différent de celui de la forme I. En particulier, il ne présente pas les principaux pics de Bragg caractéristiques de la forme I (eg :  $2\theta = 10.7^{\circ}$  et  $2\theta = 21.7^{\circ}$ ) ce qui confirme l'absence de forme I dans l'échantillon recristallisé. De plus, l'apparition de nouvelles raies de Bragg  $(eg: 2\theta = 7.2^{\circ} et 2\theta = 8.1^{\circ})$  doit être attribuée à la nouvelle forme polymorphique II précédemment détectée au cours du run 3 de la figure III-8. L'analyse du diagramme de diffraction a permis de résoudre la structure cristalline de la forme II. Le résultat de cette analyse est présenté au paragraphe III. La forme III a été produite, elle aussi, directement dans la DSC en utilisant le même traitement thermique que celui du run 3 de la figure III-8. Cependant, l'étape finale de chauffe a été stoppée à 190°C, c'est à dire juste avant le premier pic de fusion. L'échantillon a ensuite été refroidi à température ambiante, retiré du creuset DSC et placé dans un capillaire de Lindemann pour être caractérisé par diffraction des rayons X. Le diffractogramme correspondant (figure III-9) montre de nombreuses nouvelles raies de Bragg (eg :  $2\theta = 7.5^{\circ}$  et  $2\theta = 11.5^{\circ}$ ) qui n'existent pas dans les diffractogrammes des formes I et II. Cela confirme donc l'existence d'un 3<sup>ème</sup> polymorphe de la griséofulvine. De plus, les pics caractéristiques de la forme I sont absents (eg :  $2\theta = 10.7^{\circ}$  et  $2\theta = 21.7^{\circ}$ ) indiquant que la forme I ne s'est pas développée au cours de la recristallisation du liquide trempé. Par contre, de petits pics caractéristiques de la forme II sont visibles, en cohérence avec le petit pic de fusion de la forme II détecté sur le run 3 de la figure III-8. La comparaison de l'enthalpie associée à ce pic de fusion avec celle du pic de fusion de la forme II pure (mesurée sur le run 4) indique que la fraction de forme II dans le liquide trempé et recristallisé au chauffage à 5°C/min est inférieure à 6%. Il est à noter que les formes II et III produites dans la DSC n'ont pas pu être obtenues dans un capillaire de Lindemann en utilisant les mêmes traitements thermiques. Dans ce cas, la recristallisation du liquide trempé se produit systématiquement vers la forme I. Cette différence est probablement due à un effet de surface imposé par la paroi du capillaire sur l'échantillon liquide. Il a en effet été montré [89, 90] que la surface spécifique de la griséofulvine a une répercussion forte sur sa cinétique de recristallisation.



Figure III-9 : Diagrammes de diffraction des formes cristallines I, II et III de la griséofulvine.

Pour mieux comprendre le développement des formes II et III au cours de la recristallisation, des investigations supplémentaires ont été réalisées à 190°C. La figure III-10.a montre les thermogrammes obtenus au réchauffage du liquide trempé après différents temps de recuit ( $t_r$ ) à 190°C, c'est à dire dans la zone de recristallisation. Comme pour le run 4 de la figure III-8 la température de recuit (190°C) a été atteinte en chauffant l'échantillon de 0°C à 150°C à la vitesse de 5°C puis de 150°C à 190°C à la vitesse de 50°C. Il apparaît clairement sur la figure III-10.a que l'évolution des signatures endothermiques de fusion avec le temps de recuit ( $t_r$ ) se scinde en deux étapes. Pour  $t_r$  variant de 1 min à 30 min, les thermogrammes montrent le développement de deux pics de fusion à 205°C et 214°C. Cela indique que les formes II et III se développent en parallèle au cours des 30 premières minutes de recuit. Par contre, après 30 min de recuit, le pic de fusion à 214°C continue de se développer alors que celui à 205°C diminue progressivement pour disparaître totalement après 600 min de recuit. Cela suggère que durant la seconde étape, la forme II se développe au détriment de la forme III. Cette conversion révèle au passage que la forme II est plus stable que la forme III à 190°C.

Puisque la forme II se développe dès les premières minutes du recuit, la forme III ne peut être obtenue à l'état pur et son enthalpie de fusion ne peut être déterminée directement en DSC. Lorsque l'on considère les pics de fusion de la forme III (figure III-10.a), il apparait que le maximum de cristallisation de la forme III à 190°C est obtenu après 30 minutes de recuit. La fraction de forme III ( $X_{III}$ ) est alors donné par :

$$X_{III} = 1 - X_{II} - X_{am}$$
(III-2)

où X<sub>II</sub> et X<sub>am</sub> sont respectivement la fraction de forme II et la fraction de liquide trempé non encore recristallisé. X<sub>II</sub> peut être facilement estimée en comparant l'enthalpie de fusion correspondante (28 J/g ± 1 J/g) à celle de la forme II pure ( $\Delta H_m^{II} = 81 \text{ J/g} \pm 3 \text{ J/g}$ ). X<sub>am</sub> peut être estimée en rescanant l'échantillon juste après l'étape de recuit à 190°C (insert de la figure III-9) et en comparant l'amplitude du saut de C<sub>p</sub> associé à la fraction amorphe résiduelle (0.07 J/g/°C ± 0.02 J/g/°C) à celle du liquide trempé pur ( $\Delta Cp = 0.42 \text{ J/g}^{\circ}C \pm 0.01 \text{ J/g}^{\circ}C$ ). Il ressort alors que la composition de l'échantillon après 30 minutes de recuit à 190°C est :

- $X_{am} = 16.5 \% \pm 4\%$ ,
- $X_{II} = 34.5 \% \pm 1\%$
- $X_{III} = 49\% \pm 4\%$ .

L'enthalpie associée à la fusion de la fraction de forme III étant de 50 J/g  $\pm$  3 J/g, l'enthalpie de la forme III pure peut être estimée à  $\Delta H_m^{III} = 101$  J/g  $\pm$  10 J/g.

La figure III-10.b montre l'évolution du diagramme de diffraction des rayons X du liquide trempé après différents temps de recuit  $t_r$  à 190°C. Pour chaque diffractogramme, un nouvel échantillon de liquide trempé a été recuit à 190°C dans la DSC, retiré du creuset DSC immédiatement après le recuit et placé dans un capillaire de Lindemann pour être caractérisé en diffraction des rayons X. Ces échantillons recuits sont donc rigoureusement identiques à ceux utilisés pour les scans DSC de la figure III-10.a. Tout comme pour les scans DSC, l'évolution des diffractogrammes peut être divisée en deux étapes. De 1 min à 30 min, on observe un développement parallèle des pics de Bragg caractéristiques des formes II et III. Par contre, après 30 min, les pics de Bragg caractéristiques de la forme III disparaissent progressivement alors que ceux caractéristiques de la forme II et III dans le liquide trempé au cours des 30 première minutes de recuit à 190°C ainsi que la conversion solidesolide de la forme III vers la forme II pour des temps de recuit plus longs.



Figure III-10 : a) Thermogrammes enregistrés lors d'une rampe de température à 5°C/min de la griséofulvine trempée depuis l'état liquide après différents temps d'isothermes à 190°C. L'insert correspond à la comparaison des thermogrammes du liquide trempé avec celui

du liquide trempé recuit 30 min à 190°C

b) Diagrammes de diffractions des rayons X enregistrés à température ambiante de la griséofulvine trempée depuis l'état liquide après différents temps de recuits à 190°.

#### II.B Rôle des fissures dans le processus de recristallisation

Une autre caractéristique de la griséofulvine concerne la formation brutale de fissures lors de la trempe du liquide. La formation de ces fissures à clairement été identifiée en DSC (cf run2 figure III-8) et se produit systématiquement entre 20°C et 40°C. Il a déjà été reporté dans la littérature que la fissuration des échantillons peut considérablement modifier les propriétés de recristallisation du liquide trempé. C'est par exemple le cas pour la métatoluidine [91], l'indométacine [92] ou l'ibuprofène [93]. Nous allons donc étudier ici l'influence de ces fissures sur la recristallisation de la griséofulvine liquide trempé.

La figure III-11 montre les thermogrammes du liquide trempé enregistrés au chauffage (5°C/min) après différents protocoles de trempe. Le run 1 correspond au liquide trempé à 0°C et réchauffé immédiatement après la trempe. Cette trempe à une température inférieure à 20°C est génératrice de fissures. Dans ces conditions, le thermogramme présente une recristallisation et deux pics de fusion à 205°C et 214°C. Le liquide trempé recristallise donc vers les formes II et III. Le run 2 correspond au liquide trempé à 60°C et réchauffé immédiatement après la trempe. Pour cette température de trempe supérieure à Tg, aucune fissure n'apparaît dans l'échantillon. Dans ces conditions, le thermogramme ne présente ni recristallisation ni fusion. La comparaison des run 1 et 2 montre donc que la fissuration favorise fortement la recristallisation au réchauffage. Le run 3 correspond au liquide trempé à 100°C et recuit 24 heures à cette température avant d'être réchauffé. Tout comme pour le run 2 cette température de trempe n'est pas génératrice de fissures. Cependant, à l'inverse du run 2, le thermogramme montre une recristallisation et deux pics de fusion à 205°C et 214°C qui traduisent une recristallisation du liquide trempé vers les formes II et III. Le run 4 correspond au liquide trempé à 0°C (donc fissuré) et immédiatement réchauffé à 100°C à la vitesse de 50°C/min. Dans ces conditions, et malgré la présence de fissures, le thermogramme ne montre aucun signe de recristallisation ni de fusion. La comparaison des run 1 et 4 indique donc que les fissures ne créent pas les noyaux de forme II et III, mais qu'elles favorisent leur nucléation lors d'un chauffage.

En résumé, l'ensemble de ces résultats montre donc que l'apparition de fissures lors de la trempe favorise fortement la recristallisation au réchauffage mais qu'elle n'est cependant pas indispensable pour induire cette recristallisation. De plus, bien que les fissures favorisent le développement des noyaux, elles ne créent pas les noyaux eux-mêmes.



Figure III-11 : Thermogrammes de la griséofulvine enregistrés au chauffage à 5°C/min : run 1 : liquide trempé à 0°C

run 2 : liquide trempé à 60°C

run 3 : liquide trempé à 100°C et recuit à cette température pendant 10 heures. run 4 : liquide trempé à 0°C réchauffé à 100°C à la vitesse de 50°C/min

## II.C Identification des domaines de nucléation des polymorphes II et III de la griséofulvine.

Nous présentons ici une série d'expériences permettant de localiser le domaine de température où la vitesse de nucléation homogène des formes II et III est maximum. Pour cela, nous avons réalisé des recuits du liquide trempé à différentes températures  $T_r$  comprises entre 60°C et 120°C, c'est à dire dans un domaine de température où la fissuration ne se produit pas.

Le protocole expérimental est composé de trois étapes :

- La trempe du liquide : 3mg de poudre commerciale sont placées dans un creuset de DSC et chauffés à 230°C pendant 10 minutes afin d'éliminer tous les germes cristallins. Le liquide obtenu est ensuite refroidi à 50°C/min. à une température de recuit T<sub>r</sub>.
- Le recuit : Le liquide trempé, à la température T<sub>r</sub> est recuit pendant 24h.
- Le réchauffage : L'échantillon est chauffé jusqu'à la température de 230°C à une vitesse de 5°C/min. Afin de s'affranchir de tout problème de dégradation, un nouvel échantillon est préparé pour chaque expérience.

La figure III-12 donne une représentation schématique des traitements thermiques appliqués aux échantillons ainsi que les thermogrammes enregistrés lors de l'étape finale de chauffage (5°C/min).

Pour les recuits aux températures inférieures à 65°C ou supérieures à 120°C les thermogrammes ne présentent aucun signe de recristallisation et de fusion. Cela signifie qu'aucun noyau cristallin ne s'est formé dans le liquide au cours de ces recuits. Par contre, pour les recuits à des températures comprises entre 70°C et 115°C, chaque thermogramme montre clairement un exotherme s'étalant de 150°C et 190°C et deux endothermes situés à 205°C et 214°C qui montrent que le liquide trempé recristallise au réchauffage vers les formes II et III. Cela signifie que d'une part, des noyaux cristallins se sont formés lors du recuit entre 70°C et 115°C et que d'autre part, ces noyaux se développent au réchauffage entre 150°C et 190°C. Cet ensemble d'expériences permet donc de situer le maximum de la vitesse de nucléation des formes II et III entre 70°C et 115°C et le maximum de la vitesse de croissance entre 150°C et 190°C.



Figure III-12 : a) Thermogrammes enregistrés au chauffage (5°C/min) sur des échantillons de griséofulvine amorphes obtenus par trempe du liquide à  $T_r$  et recuits 24h à cette température.  $T_r$  varie de 60°C à 120°C.

b) Représentation schématique des traitements thermiques correspondants.

#### **II.D** Discussion

Les investigations par DSC et par diffraction des rayons X menées dans ce chapitre ont révélé l'existence de deux nouveaux polymorphes cristallins (formes II et III) qui se développent au cours de la recristallisation du liquide trempé. Les températures de fusion, enthalpies de fusion, et entropies de fusion ( $\Delta H_s = \Delta H_f/T$ ) des formes I, II et III sont reportées dans le tableau III-1.

Forme	III	II	Ι
Tm (°C)	$205 \pm 1$	$214 \pm 1$	$220 \pm 1$
$\Delta$ Hm (J/g)	$101 \pm 10$	81 ± 3	$120 \pm 3$
$\Delta \text{Sm} (J/(g.^{\circ}\text{C}))$	$0.49 \pm 0.05$	$0.38 \pm 0.01$	$0.54 \pm 0.01$

Tableau III-1 : Températures, enthalpies et entropies de fusion des formes I, II et III de la griséofulvine.

Ces données ont été utilisées pour esquisser le diagramme de phases de la griséofulvine présenté sur la figure III-13. Comme on peut le voir, les deux nouvelles formes sont en situation de monotropie vis-à-vis de la forme I, indiquant que cette dernière est stable dans tout son domaine d'existence alors que les deux autres sont toujours métastables. Le diagramme de phase montre aussi que les formes II et III forment un ensemble énantiotrope en accord avec la règle des chaleurs de fusion proposé par Burger et Ramberger [94, 95]. Les courbes d'enthalpie libre de Gibbs se croisent à une température de transition solide-solide  $T_{III-II} = 175 \text{ °C} \pm 5 \text{ °C}$ . La forme III est plus stable que la forme II en dessous de  $T_{III-II}$  et moins stable que la forme II au-dessus de T<sub>III-II</sub> de sorte que la transformation de III vers II attendue à T<sub>III-II</sub> est en principe endothermique. Cette conversion est clairement observée au cours d'un long recuit à 190°C (figure III-10), mais pas observée au cours d'un chauffage de la forme III à 5°C/min (données non montrées). Cette différence est attribuée à une vitesse de conversion très lente, comme c'est souvent le cas pour les transformations solide-solide. Dans le cas présent, la conversion semble être suffisamment rapide pour se produire au cours d'un long recuit à 190°C mais trop lente pour survenir au cours d'un chauffage à 5°C/min. Dans ce dernier cas, la forme III est surchauffée au-dessus de T<sub>III-II</sub> de sorte que sa fusion peut être observée à 205°C (figure III-7 – run 2).



Figure III-13 : Diagramme semi-schématique représentant l'enthalpie libre de Gibbs de la griséofulvine en fonction de la température

La découverte d'un polymorphisme de la griséofulvine est surprenante car ce composé est réputé pour ne pas en avoir. En particulier, plusieurs études de cristallisation en solution [78, 82, 83] utilisant des solvants et des protocoles différents n'ont pu mettre en évidence de polymorphisme cristallin. La même conclusion peut être tirée des nombreux articles explorant la recristallisation de la griséofulvine à partir du liquide trempé qui s'est toujours avéré produire la forme I [73, 84-87]. Le développement systématique de deux nouveaux polymorphes (II et III) dans les expériences DSC reportées dans cette thèse est donc très intriguant. Cependant, une étude attentive des articles ayant précédemment étudiés la recristallisation du liquide trempé révèle, que dans chaque cas, le liquide trempé a été obtenu ex situ -en utilisant une plaque chauffante- et non in situ –c'est-à-dire directement dans la DSC- comme dans cette thèse.

La Figure III-14 montre les thermogrammes enregistrés au chauffage à 5°C/min du liquide trempé obtenu ex situ en faisant fondre la griséofulvine cristalline (forme I) sur une plaque chauffante à  $225^{\circ}$ C ± 5°C dans des conditions similaires aux investigations déjà reportées dans la littérature.



Figure III-14 : Thermogrammes enregistrés au chauffage (5°C/min) d'échantillons de griséofulvine liquide trempée obtenus par fusion sur une plaque chauffante à 225°C pendant 10 min (run 1) et 20 min (run 2) et trempés à température ambiante en retirant les échantillons du support chauffant (refroidissement naturel).

Le run 1 correspond à la griséofulvine cristalline fondue et maintenue 10 minutes à 225°C tandis que le run 2 correspond à la griséofulvine maintenue 20 minutes à cette température. Chacun des échantillons fondus est ensuite refroidi à la température ambiante en retirant simplement l'échantillon du support chauffant. Une inspection visuelle suggère que les deux échantillons sont correctement fondus, trempés et présentent tous les deux de nettes fissures. Cependant, les thermogrammes de ces échantillons sont fortement différents. Le run 1 montre un large exotherme aux alentours de 143°C suivi d'un net endotherme à 220°C correspondant à la fusion de la forme I, tandis que le run 2 montre un large exotherme aux alentours de 176°C et 214°C correspondant
respectivement aux fusions des formes III et II. De plus, des investigations complémentaires ont montré que le comportement observé sur le run 1 est reproductible pour des temps de recuit à 225°C inférieurs à 10 minutes et celui observé sur le run 2 parfaitement reproductible pour des temps de recuit supérieurs à 20 minutes. Ceci démontre que le matériau recuit pendant moins de 10 minutes au-dessus de la température de fusion recristallise systématiquement vers la forme I alors qu'il recristallise systématiquement vers les formes II et III s'il est recuit pendant plus de 20 minutes au-dessus de cette température de fusion. Cette recristallisation systématique vers la forme I pour des temps courts passés au-dessus de la fusion est probablement déclenchée par un ordre cristallin résiduel qui persiste pendant une durée inhabituellement longue au cours du processus de fusion. Cet ordre cristallin résiduel est probablement dû à une inertie thermique de l'échantillon qui ne peut être négligé lorsque la masse d'échantillon à fondre augmente. Il pourrait se présenter sous la forme de noyaux cristallins qui déclenchent la recristallisation de la forme I lorsque le « liquide trempé » traverse la zone de température où la vitesse de croissance de la forme I est maximum (ie vers 143°C). Cette recristallisation survient au chauffage et non au refroidissement en raison de la vitesse de refroidissement élevée (typiquement 50°C/min) utilisée pour tremper l'échantillon fondu. Pour des temps de maintien plus long au-dessus de la température de fusion, les germes cristallins de la forme I sont totalement éliminés. Dans ces conditions, on observe plus la recristallisation de la forme I au réchauffage entre 130°C et 150°C. Le développement des formes II et III, qui intervient dans un domaine de température plus élevé, peut alors avoir lieu.

La nécessité d'imposer des temps d'isothermes longs à la température de fusion pour éliminer tout germe cristallin n'a pas été pris en compte dans les études précédentes. Cela explique pourquoi le polymorphisme de la griséofulvine n'a jamais été détecté jusqu'à présent. Les temps longs passés au-dessus de la fusion soulèvent bien sûr le problème de savoir si la recristallisation du liquide trempé dans une forme différente n'est pas due à une possible dégradation de la griséofulvine. Afin de répondre à cette question, l'intégrité chimique de la griséofulvine fondue a été testée par spectroscopie RMN (Annexe 2.E). La figure III-15 montre le spectre RMN de la griséofulvine cristalline (forme I) et du liquide trempé, tous deux entièrement dissouts dans du chloroforme deutéré (CDCl<sub>3</sub>). Le liquide trempé a été préparé directement dans la DSC en utilisant le même protocole que précédemment, à savoir une isotherme de 10 minutes à 230°C, qui mène à la recristallisation vers les formes II et III au réchauffage. A l'exception d'un pic de faible intensité à 1.67 ppm dû à une légère contamination par l'eau du CDCl<sub>3</sub> qui est hygroscopique, les deux spectres sont parfaitement identiques et compatibles avec ceux déjà reportés dans la littérature [96]. Ceci prouve que la griséofulvine longuement fondue, et qui recristallise par la suite vers les formes II et III, est exempte de toute dégradation chimique.



Figure III-15 : Spectre RMN <sup>1</sup>H de la griséofulvine dissoute dans du CDCl<sub>3</sub>. Le spectre a) correspond à la forme cristalline I, tandis que le spectre (b) correspond au liquide trempé obtenu en DSC après un recuit de 10min à 230°C

# III Résolution structurale de la forme II de la griséofulvine

La résolution d'une structure cristalline doit aboutir à la connaissance complète de l'arrangement des atomes dans l'espace. Pour cela, il faut déterminer les paramètres de maille du cristal, son groupe d'espace (symétries particulières de l'arrangement atomique), et enfin la position des atomes dans la maille cristalline. La résolution d'une structure cristalline ne nécessite comme information de départ que la connaissance de la formule chimique du composé et une idée de la conformation de la molécule. Une fois le diagramme de diffraction des rayons X enregistré exprimant l'intensité (nombre de coups reçus lors du comptage) en fonction de l'angle de diffraction  $2\theta$ , on peut alors commencer la résolution.

Nous allons, dans ce chapitre, décomposer les différentes étapes de la résolution permettant d'aboutir à la résolution complète de la structure. Nous présenterons, tout d'abord, comment déterminer les dimensions de la maille cristalline à partir des positions des raies extraites du diagramme de poudre. Ensuite, nous développerons la méthode d'affinement de Le Bail permettant de vérifier la maille et de trouver les informations disponibles pour l'étape suivante de détermination de structure. Nous montrerons ensuite comment rechercher un modèle structural de départ rapidement par une méthode de monte-carlo. Enfin, nous décrirons la dernière étape de la résolution de structure cristalline : l'affinement de Rietveld qui permet d'affiner la structure cristalline. Nous résumerons, pour finir, toute l'information tirée de cette résolution structurale sur poudre.

Le protocole menant à l'obtention de la forme II pure de la griséofulvine est celui présenté au paragraphe II-A (figure III-8, run 4) : la griséofulvine issue de la trempe du liquide est recuite pendant 600 minutes à 190°C en DSC. Après refroidissement de l'échantillon à température ambiante, l'échantillon recristallisé est extrait de la DSC, réduit en poudre puis placé dans un capillaire de Lindemann. Le diagramme de diffraction des rayons X de cet échantillon est ensuite enregistré de 0.2 ° jusque 113.6° en 20 par pas de 0,015° durant 10h à température ambiante sur un diffractomètre Inel CPS120 (annexe 2.D).

### III.A Recherche des paramètres de maille

La première étape de la résolution consiste à déterminer les dimensions de la maille cristalline. La fonction « automatic peak search » du logiciel WinPlotr permet de lister les raies les mieux définies de manière approximative afin de multiplier les chances d'indexer le diagramme de poudre [97, 98]. La recherche de pic se fait ici sur une plage de 5,5° à 25° là où le recouvrement des pics de Bragg n'est pas encore trop important. WinPlotr utilise la méthode des dérivées secondes, le profil de raies montrant un minimum pour la position d'un

pic. 21 positions mesurées sont ensuite injectées dans un autre logiciel d'indexation automatique appelé DICVOL [99-101] basé sur une méthode exhaustive de variation des paramètres directs par dichotomies successives. Ce programme permet d'obtenir les premiers paramètres de la maille orthorhombique de la forme II qui sont a = 11.7442Å, b = 11.9996Å, c = 24.2442Å, V = 3416.6Å<sup>3</sup> ainsi que d'évaluer leurs qualités par le calcul de deux facteurs de mérite M(21) = 14.1 et F(21) = 35 (Annexe 3). On calcule le nombre de molécule par maille en divisant le volume issu des paramètres de maille par le volume estimé d'une molécule de griséofulvine qui est ici de 400 Å<sup>3</sup>. On obtient un nombre de molécules par maille de forme II proche de 8.

# **III.B** Affinement des paramètres de maille par méthode de LeBail.

Les dimensions de la maille cristalline étant maintenant grossièrement déterminées, on s'intéresse à présent à la forme des pics de diffraction. Afin de déterminer le groupe d'espace du cristal, le profil de raie est affiné par la méthode de Le Bail [102] grâce au logiciel JANA2006. Cette méthode propose d'affiner la forme du profil de raies en la reproduisant grâce à plusieurs fonctions mathématiques. Au cycle zéro, toutes les réflexions sont affectées de la même valeur d'intensité puis progressivement ajustées au diagramme expérimental par itération au cours des cycles suivants. La méthode de Le Bail est basée sur l'affinement par moindres carrés des intensités calculées en chaque point de mesure par rapport au diagramme de poudre enregistré et utilise le profil dans son ensemble. La méthode de Le Bail permet de s'affranchir partiellement du recouvrement des réflexions par une déconvolution quand la séparation entre deux pics est supérieure à la moitié de leur largeur. La forme globale des raies de diffraction est reproduite grâce à une fonction « pseudo-Voight », combinaison linéaire d'une fonction Lorentzienne et d'une fonction Gaussienne, permettant de les relier par une même largeur à mi-hauteur. L'asymétrie des pics de Bragg est également prise en compte et le bruit de fond est reproduit grâce à une interpolation linéaire constituée de 22 points relevés régulièrement entre 5.50° et 80° en 20. L'examen des extinctions systématiques conduit au groupe d'espace P 2<sub>1</sub> 2<sub>1</sub> 2<sub>1</sub> (Réflexions h00, 0k0 et 001). Dans ce groupe, il y a 4 positions générales. Par conséquent, la maille contient 2 molécules indépendantes.

### III.C Recherche du modèle structural par Monte-Carlo

Les logiciels basés sur la méthode Monte-Carlo essaient des positions atomiques successives, calculent le diagramme de diffraction associé et gardent la configuration possédant le meilleur facteur d'accord. Nous avons utilisé ici le logiciel FOX qui permet d'imposer des contraintes de distances et d'angles ce qui implique des temps de calculs réduits, la griséofulvine possédant peu de degrés de liberté. La procédure pour chaque cycle de la méthode Monte-Carlo est la suivante :

- Le logiciel place les molécules au hasard dans la maille et génère une structure d'essai.
- L'accord entre le diagramme de diffraction calculé pour la structure d'essai et le diagramme expérimental est évalué en utilisant un facteur d'accord tel que le facteur de reliabilité pondéré R<sub>WP</sub> (Annexe 3).
- La structure d'essai est acceptée ou rejetée si la différence Z entre le R<sub>WP</sub> de la structure d'essai et le R<sub>WP</sub> de la structure de départ est positive ou négative. (Z = R<sub>WP</sub> essai R<sub>WP départ</sub>) Si la différence Z est négative, la structure d'essai est acceptée et remplace la structure de départ. Si la différence est positive, la structure d'essai est acceptée avec une probabilité exp(-Z/s) où s est le facteur d'échelle convenable, qui permet de sortir d'un minimum relatif. Si la structure est rejetée, le logiciel conserve la structure de départ.

Nous avons utilisé le logiciel FOX qui est non seulement basé sur un modèle de Monte-Carlo, mais également sur une technique de recuit simulé [103] permettant une diminution des amplitudes de variation de mouvement au fur et à mesure de la recherche. Le modèle moléculaire de la forme I de la griséofulvine [78].a été pris comme base pour l'établissement de la structure d'essai. Deux molécules soumises à des contraintes de rigidité au niveau du cycle benzénique sont introduites aléatoirement dans la maille. Des contraintes sur les distances, les angles de liaison et les angles de torsion entre les atomes sont aussi imposées sur l'ensemble de la molécule afin de se rapprocher de la configuration moléculaire de la forme I.

### III.D Affinement structural par méthode de Rietveld

Une fois le modèle structural de départ terminé, les coordonnées atomiques obtenues grâce au logiciel FOX sont injectées dans le logiciel JANA2006 permettant un affinement structural par la méthode de Rietveld. Il s'agit d'une méthode d'ajustement d'un diffractogramme expérimental par un diffractogramme simulé qui nécessite un calcul de l'intensité via les facteurs de structure. Par conséquent, un modèle structural de départ est nécessaire. Les variables affinés sont celles affinées par la méthode de Le Bail auxquelles viennent s'ajouter les paramètres structuraux (positions atomiques, facteur d'agitation thermique) et le facteur d'échelle.

Cette technique permet de faire varier tous les facteurs intervenant dans un diagramme de poudre tels que les paramètres de maille, le décalage du zéro, les paramètres liés à l'intensité des raies comme les positions atomiques ou les facteurs d'agitation thermique et d'orientation préférentielle, les paramètres liés à la forme des raies comme la fonction de profil ou l'asymétrie et les paramètres liés au bruit de fond continu. L'affinement de l'ensemble de ces paramètres est fait dans le but d'obtenir le meilleur accord entre diagramme expérimental et calculé par la méthode des moindres carrés.

Encore une fois, des contraintes de rigidité ont été imposées sur le cycle benzénique de la griséofulvine pour des soucis de planéité. Des contraintes sur les distances, les angles de liaison et les angles de torsion entre les atomes ont aussi été imposés à l'ensemble de la molécule afin de se rapprocher de la configuration moléculaire de la forme I. Les paramètres affinés par la méthode de Rietveld sont les suivants :

- Les paramètres de maille a, b et c ainsi que le déplacement du zéro
- Un paramètre d'asymétrie, un paramètre angulaire Lx et deux paramètres de profil V et W issus de l'équation de Caglioti  $[104] \left( H = \sqrt{U \tan^2 \theta + V \tan \theta + W} \right)$ où H représente la largeur à mi-hauteur de la réflexion de Bragg située à l'angle 20.
- 144 positions atomiques (hydrogènes exclus) et un paramètre d'agitation thermique U.
- Le bruit de fond comportant 36 paramètres.

La figure III-16 montre la superposition du profil calculé après affinement de Rietveld en trait plein et du profil expérimental en trait pointillé. La différence des profils est située en trait plein en bas de la figure. Les barres verticales correspondent aux positions des réflexions de Bragg.



Figure III-16 : Diagramme représentant l'affinement final de Rietveld à température ambiante, représenté de 5° à 100° en 20. Les croix (x) représentent les intensités mesurées. La ligne en trait plein représente le meilleur ajustement de Rietveld sur les intensités. Les barres verticales correspondent aux positions des pics de Bragg. La ligne en trait plein du dessous représente la différence entre le profil mesuré et calculé. L'ensemble des données cristallographiques obtenues par la méthode de Rietveld sont reportés dans le tableau III-2 :

Données cristallographiques	
Formule chimique	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> ClO <sub>6</sub>
Masse molaire (g/mol)	352.76
Maille, groupe d'espace	Orthorhombique, P $2_1 2_1 2_1$
Température (K)	293
a,b,c (Å)	11.7508 (4), 11.9828 (5), 24.2351 (9)
$V(Å^3)$	3412.48 (22)
Nombre de motifs Z	8
Masse volumique $(g.cm^{-3})$	1.373
Rayonnement	Rayons X, $\lambda_{Cu} = 1.5405$ Å
Facteur de structure F(000)	1472
Coefficient d'absorption $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	2.251
Paramètres d'enregistrement	
Diffractomètre	Inel CPS120
Support d'enregistrement	Capillaire de Lindemann de 0.7 mm de
	diamètre
Configuration	Transmission
Méthode de détection	Détecteur stationnaire
Pas d'enregistrement (° 20)	0.015
Plage en 20 (°)	$2\theta_{\text{fixed}} = 0.2-113.8$
Paramètres d'affinement	
Facteurs de reliabilité (après affinement du bruit	$R_p = 3.45, R_{wp} = 4.45$
de fond)	
Facteurs de reliabilité (avant affinement du bruit	$R_p = 3.33, R_{wp} = 4.34$
de fond)	
Nombre de paramètres affinés	188
Paramètre de profil V	-0.092 (7)
Paramètre de profil W	0.032(1)
Paramètre angulaire L <sub>x</sub>	0.797(7)
Paramètre d'asymétrie Asym1	0.0511 (13)
Facteur d'agitation thermique U (Å <sup>2</sup> )	0.04

 Tableau III-2: Données cristallographiques, paramètres de profil et de structure de la forme II de la griséofulvine.

Les positions atomiques sont reportées en annexe 4.

### III.E Comparaison des formes I et II de la griséofulvine

La figure III-17 montre la numérotation atomique choisie pour la résolution structurale de la forme II de la griséofulvine :



Figure III-17 : Numérotation atomique de la molécule de griséofulvine

La résolution structurale de la forme II de la griséofulvine a été effectuée avec des contraintes moléculaires importantes dus à son architecture particulière et au nombre important de paramètres à affiner par rapport au nombre d'observations. Cela rend la comparaison au niveau moléculaire (distances, angles de liaison et angles de torsion) des formes I et II compliquée. La résolution de la forme I de la griséofulvine a été menée à partir de raies de Bragg issues d'un enregistrement sur monocristal. Le gain d'information issu d'un tel enregistrement a conduit les auteurs à n'émettre aucune hypothèse sur les contraintes géométriques de la molécule. La résolution structurale de la forme II de la griséofulvine a été effectuée, quant à elle, à partir de l'enregistrement d'une poudre cristalline. Cette résolution structurale a demandé la mise en application de nombreuses hypothèses sur les contraintes géométriques des molécules de griséofulvine. Cependant, l'arrangement des molécules au sein de la maille cristalline apparait très différentes lorsque l'on compare les formes I et II de la griséofulvine.

Les structures moléculaires des formes I et II de la griséofulvine sont présentées selon le plan bc sur les figures III-18 et III-19. On peut voir selon le plan ab, dans le cas de la forme I de la griséofulvine, que les molécules sont globalement orientées suivant l'axe c tandis que dans le cas de la forme II, les molécules sont orientées suivant l'axe b. Les molécules de la forme II forment des plans très nets parallèles au plan ab tandis que les molécules de la forme I sont orientées tantôt selon le plan ac, tantôt selon bc.



Figure III-18 : Représentation de la structure de la forme I de la griséofulvine



Figure III-19 : Représentation de la structure de la forme II de la griséofulvine

Le volume par molécule de la forme I est égal à 400 Å<sup>3</sup> tandis que celui de la forme II est égal à 426 Å<sup>3</sup>. Cette différence de volume indique que les molécules de forme II ont besoin d'un espace plus important que les molécules de forme I pour maintenir leur configuration structurale. Cela montre que la forme II est dans une situation de métastabilité par rapport à la forme I.

La forme II de la griséofulvine, tout comme la forme I, ne présente pas de groupement atomique permettant la formation de liaisons hydrogènes. La seule autre possibilité d'interaction intermoléculaire est la force de van der Walls ayant généralement une contribution moins importante que les autres types de liaison. Les électrons mobiles dans les molécules peuvent engendrer une charge temporaire à une extrémité : on a alors un dipôle fluctuant rapidement. Si une molécule voisine est moins polarisée, alors ses électrons seront attirés par la faible attraction de la première molécule. On aura un dipôle induit qui suivra de façon synchronisée les variations de charge. Les deux molécules sont alors liées par une interaction dipôle-dipôle.

## IV Détermination du diagramme de solubilité PVP K30 / griséofulvine

Cette partie est consacrée à la détermination du diagramme de solubilité du mélange PVP K30 / griséofulvine suivant la nouvelle méthode présentée au chapitre II et qui consiste à atteindre rapidement la saturation à une température donnée par démixtion d'un mélange sursaturé. Cette sursaturation est obtenue ici directement à l'état solide par cobroyage des 2 composés.

L'étude sera menée en 3 étapes. Tout d'abord, l'influence du broyage sur les composés purs sera étudiée. Puis nous montrerons la possibilité de former des alliages moléculaires amorphes, homogènes et sursaturés en griséofulvine par cobroyage. Et finalement, ces alliages seront utilisés pour déterminer le diagramme d'état du mélange, c'est-à-dire la courbe de solubilité et la courbe de Gordon-Taylor donnant l'évolution de la température de transition vitreuse de l'alliage en fonction de sa composition. Les investigations seront principalement menées par DSC et par diffraction des rayons X.

### IV.A Effets du broyage sur la griséofulvine et le PVP K30

#### IV.A.1 Griséofulvine

La figure III-20.a) montre les diagrammes de diffraction de la griséofulvine commerciale, de la griséofulvine commerciale broyée 19h et de la griséofulvine amorphe obtenue par trempe du liquide à température ambiante. Avant broyage, la griséofulvine commerciale présente les pics de Bragg caractéristiques de la forme cristalline I stable [78]. Le diffractogramme du cristal broyé 19h ne présente plus de pics de Bragg ce qui suggère que le matériau a été amorphisé sous broyage. Il se résume à un halo diffus présentant un caractère bimodal identique à celui du verre obtenu par trempe du liquide.

La figure III-20.b) montre les thermogrammes de DSC enregistrés au chauffage à 5°C/min de la griséofulvine commerciale non broyée, de la griséofulvine broyée 19h et du verre obtenu par trempe du liquide. Le thermogramme de la griséofulvine commerciale montre un seul endotherme à 220°C correspondant à la fusion de la forme I. Le thermogramme de la griséofulvine broyée présente un exotherme de recristallisation situé entre 80°C et 130°C ainsi qu'un endotherme de fusion situé vers 220°C indiquant que la recristallisation s'effectue vers la forme I. On peut remarquer que la cristallisation présente deux caractères inhabituels puisqu'elle s'opère en deux temps et qu'elle débute sous T<sub>g</sub>. Zhu & al [90] ont montré que les composantes haute et basse température de l'exotherme de recristallisation de volume. La recristallisation de surface est ici particulièrement visible en raison de l'augmentation très forte de la surface spécifique de la poudre engendrée par le broyage. De plus, Willart & al [105] ont pu mettre en évidence la transition vitreuse du composé broyé sous-jacente à l'exotherme de recristallisation. Cela montre que le broyage de la griséofulvine conduit bien à un état amorphe et vitreux.



Figure III-20 : Diagrammes de diffraction des rayons X a) et thermogrammes enregistrés au chauffage (5°C/min) b) de la griséofulvine commerciale avant et après broyage et du verre obtenu par trempe du liquide.

#### *IV.A.2 PVP K30*

La figure III-21 montre les flux de chaleur réversibles enregistrés par DSC à modulation de température (5°C/min) pour des échantillons de PVPK30 non broyé et broyé 19h. Le run 1 correspond au PVPK30 non broyé. Il montre clairement la transition vitreuse du matériau située à Tg = 160 °C. Le run 2 correspond au PVPK30 broyé 19 heures. Il montre une transition vitreuse à Tg = 171°C, c'est à dire située 11°C au-dessus de celle du PVPK30 non broyé. Ce décalage indique que le broyage a induit une légère modification chimique ou structurale du matériau amorphe de départ. Parmi les modifications physiques possibles, on peut penser à une densification du matériau sous broyage. La diminution du volume libre conduirait alors à une augmentation de Tg. Ce scénario n'est cependant pas compatible avec le fait qu'un deuxième scan de l'échantillon broyé montre une transition vitreuse qui reste décalée vers les hautes températures. Le passage au-dessus de Tg lors du premier scan devrait provoquer un relâchement des contraintes mécaniques et donc restaurer la densité habituelle du matériau. Parmi les modifications chimiques possibles, on peut citer la cassure des chaînes polymères ou, au contraire, leur allongement. La cassure des chaîne polymères sous broyage a déjà été reportée dans la littérature [106] mais elle se traduit en principe par une diminution de la température de transition vitreuse du matériau. Une augmentation de la longueur des chaînes se traduirait par contre par une augmentation de la température de transition vitreuse. Cette augmentation pourrait provenir d'une polymérisation supplémentaire des chaînes initiales rendue possible par la présence de radicaux libres et favorisée par le broyage.



Figure III-21 : Flux de chaleur réversibles enregistrés au chauffage à 5°C/min par DSC modulée : Run 1 : PVP K30 non broyé Run 2 : PVP K30 broyé 19h

La figure III-22 permet de comparer les diagrammes de diffraction des rayons X du PVP K12, du PVPK30 non broyé et du PVPK30 broyé pendant 19 heures, enregistrés à température ambiante. On constate que ces diagrammes de diffraction se caractérisent par une absence de pics de Bragg et une diffusion diffuse bimodale. Cela indique que le PVPK30 est amorphe avant et après broyage et que ce caractère amorphe n'est pas modifié par le broyage. On peut remarquer que l'intensité de la première composante du halo diffus ( $2\theta = 12^{\circ}$ ) du PVP K30 est supérieure à celle du PVP K12. Cela est vraisemblablement dû à sa longueur de chaine plus longue. On peut également remarquer que la première composante du PVP K30 broyé est supérieure à celle du PVP K30 non broyé. Cette évolution est donc compatible avec une augmentation de la longueur de chaîne due à une polymérisation supplémentaire sous broyage.



Figure III-22 : Diagrammes de diffraction des rayons X du PVP K12, du PVP 30 et du PVP K30 broyé 19h.

Il est à noter que toutes les investigations présentées par la suite ont été réalisées à partir de PVPK30 longuement broyé de sorte que les résultats ne sont pas impactés par le décalage de la transition vitreuse induit par le broyage lui-même.

# **IV.B** Etude des solutions solides PVP K30 / griséofulvine obtenues par co-broyage

# *IV.B.1 Obtention d'une solution solide amorphe sursaturée* $[40:60]_m$ *directement à l'état solide par co-broyage*

L'objectif de cette partie est de tester la possibilité de former des alliages moléculaires amorphes et homogènes, de PVP K30 et de griséofulvine directement à l'état solide par cobroyage des composés individuels. Le test a été réalisé avec un mélange physique massique [60 :40]<sub>m</sub> de griséofulvine et de PVP K30 broyé durant 19h à température ambiante.

La figure III-23.A montre le diagramme de diffraction des rayons X du mélange enregistré immédiatement après le co-broyage (c). Elle montre aussi pour comparaison les diagrammes de diffraction de la griséofulvine pure avant (d) et après broyage (b) ainsi que du PVP broyé (a). L'absence de pic de Bragg suggère fortement une amorphisation du mélange sous broyage.

La figure III-23.B montre le flux de chaleur réversible (c) et le flux de chaleur total (e) enregistrés en DSC à 5°C/min du mélange PVP K30 / griséofulvine [40 :60]<sub>m</sub> cobroyé. Les flux de chaleur réversibles du PVP K30 broyé et de la griséofulvine liquide trempée sont également représentés pour comparaison. Le thermogramme (c) montre que le mélange [40:60]<sub>m</sub> cobroyé présente 3 événements enthalpiques successifs qui se chevauchent partiellement. Au cours du chauffage, ces événements sont respectivement endothermique, exothermique et endothermique. L'enregistrement parallèle du flux de chaleur réversible (c) montre que le 1<sup>er</sup> événement est en fait un saut de chaleur spécifique caractéristique d'une transition vitreuse située à Tg =  $106^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ . Ce saut de chaleur spécifique est immédiatement suivi par un exotherme de recristallisation de la griséofulvine qui s'étend sur 50°C (de 120°C à 170°C). Cette recristallisation débute avant même la fin du saut de Cp à Tg reproduisant ainsi un comportement similaire à celui de la griséofulvine pure amorphisée par broyage (figure III-20). Le 3<sup>ème</sup> événement enthalpique débute immédiatement après la recristallisation, et se termine à la température de fusion de la griséofulvine. Il s'étale donc sur 50°C et présente une enthalpie de  $32.5J/g \pm 3J/g$ . Ces caractères laissent penser que cet endotherme correspond à la redissolution dans le PVP de la griséofulvine recristallisée à plus basse température. Ce comportement est tout à fait semblable à celui rencontré dans le mélange PVP K12 / indométacine (cf figure II-12.b). La comparaison des enthalpies de recristallisation et de fusion / dissolution indique que l'ensemble de l'échantillon a été amorphisé au cours du broyage. De plus, l'unique transition vitreuse observée pour le mélange cobroyé ne correspond ni à la transition vitreuse du PVP K30 broyé située à 171°C± 1°C (a) ni à la transition vitreuse de la griséofulvine liquide trempée située à 93°C ± 1°C (b). Cela indique que les deux espèces chimiques ont été véritablement mélangées à l'échelle moléculaire pour former un alliage amorphe homogène. La recristallisation de cet alliage implique forcément la démixtion du polymère et du principe actif. Elle indique donc que l'alliage [40:60]<sub>m</sub> obtenu par co-broyage est sursaturé en griséofulvine.



Figure III-23 : A) diagrammes de diffraction des rayonx X
B) Flux de chaleur réversibles enregistrés au chauffage à 5°C /min:

a) PVP K30 broyé
b) griséofulvine liquide trempée depuis l'état liquide
c) Cobroyage PVP K30/griséofulvine [40 :60]<sub>massique</sub>
d) griséofulvine non broyée
e) mélange PVP K30/griséofulvine [40 :60]<sub>m</sub> co-broyé (flux total)

## *IV.B.2 Evolution de la température de transition vitreuse de l'alliage avec la composition*

Afin de déterminer l'évolution de la température de transition vitreuse de l'alliage PVP / griséofulvine avec la composition, des alliages de différentes compositions ont été réalisés par co-broyage des mélanges physiques correspondants. Le protocole de broyage est identique à celui utilisé dans la partie précédente, à savoir 19h de broyage effectif à température ambiante

La figure III-24 présente l'évolution des flux de chaleur réversibles enregistrés au chauffage par DSC modulée (5°C/min) pour des mélanges de concentrations massiques en griséofulvine de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% et 80%. Les flux de chaleur réversibles des matériaux purs sont également reportés. On constate que le saut de C<sub>p</sub> associé à la transition vitreuse se décale vers les basses températures lorsque la concentration en griséofulvine augmente. Ce comportement est cohérent avec l'effet plastifiant attendu de la griséofulvine [20:80] a été obtenu par cobroyage du PVP K30 et de la griséofulvine préalablement amorphisée seule par un broyage de 17h à température ambiante. Le cobroyage réalisé avec de la griséofulvine cristalline n'a en effet pas permis d'obtenir un mélange parfaitement amorphe.

La figure III-24 b) montre l'évolution des températures de transition vitreuse des alliages obtenus par cobroyage en fonction de la composition du mélange. Les valeurs correspondantes sont reportées dans le tableau III-3.

Xgriséo	$Tg(^{\circ}C) \pm 1^{\circ}C$
1.00	93
0.80	97
0.60	106
0.50	114
0.40	123
0.30	130
0.20	141
0.10	158
0.00	171

Tableau III-3 : Températures de transition vitreuse des alliages PVP K30 / griséofulvineobtenus par cobroyage, en fonction de leur composition.

L'évolution de la température de transition vitreuse avec la concentration a été ajustée par la loi de Gordon-Taylor définie au chapitre I dont on rappelle l'équation (équation III-3) :

$$T_g(m\acute{e}l) = \frac{X_{gris\acute{e}o}Tg_{(gris\acute{e}o)} + K(1 - X_{gris\acute{e}o})Tg_{PVP}}{X_{gris\acute{e}o} + K(1 - X_{gris\acute{e}o})}$$
(III-3)

où K est le paramètre d'ajustement. Le meilleur ajustement a été obtenu pour K = 0.39. Dans le cadre des solutions régulières, le paramètre K, caractéristique de la courbure, représente l'écart à l'idéalité du mélange. Il reflète donc les interactions potentielles entre la griséofulvine et le PVP K30. La théorie de Gordon-Taylor prévoit que le paramètre K soit égal au rapport des sauts de  $C_p$  à  $T_g$  des deux composés :

$$K_{th} = \frac{\Delta C p_{PVP}}{\Delta C p_{gris\acute{e}o}}$$
(III-4)

Les amplitudes des sauts de chaleur spécifique de la griséofulvine et du PVP K30 ont déjà été mesurées par DSC en début de chapitre ( $\Delta Cp_{PVP} = 0.28 \text{ J/g.}^{\circ}C$  et  $\Delta Cp_{griséo} = 0.42 \text{ J/g/}^{\circ}C$ ). Le rapport des sauts de chaleur spécifique du PVP K30 et de la griséofulvine conduit à une valeur de K<sub>th</sub> = 0.66. Cette valeur de K<sub>th</sub> est notablement différente de celle issue de l'ajustement de l'équation III-3. Cela suggère qu'il existe une interaction entre les deux espèces chimiques. La courbe de Gordon Taylor obtenue par ajustement de l'équation III-3 permet d'établir une relation univoque entre la température de transition vitreuse et la concentration des mélanges. Elle sera utilisée pour déterminer la concentration résiduelle après démixtion à différentes températures de la griséofulvine dans les mélanges sursaturés PVP K30 / griséofulvine [40:60]<sub>massique</sub>.



Figure III-24 : Flux de chaleur réversibles enregistrés en DSC modulée au chauffage à 5°C/min a) et report des Tg obtenus en fonction de la composition b) pour les cobroyages PVP / griséofulvine de compositions massiques

1.00, 0.80, 0.60, 0.50, 0.40, 0.30, 0.20, 0.10 et 0.00.

# IV.C Détermination de la courbe de solubilité par démixtion du mélange PVP K30 / griséofulvine [40:60]

Suivant le principe de la méthode détaillée dans le chapitre II, la démixtion du mélange PVP K30 / griséofulvine est utilisée pour atteindre rapidement la saturation à différentes températures. Pour cela, nous allons procéder en deux étapes. Rappelons que la première étape consiste à atteindre l'état saturé à une température  $T_r$  par recuit à cette température. La seconde étape consiste à déterminer la composition de l'alliage saturé après démixtion à cette température.

Rappelons que la méthode par démixtion vue au chapitre Il nécessite de faire des recuits à haute température. Il est donc essentiel d'évaluer la dégradation du PVP K30 en fonction de la température de recuit et de la durée de recuit. L'objectif est ici de déterminer pour chaque température de recuit le temps de recuit maximum n'entrainant pas de dégradation.

### IV.C.1 Effet de la température de recuit sur la dégradation du PVPK30

Un échantillon de PVP K30 de 3mg est recuit 2h en DSC à des températures de 160°C, 170°C, 180°C, 190°C et 200°C. Pour chacune des températures, un nouvel échantillon est préparé. A la fin de chaque recuit, l'échantillon est refroidi à température ambiante puis réchauffé en DSC (5°C/min). Les flux de chaleur réversibles enregistrés au cours du chauffage final sont reportés sur la figure III-25.



Figure III-25 : Thermogrammes enregistrés au chauffage à 5°C/min pour des échantillons de PVP K30 broyés et soumis à des recuits de 2h à différentes températures. Ces températures sont indiquées sur la gauche de la figure.

Pour les recuits à 160°C et 170°C, les enregistrements montrent que la température de transition vitreuse du PVP K30 n'a pas changée (Tg = 171°C). En revanche, pour les recuits à 180°C, 190°C et 200°C, on observe un décalage grandissant de la température de transition vitreuse vers les hautes températures. Par exemple, après le recuit à 200°C, la température de transition vitreuse se situe à 176°C. Ce décalage de la transition vitreuse indique que le PVP K30 s'est dégradé lors des recuits de 2h au-dessus de 180°C. Cela est confirmé par un examen visuel des échantillons après recuit qui montre un changement de couleur du PVP après recuit pour les températures de recuit supérieures à 180°C (figure III-26).



Figure III-26 : Photographies d'un échantillon de PVPK12 avant (a) et après (b) un recuit de 2h à 180°C.

### IV.C.2 Effet du temps de recuit sur la dégradation du PVPK30

La figure III-27 montre l'évolution du flux de chaleur réversible au chauffage à 5°C/min enregistré par DSC modulée d'un échantillon de PVP K30 broyé (a) et de ce même échantillon après un recuit de 32h à 160°C (b). On constate que la température de transition vitreuse du PVP K30 s'est décalée vers les hautes températures après le recuit à 160°C, ce qui suggère une dégradation du PVP au cours de ce recuit. De plus, un examen visuel de l'échantillon après ce recuit montre un brunissement du PVP semblable à celui de la figure III-26.b qui confirme la dégradation.



Figure III-27 : Flux de chaleur réversible enregistrés à 5°C/min en DSC modulée du PVP K30 broyé et du PVP K30 broyé et recuit 32h à 160°C.

Le déplacement vers les hautes températures de la température de transition vitreuse du PVP K30 ainsi que sa dégradation visuelle nous ont permis de définir les temps maximum pour lesquels on peut raisonnablement utiliser le PVP K30 sans dégradation à une température de recuit donnée. Ces temps maximum sont reportés dans le tableau III-4 pour les températures de 160°C, 170°C, 180°C, 190°C et 200°C :

T <sub>recuit</sub> (°C)	160	170	180	190	200
t <sub>equilibre</sub> (min)	<480	165	60	40	15

Tableau III-4 : Temps de recuit maximum à 160°C, 170°C, 180°C, 190°C et 200°C pour lesquels le PVP K30 ne subit pas de dégradation.

### *IV.C.3 Détermination du diagramme de solubilité du mélange PVP K30 / griséofulvine*

La dégradation du PVP K30 à haute température fait de la détermination du diagramme de solubilité du mélange PVP K30 / griséofulvine un véritable challenge. Par exemple, les méthodes classiques qui nécessitent des temps de recuit longs à haute température sont totalement inutilisables pour cette détermination. Nous allons tester ici si la nouvelle méthode par démixtion, moins contraignante en terme de temps de recuit, permet cette détermination.

Les problèmes de dégradation du PVP K30 au cours de recuits à haute température vus précédemment créent un dilemme pour la détermination de la courbe de solubilité. En effet, si on utilise des recuits suffisamment longs pour atteindre les états d'équilibre saturés, on prend le risque de dégrader le polymère. Si par contre on diminue les temps de recuit pour s'assurer de l'intégrité du polymère, on prend le risque de ne pas atteindre les états d'équilibre. Nous avons donc choisi d'adopter deux stratégies différentes pour déterminer le diagramme de solubilité du système PVP K30 / griséofulvine. La première stratégie consiste à utiliser des temps de recuit suffisamment longs pour atteindre les états d'équilibre. Dans ce cas, il n'est pas exclus que les résultats obtenus puissent être affectés par une dégradation du PVP. La deuxième stratégie consiste à utiliser des temps de recuit suffisamment courts pour garantir la non dégradation du PVP. Mais dans ce cas, il est possible que les états d'équilibre ne soient pas atteints et que les résultats en soient affectés. Les résultats obtenus par chacune des stratégies seront ensuite comparés pour tenter d'estimer les erreurs inhérentes à chaque stratégie et déterminer la véritable courbe de solubilité.

#### a) Stratégie 1 : Utilisation de temps de recuit longs permettant d'atteindre les états d'équilibre

La solution solide sursaturée PVP K30 / griséofulvine [40 :60] obtenue par co-broyage a été recuite à différentes températures avec des temps de recuit suffisamment longs pour garantir l'obtention de l'équilibre. Ces temps de recuit nécessaires à l'achèvement du processus de démixtion sont à priori inconnus. Ils ont été déterminés en adoptant la démarche suivante. L'échantillon sursaturé a été :

- (i) chauffé dans la DSC (5°C/min) de 20°C jusqu'à la température de recuit
- (ii) maintenu à cette température pendant 2 heures
- (iii) refroidi à 20°C (5°C/min)
- (iv) chauffé à nouveau jusqu'à la température de recuit

les étapes (ii), (iii) et (iv) sont ensuite répétées plusieurs fois.

Les thermogrammes enregistrés au cours de l'étape (iv) sont ensuite comparés. Ils présentent tous une transition vitreuse qui se décale vers les hautes températures lorsque le nombre de cycles augmente. Ce décalage est dû à l'avancement du processus de démixtion survenant au cours de l'étape (ii). Lorsqu'il cesse, on peut considérer que le processus de démixtion qui s'opère au cours des recuits cumulés est achevé. Cette procédure a permis de déterminer les temps de recuit minimum nécessaires pour achever la démixtion à quelques températures. Ces températures et ces temps de recuit utilisés sont reportés dans le tableau III-5.

T <sub>recuit</sub> (°C)	160	170	180	190	200
T <sub>recuit</sub> (h)	32	4	2	2	2

Tableau III-5 : Température et temps de recuit utilisés garantissant que l'équilibre soit atteint.

La figure III-28.a) présente les flux de chaleur réversibles des échantillons recuits enregistrés en DSC modulée (5°C/min). L'ensemble des thermogrammes montrent des sauts de Cp qui se décalent vers les basses températures lorsque la température de recuit augmente. Cela indique que la concentration résiduelle de griséofulvine dans le mélange ayant atteint la saturation augmente.

Cette concentration de saturation est déterminée en reportant la température de transition vitreuse de chaque mélange recuit sur la courbe de Gordon-Taylor de la figure III-28.b. Les valeurs obtenues sont reportées dans le tableau III-5 et sur la figure III-28.b pour décrire la courbe de solubilité.

T <sub>recuit</sub> (°C)	Tg(°C) ± 1°C	X <sub>griséo</sub> ± 0,02°C
200	125	0,36
190	133	0,24
180	138	0,20
170	142	0,18
160	148	0,13

Tableau III-6 :

Températures de recuit auxquelles la concentration à saturation a été déterminée, Tg des mélanges saturés déterminés par DSC modulée (5°C/min) et concentrations de saturation en griséofulvine de ces mélanges obtenues par report des Tg sur la courbe Tg = f ( $X_{griséo}$ ) (figure III-28.b)

Les points de la courbe de solubilité ont été ajustés par le modèle de Flory-Huggins. La variable d'ajustement est le paramètre de solubilité  $\chi$ . Le meilleur ajustement a été obtenu pour  $\chi = -0.07$  ce qui est le signe d'une solubilité relativement faible. Cet ajustement permet d'extrapoler la courbe de solubilité aux températures inférieures à 160°C pour lesquelles aucune méthode n'est actuellement capable de déterminer la solubilité. Elle permet notamment de déterminer la limite de solubilité à 20°C ( $X_{griséo} < 1\%$ ). Ce paramètre est important pour la formulation pharmaceutique puisqu'il permet de déterminer le maximum de griséofulvine qui peut être dissout dans le PVP sans risque de recristallisation au stockage (ie 20°C).



Figure III-28 : a) Flux de chaleur réversible enregistré au chauffage (5°C/min) de mélanges PVP K30 / griséofulvine ayant subis différents recuits. Les temps et températures de recuit sont reportés sur chaque courbe.

b) Report des Tg de ces mélanges sur la courbe de Gordon-Taylor (-▲-) et

détermination des fractions massiques en griséofulvine correspondantes (•). Ces fractions massiques sont ajustées par un modèle de flory-Huggins (—).

## b) Stratégie 2 : Utilisation de temps de recuit courts garantissant l'intégrité chimique du PVP

La solution solide sursaturée PVP K30 / griséofulvine [40 :60] obtenue par co-broyage a été recuite à différentes températures avec des temps de recuit suffisamment courts pour garantir l'intégrité chimique du PVP. Les temps de recuit et les températures utilisés sont ceux du tableau III-4.

La figure III-29.a) présente les flux de chaleur réversibles des échantillons recuits enregistrés en DSC modulée (5°C/min). L'ensemble des thermogrammes montrent des sauts de Cp qui se décalent vers les basses températures lorsque la température de recuit augmente. Cela indique que la concentration résiduelle de griséofulvine dans le mélange augmente lorsque la température de recuit diminue.

Cette concentration résiduelle est déterminée en reportant la température de transition vitreuse de chaque mélange recuit sur la courbe de Gordon-Taylor de la figure III-29.b. Les valeurs obtenues sont reportées dans le tableau III-7 et sur la figure III-29.b pour décrire la courbe de solubilité.

T <sub>recuit</sub> (°C)	Tg(°C) ± 1°C	X <sub>griséo</sub> ± 0,02°C		
200	125	0,36		
190	133	0,27		
180	138	0,22		
170	142	0,18		

### Tableau III-7 :

#### Températures de recuit, Tg des mélanges recuits déterminés par DSC modulée (5°C/min), et concentrations résiduelle en griséofulvine des mélanges recuits déterminées par report des Tgs sur la courbe Tg = f (X<sub>griséo</sub>) (figure III-29.b).

Les points de la courbe de solubilité ont été ajustés par le modèle de Flory-Huggins. La variable d'ajustement est le paramètre de solubilité  $\chi$ . Le meilleur ajustement a été obtenu pour un  $\chi = -0.08$  qui est le signe d'une solubilité relativement faible.



Figure III-29 : a) Flux de chaleur réversible enregistré au chauffage (5°C/min) de mélanges PVP K30 / griséofulvine ayant subis différents recuits. Les temps et températures de recuit sont reportés sur chaque courbe.

b) Report des Tg de ces mélanges sur la courbe de Gordon-Taylor (-▲-) et détermination des fractions massiques en griséofulvine correspondantes (●). Ces fractions massiques sont ajustées par un modèle de flory-Huggins (--).

### **V** Discussion

La détermination des courbes de solubilité polymère / principe actif nécessite d'effectuer des recuits plus ou moins longs à des températures hautes qui peuvent aller jusqu'à la température de fusion du principe actif. Cette nécessité devient problématique lorsque l'un des matériaux est susceptible de se dégrader au cours de ces recuits. De ce point de vue, la nouvelle méthode (par démixtion) présente un énorme avantage par rapport aux méthodes classiques (par dissolution) puisque la durée des traitements thermiques à hautes températures est beaucoup plus courte. Cependant, dans le cas particulier étudié dans ce chapitre (PVP K30 / griséofulvine) les temps de recuits imposés par la méthode par démixtion sont malgré tout encore trop longs pour éviter la dégradation du PVP. Deux stratégies, présentant chacune un avantage et un inconvénient, ont été mises en place pour tenter de contourner cette difficulté.

- La stratégie numéro 1 consiste à utiliser des temps de recuit suffisamment longs qui permettent de garantir que les états d'équilibre saturés sont atteints à la fin des phases de recuit. Cette stratégie présente par contre l'inconvénient d'induire une dégradation non maîtrisée du PVP susceptible de biaiser les résultats et de conduire à une mauvaise estimation de la courbe de solubilité. Nous avons toutefois pu montrer que la dégradation thermique du PVP se traduit par un décalage de la transition vitreuse vers les hautes températures. Cette température de transition vitreuse décalée, lorsqu'elle est reportée sur la courbe de Gordon Taylor, conduit donc à une sous-estimation systématique de la concentration résiduelle de griséofulvine dans le mélange saturé, atteint par démixtion d'un mélange sursaturé. La courbe de solubilité apparente déduite de la stratégie numéro 1 se situe donc nécessairement au-dessus de la courbe de solubilité réelle.
- La stratégie numéro 2 consiste, à l'inverse, à utiliser des temps de recuit suffisamment courts qui permettent de garantir la non dégradation du PVP au cours des phases de recuit. Cette stratégie présente, quant à elle, l'inconvénient de ne pas pouvoir garantir que l'état d'équilibre saturé soit bien atteint à chaque température au cours du processus de démixtion. Cependant, dans les cas où cet équilibre n'est pas atteint à une température donnée, c'est-à-dire dans les cas où la démixtion n'est pas achevée, la température de transition vitreuse du mélange à la fin du recuit est inférieure à celle attendue pour le mélange saturé à cette même température. Le report de ce Tg sous-estimé sur la courbe de Gordon Taylor conduit alors à une surestimation systématique de la concentration résiduelle de griséofulvine dans le mélange saturé. Cet effet est clairement illustré par le cercle bleu de la figure III-30 qui correspond à un recuit de 8h à 160°C (cf tableau III-4) et pour lequel le mélange en cours de démixtion est encore très loin de son état saturé d'équilibre à la fin du recuit (T<sub>g</sub> = 139°C ± 1°C, X<sub>griséo</sub> = 0,21 ± 0.02). La courbe de solubilité apparente déduite de la stratégie numéro 2 se situe donc au-dessous de la courbe de solubilité réelle.

Les courbes de solubilité du système PVP K30 / griséofulvine obtenues par les stratégies 1 et 2 peuvent être comparées sur la figure III-30. On constate que les limites de solubilité expérimentales déterminées par les deux stratégies sont très proches les unes des autres. De plus, les faibles différences observées -lorsqu'elles existent- sont cohérentes avec les déviations attendues pour chaque stratégie. En particulier, les limites de solubilité issues de la stratégie n°1 sont très légèrement, mais systématiquement, inférieures à celles issues de la stratégie numéro 2. Les deux jeux de données sont, de ce fait, parfaitement compatibles avec un modèle de Flory-Huggins unique caractérisé par un paramètre de solubilité  $\chi = -0.07 \pm 0.01$ . L'extrapolation du modèle prévoit alors une limite de solubilité de la griséofulvine dans le PVPK30 à 20°C inférieure à 1%.



Figure III-30 : Comparaison des courbes de solubilité du mélange PVP K30 / griséofulvine obtenus par:
des traitements thermiques courts garantissant la non dégradation du PVP (●)
des traitements thermiques longs garantissant que les états d'équilibre soient atteints (X).
La courbe noire représente le meilleur ajustement du modèle de Flory-Huggins.
La courbe verte représente le meilleur ajustement de la courbe de Gordon-Taylor sur les températures de transition vitreuses expérimentales (▲).
Le cercle bleu (o) montre à titre indicatif la limite de solubilité (apparente) obtenue à après un recuit de 8h à 160°C préconisé par la stratégie n°2. Ce temps de recuit est clairement insuffisant pour atteindre l'équilibre à cette température. La grande similitude des courbes de solubilité issues des stratégies 1 et 2 indique qu'elles sont très proches de la véritable courbe de solubilité qui est nécessairement située entre les deux. Elle montre aussi que l'influence de la dégradation du PVPK30 sur la solubilité de la griséofulvine est finalement très faible dans la zone de température étudiée.

### **VI** Conclusion du chapitre III

Dans ce chapitre, nous avons déterminé la courbe de solubilité expérimentale du mélange PVPK30 / griséofulvine. Cette détermination a été réalisée en mettant en œuvre la méthode par démixtion que nous avons mise au point et présentée au chapitre II. Le challenge était ici de s'affranchir des problèmes de dégradation chimique du PVP K30 qui surviennent rapidement à haute température. Ce problème de dégradation a nécessité d'adopter deux stratégies différentes permettant d'obtenir deux courbes de solubilité expérimentales encadrant la courbe de solubilité réelle. La première stratégie a consisté à utiliser des temps de recuits suffisamment longs pour garantir que les états saturés d'équilibre soient atteints. La deuxième, a consisté à utiliser des temps de recuit suffisamment courts pour garantir la non dégradation du PVPK30. Nous avons montré que ces deux stratégies donnent des courbes de solubilité légèrement biaisées situées respectivement au-dessus et au-dessous de la courbe réelle. Ces courbes de solubilité biaisées encadrant la courbe réelle, étant très proches l'une de l'autre, donnent finalement une estimation très précise de la courbe de solubilité réelle du mélange PVPK30 / griséofulvine.

Comparativement à la méthode par démixtion, les méthodes classiques de détermination des courbes de solubilité (méthodes par dissolution [48]) nécessitent des temps de recuit à haute température beaucoup plus longs (plusieurs dizaines d'heures en général). Elles sont donc totalement inutilisables pour des systèmes, tels que PVPK30 / griséofulvine, où l'un des deux constituants présente des dégradations chimiques fortes au chauffage. L'aptitude de la méthode par démixtion à déterminer la courbe de solubilité du système PVPK30 / griséofulvine montre donc que les temps de recuits plus courts, qui font l'intérêt de cette méthode, sont aussi à l'origine d'un domaine d'application plus étendu.

Par ailleurs, les investigations menées sur la griséofulvine ont révélé un polymorphisme cristallin riche que nous avons étudié en détail. Nous avons en particulier découvert deux polymorphes (formes II et III) issus de la recristallisation du liquide trempé. La structure cristallographique de la forme II (orthorhombique  $P2_12_12_1$ ) a été résolue. De plus, les propriétés thermodynamiques de ces polymorphes ont été déterminées par DSC et le diagramme de phase a pu être établi. Il montre que les formes II et III forment un ensemble énantiotrope et que chacune d'elles est intrinsèquement métastable par rapport à la forme I usuelle.

Les propriétés de recristallisation des formes II et III à partir du liquide trempé (obtenu par fusion/trempe de la forme I) ont été étudiées en détail. Nous avons pu montrer que le maximum des vitesses de nucléation homogène des formes II et III est situé entre 90°C et 115°C mais que ces vitesses peuvent être fortement modifiées par l'apparition de fissures lors de la trempe du liquide. Des traitements thermiques judicieusement choisis ont d'ailleurs permis de montrer que ces fissures favorisent le développement des noyaux mais qu'elles ne créent pas les noyaux eux-mêmes. Les mécanismes par lesquels les fissures peuvent faciliter la nucléation sans pour autant créer les noyaux restent à identifier.

Enfin, les raisons pour lesquelles l'identification des formes II et III avait jusqu'à présent curieusement échappé aux nombreuses investigations portant sur la cristallisation de la griséofulvine en solution [78, 82, 83] et à partir du liquide trempé [73, 84-87] ont été identifiées. Elles sont apparemment liées à la difficulté d'éliminer toutes traces de cristallinité de la forme I lors de sa fusion. Ces traces induisent alors inévitablement une recristallisation du liquide trempé vers la forme I au réchauffage rendant de ce fait, impossible, la recristallisation des formes II et III qui survient à plus haute température.
### Chapitre IV : Détermination du diagramme de solubilité β-cyclodextrine méthylée/ griséofulvine

Dans le chapitre précédent, nous avons pu déterminer le diagramme de solubilité PVP K30 / Griséofulvine à l'aide de la nouvelle méthode décrite dans le chapitre II de cette thèse.

Dans ce chapitre, nous allons tenter d'appliquer cette nouvelle méthode vue au chapitre II, non plus à un système polymère / principe actif, mais à un système polysaccharide / principe actif. Le polysaccharide utilisé ici est une cyclodextrine.

Les cyclodextrines sont des molécules cage permettant la complexation de molécules invitées dans leur cavité. Elles sont très utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour augmenter la solubilité et préserver les molécules de principe actif fragiles. De plus, ces molécules de masse moléculaire élevées ont généralement des températures de transition vitreuse assez hautes ce qui en fait de bons candidats pour la réalisation d'alliages moléculaires potentiellement stables.

Cette étude va s'effectuer en deux étapes :

- La première consistera à trouver une cyclodextrine ayant des propriétés physiques équivalentes au PVP K30 (Tg = 160°C) étudié au chapitre III.
- Le deuxième point consistera à associer la griséofulvine à cette cyclodextrine et d'en déterminer le diagramme de solubilité par la méthode exposée au chapitre II.

#### I Présentation des cyclodextrines

Les cyclodextrines (CD) sont des molécules cycliques issues de l'enchainement de n molécules de glucose [107] (figure IV-1). Les plus petites et les plus utilisées des cyclodextrines sont constituées de n = 6, 7 ou 8 appelées respectivement  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ cyclodextrines. Ces molécules, représentées sur la figure IV-2, possèdent une cavité centrale présentant une forte densité électronique due à la présence d'atomes d'oxygène, de carbone et d'hydrogène ce qui lui confère un caractère hydrophobe. La partie externe des cyclodextrines est marquée par la présence de trois fonctions hydroxyle (-OH) donnant un caractère hydrophile à la molécule. Elles se présentent sous forme cristalline et leurs masses molaires et températures de fusion sont reportées dans le tableau IV-1 :



Figure IV-1 : Représentation schématique d'une molécule de glucose pouvant être répétée cycliquement n fois pour former une cyclodextrine.



Figure IV-2 : Représentation schématique des molécules de α, β et γ cyclodextrines.

	α-CD	β-CD	γ-CD
Nombre d'unités glucose	6	7	8
Masse molaires (g/mol)	972	1135	1297
Température de fusion	275	280	275

Tableau IV-1 : Masses molaires et températures de fusion des molécules de  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  cyclodextrines.

Des cyclodextrines modifiées peuvent être obtenues par substitution des groupements hydroxyles (-OH) présents sur la partie externe des cyclodextrines natives ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ) par des groupements méthyles (-CH<sub>3</sub>) [108]. On parle alors de cyclodextrines méthylées et elles sont identifiées par leur degré de substitution (DS) qui correspond au nombre de groupements hydroxyles (trois –OH par molécule de glucose) remplacés par des groupements O-méthylés (O-CH<sub>3</sub>). Par exemple, une cyclodextrine totalement méthylée présentera un degré de substitution de 3 (DS=3) tandis qu'une cyclodextrine méthylée à 60% présentera un degré de substitution de 1.8.

Le caractère amphiphile des cyclodextrines (intérieur de la cavité hydrophobe et extérieur hydrophile) leur confère la propriété particulière de pouvoir former des complexes d'inclusion réversibles de type hôte-invité avec de nombreuses molécules organiques. Les cyclodextrines sont utilisées dans un très large éventail de domaines tel que l'alimentaire [108, 109], les cosmétiques [110, 111], le textile [112, 113], la chimie fine [114], la chimie analytique [115, 116] ou encore la synthèse organique [117]. Les cyclodextrines sont aussi extrêmement utilisées dans l'industrie pharmaceutique d'une part pour préserver les molécules de principe actif et d'autre part pour en augmenter la solubilité [118].

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur la famille des  $\beta$ -cyclodextrines (native et méthylées). Les  $\beta$ -cyclodextrines natives peuvent se présenter sous plusieurs formes cristallines hydratées. Les formes cristallines correspondantes sont répertoriées dans le tableau IV-2.

Molécules d'eau de la β-Cyclodextrine	Groupe d'espace	Z	Paramètres de maille	
12 H <sub>2</sub> O [119]	P 1 2 <sub>1</sub> 1 (monoclinique)	2	a = 21.29 Å b = 10.33 Å c = 15.10 Å	$\alpha = 90^{\circ}$ $\beta = 112.3^{\circ}$ $\gamma = 90^{\circ}$
11 H <sub>2</sub> O [120]	P1 2 <sub>1</sub> 1 (monoclinique)	2	a = 21.085 Å b = 10.212 Å c = 15.123 Å	$\alpha = 90^{\circ}$ $\beta = 111.66^{\circ}$ $\gamma = 90^{\circ}$
9 H <sub>2</sub> O [121]	P 1 2 <sub>1</sub> 1 (monoclinique)	2	a = 20.857 Å b = 10.158 Å c = 15.140 Å	$\alpha = 90^{\circ}$ $\beta = 110.94^{\circ}$ $\gamma = 90^{\circ}$
1 H <sub>2</sub> O [122]	P 1 2 <sub>1</sub> 1 (monoclinique)	2	a = 21.295 Å b = 10.318 Å c = 15.108 Å	$\alpha = 90^{\circ}$ $\beta = 112.46^{\circ}$ $\gamma = 90^{\circ}$

Tableau IV-2 : Données cristallographiques des formes douze, onze, neuf et une fois hydratées de la β-cyclodextrine.

Si les propriétés structurales de la  $\beta$ -cyclodextrine sont parfaitement connues, les propriétés de son état amorphe sont par contre beaucoup moins bien caractérisées. En particulier, la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine n'a pas encore été clairement identifiée puisque des valeurs très différentes les unes des autres ont déjà été reportées dans la littérature et s'étalent de 30 °C à 250 °C. Par exemple Li & al [123] annoncent que la  $\beta$ -cyclodextrine, amorphisée par lyophilisation, a une température de transition vitreuse proche de 50°C. D'autres études annoncent des températures de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine à beaucoup plus haute température (200°C et 250°C [124]) ou encore à plus basses températures (entre 30°C et 60°C [125, 126]).

La méthylation totale de la  $\beta$ -cyclodextrine (DS=3) conduit à un composé cristallin. Ce composé peut être amorphisé par trempe du liquide mais aussi par broyage mécanique. Sa température de transition vitreuse est de 79°C comme reportée dans la littérature [127].

Dans le commerce, deux composés de  $\beta$ -cyclodextrine partiellement méthylés sont disponibles comportant des degrés de substitutions de 1.8 (société Wacker Chemie AG) et de 0.57 (société Roquette) qui correspondent respectivement à un pourcentage moyen de substitution de 60% et 19%. A cause de la méthylation aléatoire des groupements hydroxyles (-OH) de la  $\beta$ -cyclodextrine, ces composés de méthylation partielle ne peuvent pas cristalliser et sont donc intrinsèquement amorphes. Cependant, à notre connaissance, les valeurs des transitions vitreuses ne sont pas connues.

La température de transition vitreuse de la plupart des  $\beta$ -cyclodextrines n'étant pas connues, nous avons cherché à déterminer ces températures de transition vitreuse de manière à sélectionner la  $\beta$ -cyclodextrine qui a la température de transition vitreuse la plus proche de celle du PVP K30.

### II Détermination de la température de transition vitreuse de la β-cyclodextrine

# II.A Tentative d'amorphisation de la $\beta$ -cyclodextrine par trempe du liquide.

La  $\beta$ -cyclodextrine non méthylée, dite native, que nous utilisons pour cette étude est fournie par la société Roquette. L'analyse du diagramme de diffraction des rayons X est présentée sur la figure IV-3. L'indexation de ce profil, comportant de nombreux pic de Bragg, correspond à la phase dodécahydratée (douze molécules d'eau) de la  $\beta$ -cyclodextrine [119].



Figure IV-3 : Diagramme de diffraction des rayons X enregistré entre 10° et 80° en 2θ de la β-cyclodextrine.

La figure IV-4.a) présente l'évolution de la masse de la  $\beta$ -cyclodextrine cristalline au chauffage à 5°C/min ainsi que la dérivée du signal (---). Elle montre une première perte de masse de 13% de 30°C jusque 100°C suivie à plus haute température d'une perte de masse débutant à 280°C. La première perte de masse correspond à la déshydratation de la  $\beta$ -cyclodextrine et la deuxième à sa dégradation chimique.

La figure IV-4.b) présente le thermogramme de DSC de la  $\beta$ -cyclodextrine cristalline au chauffage (5°C / min). Cette figure montre un large endotherme s'étalant de la température ambiante jusque 100°C, suivi à plus haute température par un autre évènement endothermique débutant à 290°C. L'étude précédente par ATG montre que le premier endotherme correspond à la déshydratation de la  $\beta$ -cyclodextrine. Le second évènement endothermique correspond à la fusion qui s'accompagne d'une forte dégradation thermique de la  $\beta$ -Cyclodextrine.

La température de fusion étant inévitablement accompagnée de la dégradation de la  $\beta$ -cyclodextrine, il n'est pas envisageable d'obtenir un verre de  $\beta$ -cyclodextrine par trempe du liquide.



Figure IV-4 : a) Courbe d'ATG mesurant la perte de masse d'un échantillon de β-cyclodextrine au cours d'une rampe de température (5°C/min). La courbe d'ATG dérivée par rapport à la température est représentée en pointillés.

b) : Thermogramme de DSC enregistré à 5°C par minute de la β-cyclodextrine.

#### II.B Amorphisation de la $\beta$ -cyclodextrine sous broyage.

Nous avons vu au chapitre I la possibilité d'amorphiser un composé par broyage mécanique. L'amorphisation de la  $\beta$ -cyclodextrine par la trempe du liquide n'étant pas possible et la valeur de la température de transition vitreuse étant inaccessible, nous avons testé la possibilité d'amorphiser la  $\beta$ -cyclodextrine par broyage (afin de déterminer sa température de transition vitreuse).

Avant broyage, la poudre est séchée pendant 10h à 100°C afin d'éviter une texture pâteuse de l'échantillon. 1,1g de cette poudre séchée est ensuite placée dans une jarre de broyage et balayée par un flux d'azote sec pendant 30 minutes de manière à réaliser le broyage sous atmosphère contrôlée. Les opérations de broyage ont été réalisées à température ambiante en prenant soin d'alterner des périodes de broyage (30 minutes) et des périodes de pause (5 minutes) afin de limiter l'échauffement mécanique. La durée de broyage effectif total a été fixée à 2h et la vitesse de rotation du broyeur à 400 tours / min.

La figure IV-5 présente les diagrammes de diffraction de la  $\beta$ -cyclodextrine avant broyage (a) et après broyage (b). Le diagramme avant broyage présente des pics de Bragg caractéristiques de l'état cristallin tandis que le diagramme de la  $\beta$ -cyclodextrine après broyage en est dénué. Cette absence de pics de Bragg après broyage suggère que la  $\beta$ -cyclodextrine a été amorphisée au cours du broyage.



Figure IV-5 : Diagrammes de diffraction des rayons X enregistrés à température ambiante de la β-cyclodextrine avant (a) et après (b) broyage.

La figure IV-6.a) présente les diagrammes ATG enregistrés au cours d'une rampe de température à 5°C/min de la  $\beta$ -cyclodextrine avant et après broyage, le signal dérivé de ces enregistrements y est également représenté. On retrouve avant et après broyage une première perte de masse de la température ambiante jusque 100°C correspondant à la déshydratation de la cyclodextrine puis une seconde perte de masse débutant à plus basse température pour l'échantillon broyé (270°C) que pour l'échantillon non broyé (279°C) qui correspond à la dégradation de la  $\beta$ -Cyclodextrine. Ce décalage dans les températures de dégradation suggère lui aussi que le matériau broyé est amorphe. En effet, en raison de la mobilité moléculaire plus importante, les matériaux amorphes se dégradent généralement à des températures inférieures à celles des formes cristallines correspondantes [34, 128].

La figure IV-6.b) montre les thermogrammes de DSC enregistrés au chauffage à 5°C/min de la  $\beta$ -cyclodextrine avant broyage (—) et après broyage (—). Les deux enregistrements sont très similaires et montrent deux évènements endothermiques qui correspondent respectivement à la déshydratation de la  $\beta$ -cyclodextrine et à sa dégradation. Sur cette figure, aucune indication ne peut confirmer le caractère amorphe de la  $\beta$ -cyclodextrine broyée. On ne détecte en particulier aucun saut de chaleur spécifique caractéristique d'une transition vitreuse ni aucun exotherme de recristallisation sur le thermogramme de la  $\beta$ -cyclodextrine broyée. Si la  $\beta$ -cyclodextrine est vraiment amorphe après broyage comme le suggère la diffraction des rayons X, la température de transition vitreuse doit probablement se trouver virtuellement audessus de la température de dégradation du composé. Le fait de ne pas pouvoir mesurer directement la température de transition vitreuse d'un matériau amorphe peut se présenter dans certains cas comme lorsque le matériau recristallise sous sa température de transition vitreuse [129, 130]. Cette situation nous oblige à mettre en place des stratégies de mesure indirecte. Nous allons donc déterminer la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine par deux techniques différentes :

- L'extrapolation des valeurs de transition vitreuse des dérivées méthylées de la β-cyclodextrine
- L'extrapolation des valeurs de transition vitreuse de solutions solides amorphes composées de la  $\beta$ -cyclodextrine et de sa dérivée méthylée à 60% (DS = 1.8).



Figure IV-6 : a) Courbes d'ATG mesurant la perte de masse d'un échantillon de β-cyclodextrine au cours d'une rampe de température (5°C/min) avant (---) et après (--) broyage. Les dérivées des pertes de masse sont également représentées.
b) Thermogramme de DSC enregistré à 5°C /min de la β-cyclodextrine avant (---) et après (---) broyage.

#### **II.C Extrapolation des températures de transition vitreuse des dérivées méthylées de la β-Cyclodextrine**

L'objectif de cette partie est d'estimer la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine (DS = 0) par extrapolation des températures de transition vitreuse de  $\beta$ -cyclodextrines ayant différents degrés de méthylation. La température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine totalement méthylée (DS = 3) étant déjà connue (Tg = 79 °C), nous nous sommes intéressés aux  $\beta$ -cyclodextrines partiellement méthylées à 60% (DS = 1.8) et à 19% (DS = 0.57) disponibles dans le commerce.

La figure IV-7 présente les diagrammes de diffraction des  $\beta$ -cyclodextrines méthylées à 19% (a) et à 60% (b) qui ne comportent aucun pics de Bragg ce qui confirme leur caractère amorphe.



Figure IV-7 : Diagrammes de diffraction des rayons X enregistrés à température ambiante des β-cyclodextrines méthylées à 19% (—) et à 60% (—).

La figure IV-8.a) montre les enregistrements ATG à 5°C/min des  $\beta$ -cyclodextrines méthylées à 19% (—) et à 60% (—). Les dérivées des pertes de masse par rapport à la température des  $\beta$ -cyclodextrines méthylées à 19% (—) et à 60% (—) y sont également représentées. Les courbes d'ATG montrent une perte de masse unique commençant à 260°C pour la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 19% et à 255°C pour la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60%. Ces pertes de masse correspondent à la dégradation des molécules de  $\beta$ -cyclodextrine. La différence de perte de masse à 70°C entre les deux composés est due à une perte d'eau de 7% pour la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 19% et de 2% pour la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60%.

La figure IV-8.b) représente les thermogrammes enregistrés au chauffage à 5°C/min des  $\beta$ -cyclodextrines méthylées à 60% (—) et à 19% (—). Ces deux thermogrammes présentent un premier événement correspondant à un saut de chaleur spécifique caractéristique de la transition vitreuse ce qui confirme de nouveau le caractère amorphe des  $\beta$ -cyclodextrines partiellement méthylées. Les températures de transition vitreuse des  $\beta$ -cyclodextrine partiellement méthylée à 60% (DS=1.8) et à 19% (DS= 0.57) sont respectivement de Tg = 157°C ± 1°C et Tg = 243°C ± 1°C. Suite au saut de chaleur spécifique de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 19%, on peut remarquer une fluctuation importante du flux de chaleur. Cette fluctuation est due à la dégradation immédiate de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 19% juste après sa température de transition vitreuse révélée précédemment par l'ATG (Figure IV-8.a).



Figure IV-8 : a) Courbes d'ATG mesurant la perte de masse au cours d'une rampe de température (5°C/min) d'un échantillon de β-cyclodextrine méthylée à 19% (—) et à 60% (—). Les dérivées des pertes de masse de la β-CD méthylée à 19% (—) et à 60% (—) y sont aussi représentées.

b) Thermogrammes de DSC enregistrés à 5°C /min de la

β-cyclodextrine méthylée à 60% (—) et à 19% (—).

L'évolution de la température de transition vitreuse en fonction du degré de substitution (ou taux de méthylation) est reportée sur la figure IV-9. Les données expérimentales présentent clairement un comportement linéaire. On peut donc penser que l'extrapolation de ces données pour un degré de substitution nul (DS = 0) doit permettre une bonne estimation de la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine native. Cette extrapolation permet de situer la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine vers  $282^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$ .



Figure IV-9 : Evolution des températures de transition vitreuses des β-cyclodextrines méthylées en fonction de leur degré de substitution.

### II.D Co-broyage de la β-cyclodextrine native (DS=0) et de sa dérivée méthylée à 60% (DS=1.8)

L'objectif de cette partie est de tenter d'estimer la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine native (DS = 0) par l'extrapolation des températures de transition vitreuse de mélanges constitués de  $\beta$ -cyclodextrine et d'un plastifiant. Le plastifiant choisi est la  $\beta$ -cyclodextrine avec un degré de substitution de 1.8 (DS=1.8) qui a une température de transition vitreuse de 157°C ± 1°C et une architecture moléculaire proche de celle de la  $\beta$ -cyclodextrine non substituée (DS = 0).

Les mélanges ont été réalisés directement à l'état solide par cobroyage de mélanges physiques de  $\beta$ -cyclodextrine native (DS = 0) et de  $\beta$ -Cyclodextrine méthylée à 60% (DS = 1.8) de différentes compositions massiques. Les conditions de broyage sont identiques à celles précédemment utilisées (broyage effectif de 2h, période de broyage de 30 minutes, pause de 5 minutes). Les mélanges cobroyés ont été caractérisés par diffraction des rayons X et par DSC.

La figure IV-10 montre, à titre d'exemple, le diffractogramme des rayons X du mélange  $[50:50]_m$  cobroyé (a). Les diagrammes de diffraction de la  $\beta$ -cyclodextrine native avant (d) et après (c) broyage ainsi que de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée (DS =1.8) (b) y sont également reportés. Le mélange  $[50:50]_m$  ne présente pas de pics de Bragg ce qui suggère que le mélange a été amorphisé lors du broyage. Des résultats identiques ont été obtenus pour les différentes concentrations étudiées ce qui montre que cette amorphisation se produit quelle que soit la composition du mélange.



Figure IV-10 : Diagrammes de diffraction des rayons X enregistrés à température ambiante du mélange equimassique
β-cyclodextrine méthylée à 60% (DS=1.8) / β-cyclodextrine native (DS =0) après cobroyage (a),
de la β-cyclodextrine méthylée à 60% après broyage (b) et de la β-cyclodetrine native avant (d) et après broyage (c).

La figure IV-11 montre les thermogrammes de DSC enregistrés au cours d'une rampe de température à 5°C/min des mélanges cobroyés  $\beta$ -cyclodextrine native /  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% pour différentes compositions. Chacun de ces thermogrammes montrent un unique saut de chaleur spécifique caractéristique d'une transition vitreuse ce qui confirme l'amorphisation par cobroyage de ces mélanges. Chacune des températures de transition vitreuse des mélanges se situe entre les températures de transition vitreuse des produits purs et augmente avec la concentration de  $\beta$ -cyclodextrine native (DS=0). Les valeurs des températures de transition vitreuse de ces mélanges sont reportées dans le tableau IV-3 et l'évolution de la température de transition vitreuse avec la concentration de  $\beta$ -cyclodextrine native est reportée sur la figure IV-12.

X <sub>β-CD</sub>	$Tg(^{\circ}C) \pm 1^{\circ}C$
0.80	262
0.70	245
0.50	221
0.30	190
0.20	181
0.00	157

Tableau IV-3 : Fraction massique en β-cyclodextrine native des mélanges cobroyés β-cyclodextrine méthylée à 60% (DS=1.8) / β-cyclodextrine native (DS =0) et température de transition vitreuse correspondante.



Figure IV-11 : Thermogrammes enregistrés au chauffage à 5°C/min des mélanges cobroyés de β-cyclodextrine méthylée à 60% (DS=1.8) et β-cyclodextrine native (DS =0) de compositions massiques 1.0 (β-cyclodextrine native pure), 0.8, 0.7, 0.5, 0.3, 0.2 et 0.0 (β-cyclodextrine méthylée à 60% pure).



Figure IV-12 : Evolution des températures de transition vitreuse des mélanges co-broyés  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% (DS=1.8) /  $\beta$ -cyclodextrine native (DS =0) en fonction de leur fraction massique en  $\beta$ -cyclodextrine native.

Dans le but de déterminer les caractéristiques de la transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine native, l'évolution des températures de transition vitreuse expérimentales a été ajustée par une loi empirique de Gordon-Taylor dont on rappelle l'équation (IV-1) :

$$T_{g}(m\acute{e}l) = \frac{X_{\beta CD}Tg_{(\beta CD)} + K(1 - X_{\beta CD})Tg_{(\beta CD \ 60\%)}}{X_{\beta CD} + K(1 - X_{\beta CD})}$$
(IV-1)

Dans cette équation, les paramètres d'ajustement sont la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cylodextrine native pure (DS=0,  $X_{\beta$ -CD = 1) et le paramètre K caractéristique de la courbure de l'évolution. Le meilleur ajustement sur les valeurs de température de transition vitreuse des mélanges a été obtenu pour K = 1.188 et pour une température de

transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine native pure de 292°C ± 2°C. Dans le cas des solutions régulières, la valeur théorique de K est donnée par :

$$K = \frac{\Delta C p_{\beta CD \ 60\%}}{\Delta C p_{\beta CD}} \tag{IV-2}$$

Où  $\Delta Cp_{\beta CD}$  60% et  $\Delta Cp_{\beta CD}$  représentent les sauts de chaleur spécifique lors de la transition vitreuse respectivement de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée amorphe (DS=1.8) et de la  $\beta$ -cyclodextrine native amorphe (DS=0).

Le saut de chaleur spécifique à Tg de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée amorphe est parfaitement défini et son amplitude peut être déterminée directement à partir du thermogramme de la figure IV-8 :  $\Delta Cp_{\beta CD \ 60\%} = 0.18 \text{ J/g.}^{\circ}C$ . La valeur du saut de chaleur spécifique de la  $\beta$ -cyclodextrine native amorphe peut être déterminée à l'aide de l'équation (IV-2) dans l'hypothèse d'une solution régulière :  $\Delta Cp_{\beta CD} = 0.15 \text{ J/g.}^{\circ}C$ .

Par ailleurs, on peut également remarquer sur la figure IV.11 que pour les fractions massiques comprises entre 0.2 et 0.7, les thermogrammes des mélanges  $\beta$ -cyclodextrine native /  $\beta$ -cyclodextrine méthylée présentent un petit exotherme situé après le saut de chaleur spécifique des mélanges entre 240°C et 260°C. L'enthalpie associée à cet exotherme est faible (1.65 J/g pour le mélange equimolaire).

Pour déterminer l'origine de cet exotherme, des analyses thermodynamiques et structurales supplémentaires ont été réalisées. La figure IV-13 montre le diagramme de diffraction des rayons X enregistré pour le mélange équimolaire directement après cobroyage (a) et après une isotherme de 5 minute dans la zone de température où apparait cet exotherme (T =  $255^{\circ}$ C) (b). Le diagramme enregistré après recuit à  $255^{\circ}$ C ne montre pas de pics de Bragg. L'exotherme observé en DSC ne semble donc pas être associé à une recristallisation de la  $\beta$ -cyclodextrine native.



Figure IV-13 : Diagrammes de diffractions des rayons X enregistrés à 50°C du co-broyage equimassique β-cyclodextrine méthylée à 60% (DS=1.8) / β-cyclodextrine native (DS =0) (a), et du même mélange après une isotherme de 5 min à 255°C (b).

De plus, chaque échantillon a ensuite été analysé en DSC après un traitement isotherme de 5 minutes à la température de l'exotherme. La figure IV-14 montre l'exemple du mélange équimolaire ( $X_{\beta-CD} = 0.5$ ) au réchauffage après ce traitement (b). On constate que le saut de chaleur spécifique caractéristique du mélange initial à la température de 221°C ainsi que l'exotherme à 255°C (a) ont disparu. En revanche, un saut de chaleur spécifique est maintenant clairement visible à la température de 157°C, température qui correspond à la transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée pure (DS=1.8) (c). Ce comportement suggère fortement que le mélange obtenu par co-broyage a demixé durant l'isotherme à 255°C sans recristalliser comme le montre l'absence de pics de Bragg en diffraction des rayons X. La démixtion du mélange conduit à un matériau comportant des zones riches en  $\beta$ -cyclodextrine méthylée amorphe et des zones riches en  $\beta$ -cyclodextrine native amorphe. La température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine native est masquée par sa dégradation.



# Figure IV-14 : Thermogrammes enregistrés à 5°C/min du mélange equimassique β-cyclodextrine méthylée à 60% (DS=1.8) / β-cyclodextrine native (DS =0) cobroyé (a), du même mélange après une isotherme de 5 min à 255°C (b). La β-cyclodextrine méthylée à 60% pure est également reportée pour comparaison (c).

Ces résultats indiquent que la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée (DS=1.8) et la  $\beta$ -cyclodextrine native (DS=0) sont immiscibles pour des fractions massiques en  $\beta$ -cyclodextrine native comprises entre 0.2 et 0.7 mais la miscibilité peut être forcée en cobroyant les formes solides de chacun des composés purs à la température ambiante qui est inférieure à la température de transition vitreuse de l'alliage attendu.

En dessous de cette température, la mobilité moléculaire est trop faible pour permettre la séparation des deux espèces chimiques mélangées, au niveau moléculaire, mécaniquement. Pour  $X_{\beta CD}=0.8$ , le thermogramme initial ne montre pas d'événement exothermique (Figure IV-11). Ce phénomène peut s'expliquer de deux façons :

- Soit, à cette concentration, le mélange est au-dessus de la limite de miscibilité des deux espèces chimiques.
- Soit la température de transition vitreuse de la solution solide forcée par cobroyage est trop haute pour permettre une demixtion (avant que la dégradation ne débute).

#### **II.E Conclusion**

Dans cette partie, nous avons montré que la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine est virtuellement située au-dessus de la température de dégradation du matériau. C'est probablement la raison pour laquelle la température de transition vitreuse de cette cyclodextrine n'a encore jamais été identifiée et reportée dans la littérature. Nous avons donc mis au point deux méthodes indirectes pour déterminer cette température de transition vitreuse :

- Par extrapolation des températures de transition vitreuse des trois dérivées méthylées de la  $\beta$ -cyclodextrine disponibles dans le commerce. Cette technique a permis d'estimer la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine à Tg = 282°C ± 5°C.
- Par extrapolation des températures de transition vitreuse de mélanges amorphes et homogènes  $\beta$ -cyclodextrine /  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% obtenus directement à l'état solide par cobroyage. Cette extrapolation a été réalisée par un ajustement des valeurs de transition vitreuse par une loi de Gordon-Taylor. Elle a permis d'estimer la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine à Tg = 292°C ± 2°C ainsi que la valeur du saut de chaleur spécifique correspondant à  $\Delta$ Cp<sub>BCD</sub> = 0.15 J/g.°C.

Ces deux techniques convergent vers une même valeur située aux alentours de 290°C. Cependant, un crédit plus important sera attribué à la seconde méthode pour deux raisons essentielles :

- L'ajustement a pu être réalisé sur un nombre plus important de données expérimentales car les mélanges β-cyclodextrine / β-cyclodextrine méthylée peuvent être réalisés en toute proportion par cobroyage. Les β-cyclodextrines de degrés de substitution différents se trouvent par contre en nombre très limité dans le commerce.
- Dans le cas des mélanges β-cyclodextrine / β-cyclodextrine méthylée, l'extrapolation des données a été réalisée par ajustement de la loi de Gordon-Taylor fondée sur les lois de la thermodynamique et dont la validité a déjà été testée sur de nombreux systèmes binaires [16, 17, 131].

### III Détermination du diagramme de solubilité β-Cyclodextrine méthylée à 60% / griséofulvine

Le but de cette partie est de tester l'applicabilité de la méthode de détermination de la courbe de solubilité polymère / principe actif, décrite au chapitre II, à un autre système où le polymère est remplacé par une cyclodextrine. Le principe actif choisi pour cette étude est la griséofulvine qui a été caractérisée au chapitre III et utilisée dans le cadre de la détermination du diagramme de solubilité PVP K30 / griséofulvine.

Dans la partie précédente, nous avons déterminé la température de transition vitreuse de la  $\beta$ -cyclodextrine native ainsi que les températures de transition vitreuse des  $\beta$ -cyclodextrines de méthylations intermédiaires qui ne sont, à notre connaissance, pas reportées dans la littérature. Le récapitulatif de l'état physique des  $\beta$ -cyclodextrines natives et méthylées avant et après broyage, de leur température de dégradation et de transition vitreuse est donné dans le tableau IV-4 :

	β-CD	M-β-CD 19%	M-β-CD 60%	M-β-CD
	(DS = 0)	(DS = 0.57)	(DS = 1.8)	(DS = 3)
Etat physique	Cristallin	Amorphe	Amorphe	Cristallin
avant broyage				
Etat physique	Amorphe	Amorphe	Amorphe	Amorphe
après broyage				
T <sub>dégradation</sub> (°C)	279°C	260°C	255°C	/
$T_{g}(^{\circ}C)$	$292 \pm 2^{\circ}C$	$243 \pm 1^{\circ}\mathrm{C}$	$157 \pm 1^{\circ}\mathrm{C}$	$79^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$

Tableau IV-4 : Récapitulatif de l'état physique des cyclodextrines native et méthylées avant et après broyage, de leur température de dégradation et de transition vitreuse.

Le choix de la cyclodextrine pour l'étude du diagramme de solubilité cyclodextrine / griséofulvine s'est porté sur la  $\beta$ -cyclodextine méthylée à 60% (M- $\beta$ -CD 60%) qui présente une température de transition vitreuse (Tg = 157°C ± 1°C) la plus proche de celle du PVP K30 (Tg = 160°C ± 1°C). De plus, tout comme le PVP K30, cette cyclodextrine est intrinsèquement amorphe, c'est-à-dire qu'elle ne présente aucun risque de recristallisation. Cette propriété est en effet indispensable pour l'utilisation de la méthode de détermination des limites de solubilité présentée au chapitre II.

# III.A Formation d'une solution solide M-β-CD 60% / griséofulvine amorphe et homogène à l'état solide par co-broyage

L'objectif de cette partie est de tester la possibilité d'obtenir un alliage moléculaire amorphe et homogène de  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% et de griséofulvine par cobroyage des composés individuels.

Le broyage des matériaux purs a déjà été réalisé et étudié dans les parties précédentes (IV-I.B pour la β-cyclodextrine méthylée à 60% et III-I.B pour la griséofulvine).

Pour rappel, les résultats montrent que la M- $\beta$ -CD 60% est initialement amorphe et ne subit aucune modification structurale sous broyage. La griséofulvine cristalline pure quant à elle devient totalement amorphe après 17h de broyage. La M- $\beta$ -CD 60% et la griséofulvine ont respectivement des températures de transition vitreuse de 157°C et de 90°C (Figure IV-8 et Figure III-7) et se dégradent respectivement à partir de 275°C (figure IV-8) et 180°C (figure III-5).

Un mélange physique  $[30:70]_{massique}$  de M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine a été broyé durant un temps effectif de 12h à 400 tours / min à température ambiante en prenant soin d'alterner des périodes de broyage (20 min) et des périodes de pause (10 min).

La partie gauche de la figure IV-15 montre le diagramme de diffraction des rayons X enregistré immédiatement après la fin du co-broyage (d). Y figurent aussi, pour comparaison, les diagrammes de diffraction de la griséofulvine commerciale (a) et obtenue après trempe du liquide (b), ainsi que le diffractogramme de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% broyée (c). L'absence de pics de Bragg dans le mélange cobroyé (d) suggère fortement que le mélange a été amorphisé au cours du broyage.

La partie droite de la figure IV-15 montre les diagrammes de DSC enregistrés au chauffage à 5°C/min de la griséofulvine commerciale (a) et obtenue après trempe du liquide (b) ainsi que le thermogramme de la  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% broyée (c) et du mélange co-broyé M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine [30:70]<sub>massique</sub> (d). Le thermogramme de la griséofulvine commerciale (a) montre un unique endotherme à 220°C correspondant à la fusion de la forme I de la griséofulvine. Le thermogramme enregistré au chauffage (b) montre un saut de chaleur spécifique à 90°C correspondant à la transition vitreuse de la griséofulvine amorphe. L'enregistrement au chauffage de la M- $\beta$ -CD 60% broyée montre uniquement un saut de chaleur spécifique à la température de 157°C correspondant à la transition vitreuse. Le thermogramme enregistré après le co-broyage de la griséofulvine et de la M- $\beta$ -CD 60% en proportion massique [70:30] (d) montre un premier événement endothermique correspondant à un saut de chaleur spécifique caractéristique d'une transition vitreuse. L'amplitude du saut de chaleur spécifique est de 0.35 J/g/°C  $\pm$  0.02 J/g/°C et la température de transition vitreuse est de Tg= 95°C  $\pm$  1°C. Ce saut de chaleur spécifique unique est compris entre les

températures de transition vitreuse de la griséofulvine amorphe et de la M- $\beta$ -CD 60% ce qui confirme que le mélange co-broyé est non seulement amorphe mais également homogène. A plus haute température, on observe un exotherme immédiatement suivi d'un large endotherme dont la température au pic est de 213°C. Ce pic est donc clairement déprimé par rapport à la fusion de la griséofulvine (T<sub>mI</sub> = 220°C). L'exotherme correspond à la demixtion de l'excès de griséofulvine amorphe et à sa recristallisation. Le diagramme de diffraction de l'échantillon recristallisé (non présenté) indique que cette recristallisation s'opère vers la forme I la plus stable de ce principe actif. L'endotherme correspond quant à lui au phénomène inverse, c'est-à-dire : la redissolution progressive de l'excès de griséofulvine -précédemment recristallisée- dans la  $\beta$ -cyclodextrine, à mesure que la température augmente. La présence de cet exotherme de recristallisation montre que le mélange obtenu par cobroyage était sursaturé en griséofulvine.



### **III.B** Evolution de la température de transition vitreuse de l'alliage avec la composition

La méthode de détermination des diagrammes de solubilité présentée au chapitre II nécessite la détermination préalable de la courbe de Gordon-Taylor du mélange étudié, c'està-dire l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange avec sa composition. Nous avons donc déterminé la température de transition vitreuse d'alliages moléculaires amorphes  $\beta$ -cyclodextrine / griséofulvine pour différentes compositions. Ces mélanges ont été obtenus par cobroyage des mélanges physiques correspondants (12 h, 400 tours / min).

La figure IV-16.a) présente les enregistrements de DSC correspondant à des fractions massiques en griséofulvine de 10%, 30%, 50%,70% et 90%, ainsi que les thermogrammes des matériaux purs amorphes. Quelle que soit la concentration, on observe une transition vitreuse unique qui se décale vers les basses températures lorsque la concentration en griséofulvine augmente. Cela montre que des mélanges amorphes homogènes peuvent être obtenus en toutes proportions par cobroyage. De plus, la diminution de la température de transition vitreuse avec la fraction massique en griséofulvine est cohérente avec l'effet plastifiant attendu de la griséofulvine (Tg = 90°C) sur la M- $\beta$ -CD 60% (Tg = 157°C). Pour chaque mélange, la température de transition vitreuse est déterminée et les valeurs correspondantes sont reportées dans le tableau IV-5. L'évolution de ces températures de transition vitreuse en fonction de la composition du mélange est représentée sur la figure IV-16.b :

Xgriséo	$Tg(^{\circ}C) \pm 1^{\circ}C$
1.00	90
0.90	91
0.70	95
0.50	103
0.30	115
0.10	138
0.00	157

Tableau IV-5 : Fraction massique en griséofulvine des mélanges cobroyés M-β-CD 60% / griséofulvine et leur température de transition vitreuse correspondante.

Cette évolution a été ajustée par la loi de Gordon Taylor :

$$T_g(m\acute{e}l) = \frac{X_{gris\acute{e}o}Tg_{(gris\acute{e}o)} + K(1 - X_{gris\acute{e}o})Tg_{(\beta CD \ 60\%)}}{X_{gris\acute{e}o} + K(1 - X_{gris\acute{e}o})}$$
(IV-3)

où K est le paramètre d'ajustement. Le meilleur ajustement a été obtenu pour une valeur de K = 0.25. Dans l'hypothèse de solutions régulières, le paramètre K attendu est donné par l'équation IV-4 :

$$K = \frac{\Delta C p_{\beta CD \ 60\%}}{\Delta C p_{gris\acute{e}o}} \tag{IV-4}$$

Les valeurs de saut de chaleur spécifique de la griséofulvine et de la  $\beta$ -cyclodextrine méthyée à 60% ont déjà été mesurées par DSC dans les chapitres précédents ( $\Delta Cp_{\beta CD \ 60\%} = 0.18 \ J/g.^{\circ}C$  et  $\Delta Cp_{griséo} = 0.42 \ J/g/^{\circ}C$ ). Le rapport des sauts de chaleur spécifique de la M- $\beta$ -CD 60% et de la griséofulvine conduit à une valeur de K = 0.42. Cette valeur diffère notablement de la valeur de K (0.25) résultant de l'ajustement des données expérimentales. La différence entre cette valeur de K (0.42) caractéristique du mélange idéal et la valeur de K (0.25) correspondant au meilleur ajustement de l'équation IV-3 est directement liée aux interactions moléculaires entre les deux espèces chimiques.

La courbe de Gordon Taylor permet d'établir une relation univoque entre la température de transition vitreuse et la concentration des mélanges. Elle sera utilisée pour la détermination de la concentration d'équilibre après démixtion du mélange sursaturé  $M-\beta$ -CD 60% / griséofulvine [30:70].



Figure IV-16 : a) Thermogrammes enregistrés au chauffage à 5°C/min de mélanges obtenus par co-broyage de M-β-CD 60% et de griséofulvine de fractions massiques en griséofulvine x.

b) Report des températures de transition vitreuse de chaque mélange de composition x<sub>griséofulvine</sub>

# **III.C** Détermination de la courbe de solubilité par démixtion du mélange M-β-CD 60% / griséofulvine [30 :70]<sub>m</sub>

Suivant le principe de la méthode détaillée dans le chapitre II, la démixtion du mélange M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine est utilisée pour atteindre rapidement la saturation c'est-à-dire la limite de solubilité à différentes températures. Cette limite de solubilité se détermine en deux étapes toutes deux réalisées en DSC. La première étape consiste à atteindre l'état saturé à une température Tr par recuit de l'échantillon sursaturé à cette température. La seconde étape consiste à déterminer la composition de l'alliage saturé obtenu après la démixtion à Tr par détermination de sa température de transition vitreuse.

La figure IV-17.a) présente les thermogrammes enregistrés au chauffage (5°C/min) du mélange M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine [30:70]<sub>m</sub> broyé ayant atteint la saturation après démixtion du mélange au cours d'isothermes de 2h à des températures de recuit de 200°C, 190°C, 180°C, 170°C et de 8h à 160°C.

On constate que les températures de transition vitreuse des mélanges recuits se décalent vers les hautes températures lorsque la température de recuit diminue. Cela indique que la concentration en griséofulvine subsistant dans l'alliage après démixtion diminue.

Cette concentration résiduelle –qui est aussi la concentration de saturation- est ensuite déterminée par report des températures de transition vitreuse sur la courbe de Gordon-Taylor. Les valeurs obtenues sont reportées dans le tableau IV-6 et l'évolution de la concentration à saturation en fonction de la température de recuit est reportée sur la figure IV-17.b.

T <sub>recuit</sub> (°C)	$Tg(^{\circ}C) \pm 1^{\circ}C$	$X_{griséo} \pm 0,02^{\circ}C$
200	112	0,33
190	119	0,24
180	123	0,20
170	126	0,17
160	132	0,13

Tableau IV-6 : Températures de recuit du mélange M-β-CD 60% / griséofulvine [30:70]<sub>massique</sub>, températures de transition vitreuse du mélange ayant atteint la saturation à Tr et concentrations en griséofulvine correspondantes déduites à partir de la courbe de Gordon-Taylor.



Figure IV-17 : a) Thermogrammes enregistrés à 5°C/min au réchauffage du mélange β-cyclodextrine méthylée à 60% / griséofulvine [30 :70]<sub>massique</sub> broyé et recuit 2h aux températures de 200°C, 190°C, 180°C, 170°C et 8h à la température de 160°C.
 b) détermination des fractions massiques en griséofulvine des mélanges à saturation (●) pour chaque température de recuit par report des Tg sur la courbe de Gordon-Taylor (-▲-).

#### III.D Etude de la complexation à l'état liquide du mélange M-β-CD 60% / griséofulvine

Une caractéristique générale des cyclodextrines concerne la possibilité de former des complexes d'inclusion avec de nombreux principes actifs. Cela signifie qu'une partie du principe actif peut rentrer dans la cavité de la cyclodextrine et y résider. Ces complexes sont le plus souvent obtenus en solution. La cyclodextrine et le principe actif sont dissous dans un solvant commun [132-136]. Les molécules de principe actif viennent alors remplacer les molécules de solvant au cœur de la cyclodextrine car cette situation est énergétiquement plus favorable. Le complexe à l'état solide est ensuite généralement obtenu par lyophilisation du complexe en solution. Quelques études ont également montré que certains complexes d'inclusions obtenus en solution pouvaient aussi être obtenus par co-broyage mécanique des formes solides [137]. Dans le cas où la complexation n'est pas réalisable en solution, il est peu probable qu'elle le soit par co-broyage. Une méthode permettant de déterminer si la formation d'un complexe est possible en solution consiste à mesurer la constante de complexation qui rend compte de la force de rétention du principe actif par la cyclodextrine. Il s'agit de la méthode de Benesi-Hildebrandt dont le principe est présenté en Annexe 5. Cette méthode repose sur la mesure par spectrophotométrie UV-visible (annexe 2.F) de la différence entre l'intensité des pics d'absorption du mélange cyclodextrine / principe actif dissout dans l'eau et de celle du principe actif pur dissout lui aussi dans l'eau.

Le protocole expérimental utilisé est le suivant : une solution mère de griséofulvine de concentration 14.33 mg/L est préparée par dilution dans l'eau. Cette concentration de départ est choisie pour ne pas excéder une absorbance de 1 par spectrophotométrie UV-visible et ainsi respecter les limites de détection de l'appareil. Une solution M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine est préparée en dissolvant dans la solution mère de griséofulvine de la M- $\beta$ -CD 60%, dans un rapport 1/1000 (le nombre de moles de  $\beta$ -cyclodextrine est pris 1000 fois supérieur à celui de la griséofulvine de manière à être en accord avec les hypothèses de la méthode de

Benesi-Hildebrandt), Des dilutions de cette solution par la solution mère sont à nouveau réalisées afin d'obtenir les rapports 1/900, 1/800...jusque 1/100. Les spectres enregistrés par spectrophotométrie UV-visible entre 220 nm et 350 nm pour les rapports s'étendant de 1/1000 à 1/100 sont présentées sur la figure IV-18 et les valeurs des maxima d'absorption sont données dans le tableau IV-7.



Figure IV-18 : Evolution de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde des solutions aqueuses de M-β-CD 60% / griséofulvine dans les rapports molaires [1 :100], [1 :200]..., [1 :1000]. Les résultats obtenus pour la griséofulvine pure sont également représentés.

Rapport molaire griséo / Μ β-CD	Absorbance 1 (255 nm)	ΔA pic 1	Absorbance 2 (295 nm)	ΔA pic 2
1/1000	0,847	0,324	0,849	0,094
1/900	0,796	0,273	0,827	0,072
1/800	0,765	0,242	0,811	0,056
1/700	0,717	0,194	0,792	0,037
1/600	0,686	0,163	0,782	0,027
1/500	0,624	0,101	0,761	0,006
1/400	0,594	0,071	0,75	-0,005
1/300	0,56	0,037	0,741	-0,014
1/200	0,534	0,011	0,733	-0,022
1/100	0,525	0,002	0,732	-0,023
1/1	0,523	0,000	0,755	0,000

Tableau IV-7 : Valeurs des maxima d'absorbance et leur écart en intensité ΔA par rapport à la solution aqueuse de griséofulvine, des solutions aqueuses M-β-CD 60% / griséofulvine dans les rapports molaires [1 :100], [1 :200]..., [1 :1000].

L'écart  $\Delta A$  entre l'intensité des maxima d'absorption obtenus pour les solutions aqueuses de M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine et celles des maxima obtenus pour la solution de griséofulvine est ensuite calculé. La figure IV-19 présente l'évolution du rapport [griséo]/ $\Delta A$ en fonction de l'inverse de la concentration en  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% pour les pics d'absorption situés à 250 nm et 295 nm. En cas de complexation, la théorie de Benesi-Hildebrandt prévoit que cette évolution soit linéaire. Ce comportement n'est clairement pas observé sur la figure IV-19 ce qui prouve que le système  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60% / griséofulvine ne forme pas de complexe en solution. Il est donc peu probable que cette complexation puisse se produire lors d'un co-broyage des formes solides.



Figure IV-19 : Evolution de l'inverse des différences des maxima d'aborbance pour les mélanges M-β-CD 60% / griséofulvine [1 :100], [1 :200]..., [1 :1000] molaires en fonction de l'inverse de la concentration de M-β-CD 60%.
(•) : pic d'absorption à 250 nm, (▲) : pic d'absorption à 295 nm.

#### **IV Discussion**

Les résultats précédents ont montré qu'il était possible de former par co-broyage des solutions solides homogènes amorphes de griséofulvine et de  $\beta$ -cyclodextrine méthylée à 60%. L'évolution de la température de transition vitreuse de ces mélanges avec la composition en griséofulvine a été déterminée. Par ailleurs, la démixtion de ces mélanges sursaturés en griséofulvine a permis d'établir la solubilité maximale à différentes températures. Ces résultats sont reportés sur la figure IV-20.



Figure IV-20 : Diagrammes de solubilité des mélanges M-β-CD 60% / griséofulvine. La ligne rouge est un guide pour les yeux.

Les points expérimentaux obtenus permettent d'établir la courbe de solubilité pour une fraction massique en griséofulvine supérieure à 0.15, c'est-à-dire dans une gamme de compositions très large. La méthode de détermination des diagrammes d'état des systèmes polymère / principes actif présentée dans le chapitre II peut donc être étendue à l'étude de systèmes cyclodextrine / principes actif.

Pour extrapoler cette évolution à des concentrations inférieures, il faudrait appliquer un modèle tenant compte de l'architecture particulière des molécules de cyclodextrines. En effet, le modèle thermodynamique classique développé pour des mélanges de petites molécules de volumes comparables ne peut s'appliquer dans ce cas, ni le modèle adapté par Flory-Hugggins au cas des mélanges polymère / petite molécule (modèle de réseau pour lequel le volume d'une chaîne est dissocié en x volumes identiques à celui de la petite molécule). Il faudrait un modèle qui prenne en compte la forme cyclique de la molécule, la différence de volume (4 fois plus grand que le principe actif) mais également le fait que la petite molécule puisse entrer dans la cyclodextrine. Or, à notre connaissance, un tel modèle n'a pas été développé.

Cependant, la portion de courbe de solubilité déterminée expérimentalement est suffisamment étendue pour localiser son point de croisement avec la courbe de Gordon-Taylor. Ce point de croisement est particulièrement important en pratique puisqu'il correspond à la concentration maximale de griséofulvine pour laquelle le risque de recristallisation est acceptable quelle que soit la température. En effet, pour des concentrations inférieures, le système se trouve nécessairement soit au-dessus de la courbe de solubilité soit en dessous de la ligne des Tg. Dans le cas du système M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine, la figure IV-20 permet de situer cette limite entre 0.05 et 0.10.

Une caractéristique marquante des cyclodextrines est de pouvoir former des complexes d'inclusion (en général 1 :1). Dans le cas d'une complexation à l'état solide, on obtiendrait un mélange, non pas de griséofulvine et de  $\beta$ -cyclodextrine, mais un mélange du complexe formé et de griséofulvine ou de  $\beta$ -cyclodextrine en excès. On s'attendrait donc, comme représenté sur la figure IV-21 :

- d'une part à observer une rupture de pente dans l'évolution de la transition vitreuse du mélange pour une fraction massique en griséofulvine correspondant à la formation du complexe, compte tenu des interactions particulières développées. On peut noter que cette évolution impliquerait la formation d'une solution solide amorphe homogène, seul cas de figure capable d'expliquer l'observation en DSC d'une transition vitreuse unique.
- d'autre part, à observer une absence de limite de solubilité pour des concentrations en griséofulvine dans le mélange inférieures à la concentration correspondant à la formation du complexe, puisqu'en-dessous et pour cette concentration, toute la griséofulvine présente dans le mélange complexerait.



Figure IV-21 : Représentation schématique du diagramme d'état β-cyclodextrine méthylée / griséofulvine attendu dans le cas de la formation de complexes d'inclusion [1:1]<sub>molaire</sub>.

Un complexe d'inclusion où une molécule de griséofulvine rentrerait dans la molécule de  $\beta$ -cyclodextrine méthylée (complexe 1 :1) correspondrait à une fraction massique en griséofulvine de 0.21. Cette fraction massique est dans la gamme de compositions où l'évolution de la transition vitreuse du mélange et de la limite de solubilité de la griséofulvine ont été déterminées expérimentalement. L'évolution de la température de transition vitreuse est régulière et ne présente pas de rupture ou d'anomalie à cette composition particulière. Quant à la limite de solubilité, non seulement son évolution est régulière mais en plus une solubilité limite a pu être déterminée pour une fraction massique inférieure à 0.21. Cela indique que le mélange obtenu par broyage est bien une solution solide et qu'il n'y a pas eu formation d'un complexe d'inclusion.

Par ailleurs, l'étude de la complexation en solution par spectrophotométrie UV-visible a montré que ce phénomène n'avait pas lieu à l'état liquide. Or la complexation étant facilitée à l'état liquide, il est peu probable qu'elle ait lieu à l'état solide quand elle n'a pas lieu en solution.
## **V** Conclusion du chapitre IV

Dans ce chapitre, nous avons réussi à déterminer le diagramme de solubilité du système " $\beta$ -cylodextrine méthylée 60% (M- $\beta$ -CD 60%) / griséofulvine" en utilisant la nouvelle méthode de détermination des diagrammes de solubilité établie au chapitre II. Cela montre que cette méthode, initialement développée pour les excipients polymériques, peut être directement étendue à d'autres excipients macromoléculaires tels que des cyclodextrines.

La  $\beta$ -cylodextrine méthylée à 60% a été choisi ici pour ses propriétés physiques proches de celles du PVP étudié au chapitre III. En particulier, elle est intrinsèquement amorphe, ne subit aucune transformation physico-chimique sous broyage mécanique et présente une température de transition vitreuse très proche de celle du PVP.

A notre connaissance, les températures de transition vitreuse des  $\beta$ -cyclodextrines natives et partiellement méthylées n'ont jamais été clairement identifiées dans la littérature. Nous avons donc débuté notre étude par la détermination préalable de ces températures de transition vitreuse. Il est à noter que la détermination du Tg de la  $\beta$ -cyclodextrine native est un challenge puisque ce composé présente des dégradations chimiques fortes bien en dessous de sa température de fusion empêchant d'atteindre l'état vitreux par la trempe thermique classique du liquide. Nous avons cependant pu contourner cette difficulté et déterminer le Tg de ce composé par deux approches alternatives:

- L'extrapolation des températures de transition vitreuse des dérivées méthylées disponibles dans le commerce.

- L'extrapolation des températures de transition vitreuse des alliages  $\beta$ -CD / M- $\beta$ -CD 60% obtenus, directement à l'état solide, par co-broyage des deux composés.

Les deux approches ont permis de situer le Tg de la  $\beta$ -CD vers 292C°±2°C. Ce Tg est situé juste au-dessus de la température de dégradation de la  $\beta$ -CD. On peut donc parler de transition vitreuse virtuelle car elle ne peut en pratique être observée de manière directe. C'est aussi la raison pour laquelle cette température de transition vitreuse restait, jusqu'à présent, curieusement indéterminée malgré l'utilisation très fréquente de ce composé dans l'industrie.

Une autre caractéristique des cyclodextrines est de former fréquemment des complexes d'inclusion avec les molécules de principe actif ce qui entraîne bien sûr des répercussions fortes sur les propriétés physiques du mélange amorphe correspondant. Nous avons pu montrer par spectrophotométrie à l'état liquide que cela n'était pas le cas pour le système "M- $\beta$ -CD 60% / griséofulvine" utilisé dans notre étude. Cette absence de complexation en phase liquide est aussi confirmée à l'état solide, de manière indirecte, par l'absence d'anomalie dans les courbes de solubilité et de Gordon Taylor au voisinage de la concentration équimolaire. Cela montre que le cobroyage de ces deux composés conduit à un alliage moléculaire amorphe non complexé et non à un complexe amorphe.

## Chapitre V : Détermination par simulation des diagrammes polymère / principe actif

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, la détermination expérimentale des courbes de solubilité polymère / principe actif peut s'avérer difficile, en particulier aux basses températures quand on s'approche de la transition vitreuse du mélange en raison du fort ralentissement de la mobilité. Elle devient même impossible, quelque soit la méthode envisagée, à des températures où le mélange est vitrifié. Les méthodes expérimentales sont également inefficaces lorsque les matériaux se dégradent très vite au-dessus de leur température de fusion (principe actif) ou de leur température de transition vitreuse (polymère), ce qui est fréquemment le cas. Dans ces situations, le développement d'outils numériques capables de prédire ces diagrammes de solubilité serait très utile.

Déterminer la courbe de solubilité d'un principe actif dans un excipient revient à déterminer les coordonnées des points (x, T) tels qu'il y ait équilibre entre le potentiel chimique du principe actif en solution et l'enthalpie libre du principe actif cristallisé. Pour prédire cette courbe, il faut donc être capable de calculer le potentiel chimique du principe actif dans le mélange (ou son coefficient d'activité chimique).

La plupart des solutions analytiques numériques proposées pour un tel calcul sont basées sur des modèles de contribution de groupes. Dans ces modèles, on considère que les molécules sont constituées de groupes fonctionnels et, à partir des propriétés de ces groupes fonctionnels, on remonte aux propriétés de la molécule. Ces modèles sont très utilisés mais nécessitent d'une part d'être capable d'identifier les groupes fonctionnels (plus la molécule est complexe, plus cette opération est compliquée), et d'autre part, de connaître leurs propriétés qui sont généralement établies à partir de paramètres mesurés expérimentalement.

Des modèles alternatifs ab-initio intéressants sont depuis peu développés et s'appuient à la fois sur la thermodynamique statistique et la chimie quantique : ce sont les modèles COSMO (COnductor-like Screening MOdel) à interactions de paires qui traitent les interactions entre molécules à partir d'interactions entre paires de segments de surface élémentaires chargés. Cependant, pour le moment, ces modèles sont uniquement développés pour des mélanges de petites molécules.

Dans ce chapitre, nous présentons un travail exploratoire dans lequel nous avons essayé d'adapter et d'appliquer ces modèles dans le cas où une petite molécule (principe actif) est mélangée à un polymère. La difficulté provient du fait que l'utilisation de ce type de modèles requiert de connaître la distribution de la densité surfacique de charges des composés purs. Le challenge ici est donc de déterminer cette densité électronique dans le cas d'une macromolécule, c'est-à-dire être capable de modéliser la multiplicité des conformations que peut prendre une chaîne polymérique flexible. Nous avons choisi pour cette étude les deux couples polymère / principe actif dont nous avons déterminés expérimentalement les courbes de solubilité aux chapitres II et III : les mélanges PVP/indométacine et PVP/griséofulvine. La confrontation des résultats obtenus par simulation et expérimentalement nous permettra de discuter de l'application des modèles COSMO aux macromolécules.

### I Méthodes de calcul numériques de l'activité chimique

#### I.A Théorie générale des interactions entre paires moléculaires

En physique statistique, l'énergie libre peut être exprimée en fonction de la fonction de partition Z du système considéré :

$$F = -kT\ln Z \tag{V-1}$$

Si l'on considère un mélange liquide homogène régulier de deux espèces chimiques A et B, le potentiel chimique de A dans le mélange  $\mu_A$  peut s'exprimer en fonction de Z :

$$\mu_{A} = \left(\frac{\partial G}{\partial N_{A}}\right)_{T,P,N_{B}} \quad \text{avec} \quad G = F + PV \tag{V-2}$$

$$\mu_A = -kT \left(\frac{\partial \ln Z}{\partial N_A}\right)_{T,P,N_B} \tag{V-3}$$

donc

Si l'on fait l'hypothèse qu'il n'y a pas de corrélation entre les interactions moléculaires et les contraintes géométriques, la fonction de partition du sytème peut alors être décomposée en trois contributions [138] selon :

$$Z = Z^0 Z^C Z^R \tag{V-4}$$

où  $Z^0$  est appelée le facteur « idéal »,  $Z^C$  le facteur « combinatoire » et  $Z^R$  le facteur « résiduel ».

Le facteur idéal  $Z^0$  représente la contribution entropique du système due à la permutation des molécules que l'on considère toutes identiques (solution idéale).

$$\ln Z^{0} = N_{A} \ln x_{A} + N_{B} \ln x_{B} = N \left[ x_{A} \ln x_{A} + x_{B} \ln x_{B} \right]$$
(V-5)

où  $x_A$  et  $x_B$  représentent la fraction molaire respectivement des composés A et B et N est le nombre total de molécules du système composé de  $N_A$  molécules de A et  $N_B$  molécules de B.

Le facteur combinatoire  $Z^C$  prend en compte tous les effets de taille ou de forme des molécules. Le modèle de Flory donne l'expression de  $Z^C$  en fonction de la fraction molaire du composé A et de sa fraction volumique :

$$\ln Z_{Flory}^{C} = -N \left[ x_{A} \ln \left( \frac{\Phi_{A}}{x_{A}} \right) + x_{B} \ln \left( \frac{\Phi_{B}}{x_{B}} \right) \right]$$
(V-6)

où  $\Phi_A$  et  $\Phi_B$  sont respectivement les fractions volumiques des composés A et B.

Le facteur résiduel  $Z^R$  reflète la contribution enthalpique en prenant en compte tous les types d'interactions non stériques (van der Waals, électrostatiques, liaisons hydrogènes). L'hypothèse de base des modèles d'interactions de paires surfaciques est que ces interactions non stériques peuvent être décrites comme des interactions locales de paires de segments de surface. La fonction de partition  $Z^R$  est alors la somme de toutes les associations par paires possibles entre des segments élémentaires de surface : le système thermodynamique de composés chimiques A et B se réduit à un système d'interactions entre des segments de surfaces chargés.

Si l'on considère deux types de segments différemment chargés, i et j, on peut alors définir l'énergie totale d'interaction entre tous les segments i et j pour une configuration donnée P comme :

$$E_{tot}(P) = \sum_{ij} p_{ij}(P) \mathcal{E}_{ij}$$
(V-7)

où  $p_{ij}(P)$  est le nombre total de paires de type ij et  $\varepsilon_{ij}$  est l'énergie d'interaction entre les surfaces i et j (de type van der Waals, électrostatique ou liaison hydrogène).

La fonction de partition résiduelle devient :

$$Z^{R} = \sum_{P} \exp\left\{-\frac{\sum_{ij} p_{ij}(P)\varepsilon_{ij}}{kT}\right\}$$
(V-8)

La difficulté est d'évaluer cette fonction de partition car cela nécessite d'évaluer les grandeurs  $p_{ij}(P)_{\text{et }\epsilon_{ij}}$ .

### I.B Approche COSMO-RS

Dans l'approche COSMO-RS (COnductor-like Screening MOdel - Real Solvation) [26], les molécules, dont la distribution surfacique de charges est connue, sont entourées d'un conducteur parfait, c'est-à-dire entourées d'une surface qui « renvoie » la charge parfaitement opposée de la molécule (figure V-I). Le système est alors considéré comme un ensemble de molécules parfaitement écrantées et étroitement imbriquées ce qui fait que chaque portion de surface d'une molécule est en contact avec une autre.



Figure V-1 : Représentation virtuelle de la prise en compte des interactions CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O selon l'approche COSMO-RS

En faisant l'hypothèse qu'il y a toujours une surface conductrice entre les molécules, au niveau d'une surface de contact, les segments de surface des deux molécules portent les densités de charges surfaciques  $\sigma$  et  $\sigma$ '.

En réalité, il n'y a pas de conducteur entre les surfaces de contact et par conséquent, le contact des deux densités de charges différentes créé une interaction électrostatique. L'énergie d'interaction spécifique par unité de surface résultant de cette inadéquation est donnée par :

$$e_{misfit} = a_{eff} \frac{\alpha}{2} (\sigma + \sigma')^2 \tag{V-9}$$

où  $a_{eff}$  est l'aire de la surface de contact,  $\alpha$  est un paramètre ajustable dépendant de  $a_{eff}$  qui prend en compte la polarisation électronique due à l'environnement moléculaire du segment.

Bien sûr, si  $\sigma$  et  $\sigma$ ' sont égales et opposées,  $e_{misfit}$  s'annule. Les interactions de type hydrogène sont aussi prises en compte en considérant que cette interaction ne se créera que si deux segments de surface avec des polarités assez fortes et opposées sont en contact. La liaison hydrogène sera d'autant plus forte que les segments seront polaires ; La liaison ne se créée que si la plus petite des densités  $\sigma$  ou  $\sigma$ ' est plus négative que la charge d'une liaison hydrogène  $\sigma_{hb}$  (l'élément de surface sera accepteur de liaison). Un tel comportement obéît à l'équation :

$$e_{hb} = c_{hb} \left\{ \min(0, \min(\sigma, \sigma') + \sigma_{hb}) \max(0, \max(\sigma, \sigma') - \sigma_{hb}) \right\}$$
(V-10)

où c<sub>hb</sub> est un paramètre ajustable dépendant de la température et  $\sigma_{hb}$  représente la valeur limite de  $\sigma$  pour une liaison hydrogène ( $\sigma_{hb} \approx 0.8$ -0.9 e.nm<sup>-2</sup>).

La résultante énergétique de la mise en commun de tous les segments de surface de chacune des molécules du système dépend donc de la densité surfacique de charge  $\sigma$  de chaque segment de surface des molécules. Afin de calculer cette énergie, la surface des molécules est découpée par COSMO-RS en segments élémentaires qui sont ensuite classés suivant leurs densités de charge. Chaque molécule est alors caractérisée par sa distribution surfacique de charge, encore appelée profil  $\sigma$ , qui exprime la probabilité d'avoir une valeur de densité surfacique  $\sigma$  donnée. Un exemple de profil  $\sigma$  est donné sur la figure V-2 dans le cas particulier de l'ethanolamine C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO :



Figure V-2 : Profil sigma de l'ethanolamine reliant la densité surfacique de charge à sa probabilité de présence.

Ce profil de densité de charge peut être divisé en trois zones :

- les zones de polarité fortement positives en bleu (σ fortement négatif)
- Les zones de polarité fortement négative en rouge (σ fortement positif)
- Les zones de polarité faible en vert/cyan.

Les atomes fortement polarisés positivement et négativement sont en général à l'origine de la formation de liaisons hydrogènes par défaut d'électrons (ici l'atome d'hydrogène relié à l'azote) ou excès d'électrons (ici l'atome d'oxygène). Ces fortes polarités permettent d'une manière plus globale l'établissement d'interactions de type électrostatiques entre les molécules.

Dans le cas d'un mélange entre des molécules de A et des molécules de B, COSMO-RS permet de calculer le profil  $\sigma$  du mélange AB à partir du profil  $\sigma$  des composés purs :

$$p_{m\acute{e}l}(\sigma) = \frac{x_A p_A(\sigma) + x_B p_B(\sigma)}{x_A q_A + x_B q_B}$$
(V-11)

où par exemple pour la molécule A,  $x_A$  correspond à la fraction molaire de A dans le mélange,  $P_A(\sigma)$  au profil  $\sigma$  de A et  $q_A$  à la surface du profil, c'est-à-dire la surface totale des molécules A dans le mélange.

Ayant déterminé le profil  $\sigma$  du mélange, il est possible de calculer le potentiel chimique d'un segment de surface de densité surfacique de charges  $\sigma$  dans le mélange en tenant compte de toutes les interactions entre les autres segments de surface au travers des énergies d'interactions e<sub>misfit</sub> et e<sub>hb</sub>. Ce calcul est basé sur le modèle COSMOSPACE qui permet de relier le potentiel chimique résiduel d'un segment de densité surfacique  $\sigma$ , au potentiel chimique d'un segment de densité surfacique  $\sigma'$ ,  $\gamma^{\sigma'}$ , et à sa fraction surfacique (cf annexe 6).

$$\mu_{m\acute{e}l}^{R}(\sigma) = -kT \ln \int p_{m\acute{e}l}(\sigma') \exp\left\{\frac{a_{eff}}{kT}(\mu_{m\acute{e}l}(\sigma') - e_{misifit} - e_{hb})\right\} d\sigma'$$
(V-12)

Du fait de la présence du  $\mu_{mél}(\sigma)$  de part et d'autre de cette équation, elle doit être résolue de manière itérative.

On obtient alors le potentiel chimique résiduel du composé A dans le mélange en intégrant les  $\mu_{mél}^{R}(\sigma)$  sur toute la surface des molécules A, q<sub>A</sub>.

Finalement, en ajoutant à cette composante résiduelle, la partie combinatoire, on obtient le potentiel chimique de A dans le mélange :

$$\mu_{m\acute{e}l}^{A} = \int \underbrace{p^{A}(\sigma)\mu_{m\acute{e}l}^{R}(\sigma).d\sigma}_{partie \ r\acute{e}siduelle} + \underbrace{kT\ln\gamma_{comb}(A,m\acute{e}l)}_{partie \ combinatorie}$$
(V-13)

Une fois ce potentiel chimique déterminé, le coefficient d'activité chimique  $\gamma_{m\acute{e}l}^{A}$  du composé A dans le mélange peut être calculé.

$$\gamma_{m\acute{e}l}^{A} = \exp(\frac{\mu_{m\acute{e}l}^{A} - \mu_{0}^{A}}{RT}) \tag{V-14}$$

où  $\mu_0^A$  est le potentiel du composé pur.

## I.C Choix du modèle permettant la détermination de la répartition des charges surfaciques d'une molécule

Comme nous l'avons vu, le modèle COSMO-RS permet de déterminer le coefficient d'activité chimique d'un composé A dans un mélange en calculant les interactions entre segments de surface de densités surfaciques données. L'utilisation de ce modèle nécessite de connaitre la répartition surfacique de charges dans la molécule.

Les modèles les plus utilisés pour déterminer cette répartition sont :

- Le modèle de charge par contribution de groupes [139-141] qui propose d'associer le volume de van der Waals de différents groupes fonctionnels moléculaires afin de reconstruire la distribution électronique de n'importe quelle molécule.
- Le modèle de la fonctionnelle de la densité (DFT) [142] qui permet l'étude de la structure électronique de la molécule par des calculs quantiques.

La distribution électronique d'une molécule peut varier en fonction de son environnement proche ainsi que de sa conformation ou configuration spatiale.

Le modèle par contribution de groupe s'appuie sur des bases de données répertoriant les propriétés physiques de plusieurs groupes moléculaires. Cependant, dans le cas des molécules de principes actifs pharmaceutiques, aucune donnée physique n'est en général disponible ce qui rend le modèle par contribution de groupe inapplicable [139]. De plus, dans le cas d'un polymère, la chaine principale peut généralement adopter de nombreuses conformations. Les possibilités d'environnement électroniques proches peuvent alors varier ce qu'une simple association de volumes de van der Waals ne reproduit que grossièrement.

Le modèle de la fonctionnelle de la densité n'a lui besoin que de données atomiques fondamentales pour une détermination de la distribution surfacique électronique d'une molécule. Pour ces raisons, le modèle de la fonctionnelle de la densité a été choisi pour la détermination de la distribution de charge à la surface des molécules.

# II Méthode numérique de détermination de courbes de solubilités polymère / PA

## II.A Protocole de détermination numérique des courbes de solubilité

Comme nous venons de le voir, COSMO-RS est un logiciel qui permet de calculer le coefficient d'activité chimique d'espèces en solution, à partir de la détermination des énergies d'interaction locales entre surfaces élémentaires polarisées qui constituent ces espèces. Cela nécessite de connaitre la distribution surfacique de charges pour chaque molécule. Pour cela, le logiciel s'appuie sur une base de données regroupant les conformations et leur distribution surfacique de charge d'un grand nombre de molécules. Cependant, COSMO-RS étant développé jusqu'à présent pour les mélanges de petites molécules, aucun polymère ne figure dans cette base. Avant d'utiliser COSMO-RS, il faut donc commencer par modéliser cette distribution surfacique de charge dans le cas d'un polymère.

La détermination des courbes de solubilité des mélanges PVP / indométacine et PVP / griséofulvine par COSMO-RS résulte donc de l'enchainement d'étapes qui sont listées sur la figure V-3.

 La première opération consiste à modéliser les molécules étudiées en modélisant leurs conformations d'équilibre. Elle se fait à l'aide du logiciel Material Studio qui utilise plusieurs programmes de manière à :

\* générer la chaîne de PVP et les molécules de PA

\* déterminer les conformations les plus stables. Cette étape est plus compliquée dans le cas du polymère puisqu'il faut arriver à modéliser la multiplicité des conformations que peut adopter une chaîne flexible.

\* faire une dynamique moléculaire pour obtenir les conformations d'équilibre dans des conditions expérimentales réelles (température, pression, masse volumique).

- La deuxième opération consiste à modéliser la distribution de densité surfacique de charge des molécules. Elle se fait à l'aide du logiciel Turbomole qui utilise la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT).
- La troisième opération consiste à déterminer les coefficients d'activité chimique des PA dans le mélange polymère / PA par COSMO-RS :

\* le profil  $\sigma$  des composés purs est établi

\* à partir de ces profils, le profil  $\sigma$  du mélange est déterminé

\* le potentiel chimique résiduel de chaque segment de surface de polarité  $\sigma$ ,  $\mu_{mél}^{R}(\sigma)$ , est calculé en prenant en compte les énergies de misfit et les énergies de liaisons hydrogène possibles.

\* le potentiel chimique résiduel du principe actif dans le PVP  $\mu_{m\acute{e}l}^{R,PA}$  est ensuite calculé par intégration des  $\mu_{m\acute{e}l}^{R}(\sigma)$ , COSMO-RS donne le coefficient d'activité chimique résiduel correspondant  $\gamma^{R}$ .

\* le coefficient d'activité chimique combinatoire est calculé  $\gamma^{C}$ .

\* le coefficient d'activité du PA dans le PVP est obtenu à partir de ces 2 derniers termes :  $\gamma = \gamma^R \cdot \gamma^C$ 

L'activité chimique du PA peut alors être calculée et en réalisant la condition d'équilibre  $\mu_{m\acute{e}l}^{PA} = G_C^{PA}$ , on obtient les points de la courbe de solubilité. Le détail de ces opérations est expliqué dans les parties suivantes.



Figure V-3 : Récapitulatif des étapes nécessaires à la détermination par simulation numérique des courbes de solubilité polymère / PA.

### II.B Modélisation numérique du polyvinylpyrrolidone

#### **II.B.1** Modélisation des conformations des chaînes de PVP

Tout comme en chimie expérimentale, la création d'un polymère débute par le choix d'un monomère. Ici, un monomère de vinylpirrolidone est construit grâce au générateur de molécules de Material Studio (Figure V-4) :



Figure V-4 : Représentation schématique d'une molécule de vinylpyrrolidone

Ce monomère est ensuite dupliqué et les motifs mis bout-à-bout de manière syndiotactique (substituants répartis alternativement d'un côté et de l'autre de la chaine carbonée principale) afin de générer une chaine comportant 7 monomères (Figure V-5). On peut noter que les extrémités des chaines polymères sont ici complétées par des atomes d'hydrogènes. En effet, les extrémités des chaines polymères lors de leur synthèse chimiques dépendent de la manière dont elles sont créées (polymérisation en chaines ou par étapes). Le PVP utilisé lors de la détermination expérimentale des diagrammes de solubilité des chapitres II et III de cette thèse a été fourni par la société BASF qui n'a pas communiqué le protocole de synthèse du PVP. Les atomes d'hydrogène ont donc été placés en bouts de chaine afin de s'affranchir de toute perturbation provenant de fonctions chimiques qui seraient minimisées dans les systèmes réels.



Figure V-5 : Représentation schématique d'une chaine de polyvinylpyrrolidone syndiotactique comportant 7 monomères

Les molécules de PVP sont des molécules flexibles qui présentent donc de nombreuses conformations. Il est essentiel de reproduire ce caractère conformationnel en simulation. Pour ce faire, nous avons utilisé le logiciel amorphous Cell. Ce logiciel permet de générer une boite de simulation qui respecte les conditions périodiques aux limites, dans laquelle une chaîne de polymère est dupliquée et contrainte géométriquement dans le but d'obtenir plusieurs conformations moléculaires différentes [143]. Afin de produire au mieux un système réel, on introduit dans la boite qui a un volume d'environ 30Å<sup>3</sup> autant de chaines polymères dupliquées que possible (Figure V-6).



Figure V-6 : Schéma d'une boite de simulation incluant 20 chaines de PVP constituées de 7 motifs chacune.

A ce stade, les chaines polymères ont été contraintes géométriquement mais les interactions énergétiques intermoléculaires ne sont pas prises en compte. Pour prendre en compte l'énergie d'interaction entre les chaines polymères, les molécules contenues dans le cube de simulation sont alors optimisées énergétiquement et géométriquement en imposant au système le champ de force PCFF, recommandé pour les simulations du comportement des matériaux organiques [144]. Cette optimisation se fait à T = 0 K.

L'étape de création du cube jusqu'à son optimisation est répétée dix fois et le cube présentant la plus grande stabilité, c'est-à-dire l'énergie totale la plus basse, est choisi puis relaxé par dynamique moléculaire. La simulation est réalisée à température, pression et nombre de molécules constants (T = 293K, P = 1 atm, N = cst). L'étape précédente de création de plusieurs boites de simulation d'énergies totales différentes permet de raccourcir le temps de calcul lors de cette relaxation.

La correction de vitesse des molécules en fonction de la pression et de la température est assurée par un algorithme de Berendsen [145]. Le temps de simulation total du système est de 1 nanoseconde atteint par pas de 1 femtoseconde. La figure V-7 représente l'évolution de l'énergie, de la température, de la masse volumique et de la taille du cube pendant cette simulation. On considère que l'équilibre est atteint après environ 300 ps lorsque l'énergie totale , la température et la masse volumique du système sont stables et fluctues autour de leurs valeurs d'équilibre. On remarque sur la figure V-7 que l'énergie totale ainsi que la température se stabilisent très rapidement autour des premières pico secondes. En revanche, la masse volumique du système et intrinsèquement la taille du cube n'arrivent à l'équilibre qu'après 300 picosecondes. Le PVP étant vitreux à 293K, cela implique une relaxation des chaines polymère très lente. Cette dynamique moléculaire peut prendre de 8h à plusieurs jours suivant la taille des chaines polymères II est donc essentiel de gagner le maximum de temps sur cette étape de calcul tout en tentant de reproduire le plus fidèlement possible les données physiques expérimentales.



Figure V-7 : Evolution de l'énergie, de la température, de la masse volumique et de la taille du cube de simulation en fonction du temps pour un ensemble de chaînes de PVP de 7 motifs constitutifs pour un nombre de molécules N, une pression P et une température T constants.

#### **II.B.2** Détermination des densités surfaciques de charge

Chaque molécule issue de la dynamique moléculaire précédente est indépendamment soumise à un calcul quantique de densité électronique de charge par la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) via le logiciel Turbomole [146]. Les paramètres par défaut de Turbomole ont été utilisés (BP-TZVP) et un exemple de résultat du calcul de la densité surfacique de charge est présenté sur la figure V-8 pour un conformère du PVP :



Figure V-8 : Représentation schématique du résultat du calcul de densité surfacique de charge par DFT pour une chaine de PVP de 7 motifs constitutifs.

Comme explicité dans la partie I de ce chapitre, les parties rouges correspondent à des surfaces très négativement polarisées, les surfaces vertes et cyan à des zones faiblement polarisées et les surfaces bleues foncées (non existantes dans le cas particulier du PVP) aux surfaces très positivement polarisées. Cette représentation indique que la forte polarisation est essentiellement induite par les atomes d'oxygène du groupe vinylique.

#### II.B.3 Détermination des profils $\sigma$

Le profil  $\sigma$  de chacune des molécules précédentes est ensuite déterminé grâce au logiciel COSMO-RS comme le montre la figure V-9 pour un conformère du PVP :



Figure V-9 : Profil σ d'une chaine de PVP de 7 motifs reliant la densité surfacique de charge à sa probabilité de présence.

On peut voir sur cette figure que les densités surfaciques de charge d'une chaîne de PVP que l'on retrouve le plus souvent sont comprises d'une part entre 0.01 e.Å<sup>-2</sup> et 0.015 e.Å<sup>-2</sup> (forte polarisation) et d'autre part, entre -0.01 e.Å<sup>-2</sup> et 0.01 e.Å<sup>-2</sup> (faible polarisation). Les hautes valeurs de  $\sigma$  correspondent à la trace de la forte polarisation induite par la distribution des atomes d'oxygène le long de la chaine principale carbonée du PVP. La zone faiblement polarisée correspond au reste de la molécule.

### **II.C** Modélisation numérique du principe actif

La molécule de principe actif est modélisée suivant le même principe que le polymère. L'étape de polymérisation des monomères de vinylpyrrolidone est ici remplacée par la recherche de la conformation moléculaire la plus stable du principe actif via le logiciel AMMP (Another Molecular Mechanics Program) [147] (cf figure V-3). La conformation la plus stable de la molécule a pu être déterminée par la technique des sauts de Boltzmann qui consiste à appliquer une série de torsions aléatoires sur les liaisons atomiques. Pour chacune des torsions, AMMP contrôle que l'énergie de la molécule reste la plus basse. Les mêmes traitements que pour le polymère sont ensuite appliqués à la molécule de PA.

#### II.C.I Cas de l'indométacine

Après avoir effectué une dynamique moléculaire sur les molécules de PA, la densité surfacique de charge de chaque molécule est déterminée par DFT via Turbomole. Le résultat obtenu dans le cas particulier d'une molécule d'indométacine est représenté sur la figure V-10.



Figure V-10 : Représentation schématique du résultat du calcul de densité surfacique de charge par DFT pour une molécule d'indométacine

Le profil  $\sigma$  de l'indométacine est ensuite calculé avec le logiciel COSMO-RS. Ce profil est présenté sur la figure V-11. On constate que, contrairement à la densité surfacique de charge du PVP qui ne présentait que des zones fortement polarisées négativement, la molécule d'indométacine présente une zone de forte polarité positive (zone bleue foncée de la figure V-10 et densités électroniques de charge autour de -0.02 e. Å<sup>-2</sup> sur le profil  $\sigma$  (figure V-11)).



Figure V-11 : Profil σ de l'indométacine reliant la densité surfacique de charge à sa probabilité de présence.

#### II.C.2 Cas de la griséofulvine

La griséofulvine est modélisée de la même manière : la conformation la plus stable est obtenue via le logiciel AMMP, une dynamique moléculaire est effectuée, puis la densité surfacique de charge est déterminée par DFT via Turbomole. Le résultat obtenu est présenté sur la figure V-12.



Figure V-12 : Représentation schématique du résultat du calcul de densité surfacique de charge par DFT pour une molécule de griséofulvine.

Le profil  $\sigma$  est ensuite calculé par COSMO-RS. Il est présenté sur la figure V-13. On constate que la molécule de griséofulvine présente une distribution surfacique de charge similaire à celle vue précédemment dans le cas de l'indométacine. Cependant, le profil  $\sigma$  de la griséofulvine montre une polarisation positive de plus faible intensité (autour de -0.015 e. Å<sup>-2</sup>) que dans le cas de l'indométacine (autour de -0.02 e. Å<sup>-2</sup>).



Figure V.13 : Profil σ de la griséofulvine reliant la densité surfacique de charge à sa probabilité de présence.

## II.D Calcul de l'activité chimique du principe actif dans le mélange PVP / indométacine et PVP / griséofulvine

Comme nous l'avons vu dans la 1<sup>ère</sup> partie de ce chapitre, le coefficient d'activité chimique du PA dans le mélange  $\gamma^{PA}$  est calculé par COSMO-RS à partir de 2 composantes :

- un coefficient d'activité résiduel correspondant aux interactions electrostatiques entre les molécules,  $\gamma^{R,PA}$
- un coefficient d'activité combinatoire qui rend compte de l'architecture des molécules,  $\gamma^{C,PA}$

$$\gamma^{PA} = \gamma^{R} . \gamma^{C} \tag{V-15}$$

Le coefficient d'activité chimique résiduel est calculé par COSMO-RS à partir des profils  $\sigma$  du PVP et du PA (création du profil  $\sigma$  du mélange) et en effectuant les étapes de calculs présentées dans la partie II.A.

Le coefficient d'activité chimique combinatoire est calculé par le modèle de Flory (équation V.16) :

$$\ln \gamma_{Flory}^{C} = 1 - (\frac{\Phi_{PA}}{x_{PA}}) + \ln(\frac{\Phi_{PA}}{x_{PA}})$$
(V-16)

où  $\Phi_{PA}$  est la fraction volumique du PA :

$$\Phi_{PA} = \frac{\frac{x_{PA}}{\rho_{PA}}}{\frac{x_{PA}}{\rho_{PA}} + \frac{1 - x_{PA}}{\rho_{PVP}}}$$
(V-17)

Ce calcul fait intervenir la masse volumique du PA  $\rho_{PA}$  et du PVP  $\rho_{PVP}$ . Les valeurs des masses volumiques utilisées sont celles obtenues lors de l'étape de dynamique moléculaire soit  $\rho_{indo} = 1,26 \text{ g/cm}^3$ ,  $\rho_{griséo} = 1,28 \text{ g/cm}^3$ ,  $\rho_{PVP} = 1,10 \text{ g/cm}^3$ .

L'ensemble des calculs de coefficients d'activités (résiduel, combinatoire et total) et des fractions massiques des mélanges sont donnés dans le tableau V-1 :

	Indométacine				Griséofulvine			
Fraction molaire	Fraction massique	γresid	γcombi	γ <sub>tot</sub>	Fraction massique	γresid	γcombi	$\gamma_{tot}$
0.1	0.05	0.02	0.75	0.01	0.05	0.63	0.74	0.47
0.2	0.10	0.02	0.77	0.02	0.10	0.67	0.77	0.51
0.3	0.16	0.03	0.80	0.03	0.16	0.71	0.80	0.57
0.4	0.23	0.05	0.83	0.04	0.23	0.75	0.83	0.63
0.5	0.31	0.08	0.85	0.06	0.31	0.80	0.87	0.69
0.6	0.41	0.12	0.88	0.11	0.40	0.85	0.90	0.76
0.7	0.52	0.21	0.91	0.19	0.51	0.90	0.94	0.84
0.8	0.65	0.39	0.94	0.37	0.64	0.94	0.97	0.91
0.9	0.80	0.72	0.97	0.70	0.80	0.98	0.99	0.97

Tableau V-1 : Résultats des calculs effectués par COSMO-RS des coefficients d'activités résiduels d'un PA (indométacine ou griséofulvine) mélangé avec le PVP (7 motifs) en différentes proportions. Les coefficients d'activités combinatoires calculés par le modèle de Flory et totaux y sont également reportés.

## II.E Détermination des points de la courbe de solubilité polymère / PA

La détermination précédente de  $\gamma_{mél}^{PA}$  permet de calculer l'activité chimique  $a_{mél}^{PA} = x_{PA} \cdot \gamma_{mél}^{PA}$  où  $x_{PA}$  correspond à la fraction molaire du principe actif dans le mélange. Les points de la courbe de solubilité du PA dans le polymère obéissent à l'équilibre  $\mu_{mél}^{PA} = G_C^{PA}$ . Cela donne la condition à laquelle doit obéir l'activité (cf chapitre I).

$$a_{m\acute{e}l}^{PA} = x_{PA} \cdot \gamma_{m\acute{e}l}^{PA} = \exp\left[\frac{\Delta H_{f,PA}}{RT} \left(\frac{T_{\acute{e}q}}{T_f} - 1\right)\right]$$
(V-18)

où est  $\Delta H_{f,PA}$  l'enthalpie de fusion du principe actif,  $T_f$  sa température de fusion et  $T_{\acute{eq}}$  la température d'équilibre du système. Le tableau V-2 donne les températures et les enthalpies de fusion des PA mesurées en DSC à 5°C/min :

	Indométacine	Griséofulvine		
$\Delta H_{f}$ (KJ/mol)	39 ± 1	49 ± 1		
T <sub>f</sub> (K)	$435 \pm 1$	$494 \pm 1$		

Tableau V-2 : Enthalpies et températures de fusion des formes cristallines commerciales de l'indométacine et de la griséofulvine mesurées en DSC à 5°C / min.

Les températures d'équilibre pour lesquelles le principe actif présente les activités données dans le tableau V-3 sont déduites de l'équation V-18 pour chaque fraction massique en principe actif des mélanges PVP / indométacine et PVP / griséofulvine :

a <sup>indo</sup>	Fraction massique	T <sub>éq PVP/indo</sub> (°C)	a <sup>griséo</sup>	Fraction massique	T <sub>éq PVP/griseo</sub> (°C)
a mél	indométacine	1	<b>M</b> mél	griséofulvine	
0.001	0.05	-5	0.047	0.05	119
0.004	0.10	13	0.103	0.10	141
0.009	0.16	27	0.169	0.16	156
0.018	0.23	41	0.250	0.23	169
0.035	0.31	56	0.346	0.31	180
0.069	0.41	74	0.458	0.40	190
0.143	0.52	94	0.587	0.51	199
0.307	0.65	118	0.729	0.64	208
0.645	0.80	144	0.875	0.80	215

Tableau V-3 : Valeurs des températures d'équilibre des mélanges PVP / indométacine et PVP / griséofulvine pour différentes fractions massiques à saturation de PA dans le PVP.

Les figures V-14 et V-15 présentent les points des courbes de solubilité ainsi obtenus respectivement de l'indométacine dans le PVP et de la griséofulvine dans le PVP ( $\bullet$ ). Sur chaque figure sont également représentés les points expérimentaux obtenus par la méthode précedemment décrite (cf chapitre II et III) ( $\blacktriangle$ ), l'ajustement de ces points par une loi dérivée du modèle de Flory-Huggins (—) et l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange (—).



Figure V-14 : Concentrations limites en Indométacine dans le PVP à différentes températures obtenues numériquement (●) ou expérimentalement par méthode de démixtion (▲). L'évolution de la solubilité maximale ajustée aux points expérimentaux par le modèle de Flory-Huggins et l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange (en bleu) y sont également reportées.



Figure V-15 : Concentrations d'équilibre en griséofulvine dans le PVP à différentes températures obtenues numériquement (●) ou expérimentalement par méthode de démixtion (▲). L'évolution de la solubilité maximale ajustée aux points expérimentaux par le modèle de Flory-Huggins et l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange (en bleu) y sont également reportées.

### III Analyse et discussion des résultats

La comparaison des points obtenus par simulation et ceux obtenus de façon expérimentale montre un assez bon accord des courbes de solubilité. Dans le cas du mélange PVP/griséofulvine, les solubilités sont un peu surestimées sur toute la gamme des fractions massiques mais suivent assez bien l'évolution donnée par les points expérimentaux et, dans une gamme de compositions plus large, l'ajustement de ces points par l'équation dérivée du modèle de Flory-Huggins. Dans le cas du mélange PVP/indométacine, les solubilités obtenues par simulation sont en parfait accord avec les points expérimentaux. Cependant, pour des fractions massiques inférieures à 0.6, elles s'écartent de l'ajustement de ces points par l'équation dérivée du modèle de Flory-Huggins. Ces concentrations étant hors de la gamme de concentrations accessibles expérimentalement, il est difficile d'être sûr de l'ajustement réalisé à partir de ce modèle (basé sur l'hypothèse de solutions régulières) mais l'évolution des points obtenus par simulation semble anormale vers  $X_{indo} = 0.5$  (changement de courbure). Cette déviation intervenant à basses concentrations en indométacine, et donc aux fortes concentrations en PVP, on peut s'interroger sur la capacité de COSMO-RS à modéliser le comportement du polymère.

Comme nous l'avons vu précédemment, le calcul du coefficient d'activité chimique par COSMO-RS est réalisé à partir de la détermination :

- du coefficient d'activité chimique résiduel qui prend en compte les interactions électrostatiques entre molécules,

- du coefficient d'activité chimique combinatoire qui prend en compte l'architecture des molécules.

La détermination du coefficient d'activité chimique résiduel résulte d'une succession d'opérations, la première étant, dans le cas du PVP, la création de la chaîne polymère. Comme expliqué précédemment, cette chaîne a été créée par l'enchaînement de 7 motifs monomères. Afin de déterminer l'influence du nombre de motifs constitutifs dans la chaîne modélisée sur le calcul d'activité chimique (et donc sur la détermination de la limite de solubilité), nous avons simulé les courbes de solubilité des principes actifs dans le PVP en créant des chaînes PVP de 3, 7 et 15 motifs monomères. La figure V-16 présente les résultats obtenus dans le cas du mélange PVP/indométacine et la figure V-17 dans le cas du mélange PVP/griséofulvine.



Figure V-16 : Concentrations d'équilibre à différentes températures obtenues numériquement pour le mélange PVP / indométacine comportant 3 (♦), 7 (●) et 15 (■) monomères. L'ajustement par le modèle de Flory-Huggins (en rouge) de l'évolution de la solubilité obtenue expérimentalement a été conservé à titre de repère.



Figure V-17 : Concentrations d'équilibre à différentes températures obtenues numériquement pour le mélange PVP / griséofulvine comportant 3 (♦), 7 (●) et 15 (■) monomères. L'ajustement par le modèle de Flory-Huggins (en rouge) de l'évolution de la solubilité obtenue expérimentalement a été conservé à titre de repère.

Il est clair, en observant ces figures, que les courbes de solubilité obtenues sont fortement modifiées par le choix du nombre de motifs constitutifs qui modélisent la chaîne polymérique. Le point frappant est que c'est la courbe de solubilité obtenue pour 15 motifs qui diverge le plus des résultats expérimentaux. En effet en augmentant la longueur des chaînes et en se rapprochant ainsi de la longueur réelle (au moins 50 motifs dans le cas du PVP K12 et 5000 motifs dans le cas du PVP K30), on aurait pu s'attendre à obtenir une meilleure détermination de la courbe de solubilité. Pourtant elle s'écarte encore plus des points expérimentaux que celle simulée à partir de l'enchaînement de seulement 3 motifs qui, lui, n'est vraiment pas réaliste.

Une explication de ce résultat pourrait être que la molécule de principe actif ne « voit » que sont environnement local, c'est-à-dire qu'elle ne fait pas la différence entre deux portions de chaînes PVP différentes et deux portions d'une même chaîne. Aussi, allonger la chaîne de PVP n'impliquerait pas une meilleure modélisation de ces interactions locales PVP/principe actif. Au contraire, comme la chaîne de PVP est flexible, plus sa longueur augmente, plus elle a tendance à se replier sur elle-même en pelote statistique. La détermination par COSMO-RS du profil  $\sigma$  du PVP (à la base du calcul des interactions locales) est alors réalisée sur cette conformation de chaîne repliée. Cependant, on peut penser que, dans le mélange PVP/principe actif réel, les molécules de principe actif peuvent s'intercaler entre les portions de chaînes et que les macromolécules de PVP adoptent une conformation plus dépliée. Cela pourrait expliquer qu'augmenter la longueur de la chaîne à 15 monomères donne une prédiction de la courbe de solubilité plus mauvaise que pour 7 monomères.

D'un autre côté, les chaînes PVP sont flexibles et peuvent présenter un grand nombre de conformations. Pour reproduire cette diversité de conformations, on génère une boîte de simulation de 30 Å<sup>3</sup> qui contient autant de chaînes que possible. Dans le cas d'un enchaînement très court (3 motifs), le nombre de chaînes dans la boîte est important mais le nombre de conformations qu'une chaîne peut adopter est restreint. On peut donc penser que multiplier le nombre de chaînes dans la boîte de simulation ne permet pas de beaucoup augmenter le nombre de conformations possibles et donc de modéliser le comportement réel des macromolécules.

Il y aurait donc un compromis à trouver entre une chaîne assez longue pour reproduire la multiplicité des conformations possibles mais pas trop longue pour que les conformations adoptées par la chaîne seule (chaînes repliées) ne soient pas trop différentes des conformations adoptées dans le mélange. Un autre point à souligner est que les contraintes stériques qui, dans l'hypothèse de la modélisation COSMO, doivent être décorrélées des interactions moléculaires, sont prises en compte dans le calcul du coefficient d'activité chimique combinatoire. Dans COSMO-RS, ce coefficient n'est pas bien défini : plusieurs modèles sont proposés et l'utilisateur est amené à choisir celui qui lui semble le plus approprié. Dans le cas des mélanges de petites molécules, qui sont en général de tailles comparables, ce coefficient a très peu d'influence et est généralement pris égal à 1. Dans le cas des mélanges polymère/principe actif, les effets stériques ne sont plus négligeables. Pour corriger ces effets stériques nous avons utilisé le modèle de Flory qui prend en compte les effets de taille au travers des rapports fraction volumique  $\Phi_{PA}$ / fraction molaire  $X_{PA}$ .

$$\ln \gamma_{Flory}^{C} = 1 - (\frac{\Phi_{PA}}{x_{PA}}) + \ln(\frac{\Phi_{PA}}{x_{PA}})$$
(V-19)

COSMO-RS propose également de calculer  $\gamma^c$  par le modèle de Staverman-Guggenheim [148] qui est une extension du modèle de Flory et qui introduit le rapport entre faction surfacique  $\Theta_{PA}$  et fraction volumique  $\Phi_{PA}$ :

$$\ln \gamma_{SG}^{C} = 1 - (\frac{\Phi_{PA}}{x_{PA}}) + \ln(\frac{\Phi_{PA}}{x_{PA}}) - \frac{z \cdot q_{PA}}{2} \left[ 1 - (\frac{\Phi_{PA}}{\Theta_{PA}}) + \ln(\frac{\Phi_{PA}}{\Theta_{PA}}) \right]$$
(V-20)

où q<sub>PA</sub> est la surface des molécules de principe actif et z est le nombre de coordination. Le nombre de coordination est généralement introduit dans les modèles où les molécules sont placées dans un réseau. Ici, comme COSMO-RS est basé sur l'interaction de segments moléculaires et qu'à aucun moment les molécules ne sont placées dans un réseau, l'introduction de ce nombre nous a semblé discutable et nous avons préféré utiliser le modèle de Flory. Cependant, de ce fait, les effets de taille sont pris en compte mais pas les effets de forme. En effet, si la macromolécule de PVP, du fait de sa flexibilité, se replie, sa forme pourra présenter des aspérités (cf. Figure V-8). En découpant la surface en surfaces élémentaires, COSMO-RS prend en compte les interactions entre des portions de ces zones et des éléments de surface du principe actif. Cependant, dans le mélange réel, ces zones ne seraient pas forcément accessibles à la molécule de principe actif du fait de sa taille. Il y a donc un effet dû aux différences de volumes des deux types de molécules mais vraisemblablement également un effet relatif à l'aspect de la surface des molécules qui peut être pris en compte avec un rapport fraction surfacique/fraction volumique. Là encore, on s'attend à ce que cet effet soit d'autant plus prononcé à mesure que la chaîne polymérique est longue. Les résultats obtenus par simulation pourraient certainement être améliorés si l'expression de la partie combinatoire du coefficient d'activité chimique été adaptée pour corriger cet effet.

### **IV** Conclusion du chapitre V

Dans ce chapitre, nous avons exploré la possibilité de déterminer par simulation numérique les diagrammes de solubilité des mélanges PVP/indométacine et PVP/griséofulvine que nous avions étudiés dans les chapitres précédents. Cette modélisation a été effectuée à l'aide d'un modèle ab-initio qui s'appuie à la fois sur la thermodynamique statistique et la chimie quantique : le modèle COSMO, qui n'est pour le moment appliqué qu'aux mélanges de petites molécules.

Le logiciel COSMO-RS permet, à partir de la répartition des charges à la surface des composés (purs), de déterminer par un traitement d'interactions de paires de segments de surface chargés, les coefficients d'activité chimique des composés dans le mélange. Le challenge était, pour appliquer ce modèle aux mélanges polymère / principe actif, de déterminer au préalable cette répartition de charges dans le cas du PVP. En effet, la densité surfacique de charges dépend de la conformation de la molécule et, dans le cas d'un polymère, du fait de la flexibilité des chaînes, le nombre de conformations possibles est important. Il fallait donc être capable, pour reproduire le comportement du PVP, de modéliser cette aptitude à prendre un grand nombre de conformations différentes. Cette difficulté a été surmontée en générant des boîtes de simulation contenant plusieurs chaînes PVP (adoptant des conformations différentes) dont l'énergie a ensuite été minimisée par dynamique moléculaire. 10 des chaînes contenues dans la boîte la plus stable obtenue ont ensuite été sélectionnées et leur densité surfacique de charges a été calculée par DFT. Le modèle COSMO-RS a été appliqué à ces 10 chaînes afin de déterminer, pour chacune, le profil de la distribution de charges.

Le profil de distribution de charges de l'indométacine et de la griséofulvine a également été calculé après avoir déterminé leur conformation d'équilibre et la densité surfacique de charges correspondante.

Pour prendre en compte les différentes conformations du PVP, une pondération du profil  $\sigma$  de chaque chaîne par le nombre de chaînes sélectionnées a été réalisée au moment du calcul par COSMO-RS du profil  $\sigma$  du mélange.

Les coefficients d'activité chimique de l'indométacine et de la griséofulvine dans le PVP obtenus par cette méthode, nous ont alors permis de calculer les coordonnées des points de la courbe de solubilité pour ces deux mélanges.

Pour étudier l'influence du nombre de motifs monomères constituant les molécules de PVP sur ce calcul de limite de solubilité, nous avons simulé les diagrammes dans le cas de chaînes PVP contenant 3, 7 et 15 motifs. La confrontation des résultats simulés et des résultats expérimentaux a montré qu'il est possible de modéliser correctement la courbe de solubilité

d'un principe actif dans un polymère mais que cela nécessite d'optimiser le nombre de motifs monomères que l'on choisit pour construire la chaîne polymérique.

Nos résultats ont montré qu'un compromis devait être trouvé pour, d'une part, modéliser le grand nombre de conformations adoptées par le polymère, et d'autre part, obtenir des conformations qui ne soient pas trop différentes dans le polymère pur des conformations adoptées en présence du principe actif. Une étude systématique de quelques systèmes connus pourrait permettre de déterminer ce nombre optimum pour chaque polymère utilisé. En constituant ainsi une base de données, COSMO-RS pourrait être utilisé efficacement pour prédire les diagrammes de solubilité de systèmes impossibles à étudier expérimentalement et cela en 5 à 8 jours, c'est-à-dire dans un intervalle de temps équivalent à la méthode expérimentale présentée dans le chapitre II.

## **Conclusion générale**

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés dans le cadre du programme de coopération inter-régional "INTERREG 4A" IDEA (Improving Drug Efficacy and Availability) et ils ont pour objectif général d'améliorer la solubilité des principes actifs (PA) pharmaceutiques peu solubles par manipulation de leur état physique.

L'objectif spécifique de la thèse est d'étudier, pour mieux la maîtriser, la stabilité physique des solutions solides amorphes PA/polymère qui présentent deux avantages majeurs vis à vis de la formulation :

(1) La dispersion moléculaire du PA permet à la fois d'augmenter sa limite de solubilité et d'accélérer sa cinétique de solubilisation dans l'eau et les fluides du corps humain. Elle améliore donc considérablement la biodisponibilité des PA peu solubles.

(2) La matrice polymère permet quant à elle de stabiliser le PA à l'état amorphe en empêchant (ou en freinant) sa recristallisation. Elle permet donc de garantir l'efficacité du médicament sur une échelle de temps compatible avec les durées de stockage habituelles.

Ce type de formulation demande une parfaite connaissance de la solubilité du PA dans le polymère. Cette propriété est en effet très importante puisqu'elle définit le maximum de PA qui peut être chargé dans le polymère sans risque de recristallisation. Cependant, les méthodes actuelles pour déterminer les courbes de solubilité sont extrêmement longues et fastidieuses à mettre en œuvre. Cette situation est principalement due à la grande viscosité des polymères qui freine la dissolution du principe actif au sein du polymère et rend les états d'équilibre saturés cinétiquement difficiles à atteindre.

Dans cette thèse, nous avons développé une méthode expérimentale originale permettant de contourner cette limitation cinétique intrinsèque. Cette méthode consiste à explorer le diagramme de solubilité par forçage mécanique, c'est-à-dire en forçant la miscibilité des deux composants par cobroyage et en étudiant ensuite leur démixtion plutôt que leur dissolution pour atteindre plus rapidement les différents états d'équilibre. Le fait que le processus de démixtion soit systématiquement plus rapide que le processus de dissolution réside dans le fait qu'un alliage sursaturé en plastifiant bénéficie d'un Tg plus bas et donc d'une mobilité moléculaire accrue. Cette nouvelle méthode a été appliquée avec succès à trois solutions solides: (i) Le mélange PVPK12 / indométacine. Ce mélange nous a permis de tester et de valider notre nouvelle méthode basée sur la démixtion d'un mélange sursaturé en PA. La validation de cette méthode a été établie en comparant la courbe de solubilité obtenue avec celle déterminée par les méthodes classiques de dissolution [48].

(ii) Le mélange PVPK30 / griséofulvine. La courbe de solubilité de ce mélange ne peut être déterminée par les méthodes classiques de dissolution. Cette impossibilité est due aux dégradations chimiques fortes engendrées par les temps très longs de recuit à haute température qui sont à la base de ces méthodes. Les temps de recuits plus courts de la nouvelle méthode par démixtion nous ont permis d'éviter cette dégradation et de déterminer la courbe de solubilité de ce mélange. Cela montre que l'efficacité de la nouvelle méthode lui confère aussi un champ d'application plus large que celui des méthodes classiques par dissolution.

(iii) Le mélange  $\beta$ -cyclodextrine méthylée / griséofulvine. Ce mélange nous a permis de montrer l'applicabilité de la méthode par démixtion à un excipient non polymérique. A cette occasion les possibilités de complexation, en solution et à l'état solide, de ces deux composés ont été discutées.

Une partie de ce travail de thèse a également consisté à explorer la possibilité de prédire les diagrammes de solubilité de mélanges polymère / principe actif par simulation numérique. Pour cela, nous avons testé un modèle qui n'est actuellement utilisé que pour des mélanges de petites molécules : COSMO-RS (COnductor like Screening Model – Real Solvation). Ce modèle permet, à partir de la densité surfacique de charges des composés purs, de déterminer les coefficients d'activité chimique des composés dans le mélange.

Nous l'avons appliqué aux mélanges PVP / indométacine et PVP / griséofulvine. La difficulté résidait dans le fait que, dans le cas du PVP, il fallait adapter ce modèle pour reproduire le grand nombre de conformations pouvant être adoptées par les chaînes polymères. La confrontation de courbes de solubilité obtenues par simulation et celles obtenues expérimentalement nous a permis de montrer que COSMO-RS est capable de modéliser correctement les diagrammes de solubilité des mélanges polymère / principe actif mais que cela nécessite d'optimiser le nombre de motifs monomères utilisés pour construire la chaîne polymère.

Par ailleurs, les investigations menées sur la griséofulvine nous ont permis de découvrir deux nouveaux polymorphes (formes II et III) issus de la recristallisation du liquide trempé et qui avaient échappé aux nombreuses études précédentes. La structure cristallographique de la forme II (orthorhombique  $P2_12_12_1$ ) a été résolue et le diagramme de
phase a pu être établi. Il indique que les formes II et III forment un ensemble énantiotrope et que chacune d'elles est intrinsèquement métastable par rapport à la forme I usuelle. Les propriétés de recristallisation des deux nouvelles formes ont été étudiées en détail. Nous avons en particulier montré que le maximum des vitesses de nucléation homogène des formes II et III est situé entre 90°C et 115°C, mais que ces vitesses peuvent être fortement modifiées par l'apparition de fissures lors de la trempe du liquide. Des traitements thermiques judicieusement choisis ont d'ailleurs permis de montrer que ces fissures favorisent le développement des noyaux cristallins mais qu'elles ne créent pas les noyaux eux-mêmes. Les mécanismes par lesquels les fissures peuvent faciliter la nucléation sans pour autant créer les noyaux restent à identifier.

### Annexes

### Annexe 1 : Modèle de Flory-Huggins

L'enthalpie libre d'un mélange d'un système constitué de  $N_A$  molécules de A et  $N_B$  molécules de B a été déterminée pour les solutions régulières dans le chapitre I,

Cette fois, on applique la même démarche mais dans le cadre de  $N_1$  molécules de solvant et  $N_2$  macromolécules de polymère toutes identiques. On reprend pour cela le modèle de réseau qui consiste à définir des volumes d'occupation pour chaque molécule. Le polymère étant constitué de plusieurs molécules, on découpe une chaine polymère en x éléments de même volume tel que :

 $x = \frac{Volume \ de \ la \ chaine \ de \ polymère}{Volume \ de \ la \ molécule \ de \ solvant}$ (A1-1)

La figure A1-1 représente le placement de chaque molécule de solvant (en blanc) et de chaque élément du polymère (en noir) dans le réseau.

0	•	•	•	0	0	0	0
0	0	0	•	0	0	0	0
0	0	0	•	0	0	0	0
0	0	0	•	•	•	0	0
0	0	0	0	0	•	0	0
0	0	0	•	•	•	0	0

• Segment de chaine polymère • Solvant

Figure A1-1 : Réseau à 2 dimensions représentant une molécule de polymère en solution.

Le réseau comporte N emplacements de volume v qui sont toutes occupées tel que :

$$N = N_1 + xN_2 \tag{A1-2}$$

Soit z le nombre de coordination d'un site, c'est à dire ici le nombre de sites voisins proches où le second segment de polymère est susceptible de venir se placer. Toutefois, tous les sites ne sont pas libres et peuvent être occupés par la première molécule de polymère. On se place ici dans les conditions suivantes :

- On se place ici dans le cadre des solutions régulières, c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'interactions spécifiques entre le solvant et le polymère

- Les molécules sont ici apolaires ce qui conduit à une absence de variation de volume au moment de la mise en solution

- Le mélange est aléatoire et les interactions sont limitées à courte distance.

#### \* Entropie de mélange

L'entropie de mélange  $\Delta S_{mél}$  est défini par la différence entre l'entropie de la solution  $S_{sol}$  et l'entropie du solvant  $S_1$  et du polymère  $S_2$  seuls avant le mélange :

$$\Delta S_{m\ell l} = S_{sol} - S_1 - S_2 \tag{A1-3}$$

Et

$$\Delta S_{sol} = k \ln \Omega \tag{A1-4}$$

 $\Omega$  correspond au nombre d'arrangement des N2 macromolécules dans la solution, les macromolécules étant indiscernables :

$$\Omega = \frac{1}{N_2!} \prod_{i=1}^{N_2} \Omega_i \tag{A1-5}$$

Où  $\Omega_i$  correspond au nombre de façon de disposer la i<sup>ème</sup> chaine polymère.

Pour la 1<sup>ère</sup> chaine, il y a :

- N possibilités de placer le 1<sup>er</sup> élément
- Zp<sub>1</sub> possibilités pour placer le 2<sup>ème</sup> élément, p<sub>1</sub> étant la probabilité que la place ne soit pas occupée.
- $(z-1)p_2$  possibilités pour placer le 3<sup>ème</sup> élément,  $p_2$  étant la probabilité que la place ne soit pas occupée.
- .....
- $(z-1)p_{x-1}$  possibilités pour placer le x<sup>ième</sup> élément,  $p_{x-1}$  étant la probabilité que la place ne soit pas occupée.

Le nombre d'arrangements de la macromolécule de polymère n°1 dans la solution est donc défini par l'équation suivante :

$$\Omega_1 = N(z-1)^{x-1} p_1 p_2 p_3 \cdots p_{x-1}$$
(A1-6)

où

$$p_1 = \frac{N-1}{N}$$
;  $p_2 = \frac{N-2}{N}$ ;  $p_{x-1} = \frac{N-x-1}{N}$  (A1-7)

On peut en déduire pour la 1ère chaine :

$$\Omega_1 = \left(\frac{z-1}{N}\right)^{x-1} \frac{N!}{(n-x)!}$$
(A1-8)

Pour la  $2^{em}$  chaine polymère, le nombre d'arrangements possibles  $\Omega_2$  est donné par :

$$\Omega_2 = (N - x) z p_{x+1} (z - 1) p_{x+2} \dots (z - 1) p_{2x-1}$$
(A1-9)

Où  $p_{x+1} = \frac{N-x-1}{N}$ ... et z est assimilable à z-1 car le nombre d'éléments x est grand.

On peut en déduire que :

$$\Omega_2 = \left(\frac{z-1}{N}\right)^{x-1} \frac{(N-x)!}{(n-2x)!}$$
(A1-10)

Pour la  $3^{eme}$  chaine polymère, le nombre d'arrangements possibles  $\Omega_3$  est donc donné par :

$$\Omega_3 = \left(\frac{z-1}{N}\right)^{x-1} \frac{(N-2x)!}{(n-3x)!}$$
(A1-11)

D'où le nombre d'arrangement possibles  $\Omega$  pour l'ensemble des chaines polymères et donné par :

$$\Omega = \frac{1}{N_2!} \Omega_1 \Omega_{2\dots} = \left(\frac{Z-1}{N}\right)^{N_2(x-1)} \frac{N!}{N_2! (N-xN_2)!} = \left(\frac{Z-1}{N}\right)^{N_2(x-1)} \frac{N!}{N_1! N_2!}$$
(A2-12)

En utilisant l'approximation de Stirling, on définit alors l'entropie du polymère en solution:

$$S_{sol} = k.\ln\Omega \tag{A1-13}$$

$$=k[(N_1+N_2)\ln(N_1+xN_2)-N_1\ln N_1-N_2\ln N_2+N_2(x-1)\ln(z-1)-(x-1)N_2] \quad (A1-14)$$

- si N2 = 0 alors  $S_1 = k (N_1 \ln N_1 - N_1 \ln N_1) = 0$  (solvant pur)

- si N1 = 0 alors 
$$S_2 = k [N_2 \ln(xN_2) - N_2 \ln N_2 + N_2 (x-1)\ln(z-1) - (x-1)N_2]$$

On peut alors en déduire l'expression de l'entropie de mélange  $\Delta S_{mél}$  :

$$\Delta S_{m\acute{e}l} = S_{sol} - S_1 - S_2 = k [(N_1 + N_2) \ln(N_1 + xN_2) - N_1 \ln N_1 - N_2 \ln xN_2]$$
(A1-15)

$$= -k \left[ N_1 \ln \frac{N_1}{N_1 + xN_2} + N_2 \ln \frac{N_2}{N_1 + xN_2} \right]$$
(A1-16)

$$= -R(n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2)$$
 (A1-17)

où  $\phi_1$  et  $\phi_2$  sont les fractions volumiques du solvant et du polymère et  $n_1$  et  $n_2$  leur nombre de moles respectifs.

#### \* Enthalpie de mélange

Quand un polymère est plongé dans un solvant, un changement d'enthalpie intervient car les interactions polymère-polymère et solvant-solvant sont remplacées par des interactions polymère-solvant. En reprenant le modèle par réseau, ces interactions peuvent être représentées par le type et le nombre de voisins d'une molécule.

Il peut donc intervenir trois types d'interactions :

- Une interaction entre une molécule de solvant et une autre [1,1]
- Une interaction entre une molécule de polymère et une autre [2,2]
- Une interaction entre une molécule de solvant et une molécule de polymère [1,2]

Pour créer une interaction polymère-solvant, une molécule de polymère doit casser son interaction avec une autre molécule de polymère et de la même façon, une molécule de solvant doit casser son interaction avec une autre molécule de solvant :

$$\frac{1}{2}[1,1] + \frac{1}{2}[2,2] \rightarrow [1,2]$$
 (A1-18)

La variation d'énergie associée à la formation de ce nouveau contact polymère-solvant  $\Delta \varepsilon_{12}$  est donné par :

$$\Delta \varepsilon_{1,2} = \varepsilon_{1,2} - \frac{1}{2} \left( \varepsilon_{11} + \varepsilon_{22} \right) \tag{A1-19}$$

Si on définit maintenant sur l'ensemble du réseau le nombre moyen de contacts entre le polymère et le solvant par  $P_{1,2}$ , on peut alors en déduire l'enthalpie de mélange du système :

$$\Delta H_{mix} = \Delta \mathcal{E}_{1,2} P_{1,2} \tag{A1-20}$$

La fraction des sites du réseau occupés par le solvant, étant aussi voisins d'un segment polymérique, est donnée approximativement par la fraction volumique du solvant  $\phi_1$ . Le nombre total des différents contacts de l'ensemble x-2 des segments de chaine "internes" au polymère (on ne prend pas en compte les segments en bout de chaine) est égal à Z-2 tandis que les deux segments restants en bout de chaine ont un nombre de contacts égal à Z-1. Le nombre total de contact entre la chaine polymère et le solvant est donc :

$$P_{1,2} = [(x-2)(Z-2) + 2(Z-1)]\phi_1$$
 (A1-21)

Pour de grandes valeurs de  $Z, P_{1,2} \approx Zx\phi_1$  et l'enthalpie de mélange de  $N_2$  molécules de polymère avec  $N_1$  molécules de solvant est donné par :

$$\Delta H_{m\acute{e}l} = Z x \phi_1 \Delta \varepsilon_{1,2} N_2 \tag{A1-22}$$

La définition des fractions volumiques  $\phi_1$  et  $\phi_2$  permettent de montrer que  $xN_2\phi_1 = N_1\phi_2$ . En reprenant une base molaire, l'enthalpie de mélange devient :

$$\Delta H_{m\acute{e}l} = Z\Delta \varepsilon_{1,2} n_1 \phi_2 N_A = Z\Delta w_{1,2} n_1 \phi_2 \tag{A1-23}$$

où  $\Delta w_{1,2} = \Delta \varepsilon_{1,2} N_A$ . Il est plus pratique de décrire l'énergie d'interaction par mole de solvant  $Z\Delta w_{1,2}$  en termes d'un coefficient d'interaction sans dimension multiplié par RT. On définit donc  $Z\Delta w_{1,2} = \chi RT$  et l'enthalpie de mélange devient alors :

$$\Delta H_{m\acute{e}l} = RT\chi \, n_1 \phi_2 \tag{A1-24}$$

#### \* Enthalpie libre de mélange

La variation d'énergie libre de Gibbs pour un mélange polymère-solvant est obtenue par l'expression thermodynamique classique suivante :

$$\Delta G_{m\acute{e}l} = \Delta H_{m\acute{e}l} - T\Delta S_{m\acute{e}l} \tag{A1-25}$$

La substitution directe de  $\Delta H$  et de  $\Delta S$  par les expressions démontrées précédemment conduit à l'équation suivante :

$$\Delta G_{m\acute{e}l} = RT \left[ \chi \ n_1 \phi_2 + n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 \right]$$
(A1-26)

La dérivée partielle de  $\Delta G_{mél}$  (A2-26) en fonction de n<sub>1</sub> à T et P constantes conduit à :

$$\mu_{1} - \mu_{1}^{o} = \operatorname{RT}\left[\chi \ \phi_{2} + \chi \ n_{1}\left(\frac{\partial \phi_{2}}{\partial n_{1}}\right)_{n_{2}} + \ln \phi_{1} + n_{1}\left(\frac{\partial \ln \phi_{1}}{\partial n_{1}}\right)_{n_{2}} + n_{2}\left(\frac{\partial \ln \phi_{2}}{\partial n_{1}}\right)_{n_{2}}\right] \quad (A1-27)$$

En utilisant la transformation mathématique  $\left(\frac{\partial \ln \phi}{\partial \phi_1}\right)_{n_2} = \frac{1}{\phi_1}$ , on obtient :

$$\mu_{1} - \mu_{1}^{o} = \operatorname{RT}\left[\chi \ \phi_{2} + \chi \ n_{1}\left(\frac{\partial \phi_{2}}{\partial n_{1}}\right)_{n_{2}} + \ln \phi_{1} + \frac{n_{1}}{\phi_{1}}\left(\frac{\partial \phi_{1}}{\partial n_{1}}\right)_{n_{2}} + \frac{n_{2}}{\phi_{2}}\left(\frac{\partial \phi_{2}}{\partial n_{1}}\right)_{n_{2}}\right]$$
(A1-28)

Les fractions volumiques  $\phi_1$  et  $\phi_2$  peuvent être définies en termes de nombre de moles et de ratio volumique molaire  $x = \frac{\overline{V}_2}{\overline{V}_1}$ :

$$\phi_1 = \frac{n_1}{n_1 + xn_2}$$
 et  $\phi_2 = \frac{n_2}{n_1 + xn_2}$  (A1-29)

Si on dérive  $\left(\frac{\partial \phi_1}{\partial n_1}\right)_{n_2}$  et  $\left(\frac{\partial \phi_2}{\partial n_1}\right)_{n_2}$  que l'on reporte dans l'équation (A1-28), on obtient :  $\mu_1 - \mu_1^o = \operatorname{RT}\left[\ln(1-\phi_2) + \left(1-\frac{1}{x}\right)\phi_2 + \chi \phi_2^2\right]$ (A1-30)

On peut donc en conclure que l'activité d'un solvant mélangé avec un polymère est définie par l'équation suivante :

$$lna_{1} = \left[ ln(1 - \phi_{2}) + \left(1 - \frac{1}{x}\right)\phi_{2} + \chi \phi_{2}^{2} \right]$$
(A1-31)

## Annexe 2 : Techniques expérimentales

#### A2.A Le broyage

Les opérations de broyage réalisées au cours de cette thèse ont été effectuées à l'aide d'un broyeur planétaire de marque Fritsh (Pulvérisette 7) représenté dans son ensemble sur la figure A2-1a. Ce broyeur est constitué d'un disque porteur, aussi appelé « disque solaire » sur lequel peuvent être fixées deux jarres de broyage d'un volume interne de 45mL chacune et contenant 7 billes de broyage de 15mm de diamètre. Les jarres et les billes de broyage sont en oxyde de zirconium, matériaux très résistant aux chocs et à l'usure permettant des broyages de longues durées sans contaminer les échantillons. Il est possible, avant broyage, de faire circuler dans les jarres un flux d'azote gazeux à l'aide d'un dispositif représenté sur la figure A2-1b ce qui permet de réaliser des broyages en atmosphère contrôlée (absence d'humidité).





Figure A2-1 : a) Broyeur planétaire « pulvérisette 7 »
b) Schéma d'une jarre de broyage surmontée d'un système hermétique pouvant laisser circuler avant le broyage un flux d'azote gazeux.

Le disque porteur ainsi que les jarres sont animés d'un mouvement de rotation autour de leur axe propre. La vitesse de rotation peut être fixée entre 100 tr/min et 800 tr/min par pas de 10 tr/min, identique pour le disque et les jarres. Cependant, les sens de rotation sont opposés de façon à générer des forces centrifuges antagonistes sur les poudres placées au sein des jarres. Le broyage effectif est assuré par le choc des billes entre elles (et donc de la poudre présente entre chacune d'elles) mais également par la friction des billes sur les parois de la jarre (Figure A2-2) :



Figure A2-2 : Illustration du mouvement relatif des jarres et des billes au cours du broyage

Afin d'éviter tout phénomène d'échauffement de la poudre au cours du broyage, des périodes de broyage et de pause sont alternées, typiquement 20 min de broyage et 10 minutes de pause. A l'heure actuelle, il n'existe pas de broyeur présentant un contrôle strict de la température des jarres au cours du broyage. Il est cependant possible de broyer à plus basse température que l'ambiante en plaçant directement le broyeur à l'intérieur d'une chambre froide dénuée d'humidité (T=-8°C, 0 RH).

#### A2.B L'analyse thermogravimétrie (ATG)

L'analyse thermogravimétrique (ATG) (figure A2-3) permet de mesurer la perte de masse d'un échantillon dû à une perte de solvant ou à sa dégradation thermique lors d'une rampe en température. L'échantillon d'une dizaine de milligrammes est disposé dans un creuset en platine thermostaté suspendu à une microbalance. L'échantillon et la microbalance sont balayés respectivement par un gaz inerte et un gaz de réaction.



Figure A2-3 : Schéma représentant les éléments constituant un appareil d'analyse thermogravimétrique.

L'appareil utilisé ici est une TGA 7 de Perkin Elmer. Il permet de mesurer des pertes de masse de la température ambiante à 900°C avec une précision de l'ordre du dixième de microgramme. Le gaz inerte et de réaction utilisés sont respectivement l'azote et l'air. La calibration en température de l'appareil se fait en mesurant les points de Curie de l'alumel et du nickel fournis par le constructeur.

#### A2.C L'analyse enthalpique différentielle à balayage (DSC)

L'analyse enthalpique différentielle à balayage (DSC) est une méthode d'analyse calorimétrique basée sur la mesure de la différence de flux de chaleur entre un échantillon et une référence, ce qui permet d'étudier les propriétés thermodynamiques des matériaux comme la cristallisation, la fusion ou la transition vitreuse. L'appareil utilisé est une DSC Q1000 de chez TA Instruments équipé d'un compresseur réfrigérant (Refrigerated Cooling System ou RCS) permettant de contrôler la température entre -90°C et 550°C. Cette DSC fonctionne suivant le principe de l'analyseur thermique différentiel où l'échantillon et la référence sont placés dans le même four. Une représentation de l'intérieur du four de cet appareil est présentée sur la figure A2-4. On y retrouve les plateformes sur lesquels reposent l'échantillon à analyser et la référence.



Figure A2-4 : Photographie de l'intérieur d'un four de DSC accompagnée de son schéma technique.

L'échantillon d'une masse de 3 à 6 mg est placé dans un creuset en aluminium généralement sans couvercle afin de faciliter l'évacuation de l'eau dans le cas de composés ne se sublimant pas au cours du chauffage. Dans le cas d'un composé se sublimant, le creuset est surmonté d'un couvercle enfermant hermétiquement le matériau (figure A2-5). Tout au long de l'expérience, le four est balayé par un flux continu d'azote gazeux (50 ml/min) ce qui permet de travailler en atmosphère inerte et d'améliorer les échanges thermiques.



Figure A2-5 : Schéma représentant l'encapsulation d'un échantillon

Chaque série de mesures est précédée d'une calibration de l'appareil pour une vitesse de chauffe définie, généralement 5°C/min. Une ligne de base en four vide est tout d'abord enregistrée suivi d'un enregistrement de la réponse calorimétrique d'échantillons étalons dont les caractéristiques sont parfaitement connues : des sapphires pour l'étalonnage de la capacité calorifique et un échantillon d'indium pour l'étalonnage de la température et de l'enthalpie de fusion.

Une modulation de température peut être appliquée au cours d'une rampe en température afin de séparer les flux de chaleurs correspondant aux événements réversibles (saut de chaleur spécifique) des événements irréversibles (perte d'eau, cristallisation). Cette option est utile pour déconvoluer le signal enregistré quand plusieurs événements se chevauchent. Cette modulation consiste à ajouter une pulsation sinusoïdale à la rampe thermique linéaire. Dans cette thèse, les expériences de DSC modulées ont été

systématiquement réalisées avant une vitesse moyenne de chauffe de 5°C/min, une amplitude de modulation de 0.663°C et une période de modulation de 50 secondes.

Dans le cas d'un matériau amorphe, un saut de chaleur spécifique, correspondant à la transition vitreuse du matériau, est généralement identifiable par DSC. Cet événement peut s'étaler sur plusieurs degrés : il existe différentes manières de définir la température de transition vitreuse qui sont reportées sur la figure A2-6 :



#### Figure A2-6 : Schéma représentant les différentes manières de mesurer la température de transition vitreuse d'un matériau (extrait de la notice d'utilisation TA Instruments)

Dans cette thèse, toutes les températures de transition vitreuse ont été mesurées au « midpoint » du saut de chaleur spécifique.

#### A2.D La diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X d'un composé cristallin permet la mise en évidence de sa signature cristallographique. Cette signature, encore appelée phase cristalline est unique pour chaque composé et rend compte de l'ordre des molécules les unes par rapport aux autres. L'émission d'un rayon incident de longueur d'onde  $\lambda$  faisant un angle  $\theta_{hkl}$  par rapport à la surface de l'échantillon permet de relier l'arrangement moléculaire à un réseau d'atomes formant des plans parallèles (hkl) équidistants de distance d<sub>hkl</sub> satisfaisant à la loi de Bragg pour un ordre de diffraction égale à 1 :

$$2d_{hkl}\sin\theta_{hkl} = \lambda$$
 (A2-1)

La réflexion de ses rayons sur les plans HKL (figure A2-7), enregistrés grâce à un détecteur, permet de déterminer la structure d'un cristal par l'analyse des pics de diffraction présents, via des interférences constructives, ou absentes, via des interférences destructives.



Figure A2-7 : Schéma illustrant la loi de Bragg

Les diffractogrammes présentés dans cette thèse ont été enregistrées sur deux diffractomètres différents :

- Un diffractomètre Panalytical Xpert Pro muni d'un détecteur Xcelerator. Son rayonnement X est généré par une anticathode de cuivre comportant deux longueurs d'onde  $\lambda_1 = 1.5405$  Å et  $\lambda_2 = 1.544$  Å. Ce diffractomètre peut être équipé d'un four Huber qui permet de suivre les évolutions structurales en fonction de la température.

Un diffractomètre INEL qui est indiqué pour l'enregistrement de profils de raies en vue d'une résolution structurale complète. Cet appareil est équipé d'un monochromateur en quartz permettant de s'affranchir de la longueur d'onde  $K_{\alpha 2}$  du cuivre ( $\lambda_2$ =1.5440 Å) et de ne conserver que K $\alpha_1$  ( $\lambda$  = 1.5405 Å). De plus, ce diffractomètre comporte un détecteur courbe qui permet d'enregistrer le diffractogramme sur un domaine angulaire de 120° (CPS 120).

Ces deux diffractomètres sont de type Debye-Scherrer en transmission (figure A2-8) :



#### Figure A2-8 : Schéma représentatif d'un montage de diffraction de type Debye-Scherrer en transmission

L'échantillon est placé dans un capillaire en verre de Lindemann de 0.7 mm de diamètre animé d'un mouvement de rotation uniaxial afin de limiter les éventuels effets d'orientations préférentielles des cristallites. Les diffractomètres sont étalonnés avant chaque expérience par l'enregistrement du diagramme de diffraction d'un échantillon standard de Na<sub>2</sub>Ca, Al<sub>2</sub>F<sub>14</sub> (NAC) caractérisé par des raies de diffraction fines et isolées sur le domaine angulaire 12-102° en échelle 20.

# A2.E La spectroscopie par résonnance magnétique nucléaire RMN <sup>1</sup>H

La spectroscopie par Résonnance Magnétique Nucléaire <sup>1</sup>H permet d'établir une carte d'identité d'un composé à l'état liquide et des interactions que peuvent subir les molécules après mélange. La spectroscopie RMN enregistre le temps de relaxation des atomes d'hydrogène perturbés par la réception d'un pulse électromagnétique. La figure A2-9 illustre le principe globale de fonctionnement de la RMN.



Figure A2-9 : Schéma représentatif du fonctionnement de la spectroscopie RMN.

Les molécules sont placées dans un champ magnétique de grande puissance représenté ici par le vecteur  $B_0$  suivant lequel l'ensemble des vecteurs aimantations des atomes d'hydrogènes de la molécule tendent à s'aligner. Un pulse radiofréquence  $B_1$  est ensuite appliqué au système dans le but de faire basculer le vecteur aimantation dans le plan perpendiculaire de  $B_0$ . Ce pulse est absorbé par les atomes d'hydrogènes qui entrent en résonnance et retournent progressivement à leur état initial le long de  $B_0$  suivant un mouvement de précession. Ce retour à l'équilibre s'accompagne d'une émission radiofréquence qui est enregistrée en sortie du spectromètre.

Les spectres RMN présentés dans cette thèse ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER AVANCE 300MHz suivant une procédure standard où 10mg d'échantillon sont dissouts dans 0.75ml de chloroforme deutéré (CDCl<sub>3</sub>), l'ensemble de cette solution est ensuite placée dans un tube adapté de 5mm de diamètre. Le tube est ensuite introduit dans la machine où 16 enregistrements consécutifs sont effectués.

#### A2.F La spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-visible permet de mesurer l'intensité lumineuse résultant de l'excitation de molécules en solution par une onde incidente de longueur d'onde incluse dans le domaine UV-Visible (350nm à 800nm). Une représentation schématique du dispositif est présentée en figure A2-10 :



#### Figure A2-10 : Schéma représentatif du fonctionnement de la spectroscopie UV-visible.

Une lampe à filament de tungstène génère les rayons lumineux incidents ensuite dirigés vers un monochromateur permettant de balayer la gamme de longueurs d'onde choisie. L'onde monochromatique est ensuite dirigée vers deux cuves en quartz :

- Une cuve échantillon contenant le solvant et la molécule à analyser
- Une cuve de référence contenant uniquement le solvant

Le spectre de l'échantillon est mesuré par la différence d'intensité lumineuse entre l'onde ayant traversée la cuve de référence et l'onde ayant traversée la cuve contenant l'échantillon.

Le spectromètre utilisé ici est de marque THERMO Nicolet Evolution 300 utilisé avec des cuves de 3cm<sup>3</sup> (1cm x 1cm x 3cm).

### Annexe 3 : Facteurs de reliabilité pour la résolution structurale

Pour rendre compte de la progression et de la qualité de l'affinement, différents facteurs de reliabilité [149, 150] sont disponibles dans les programmes de résolution de structures cristallines. Ils rendent compte de l'accord entre le diagramme de diffraction observé et le même diagramme calculé. Dans l'ordre d'une résolution structurale sur poudre classique, on trouve :

- les « figures de mérite » qui dépendent des positions des maximums d'intensité des raies qui rendent compte de la validité proposée par les programmes d'indexation pour la détermination de la maille.
- les « facteurs d'accord » qui dépendent de l'intensité en chaque point et sont révélateurs de l'écart entre le diagramme de diffraction enregistré et le même diagramme calculé.

Les **figures de mérite** sont des critères de qualités permettant d'estimer la validité des solutions proposées par les programmes d'indexation de raie tels que TREOR ou DICVOL. Les deux plus communes sont :

• La figure de mérite de De Wolff [151] sensible à l'exactitude de l'indexation du diagramme de poudre et qui a pour expression :

$$M_N = \frac{Q_N}{2\overline{\varepsilon}N_N} \tag{A3-1}$$

$$Q = \frac{2\sin\theta}{\lambda} = \frac{1}{d}$$
(A3-2)

avec

Où  $Q_N$  est la valeur de Q (intensité de la réflexion) du N<sup>ième</sup> pic observé.  $N_N$  est le nombre de réflexions indépendantes possibles jusqu'à la N<sup>ième</sup> réflexion observée et  $\overline{\varepsilon}$  est la valeur absolue de l'écart moyen entre Q calculé et Q observé.

• La figure de mérite de Smith & al [152] qui est appropriée pour évaluer la qualité des données expérimentales quand l'indexation est considérée correcte. :

$$F_N = \frac{1}{\left|\Delta 2\vartheta\right|} \cdot \frac{N}{N_{poss}} \tag{A3-3}$$

Où  $|\Delta 2\mathcal{G}|$  est la valeur absolue de l'écart moyen entre les valeurs observées et calculées de 2 $\theta$  et N<sub>poss</sub> est le nombre de raies indépendantes possibles jusqu'à la N<sup>ième</sup> observée.

En général, on considère que pour  $M_{20} > 10$ , la solution est possible et si  $M_{20}$  et  $F_{20} > 20$ , la solution est très probable.

Les **facteurs d'accord** utilisés dans les programmes de résolution de structure tels que FULLPROF ou JANA, sont révélateurs de l'écart entre le diagramme expérimental et calculé. Les deux principaux sont le facteur de profil  $R_p$  et le facteur de profil pondéré  $R_{WP}$  [153] dont les expressions sont les suivantes :

$$R_P = \frac{\sum_{i} |y_{oi} - y_{ci}|}{\sum_{i} y_{oi}}$$
(A3-4)

$$R_{WP} = \sqrt{\frac{\sum_{i} w_{i} (y_{oi} - y_{ci})^{2}}{\sum_{i} w_{i} y_{oi}^{2}}}$$
(A3-5)

Où y<sub>oi</sub> est l'intensité brute observée, y<sub>bi</sub> l'intensité du fond continu évalué graphiquement par interpolation linéaire et  $w_i = \frac{1}{y_{oi}}$  une fonction de poids. Les facteurs d'accord R<sub>P</sub> et R<sub>WP</sub> ont été introduits par Rietveld [154] mais peuvent exister sous d'autres formulations. Il en va de même pour la fonction de poids w<sub>i</sub> qui peut être prise sous différentes formulation tant que les données sont de bonne qualité [155].

## Annexe 4 : Données cristallographiques supplémentaires

Atome	X/a	Y/b	Z/c	Atome	X/a	Y/b	Z/c
ClA	0.6387 (6)	0.0570(7)	0.7108(3)	ClB	0.6093(6)	0.7917(7)	0.2719(3)
C2A	0.3868(10)	0.2872(10)	0.6340(5)	C2B	0.379(1)	1.0092(10)	0.3733(5)
C3A	0.2986(10)	0.2068(11)	0.6067(5)	C3B	0.3212(10)	0.9215(10)	0.4084(5)
C4A	0.336(1)	-0.0148(11)	0.5977(4)	C4B	0.3419(9)	0.7021(11)	0.4032(4)
C5A	0.4093(10)	-0.0987(13)	0.6143(4)	C5B	0.400(1)	0.6213(13)	0.3744(5)
C6A	0.4987(10)	-0.0754(10)	0.6479(4)	C6B	0.4809(9)	0.6504(11)	0.3347(4)
C7A	0.5224(8)	0.0309(11)	0.6675(3)	C7B	0.5082(7)	0.7600(11)	0.3216(3)
C8A	0.4473(9)	0.1126(11)	0.6501(4)	C8B	0.4503(9)	0.8391(11)	0.3502(4)
C9A	0.3538(10)	0.0971(11)	0.6158(4)	C9B	0.370(1)	0.8157(10)	0.3897(4)
C10A	0.2692(14)	0.2757(15)	0.7127(8)	C10B	0.5200(16)	1.0153(18)	0.4475(7)
C11A	0.5454(19)	0.3439(17)	0.5125(7)	C11B	0.1743(15)	1.0586(16)	0.2624(8)
C12A	0.2019(17)	-0.1456(14)	0.5620(9)	C12B	0.2436(19)	0.5745(13)	0.4656(7)
C13A	0.5367(19)	-0.2661(12)	0.6627(9)	C13B	0.558(2)	0.4611(12)	0.3216(8)
C2'A	0.4514(11)	0.3496(11)	0.5920(5)	C2'B	0.3013(11)	1.0774(12)	0.3386(5)
C3'A	0.4193(12)	0.4631(12)	0.5768(6)	С3'В	0.2674(13)	1.1903(13)	0.3488(6)
C4'A	0.3386(13)	0.5187(12)	0.6148(6)	C4'B	0.3076(12)	1.2233(11)	0.4022(6)
C5'A	0.2773(13)	0.4579(12)	0.6603(6)	С5'В	0.3860(13)	1.1655(12)	0.4404(6)
C6'A	0.3366(12)	0.3590(11)	0.6785(5)	C6'B	0.4492(12)	1.0840(11)	0.4091(5)
O1A	0.4709(11)	0.2214(11)	0.6592(5)	O1B	0.4472(11)	0.9483(11)	0.3361(5)
O2A	0.2463(10)	-0.0353(12)	0.5643(4)	O2B	0.2615(10)	0.6818(12)	0.4427(5)
O3A	0.2169(11)	0.2298(12)	0.5788(5)	O3B	0.2478(12)	0.9366(12)	0.4408(5)
O4A	0.5703(11)	-0.1522(11)	0.6646(5)	O4B	0.5398(10)	0.5760(11)	0.3054(5)
O5A	0.3109(13)	0.6152(13)	0.5999(7)	O5B	0.2751(12)	1.3124(12)	0.4156(6)
O6A	0.5303(12)	0.2909(12)	0.5662(6)	O6B	0.2687(12)	1.0214(11)	0.2957(6)

Tableau A4-1 : Positions atomiques de la forme II de la griséofulvine après affinement de Rietveld

### Annexe 5 : Détermination des constantes de complexation par spectrophotométrie
La mise en commun de deux espèces chimiques A et B implique parfois un phénomène de complexation A-B, c'est-à-dire que l'une des espèces chimiques, par exemple A, est entourée de molécules de B qui se comportent alors comme une cage. Les molécules A et B sont maintenues ensemble par des liaisons non covalentes de type ioniques ou de van der Waals. Il se créé alors un équilibre entre les molécules des produits purs et le complexe. L'association des molécules peut alors être traitée comme une réaction chimique classique ce qui permet de définir la constante de réaction K, appelée ici constante de complexation à partir des concentrations des molécules [A] et [B] ainsi que du complexe [AB] (A5-1) :

$$[A] + [B] \xrightarrow{K} [A--B]$$
$$K = \frac{[AB]}{[A][B]}$$
(A5-1)

Dans cette thèse, les molécules impliquées dans la complexation chimique sont la griséofulvine et la  $\beta$ -Cyclodextrine que nous noterons respectivement A et B. La concentration totale regroupant les molécules complexées et non complexées sera noté [A]<sub>0</sub> pour la griséofulvine et [B]<sub>0</sub> pour la  $\beta$ -Cyclodextrine (A5-2 et A5-3) :

$$\left[\mathsf{A}\right]_{0} = \left[\mathsf{A}\right] + \left[\mathsf{A}\mathsf{B}\right] \tag{A5-2}$$

$$\left[\mathsf{B}\right]_0 = \left[\mathsf{B}\right] + \left[\mathsf{A}\mathsf{B}\right] \tag{A5-3}$$

En remplaçant les expressions de [A] (A5-2) et [B] (A5-3) dans l'équation (A5-1), on obtient alors :

$$\mathsf{K} = \frac{[\mathsf{A}\mathsf{B}]}{([\mathsf{A}]_0 - [\mathsf{A}\mathsf{B}])([\mathsf{B}]_0 - [\mathsf{A}\mathsf{B}])}$$
(A5-4)

La mesure de la concentration de molécules formant un complexe sans intrusion directe dans le système se fait par spectrophotométrie en appliquant la loi de Beer-Lambert qui relie l'absorbance lumineuse (Abs) du complexe à sa concentration [AB] :

$$Abs = \varepsilon.I.[AB]$$
(A5-5)

Où  $\varepsilon$  représente le coefficient d'absorption molaire et l la distance optique que doit parcourir le rayon lumineux au travers de l'échantillon (typiquement égal à 1).

Afin d'obtenir une expression de l'absorbance en fonction de la constante de complexation K, il est nécessaire de définir le terme représentant la concentration du complexe [AB] à partir de l'expression (A5-4). D'un point de vue mathématique, le développement du dénominateur conduit à quelque chose de relativement compliqué à traiter. Des simplifications ont pu être apportées à l'aide d'investigations expérimentales dont la plus connue est celle de Benesi-Hildebrandt [156]. Si la concentration en B est très supérieure à celle de A, alors :

$$\left[\mathsf{B}\right]_0 - \left[\mathsf{A}\mathsf{B}\right] \cong \left[\mathsf{B}\right]_0 \tag{A5-6}$$

et

$$\mathsf{K} = \frac{[\mathsf{A}\mathsf{B}]}{([\mathsf{A}]_0 - [\mathsf{A}\mathsf{B}])[\mathsf{B}]_0}$$
(A5-7)

Ou

$$\left[\mathsf{AB}\right] = \frac{\mathsf{K}\left[\mathsf{A}\right]_{0}\left[\mathsf{B}\right]_{0}}{1+\mathsf{K}} \tag{A5-8}$$

En remplaçant l'expression (A5-8) dans l'équation (A5-5) et en supposant que le l = 1, on obtient :

$$\mathsf{Abs} = \varepsilon. \left( \frac{\mathsf{K}[\mathsf{A}]_0[\mathsf{B}]_0}{1 + \mathsf{K}} \right)$$
(A5-9)

Et

$$\frac{\left[\mathsf{A}\right]_{0}}{\mathsf{Abs}} = \left(\frac{1}{\left[\mathsf{B}\right]_{0}}\right)\left(\frac{1}{\varepsilon.\mathsf{K}}\right) + \frac{1}{\varepsilon}$$
(A5-10)

En mesurant l'absorbance en fonction de la variation de la concentration de B tout en conservant A constante, on trace une droite d'ordonnée à l'origine  $\frac{1}{\varepsilon}$  et de pente  $\frac{1}{\varepsilon K}$ . La constante de complexation K peut alors être facilement déterminée.

L'équation de Benesi-Hildebrandt est une expression parmi d'autres pour déterminer la constante de complexation d'un mélange de A et de B. On peut citer d'autres exemples comme les expressions de Scatchard [157], Scott [158], Ketelaar [159], Liptay [160], Foster [161] ou encore Nagakura [162]. Annexe 6 : Modèle de calcul des interactions de paires

## A6.A Modèle d'interaction de surfaces de paires moléculaires

Si l'on considère une molécule A ayant i surfaces élémentaires de charges différentes, le nombre total de surfaces  $n_i$  de la molécule A est donné par :

$$n_A = \sum_i n_A^i = \frac{q_A}{a_{eff}} \tag{A6-1}$$

où  $a_{eff}$  est un paramètre ajustable qui correspond à la taille d'une surface élémentaire chargée. Le nombre total de segments élémentaires n issus du nombre de molécules  $N_A$  et de molécules  $N_B$  est défini par :

$$n = N_A n_A + N_B n_B \tag{A6-2}$$

Et le nombre total de segments de type i est donné par :

$$\boldsymbol{n}^{i} = N_{A}\boldsymbol{n}_{A}^{i} + N_{B}\boldsymbol{n}_{B}^{i} \tag{A6-3}$$

On définit alors le nombre de segments relatifs de type i par :

$$\Theta^{i} = \frac{n^{i}}{n} \tag{A6-4}$$

Nous avons vu dans le chapitre I que les expressions de l'enthalpie libre de Gibbs (équation A6-5) et du potentiel chimique  $\mu$  de l'espèce A mélangée avec l'espèce B (équation A6-6) :

$$G = -kT\ln Z \tag{A6-5}$$

$$\mu_{A} = \left(\frac{\partial G}{\partial N_{A}}\right)_{T,P,N_{B}} \tag{A6-6}$$

Si on remplace l'expression A6-5 dans l'expression A6-6, on obtient :

$$\mu_A = -kT \left( \frac{\partial \ln Z}{\partial N_A} \right)_{T,P,N_B}$$
(A6-7)

Si on veut maintenant calculer le potentiel chimique résiduel (qui ne dépend pas des interactions stériques), on a alors :

$$\mu_{A}^{R} = -kT \left( \frac{\partial \ln Z^{R}}{\partial N_{A}} \right)_{T,P,N_{B}} = -kT \sum_{i} \left( \frac{\partial \ln Z^{R}}{\partial n^{i}} \frac{\partial n^{i}}{\partial N_{A}} \right)_{T,P,N_{B}} = -kT \sum_{i} \left( \frac{\partial \ln Z^{R}}{\partial n^{i}} n_{A}^{i} \right)_{T,P,N_{B}}$$
(A6-8)

 $\left(\frac{\partial n^{i}}{\partial N_{A}}\right)_{T,P,N_{B}} = n_{A}^{i}$ (A6-9)

avec

$$\mu_A^R = -kT \sum_i \left( \frac{\partial \ln Z^R}{\partial n^i} n_A^i \right)_{T,P,N_B} = \sum_i n_A^i \mu^i$$
(A6-10)

on obtient

où  $\mu^i$  est le pseudo potentiel chimique d'un segment i parmi tous les autres segments en interaction. Le coefficient d'activité  $\gamma$  de l'espèce chimique A mélangée avec B est définit par :

$$kT\ln\gamma_A = \mu_A - \mu_{A^0} \tag{A6-11}$$

où  $\mu_{A^0}$  est le potentiel chimique du composé A pur. On peut donc de la même façon définir le coefficient d'activité d'un segment i :

$$kT\ln\gamma^{i} = \mu^{i} - \mu^{ii} \tag{A6-12}$$

Avec  $\mu^{ii}$  le potentiel chimique du segment i dans le cas où tous les segments auraient la même charge ( $\Theta^i = 1$ ). Si on définit maintenant  $\mu^i_{A^0}$  et  $\gamma^i_{A^0}$  comme le potentiel chimique et le coefficient d'activité d'un segment i dans un système n'étant composé que de molécules A, on obtient, en appliquant cette définition à l'équation (A6-12), l'expression de l'activité chimique résiduelle du composé A :

$$\ln \gamma_{A}^{R} = \frac{\mu_{A}^{R} - \mu_{A^{0}}^{R}}{kT} = \sum_{i} n_{A}^{i} \frac{\mu^{i} - \mu_{A}^{i}}{kT}$$
(A6-13)

Si l'on considère que le potentiel chimique d'un segment i possède la même charge que tous les autres segments, alors ce potentiel est nul  $\mu^{ii} = 0$ . On peut alors écrire :

$$\ln \gamma_A^R = \frac{\mu_A^R - \mu_{A^0}^R}{kT} = \sum_i n_A^i \frac{(\mu^i - \mu^{ii}) - (\mu_A^i - \mu^{ii})}{kT}$$
(A6-14)

Et selon la définition de l'activité chimique donnée par l'équation (A6-11) :

$$\ln \gamma_A^R = \sum_i n_A^i \left( \ln \gamma^i - \ln \gamma_A^i \right)$$
(A6-15)

Nous avons donc réduit un système thermodynamique de composés chimiques à un système d'interactions entre des surfaces élémentaires chargées électriquement. Si l'on considère maintenant deux types de segments différentes i et j ainsi que l'énergie d'interaction entre ces deux surfaces  $\epsilon_{ij}$ , on peut alors définir l'énergie totale d'interaction entre tous les segments comme :

$$E_{tot}(P) = \sum_{ij} p_{ij}(P)\varepsilon_{ij}$$
(A6-16)

Où  $p_{ij}(P)$  est le nombre total de pairs de type ij. La fonction de partition résiduelle  $Z^{R}$  devient alors :

$$Z^{R} = \sum_{P} \exp\left\{-\frac{\sum_{ij} p_{ij}(P)\varepsilon_{ij}}{kT}\right\}$$
(A6-17)

Où P représente toutes les interactions possibles entre les segments.

## A6.B Choix du Modèle de calcul des interactions entre pairs moléculaires

Les deux modèles les plus connus ayant été développés pour tenter de calculer le coefficient résiduel sont :

 Le modèle UNIQUAC (UNIversal QUAsiChemical) [163] qui propose l'introduction d'un paramètre d'interaction τ liant les énergies d'interactions ε entre les segments i et j :

$$\tau_{ij} = \exp\left[-\frac{\varepsilon_{ij} - \varepsilon_{ii}}{RT}\right]$$
(A6-18)

Ce paramètre d'interaction permet de relier le pseudo potentiel chimique d'un segment  $\psi^{j}$  à la fraction surfacique d'un segment  $\Theta^{i}$ :

4

$$\frac{1}{\Psi^{j}} = \sum_{i} \tau_{ij} \Theta^{i}$$
(A6-19)

 Le modèle COSMOSPACE (COnductor Screening MOdel Surface Pair Activity Coefficient Equation) [138] qui propose la modification du paramètre d'interaction τ en un paramètre τ' définit comme :

$$\tau'_{ij} = \exp\left[-\frac{\varepsilon_{ij} - \frac{1}{2}(\varepsilon_{ii} + \varepsilon_{jj})}{RT}\right]$$
(A6-20)

Ce paramètre d'interaction permet de relier le potentiel chimique du segment  $\gamma^{j}$  au potentiel chimique du segment  $\gamma^{i}$  et à sa fraction surfacique  $\Theta^{i}$ :

$$\frac{1}{\gamma^{j}} = \sum_{i} \tau_{ij} \Theta^{i} \gamma^{i}$$
(A6-21)

On peut immédiatement remarquer que les équations (A6-19) et (A6-21) sont construites suivant une architecture semblable mais comportent des différences fondamentales :

- La première différence se situe au niveau du pseudo coefficient d'activité  $\psi^1$  qui est égale à 1 dans le modèle UNIQUAC ce qui a pour avantage l'obtention de manière directe du pseudo coefficient d'activité  $\psi^j$ . Le modèle UNIQUAC est définit par ses auteurs comme un modèle approximé au premier ordre. Une approximation au second ordre consisterait donc à reporter le pseudo coefficient d'activité  $\psi^i$ , issu de l'approximation au premier ordre, dans la partie droite de l'équation A6-19. En répétant cette opération indéfiniment, il serait alors possible de converger progressivement vers le modèle COSMOSPACE.

- La seconde différence se situe au niveau des expressions du coefficient d'interaction  $\tau_{ij}$ . Si dans l'équation (A6-20), on retrouve les contributions des interactions entre des segments différents (i-j) et des mêmes segments (i-i ou j-j), ce n'est pas le cas dans l'expression (A6-18) qui suppose que les interactions i-i sont de même nature que les interactions j-j. Dans le cadre des solutions régulières et comme nous l'avons montré dans le chapitre I de cette thèse, l'équation qui semble la plus appropriée pour la description des interactions entre paires moléculaires dans le cadre des solutions régulières correspond à l'expression utilisée par le modèle COSMOSPACE (équation A6-21).

## **Références Bibliographiques**

- 1. Amidon, G.L., et al., *A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability.* Pharmaceutical Research, 1995. **12**(3): p. 413-420.
- 2. Löbenberg, R. and G.L. Amidon, *Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2000. **50**(1): p. 3-12.
- Wu, K.-M., A New Classification of Prodrugs: Regulatory Perspectives. Pharmaceuticals, 2009. 2(3): p. 77-81.
- 4. Aitipamula, S., et al., *Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name*? Crystal Growth & Design, 2012. **12**(5): p. 2147-2152.
- 5. Thakuria, R., et al., *Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs.* International Journal of Pharmaceutics, 2013. **453**(1): p. 101-125.
- 6. Challa, R., et al., *Cyclodextrins in drug delivery: An updated review.* AAPS PharmSciTech, 2005. **6**(2): p. E329-E357.
- 7. Brittain, H.G., *Effects of mechanical processing on phase composition.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2002. **91**(7): p. 1573-1580.
- 8. Babu, N.J. and A. Nangia, *Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals.* Crystal Growth & Design, 2011. **11**(7): p. 2662-2679.
- 9. Vasconcelos, T., B. Sarmento, and P. Costa, *Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs.* Drug Discov Today, 2007. **12**(23-24): p. 1068-75.
- 10. Leuner, C. and J. Dressman, *Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2000. **50**(1): p. 47-60.
- 11. Dinunzio, J.C., et al., *Production of advanced solid dispersions for enhanced bioavailability of itraconazole using KinetiSol Dispersing.* Drug Development and Industrial Pharmacy. **36**(9): p. 1064-1078.
- Dinunzio, J.C., et al., Fusion processing of itraconazole solid dispersions by KinetiSol dispersing: A comparative study to hot melt extrusion. Journal of Pharmaceutical Sciences. 99(3): p. 1239-1253.
- 13. Crowley, M.M., et al., *Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: Part I.* Drug Development and Industrial Pharmacy, 2007. **33**(9): p. 909-926.
- 14. Paudel, A., et al., *Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations.* International Journal of Pharmaceutics, 2013. **453**(1): p. 253-284.
- Patterson, J.E., et al., Preparation of glass solutions of three poorly water soluble drugs by spray drying, melt extrusion and ball milling. International Journal of Pharmaceutics, 2007.
  336(1): p. 22-34.
- 16. Caron, V., et al., *The implication of the glass transition in the formation of trehalose/mannitol molecular alloys by ball milling.* Solid State Communications, 2007. **144**(7-8): p. 288-292.
- 17. Dudognon, E., et al., *Formation of budesonide/α-lactose glass solutions by ball-milling.* Solid State Communications, 2006. **138**(2): p. 68-71.
- 18. Dujardin, N., et al., *First obtaining of glass solutions and phase diagram of glucose with fully tunable anomeric concentration.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **99**(3): p. 1476-1483.
- 19. Willart, J.F. and M. Descamps, *Solid State Amorphization of Pharmaceuticals*. Molecular Pharmaceutics, 2008. **5**(6): p. 905-920.
- 20. Willart, J.F., et al., *Formation of lactose-mannitol molecular alloys by solid state vitrification*. Solid State Communications, 2006. **138**(4): p. 194-199.
- 21. Willart, J.F., et al., *Lactose-based molecular alloys obtained by solid state vitrification.* Journal of Non-Crystalline Solids, 2006. **352**(42-49): p. 4475-4479.
- 22. Boldyrev, V.V., et al., *Preparation of the disperse systems of sulfathiazolepolyvinylpyrrolidone by mechanical activation*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 1994. **20**(6): p. 1103-1114.

- 23. Willart, J.F., et al., *Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling.* Solid State Communications, 2001. **119**(8): p. 501-505.
- 24. Gordon, J.M., et al., *The composition dependence of glass transition properties*. Journal of Chemical Physics, 1977. **66**(11): p. 4971-6.
- 25. Couchman, P.R. and F.E. Karasz, *A Classical Thermodynamic Discussion of the Effect of Composition on Glass-Transition Temperatures.* Macromolecules, 1978. **11**(1): p. 117-119.
- Klamt, A., Conductor-like Screening Model for Real Solvents: A New Approach to the Quantitative Calculation of Solvation Phenomena. The Journal of Physical Chemistry, 1995.
   99(7): p. 2224-2235.
- 27. De Yoreo, J.J. and P.G. Vekilov, *Principles of Crystal Nucleation and Growth*. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 2003. **54**(1): p. 57-93.
- 28. Turnbull, D., *Phase Changes*, in *Solid State Physics*, S. Frederick and T. David, Editors. 1956, Academic Press. p. 225-306.
- 29. Zarzycki, J., Les Verres et l'état vitreux. 1982, Paris; New York; Barcelone: Masson.
- 30. Bohmer, R., et al., *Nonexponential relaxations in strong and fragile glass formers.* The Journal of Chemical Physics, 1993. **99**(5): p. 4201-4209.
- 31. Hüller, M., et al., *Mechanical Alloying in Planetary Mills of High Accelerations*. Reviews on Advanced Materials Science, 2008. **18**: p. 366-374.
- Suryanarayana, C., *Mechanical alloying and milling*. Progress in Materials Science, 2001.
  46(1-2): p. 1-184.
- 33. Caron, V., et al., *Solid state amorphization kinetic of alpha lactose upon mechanical milling.* Carbohydrate Research, 2011. **346**(16): p. 2622-2628.
- 34. Dujardin, N., et al., *Solid State Mutarotation of Glucose*. The Journal of Physical Chemistry B, 2011. **115**(7): p. 1698-1705.
- 35. Desprez, S., *Transformations de phases induites par broyage dans un composé moléculaire: l'indométhacine*. 2004, University of Lille 1: Villeneuve d'Ascq. p. 254.
- 36. De Gusseme, A.W.J.-F.D.M.U.d.s.e.t.d.L., *Transformations de phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques la fanansérine et la tréhalose*. 2003, [s.n.]: [S.I.].
- 37. Otsuka, M., T. Matsumoto, and N. Kaneniwa, *Effect of environmental temperature on polymorphic solid-state transformation of indomethacin during grinding*. Chemical and pharmaceutical bulletin, 1986. **34**(4): p. 1784-93.
- Linol, J., et al., Inversion of the Relative Stability between Two Polymorphic Forms of (±) Modafinil under Dry High-Energy Milling: Comparisons with Results Obtained under Wet High-Energy Milling. Crystal Growth & Design, 2007. 7(9): p. 1608-1611.
- 39. Zhang, G.G., et al., *Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs*. J Pharm Sci, 2002. **91**(4): p. 1089-100.
- 40. Willart, J.F., V. Caron, and M. Descamps, *Transformations of crystalline sugars upon milling*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2007. **90**(1): p. 125-130.
- 41. Descamps, M., et al., *Transformation of pharmaceutical compounds upon milling and comilling: The role ofTg.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2007. **96**(5): p. 1398-1407.
- 42. Tsukushi, I., O. Yamamuro, and T. Matsuo, *Solid state amorphization of organic molecular crystals using a vibrating mill.* Solid State Communications, 1995. **94**(12): p. 1013-18.
- 43. Hancock, B.C. and M. Parks, *What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals?* Pharmaceutical Research, 2000. **17**(4): p. 397-404.
- 44. Sinha, S., et al., *Solid Dispersion as an Approach for Bioavailability Enhancement of Poorly Water-Soluble Drug Ritonavir.* AAPS PharmSciTech, 2010. **11**(2): p. 518-527.
- 45. He, X., et al., *Comparison of spray freeze drying and the solvent evaporation method for preparing solid dispersions of baicalein with Pluronic F68 to improve dissolution and oral bioavailability*. AAPS PharmSciTech, 2011. **12**(1): p. 104-13.
- 46. Caron, V., et al., *Amorphous solid dispersions of sulfonamide/Soluplus(R) and sulfonamide/PVP prepared by ball milling.* AAPS PharmSciTech, 2013. **14**(1): p. 464-74.

- 47. DiNunzio, J.C., et al., *Fusion production of solid dispersions containing a heat-sensitive active ingredient by hot melt extrusion and Kinetisol® dispersing*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2010. **74**(2): p. 340-351.
- 48. Sun, Y., et al., Solubilities of crystalline drugs in polymers: An improved analytical method and comparison of solubilities of indomethacin and nifedipine in PVP, PVP/VA, and PVAc. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010: p. n/a-n/a.
- 49. Tao, J., et al., *Solubility of Small-Molecule Crystals in Polymers: d-Mannitol in PVP, Indomethacin in PVP/VA, and Nifedipine in PVP/VA.* Pharmaceutical Research, 2008. **26**(4): p. 855-864.
- 50. Nagahama, M., H. Suga, and O. Andersson, *Formation of molecular alloys by solid-state vitrification.* Thermochimica Acta, 2000. **363**(1-2): p. 165-174.
- 51. Tabary, N., et al., *Characterization of the hidden glass transition of amorphous cyclomaltoheptaose.* Carbohydrate Research, 2011. **346**(14): p. 2193-2199.
- 52. Haaf, F., A. Sanner, and F. Straub, *Polymers of N-vinylpyrrolidone: synthesis, characterization and uses*. Vol. 17. 1985: Nature Publishing Group.
- 53. Folttmann, H. and A. Quadir, *Polyvinylpyrrolidone (PVP) One of the most widely used excipients in pharmaceuticals : an overview.* Drug delivery technology, 2008. **8**(6): p. 22-27.
- 54. Ruidiaz, M.A., et al., *Estimation of the indomethacin solubility in ethanol + water mixtures by the extended Hildebrand solubility approach.* Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas, 2010. **39**: p. 79-95.
- 55. Yadav, V. and A.V. Yadav, *Enhancement of solubility and dissolution rate of indomethacin with different polymers by compaction process.* International journal of ChemTech Research, 2009. **1**(4): p. 1072-1078.
- 56. Jung, M.S., et al., *Bioavailability of indomethacin-saccharin cocrystals.* J Pharm Pharmacol, 2010. **62**(11): p. 1560-8.
- 57. Majumder, M., et al., *A carbamazepine-indomethacin (1 : 1) cocrystal produced by milling.* CrystEngComm, 2011. **13**(21): p. 6327-6328.
- 58. Mesnukul, A., et al., *Characterization of indomethacin release from polyethylene glycol tablet fabricated with mold technique.* Indian J Pharm Sci, 2010. **72**(1): p. 92-100.
- 59. Pereira Arias, A.M., et al., *Indomethacin decreases insulin secretion in patients with type 2 diabetes mellitus.* Metabolism, 2000. **49**(7): p. 839-844.
- 60. Quidville, V., et al., *Tumor growth inhibition by indomethacin in a mouse model of human medullary thyroid cancer: implication of cyclooxygenases and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase.* Endocrinology, 2004. **145**(5): p. 2561-71.
- 61. Kistenmacher, T.J. and R.E. Marsh, *Crystal and molecular structure of an antiinflammatory agent, indomethacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid.* J Am Chem Soc, 1972. **94**(4): p. 1340-5.
- 62. Chen, X., et al., *Reactivity differences of indomethacin solid forms with ammonia gas.* J Am Chem Soc, 2002. **124**(50): p. 15012-9.
- 63. Borka, L., *The polymorphism of indomethacin*. Acta Pharm. Suecica, 1974. **11**: p. 295-303.
- 64. Kaneniwa, N., M. Otsuka, and T. Hayashi, *Physicochemical characterization of indomethacin polymorphs and the transformation kinetics in ethanol.* Chem Pharm Bull (Tokyo), 1985. **33**(8): p. 3447-55.
- 65. Desprez, S. and M. Descamps, *Transformations of glassy indomethacin induced by ballmilling.* Journal of Non-Crystalline Solids, 2006. **352**(42-49): p. 4480-4485.
- 66. Yoshioka, M., B.C. Hancock, and G. Zografi, *Crystallization of indomethacin from the amorphous state below and above its glass transition temperature.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 1994. **83**(12): p. 1700-1705.
- 67. Crowley, K.J. and G. Zografi, *Cryogenic grinding of indomethacin polymorphs and solvates: assessment of amorphous phase formation and amorphous phase physical stability.* J Pharm Sci, 2002. **91**(2): p. 492-507.

- Bahl, D. and R. Bogner, Amorphization of Indomethacin by Co-Grinding with Neusilin US2: Amorphization Kinetics, Physical Stability and Mechanism. Pharmaceutical Research, 2006.
   23(10): p. 2317-2325.
- 69. Planinsek, O., et al., *Structural evolution of indomethacin particles upon milling: timeresolved quantification and localization of disordered structure studied by IGC and DSC.* J Pharm Sci, 2010. **99**(4): p. 1968-81.
- 70. Hédoux, A., Y. Guinet, and M. Descamps, *The contribution of Raman spectroscopy to the analysis of phase transformations in pharmaceutical compounds.* International Journal of Pharmaceutics, 2011. **417**(1–2): p. 17-31.
- 71. Fox, J.T.G. and P.J. Flory, *Second-Order Transition Temperatures and Related Properties of Polystyrene. I. Influence of Molecular Weight.* Journal of Applied Physics, 1950. **21**(6): p. 581-591.
- 72. Brown, W.A.C. and G.A. Sim, *193. Fungal metabolites. Part I. The stereochemistry of griseofulvin: X-ray analysis of 5-bromogriseofulvin.* Journal of the Chemical Society (Resumed), 1963(0): p. 1050-1059.
- Chamarthy, S.P. and R. Pinal, *The nature of crystal disorder in milled pharmaceutical materials.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2008. **331**(1–2): p. 68-75.
- 74. Kosmynin, A.S., E.V. Kir'yanova, and A.S. Trunin, *Bioaccessibility of Griseofulvin in Binary Compositions.* Pharmaceutical Chemistry Journal, 2001. **35**(11): p. 630-632.
- 75. Kamiya, S., et al., *Physical characteristics of freeze-dried griseofulvin-lipids nanoparticles.* Chem Pharm Bull (Tokyo), 2006. **54**(2): p. 181-4.
- 76. Ronnest, M.H., et al., *Synthesis and structure-activity relationship of griseofulvin analogues as inhibitors of centrosomal clustering in cancer cells.* J Med Chem, 2009. **52**(10): p. 3342-7.
- 77. Knoblauch, J. and I. Zimmermann, *Thermochemical analysis of the dissolution process of Griseofulvin.* Eur J Pharm Biopharm, 2007. **67**(3): p. 743-51.
- 78. Puttaraja, et al., *Crystal structure of griseofulvin.* Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research, 1982. **12**(5): p. 415-423.
- 79. Jarmer, D.J., et al., *Supercritical fluid crystallization of griseofulvin: crystal habit modification with a selective growth inhibitor.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005. **94**(12): p. 2688-2702.
- 80. Tombari, E., et al., *Molecular Mobility, Thermodynamics and Stability of Griseofulvin's Ultraviscous and Glassy States from Dynamic Heat Capacity.* Pharmaceutical Research, 2008.
  25(4): p. 902-912.
- 81. Elamin, A.A., et al., *Increased metastable solubility of milled griseofulvin, depending on the formation of a disordered surface structure*. International Journal of Pharmaceutics, 1994.
  111(2): p. 159-170.
- Be Gioannis, B., P. Jestin, and P. Subra, *Morphology and growth control of griseofulvin recrystallized by compressed carbon dioxide as antisolvent.* Journal of Crystal Growth, 2004.
  262(1–4): p. 519-526.
- 83. Jarmer, D.J., et al., *Supercritical fluid crystallization of griseofulvin: crystal habit modification with a selective growth inhibitor.* J Pharm Sci, 2005. **94**(12): p. 2688-702.
- 84. Chattoraj, S., et al., *Origin of two modes of non-isothermal crystallization of glasses produced by milling.* Pharm Res, 2012. **29**(4): p. 1020-32.
- 85. Feng, T., S. Bates, and M.T. Carvajal, *Toward understanding the evolution of griseofulvin crystal structure to a mesophase after cryogenic milling.* International Journal of Pharmaceutics, 2009. **367**(1-2): p. 16-19.
- Trasi, N.S., S.X.M. Boerrigter, and S.R. Byrn, *Investigation of the Milling-Induced Thermal Behavior of Crystalline and Amorphous Griseofulvin.* Pharmaceutical Research, 2010. 27(7): p. 1377-1389.
- 87. Willart, J.F., et al., *Solid-state vitrification of crystalline griseofulvin by mechanical milling.* J Pharm Sci, 2012. **101**(4): p. 1570-7.

- Scott, H. and S. United, *Origin of quenching cracks*. Scientific Papers of the Bureau of Standards ;no. 513. 1925, Washington, D.C.: U.S. Dept. of Commerce, Bureau of Standards : U.S. Govt. Print. Off. p. 399-444.
- 89. Zhou, D., et al., *Thermodynamics, Molecular Mobility and Crystallization Kinetics of Amorphous Griseofulvin.* Molecular Pharmaceutics, 2008. **5**(6): p. 927-936.
- 90. Zhu, L., et al., *Fast Surface Crystallization of Amorphous Griseofulvin Below T g.* Pharmaceutical Research, 2010. **27**(8): p. 1558-1567.
- 91. Legrand, V., M. Descamps, and C. Alba-Simionesco, *Glass-forming meta-toluidine: A thermal and structural analysis of its crystalline polymorphism and devitrification.* Thermochimica Acta, 1997. **307**(1): p. 77-83.
- 92. Nielsen, L., et al., A slow cooling rate of indomethacin melt spatially confined in microcontainers increases the physical stability of the amorphous drug without influencing its biorelevant dissolution behaviour. Drug Delivery and Translational Research, 2013: p. 1-7.
- 93. Dudognon, E., et al., *Evidence for a new crystalline phase of racemic Ibuprofen*. Pharm Res, 2008. **25**(12): p. 2853-8.
- 94. Burger, A. and R. Ramberger, *On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I.* Microchimica Acta, 1979. **72**(3-4): p. 259-271.
- 95. Burger, A. and R. Ramberger, *On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. II.* Microchimica Acta, 1979. **72**(3-4): p. 273-316.
- 96. Ribeiro, M.E., et al., *Solubilisation capacity of Brij surfactants*. Int J Pharm, 2012. **436**(1-2): p. 631-5.
- 97. Shirley, R., *Accuray in Powder Diffraction*. Ed. S. Block & C.R. Hubbard, 1980. **567** (Gaithersburg MA: US Dept of Commerce)(NBS Spec. Pub): p. 361-382.
- 98. Louër, D., *Accuracy in Powder Diffraction II.* Ed. E. Prince & J.K. Stalick, 1992. **846** (Gaithersburg MA: US Dept of Commerce)(NIST Spec. Pub.): p. 92-104.
- 99. Kohlbeck, F. and E.M. Horl, *Indexing program for powder patterns especially suitable for triclinic, monoclinic and orthorhombic lattices.* Journal of Applied Crystallography, 1976. **9**(1): p. 28-33.
- 100. Louer, D. and R. Vargas, *Indexation automatique des diagrammes de poudre par dichotomies successives*. Journal of Applied Crystallography, 1982. **15**(5): p. 542-545.
- Boultif, A. and D. Louer, *Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method.* Journal of Applied Crystallography, 1991. 24(6): p. 987-993.
- 102. Le Bail, A., H. Duroy, and J.L. Fourquet, *Ab-initio structure determination of LiSbWO6 by X-ray powder diffraction.* Materials Research Bulletin, 1988. **23**(3): p. 447-452.
- 103. Newsam J.M., D.M.W., & Freeman C.M., *Accurcy in powder diffraction II.* Ed. E. Prince & J.K. Stalick NIST Spec. Pub., 1992. **846 (Gaithersburg MA : US Dept of Commerce)**: p. 80-91.
- 104. Caglioti, G., A. Paoletti, and F.P. Ricci, *Choice of collimators for a crystal spectrometer for neutron diffraction.* Nuclear Instruments, 1958. **3**(4): p. 223-228.
- 105. Willart, J.-F., et al., *Solid-state vitrification of crystalline griseofulvin by mechanical milling.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2012. **101**(4): p. 1570-1577.
- 106. Smith, A.P., et al., *High-energy mechanical milling of poly(methyl methacrylate), polyisoprene and poly(ethylene-alt-propylene).* Polymer, 2000. **41**(16): p. 6271-6283.
- Taira, H., et al., *Isolation, Purification and Characterization of Large-Ring Cyclodextrins* (*CD36* ~ ~*CD39*). Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry, 2006. 56(1-2): p. 23-28.
- 108. Szente, L. and J. Szejtli, *Cyclodextrins as food ingredients.* Trends in Food Science & Technology, 2004. **15**(3–4): p. 137-142.
- 109. Reineccius, T.A., G.A. Reineccius, and T.L. Peppard, *Utilization of β-Cyclodextrin for Improved Flavor Retention in Thermally Processed Foods.* Journal of Food Science, 2004. **69**(1): p. FCT58-FCT62.

- 110. Numanoğlu, U., et al., *Use of cyclodextrins as a cosmetic delivery system for fragrance materials: Linalool and benzyl acetate.* AAPS PharmSciTech, 2007. **8**(4): p. 34-42.
- 111. Buschmann, H.J. and E. Schollmeyer, *Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review*. J Cosmet Sci, 2002. **53**(3): p. 185-91.
- 112. Cireli, A. and B. Yurdakul, *Application of cyclodextrin to the textile dyeing and washing processes.* Journal of Applied Polymer Science, 2006. **100**(1): p. 208-218.
- 113. Buschmann, H.J., D. Knittel, and E. Schollmeyer, *New Textile Applications of Cyclodextrins.* Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry, 2001. **40**(3): p. 169-172.
- 114. Valeur, B., et al., *Antenna Effect in Multichromophoric Cyclodextrins*. Angewandte Chemie International Edition in English, 1995. **33**(23-24): p. 2438-2439.
- 115. Szente, L. and J. Szemán, *Cyclodextrins in Analytical Chemistry: Host–Guest Type Molecular Recognition.* Analytical Chemistry, 2013. **85**(17): p. 8024-8030.
- 116. Armstrong, D.W., *Cyclodextrins in Analytical Chemistry*, in *Proceedings of the Fourth International Symposium on Cyclodextrins*, O. Huber and J. Szejtli, Editors. 1988, Springer Netherlands. p. 437-449.
- 117. Takahashi, K., *Reactions Mediated by Cyclodextrins*, in *Molecular Encapsulation*. 2010, John Wiley & Sons, Ltd. p. 91-115.
- 118. Mihajlovic, T., et al., Improvement of aripiprazole solubility by complexation with (2-hydroxy)propyl-beta-cyclodextrin using spray drying technique. AAPS PharmSciTech, 2012.
  13(2): p. 623-31.
- 119. Lindner, K. and W. Saenger, *Crystal and molecular structure of cyclohepta-amylose dodecahydrate.* Carbohydrate Research, 1982. **99**(2): p. 103-115.
- 120. Fujiwara, T., et al., Nippon Kagaku Kaishi, 1983(181).
- 121. Damodharan, L., V. Pattabhi\*, and K. Nagarajan, *Solvent interactions with β-Cyclodextrin as observed in crystal structures.* Molecular Crystals and Liquid Crystals, 2004. **423**(1): p. 17-35.
- Steiner, T. and G. Koellner, *β-Cyclodextrin hydrate clathrate*. J. Am. Chem. Soc., 1994. **116**: p. 5122.
- 123. Li, J., Y. Guo, and G. Zografi, *The solid-state stability of amorphous quinapril in the presence of β-cyclodextrins.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2002. **91**(1): p. 229-243.
- 124. Mazzobre, M.F., C.I. Santos, and M.d.P. Buera, *Solubility and Stability of β-Cyclodextrin– Terpineol Inclusion Complex as Affected by Water.* Food Biophysics, 2011.
- 125. Topchieva, I.N., et al., *The detection of cyclodextrin self-association by titration with dyes.* Colloid Journal, 2006. **68**(1): p. 98-105.
- 126. Shimpi, S., B. Chauhan, and P. Shimpi, *Cyclodextrins: Application in different routes of drug administration.* Acta Pharmaceutica, 2005. **55**(2): p. 139-156.
- 127. Tsukushi, I., O. Yamamuro, and H. Suga, *Heat capacities and glass transitions of ground amorphous solid and liquid-quenched glass of tri-O-methyl-<beta>-cyclodextrin.* Journal of non crystalline solids, 1994. **175**(2-3): p. 187-194.
- 128. Shamblin, S.L., B.C. Hancock, and M.J. Pikal, *Coupling Between Chemical Reactivity and Structural Relaxation in Pharmaceutical Glasses.* Pharmaceutical Research, 2006. **23**(10): p. 2254-2268.
- 129. Yu, L., D.S. Mishra, and D.R. Rigsbee, *Determination of the glass properties ofD-mannitol using sorbitol as an impurity.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 1998. **87**(6): p. 774-777.
- 130. Qi, S., et al., *An investigation into the crystallisation behaviour of an amorphous cryomilled pharmaceutical material above and below the glass transition temperature.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **99**(1): p. 196-208.
- 131. Seo, J.-A., et al., *The glass transition temperatures of sugar mixtures.* Carbohydrate Research, 2006. **341**(15): p. 2516-2520.
- 132. Dua, K., et al., *Dissolution behavior of beta-cyclodextrin molecular inclusion complexes of aceclofenac.* J Pharm Bioallied Sci, 2011. **3**(3): p. 417-25.

- Patel, J.S. and R.P. Patel, *Preparation, characterization and in vitro dissolution study of Nitrazepam: Cyclodextrin inclusion complex.* J Pharm Bioallied Sci, 2012. 4(Suppl 1): p. S106-7.
- 134. Al-Rawashdeh, N.A.F., K.S. Al-Sadeh, and M.B. Al-Bitar, *Inclusion Complexes of Sunscreen Agents with β-Cyclodextrin: Spectroscopic and Molecular Modeling Studies.* Journal of Spectroscopy, 2013. **2013**: p. 11.
- 135. Harada, A. and S. Takahashi, *Preparation and properties of cyclodextrin inclusion compounds of organometallic complexes. Ferrocene inclusion compounds.* Journal of inclusion phenomena, 1984. **2**(3-4): p. 791-798.
- 136. Cloudy, P., et al., *Physicochemical characterization of cholesterol-beta cyclodextrin inclusion complexes.* Journal of thermal analysis, 1991. **37**(11-12): p. 2497-2506.
- 137. Charumanee, S., Amorphization and dissolution studies of acetaminophen B-cyclodextrin inclusion complexes. CHIANG MAI UNIVERSITY JOURNAL, 2004. **3**(01).
- 138. Klamt, A., G.J.P. Krooshof, and R. Taylor, *COSMOSPACE: Alternative to conventional activity-coefficient models.* AIChE Journal, 2002. **48**(10): p. 2332-2349.
- 139. Fredenslund, A., R.L. Jones, and J.M. Prausnitz, *Group-contribution estimation of activity coefficients in nonideal liquid mixtures.* AIChE Journal, 1975. **21**(6): p. 1086-1099.
- 140. Wu, H.S. and S.I. Sandler, *Use of ab initio quantum mechanics calculations in group contribution methods. 1. Theory and the basis for group identifications.* Industrial & Engineering Chemistry Research, 1991. **30**(5): p. 881-889.
- 141. Wu, H.S. and S.I. Sandler, *Use of ab initio quantum mechanics calculations in group contribution methods. 2. Test of new groups in UNIFAC.* Industrial & Engineering Chemistry Research, 1991. **30**(5): p. 889-897.
- 142. Sousa, S.F., P.A. Fernandes, and M.J. Ramos, *General Performance of Density Functionals*. The Journal of Physical Chemistry A, 2007. **111**(42): p. 10439-10452.
- 143. Theodorou, D.N. and U.W. Suter, *Detailed molecular structure of a vinyl polymer glass*. Macromolecules, 1985. **18**(7): p. 1467-1478.
- 144. Sun, H., et al., *An ab Initio CFF93 All-Atom Force Field for Polycarbonates.* Journal of the American Chemical Society, 1994. **116**(7): p. 2978-2987.
- 145. Berendsen, H.J.C., et al., *Molecular dynamics with coupling to an external bath.* The Journal of Chemical Physics, 1984. **81**(8): p. 3684-3690.
- 146. Ahlrichs, R., et al., *Electronic structure calculations on workstation computers: The program system turbomole.* Chemical Physics Letters, 1989. **162**(3): p. 165-169.
- 147. Chastine, J.W., et al., *AMMP-Vis: a collaborative virtual environment for molecular modeling,* in *Proceedings of the ACM symposium on Virtual reality software and technology.* 2005, ACM: Monterey, CA, USA. p. 8-15.
- 148. Staverman, A.J., *The entropy of high polymer solutions. Generalization of formulae.* Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 1950. **69**(2): p. 163-174.
- 149. Young, R.A. and D.B. Wiles, *Profile shape functions in Rietveld refinements*. Journal of Applied Crystallography, 1982. **15**(4): p. 430-438.
- 150. Hill, R.J. and R.X. Fischer, *Profile agreement indices in Rietveld and pattern-fitting analysis.* Journal of Applied Crystallography, 1990. **23**(6): p. 462-468.
- 151. Wolff, P.M.d., *A simplified criterion for the reliability of a powder pattern indexing*. Journal of Applied Crystallography, 1968. **1**(2): p. 108-113.
- 152. Smith, G.S. and R.L. Snyder, *FN: A criterion for rating powder diffraction patterns and evaluating the reliability of powder-pattern indexing.* Journal of Applied Crystallography, 1979. **12**(1): p. 60-65.
- 153. Young, R.A., E. Prince, and R.A. Sparks, *Suggested guidelines for the publication of Rietveld analyses and pattern decomposition studies.* Journal of Applied Crystallography, 1982. **15**(3): p. 357-359.
- 154. Rietveld, H., *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures.* Journal of Applied Crystallography, 1969. **2**(2): p. 65-71.

- 155. Sudarsanan, K. and R.A. Young, *Significant precision in crystal structural details. Holly Springs hydroxyapatite*. Acta Crystallographica Section B, 1969. **25**(8): p. 1534-1543.
- Benesi, H.A. and J.H. Hildebrand, A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. Journal of the American Chemical Society, 1949. 71(8): p. 2703-2707.
- 157. Scatchard, G., *THE ATTRACTIONS OF PROTEINS FOR SMALL MOLECULES AND IONS*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1949. **51**(4): p. 660-672.
- 158. Scott, R.L., *Some comments on the Benesi-Hildebrand equation.* Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 1956. **75**(7): p. 787-789.
- 159. Ketelaar, J.A.A., et al., *Spectrophotometric study of the solvation of iodine in dioxan solution II.* Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 1952. **71**(11): p. 1104-1114.
- 160. Liptay, W., Über die Bestimmung von Komplex-Gleichgewichtskonstanten aus spektrophotometrischen Absorptionsmessungen. Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie, 1961. **65**(4): p. 375-383.
- 161. Foster, R. and I.B.C. Matheson, *Temperature dependence of association constant, extinction coefficient and total absorption intensity of an organic charge-transfer complex.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy, 1967. **23**(7): p. 2037-2042.
- 162. Nagakura, S., *Determinations of the Energy and the Entropy Change Due to Hydrogen Bonding by the Use of the Near Ultraviolet Absorption—the Effect of the Chlorine Atom on the Proton-donating and the Proton-accepting Powers.* Journal of the American Chemical Society, 1954. **76**(11): p. 3070-3073.
- 163. Abrams, D.S. and J.M. Prausnitz, *Statistical thermodynamics of liquid mixtures: A new expression for the excess Gibbs energy of partly or completely miscible systems.* AIChE Journal, 1975. **21**(1): p. 116-128.

La dispersion moléculaire d'un principe actif (PA) dans un polymère est généralement utilisée pour accroitre à la fois la solubilité et la stabilité physique de sa forme amorphe. Cependant, ce type de formulation demande une parfaite connaissance de la solubilité du PA dans le polymère. Cette propriété se révèle très importante pour selectionner le polymère le plus approprié à la formulation puisqu'elle définie le maximum de PA qui peut être chargé dans le polymère sans risque de recristallisation. Cependant, les méthodes actuelles pour déterminer les courbes de solubilité sont longues et fastidieuses à mettre en oeuvre. Cette situation est principalement due à la grande viscosité des polymères qui rend les états d'équilibre saturés, cinétiquement difficiles à atteindre.

Dans cette thèse, nous présentons une méthode originale pour déterminer efficacement la solubilité des PA dans les polymères. L'originalité de cette méthode réside dans le fait que les états d'équilibre saturés sont ici atteints par démixtion d'une solution solide amorphe sursaturée en PA et non par la méthode classique de dissolution du PA cristallin au sein du polymère amorphe. Les états d'équilibre saturés sont donc beaucoup plus rapides à atteindre en raison de la mobilité moléculaire accrue résulant de la forte plastification du polymère imposée par les conditions de sursaturation. Nous avons aussi testé la possibilité de prédire les courbes de solubilité par des méthodes numériques abinitio (par dynamique moléculaire et méthodes quantiques). Les méthodes expérimentales et numériques ont été validées en étudiant des systèmes polymère/PA dont les courbes de solubilité ont déjà été déterminées par des méthodes classiques. Les systèmes étudiés sont : PVPK12/indometacine, PVPK30/griseofulvine et  $\beta$ -cyclodextrine méthylée/griseofulvine. Les techniques d'investigations utilisées sont esentiellemnt l'analyse enthalpique différentielle à balayage (DSC) et la diffraction des rayons X sur poudre (DRX).

## Mots clefs : diagrammes de phases, solubilité, broyage, mécanosynthèse, amorphisation, dissolution, demixtion, transition vitreuse, verre, matériaux pharmaceutiques, polymorphisme, complexation, polymère, cyclodextrine, indométacine, griséofulvine, simulation numérique.

The molecular dispersion of a drug into a polymer is generally used to increase both its solubility and the physical stability of its amorphous form. However, this formulation route requires a perfect knowledge of the solubility of the drug in the polymer. This property is in particular important for selecting appropriate polymers for formulations since it defines the maximal drug loading which prevents recrystallization. However, up to now, the determination of the solubility curve of drug/polymer systems is a long and tedious task. This situation is mainly due to the high viscosity of polymers which generally makes the equilibrium saturated states very difficult to reach.

In this thesis we present an original method to determine faster the solubility of drugs into polymers. The originality of the method lies in the fact that the equilibrium saturated state is here reached by demixing of a supersaturated amorphous solid solution and not by the usual dissolution of a crystalline drug into an amorphous polymer. The equilibrium saturated states are thus much faster to reach due to the extra molecular mobility resulting from the strong plasticizing effect associated with the supersaturation conditions. We also test the ability of ab-initio numerical techniques (using molecular dynamics and quantum methods) to predict solubility curves. Both experimental and numerical techniques are validated using drug/polymer systems whose solubility curves have already been determined by conventional methods. The investigated systems are: PVPK12/indomethacin, PVPK30/griseofulvin and methylated  $\beta$ -cyclodextrine/griseofulvin. The investigation techniques are mainly Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Powder X-Ray Diffraction (PXRD).