

**UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE**

**UFR DE PHYSIQUE**

Laboratoire de Dynamique et Structure des Matériaux Moléculaires  
(UMR CNRS 8024)

**THESE**

En vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences des Matériaux

Présentée et soutenue publiquement par

**Vincent CARON**

Le 12 décembre 2006

**MECANOSYNTHESE ET VITRIFICATION**

**A L'ETAT SOLIDE D'ALLIAGES MOLECULAIRES**

Membres du jury :

M. Guy REUMONT, Professeur Polytech'Lille, Université de Lille 1, Président.

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

M. Gérard LE CAER, Directeur de Recherches CNRS, Université de Rennes 1, Rapporteur.

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

M. Marc DESCAMPS, Professeur, Université de Lille 1, Directeur de thèse.

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

*A Géraldine, mon épouse.*

« La théorie, c'est quand on sait tout et que rien ne fonctionne. La pratique, c'est quand tout fonctionne et que personne ne sait pourquoi. Ici, nous avons réuni théorie et pratique : Rien ne fonctionne... et personne ne sait pourquoi. »

Albert Einstein

# Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein du Laboratoire de Dynamique et Structure des Matériaux Moléculaires (LDSMM) de l'Université des Sciences et Technologies de Lille.

Mes plus sincères remerciements vont à Messieurs Jean-François Willart, Chargé de Recherches CNRS, et Marc Descamps, Professeur à l'USTL, qui ont accepté d'encadrer ce travail. Par leurs compétences scientifiques, leurs nombreux conseils avisés, leur soutien et leur patience, ils ont grandement contribué à la réussite de ce projet.

J'exprime ma reconnaissance à Messieurs Gérard Coquerel, Professeur à l'Université de Rouen, et Gérard Le Caër, Directeur de Recherches CNRS à l'Université de Rennes 1 (GMCM), pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail et d'en être les rapporteurs. Merci également à Monsieur Guy Reumont, Professeur à Polytech'Lille, pour avoir accepté de présider le jury.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur Ronan Lefort, Maître de conférences à l'Université de Rennes 1 (GMCM), à plusieurs titres. Il m'a initié à la RMN avec une grande pédagogie et beaucoup de patience. Ses nombreux conseils et suggestions concernant l'exploitation des données ont été précieux. Ses remarques sur les chapitres relatifs à la RMN ont été très constructives. Je le remercie aussi pour avoir accepté d'évaluer ce travail en tant qu'examinateur.

Je tiens à remercier Messieurs Jacques Lefebvre, Professeur au LDSMM, Patrick Derollez, Maître de conférences au LDSMM et Cyril Platteau, ancien doctorant au LDSMM pour m'avoir formé à l'analyse microstructurale. Je remercie également Monsieur Patrick Derollez pour les nombreuses discussions que nous avons eues concernant l'exploitation des résultats obtenus.

Je suis reconnaissant envers Madame Florence Danède et Monsieur Frédéric Capet, ingénieurs d'études, pour les expériences de diffraction des rayons X sur poudre. Merci à

Monsieur Dominique Prevost, assistant ingénieur, pour la préparation de certains échantillons et pour la réalisation de certains montages expérimentaux.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur Bertrand Revel, du centre commun de mesure RMN, pour l'aide qu'il m'a apportée lors des expériences de RMN.

Un grand merci aussi à Géraldine, ma femme, pour avoir relu avec attention le manuscrit (ce qui n'est pas rien lorsque l'on n'est pas de formation scientifique), pour la mise en page et pour son soutien.

Je ne saurais oublier ma famille et ma belle-famille pour leur soutien qui m'a permis de mener ce travail avec plus de sérénité.

Je suis très reconnaissant envers Mesdames Yolande Odou et Sandrine Meilen, secrétaires au LDSMM, pour leur efficacité et leur gentillesse.

Je remercie également les autres membres du laboratoire qui, par leur sympathie et leur gentillesse, ont contribué à rendre agréable ces quelques années passées au LDSMM.

# MECANOSYNTHESE ET VITRIFICATION A L'ETAT SOLIDE D'ALLIAGES MOLECULAIRES

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
A. Contexte général de l'étude.....	3
B. Objectifs de la thèse.....	6
C. Organisation de la thèse.....	9
<b>Chapitre I : Rappels bibliographiques et théoriques.....</b>	<b>15</b>
A. Le broyage mécanique.....	17
A.1. Contexte de l'étude dans le domaine pharmaceutique.....	17
A.2. Modélisations des transformations de phases induites par broyage.....	19
A.2.1. Effet Gibbs-Thomson.....	21
A.2.2. Critère de Lindemann généralisé.....	22
A.2.3. Théorie de Fecht.....	23
A.2.4. Théorie des alliages forcés.....	25
B. Propriétés générales des verres.....	27
B.1. Définition et formation d'un verre.....	27
B.2. Caractéristiques thermodynamiques et structurales des verres.....	29
B.3. Dynamique des verres.....	30
C. Mécanosynthèse d'alliages moléculaires.....	32
C.1. Premiers résultats et applications potentielles en pharmacie.....	32
C.2. Loi de Gordon-Taylor.....	34
D. Diagrammes de phases.....	36
D.1. Variance d'un système.....	37
D.2. Lecture d'un diagramme de phases binaire température-composition.....	37
D.3. Triangle de Tammann.....	41
<b>Chapitre II : Techniques de broyage et de caractérisation.....</b>	<b>45</b>
A. Le broyage.....	47
B. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	48
C. Diffraction des rayons X sur poudre.....	50
D. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	53
E. Analyse thermogravimétrique.....	54

<b>Chapitre III : Présentation et propriétés du lactose .....</b>	<b>57</b>
A. Caractéristiques et pseudo-polymorphisme du lactose.....	60
B. Propriétés structurales et thermodynamiques du lactose .....	62
C. Obtention du $\alpha$ -lactose anhydre stable .....	66
<b>Chapitre IV : Transformation directe cristal <math>\rightarrow</math> verre du <math>\alpha</math>-lactose anhydre stable par broyage .....</b>	<b>69</b>
A. Les caractéristiques du $\alpha$ -lactose anhydre stable .....	71
A.1. Etude par RMN $^1\text{H}$ .....	72
A.2. Etude par DRX .....	77
A.3. Etude par DSC .....	77
A.4. Synthèse .....	79
B. Recristallisation du $\alpha$ -lactose amorphe.....	80
C. Structure du composé équimolaire $\alpha/\beta$ .....	83
D. Conclusion .....	88
<b>Chapitre V : Etude de la mutarotation du <math>\alpha\text{L}</math> en fonction de la température.....</b>	<b>93</b>
A. $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN : une technique de choix pour l'étude de la mutarotation.....	96
A.1. Présentation des spectres du $\alpha\text{L}_\text{S}$ et du $\beta\text{L}$ .....	96
A.2. Comparaison des taux de mutarotation donnés par $^{13}\text{C}$ CP-MAS et par RMN $^1\text{H}$ du liquide..	99
B. Etude de la mutarotation en fonction de la température par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN .....	102
B.1. Etude de la mutarotation en fonction de la température dans un échantillon de $\alpha\text{L}_\text{S}$ cristallin	103
B.2. Etude de la mutarotation en fonction de la température dans un échantillon de $\alpha\text{L}$ amorphe	105
C. Analyse et discussion.....	112
C.1. Propriétés du lactose amorphe .....	112
C. 2. Mécanisme d'amorphisation.....	113
D. Conclusion .....	114

**Chapitre VI : Evolutions structurales, microstructurales et thermodynamiques du  $\alpha$ -Lactose sous broyage mécanique : du cristal vers l'amorphe ..... 119**

A. Etude par diffraction des rayons X.....	121
A.1. Evolution structurale sous broyage et estimation de la fraction amorphisée.....	121
A.2. Evolution microstructurale sous broyage .....	124
B. Etude par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN .....	129
B.1. Principe de l'estimation de la fraction amorphe par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN.....	130
B.2. Estimation de la fraction amorphe par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN .....	132
C. Etude par DSC.....	134
C.1. Présentation des thermogrammes.....	134
C.2. Evaluation de la fraction amorphe par comparaison des enthalpies de recristallisation et de fusion .....	138
C.3. Evaluation de la fraction amorphe à partir de l'amplitude des sauts de $C_p$ à la transition vitreuse .....	139
D. Discussion .....	140
E. Conclusion.....	144

**Chapitre VII : Nanocrystallisation des échantillons de lactose faiblement broyés. Interrelation entre l'état physique et les propriétés chimiques du lactose..... 149**

A. Etude par DSC du $\alpha\text{L}_s$ broyé 1 heure .....	151
B. Etude par diffraction des rayons X des phases recristallisées au chauffage des échantillons de lactose broyés .....	154
C. Analyse thermogravimétrique des échantillons de lactose broyés.....	156
C.1. Présentation générale des courbes d'ATG.....	156
C.2. Comparaison entre la courbe d'ATG et le thermogramme du lactose broyé 1 heure.....	159
D. Discussion et conclusion .....	160
D.1. Nanocrystallisation des échantillons.....	160
D.2. Interrelation entre les propriétés physiques et les propriétés chimiques des composés.....	162



<b>Chapitre VIII : Transformations du tréhalose et du mannitol sous broyage .....</b>	<b>165</b>
A. Le tréhalose.....	167
A.1. Caractéristiques et polymorphisme du tréhalose .....	168
A.2. Evolutions structurales et microstructurales du tréhalose cristallin sous broyage .....	171
A.3. Evolution thermodynamique du $T_{\beta}$ cristallin sous broyage.....	176
A.4. Comparaison $\alpha L_S / T_{\beta}$ .....	179
B. Le mannitol .....	180
B.1. Caractéristiques et polymorphisme du mannitol.....	182
B.2. Transformation polymorphique sous broyage du $M_{\beta}$ .....	186
B.3 Transformation polymorphique du mannitol $\delta$ sous broyage .....	192
C. Conclusion-interprétation des résultats dans le cadre de la théorie des alliages forcés .	194
 <b>Chapitre IX : Alliages moléculaires tréhalose/mannitol.....</b>	<b>201</b>
A. Mécanosynthèse d'alliages tréhalose/mannitol à l'état amorphe .....	204
A.1. Présentation des diffractogrammes des mélanges cobroyés.....	206
A.2. Présentation des thermogrammes des mélanges cobroyés.....	206
A.3. Rationalisation de l'évolution des températures de transition vitreuse des alliages moléculaires dans le cadre de la loi de Gordon - Taylor .....	208
A.4. Rupture de métastabilité des alliages tréhalose / mannitol obtenus par mécanosynthèse ....	213
A.5. Diagramme de phases mannitol $\alpha$ / tréhalose $\beta$ .....	220
B. Synthèse d'alliages moléculaires tréhalose/mannitol par fusion des mélanges et par trempe de la phase liquide .....	222
B.1. Présentation des thermogrammes des mélanges fondus puis trempés .....	222
B.2. Evolution des températures de transition vitreuse des mélanges liquides trempés en fonction de la concentration en mannitol – Rationalisation dans le cadre de la loi de Gordon-Taylor .....	226
C. Comparaison des alliages obtenus par mécanosynthèse avec les alliages obtenus par trempe du liquide.....	228
C.1. Comparaison des solutions solides vitreuses formées par mécanosynthèse et par voie thermique .....	228
C.2. Stabilité des alliages formés par les deux voies .....	231
D. Conclusion .....	231

<b>Chapitre X : Alliages moléculaires lactose/mannitol .....</b>	<b>237</b>
A. Cobroyages de mélanges de $\alpha$ -lactose anhydre stable et de mannitol $\beta$ - Evolution des températures de transition vitreuse en fonction de la composition .....	239
A.1. Etude par diffraction des rayons X sur poudre.....	240
A.2. Caractérisation thermodynamique des mélanges cobroyés.....	240
A.3. Rationalisation de l'évolution de la transition vitreuse des alliages moléculaires lactose/mannitol dans le cadre de la loi de Gordon et al .....	243
B. Rupture de métastabilité des mélanges cobroyés et construction du diagramme de phases binaire du système lactose/mannitol .....	246
B.1. Rupture de métastabilité des mélanges cobroyés .....	246
B.2. Diagramme de phases lactose ( $\alpha/\beta$ ) / mannitol $\alpha$ .....	250
C. Interprétations en termes d'alliages forcés des résultats obtenus sur les systèmes tréhalose/mannitol et lactose/mannitol.....	252
D. Conclusion .....	257
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>261</b>
A. Conclusion générale .....	263
B. Perspectives .....	266
<b>Annexe A : La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) .....</b>	<b>271</b>
A. DSC conventionnelle.....	273
B. DSC à modulation de température .....	274
<b>Annexe B : La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) .....</b>	<b>281</b>
A. Généralités sur la RMN .....	283
B. RMN du $^{13}\text{C}$ .....	287
C. RMN de l'état solide .....	288

<b>Annexe C : Analyse microstructurale par diffraction des rayons X sur poudre .....</b>	<b>291</b>
A. Principe de l'analyse microstructurale .....	293
B. Modélisation des profils de raies.....	296
C. Méthodes d'affinement et facteurs de fiabilité.....	300
<b>Annexe D : Evaluation de la fraction amorphe d'un matériau par DSC .....</b>	<b>305</b>
<b>Annexe E : Facteurs d'accord jugeant de la qualité des affinements réalisés sur les diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre.....</b>	<b>311</b>
A. Analyses microstructurales des échantillons de lactose broyés .....	313
B. Analyses microstructurales des échantillons de tréhalose broyés .....	313
C. Estimation des phases $\alpha$ et $\beta$ au sein des échantillons de mannitol broyés .....	314
D. Analyses microstructurales des échantillons de mannitol broyés .....	314

# **INTRODUCTION GENERALE**

## A. Contexte général de l'étude

### Matériaux de la pharmacie : état physique et intérêt thérapeutique

Les travaux présentés dans cette thèse ont été inspirés par des problématiques relevant de la pharmacie. Lors de la formulation des médicaments à l'état solide, les différents composés moléculaires constituant les médicaments sont généralement soumis à diverses perturbations extérieures. Parmi ces perturbations, le broyage est l'une des plus couramment rencontrées. Les opérations de broyage interviennent fréquemment dans la mise en forme des médicaments pour obtenir des granulométries fines. Cette réduction de taille des particules est nécessaire pour certains modes d'administration de médicaments (comme l'inhalation) et pour la mise en forme de comprimés ou de tablettes. Cependant, de par leurs constantes élastiques faibles, les composés pharmaceutiques sont très sensibles aux perturbations mécaniques qui peuvent induire des transformations de phases. De nombreux articles de la littérature pharmaceutique rapportent que le broyage des matériaux moléculaires peut induire des transformations de phases cristal  $\rightarrow$  cristal <sup>[1, 2]</sup> ou des amorphisations <sup>[3-5]</sup>. De telles transformations influencent considérablement la stabilité et la solubilité des composés. En conséquence, les propriétés thérapeutiques et la biodisponibilité de ces substances s'en trouvent profondément modifiées. Ces transformations peuvent être gênantes lorsqu'elles conduisent à des états physiques peu adaptés à l'administration médicamenteuse (faible biodisponibilité...). Par contre, elles peuvent également se révéler utiles lorsque la phase obtenue sous broyage est mieux assimilable par l'organisme. C'est le cas, par exemple, des phases amorphes qui présentent généralement une meilleure solubilité et donc une meilleure biodisponibilité. Cet avantage n'est pas négligeable lorsque l'on sait que plus de 40 % des nouvelles substances thérapeutiques récemment découvertes ou synthétisées sont pratiquement insolubles dans l'eau à l'état cristallin <sup>[6]</sup>. Plus de 90 % des substances médicamenteuses approuvées depuis 1995 ont une faible solubilité ou une faible perméabilité ou les deux en même temps <sup>[6]</sup>. Obtenir des phases amorphes peut permettre de pallier cet inconvénient. Par contre, ces phases sont beaucoup moins stables que les phases cristallines. L'un des enjeux majeurs de l'industrie pharmaceutique est donc de produire et de stabiliser ces phases amorphes afin de proposer de nouveaux modes de formulation.

Les états amorphes solides sont obtenus classiquement par fusion suivie d'une trempe thermique. Les excursions à haute température des composés organiques entraînent souvent des dégradations chimiques (par exemple la caramélisation et la mutarotation dans le

cas du lactose <sup>[7-10]</sup>) inacceptables pour la préparation des solides amorphes « chimiquement purs ». Dans l'industrie pharmaceutique plusieurs procédés opérant à basse température peuvent conduire à des états amorphes comme, par exemple, l'atomisation (ou « spray drying ») et la lyophilisation. Cependant, ces procédés nécessitent une étape initiale de dissolution. Cette étape peut, elle aussi, conduire à des modifications chimiques, telles que la mutarotation. Par ailleurs, l'utilisation de solvants est un handicap dans l'industrie pharmaceutique car beaucoup d'entre eux, efficaces dans le cas de composés organiques, ne sont pas acceptables par la pharmacopée (par exemple le benzène). De plus, les états amorphes obtenus ne sont, en général, pas totalement secs et il faut recourir à des étapes ultérieures de chauffage qui, elles aussi, sont susceptibles d'affecter chimiquement les matériaux. Le broyage, pour toutes ces raisons, est un bon candidat pour devenir un procédé de production d'états amorphes sauvegardant l'intégrité chimique s'il n'est pas accompagné d'un chauffage excessif des composés.

### Effets du broyage – Alliages métalliques

Les effets du broyage sont très étudiés en métallurgie <sup>[11-18]</sup> où cette technique permet de produire des alliages amorphes <sup>[19-21]</sup>. Ces alliages ne peuvent être obtenus en grande quantité par les traitements thermiques habituels du fait de l'impossibilité d'atteindre des vitesses de trempe suffisamment rapides. Si les transformations de phases classiques sont habituellement bien décrites dans le cadre de la thermodynamique d'équilibre et de la thermodynamique des processus irréversibles, un cadre théorique unanimement accepté qui permettrait de décrire et de prédire la nature des produits finaux obtenus après broyage n'est actuellement pas disponible. De nombreux modèles tentant de rationaliser les effets du broyage sont proposés <sup>[22]</sup>. Un modèle très simple de fusion locale suivie d'une trempe thermique expliquerait les amorphisations observées dans certains cas sous broyage. D'autres modèles supposent que les défauts cristallins induits lors du broyage déstabilisent la structure cristalline <sup>[23]</sup>. Ces théories ne parviennent cependant pas à rendre compte de la diversité des transformations de phases observées sous contraintes mécaniques. La formation de défauts suite à des cisaillements et des chocs est certainement à attendre. Mais l'on peut observer aussi des transformations de phases cristal → cristal avec des améliorations de la cristallinité finale sous broyage <sup>[2]</sup>. De ce point de vue, une théorie intéressante proposée par Martin et al stipule

que les états finaux obtenus sous broyage sont des états dynamiques stationnaires plutôt que des états d'équilibre <sup>[11]</sup>.

### Matériaux moléculaires et broyage

Bien qu'observées sur de nombreux composés d'intérêt pharmaceutique, les transformations de phases sous broyage n'ont pas fait l'objet d'investigations systématiques visant à rationaliser les situations rencontrées. Pourtant, comprendre ces transformations présente un intérêt pratique pour l'industrie pharmaceutique. Leur contrôle permettrait, par exemple, d'éviter la formation d'états physiques non désirés (formes cristallines peu solubles, amorphes instables...) et de mettre au point de nouveaux modes de formulations permettant de placer les principes actifs dans des états thérapeutiquement plus efficaces mais inaccessibles par d'autres voies. Toutes ces formulations mettent en jeu des transformations qui relèvent aussi de problèmes fondamentaux de grande actualité dans le domaine de la physique de la matière condensée : systèmes hors équilibre, matériaux complexes, verres et transition vitreuse. Les composés moléculaires présentent, de ce point de vue, plusieurs propriétés spécifiques intéressantes. Leur symétrie moléculaire et leur symétrie cristalline sont généralement basses, leurs cinétiques de cristallisation sont souvent très lentes et ils présentent en général une bonne aptitude à la vitrification par refroidissement du liquide. Les interactions inter-moléculaires sont faibles (liaisons hydrogène, interactions de Van Der Waals) de sorte que leur température de fusion ainsi que leur température de transition vitreuse ( $T_g$ ) sont souvent basses (cf. chapitre I pour une définition de la température de transition vitreuse). Les évolutions des coefficients de transport à l'état amorphe présentent souvent une dépendance en température non arrhénienne avec une évolution spectaculaire à l'approche de la zone de transition vitreuse. Les composés moléculaires sont donc souvent classés dans la catégorie des formateurs de verres fragiles<sup>[24]</sup>. Toutes ces spécificités conduisent à s'attendre à une forte influence de la température de broyage sur la nature des transformations de phases observées lorsque les composés moléculaires sont soumis à des sollicitations mécaniques. D'un point de vue fondamental, ces composés offrent de nouvelles situations d'études intéressantes qui devraient permettre de tester les approches théoriques développées pour la métallurgie et les composés inorganiques.

### Quelques résultats antérieurs

Lors d'études antérieures à ce travail réalisées au laboratoire (études consacrées au broyage de composés moléculaires cristallins purs) un certain nombre de tendances ont pu être dégagées :

- A assez forte intensité de broyage et assez basse température, il est possible d'amorphiser un composé (exemple : le tréhalose <sup>[5, 25]</sup>).
- Par contre, pour des températures de broyage plus élevées (en pratique supérieures à la température de transition vitreuse de l'état amorphe du composé), le broyage du cristal peut entraîner une transformation polymorphique (exemple : le sorbitol<sup>[2]</sup>)
- Pour un même composé, diminuer la température de broyage ou augmenter l'intensité de broyage peut conduire à changer la nature de l'état physique final généré par broyage : transformation polymorphique cristalline (haute température ou basse intensité de broyage) ou amorphisation (basse température ou haute intensité de broyage)<sup>[25, 26]</sup>. Toutes ces observations, bien que très partielles, tendent à valider une approche de type « matériaux forcés » pour expliquer la nature des états finaux en tant que « dynamic end-products »<sup>[27]</sup> sous broyage des matériaux moléculaires.

### **B. Objectifs de la thèse**

L'objectif général de la thèse est d'étudier les effets de cobroyage de poudres cristallines moléculaires afin : (1) de tester la possibilité de réaliser des alliages moléculaires amorphes à l'état solide ; (2) d'analyser l'influence de la concentration à température et intensité de broyage fixées sur la nature des produit finaux issus des cobroyages. Jusqu'à présent, seules quelques rares tentatives de cobroyage de matériaux moléculaires ont été signalées dans la littérature <sup>[28-31]</sup>. Nous avons choisi d'étudier plus particulièrement des situations où le broyage met en jeu un composé de haut Tg et un composé de bas Tg. Nous avons également sélectionné des composés ayant individuellement, sous broyage, des comportements très différents de façon à mettre en évidence d'éventuelles influences critiques



de la concentration sur la nature des produits finaux. Cette situation présente à la fois un intérêt fondamental et un intérêt pratique.

*D'un point de vue fondamental*, nous utiliserons la possibilité de faire varier la température de transition vitreuse des mélanges par changement de composition chimique. Cela permettra de révéler l'influence de l'écart entre la température de broyage et la température de transition vitreuse sur la nature des transformations induites par broyage. Cette approche permet de s'affranchir des difficultés expérimentales associées à la procédure inverse qui consiste à faire varier la température de broyage d'un composé ayant une température de transition vitreuse fixe. Des études antérieures réalisées au laboratoire ont d'ailleurs déjà montré les difficultés et les limites de cette deuxième approche <sup>[25, 26]</sup>.

*D'un point de vue pratique*, la situation étudiée est en prise directe avec les problèmes de la formulation pharmaceutique. Elle devrait permettre de stabiliser l'état amorphe d'un principe actif de bas T<sub>g</sub> par mélange avec un excipient de haut T<sub>g</sub>. Il sera important de voir à quel point le broyage est capable d'induire ou non des dégradations chimiques et de réaliser pratiquement des solutions solides amorphes qui ne seraient pas réalisables par trempe thermique.

Les composés étudiés ont été choisis pour leur intérêt pratique dans le domaine de la formulation pharmaceutique et en fonction de leurs caractéristiques physiques et chimiques. Les composés de haut T<sub>g</sub> étudiés seront le lactose et le tréhalose. Ces deux disaccharides sont très utilisés comme excipients et se caractérisent par une température de transition vitreuse particulièrement élevée (respectivement 101° C <sup>[32]</sup> et 120 °C <sup>[33]</sup>). Vis-à-vis de nos objectifs, ils apparaissent complémentaires. Le lactose est par exemple soumis (comme nous le verrons au chapitre V) à un fort effet de mutarotation au chauffage. Cette particularité sera utilisée comme une sonde chimique permettant d'estimer la température vraie de l'échantillon au cours du broyage lui-même. Par ailleurs, la fusion se traduit par une dégradation chimique forte (caramélisation) rendant impossible la formation d'un alliage par trempe d'un mélange liquide. A l'inverse, le tréhalose n'est soumis à aucun phénomène de mutarotation et peut être fondu sans dégradation, ce qui autorise la formation d'alliages par fusion-trempe. Cela permettra une étude comparée des alliages obtenus par cette voie avec ceux obtenus directement à l'état solide par cobroyage.

Le composé de bas Tg (13°C) étudié sera le mannitol. Il a été, lui aussi, choisi pour sa grande utilité en formulation pharmaceutique. Il ne présente aucune dégradation chimique lors de la fusion ce qui en fait un bon candidat pour tester les possibilités de formation d'alliages. Par contre, à l'état pur, ce composé est très difficilement vitrifiable par trempe<sup>[34]</sup> contrairement au tréhalose. De plus, son polymorphisme sous-jacent<sup>[35-38]</sup> laisse envisager l'existence de transformations polymorphiques sous broyage. En tentant de réaliser des alliages de disaccharides avec le mannitol, on cherche à associer des composés ayant, aussi bien du point de vue de leur état vitreux que de leur cinétique de vitrification, des comportements très différents qui laissent présager des modifications de comportement notables en fonction de la concentration.

**Les objectifs spécifiques concernant le broyage des composés purs sont décrits ci-dessous :**

- Nous chercherons à identifier les chemins cinétiques suivis par les échantillons de lactose et de tréhalose lors des transformations cristal→verre sous broyage.
- La mutarotation, qui est une propriété marquante du lactose, empêche l'obtention du  $\alpha$ -lactose amorphe pur par les techniques classiques d'amorphisation. Nous chercherons donc à voir si l'amorphisation par broyage permet d'éviter la mutarotation et de conduire à l'obtention de  $\alpha$ -lactose amorphe pur. Cette mutarotation sera aussi utilisée comme une sonde chimique pour estimer la température de l'échantillon lors des impacts reçus au cours du broyage. Cela permettra de tester l'hypothèse selon laquelle l'amorphisation résulterait d'un simple mécanisme de fusion-trempe.
- La possibilité de broyer plusieurs formes cristallines du mannitol sera l'occasion de discuter des transformations induites par un broyage à une température supérieure à la température de transition vitreuse du composé à l'état amorphe. Cela devrait permettre de tester l'existence d'états stationnaires ainsi que le caractère dynamique de ces transformations.

**Les objectifs spécifiques concernant les études de cobroyages sont :**

- de comparer les propriétés thermodynamiques des alliages vitreux obtenus par mécanosynthèse avec celles des alliages vitreux obtenus par fusion trempe sur le système tréhalose/mannitol qui peut supporter la fusion. Nous verrons que le cobroyage a permis d'accéder au diagramme de phases binaire du système étudié, ce qui ne serait pas envisageable par fusion-trempe.
- d'obtenir par mécanosynthèse des alliages amorphes binaires lactose/mannitol. La formation de tels alliages par trempe des mélanges liquides est impossible du fait des dégradations chimiques.
- de tester l'influence de la position relative de la température de transition vitreuse par rapport à la température de broyage sur les transformations de phases générées par broyage. Le changement de la zone de transition vitreuse des mélanges cobroyés par modification de composition chimique sera une manière originale de tester cette influence .

**C. Organisation de la thèse**

Le **chapitre I** définit le contexte dans lequel cette thèse a été effectuée. Il propose une étude bibliographique des effets du broyage sur les composés pharmaceutiques. Il décrit les différents modèles qui ont été proposés jusqu'à présent pour tenter de rationaliser les transformations de phases observées sous broyage. Quelques notions sur la transition vitreuse nécessaires à la compréhension des travaux de cette thèse sont présentées. Ce chapitre expose également la théorie de Gordon-Taylor qui permet de rationaliser l'évolution des températures de transition vitreuse en fonction de la composition dans les mélanges binaires amorphes. Les diagrammes de phases binaires composition-température sont aussi abordés.

Le **chapitre II** décrit la technique de broyage employée et les techniques expérimentales utilisées pour caractériser les échantillons broyés.

Le **chapitre III** présente les deux molécules de lactose ( $\alpha$ -lactose et  $\beta$ -lactose) ainsi que la réaction de mutarotation (transformation d'un anomère en l'autre anomère). Les principales caractéristiques structurales et thermodynamiques des différentes formes cristallines du lactose connues au début de la thèse sont énoncées.

Les **chapitres IV à VII** concernent les évolutions du lactose sous broyage.

Le **chapitre IV** montre la possibilité d'obtenir du  $\alpha$ -lactose amorphe pur (sans caramélisation et sans mutarotation) directement à l'état solide par broyage du  $\alpha$ -lactose anhydre stable. Cette étude sera aussi l'occasion de tester la validité de l'hypothèse de fusion-trempe locale souvent invoquée pour expliquer l'amorphisation sous broyage de composés d'intérêt pharmaceutique.

Le **chapitre V** met en évidence que la résonance magnétique nucléaire (RMN) à l'état solide du carbone 13 est une technique permettant de suivre directement, in situ, la mutarotation des molécules de lactose. Nous utiliserons cette technique pour caractériser la réaction de mutarotation dans le lactose en fonction de la température et de la nature (cristalline ou amorphe) des échantillons. Le couplage entre la mutarotation et les relaxations structurales lentes sous Tg sera également discuté.

Le **chapitre VI** est consacré à l'évolution du  $\alpha$ -lactose anhydre stable au cours de la transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre induite par broyage. Des études structurales, microstructurales et thermodynamiques de ce composé en fonction de la durée du broyage sont présentées. La quantification de la fraction amorphe en fonction de la durée du broyage est réalisée par diffraction des rayons X sur poudre, RMN et analyse calorimétrique différentielle (DSC). Ces études posent la question de la discrimination de l'état amorphe et de l'état cristallin par ces différentes techniques.

Le **chapitre VII** traite de la corrélation entre le degré d'amorphisation sous broyage et la nature des phases recristallisées.

Le **chapitre VIII** présente le comportement sous broyage de deux autres composés : le tréhalose et le mannitol. Le tréhalose étant un isomère du lactose, ses évolutions

structurales, microstructurales et thermodynamiques sous broyage seront comparées avec celles du  $\alpha$ -lactose anhydre stable. Les transformations de phases des différentes formes cristallines du mannitol sous broyage seront étudiées de manière à tester le caractère dynamique de ce type de transformations et l'existence d'états stationnaires sous broyage.

Le **chapitre IX** propose de tester la possibilité d'obtenir des solutions solides vitreuses hors équilibre à partir de mélanges binaires tréhalose/mannitol. Deux voies d'amorphisation sont utilisées : le cobroyage des mélanges à partir des poudres cristallines et la trempe des mélanges fondus. L'évolution de la température de transition vitreuse (observée ou supposée) en fonction de la composition de ces mélanges permet d'étudier l'influence de la position relative de la température de transition vitreuse par rapport à la température de broyage sur la nature des états finaux obtenus après broyage. Par ailleurs, les résultats obtenus permettent de proposer un diagramme de phases binaire du système tréhalose/mannitol auquel il n'est pas possible d'accéder par les voies classiques.

Le **chapitre X** traite de la possibilité d'obtenir des solutions solides vitreuses hors équilibre par cobroyage de mélanges lactose/mannitol, ce système n'autorisant pas la formation de tels alliages par fusion puis trempe des mélanges en raison des dégradations thermiques du lactose. Un résultat particulièrement intéressant révélé par le comportement des échantillons cobroyés est la possibilité d'accéder au diagramme de phases binaire du système lactose/mannitol auquel on ne peut accéder par les voies thermiques habituelles.

### Références

- 1 T. P. Shakhshneider, *Phase transformations and stabilization of metastable states of molecular crystals under mechanical activation*, Solid State Ionics **101-103**, 851 (1997)
- 2 J. F. Willart, J. Lefebvre, F. Danede, S. Comini, P. Looten, and M. Descamps, in *Solid State Communications*, 2005), Vol. 135, p. 519.
- 3 I. Tsukushi, O. Yamamuro, and T. Matsuo, *Solid state amorphization of organic molecular crystals using a vibrating mill*, Solid State Communications **94**, 1013 (1995)
- 4 J. Font, J. Muntasell, and E. Cesari, *Amorphization of organic compounds by ball milling*, Materials Research Bulletin **32**, 1691 (1997)
- 5 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, G. Odou, F. Danede, and M. Descamps, *Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling*, Solid State Communications **119**, 501 (2001)
- 6 *First International Workshop on the Pharmaceutical Physical Characterization of the Amorphous State, Stamford, USA*, (2006),
- 7 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussindrager, and J. van-Leverink, *Alterations of alpha-lactose during differential scanning calorimetry*, Journal of pharmaceutical sciences **73**, 856 (1984)
- 8 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussendrager, and J. van-Leverink, *Transitions of lactoses by mechanical and thermal treatment*, Journal of pharmaceutical sciences **73**, 857 (1984)
- 9 S. Garnier, *Contribution à l'étude de la cristallisation en solution. Application à la purification et à l'étude de composés moléculaires: Un thiocarboester et le  $\alpha$ -lactose monohydrate*, University of Rouen, (2001)
- 10 S. Garnier, S. Petit, and G. Coquerel, *Influence of supersaturation and structurally related additives on the crystal growth of alpha-lactose monohydrate*, Journal of Crystal Growth **234**, 207 (2002)
- 11 G. Martin and P. Bellon, *Driven alloys*, Solid State Physics, New York **50**, 189 (1997)
- 12 D. B. Witkin and E. J. Lavernia, in *Progress in Materials Science*, 2006), Vol. 51, p. 1.
- 13 E. Ma, in *Progress in Materials Science*, 2005), Vol. 50, p. 413.
- 14 C. Suryanarayana, in *Progress in Materials Science*, 2001), Vol. 46, p. 1.

- 15 R. Janot and D. Guerard, in *Progress in Materials Science*, 2005), Vol. 50, p. 1.
- 16 B. F. O. Costa, G. Le Caer, S. Begin-Colin, P. J. Mendes, and N. Ayres de Campos, *Characterisation of mechanically alloyed Fe-Cr-Sn alloys*, *Journal of Materials Processing Technology* **92-93**, 395 (1999)
- 17 S. Gialanella, X. Amils, M. D. Baro, P. Delcroix, G. Le Caer, L. Lutterotti, and S. Surinach, *Microstructural and kinetic aspects of the transformations induced in a FeAl alloy by ball-milling and thermal treatments*, *Acta Mater.* **46 No 9**, 3305 (1998)
- 18 K. Wolski, G. Le Caer, P. Delcroix, R. Fillit, F. Thévenot, and J. Le Coze, *Influence of milling conditions on the FeAl intermetallic formation by mechanical alloying*, *Mater. Sci. Eng.* **A207**, 97 (1996)
- 19 Y. Chen, M. Bibole, R. L. Hazif, and G. Martin, *Ball-milling-induced amorphization in Ni<sub>x</sub>Zr<sub>y</sub> compounds*, *Physical Review B* **48**, 14 (1993)
- 20 C. C. Koch, O. B. Cavin, C. G. McKamey, and J. O. Scarbrough, *Preparation of "amorphous" Ni<sub>60</sub>Nb<sub>40</sub> by mechanical alloying*, *Applied Physics Letters* **43**, 1017 (1983)
- 21 E. Gaffet, *Planetary ball-milling : an experimental parameter phase diagram*, *Mater. Sci. Eng.* **A132**, 181 (1991)
- 22 P. R. Okamoto, N. Q. Lam, and L. E. Rehn, *Physics of crystal-to-glass transformations*, *Solid state physics* **52**, 1 (1999)
- 23 H. J. Fecht, in *Nature*, 1992), Vol. 356, p. 133.
- 24 C. Angell, *Relaxation in liquids, polymers and plastic crystals strong/fragile patterns and problems*, *Journal of Non Crystalline Solids* **130**, 1 (1991)
- 25 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)
- 26 S. Desprez, *Transformations de phases induites par broyage dans un composé moléculaire: l'indométhacine*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2004)
- 27 G. Martin and E. Gaffet, *Proc. Int. Conf. on the Amorphisation by Solid-State Reaction*, *J. Phys. Colloq. Suppi.* **C4, T51**, 71 (1990)
- 28 J. Font, J. Muntasell, E. Cesari, and J. Pons, *Preparation of molecular alloys by the ball-milling technique*, *Journal of Materials Research* **11**, 1069 (1996)

- 29 J. Font, J. Muntasell, E. Cesari, and J. Pons, *Solid-state mechanical alloying of plastic crystals*, Journal of Materials Research **12**, 3254 (1997)
- 30 M. Nagahama, H. Suga, and O. Andersson, *Formation of molecular alloys by solid-state vitrification*, Thermochemica acta **363**, 165 (2000)
- 31 M. Nagahama and H. Suga, *Molecular alloys formed by solid-state vitrification*, Journal of Molecular Liquids **95**, 261 (2002)
- 32 Y. H. Roos, *Phase Transitions in Foods* (Academic Press, 1995).
- 33 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, M. Descamps, F. Leveiller, and R. Rameau, *Vitrification and polymorphism of trehalose induced by dehydration of trehalose dihydrate*, Journal of Physical Chemistry B **106**, 3365 (2002)
- 34 L. Yu, D. S. Mishra, and D. R. Rigsbee, *Determination of the glass properties of D-mannitol using sorbitol as an impurity*, J. Pharm. Sciences **87**, 774 (1998)
- 35 H. M. Berman, G. A. Jeffrey, and R. D. Rosenstein, *The crystal Structures of the a' and b forms of D-Mannitol.*, Acta Cryst. B **24**, 442 (1968)
- 36 C. E. Botez, P. W. Stephens, C. Nunes, and R. Suryanarayanan, *Crystal structure of anhydrous d-D-mannitol*, Powder Diffraction **18**, 214 (2003)
- 37 H. S. Kim, G. A. Jeffrey, and R. D. Rosenstein, *The crystal structure of the K form of D-mannitol*, Acta Cryst. B **24**, 1449 (1967)
- 38 A. Burger, J.-O. Henck, S. Hetz, J. M. Rollinger, A. A. Weissnigh, and H. Stottner, *Energy/temperature diagram and compression behavior of the polymorphs of D-Mannitol*, J. Pharm. Sciences **89**, 457 (2000)



# **CHAPITRE I**

## **Rappels bibliographiques et théoriques**

Ce chapitre présente les éléments théoriques nécessaires à la compréhension des résultats obtenus au cours de la thèse. La section A décrit les effets du broyage mécanique sur les matériaux moléculaires. La section B porte sur l'état vitreux et ses caractéristiques. La section C est consacrée à la mécanosynthèse d'alliages moléculaires. La section D aborde les diagrammes de phases binaires.

## **A. Le broyage mécanique**

### **A.1. Contexte de l'étude dans le domaine pharmaceutique**

La réduction de taille des grains au sein d'une poudre, qui est une opération fréquente dans l'ingénierie pharmaceutique, comporte un grand nombre d'avantages :

- Elle augmente le ratio surface/volume des grains. La surface spécifique étant plus grande, l'absorption de principe actif par l'organisme est plus efficace en raison d'une meilleure solubilité <sup>[1]</sup>. Cela permet d'avoir une meilleure biodisponibilité et donc de réduire les quantités de principe actif dans les dosages des gélules et comprimés (limitation des effets secondaires). Par ailleurs, l'augmentation de la surface spécifique améliore la tenue mécanique des pastilles. En effet, le nombre de points de contact entre les petits grains étant important, le nombre de liaisons interparticulaires durant l'étape de compression est accru.
- Certains modes d'administration nécessitent de disposer de fines particules. Les inhalateurs, utilisés pour des affections pulmonaires comme l'asthme par exemple, utilisent des poudres de granulométrie inférieure au micromètre <sup>[2]</sup>.

Les méthodes employées pour obtenir cette granulométrie fine sont assez variées. On peut citer l'atomisation (spray-drying), la micronisation, ou le broyage mécanique. Cette dernière technique est la plus courante.

De par leurs constantes élastiques faibles, les composés moléculaires utilisés en pharmacie sont très sensibles aux sollicitations mécaniques telles que le broyage. Les matériaux thérapeutiques sont des composés organiques dont les petites molécules se forment par liaisons covalentes entre les atomes. Ces molécules établissent des liaisons

intermoléculaires faibles (de type interactions de Van Der Waals ou liaisons hydrogène) pour constituer des solides cristallins. Ce contraste entre champs de force intramoléculaires forts et champs de force intermoléculaires faibles est à l'origine de leurs propriétés originales : polymorphisme souvent très riche, faible température de fusion, température de transition vitreuse basse, grande sensibilité aux perturbations extérieures... Les composés pharmaceutiques possèdent une aptitude marquée à se maintenir dans des états métastables ou amorphes. Ces spécificités font que le broyage n'agit pas uniquement sur la taille des grains de la poudre mais peut induire des transitions de phases à l'état solide <sup>[1]</sup>. Ces transformations peuvent être utiles lorsqu'elles permettent de placer un matériau dans un état inaccessible par d'autres voies. Elles peuvent être gênantes lorsqu'elles induisent des transformations inopinées et non voulues dans des processus industriels.

Ces transformations peuvent être des transformations polymorphiques ou des amorphisations. L'indométhacine constitue un bon exemple <sup>[3]</sup>. Le broyage de la forme stable  $\gamma$  à des températures supérieures à la température de transition vitreuse de l'indométhacine amorphe provoque une transformation polymorphique vers la forme  $\alpha$  métastable. Par contre, le broyage de la forme  $\gamma$  à des températures inférieures à la température de transition vitreuse entraîne l'amorphisation de l'indométhacine. Lorsque le broyage de ce composé est effectué à des températures proches de la transition vitreuse, la nature des états finaux obtenus dépend de l'intensité de broyage. Une intensité de broyage forte provoque l'amorphisation du composé tandis qu'une intensité de broyage plus faible entraîne une transformation polymorphique vers une autre forme cristalline. Le broyage de la fanansérine provoque une amorphisation partielle lorsque cette opération est réalisée en dessous de la transition vitreuse du composé et une transformation polymorphique cristal  $\rightarrow$  cristal lorsque le broyage est effectué au-dessus de  $T_g$  <sup>[4]</sup>. La dualité amorphisation/transformation polymorphique semble donc gouvernée par la température de broyage et par l'intensité du broyage. D'autres études ont montré l'amorphisation sous broyage de divers composés moléculaires tels le tréhalose <sup>[5]</sup>, le sucrose <sup>[6]</sup>... Le broyage permet donc d'obtenir, dans certains cas, des états métastables mécaniquement activés <sup>[1]</sup> qui sont plus intéressants que la forme de départ (accroissement de la solubilité, de la réactivité) mais qui sont moins stables.

Bien que les transitions de phases induites par le broyage soient fréquemment rencontrées dans le domaine pharmaceutique et en dépit d'une littérature abondante sur le

sujet, les modifications par broyage de matériaux thérapeutiques n'ont fait que rarement l'objet de tentatives d'approche physique. Les mécanismes qui gouvernent ces transformations à l'état solide sont encore mal connus et aucune théorie universelle et unanimement acceptée rationalisant ces phénomènes n'existe à ce jour.

Les transformations induites par broyage mécanique sont connues et étudiées depuis longtemps dans le domaine des matériaux métalliques et intermétalliques [7-13]. Diverses études portent sur l'amorphisation de matériaux métalliques purs comme le germanium ou le sélénium [14]. Ce dernier présente certaines similitudes avec les systèmes moléculaires : transition vitreuse proche de l'ambiante, formation d'associations « pseudo moléculaires ». Diverses amorphisations d'alliages ont été rapportées telles celles des alliages binaires  $Ni_xZr_Y$  [15, 16] ou de l'alliage  $Ni_{60}Nb_{40}$  [17]. Des transitions ordre-désordre ont également été observées comme pour les alliages FeAl [18]. Les principaux modèles rendant compte des effets du broyage sont exposés succinctement dans le paragraphe suivant.

## **A.2. Modélisations des transformations de phases induites par broyage**

Les principales théories élaborées pour rendre compte des transformations induites par des sollicitations mécaniques sont : l'effet Gibbs-Thomson, le critère de Lindemann généralisé et la théorie de Fecht. A ces théories basées sur l'équilibre thermodynamique s'ajoute la théorie de Martin et Bellon qui suggère que les matériaux broyés se trouvent dans des états dynamiques stationnaires, hors équilibre. Une autre théorie, souvent invoquée pour expliquer l'amorphisation des composés sous broyage, stipule que l'amorphisation se produit à cause d'élévations locales de température lors des chocs ou des frottements de la substance broyée contre les différentes pièces du broyeur. Les températures atteintes seraient supérieures à la température de fusion du composé broyé et causeraient l'amorphisation de la substance par une suite de fusions locales suivies de trempes thermiques. Sa validité sera testée lors de l'étude des effets du broyage sur le lactose (chapitres IV et V).

### A.2.1. Effet Gibbs-Thomson

L'effet Gibbs-Thomson est dû à la réduction de taille des grains causée par le broyage<sup>[19]</sup>. Cette réduction de taille provoque une surpression  $\Delta P$  dans le grain donnée par la relation :

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{r}$$

Où  $r$  est le rayon de l'agrégat microscopique et  $\gamma$ , l'énergie d'interface. Cette surpression augmente l'enthalpie libre et, par conséquent, diminue la température de fusion<sup>[20]</sup> comme illustrée sur le schéma ci-dessous<sup>[4]</sup> :

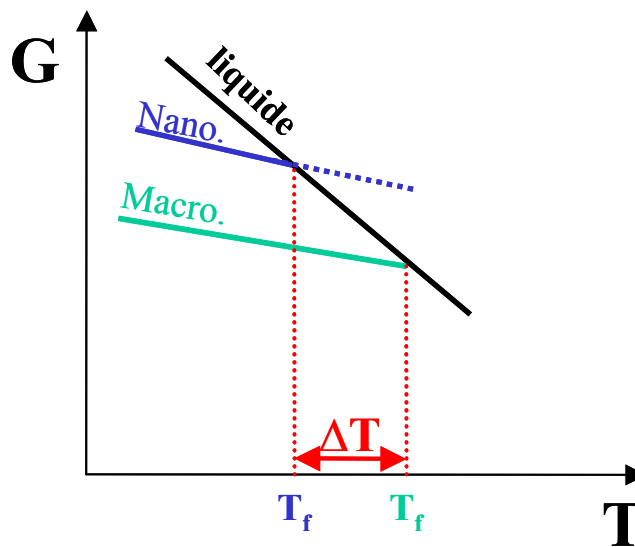


Fig. I.1 :

Diagramme de Gibbs représentant  $G(T)$  pour un cristal non broyé macroscopique et pour un agrégat microscopique. L'interface plus importante dans le cas de l'agrégat perturbe l'enthalpie libre et décale la fusion vers des températures plus basses

Cet effet rend compte de l'évolution des températures de fusion des composés en fonction de certains paramètres de broyage (durée du broyage, fréquence des chocs...). Par contre, il ne fournit aucune explication relative aux transitions de phases qui se produisent dans certains cas.

### A.2.2. Critère de Lindemann généralisé

Les premiers travaux sur la fusion avaient pour objectif de trouver un critère physique simple permettant d'expliquer ce phénomène. Au début du XX<sup>e</sup> siècle, Lindemann a proposé un modèle reposant sur les vibrations atomiques au sein d'un solide <sup>[21]</sup>. L'amplitude des vibrations atomiques augmente avec la température. Lindemann stipule que, lorsque l'amplitude de ces vibrations atteint une certaine fraction de la distance interatomique dans le réseau, le solide fond. Ce modèle a par la suite été généralisé pour prendre en compte le rôle des défauts induits par broyage au sein de la matrice cristalline. Ces défauts introduisent un déplacement statique des atomes par rapport à leur position dans le cristal parfait dont il faut tenir compte dans l'expression du déplacement quadratique moyen des atomes <sup>[22]</sup> :

$$\langle \mu_{vib}^2 \rangle + \langle \mu_{sta}^2 \rangle = \langle \mu_{tot}^2 \rangle$$

$\langle \mu_{vib}^2 \rangle$  représente les vibrations atomiques causées par la température ;

$\langle \mu_{sta}^2 \rangle$  , le déplacement statique causé par les défauts ;

$\langle \mu_{tot}^2 \rangle$  , le déplacement quadratique moyen des atomes.

La fusion du composé se produit lorsque :

$$\langle \mu_{tot}^2 \rangle = \langle \mu_{cri}^2 \rangle$$

$\langle \mu_{cri}^2 \rangle$  correspond au déplacement critique des atomes conduisant à la destruction du réseau cristallin.

A l'examen de ces équations, on s'aperçoit que la fusion peut être provoquée par deux phénomènes :

- le chauffage du cristal à la température de fusion  $T_f$  où  $\langle \mu_{vib}^2 \rangle = \langle \mu_{cri}^2 \rangle$ .
- l'introduction de défauts qui augmentent le terme  $\langle \mu_{sta}^2 \rangle$  et qui peuvent induire la fusion du solide à des températures nettement inférieures à  $T_f$ .

Ce critère est compatible avec les modèles microscopiques qui expliquent la formation des défauts dans les cristaux. Pour autant, il ne prend pas en compte les transitions polymorphiques observées dans de nombreux cas.

### A.2.3. Théorie de Fecht

Le modèle de Fecht <sup>[23]</sup> permet de rationaliser le phénomène de fusion induit par l'introduction de défauts dans le cristal. Ce modèle, basé sur la thermodynamique d'équilibre, suppose que les défauts (trous, dislocations...) font partie intégrantes de la structure cristalline. Ces défauts peuvent être introduits par des sollicitations externes telles que l'irradiation ou le broyage.

Habituellement, le critère thermodynamique traduisant la fusion s'écrit :

$$\Delta G = G_{liq} - G_{sol} = 0$$

Avec :

$G_{liq}$  : enthalpie libre de la phase liquide

$G_{sol}$  : enthalpie libre de la phase solide

La présence des défauts modifie cette équation qui devient :

$$\Delta G^* = \Delta G - \Delta G^d = 0$$

Avec :

$\Delta G^d$  : terme rendant compte de la présence de défauts.

$$\Delta G^d = C[\Delta H^d - T\Delta S^d] + kT [C \ln C + (1-C) \ln(1-C)]$$

C : concentration de défauts.

$\Delta H^d$  : variation d'enthalpie associée aux défauts.

$\Delta S^d$  : variation d'entropie associée aux défauts.

La figure 2 <sup>[4]</sup> illustre cette condition. Elle montre que plus la concentration de défauts est grande, plus la température de transition cristal  $\rightarrow$  liquide est basse. Pour une concentration limite de défauts ( $C_2$ ), l'enthalpie libre du cristal défectif devient tangente à celle du liquide. Le cristal fortement défectif se trouve alors dans une situation thermodynamique qui le pousse à basculer vers la phase liquide. En ce point, la transition est sans chaleur latente et isentropique (transition du second ordre). Si la température du système

est inférieure à la température de transition vitreuse, on assiste à une transition directe cristal → verre.

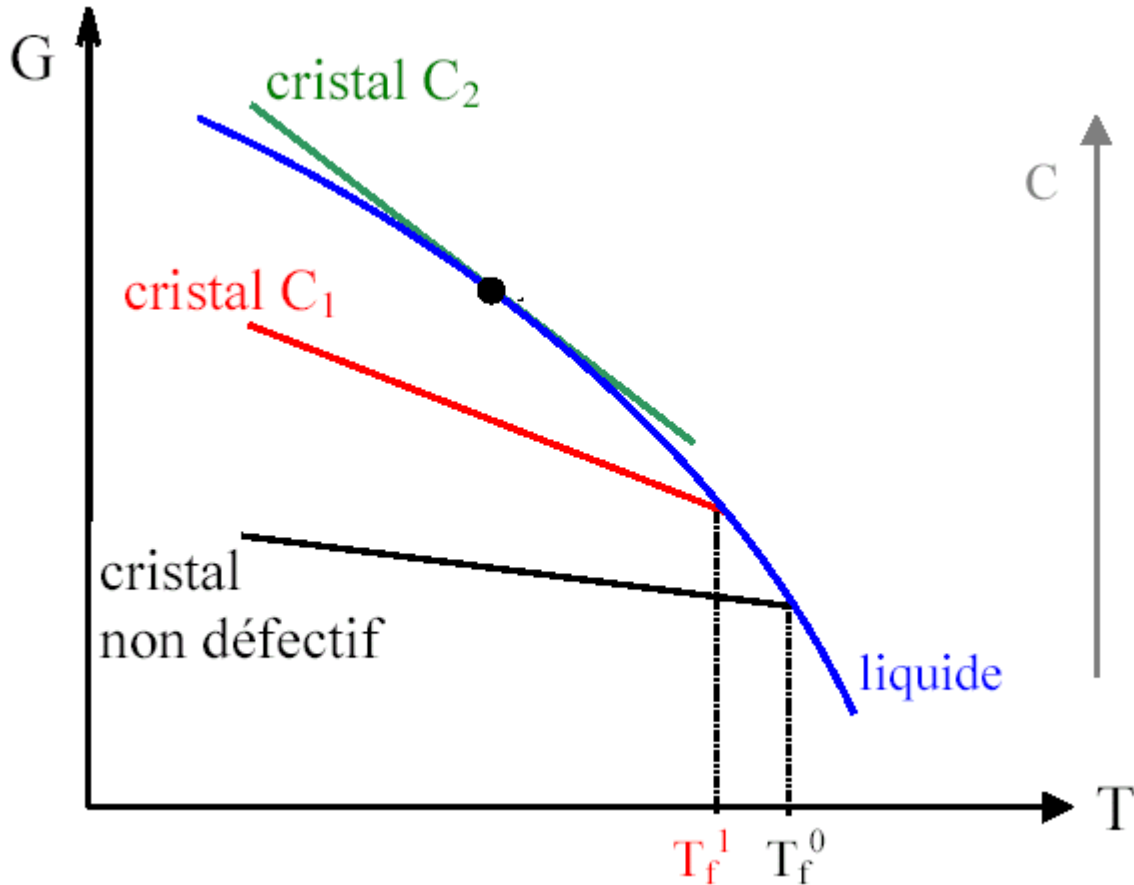


Fig.I.2 :

Représentation schématique du diagramme de Gibbs pour un cristal parfait ( $C=0$ ), un cristal contenant une concentration  $C_1$  de défauts, et un cristal contenant une concentration  $C_2$  ( $C_2 > C_1$ ) de défauts selon la théorie de Fecht

Ce modèle n'explique pas non plus les transformations polymorphiques pouvant survenir au cours du broyage de substances pharmaceutiques.



#### A.2.4. Théorie des alliages forcés

La théorie des alliages forcés de Martin et Bellon a d'abord été développée pour l'étude des transformations de phases d'alliages métalliques sous irradiation <sup>[24]</sup>. Elle a par la suite été étendue aux transitions de phases d'alliages induites par sollicitations mécaniques <sup>[7]</sup>.

Dans des conditions thermodynamiques standards, un alliage explore son espace des configurations de sorte que la configuration la plus stable soit la plus fréquemment visitée. Cette configuration est telle que l'énergie libre du système soit minimale. Dans le cas simple de transformations contrôlées par la diffusion, cette exploration se fait au moyen de sauts thermiquement activés des atomes. La fréquence de ces sauts dépend de l'environnement atomique qui est lui-même influencé par les mouvements des atomes. Dans ce cas, la configuration d'équilibre du système est décrite par un profil de concentration qui est une solution stationnaire de l'équation de diffusion appropriée <sup>[24]</sup>.

Sous irradiation ou sous broyage, l'environnement des atomes est influencé non seulement par les sauts thermiquement activés mais aussi par le forçage externe dû à l'irradiation ou au broyage : collisions nucléaires sous irradiations, glissements des dislocations induits par des déformations plastiques, fracture sous broyage intense... Les déplacements atomiques causés par ce forçage, nommés « sauts balistiques », ne dépendent pas de la température mais de l'intensité du forçage externe. Par exemple, dans le cas d'un broyeur vertical à une bille, cette intensité est définie comme la quantité de mouvement cédée à la poudre par unité de masse et de temps <sup>[15]</sup>. Cette intensité s'écrit <sup>[15, 25]</sup> :

$$I = \frac{M_b V_b f}{M_p}$$

Avec :

I : intensité

M<sub>b</sub> : masse de la bille

V<sub>b</sub> : vitesse de la bille lors de l'impact

f : fréquence des impacts

M<sub>p</sub> : masse de la poudre

Selon Martin et Bellon, les effets du broyage peuvent être décrits en fonction de 2 paramètres :  $I$  et  $T$  (température à laquelle le broyage est réalisé). L'état du système est caractérisé par  $S$ , le paramètre d'ordre. Dans le cas d'alliages FeAl, ce paramètre traduit le degré d'ordre dans l'alliage <sup>[25]</sup>.

Contrairement aux sauts thermiquement activés, les sauts balistiques sont fortement corrélés dans l'espace et le temps. Par exemple, dans le cas du broyage, le déplacement d'une dislocation dans son plan de glissement provoque un décalage égal de tous les atomes situés au-dessus de ce plan par rapport aux atomes situés en dessous. L'état atteint par le système sous forçage est généralement différent de l'état d'équilibre thermodynamique. Il s'agit d'un état stationnaire, hors équilibre. Ainsi, le système explore toujours son espace des configurations mais selon une règle différente puisque la fréquence des sauts résulte de deux mécanismes agissant en parallèle. Cela amène à définir, pour le système sous broyage, une « énergie libre effective » dont les minima correspondent aux états stationnaires qui sont accessibles au système sous broyage et qui sont différents des états d'équilibre.

La théorie des alliages forcés ne fait aucune hypothèse quant à la nature des états stationnaires atteints. Elle peut donc aussi bien s'appliquer à l'amorphisation qu'aux transformations polymorphiques. Cependant, certaines difficultés apparaissent si on veut la transposer aux études réalisées au laboratoire :

- Dans le cas du broyeur planétaire, l'intensité de la sollicitation est plus délicate à définir que celle définie pour un broyeur vertical à une bille. Selon Gaffet et Abdellaoui, le paramètre pertinent est la « puissance de choc injectée » qui est définie comme étant le produit de l'énergie cinétique des billes par la fréquence des chocs <sup>[26, 27]</sup>.
- Ce modèle a été développé pour des alliages métalliques. L'adaptation à notre étude est plus délicate. La définition d'un paramètre d'ordre pertinent reste un problème non résolu.

## **B. Propriétés générales des verres**

### **B.1. Définition et formation d'un verre**

Le mot « verre » revêt un sens plus large en physique que dans le langage commun. Il désigne un état de la matière dans lequel les entités élémentaires (des molécules pharmaceutiques dans notre cas) constituant la matière sont désordonnées et figées. D'un point de vue structural, le verre est caractérisé par une absence d'ordre à longue portée. Cette spécificité est clairement identifiée aux rayons X par un diffractogramme présentant un halo de diffusion et une absence totale de pics de Bragg. On constate par contre l'existence d'un ordre à courte portée. Cet état est différent du cristal où les entités s'ordonnent en assemblage tripériodique dans l'espace et différent du liquide où les molécules en désordre gardent des degrés de liberté translationnels et rotationnels. Nous verrons que, contrairement au cristal et au liquide, le verre n'est pas un état à l'équilibre thermodynamique. Beaucoup de substances peuvent former des verres plus ou moins facilement.

La méthode traditionnelle pour former un verre consiste à refroidir une substance liquide en dessous de son point de fusion en évitant la cristallisation. En effet, le passage de l'état liquide à l'état cristallin n'est pas instantané. Cette transition se produit à une température inférieure à la température de fusion et résulte de la compétition entre une force motrice de transformation et la dynamique des molécules. Cette compétition est illustrée sur les diagrammes T.T.T. (Température Temps Transformation) qui présentent les taux de recristallisation d'un liquide en fonction de la température et du temps. La figure 3 <sup>[21]</sup> montre un exemple de diagramme T.T.T.

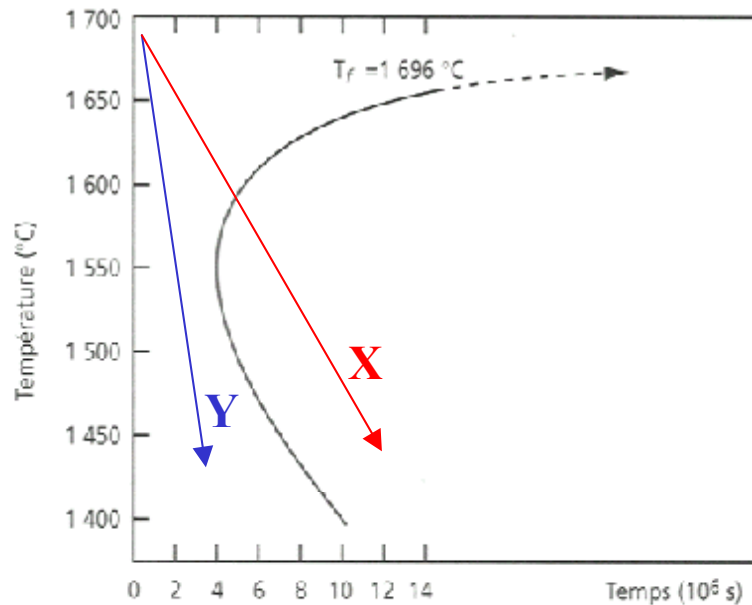


Fig. I.3 :

Courbe Temps-Température-Transformation

Cette courbe est tracée pour  $\text{SiO}_2$  ; elle correspond ici à une fraction cristallisée de  $10^{-6}$ . Cette courbe représente le temps nécessaire pour cristalliser une fraction donnée en fonction de la température. Une vitesse de trempe rapide (Y) permet d'éviter la cristallisation (contrairement à la vitesse de trempe X qui est trop lente)

Ces diagrammes mettent en évidence que la rapidité de la vitesse de trempe joue un rôle important dans l'obtention de l'état vitreux. Si la vitesse de trempe est trop lente (X), une partie du système va cristalliser. Si la vitesse de trempe est suffisamment rapide (Y) pour passer le « nez de transformation », le système peut être maintenu dans un état de liquide surfondu métastable. Lorsque la température devient inférieure à la température de transition vitreuse, le liquide métastable se fige et on obtient un verre, c'est-à-dire un arrangement moléculaire désordonné caractérisé par un temps de relaxation beaucoup plus long que le temps caractéristique de l'expérience.

## B.2. Caractéristiques thermodynamiques et structurales des verres

Les deux schémas de la figure 4 <sup>[21]</sup> représentent les évolutions de l'enthalpie et de la chaleur spécifique ( $C_p$ ) isobares d'un liquide au cours d'un refroidissement.

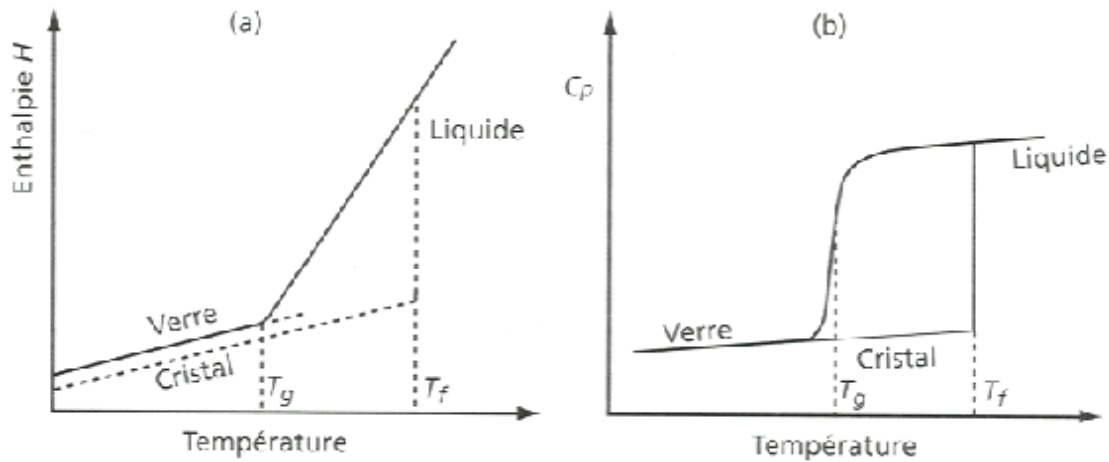


Fig. I.4 :

Grandeurs thermodynamiques à la vitrification.

a) Enthalpie isobare

b) Chaleur spécifique isobare. Elle présente une discontinuité à la transition vitreuse

En dessous de  $T_f$ , si l'on évite la cristallisation, on obtient un liquide métastable dont l'enthalpie continue de décroître régulièrement. A la température  $T_g$ , la courbe relative à l'enthalpie change brusquement de pente. Celle représentant  $C_p$  présente une discontinuité. Ces caractéristiques définissent la transition vitreuse calorimétrique. C'est une transition sans chaleur latente qui est due au gel des degrés de liberté de translations et de rotations dans le liquide métastable qui devient un verre. L'énergie de vibration est équilibrée dans le verre, les mécanismes de conduction de la chaleur assurant cet équilibre thermique local pour les vibrations.

Pendant, la transition vitreuse n'est pas une transition thermodynamique mais une transition cinétique. Elle résulte de la compétition entre l'échelle de temps des expériences et l'échelle de temps de la relaxation structurale de la substance étudiée. Au fur et à mesure du refroidissement, la mobilité moléculaire décroît et les réarrangements structuraux qui maintiennent le liquide métastable se font de plus en plus difficilement. A  $T = T_g$ , la mobilité moléculaire est trop faible et le système s'écarte de l'équilibre thermodynamique. Il passe à

l'état vitreux. La température à laquelle se produit ce phénomène dépend de la vitesse de refroidissement. Une vitesse de refroidissement plus lente permet au liquide de maintenir son équilibre interne à une température plus basse (la transition vitreuse se produira donc à plus basse température) et inversement. Par convention, on considère que  $T_g$  est la température à laquelle les temps caractéristiques des réarrangements structuraux sont de l'ordre de 100 secondes.

L'accroissement des temps de relaxation structurale traduit une augmentation de la viscosité du liquide. La relation de Maxwell relie le temps de relaxation à la viscosité :

$$\eta = G_{\infty} \tau$$

Avec :

$\eta$  : viscosité

$G_{\infty}$  : module de cisaillement instantané

$\tau$  : temps de relaxation structurale

A  $\tau = 100$  s, la plupart des systèmes formateurs de verres ont une viscosité de l'ordre de  $10^{13}$  poises [28].

### **B.3. Dynamique des verres**

Les temps caractéristiques de relaxation structurale de la majorité des verres d'oxyde sont bien représentés par une loi d'Arrhénus :

$$\tau_{\alpha} = \tau_0 \exp\left(\frac{E}{T}\right)$$

Avec :

$\tau_{\alpha}$  : temps de relaxation structurale

$\tau_0$  : temps caractéristique des modes de vibrations

$E$  : barrière énergétique impliquée dans les mécanismes de réarrangements structuraux

$T$  : température

En revanche, cette loi ne décrit pas correctement l'évolution de ces temps pour les composés organiques comme ceux étudiés dans cette thèse. Les temps de relaxation semblent diverger à une température  $T_0$ . La loi de Vogel-Fulcher-Tamman (ou loi V.F.T) est plus adaptée dans ce cas. Elle s'écrit :

$$\tau_{\alpha} = \tau_0 \exp\left(\frac{B}{T - T_0}\right)$$

Avec :

B : constante

$T_0$  : Température à laquelle les temps de relaxation divergent.

Ce comportement non arrhénien est corrélé au comportement non exponentiel des processus de relaxation <sup>[29]</sup>. La théorie de Debye suppose l'existence d'un temps de relaxation unique. Le comportement réel de la plupart des liquides est en général plus compliqué, surtout à l'approche de  $T_g$ . Au lieu d'avoir un comportement avec une relaxation simple purement exponentielle, on observe une distribution des temps caractéristiques associés à la relaxation structurale. Celle-ci peut être représentée à l'aide de la fonction de relaxation de Kohlraush-Williams-Watts :

$$f(t) = \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)^{\beta}$$

$\beta$  est une constante ajustable comprise entre 0 et 1 qui dépend de la nature des phases liquides et qui décroît lorsque la température diminue. Pour  $\beta = 1$ , on retrouve l'expression caractéristique de la théorie de Debye.

## **C. Mécanosynthèse d'alliages moléculaires**

La mécanosynthèse d'alliages consiste à broyer ensemble plusieurs substances de manière à obtenir un alliage aux propriétés nouvelles. Cette technique a fait l'objet d'intenses recherches dans le domaine de la métallurgie et des matériaux intermétalliques. Il a été montré qu'elle permettait d'obtenir des alliages aux compositions et structures inhabituelles<sup>[30]</sup>. Elle a également l'avantage de synthétiser des alliages métalliques amorphes<sup>[15, 17, 31]</sup> qu'il était impossible de produire en quantité importante par des méthodes classiques de trempes thermiques (vitesse de refroidissement insuffisante).

Cette section est divisée en deux parties. La première porte sur les avantages et les applications potentielles de cette technique dans le domaine pharmaceutique. Le second paragraphe présente le modèle de Gordon-Taylor<sup>[32]</sup> qui permet de prévoir, dans de nombreux cas, l'évolution de la température de transition vitreuse d'un mélange binaire vitreux en fonction de sa composition.

### **C.1. Premiers résultats et applications potentielles en pharmacie**

La recherche de nouvelles voies de formulations de médicaments est l'un des domaines de recherche de l'industrie pharmaceutique. Les alliages moléculaires font partie de ces nouvelles formulations prometteuses. Le cobroyage de plusieurs substances permettrait d'obtenir des matériaux thérapeutiques aux propriétés nouvelles et intéressantes : possibilité d'amorphiser des composés qui ne sont pas vitrifiables lorsqu'ils sont broyés seuls, accroissement de la solubilité, stabilisation accrue des formulations médicamenteuses... Le champ des applications est très vaste et justifie les recherches sur ce sujet.

En général, les cristaux moléculaires sont constitués de molécules complexes dont la symétrie est basse. Ils forment par conséquent des réseaux cristallins de basses symétries (les symétries triclinique, monoclinique, et orthorhombique sont les plus fréquemment rencontrées) dont les mailles sont assez volumineuses. Ces caractéristiques constituent un handicap pour former des alliages et des solutions solides à l'équilibre thermodynamique. Pour y parvenir sur un large domaine de compositions, les différents composés doivent posséder souvent la même symétrie cristalline, des mailles de taille voisine et des molécules de forme assez proche. Ces facteurs contraignants sont rarement satisfaits par les excipients et les principes actifs utilisés dans la fabrication des médicaments.



La synthèse d'alliages amorphes est beaucoup plus intéressante puisque les restrictions concernant les caractéristiques structurales des cristaux sont supprimées. Cependant, cette synthèse ne peut souvent pas être réalisée par fusion et trempe des composés car ils ne sont pas toujours miscibles à l'état liquide et les molécules organiques sont très sensibles aux perturbations thermiques. Les carbohydrates, comme le lactose, peuvent subir des dégradations thermiques à l'approche de leur température de fusion qui les rendent inutilisables<sup>[33]</sup>.

Par contre, la grande sensibilité des matériaux pharmaceutiques au broyage peut être avantageusement utilisée pour réaliser des cobroyages et produire des solutions solides amorphes. La mécanosynthèse d'alliages moléculaires amorphes apparaît donc comme une alternative digne d'intérêt pour pallier les problèmes mentionnés.

Les résultats publiés sur la mécanosynthèse d'alliages moléculaires sont encore peu nombreux. A notre connaissance, la première tentative réussie concerne l'obtention d'alliages moléculaires cristallins de Pentaglycérine et de Pentaerythriol sur tout le domaine de compositions<sup>[34]</sup> par cobroyage. Cette possibilité de réaliser des alliages cristallins à toutes compositions est rare. Elle est due au fait que ces deux substances, qui peuvent former des cristaux plastiques (état caractérisé par un désordre d'orientation des molécules), possèdent la même structure dans l'état cristallin et dans l'état cristal plastique.

On peut citer également les travaux de Furukawa<sup>[35]</sup> et ceux de Nagahama<sup>[36, 37]</sup> qui portent sur des mécanosynthèses d'alliages amorphes. Parmi les systèmes étudiés, certains montrent une miscibilité totale entre les constituants : ce sont les systèmes tri-O-méthyl- $\beta$ -cyclodextrin (TMCD)/acide deoxycholique (DCA) ; tréhalose/sucrose ; TMCD/tréhalose. Chacun des constituants de ces systèmes est vitrifiable lorsqu'il est broyé seul. D'autres systèmes montrent une miscibilité partielle : p-therphenyl (p-TPH)/TMCD ; tris(hydroxyméthyl)aminométhane (THAM)/DCA ; tréhalose/glucose ; o-therphenyl (o-TPH)/TMCD ; glucose/TMCD. Le THAM, le p-TPH et le glucose ne s'amorphisent pas lorsqu'ils sont broyés seuls. Le TMCD et le o-TPH sont de bons formateurs de verres. Pourtant, le broyage à l'ambiante d'un mélange contenant 25 % ou moins de TMCD ne permet pas d'obtenir une solution solide amorphe totale. L'extrapolation des valeurs de la température de transition vitreuse de ces mélanges révèle qu'elles seraient inférieures à la température ambiante, ce qui semble être à l'origine de l'impossibilité de produire un alliage amorphe total.

Ainsi, le cobroyage d'une substance à bas  $T_g$  avec une substance à haut  $T_g$  donne un alliage avec un  $T_g$  intermédiaire. La stabilité de la substance amorphe à faible température de transition vitreuse est donc augmentée. Ces résultats laissent entrevoir la possibilité de stabiliser des principes actifs à température de transition vitreuse inférieure à l'ambiante en les broyant avec des excipients à haute température de transition vitreuse.

## C.2. Loi de Gordon-Taylor

La loi de Gordon-Taylor <sup>[32]</sup> s'appuie sur la théorie de l'entropie de configuration introduite par Gibbs et Dimarzio <sup>[38, 39]</sup>. A partir de cette théorie, Gordon et al ont construit un modèle qui reproduit l'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la composition dans des mélanges binaires obéissant au modèle des solutions régulières <sup>[32]</sup>.

La théorie de Gibbs et Dimarzio attribue la formation d'un verre à la perte de l'entropie de configuration ( $S_C$ ) du système.  $S_C$  représente la partie de l'entropie du liquide qui ne concerne que les mouvements de grande amplitude gelant à  $T_g$ . Elle peut être définie comme la différence entre l'entropie du liquide et celle du cristal à la température  $T$  :

$$S_C(T) = S_{liq}(T) - S_{sol}(T)$$

La règle de Gordon et al <sup>[32]</sup> se bâtit à l'aide de la théorie de l'entropie de configuration de la manière suivante. Soit un système composé de deux constituants 1 et 2. A pression constante, l'entropie de configuration est fonction de la température et de la composition du mélange, c'est-à-dire :

$$S_C = S_C(T, x)$$

Où  $x$  est la fraction molaire du constituant 1.

Dans le cadre du modèle des solutions régulières qui néglige l'entropie d'excès de mélange, on peut écrire :

$$S_{LIQ}(T,x) = xS_{LIQ}^1(T) + (1-x)S_{LIQ}^2(T) - R[x \ln x + (1-x) \ln(1-x)]$$

$$S_{CRI}(T,x) = xS_{CRI}^1(T) + (1-x)S_{CRI}^2(T) - R[x \ln x + (1-x) \ln(1-x)]$$

Avec :

$S_{LIQ}$  : entropie du mélange des constituants 1 et 2 à l'état liquide

$S_{CRI}$  : entropie du mélange des constituants 1 et 2 à l'état solide

L'entropie de configuration est donnée par la relation suivante :

$$S_c(T,x) = S_{LIQ}(T,x) - S_{CRI}(T,x)$$

$$S_c(T,x) = xS_{C,1}(T) + (1-x)S_{C,2}(T)$$

Où  $S_{C,1}$  et  $S_{C,2}$  sont les entropies de configuration des constituants purs.

A la température de Kauzmann ( $T_K$ )<sup>[40]</sup> (Température à laquelle, au cours du refroidissement du liquide, l'entropie du liquide métastable croiserait l'entropie du cristal. Cette situation est connue sous le nom de « paradoxe de Kauzmann »), on a :

$$S_c(T_K,x) = 0$$

En combinant ces deux dernières équations, on obtient la dépendance en composition de la température de Kauzmann :

$$xS_{C,1}(T_K) + (1-x)S_{C,2}(T_K) = 0$$

Gordon et al ont résolu cette équation numériquement pour plusieurs systèmes binaires moléculaires (des solutions de monoalcools et des mélanges de sels fondus). Ils ont trouvé une solution de la forme :

$$T_K(X) = \frac{xT_{K1} + (1-x)KT_{K2}}{x + (1-x)K}$$

Où  $K = \frac{\Delta C_{p_2}}{\Delta C_{p_1}}$  est une constante non ajustable.  $\Delta C_p$  représente la différence entre

la chaleur spécifique du constituant à l'état liquide et la chaleur spécifique du constituant à l'état solide.

Une fois que  $K$  a été déterminé pour un système particulier, l'évolution de  $T_g$  en fonction de la composition est donnée par :

$$T_g(X) = \frac{xT_{g1} + (1-x)KT_{g2}}{x + (1-x)K}$$

Cette dernière équation constitue la loi de Gordon-Taylor. Elle prévoit une évolution monotone de  $T_g$  en fonction de la concentration. La dépendance en composition de  $T_g$  est bien reproduite par cette loi dans la plupart des systèmes binaires. On peut citer les exemples suivants : mélanges de monoalcools<sup>[32]</sup>, mélanges de sels fondus<sup>[32]</sup> et mélanges de polyalcools<sup>[41]</sup>. Cependant, certains systèmes s'écartent des prédictions de cette loi. Des études sur des mélanges de polyalcools avec des polyamines montrent que la courbe représentant  $T_g$  en fonction de la composition présente un extremum non prévu par la loi de Gordon<sup>[42]</sup>. Takeda et al<sup>[42]</sup> suggèrent que ces anomalies sont dues à des changements du réseau de liaisons hydrogène de ces systèmes lors du mélange des constituants. Ces modifications font qu'il n'est plus possible de négliger l'entropie d'excès de mélange comme c'est le cas dans le modèle des solutions régulières.

## D. Diagrammes de phases

De manière générale, les diagrammes de phases représentent graphiquement les domaines d'existence de systèmes multiphasiques en fonction des variables thermodynamiques comme la température, la pression et la composition. Les diagrammes de phases concernent les systèmes en équilibre thermodynamique. Cette section décrit les

diagrammes de phases binaires solide-liquide présentant un constituant eutectique biphasé. La pression étant un paramètre que nous n'avons pas fait varier, nous nous intéresserons uniquement aux diagrammes température-composition.

### **D.1. Variance d'un système**

La variance est le nombre de variables intensives décrivant un système à l'équilibre qu'il est possible de modifier sans changer le nombre ni la nature des phases en équilibre <sup>[43]</sup>. Autrement dit, c'est le nombre de degrés de liberté du système. La règle des phases de Gibbs permet de définir la variance de la façon suivante :

$$V = C + 2 - \phi$$

Avec :

V : variance du système

C : nombre de constituants indépendants

2 : chiffre prenant en compte les variables température et pression

$\Phi$  : nombre de phases

Par exemple, pour un mélange de deux constituants ( $C = 2$ ), la variance s'écrit  $V = 4 - \Phi$ . Si la pression est maintenue constante (on supprime un degré de liberté du système), la variance devient  $V = 3 - \Phi$  et sa valeur maximale est 2 (il existe toujours au moins 1 phase). Le diagramme de phases représente alors la température en fonction de la composition.

### **D.2. Lecture d'un diagramme de phases binaire température-composition**

La figure 5 représente un diagramme de phases binaire température-composition. Les deux constituants A et B sont totalement miscibles à l'état liquide et partiellement miscibles à l'état solide.

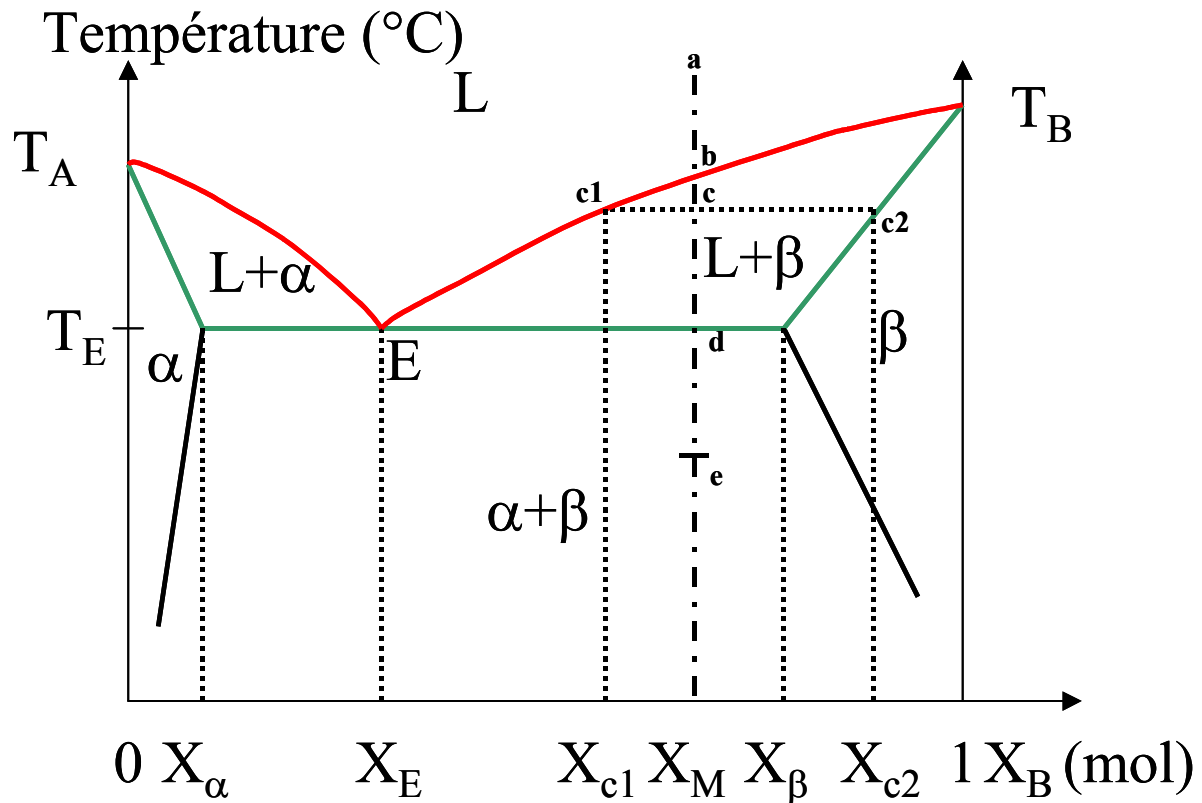


Fig. I.5 :

Diagramme de phases binaire température-composition de deux constituants hypothétiques A et B.  $X_B$  représente le pourcentage molaire du constituant B.  $T_A$  et  $T_B$  représentent les températures de fusion de A et de B respectivement. L représente le liquide.  $\alpha$  et  $\beta$  représentent les solutions solides de B dans A et de A dans B respectivement.  $X_\alpha$  et  $X_\beta$  sont les limites d'existence en composition du constituant eutectique biphasé. E représente l'eutectique et  $T_E$ , la fusion de l'eutectique. La courbe rouge est appelée le liquidus ; la courbe verte, le solidus.

La courbe rouge est le liquidus. C'est la courbe au-dessus de laquelle tout est liquide.

La courbe verte est le solidus. C'est la courbe en dessous de laquelle tout est solide.

Les différentes courbes délimitent des surfaces à l'intérieur desquelles sont présentes soit une seule phase ( L,  $\alpha$ , ou  $\beta$ ), soit deux phases (L+ $\alpha$ , L+ $\beta$ , ou  $\alpha$ + $\beta$ ).

Au sein des domaines monophasés, le diagramme de phases permet d'identifier la composition de la phase en constituant A et en constituant B. Au sein des domaines biphasés, la lecture du diagramme permet de connaître les compositions de chacune des phases en constituant A et en constituant B ainsi que la proportion de chacune des phases. Illustrons ces assertions en suivant, sur la figure 5, l'évolution au refroidissement d'un mélange de composition  $X_M$  (c'est-à-dire contenant une fraction molaire  $X_M$  de constituant B) :

- En a, le mélange est à une température telle que le point le représentant dans le diagramme se situe au-dessus du liquidus. Nous avons alors une seule phase liquide de composition  $X_M$ .
- De a jusque b, le liquide se refroidit. Aucun changement de phase n'intervient et la composition du liquide est toujours  $X_M$ .
- En b, une infime partie du liquide commence à se solidifier en cristaux de solution solide  $\beta$ .
- De b jusque c, de plus en plus de solution solide  $\beta$  se solidifie au détriment de la phase liquide.
- Au point c (choisi arbitrairement), nous allons décrire comment on obtient les compositions des phases ainsi que leur proportion respective. En ce point, deux phases coexistent (le liquide et la solution solide  $\beta$ ). On trace une ligne horizontale de part et d'autre du point du c qui coupe le solidus en c2 et le liquidus en c1. Les compositions des phases sont données directement par les projections des points c1 et c2 sur l'axe des abscisses (c'est la règle de l'horizontale). En c, nous avons donc du liquide contenant  $X_{c1}$  % de B et de la solution solide  $\beta$  contenant  $X_{c2}$  % de B. Les proportions de ces phases sont déterminées par la règle des segments inverses. Au point c, il y a  $\frac{c2-c}{c2-c1}$  % de liquide et  $\frac{c-c1}{c2-c1}$  % de solution solide  $\beta$ .

- De c jusque d, de plus en plus de solution solide  $\beta$  se solidifie et il reste de moins en moins de liquide. En vertu de la règle de l'horizontale, les compositions de ces deux phases changent au cours du refroidissement.
- Au point d, le liquide restant se solidifie intégralement en constituant eutectique biphasé.
- A des températures inférieures à la température du point d, tout est solide. On a un mélange biphasé de solution solide  $\alpha$  et de solution solide  $\beta$ . Les compositions et les proportions de ces phases sont également données par la règle de l'horizontale et la règle des segments inverses. La totalité de la solution solide  $\alpha$  ainsi qu'une fraction de la solution solide  $\beta$  font partie du constituant eutectique biphasé.

Cette méthode de lecture d'un diagramme de phases peut être appliquée à n'importe quel point appartenant au diagramme.

Le point E est un point particulier du diagramme de phases. Il s'agit du point eutectique. Un mélange de composition  $X_E$  présente un comportement identique à celui d'un corps pur à la fusion comme à la cristallisation. Pourtant, il s'agit d'un mélange biphasé de solution solide  $\alpha$  et de solution solide  $\beta$ . Bien qu'il paraisse homogène au niveau macroscopique, il est formé de microcristaux de  $\alpha$  et de  $\beta$  finement dispersés les uns dans les autres. Il fond toujours à une température inférieure aux températures de fusion des constituants purs (eutectique vient du grec ευτηχτος qui signifie « qui fond bien »). La figure 6 représente une photographie d'un mélange eutectique Plomb-Etain <sup>[44]</sup>. Ce mélange eutectique est d'une grande importance technologique dans le domaine de la soudure.



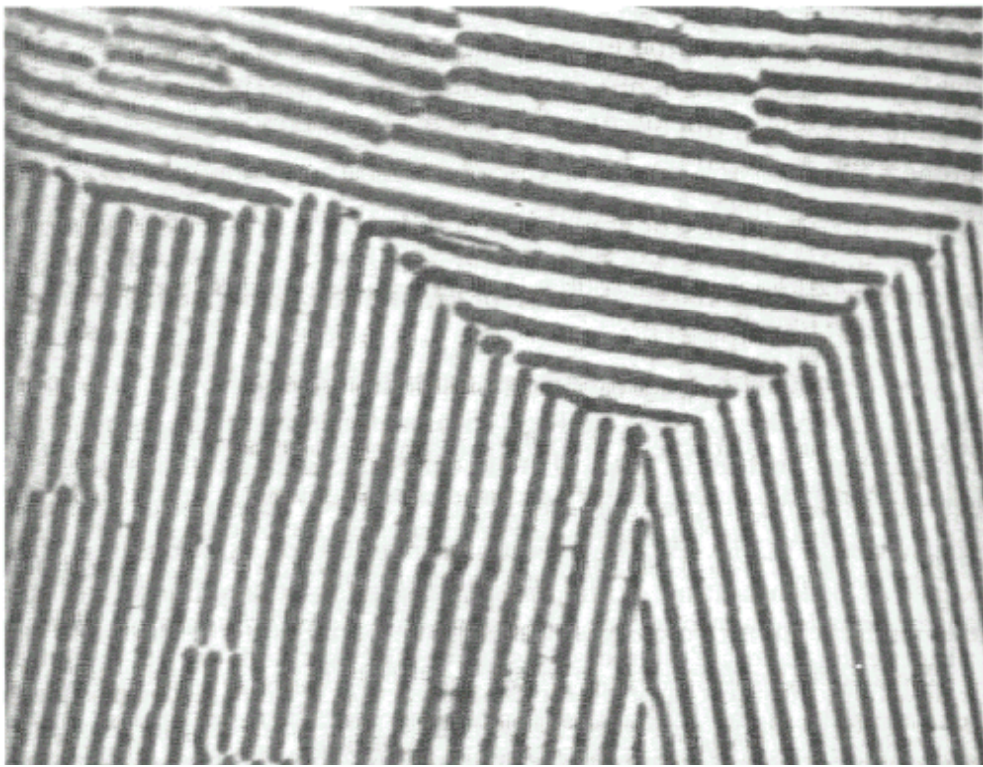


Fig. I.6 :  
Photographie prise au microscope optique d'une coupe polie de l'eutectique Pb-Sn.  
D'après Kittel <sup>[44]</sup>

On voit bien sur cette photographie que l'eutectique n'est pas homogène du point de vue microscopique.

### **D.3. Triangle de Tammann**

Le domaine d'existence du constituant eutectique biphasé ainsi que la composition eutectique peuvent être estimés précisément en traçant le triangle de Tammann à partir d'expériences de DSC. Le principe de ce diagramme est explicité sur la figure 7 <sup>[45]</sup>.

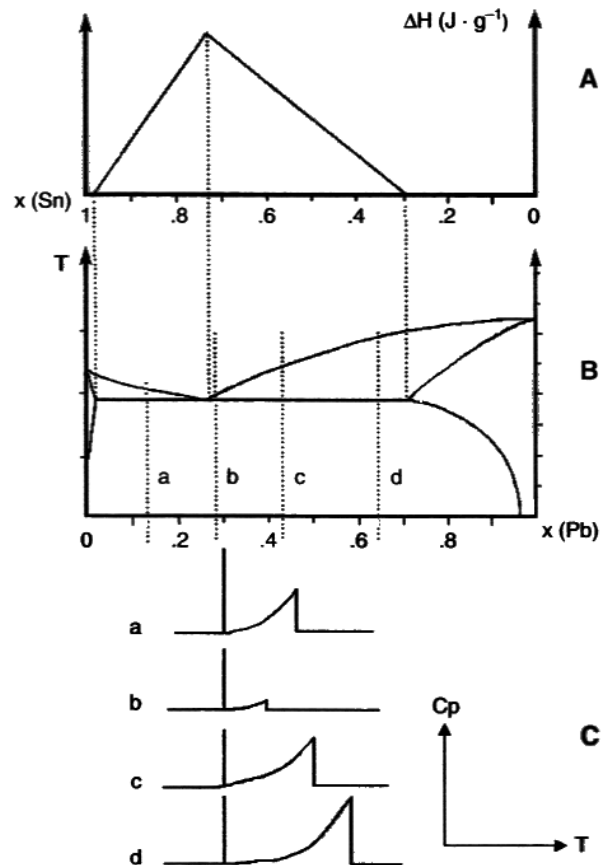


Fig. I.7 :

Diagramme de phases Pb-Sn. Les compositions sont exprimées en fractions pondérales.

A) Triangle de Tammann : enthalpie de fusion ( $J \cdot g^{-1}$ ) de l'eutectique en fonction de la composition.

B) Diagramme à eutectique avec formation de solutions solides

C) Courbes de  $C_p$  en fonction de la température pour 4 compositions différentes (a-d)

Le diagramme de Tammann repose sur la relation suivante :

$$\Delta H_m = w \times \Delta H_m(w)$$

Avec :

$\Delta H_m$  : enthalpie de fusion à la composition eutectique

$w$  : composition pondérale

$\Delta H_m(w)$  : enthalpie de fusion de l'eutectique à la composition  $w$

## Références

- 1 T. P. Shakhshneider and V. V. Boldyrev, *Mechanochemical synthesis and mechanical activation of drugs*, 1999).
- 2 V. Naini, P. R. Byron, and E. M. Phillips, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **24**, 895 (1998)
- 3 S. Desprez, *Transformations de phases induites par broyage dans un composé moléculaire: l'indométhacine*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2004)
- 4 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)
- 5 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, G. Odou, F. Danede, and M. Descamps, *Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling*, *Solid State Communications* **119**, 501 (2001)
- 6 I. Tsukushi, O. Yamamuro, and T. Matsuo, *Solid state amorphization of organic molecular crystals using a vibrating mill*, *Solid State Communications* **94**, 1013 (1995)
- 7 G. Martin and P. Bellon, *Driven alloys*, *Solid State Physics*, New York **50**, 189 (1997)
- 8 D. B. Witkin and E. J. Lavernia, in *Progress in Materials Science*, 2006), Vol. 51, p. 1.
- 9 E. Ma, in *Progress in Materials Science*, 2005), Vol. 50, p. 413.
- 10 C. Suryanarayana, in *Progress in Materials Science*, 2001), Vol. 46, p. 1.
- 11 R. Janot and D. Guerard, in *Progress in Materials Science*, 2005), Vol. 50, p. 1.
- 12 K. Wolski, G. Le Caer, P. Delcroix, R. Fillit, F. Thévenot, and J. Le Coze, *Influence of milling conditions on the FeAl intermetallic formation by mechanical alloying*, *Mater. Sci. Eng.* **A207**, 97 (1996)
- 13 S. Gialanella, X. Amils, M. D. Baro, P. Delcroix, G. Le Caer, L. Lutterotti, and S. Surinach, *Microstructural and kinetic aspects of the transformations induced in a FeAl alloy by ball-milling and thermal treatments*, *Acta Mater.* **46 No 9**, 3305 (1998)
- 14 J. C. de Lima, T. A. Grandi, and R. S. de Biasi, *Influence of aging on the thermal and structural properties of amorphous selenium prepared by ball milling*, *Journal of Non Crystalline Solids* **286**, 93 (2001)
- 15 Y. Chen, M. Bibole, R. L. Hazif, and G. Martin, *Ball-milling-induced amorphization in  $Ni_xZr_y$  compounds*, *Physical Review B* **48**, 14 (1993)

- 16 E. Gaffet, *Planetary ball-milling : an experimental parameter phase diagram*, Mater. Sci. Eng. **A132**, 181 (1991)
- 17 C. C. Koch, O. B. Cavin, C. G. McKamey, and J. O. Scarbrough, *Preparation of "amorphous" Ni<sub>60</sub>Nb<sub>40</sub> by mechanical alloying*, Applied Physics Letters **43**, 1017 (1983)
- 18 P. Pochet, E. Tominez, L. Chaffron, and G. Martin, *Oder-disorder transformation in Fe-Al under ball milling*, Physical Review B **52**, 4006 (1995)
- 19 A. Keller, M. Hikosaka, S. Rastagi, A. Toda, P. J. Barham, and G. Goldbeck-Wood, *An approach to the formation and growth of new phases with application to polymer crystallisation: effect of finite size, metastability, and Ostwald's rule of stages.*, Journal of Materials Sciences **29**, 2579 (1994)
- 20 J. Strange and J. B. W. Webber, Meas. Sci. Technol **8**, 555 (1997)
- 21 P. Papon, J. Leblond, and P. H. E. Meijer, *Physique des transitions de phases*, 2002).
- 22 P. R. Okamoto, N. Q. Lam, and L. E. Rehn, *Physics of crystal-to-glass transformations*, Solid state physics **52**, 1 (1999)
- 23 H. J. Fecht, *Defect-induced melting and solid state amorphization*, Nature **356**, 133 (1992)
- 24 G. Martin, *Phase stability under irradiation : Ballistic effects*, Phys. Rev B **30**, 1424 (1984)
- 25 L. Chaffron, Y. L. bouar, and G. Martin, *Driven phase transformations : a useful concept for wear studies?*, C.R. Acad. Sci. Paris **t.2, serieIV**, 749 (2001)
- 26 M. Abdellaoui and E. Gaffet, *A mathematical and experimental dynamical phase diagram for ball-milled Ni<sub>10</sub>Zr<sub>7</sub>*, J. Alloys and Comp. **209**, 351 (1994)
- 27 M. Abdellaoui and E. Gaffet, *The physics of mechanical alloying in a planetary ball mill : mathematical treatment*, Acta. Metall. Mater. **43-3**, 1087 (1995)
- 28 J. Zarzycki, *Les verres et l'état vitreux*, 1982).
- 29 R. Böhmer, *Non-linearity and non-exponentiality of primary relaxations.*, Journal of Non Crystalline Solids **172-174**, 628 (1994)
- 30 J. S. Benjamin, *Dispersion strengthened superalloys by mechanical alloying*, Metall. Trans. **1**, 2943 (1970)
- 31 H. W. Sheng, Y. H. Zhao, Z. Q. Hu, and K. Lu, *Lattice instability in the solid-state amorphization of Fe(Al) solid solutions by mechanical alloying*, Phys. Rev B **56 (5)**, 2302 (1997)

- 32 J. M. Gordon, G. B. Rouse, J. H. Gibbs, and W. M. Risen, Jr., *The composition dependence of glass transition properties*, Journal of Chemical Physics **66**, 4971 (1977)
- 33 J.-F. Willart, N. Descamps, V. Caron, F. Capet, F. Danède, and M. Descamps, *Formation of lactose-mannitol molecular alloys by solid state vitrification*, Solid State Communications **138**, 194 (2006)
- 34 J. Font, J. Muntasell, E. Cesari, and J. Pons, *Preparation of molecular alloys by the ball-milling technique*, Journal of Materials Research **11**, 1069 (1996)
- 35 S. Furukawa, M. Nagahama, and H. Suga, *Formation of molecular alloy by solid-state amorphisation*, High Temperatures - High Pressures **32**, 397 (2000)
- 36 M. Nagahama, H. Suga, and O. Andersson, *Formation of molecular alloys by solid-state vitrification*, Thermochemica acta **363**, 165 (2000)
- 37 M. Nagahama and H. Suga, *Molecular alloys formed by solid-state vitrification*, Journal of Molecular Liquids **95**, 261 (2002)
- 38 J. H. Gibbs and E. A. Dimarzio, *Nature of the glass transition and the glassy state*, J. Chem. Phys. **28**, 373 (1958)
- 39 J. H. Gibbs and E. A. Dimarzio, *Chain stiffness and the lattice theory of polymer phases*, J. Chem. Phys. **28**, 807 (1958)
- 40 W. Kauzmann, *The nature of the glassy state and the behaviour of liquids at low temperatures.*, Chemical Review **43**, 219 (1948)
- 41 K. Takeda, K. Murata, and S. Yamashita, *Thermodynamic investigation of glass transition in binary polyalcohols*, Journal of Non Crystalline Solids **231**, 273 (1998)
- 42 K. Takeda, K. Murata, and S. Yamashita, *Thermodynamic study of the glass transition in polyamine-polyalcohol mixtures : Entropy-theoretical interpretation of anomalous glass transition behavior*, J. Phys. Chem. B **103**, 3457 (1999)
- 43 P. Perrot, in *Dictionnaire de thermodynamique*, edited by InterEditions, 1994), p. 286.
- 44 C. Kittel, in *Physique de l'état solide*, edited by Dunod, 1998), p. 556.
- 45 P. Claudy, in *Analyse calorimétrique différentielle*, edited by TEC, 2005), p. 26.

## **CHAPITRE II**

### **Techniques de broyage et de caractérisation**

Ce chapitre présente succinctement les détails expérimentaux relatifs à la préparation et à la caractérisation des échantillons. La partie A concerne le broyage. La partie B traite des expériences d'analyse calorimétrique différentielle (DSC). La partie C est consacrée à la diffraction des rayons X sur poudre. La partie D porte sur la résonance magnétique nucléaire (RMN). La partie E présente l'analyse thermogravimétrique (ATG). Les théories concernant la DSC, la MDSC (DSC à modulation de température), la RMN et l'analyse microstructurale par diffraction des rayons X sur poudre sont présentées dans les annexes A, B et C.

## A. Le broyage

Les opérations de broyage ont été réalisées avec un broyeur planétaire, la pulvérisette 7 de chez Fritsch. Les schémas expliquant son fonctionnement sont donnés dans la figure 1.

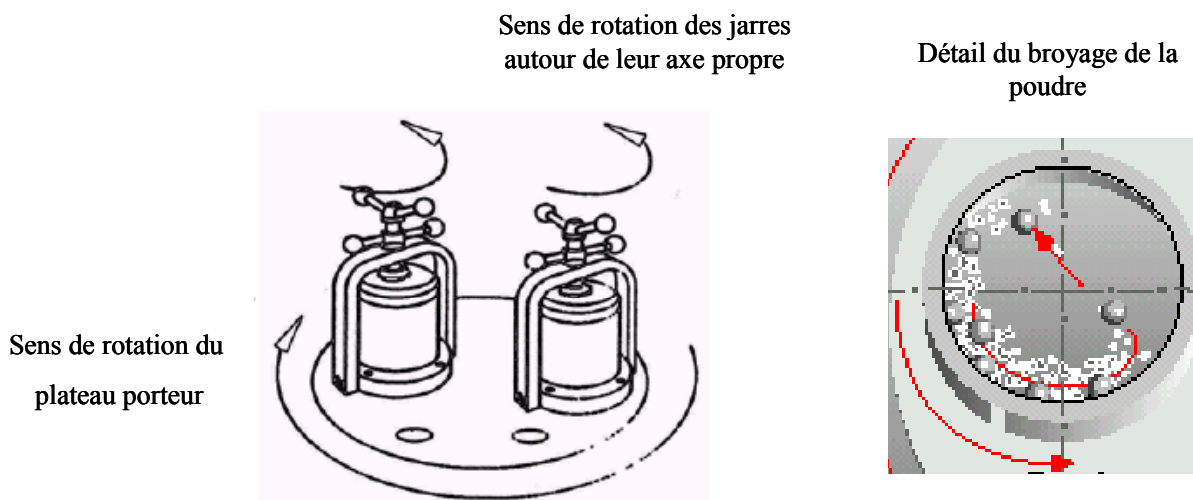


Fig II.1:

Schémas expliquant le fonctionnement du broyeur planétaire

Le système de broyage est constitué de jarres de 45 ml pouvant contenir jusqu'à 7 billes de 15 mm de diamètre. Les jarres et les billes sont en oxyde de zirconium, matériau résistant à l'usure et aux chocs. Deux jarres sont montées sur le plateau solaire de la pulvérisette qui est mis en rotation. Le sens de rotation des jarres est opposé à celui du plateau solaire, ce qui crée des forces centrifuges antagonistes et concurrentes. L'utilisateur peut faire

varier la vitesse de rotation du plateau entre 100 et 800 tours par minute, la vitesse de rotation des jarres étant identique à celle du plateau. Le broyage des matériaux est assuré par les chocs et par les frictions contre les billes. Afin d'éviter des phénomènes d'échauffement au sein des jarres, il est possible de programmer des périodes de broyage alternées avec des périodes de pause. Enfin, des couvercles spéciaux permettent de réaliser des broyages sous atmosphère contrôlée.

Les paramètres utilisés pour les broyages ont été les suivants :

- 1 gramme de poudre par jarre avec 7 billes, soit un ratio en masse bille/échantillon de 75/1.
- Broyage réalisé sous atmosphère inerte et sèche (azote sec).
- Broyage constitué de cycles de 20 minutes de broyage alternées avec 10 minutes de pause.
- La vitesse de rotation du disque solaire a été fixée à 400 tours par minute, ce qui correspond à une accélération moyenne des jarres de 5 g.

### **B. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC)**

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) permet de suivre en temps réel l'état thermodynamique des échantillons pendant un traitement thermique ou une isotherme. Nous avons utilisé pour nos expériences la DSC 2920 et la DSC Q1000 de chez TA Instruments. Elles sont équipées d'un système réfrigérant qui permet de travailler sur une gamme de température allant de  $-60\text{ °C}$  à  $400\text{ °C}$  pour la 2920 et de  $-80\text{ °C}$  à  $550\text{ °C}$  pour la Q1000. Les échantillons sont placés dans des creusets en aluminium sans couvercle. Un creuset vide tient lieu de référence. Le schéma d'une cellule de mesure DSC est représenté sur la figure 2.



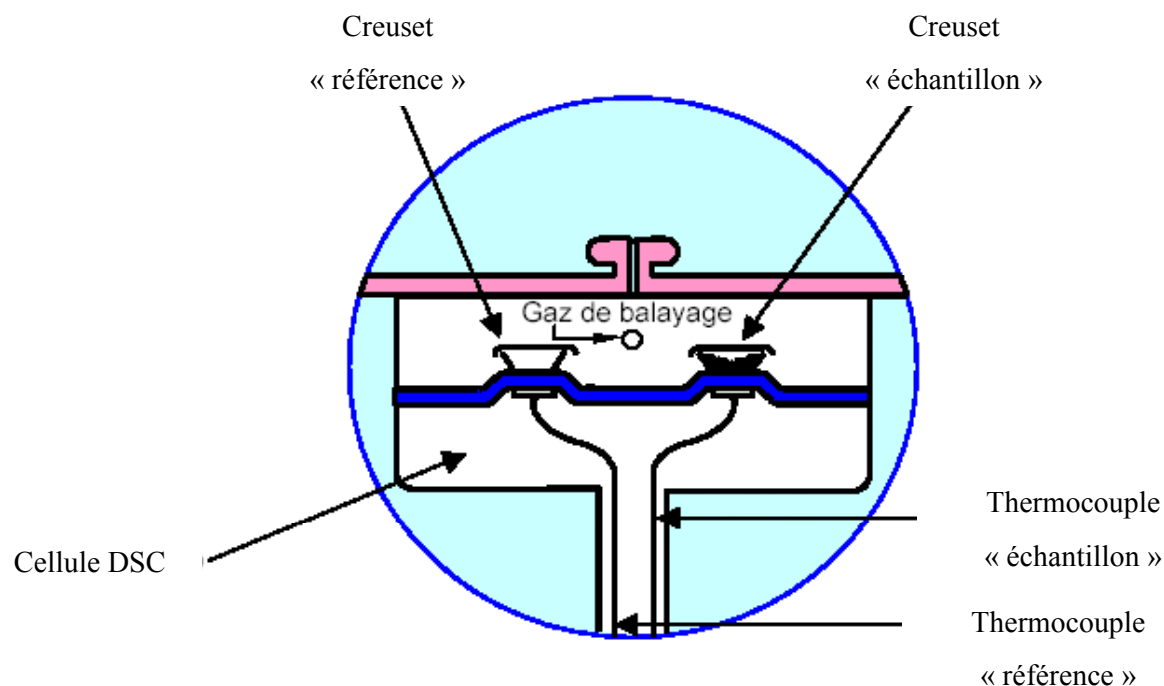


Fig. II.2:

Schéma d'une cellule de mesure DSC

La masse de produit est relativement faible (environ 5 mg), ce qui permet à l'échantillon de suivre le programme thermique imposé. Un balayage de la cellule de mesure avec de l'hélium (2920) ou avec de l'azote (Q1000) améliore les transferts thermiques et permet de travailler sous atmosphère inerte. La calibration de la ligne de base se fait à four vide avec une rampe en température identique à celle de l'expérience. La température et l'enthalpie sont calibrées à l'aide d'un échantillon étalon en indium. L'utilisation de ces appareils en mode modulé (MDSC) nécessite une calibration supplémentaire permettant de corriger la valeur de la chaleur spécifique. A cette fin, on enregistre, dans les mêmes conditions expérimentales que pour les échantillons étudiés, le thermogramme d'un échantillon de saphir (oxyde d'aluminium).

Les résultats ont été analysés avec le logiciel Universal Analysis de TA Instruments.

### **C. Diffraction des rayons X sur poudre**

Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé cette technique pour :

- identifier les phases cristallines des échantillons.
- suivre l'évolution microstructurale des cristallites durant le processus de broyage.
- déceler l'apparition éventuelle de nouvelles phases au cours des divers traitements mécaniques et thermiques.

Le dispositif expérimental utilisé pour les analyses radiocristallographiques est un montage de type Debye-Scherrer en transmission. L'échantillon à étudier est placé dans un capillaire en verre de Lindemann (matériau amorphe et peu absorbant) de diamètre 0.7 mm ou 0.5 mm selon les cas. Les effets d'orientations préférentielles sont limités par la mise en rotation du capillaire.

Le diffractomètre INEL CPS 120 (utilisé au laboratoire) est équipé d'un tube à anticathode de cuivre qui produit les rayons X. Un monochromateur en quartz permet de sélectionner la raie  $K_{\alpha 1}$  du cuivre ( $\lambda = 1.54056$ ) et de focaliser le faisceau. Un système de fentes en collimation limite la divergence du faisceau. La figure 3 est un schéma de ce type de diffractomètre.

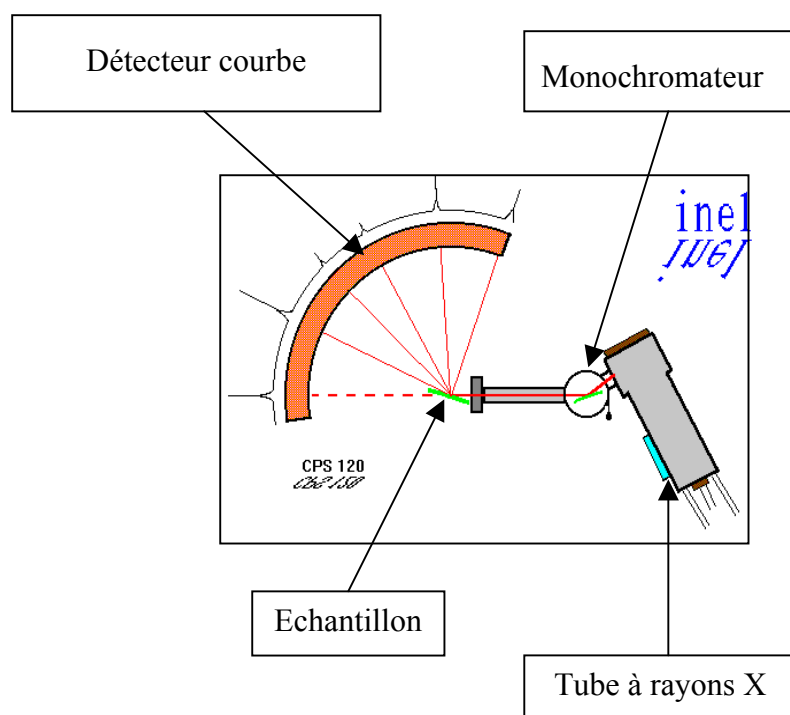


Fig. II.3 :

Présentation schématique de l'INEL CPS 120

L'intensité diffractée du matériau étudié est mesurée grâce à un détecteur courbe (rayon de courbure de 250 mm) multicanal qui enregistre le diffractogramme simultanément sur un domaine angulaire de  $120^\circ$ . On obtient donc des données de qualité avec un temps de pose relativement court. La courbure de ce détecteur est telle que les rayons X diffractés arrivent perpendiculairement à l'anode du détecteur, ce qui permet de s'affranchir des erreurs de parallaxe habituellement rencontrées aux limites des détecteurs courbes. Les 4096 canaux ont une précision de  $0.029^\circ$  en échelle  $2\theta$ . La figure 4 présente une vue schématique d'un détecteur courbe.

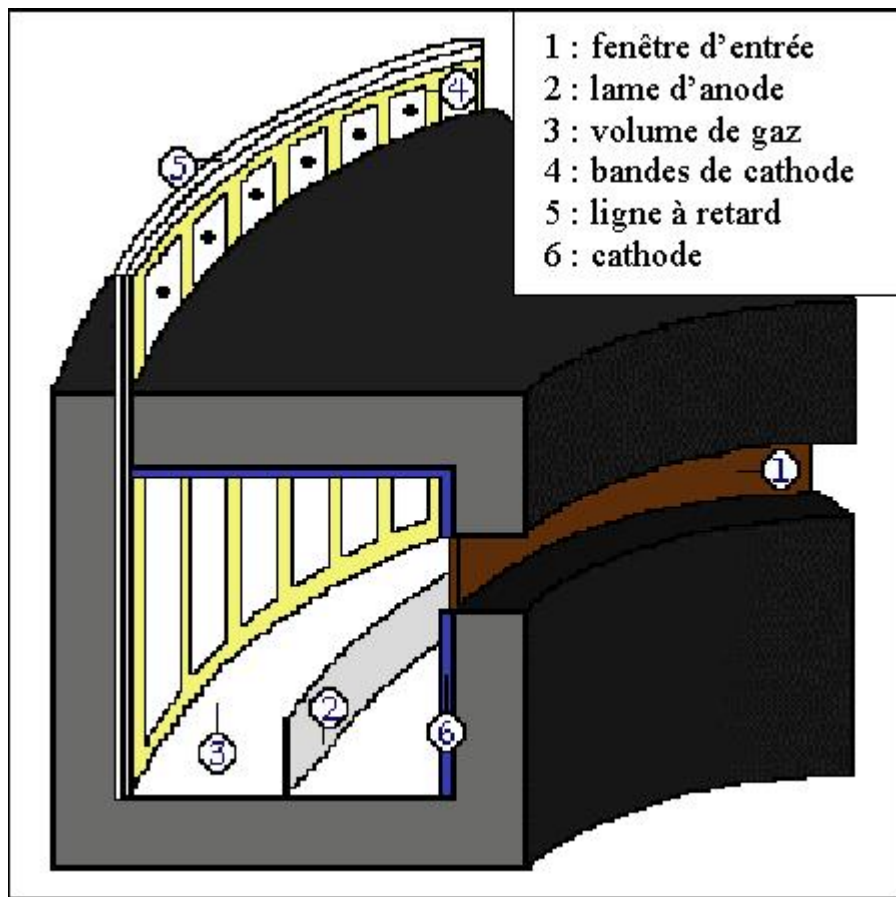


Fig II.4 :

Schéma en coupe du détecteur courbe

Le principe du détecteur courbe est le suivant <sup>[1]</sup>. L'intérieur du détecteur est balayé par un mélange gazeux constitué principalement d'argon. Les photons X diffractés par l'échantillon arrivent sur la première cathode placée derrière la fenêtre d'entrée. Il y a alors production d'électrons par effet photoélectrique. Ces électrons sont accélérés par l'anode et ionisent des atomes d'argon. Les électrons nouvellement produits ionisent à leur tour d'autres atomes d'argon et ainsi de suite. Cet effet d' « avalanche » induit une charge électrique qui se dirige vers la seconde cathode perpendiculairement au point d'impact de l'avalanche. La position de cette charge est déterminée par la méthode de ligne à retard. La charge se déplace de part et d'autre de la cathode. La différence de temps mis par les signaux pour parvenir aux extrémités permet de localiser la position de l'avalanche. Le nombre de coups reçus par chaque canal est mémorisé. Un étalonnage du détecteur réalisé avec un échantillon de

$\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{F}_{14}$  (NAC) associée à chaque numéro de canal un angle de diffraction  $2\theta$ . Le NAC est un composé caractérisé par des raies de diffraction fines et discrètes entre  $12^\circ$  et  $102^\circ$  en échelle  $2\theta$ . Le zéro du repère angulaire est donné par la position du faisceau direct.

### **D. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

La RMN a été utilisée pour pouvoir quantifier les taux d'anomères  $\alpha$  et d'anomères  $\beta$  au sein des échantillons de lactose.

Les expériences de RMN  $^1\text{H}$  du liquide ont été réalisées à température ambiante sur un spectromètre Bruker ASX 400 MHz. Pour chaque échantillon, environ 100 mg de poudre de lactose ont été dissous dans  $10\text{ cm}^3$  de DMSO- $d_6$ . La solution obtenue est alors introduite dans un tube d'analyse en verre de 5 mm de diamètre.

Les expériences de RMN  $^{13}\text{C}$  à l'état solide ( $^{13}\text{C}$  CPMAS RMN) ont été réalisées sur les spectromètres Bruker AV400 et AV100. Les échantillons poudreux ont été placés dans des rotors CPMAS en oxyde de zirconium de 4 mm de diamètre (AV400) et de 7 mm de diamètre (AV100). Avant chaque remplissage, les rotors ont été placés dans une étuve à  $120\text{ }^\circ\text{C}$  pour éliminer toute trace d'humidité résiduelle. Tous les échantillons ont été mis en rotation à l'angle magique à une fréquence de 5 KHz. Les spectres ont été obtenus en utilisant les techniques de découplage des protons et de polarisation croisée. Nous nous sommes assurés que le temps d'attente entre chaque enregistrement était suffisant pour permettre la relaxation des échantillons.

Les analyses de spectres ont été réalisées à l'aide des logiciels MestRe-C et DMFIT [2].

## **E. Analyse thermogravimétrique**

L'Analyse ThermoGravimétrique (ATG) permet de suivre l'évolution de la masse d'un échantillon en fonction de la température ou en fonction du temps au cours d'expériences isothermes. Cette technique détecte des déshydratations, des dégradations. Elle aide à l'interprétation des thermogrammes de DSC.

L'appareil utilisé est la TGA 7 de Perkin Elmer. Les échantillons, de masse variant entre 5 mg et 10 mg, sont placés dans une nacelle en platine balayée par un flux d'azote sec.

La calibration de la balance est réalisée à l'aide de masses étalons fournies par Perkin Elmer. La température est calibrée avec les points de Curie de l'alumel et du nickel.

## Références

- 1 J. Ballon, V. Comparat, and J. Pouxé, *The blade chamber : a solution for curved gaseous detectors*, Nucl. Instr. and Meth. **217**, 213 (1983)
- 2 D. Massiot, F. Fayon, M. Capron, Y. King, S. Le Calvé, B. Alonso, J. O. Durand, B. Bujoli, Z. Gan, and G. Hoatson, *Modelling one and two-dimensional Solid State NMR spectra.*, Magnetic resonance in Chemistry **40**, 70 (2002)

## **CHAPITRE III**

### **Présentation et propriétés du lactose**



Le lactose, sucre que l'on trouve principalement dans le lait, se forme dans les glandes mammaires (le lait de vache contient 4.8 % de lactose <sup>[1]</sup>). Son pouvoir sucrant est environ six fois plus faible que celui du saccharose <sup>[2, 3]</sup>, ou sucrose pour les anglo-saxons, (sucre que l'on extrait de la betterave sucrière et de la canne à sucre). C'est un sous-produit de l'industrie laitière.

Dans l'industrie pharmaceutique, le lactose sert principalement d'excipient sous forme de poudre en raison de ses bonnes propriétés de coulabilité et de compressibilité. C'est un excellent support pour la fabrication de comprimés et de tablettes <sup>[4]</sup>. Il est aussi présent dans les spécialités pharmaceutiques administrées par inhalateur. Les différents polymorphes du lactose n'ont pas les mêmes propriétés galéniques : les formes anhydres sont utilisées lors de procédés de compression <sup>[5, 6]</sup> tandis que la forme monohydratée est préférée pour la granulation. Le lactose est aussi le produit de départ de la fabrication du lactulose, un isomère utilisé comme principe actif <sup>[7]</sup>.

Le lactose est également d'un emploi courant et varié dans le domaine de l'agro-alimentaire. Il renforce l'arôme de certains mets, la couleur des aliments ou de la bière. Il limite la fermentation des levures <sup>[8]</sup>, augmente la matière sèche d'un produit en fixant une partie de l'eau libre <sup>[9]</sup>. Cette dernière caractéristique améliore les propriétés de conservation des produits. Son utilisation dans les spécialités alimentaires pose problème pour les personnes souffrant d'intolérance au lactose. Ce terme désigne l'incapacité de digérer le lactose à cause d'un déficit en lactase, l'enzyme permettant de dégrader et de métaboliser le lactose. Les populations indiennes, asiatiques et africaines sont en général incapables de digérer le lactose alors que les populations occidentales ne souffrent pratiquement pas de ce problème (pour des raisons génétiques) <sup>[10]</sup>.

La section A décrit les caractéristiques et le pseudo-polymorphisme du lactose. La section B fournit les données structurales et thermodynamiques disponibles sur le lactose au début de la thèse. La section C détaille la méthode pour obtenir du  $\alpha$ -lactose anhydre stable qui n'est pas disponible dans le commerce.

### A. Caractéristiques et pseudo-polymorphisme du lactose

Le lactose, ou 4-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl-D-glucofuranose selon les règles officielles de la nomenclature de l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), est un disaccharide de formule brute  $C_{12}H_{22}O_{11}$  et de masse molaire  $342.29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Il est constitué d'une unité de D-glucose et d'une unité de D-galactose liées par une liaison 1,4- $\beta$ -glycosidique. La partie constituée par l'unité de glucose possède un centre anomérique conduisant à l'existence de deux anomères<sup>[11]</sup> : le  $\alpha$ -lactose et le  $\beta$ -lactose. Les deux molécules se différencient par la position du groupe hydroxyle situé sur le carbone  $C_1$  du cycle de glucose. Elles n'ont pas les mêmes caractéristiques physico-chimiques. Une molécule de  $\alpha$ -lactose peut passer en configuration  $\beta$  et inversement. Ce phénomène est appelé mutarotation par référence à la rotation optique qu'il induit en solution aqueuse<sup>[12]</sup>. Les molécules de  $\alpha$ -lactose et de  $\beta$ -lactose sont présentées sur la figure 1.

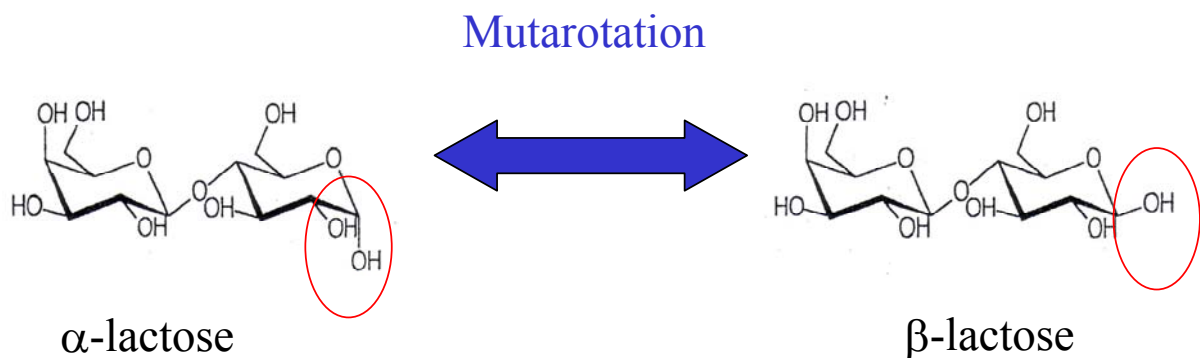


Fig. III.1:

Molécules de  $\alpha$ -lactose et de  $\beta$ -lactose. Les 2 molécules diffèrent l'une de l'autre par la position du groupe hydroxyle sur le carbone  $C_1$  de l'unité glucose.

La mutarotation peut se produire en solution. Les proportions de  $\alpha$ -lactose et de  $\beta$ -lactose à l'équilibre sont alors indépendantes de la forme dissoute. Par contre, ces proportions sont dépendantes de la nature du solvant et de la température <sup>[11, 13]</sup>. Par exemple, il a été établi une relation donnant la proportion d'anomères  $\alpha$  et  $\beta$  pour des solutions aqueuses de lactose en fonction de la température <sup>[14]</sup> :

$$\beta/\alpha = 1,64 - 0,0027 \times T$$

Avec :

- T : température (°C)
- $\alpha$  : proportion d'anomère alpha (% massique)
- $\beta$  : proportion d'anomère bêta (% massique)

Ce phénomène peut aussi se produire à l'état solide mais les conditions d'apparition ne sont pas clairement établies <sup>[4, 15]</sup>.

Le lactose présente un pseudo polymorphisme riche et varié. On connaît à ce jour 5 formes cristallines <sup>[14]</sup> :

- Le  $\alpha$ -lactose monohydrate ( $\alpha L_M$ ) qui est la forme cristalline la plus courante. On l'obtient par cristallisation d'une solution aqueuse sursaturée à une température inférieure à 93.5°C. Les molécules d'eau présentes dans le cristal influent grandement sur les propriétés physico-chimiques. En particulier, les nombreuses possibilités de liaisons hydrogène renforcent la cohésion du cristal.
- Le  $\alpha$ -lactose anhydre hygroscopique ( $\alpha L_H$ ). Cette variété, découverte par Buma et Wiegers <sup>[16]</sup>, est obtenue par déshydratation du  $\alpha L_M$  à des températures comprises entre 100°C et 130 °C pendant 48 heures. Elle est très instable et se transforme immédiatement en  $\alpha L_M$  dans les conditions d'humidité ambiante.
- Le  $\alpha$ -lactose anhydre stable ( $\alpha L_S$ ). Il est obtenu par déshydratation du  $\alpha L_M$  à l'aide d'un flux de méthanol gazeux sec <sup>[17]</sup>. Il est beaucoup moins hygroscopique et donc plus stable que le  $\alpha L_H$ .

- Le  $\beta$ -lactose ( $\beta$ L). On l'obtient par recristallisation d'une solution aqueuse sursaturée à une température supérieure à 93.5 °C. Au-dessus de 97 % d'humidité relative, il se transforme rapidement en  $\alpha$ L<sub>M</sub><sup>[18]</sup>. Les molécules de  $\beta$ L ne forment pas d'hydrates.
- Divers composés moléculaires  $\alpha/\beta$  de stœchiométries variables. Ils ne correspondent pas à des mélanges de cristaux  $\alpha$  et de cristaux  $\beta$  mais à des cristaux constitués de molécules en conformation  $\alpha$  et de molécules en conformation  $\beta$ <sup>[19-21]</sup>.

La mutarotation rend difficile l'obtention de formes pures. Ainsi, le  $\beta$  lactose commercial contient 21 % de  $\alpha$ -lactose. Le  $\alpha$ L<sub>M</sub> commercial comporte 4 % de  $\beta$ L. Le  $\alpha$ L<sub>S</sub> et le  $\alpha$ L<sub>H</sub> ne sont pas disponibles commercialement.

## **B. Propriétés structurales et thermodynamiques du lactose**

Ce paragraphe résume les principales données structurales et thermodynamiques disponibles au début de la thèse.

La figure 2 présente les diffractogrammes du  $\beta$ L, du  $\alpha$ L<sub>H</sub>, du  $\alpha$ L<sub>S</sub> et du  $\alpha$ L<sub>M</sub>.

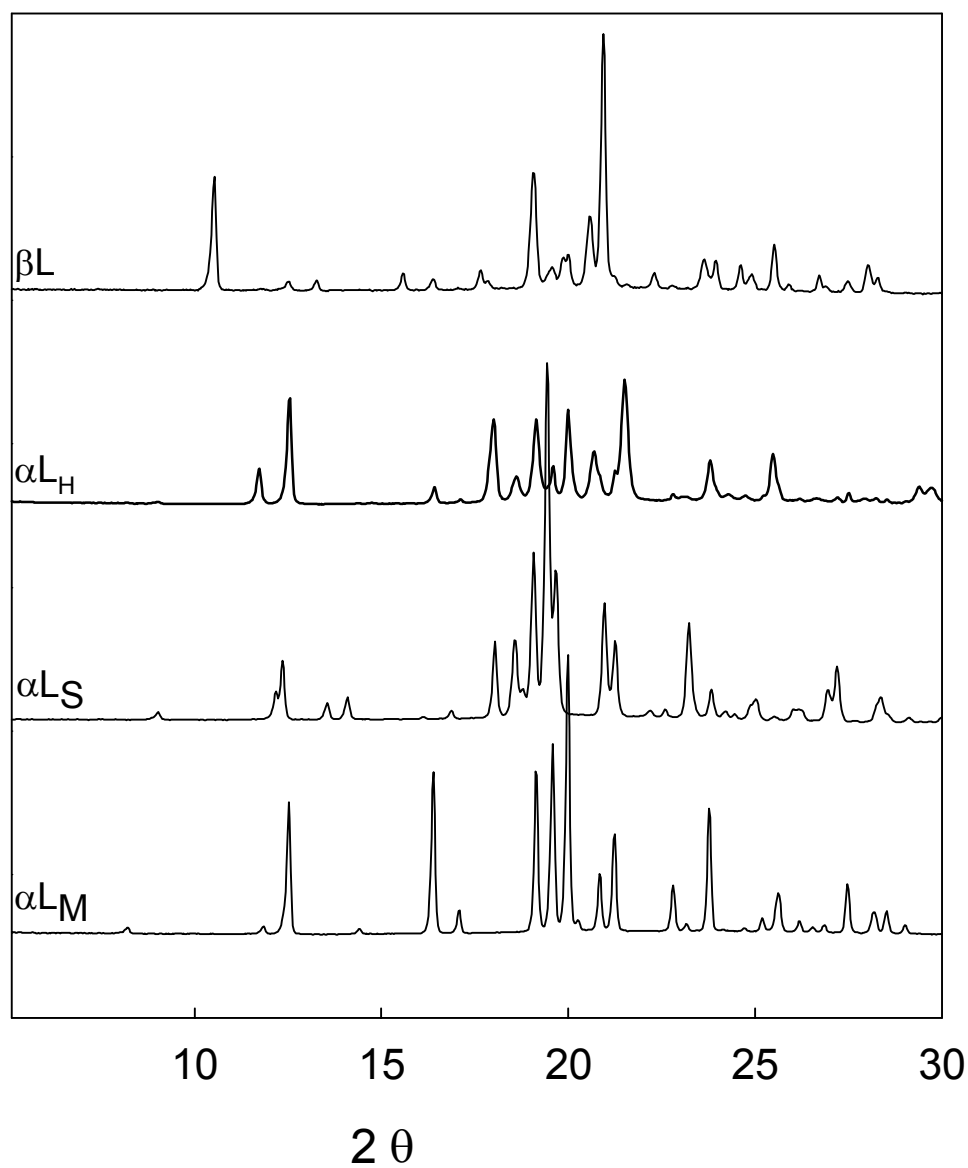


Fig. III.2 :

Diagrammes de diffraction des rayons X des différentes formes cristallines de lactose

$\beta$ L : beta lactose commercial

$\alpha$ L<sub>H</sub> : alpha lactose anhydre hygroscopique

$\alpha$ L<sub>S</sub>: alpha lactose anhydre stable

$\alpha$ L<sub>M</sub>: alpha lactose monohydrate commercial

Les structures du  $\alpha L_M$  et du  $\beta L$  ont été résolues par diffraction des rayons X sur monocristaux [22, 23]. Les structures du  $\alpha L_S$  et du  $\alpha L_H$  ont été résolues récemment au laboratoire par diffraction des rayons X sur poudres [24, 25]. Les principaux paramètres structuraux de ces quatre formes de lactose sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Caractéristiques	$\alpha L_M$ [22]	$\beta L$ [23]	$\alpha L_S$ [24]	$\alpha L_H$ [25]
Groupe d'espace	P2 <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub>	P1	P2 <sub>1</sub>
a (Å)	7.982	10.839	7.6522	7.7795
b (Å)	21.562	13.349	19.8637	19.6931
c (Å)	4.824	4.954	4.9877	4.9064
$\alpha$ (°)	90	90	92.028	90
$\beta$ (°)	109.57	91.31	106.261	103.691
$\gamma$ (°)	90	90	97.153	90
V (Å <sup>3</sup> )	782.3	716.7	720.18	730.32
Molécules/maille	2	2	2	2

Tableau III.1 :  
Groupe d'espace et paramètres de maille des différentes formes cristallines de lactose

La figure 3 présente les thermogrammes [26] obtenus par DSC des différentes formes de lactose.

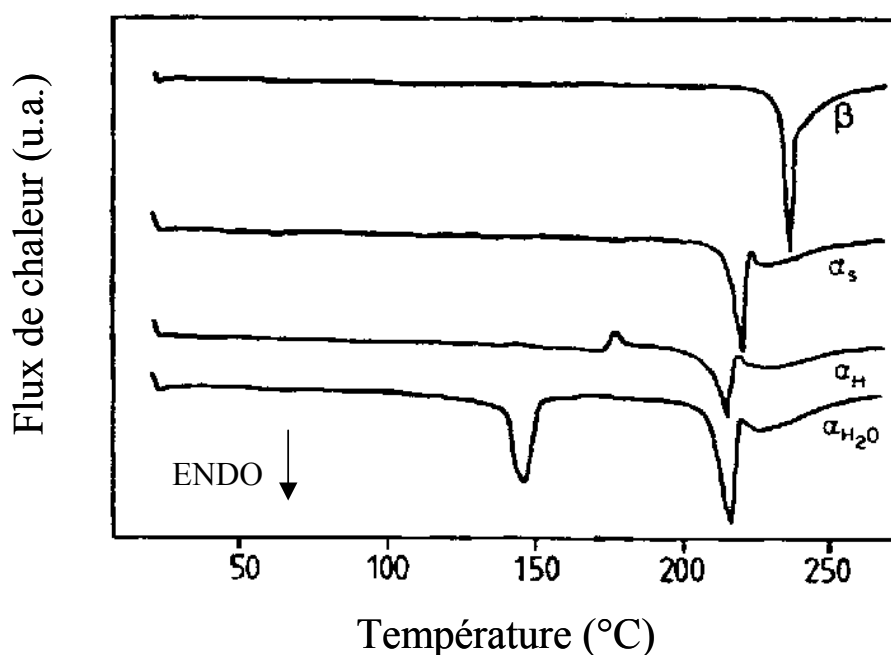


Fig III.3:

Courbes DSC (reproduites de la référence [26]) des différents types de lactose enregistrées au chauffage ( $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

$\beta$  :beta lactose

$\alpha_s$  :alpha lactose anhydre stable

$\alpha_H$  :alpha lactose anhydre hygroscopique

$\alpha_{H_2O}$  :alpha lactose monohydrate

Les thermogrammes du  $\beta$ -lactose et du  $\alpha$ -lactose anhydre stable présentent uniquement un endotherme attribué à la fusion des échantillons. Le thermogramme du  $\alpha$ -lactose anhydre hygroscopique présente un petit accident exothermique précédant l'endotherme de fusion. Enfin, le thermogramme du  $\alpha$ -lactose monohydrate présente un premier endotherme entre  $140\text{ }^{\circ}\text{C}$  et  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  dû à la déshydratation du composé suivi d'un second endotherme au-dessus de  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  lors de la fusion. Les endothermes de fusion de tous les échantillons de lactose sont immédiatement suivis d'un endotherme plus large et d'enthalpie beaucoup plus faible qui révèle la dégradation thermique qui accompagne invariablement la fusion du lactose. Ce problème rend impossible l'obtention de lactose amorphe par fusion du cristal et trempe de la phase liquide.

### **C. Obtention du $\alpha$ -lactose anhydre stable**

Les formes de lactose disponibles auprès des fournisseurs sont le  $\beta$ L et le  $\alpha$ L<sub>M</sub>. Le  $\alpha$ L<sub>S</sub>, étudié dans la première partie de cette thèse, a donc dû être préparé au laboratoire.

Le  $\alpha$ L<sub>S</sub> est obtenu par déshydratation du  $\alpha$ L<sub>M</sub> commercial acheté chez Sigma. La déshydratation est réalisée par un balayage de méthanol gazeux sec à travers 20 g de lactose monohydrate pendant une durée de 3 heures. Cette déshydratation est pratiquée à 64.7 °C pour prévenir la formation de  $\beta$ -lactose par mutarotation. Les traces résiduelles de méthanol sont extraites en plaçant la poudre sous vide à 20 °C pendant 12 heures. L'analyse thermogravimétrique révèle que le  $\alpha$ L<sub>S</sub> ainsi formé ne contient ni traces d'eau ni traces de méthanol.



## Références

- 1 R. Jenness and R. E. Sloan, Dairy Sciences Abstract **32**, 599 (1970)
- 2 C. Alais, edited by Sepaic, Paris, 1984), p. 39.
- 3 R. M. Pangborn, *Relative taste intensities of selected sugars and organic acids*, Journal of Food Science **28**, 726 (1963)
- 4 M. Otsuka, H. Ohtani, N. Kaneniwa, and S. Higuchi, *Isomerization of lactose in solid-state by mechanical stress during grinding*, Journal-of-pharmacy-and-pharmacology **43**, 148 (1991)
- 5 G. K. Bolhuis, G. Reichman, C. F. Lerk, H. V. V. Kamp, and K. Zuuarman, *Evaluation of Anhydrous Alpha-Lactose, a new excipient in direct Compression*, Drug Dev. Ind. Pharm. **11**, 1657 (1985)
- 6 M. Whiteman and R. J. Yarwood, *Evaluation of six lactose-based materials as direct compression tablet excipients*, Drug Dev. Ind. Pharm. **14**, 1023 (1988)
- 7 Wikipedia.
- 8 J. G. Zadow, *Lactose : Properties and uses*, Journal of Dairy Science **67**, 2654 (1984)
- 9 V. H. Holsinger, *Applications of lactose-modified milk and whey*, Food technol. **32**, 35 (1978)
- 10 Wikipedia.
- 11 T. D. Dincer, G. M. Parkinson, A. L. Rohl, and M. I. Ogden, *Crystallisation of  $\alpha$ -lactose monohydrate from dimethyl sulfoxide (DMSO) solutions: influence of  $\beta$ -lactose*, Journal of Crystal Growth **205**, 368 (1999)
- 12 R. Lefort, V. Caron, J.-F. Willart, and M. Descamps, *Mutarotational Kinetics and Glass Transition of Lactose*, Solid State Communications **140**, 329 (2006)
- 13 G. Haase and T. A. Nickerson, *Kinetic reactions of alpha and beta lactose. I. Mutarotation*, J. Dairy Sci. **49**, 127 (1966)
- 14 S. Garnier, *Contribution à l'étude de la cristallisation en solution. Application à la purification et à l'étude de composés moléculaires: Un thiocarboester et le  $\alpha$ -lactose monohydrate*, University of Rouen, (2001)
- 15 J. F. Willart, V. Caron, R. Lefort, F. Danede, D. Prevost, and M. Descamps, *Athermal character of solid state amorphization of lactose induced by ball milling*, Solid State Communications **132**, 693 (2004)
- 16 T. J. Buma and G. A. Wiegers, Neth. Milk Dairy J. **21**, 208 (1967)
- 17 A. Van Kreveld, Neth. Milk Dairy J. **21**, 258 (1969)

- 18 E. Berlin, P. G. Kliman, B. A. Anderson, and M. J. Pallansch, *Calorimetric measurement of the heat of desorption of water vapor from amorphous and crystalline lactose*, *Thermochimica Acta* **2**, 143 (1971)
- 19 Drapier Beche N., Fanni J., and Parmentier M., *Physical and chemical properties of molecular compounds of lactose*, *Journal-of-dairy-science* **82**, 2558 (1999)
- 20 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussindrager, and J. van-Leverink, *Alterations of alpha-lactose during differential scanning calorimetry*, *Journal of pharmaceutical sciences* **73**, 856 (1984)
- 21 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussendrager, and J. van-Leverink, *Transitions of lactoses by mechanical and thermal treatment*, *Journal of pharmaceutical sciences* **73**, 857 (1984)
- 22 Fries D.C., Rao S.T., and Sundaralingam M., *Structural chemistry of carbohydrate.III. Crystal and molecular structure of 4-O-β-D-Galactopyranosyl-α-D-glucopyranose monohydrate (α-lactose monohydrate)*, *Acta Cryst. B* **27**, 994 (1971)
- 23 K. Hirotsu and A. Shimada, *The crystal and molecular structure of β-lactose*, *Bull. Chem. Soc. Japan* **47**, 1872 (1974)
- 24 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, J. F. Willart, and P. Derollez, *Combination of powder X-ray diffraction and energy minimisation for the structure determination of the stable anhydrous form of α-lactose*, *Acta Cryst. B* **61** (2005)
- 25 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, and P. Derollez, *Ab initio structure determination of the hygroscopic anhydrous form of α-lactose by powder X-ray diffraction*, *Acta Crystallographica Section B Structural Science* **60 Part 4**, 453 (2004)
- 26 L. O. Figura, *The physical modification of lactose and its thermoanalytical identification*, *Thermochimica-acta* **222**, 187 (1993)

## **CHAPITRE IV**

**Transformation directe cristal → verre du  $\alpha$ -  
lactose anhydre stable par broyage**

Le  $\alpha$ -lactose entre dans la composition de nombreux médicaments et produits agroalimentaires. De ce point de vue, il présente deux inconvénients majeurs. D'une part, il se dégrade au chauffage lors de la fusion. D'autre part, il subit une conversion anomérique de la forme  $\alpha$  vers la forme  $\beta$  lors de dissolutions<sup>[1, 2]</sup>. Il est donc impossible d'obtenir du  $\alpha$ -lactose pur et amorphe par la voie classique de fusion trempé ou par des techniques nécessitant des dissolutions préalables comme la lyophilisation ou l'atomisation (« spray drying » en anglais).

A l'inverse, le broyage mécanique offre des perspectives intéressantes. Ce procédé, fréquemment utilisé dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire pour réduire la taille des grains de poudre, peut en effet modifier profondément la nature physique des composés organiques moléculaires compte tenu des liaisons intermoléculaires particulièrement faibles (interactions de Van der Waals et liaisons hydrogène) qui assurent la cohésion de leur réseau cristallin. De plus, il ne nécessite pas de chauffer l'échantillon jusqu'à la fusion ni de le mettre en solution.

Ce chapitre présente les transformations physiques du  $\alpha$ -lactose anhydre stable ( $\alpha$ L<sub>S</sub>) sous broyage. La section A retrace l'étude du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin et du  $\alpha$ L<sub>S</sub> fortement broyé. Cette étude est menée par résonance magnétique nucléaire du liquide (RMN <sup>1</sup>H), par diffraction des rayons X sur poudre (DRX) et par analyse enthalpique différentielle (DSC). La section B est consacrée à l'étude de la nature de la phase cristalline obtenue par amorphisation puis recristallisation du  $\alpha$ L<sub>S</sub>. La section C porte sur la structure de cette phase cristalline.

## **A. Les caractéristiques du $\alpha$ -lactose anhydre stable**

Les opérations de broyage ont été réalisées sur le broyeur planétaire « pulverisette 7 » de Fritsch dont le fonctionnement est décrit dans le chapitre II. Les broyages ont été effectués à vitesse constante (400 tours par minute) et à température ambiante, bien inférieure à la température de transition vitreuse du composé sous atmosphère inerte et sèche (N<sub>2</sub> sec) afin de prévenir les phénomènes d'hygroscopies. Pour éviter tout échauffement dans la jarre, des périodes de broyage (20 minutes) alternent avec des périodes de pauses (10 minutes).

Les échantillons obtenus ont été caractérisés immédiatement après broyage par :

- RMN  $^1\text{H}$  du liquide pour contrôler la composition anomérique du lactose.
- DRX pour caractériser les phases obtenues.
- DSC pour observer les phénomènes thermodynamiques.
- Analyse thermogravimétrique (ATG) pour contrôler la prise d'eau par l'échantillon lors du broyage.

La figure 1 présente les spectres de RMN  $^1\text{H}$  du liquide (1a), les diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre (1b) et les courbes de chaleur spécifique provenant de l'analyse enthalpique différentielle à modulation de température (1c) du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  cristallin non broyé et du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  soumis à un broyage mécanique.

### A.1. Etude par RMN $^1\text{H}$

L'étude par RMN  $^1\text{H}$  du liquide nécessite de dissoudre les échantillons de lactose préalablement à la mesure. Nous avons donc mis en solution nos échantillons dans du DMSO deutérié qui freine fortement la réaction de mutarotation <sup>[1]</sup>.

La figure 1a montre les spectres RMN  $^1\text{H}$  du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  cristallin non broyé et du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  broyé pendant 30 heures.

Le spectre du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  non broyé présente une raie intense localisée à 6.3 ppm et une raie très faible localisée à 6.7 ppm. La première raie est caractéristique de l'isomère  $\alpha$  tandis que la seconde est caractéristique de l'isomère  $\beta$  <sup>[3]</sup>. L'intégration de ces deux raies indique que le pourcentage de  $\beta$ -lactose est de 1.2 %. Le  $\alpha\text{L}_\text{S}$  utilisé pour cette étude est donc d'une grande pureté anomérique par rapport aux produits commerciaux qui contiennent souvent plus d'impuretés (Par exemple, le  $\beta$ -lactose commercial contient 21 % de  $\alpha$ -lactose monohydrate et le  $\alpha$ -lactose monohydrate commercial contient 4 % d'anomères  $\beta$ ).

L'intégration des raies du spectre du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  broyé 30 heures révèle que 3.5 % des molécules de lactose sont en conformation bêta. Ce résultat diffère fortement de celui de

Otsuka et al <sup>[4]</sup>. Ces auteurs ont suivi l'isomérisation de différentes variétés de lactose ( $\alpha$ L<sub>M</sub>,  $\alpha$ L<sub>S</sub>, et  $\beta$ L) soumises à des contraintes mécaniques par broyage. Ils observent une forte mutarotation après broyage (10 heures) des différents échantillons qu'ils attribuent à l'« énergie mécano-chimique » <sup>[4]</sup> fournie par le broyage : 10 % de mutarotation concernant le  $\alpha$ L<sub>M</sub> broyé ; 16 % pour le  $\alpha$ -lactose anhydre et 20 % pour le  $\beta$ L. Les conditions expérimentales décrites par les auteurs indiquent que les broyages ont été effectués à température ambiante sous atmosphère non contrôlée. Le taux d'humidité relative mesuré était de 60 %. Les analyses thermogravimétriques menées par les chercheurs mettent en évidence que ces conditions expérimentales ont favorisé la prise d'eau par les échantillons au cours du broyage. Ainsi, une perte de masse d'environ 10 % attribuée à un départ d'eau est relevée pour les composés broyés 10 heures.

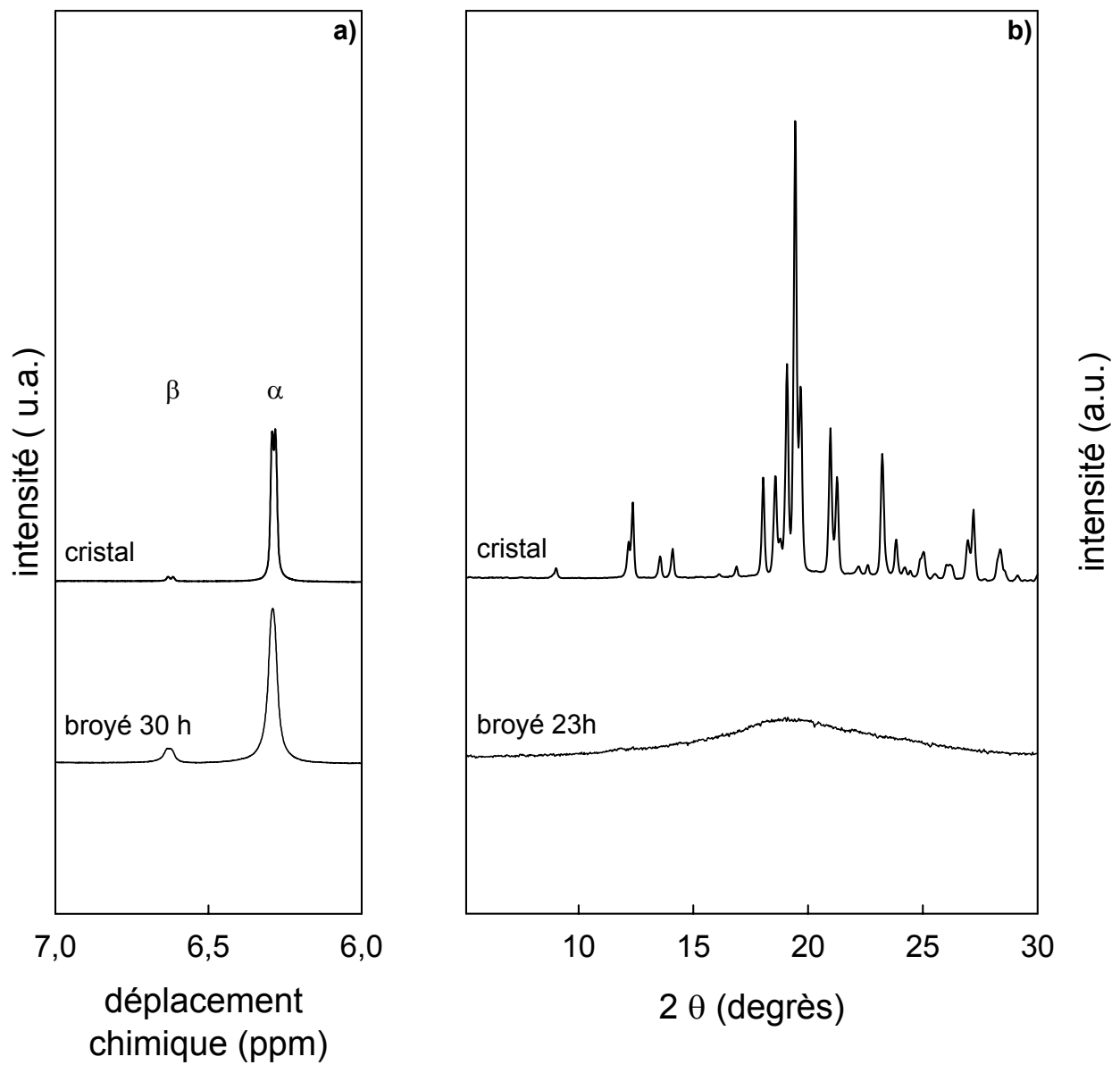


Fig IV.1 :

- a) Spectres de  $^1\text{H}$  RMN liquide du  $\alpha_L$  cristallin et du  $\alpha_L$  broyé 30 h. Les échantillons ont été préalablement dissous dans du DMSO deutérié.
- b) Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre du  $\alpha_L$  cristallin et du  $\alpha_L$  broyé 23 h

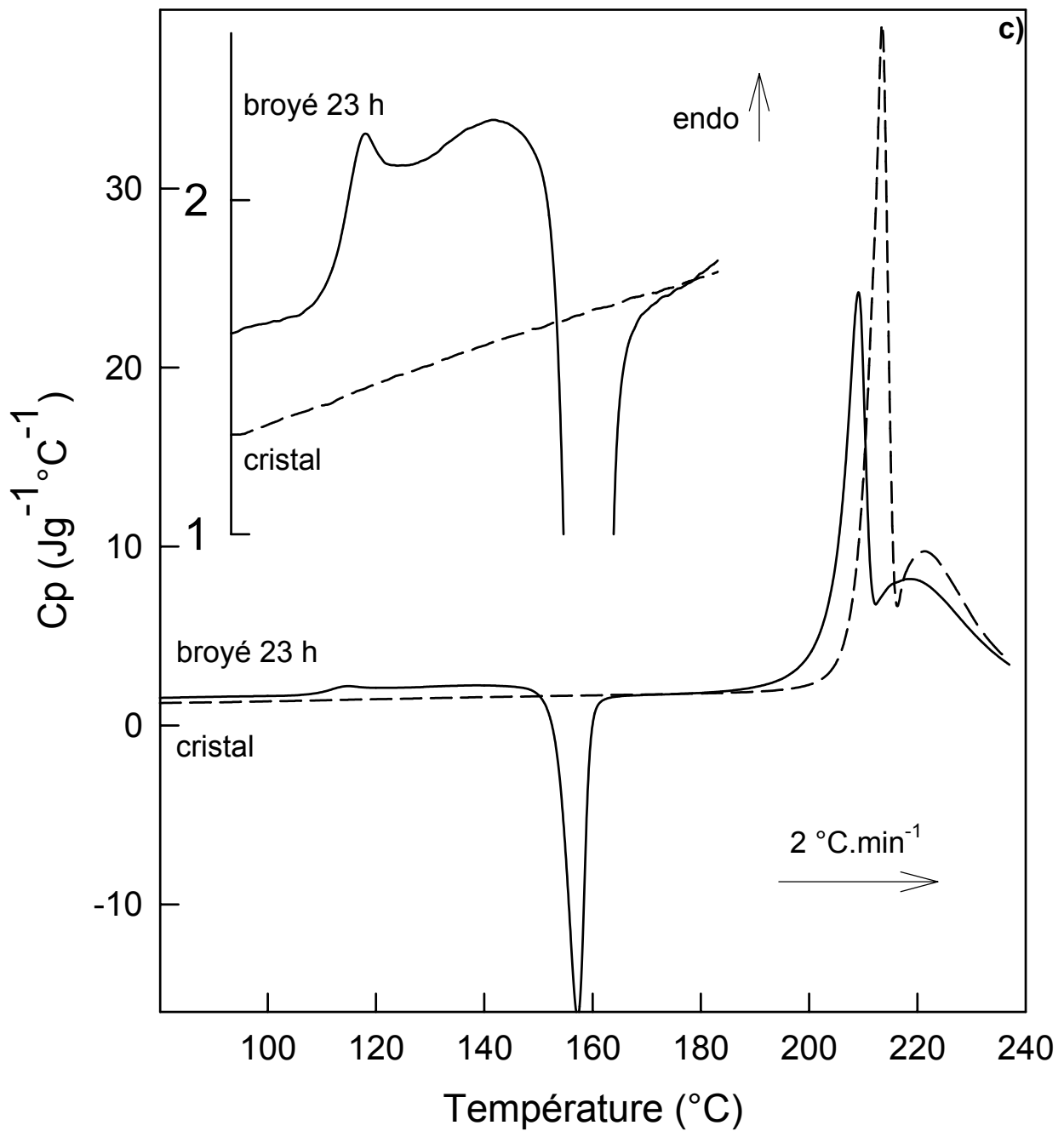


Fig IV.1 :

c) Courbes de chaleur spécifique obtenues au chauffage par MDSC ( $2\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) du  $\alpha L_S$  cristallin et du  $\alpha L_S$  broyé 23 h. En insert, agrandissement de la zone de transition vitreuse. Amplitude de modulation :  $0.212\text{ °C}$  / Période de modulation : 40 s



Par contre, notre échantillon a été broyé sous atmosphère contrôlée. L'ATG d'un échantillon de lactose broyé 30 heures (figure 2) au laboratoire avec cette précaution montre que la poudre a adsorbé moins de 3 % en masse d'eau.

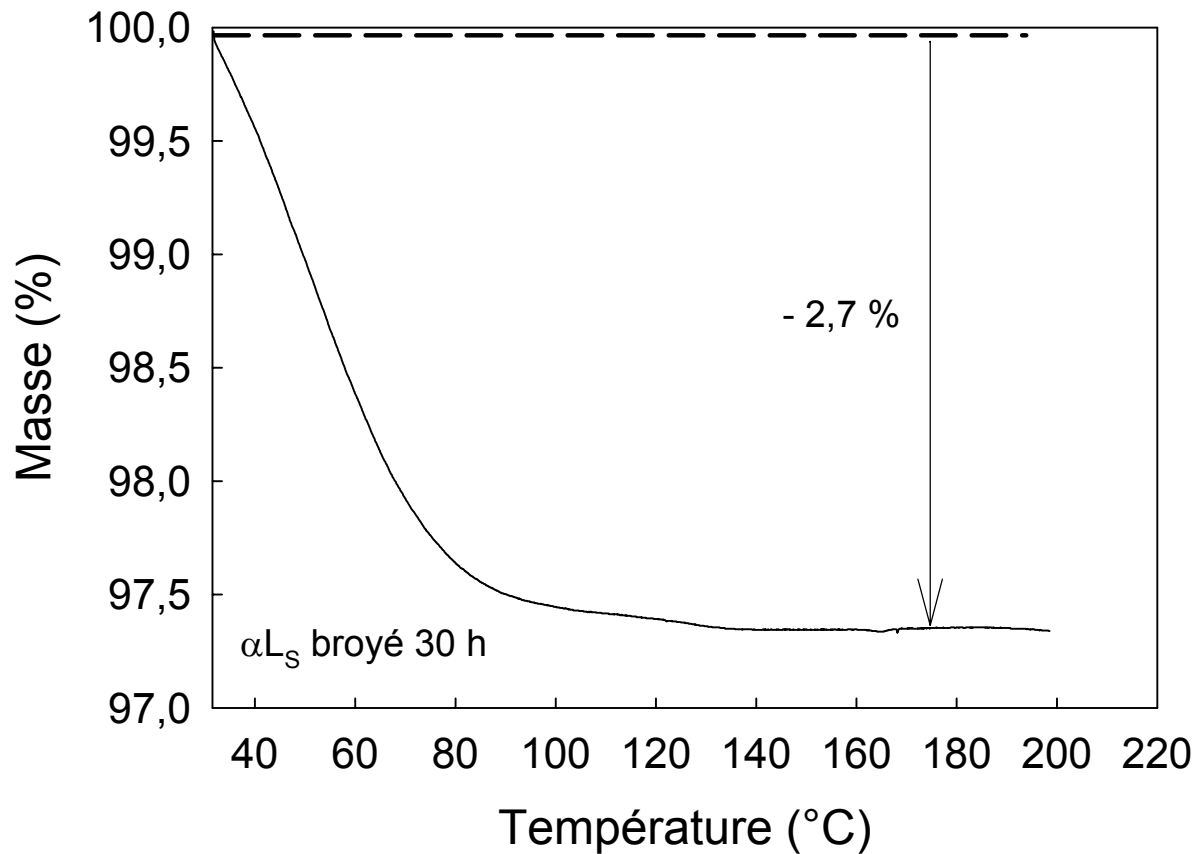


Fig IV.2 :

Courbe d'ATG mesurant la perte de masse d'un échantillon de  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyé 30 h enregistrée au cours d'une rampe de température ( $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

Il apparaît donc que ce n'est pas le broyage en lui-même qui est le facteur responsable de la mutarotation observée par Otsuka et al<sup>[4]</sup> mais plutôt l'humidité adsorbée.

## A.2. Etude par DRX

La figure 1b montre les diffractogrammes du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin non broyé et du  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyé pendant 23 heures.

Le diagramme de rayons X du composé non broyé est caractéristique du  $\alpha$ L<sub>S</sub><sup>[5]</sup>. Les raies de Bragg fines attestent de la parfaite cristallinité de l'échantillon. Leur indexation est compatible avec le groupe d'espace P<sub>1</sub> déterminé précédemment au laboratoire lors de la résolution de la structure de ce composé<sup>[5]</sup>.

Le diffractogramme du  $\alpha$ L<sub>S</sub> enregistré après 23 heures de broyage ne comporte plus aucune raie de Bragg. Ce diagramme de rayons X est constitué d'un halo diffus spécifique d'un matériau amorphe ou nanocristallin. Il révèle clairement que le broyage a entraîné des modifications des propriétés physiques du  $\alpha$ L<sub>S</sub>.

## A.3. Etude par DSC

Les courbes de chaleur spécifique du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin non broyé et du  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyé pendant 23 heures sont reportées sur la figure 1c.

La courbe en pointillés présente le comportement thermodynamique du  $\alpha$ L<sub>S</sub> initialement cristallin. Aucun phénomène enthalpique n'apparaît, excepté la fusion qui se produit à 210.1 °C. Celle-ci s'accompagne inévitablement de la dégradation thermique du composé visible par la bosse terminant l'endotherme de fusion. Cette dégradation rend difficile l'estimation précise de l'enthalpie de fusion du lactose. Elle a néanmoins pu être estimée à 150 J.g<sup>-1</sup>, ce qui est compatible avec les données trouvées dans la littérature<sup>[2, 6-8]</sup>.

L'enregistrement de la courbe de chaleur spécifique du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures révèle plusieurs phénomènes thermodynamiques :

- Un saut de chaleur spécifique qui est observé à une température onset de 111.7 °C (insert de la figure 1c). Deux constats en ressortent. Premièrement, le saut de  $C_p$  observé est caractéristique d'une transition vitreuse, ce qui veut dire que le broyage a induit une amorphisation du  $\alpha\text{L}_S$ . Deuxièmement, cet amorphe possède une dynamique de verre.
- Un exotherme attribué à la recristallisation de la partie amorphe de l'échantillon est clairement visible. Cette recristallisation se produit à une température de 153.2 °C et son enthalpie est de 86 J.g<sup>-1</sup>.
- Un endotherme de fusion qui est situé à 204.5 °C. Son enthalpie est estimée à 105 J.g<sup>-1</sup>.
- La dégradation thermique du composé qui se manifeste juste après la fusion.

La courbe de chaleur spécifique ayant été obtenue par calorimétrie à modulation de température (MDSC), il est possible d'en déduire la valeur de  $C_p^{\text{am}} - C_p^{\text{cr}}$ , qui va nous servir à estimer le pourcentage de phase amorphe dans le  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures par comparaison des enthalpies de recristallisation et de fusion (cf. Annexe D). Nous rappelons simplement ici la formule qui va nous permettre d'évaluer  $\Delta H_f(T_{\text{CR}})$ , l'enthalpie de fusion du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures ramenée à la température de recristallisation :

$$\Delta H_f(T_{\text{CR}}) = \Delta H_f(T_f) - (C_p^{\text{am}} - C_p^{\text{cr}})(T_f - T_{\text{CR}})$$

Avec :

$\Delta H_f(T_{\text{CR}})$  : enthalpie de fusion à la température de recristallisation du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures

$\Delta H_f(T_f)$  : enthalpie de fusion à la température de fusion du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures

$C_p^{\text{am}}$  : chaleur spécifique du composé amorphe

$C_p^{\text{cr}}$  : chaleur spécifique du composé cristallin

$T_f$  : température de fusion du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures

$T_{\text{CR}}$  : température de recristallisation du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 23 heures

Le thermogramme du composé broyé 23 heures montre que  $C_P^{\text{am}} - C_P^{\text{cr}} = 0.6 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$  et que  $\Delta H_f(T_{\text{CR}}) = 74.2 \text{ J.g}^{-1}$ . En comparant cette valeur à celle de  $\Delta H_{\text{CR}}(T_{\text{CR}})$  ( $86 \text{ J.g}^{-1}$ ), il est évident que le composé a été totalement amorphisé par le broyage. La légère différence entre  $\Delta H_f(T_{\text{CR}})$  et  $\Delta H_{\text{CR}}(T_{\text{CR}})$  vient de la dégradation thermique qui se produit juste après la fusion. Il n'est donc pas possible de déconvoluer convenablement les deux phénomènes, ce qui entraîne l'impossibilité de mesurer correctement l'enthalpie de fusion. La valeur obtenue sous-estime donc la valeur réelle.

En conséquence, la simple nanostructuration des cristallites ne peut expliquer l'aspect du diffractogramme. Le halo diffus du diagramme de RX découle de l'amorphisation totale de l'échantillon. Cette amorphisation étant observée à une température inférieure de près de  $90 \text{ °C}$  à la température de transition vitreuse, nous sommes en présence d'une transition directe cristal → verre à l'état solide induite par broyage. Ce type de transition a déjà été rapporté sur d'autres composés organiques, par exemple l'indométhacine ou le tréhalose<sup>[9-11]</sup>.

#### A.4. Synthèse

Les résultats combinés de DRX, de DSC et de RMN prouvent donc, pour la première fois, qu'il est possible d'obtenir, par broyage, du  $\alpha$ L totalement amorphe, d'une grande pureté anomérique et sans dégradation du composé.

Ce résultat est important car jusqu'à présent les autres techniques ne le permettaient pas. La technique traditionnelle de fusion du cristal puis de trempe du liquide entraîne une dégradation du lactose lors de la fusion qui le rend inutilisable pour des applications industrielles (pharmaceutiques ou agro-alimentaires). La lyophilisation, le « spray drying »... nécessitent de dissoudre le composé. Or, toute dissolution du lactose s'accompagne d'une mutarotation. Celle-ci conduit à un équilibre entre un certain pourcentage de forme  $\alpha$  et un certain pourcentage de forme  $\beta$  qui dépend de la nature du solvant et de la température de la solution.

## B. Recristallisation du $\alpha$ -lactose amorphe

Les thermogrammes de la figure 1c permettent d'estimer les températures et les enthalpies de fusion du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin de départ (c'est-à-dire avant broyage) et du lactose cristallin obtenu par recristallisation du  $\alpha$ -lactose amorphe. Ces valeurs sont reportées dans le tableau 1.

	$\alpha$ L <sub>S</sub> cristallin non broyé	Echantillon recristallisé à partir du $\alpha$ L amorphe
T <sub>f</sub>	210.1 °C	204.5 °C
$\Delta H_f(T_f)$	150 J.g <sup>-1</sup>	105 J.g <sup>-1</sup>

Tableau IV.1 :

Caractéristiques thermodynamiques de la fusion des échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> et de  $\alpha$ L recristallisé

On constate que le  $\alpha$ L cristallin de départ et l'échantillon recristallisé présentent un comportement légèrement différent lors de la fusion. La fusion du composé recristallisé se produit à une température inférieure de plus de 5 °C avec une enthalpie inférieure de près de 30 % par rapport à celle du composé non broyé.

Le refroidissement puis l'enregistrement au réchauffage d'un thermogramme de ce composé recristallisé (données non présentées) n'indiquent aucune transition vitreuse ni recristallisation supplémentaire. Par conséquent, l'enthalpie de fusion plus faible ne peut être reliée à une partie amorphe de l'échantillon qui n'aurait pas recristallisée lors du premier chauffage.

La figure 3 montre le diagramme de RX et le spectre RMN <sup>1</sup>H enregistrés à température ambiante après recristallisation du  $\alpha$ L amorphe à 170 °C. Pour comparaison, nous avons ajouté les diffractogrammes et les spectres des autres formes cristallines de lactose ( $\beta$ L,  $\alpha$ L<sub>S</sub>,  $\alpha$ L<sub>M</sub>).

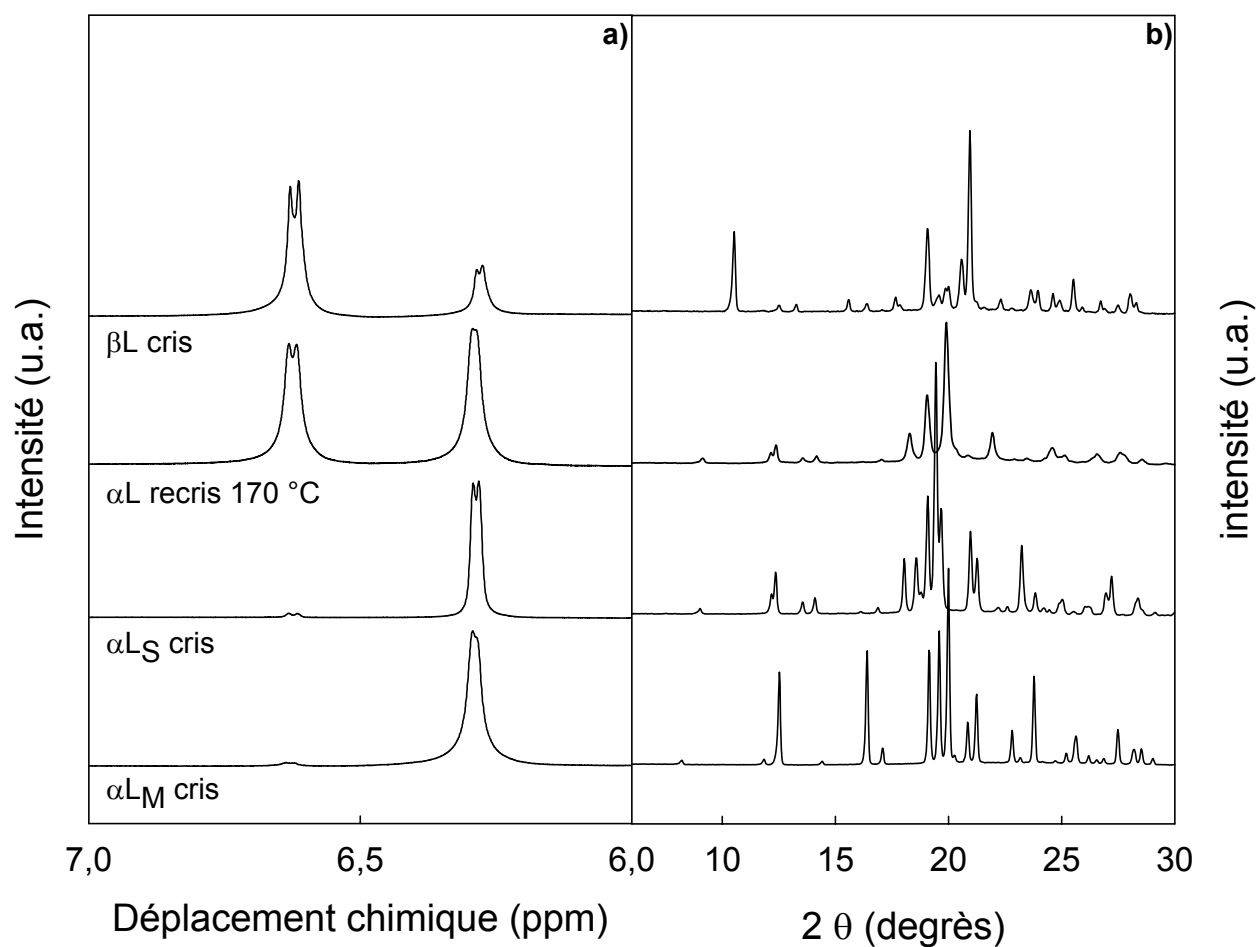


Fig. IV.3 :

- a) Spectres  $^1\text{H}$  RMN liquide des différentes formes de lactose  
 b) Diagrammes RX de ces mêmes échantillons

$\beta\text{L}$  cris: beta lactose commercial  
 $\alpha\text{L}$  recris 170°C :  $\alpha\text{L}_\text{S}$  amorphisé par broyage puis recristallisé à 170 °C  
 $\alpha\text{L}_\text{S}$  cris: alpha lactose anhydre stable  
 $\alpha\text{L}_\text{M}$  cris: alpha lactose monohydrate commercial

A la lecture du spectre du  $\beta$ L, il ressort que ce produit commercial n'est pas pur anomériquement. L'intégration des raies indique qu'il contient 24.5 % d'anomère  $\alpha$ .

L'intégration des raies du spectre du  $\alpha$ L<sub>M</sub> montre qu'il contient 1.2 % de  $\beta$ -lactose.

Le spectre de RMN <sup>1</sup>H du composé cristallin obtenu par recristallisation du  $\alpha$ L amorphe prouve que de la mutarotation s'est produite. L'intégration des raies caractéristiques de l'anomère  $\alpha$  et de l'anomère  $\beta$  révèle que 49.7 % des molécules de l'échantillon sont en conformation bêta.

Les raies de Bragg du diffractogramme du composé recristallisé sont nettement différentes de celles du  $\alpha$ L<sub>M</sub>, du  $\alpha$ L<sub>S</sub> ou du  $\beta$ L. De plus, ce spectre ne peut s'interpréter comme une combinaison linéaire des spectres du  $\beta$ L et du  $\alpha$ L<sub>S</sub> (ou du  $\alpha$ L<sub>M</sub>), ce qui exclut la coexistence de cristaux de  $\beta$ L avec des cristaux de  $\alpha$ L<sub>S</sub> (ou de  $\alpha$ L<sub>M</sub>) comme pourrait le laisser penser l'analyse en RMN <sup>1</sup>H. Nous sommes donc en présence d'une nouvelle phase cristalline différente de celles que nous avons déjà rencontrées. Certains travaux sur le lactose font référence à des composés moléculaires constitués de molécules en conformation  $\alpha$  et de molécules en conformation  $\beta$  [6, 12, 13]. Ces composés ne sont pas constitués d'un mélange de cristaux de  $\alpha$ L et de cristaux de  $\beta$ L mais de cristaux uniques dont la maille contient à la fois des molécules de  $\alpha$ L et des molécules de  $\beta$ L. Le ratio entre les anomères  $\alpha$  et  $\beta$  dépend de la voie utilisée pour obtenir ces composés. Ainsi, la dissolution de  $\alpha$ L<sub>M</sub> dans de l'acide chlorhydrique concentré conduit à la recristallisation d'un composé équimolaire 5 $\alpha$ /3 $\beta$ . Le composé 4 $\alpha$ /1 $\beta$  peut être synthétisé à l'aide de méthanol comme solvant et le 3 $\alpha$ /2 $\beta$  à partir d'un mélange de méthanol et d'ammoniac [6]. Lerk et al ont rapporté la formation d'un composé équimolaire  $\alpha$ / $\beta$  de stœchiométrie 1/1 par chauffage de  $\alpha$ L<sub>H</sub> [12], par chauffage de  $\alpha$ L<sub>M</sub> amorphisé par broyage ou par chauffage de lactose amorphe préparé par spray-drying [13]. Le diffractogramme du composé équimolaire  $\alpha$ / $\beta$  publié par Lerk et al [12] correspond à notre diffractogramme expérimental. Le  $\alpha$ L<sub>S</sub> amorphisé par broyage recristallise donc vers le composé équimolaire  $\alpha$ / $\beta$  dans lequel 50 % des molécules sont en conformation  $\alpha$  et 50 % en conformation  $\beta$ .

### C. Structure du composé équimolaire $\alpha/\beta$

La résolution de la structure cristalline du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  1/1 (que nous appellerons simplement  $\alpha/\beta$  par la suite) a été réalisée au laboratoire par Lefebvre et al <sup>[14]</sup> à partir du diagramme de diffraction des rayons X sur poudre. Les traits essentiels de la résolution de la structure du lactose  $\alpha/\beta$  ainsi que les détails de cette étude sont exposés dans la référence <sup>[14]</sup>. Nous en donnons ici les principaux résultats.

La maille du  $\alpha/\beta$  est triclinique et comprend 2 molécules (1 molécule en conformation  $\alpha$  et 1 molécule en conformation  $\beta$ ). Le groupe d'espace est P1. Les données cristallographiques obtenues pour ce composé sont rassemblées dans le tableau 2 qui comprend également celles des autres formes de lactose :

Caractéristiques	$\alpha$ L <sub>M</sub> <sup>[15]</sup>	$\beta$ L <sup>[16]</sup>	$\alpha$ L <sub>H</sub> <sup>[17]</sup>	$\alpha/\beta$ <sup>[14]</sup>	$\alpha$ L <sub>S</sub> <sup>[5]</sup>
<b>Groupe d'espace</b>	P2 <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub>	P1	P1
<b>a (Å)</b>	7.982	10.839	7.7795	7.6258	7.6522
<b>b (Å)</b>	21.562	13.349	19.6931	19.6559	19.8637
<b>c (Å)</b>	4.824	4.954	4.9064	5.0613	4.9877
<b><math>\alpha</math> (°)</b>	90	90	90	95.646	92.028
<b><math>\beta</math> (°)</b>	109.57	91.31	103.691	105.430	106.261
<b><math>\gamma</math> (°)</b>	90	90	90	80.996	97.153
<b>V (Å<sup>3</sup>)</b>	782.3	716.7	730.32	721	720.18
<b>Molécules/maille</b>	2	2	2	2	2

Tableau IV.2 :  
Groupes spatiaux et paramètres de maille des différentes formes cristallines de lactose.

Ce tableau met en évidence que les paramètres de maille sont sensiblement les mêmes pour  $\alpha/\beta$ ,  $\alpha$ L<sub>S</sub>,  $\alpha$ L<sub>H</sub> et  $\alpha$ L<sub>M</sub>. Par contre, la maille du  $\beta$ L est très différente de celles des quatre autres formes cristallines du lactose. Les valeurs élevées du paramètre **b** et du volume de maille du  $\alpha$ L<sub>M</sub> sont dues à la présence de la molécule d'eau dans la structure.



Les molécules de  $\alpha$ L et de  $\beta$ L ainsi que la numérotation de leurs atomes sont données dans la figure 4. La figure 5 donne la projection de la maille du lactose  $\alpha/\beta$  selon l'axe  $c^*$ .

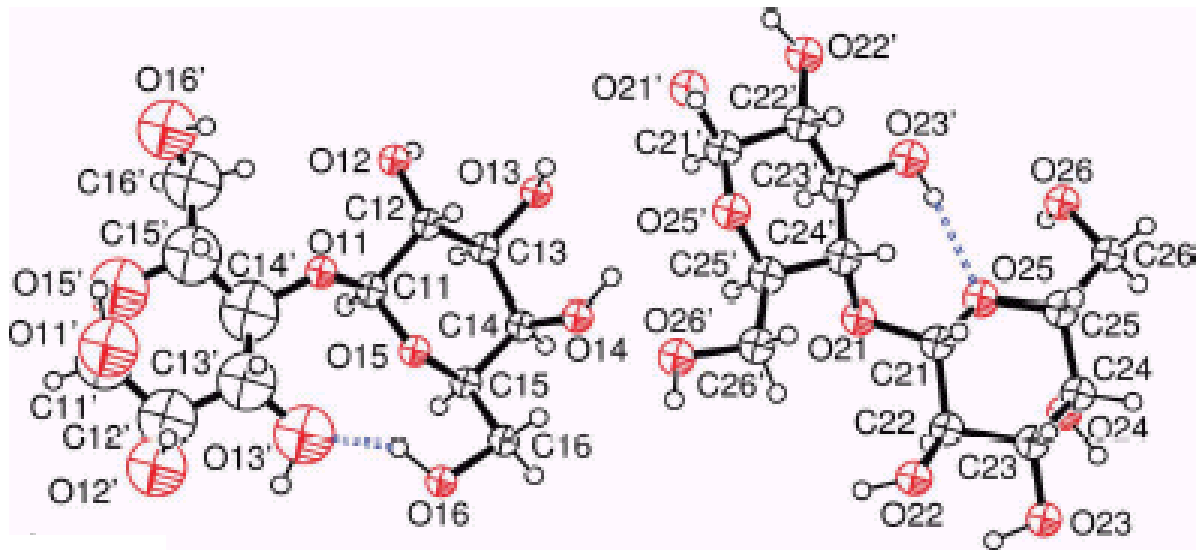


Fig IV.4 :

A gauche molécule de  $\alpha$ -lactose / à droite molécule de  $\beta$ -lactose

La notation des atomes Xin est telle que X = C, O ; i = 1,2 pour les molécules  $\alpha$  et  $\beta$  respectivement ;

n = numéro de l'atome ; les atomes sans prime sont ceux de l'unité galactose et avec prime, de l'unité glucose.

Les lignes pointillées correspondent aux liaisons hydrogène intramoléculaires

Figure reproduite de Lefebvre et al <sup>[14]</sup>

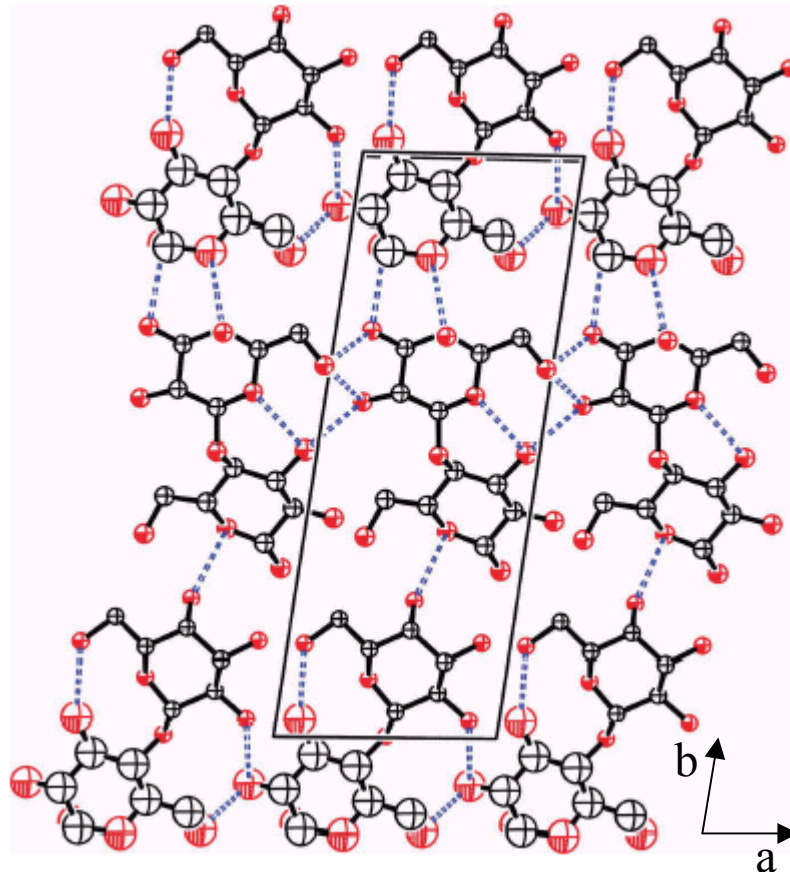


Fig IV.5 :  
 Projection selon  $c^*$  de la maille du composé équimolaire  $\alpha/\beta$ .  
 Les lignes pointillées représentent les liaisons hydrogène (l'axe horizontal est **a**)  
 Figure reproduite de Lefebvre et al <sup>[14]</sup>

La cohésion du réseau cristallin est assurée par les liaisons hydrogène O–H...O. Le long axe de la molécule de lactose est orienté suivant **b** avec la séquence suivante : unité glucose puis unité galactose pour la première molécule. La même séquence est reproduite pour la suivante... Le plan (**a**, **c**) en  $y = 0$  contient les molécules de  $\alpha$ L. Les molécules de  $\beta$ L sont dans le même plan en  $y = 0.5$ .

L'analyse microstructurale (cf. annexe C) du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  révèle que les déformations des cristallites sont isotropes et valent  $22.20 \times 10^{-4}$ . Cette valeur relativement élevée est probablement liée à la présence de défauts cristallins. Par contre, la taille des cristallites est anisotrope. Le diamètre moyen est de 563 Å avec un minimum de 390 Å dans la direction  $\left[ \begin{smallmatrix} - \\ \bar{1}61 \end{smallmatrix} \right]$  et un maximum de 806 Å dans la direction  $\left[ \begin{smallmatrix} - \\ 431 \end{smallmatrix} \right]$ .

On constate sur les figures 4 et 5 que la molécule  $\alpha$  du composé  $\alpha/\beta$  ne possède pas de liaison hydrogène intramoléculaire  $H(O13')\cdots O15$ . Cette liaison existe pour toutes les molécules de lactose des quatre autres formes cristallines présentées dans le tableau 2. Cette liaison joue un rôle majeur dans la stabilité de la molécule et son absence explique sans doute le désordre orientationnel de l'unité glucose de la molécule  $\alpha$  du lactose  $\alpha/\beta$ , révélé lors de la résolution de la structure. La symétrie étant triclinique, il est impossible de caractériser ce désordre. A l'exception de ce point, le réseau de liaisons hydrogène du  $\alpha/\beta$  est très semblable à celui du  $\alpha L_S$ . La molécule de  $\alpha$ -lactose dans le  $\alpha L_S$  est représentée figure 6 et la projection de la maille du  $\alpha L_S$  selon  $c^*$  est donnée figure 7. On constate sur les figures 6 et 7 la présence de la liaison hydrogène intramoléculaire  $H(O13')\cdots O15$ .

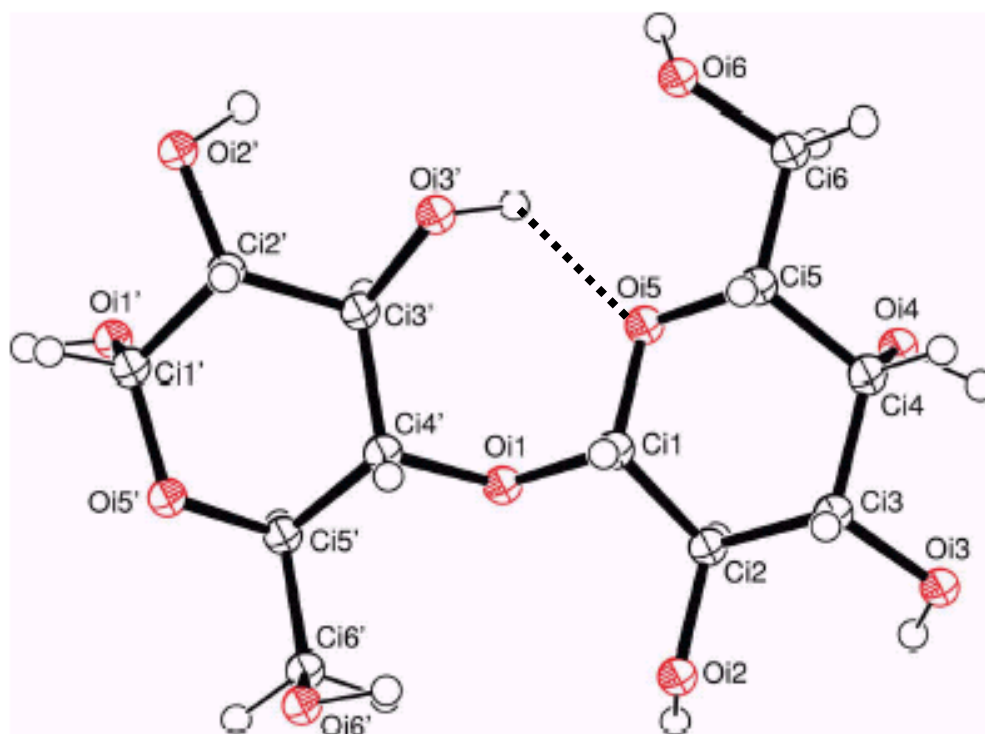


Fig IV.6 :

Molécule de  $\alpha$ -lactose

La notation des atomes Xin est telle que X = C, O.

n = numéro de l'atome ; les atomes sans prime sont ceux de l'unité galactose et avec prime, de l'unité glucose.

La ligne en pointillés représente la liaison hydrogène intramoléculaire  $H(O13')\cdots O15$ .

Figure reproduite de Platteau et al <sup>[5]</sup>

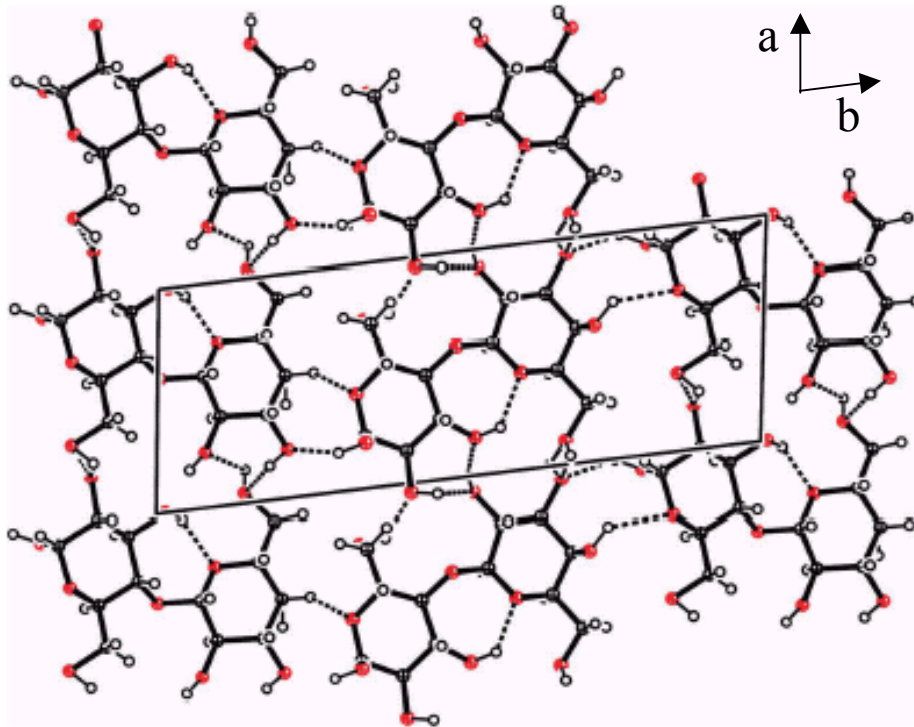


Fig IV.7 :  
Projection selon  $c^*$  de la maille du  $\alpha$ L<sub>S</sub>.  
Les lignes pointillées représentent les liaisons hydrogène (l'axe horizontal est **b**)  
Figure reproduite de Platteau et al <sup>[5]</sup>

## D. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons mis en évidence les résultats suivants :

- Le broyage mécanique du  $\alpha$ L<sub>S</sub> en atmosphère sèche et à température ambiante permet d'obtenir du  $\alpha$ -lactose amorphe. Le caractère réellement amorphe (et non nanocristallin) est clairement prouvé par la présence d'un saut de chaleur spécifique au réchauffage associé à une transition vitreuse calorimétrique (à T<sub>g</sub>). Nous avons montré par ailleurs que l'état amorphe obtenu par broyage ne présente aucune « dégradation » chimique : ni caramélisation ni mutarotation (conversion de molécules de  $\alpha$ -lactose en molécules de  $\beta$ -lactose). Les autres méthodes d'amorphisation du lactose habituellement utilisées (lyophilisation, spray-drying, trempe thermique du liquide) nécessitent toutes soit de fondre l'échantillon soit de le mettre en solution, ce qui génère inévitablement une forte mutarotation pouvant atteindre plus de 50 % de l'échantillon. D'un point de vue pratique, le broyage mécanique apparaît être la seule méthode permettant d'obtenir du  $\alpha$ L amorphe pur. Par ailleurs, l'absence de toute dégradation chimique montre que l'échantillon n'a pas subi d'élévation de température notable lors du broyage. Cela exclut un mécanisme de fusion/trempe local souvent invoqué pour expliquer l'amorphisation par broyage et révèle que le broyage a conduit à une véritable amorphisation directe à l'état solide. Il est à noter que le fait de broyer l'échantillon à une température très inférieure à T<sub>g</sub> (112 °C) est sans doute à l'origine de la possibilité d'amorphiser l'échantillon. Ce comportement est à opposer au comportement sous broyage du mannitol (cf. chapitre VIII) qui conduit à une transformation polymorphique cristal → cristal et pour lequel le broyage a été réalisé à une température supérieure à celle de T<sub>g</sub> (T<sub>g</sub> = 13 °C).

- Le chauffage du composé  $\alpha$ L amorphe obtenu par broyage induit une recristallisation à 160 °C (T<sub>g</sub> + 40 °C) vers un composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Cela démontre qu'il y a une mutarotation au chauffage se produisant à des températures qui n'ont pas été atteintes pendant le traitement mécanique. Nous étudierons plus précisément au chapitre V le développement de cette mutarotation à l'état solide lors d'un réchauffage. La structure du composé mixte  $\alpha/\beta$  a été résolue en collaboration

avec Jacques Lefebvre par diffraction des rayons X sur poudre. La structure cristallographique du composé  $\alpha/\beta$  présente des similitudes avec celle du  $\alpha$ L<sub>S</sub> du point de vue du groupe d'espace (P1) et des paramètres de maille.

## Références

- 1 T. D. Dincer, G. M. Parkinson, A. L. Rohl, and M. I. Ogden, *Crystallisation of  $\alpha$ -lactose monohydrate from dimethyl sulfoxide (DMSO) solutions: influence of  $\beta$ -lactose*, Journal of Crystal Growth **205**, 368 (1999)
- 2 L. O. Figura, *The physical modification of lactose and its thermoanalytical identification*, Thermochemica-acta **222**, 187 (1993)
- 3 S. Garnier, *Contribution à l'étude de la cristallisation en solution. Application à la purification et à l'étude de composés moléculaires: Un thiocarboester et le  $\alpha$ -lactose monohydrate*, University of Rouen, (2001)
- 4 M. Otsuka, H. Ohtani, N. Kaneniwa, and S. Higuchi, *Isomerization of lactose in solid-state by mechanical stress during grinding*, Journal-of-pharmacy-and-pharmacology **43**, 148 (1991)
- 5 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, J. F. Willart, and P. Derollez, *Combination of powder X-ray diffraction and energy minimisation for the structure determination of the stable anhydrous form of  $\alpha$ -lactose*, Acta Cryst. B **61** (2005)
- 6 Drapier Beche N., Fanni J., and Parmentier M., *Physical and chemical properties of molecular compounds of lactose*, Journal-of-dairy-science **82**, 2558 (1999)
- 7 E. Berlin, P. G. Kliman, B. A. Anderson, and M. J. Pallansch, *Calorimetric measurement of the heat of desorption of water vapor from amorphous and crystalline lactose*, Thermochemica Acta **2**, 143 (1971)
- 8 D. Giron, *Use of DSC robotic systems in pharmaceutical analysis*, Journal of Thermal Analysis **35**, 1801 (1989)
- 9 S. Desprez, *Transformations de phases induites par broyage dans un composé moléculaire: l'indométhacine*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2004)
- 10 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, G. Odou, F. Danede, and M. Descamps, *Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling*, Solid State Communications **119**, 501 (2001)
- 11 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)

- 12 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussindrager, and J. van-Leverink, *Alterations of alpha-lactose during differential scanning calorimetry*, Journal of pharmaceutical sciences **73**, 856 (1984)
- 13 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussendrager, and J. van-Leverink, *Transitions of lactoses by mechanical and thermal treatment*, Journal of pharmaceutical sciences **73**, 857 (1984)
- 14 J. Lefebvre, J.-F. Willart, V. Caron, R. Lefort, F. Affouard, and F. Danede, *Structure determination of the 1/1 a/b mixed lactose by X-ray powder diffraction*, Acta Cryst. B **61**, 455 (2005)
- 15 Fries D.C., Rao S.T., and Sundaralingam M., *Structural chemistry of carbohydrate.III. Crystal and molecular structure of 4-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranose monohydrate ( $\alpha$ -lactose monohydrate)*, Acta Cryst. B **27**, 994 (1971)
- 16 K. Hirotsu and A. Shimada, *The crystal and molecular structure of  $\beta$ -lactose*, Bull. Chem. Soc. Japan **47**, 1872 (1974)
- 17 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, and P. Derollez, *Ab initio structure determination of the hygroscopic anhydrous form of  $\alpha$ -lactose by powder X-ray diffraction*, Acta Crystallographica Section B Structural Science **60 Part 4**, 453 (2004)



## **CHAPITRE V**

### **Etude de la mutarotation du $\alpha$ L en fonction de la température**

Les résultats du chapitre précédent ont révélé une forte mutarotation lors du chauffage du  $\alpha$ L amorphe. L'étude du produit recristallisé a montré en particulier que 50 % des molécules se sont transformées en molécules de  $\beta$ -lactose.

Ce phénomène peut avoir des conséquences sur les utilisations industrielles du lactose. La présence de l'anomère  $\beta$  peut perturber la cristallisation du  $\alpha$ -lactose<sup>[1, 2]</sup>. Dincer et al ont étudié la recristallisation de  $\alpha$ L<sub>M</sub> à partir de solutions de DMSO contenant des pourcentages contrôlés d'anomères  $\alpha$  et d'anomères  $\beta$ <sup>[2]</sup>. Pour des concentrations inférieures à 10 % en  $\beta$ -lactose, la croissance s'effectue majoritairement suivant la direction **c** produisant des cristaux de forme prismatique. Pour des concentrations plus élevées (40 %), la croissance suivant **c** est fortement ralentie et la croissance suivant **b** (qui est beaucoup plus lente) devient significative, produisant des cristaux de forme pyramidale. Dans la cristallisation industrielle par ensemencement, la croissance des cristaux est l'étape la plus importante du processus<sup>[3]</sup> et la vitesse de croissance, un paramètre clé. La forme des cristaux est également très importante pour deux raisons. D'une part, les qualités de taille et de forme ont un impact commercial relatif à l'aspect du produit vendu. D'autre part, elles ont une influence sur les procédés en aval de la cristallisation des produits. Les poudres cristallines doivent posséder de bonnes propriétés de coulabilité, de compressibilité, ne pas s'agglomérer dans les installations de stockage... Tous ces paramètres sont influencés par l'habitus des cristaux.

Généralement la mutarotation à l'état solide se mesure de manière indirecte par RMN du liquide<sup>[4]</sup>. Cependant, les mesures nécessitent une dissolution préalable du lactose qui engendre par elle-même une forte mutarotation. Pour réduire cet effet, les dissolutions sont effectuées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) deutérié qui présente l'avantage de réduire fortement la conversion du  $\alpha$ -lactose en  $\beta$ -lactose (comparée à l'eau, la vitesse de mutarotation est environ 200 fois plus faible). Pour autant, ce mode opératoire n'est pas parfaitement satisfaisant car ce solvant n'arrête pas totalement la réaction. A 30 °C, le taux de conversion est d'environ 0.5 % par heure. A température plus élevée, celui-ci devient beaucoup plus rapide<sup>[2]</sup>. Les effets du diméthylsulfoxyde (DMSO) deutérié introduisent donc un biais important lors de la mesure des pourcentages de  $\alpha$ -lactose et de  $\beta$ -lactose.

Dans ce chapitre, nous établissons la possibilité de caractériser la mutarotation dans le lactose de manière directe par RMN du carbone 13 à l'état solide (<sup>13</sup>C CP-MAS RMN).

Cette technique est prometteuse à double titre. Premièrement, elle exclut toute dissolution préalable du composé. Deuxièmement, elle permet de distinguer les différentes formes cristallines du lactose [5, 6].

Le chapitre s'articule autour de trois sections. La première concerne la faisabilité de l'étude de la mutarotation par  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN. Elle repose sur une comparaison des mesures réalisées à température ambiante par cette technique avec celles obtenues par RMN  $^1\text{H}$  du liquide. La section B retrace l'évolution in situ de la mutarotation en fonction de la température dans le  $\alpha\text{L}_\text{S}$ , le  $\alpha\text{L}_\text{M}$  et le  $\alpha$ -lactose amorphe. Les résultats sont analysés et discutés dans la section C. Il s'agira en particulier de répondre à plusieurs questions essentielles posées par la mutarotation : lors de la phase de chauffage, à quel moment cette mutarotation a-t-elle lieu? Au cours de la recristallisation? A l'état amorphe? Dans ce dernier cas, la conversion anomérique débute-t-elle avant ou après la température de transition vitreuse ?

## **A. $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN : une technique de choix pour l'étude de la mutarotation**

### **A.1. Présentation des spectres du $\alpha\text{L}_\text{S}$ et du $\beta\text{L}$**

Les spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  et du  $\beta\text{L}$  cristallins sont présentés sur la figure 1. Une molécule de lactose avec identification des atomes est présentée sur la figure 2.

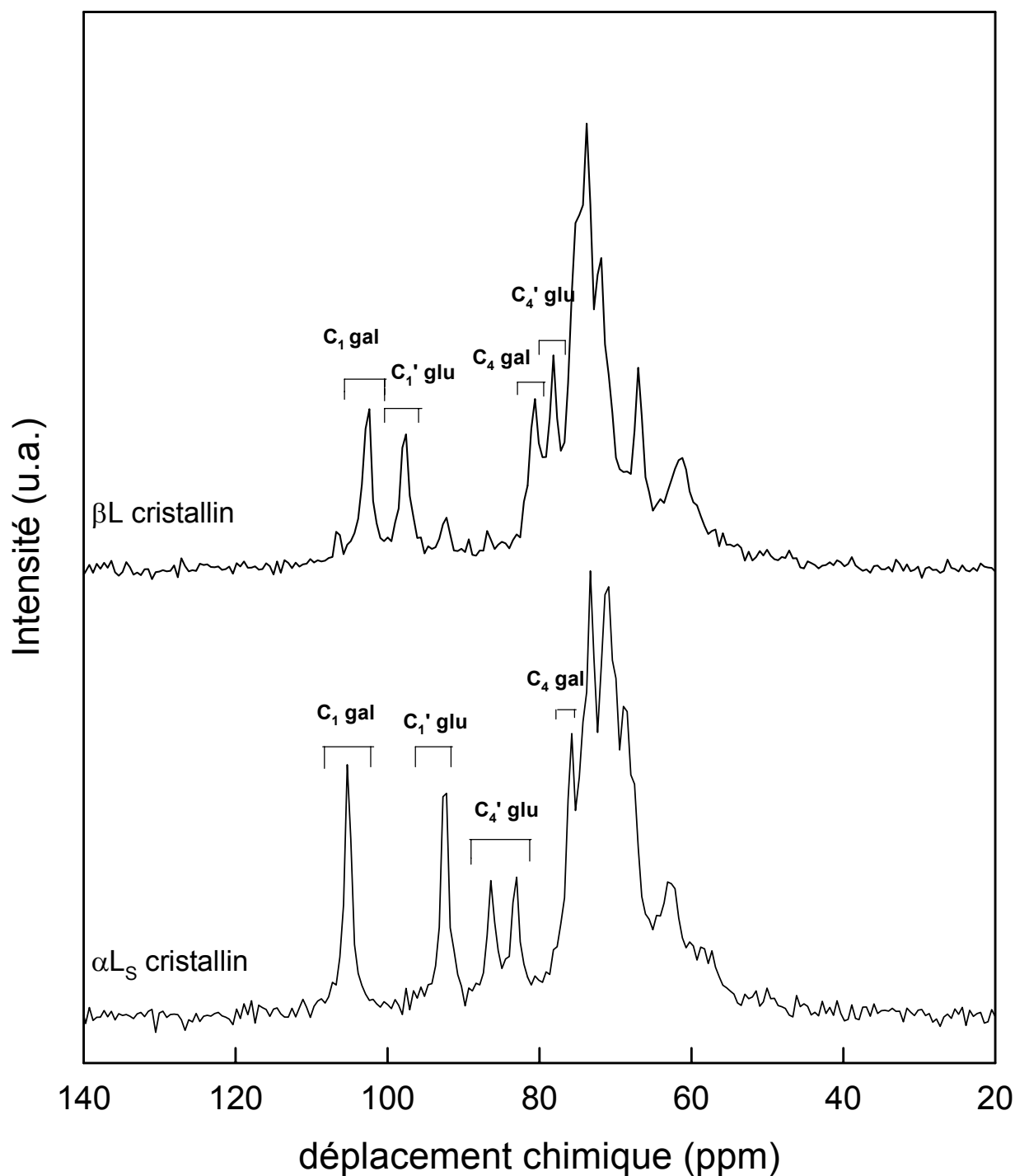


Fig. V.1 :  
Spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (spectromètre 100 MHz) enregistrés à température ambiante du  $\alpha\text{L}_S$  cristallin et du  $\beta\text{L}$  cristallin commercial avec identification des raies principales

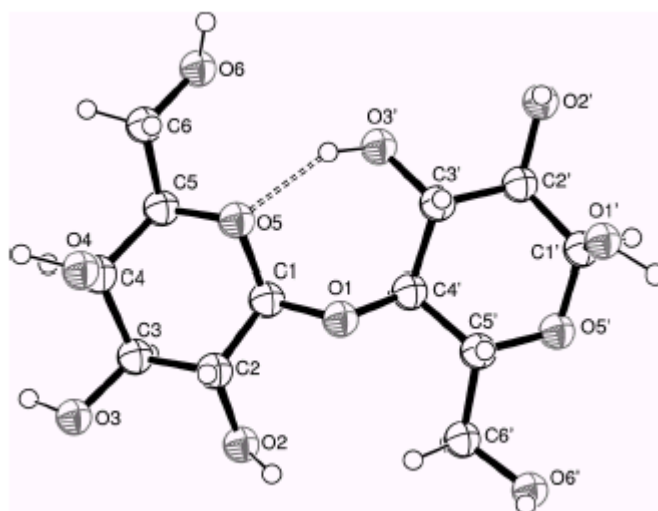


Fig.V.2 :

Molécule de  $\alpha$ -lactose<sup>[7]</sup>.

Les atomes avec un prime sont ceux de l'unité glucose. Les atomes sans prime sont ceux de l'unité galactose.

On peut noter les traits suivants<sup>[5]</sup> :

- La raie constatée à 106.2 ppm pour le  $\alpha$ L<sub>S</sub> et à 103.3 ppm pour le  $\beta$ L est attribuée au carbone C<sub>1</sub> de l'unité galactose.
- La raie située à 93.1 ppm pour le  $\alpha$ L<sub>S</sub> est caractéristique du carbone anomérique C<sub>1</sub>' de l'unité glucose. Cette raie est significativement décalée vers les bas champs ou de façon équivalente vers des valeurs plus élevées de déplacement chimique (98.42 ppm) pour la molécule de  $\beta$ L.
- Les deux raies situées à 87.3 et 83.9 ppm sur le spectre du  $\alpha$ L<sub>S</sub> sont attribuées au carbone C<sub>4</sub>' de l'unité glucose. La présence de deux raies distinctes pour cet atome indique que la maille du  $\alpha$ L<sub>S</sub> contient plusieurs molécules de  $\alpha$ -lactose non équivalentes, ce qui est cohérent avec la structure du composé résolue par diffraction des rayons X sur poudre qui révèle que le  $\alpha$ L<sub>S</sub> contient 2 molécules non équivalentes par maille<sup>[8]</sup>. L'atome de carbone C<sub>4</sub>' donne une raie unique à 79 ppm pour le  $\beta$ L.

- La raie du C<sub>4</sub> de la partie galactose apparaît à 76.6 ppm pour le  $\alpha$ L<sub>S</sub> et à 81.5 ppm pour le  $\beta$ L.
- Les raies observées entre 55 et 65 ppm sont attribuées aux carbones C6 de l'unité galactose et C6' de l'unité glucose.
- Le massif de raies mal résolues situé entre 65 et 78 ppm est dû à la résonance des autres carbones des cycles glucose et galactose.

Ces deux spectres montrent donc que le déplacement chimique du carbone anomérique C<sub>1</sub>' est très sensible à sa configuration <sup>[5]</sup>. La configuration  $\beta$  présente en particulier un déplacement chimique plus important que la configuration  $\alpha$ . Les deux formes du lactose peuvent donc être distinguées sans ambiguïté. Afin de vérifier la validité de cette approche, une comparaison des taux de mutarotation donnés par <sup>13</sup>C CP-MAS RMN et par RMN <sup>1</sup>H du liquide dans des échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin et de  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyés est présentée dans la sous-section suivante.

## **A.2. Comparaison des taux de mutarotation donnés par <sup>13</sup>C CP-MAS et par RMN <sup>1</sup>H du liquide**

L'étude porte sur trois échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> : cristallin, broyé 1 heure et broyé 30 heures ainsi que sur un échantillon de  $\beta$ L commercial cristallin. Les spectres correspondants enregistrés à température ambiante par RMN <sup>1</sup>H et par <sup>13</sup>C CP-MAS RMN sont représentés sur les figures 3 a et 3 b.

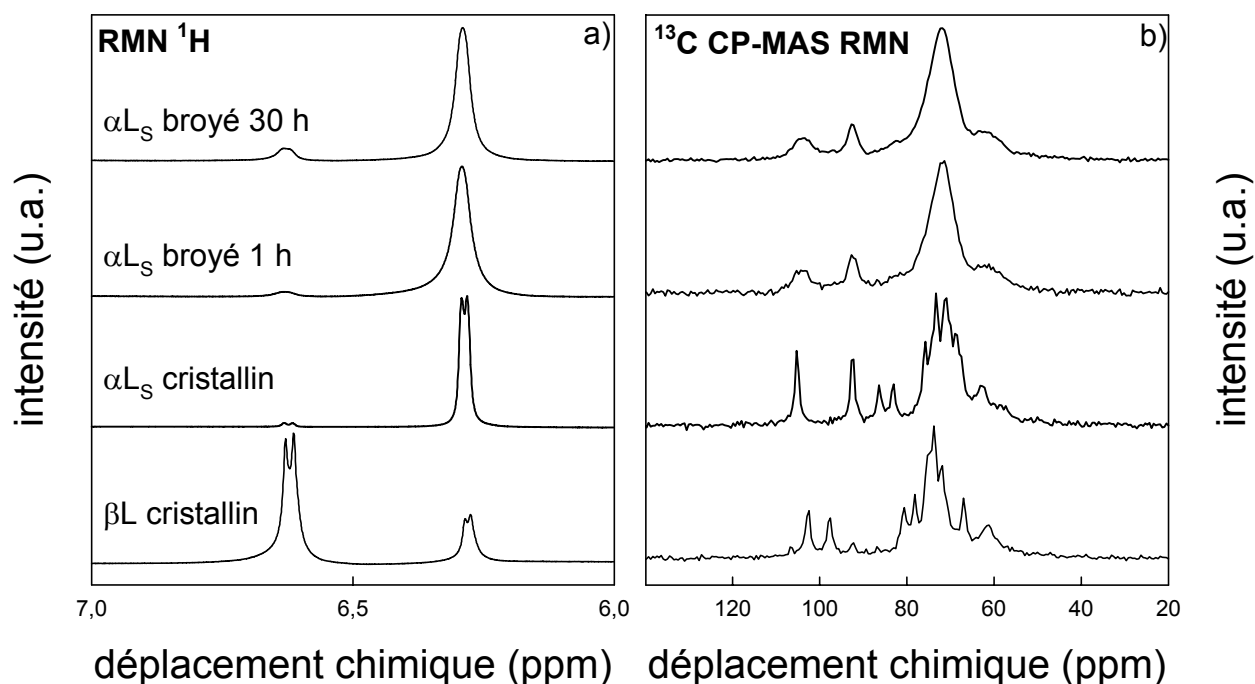


Fig. V.3 :

- a) Spectres <sup>1</sup>H RMN liquide du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin non broyé, broyé 1 h, broyé 30 h et du  $\beta$ L commercial cristallin
- b) Spectres <sup>13</sup>C CP-MAS RMN (spectromètre 100 MHz) du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin non broyé, broyé 1 h, broyé 30 h et du  $\beta$ L commercial cristallin.

Les spectres de RMN <sup>1</sup>H du liquide sont obtenus après dissolution de l'échantillon solide dans du DMSO de manière à figer la réaction de mutarotation comme indiqué au chapitre IV. Les spectres s'analysent de la même manière qu'au chapitre IV. L'intégration des intensités des raies correspondant au  $\alpha$ -lactose (6.3 ppm) et au  $\beta$ -lactose (6.7 ppm) donne les fractions des anomères  $\alpha$  et  $\beta$  présents dans l'échantillon <sup>[4]</sup>.

Par rapport au spectre <sup>13</sup>C CP-MAS RMN du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin, le spectre <sup>13</sup>C CP-MAS RMN du  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyé 30 heures (que l'on sait totalement amorphe au vu des résultats du chapitre IV) présente des raies fortement élargies. Le déplacement chimique de ces raies larges est globalement compatible avec celui des raies fines observées dans le cristal. Par comparaison avec le spectre du cristal, les différents atomes de carbone responsables de ces raies peuvent donc être identifiés. Ces bosses reflètent un environnement local très différent

pour le composé amorphisé par broyage par rapport au composé cristallin. L'élargissement des raies est dû à la distribution des degrés de liberté conformationnels des molécules dans l'amorphe, plus particulièrement autour de la liaison glycosidique (liant les atomes C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>') [9-11].

Les spectres de <sup>13</sup>C CP-MAS RMN sont plus complexes et plus délicats à interpréter que les spectres RMN <sup>1</sup>H, surtout pour les échantillons broyés du fait de l'élargissement et du décalage des raies caractéristiques. Néanmoins, les pics du C<sub>1</sub> galactose et du C<sub>1</sub>' glucose ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) restent suffisamment bien résolus pour être exploités.

Les environnements structuraux et les fluctuations dynamiques du champ dipolaire local étant très semblables pour le carbone C<sub>1</sub>' en conformation  $\alpha$  ou en conformation  $\beta$ , le transfert d'aimantation des protons vers les carbones 13 par polarisation croisée est identique dans les deux types d'anomères. La <sup>13</sup>C CP-MAS RMN possède donc, dans ce cas particulier, un caractère quantitatif et va nous permettre d'évaluer les fractions d'anomères  $\alpha$  et  $\beta$  présents dans les échantillons de lactose. L'intégration des intensités des raies ( $\approx$  93 ppm pour le C<sub>1</sub>' glucose du  $\alpha$ -lactose et  $\approx$  98 ppm pour le C<sub>1</sub>' glucose du  $\beta$ -lactose) se fait à l'aide du logiciel Dmfit [12].

Les pourcentages de  $\beta$ -lactose estimés par les deux techniques dans les échantillons sont donnés dans le tableau ci-dessous.

échantillon	% $\beta$ -lactose (RMN <sup>1</sup> H)	% $\beta$ -lactose ( <sup>13</sup> C CP-MAS RMN)
$\alpha$ L <sub>S</sub> cristallin	1.2	0.0
$\alpha$ L <sub>S</sub> broyé 1h	1.9	0.0
$\alpha$ L <sub>S</sub> broyé 30h	4.3	3.8
$\beta$ L commercial	73.7	75.5

Tableau V.1 :

Comparaison des pourcentages de  $\beta$ -lactose estimés par RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C CP-MAS RMN au sein d'échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin, de  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyés et de  $\beta$ L commercial cristallin



Les taux de  $\beta$ -lactose déterminés par  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN et par RMN  $^1\text{H}$  sont très proches. Le taux d'anomères  $\beta$  au sein du  $\beta$ L commercial cristallin est comparable à celui donné par le fabricant (79 %). Le taux d'anomères  $\beta$  dans les échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyés reste très faible mais augmente régulièrement avec le temps de broyage. Cette légère augmentation est certainement due à une faible prise d'eau par les échantillons. Malgré les précautions prises pour l'éviter, il n'est jamais possible d'obtenir une atmosphère parfaitement inerte au sein des jarres et lors des manipulations des échantillons après broyage.

Cependant, on remarque que la fraction d'anomères  $\beta$  évaluée par RMN du solide est légèrement différente de la fraction évaluée par RMN du liquide. La différence observée, aussi minime soit-elle, peut être expliquée de deux façons. D'une part, la complexité des spectres de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN conduit à des valeurs moins précises. D'autre part, la mesure par RMN  $^1\text{H}$  du liquide nécessite une dissolution dans du DMSO qui freine fortement mais ne fige pas parfaitement la mutarotation (cf. chapitre IV). Cette dissolution entraîne donc une légère modification du pourcentage réel de  $\beta$ -lactose au sein des échantillons. Les résultats obtenus par  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN sont donc tout à fait satisfaisants.

En résumé, la  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN est particulièrement adaptée pour étudier le phénomène de mutarotation au sein des échantillons de lactose. Elle va permettre de suivre l'évolution de la mutarotation en fonction de la température sans être gêné par les effets du solvant (contrairement à la RMN  $^1\text{H}$  du liquide).

## **B. Etude de la mutarotation en fonction de la température par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN**

Le spectromètre RMN est équipé d'un système permettant de chauffer le rotor contenant l'échantillon. Ainsi, il est possible d'enregistrer les spectres à différentes températures. Pour mesurer la température au sein des échantillons, une faible quantité de poudre de  $\text{PbNO}_3$  est mélangée à la poudre de lactose. Ce matériau présente en effet deux propriétés intéressantes. D'une part, le déplacement chimique des raies du plomb est sensible à la température <sup>[13]</sup>. Il se comporte donc comme une sonde thermique de sorte qu'il est possible de mesurer très précisément la température réelle au sein du rotor. D'autre part, le

noyau sondé pour mesurer la température (plomb) est différent du noyau sondé pour évaluer les taux d'anomères  $\alpha$  et  $\beta$  (carbone) au sein des échantillons de lactose. Il ne perturbe donc pas le spectre du lactose.

### B.1. Etude de la mutarotation en fonction de la température dans un échantillon de $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin

La figure 4 présente les spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN d'un échantillon de  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin enregistrés à différentes températures variant de 18 à 160 °C.

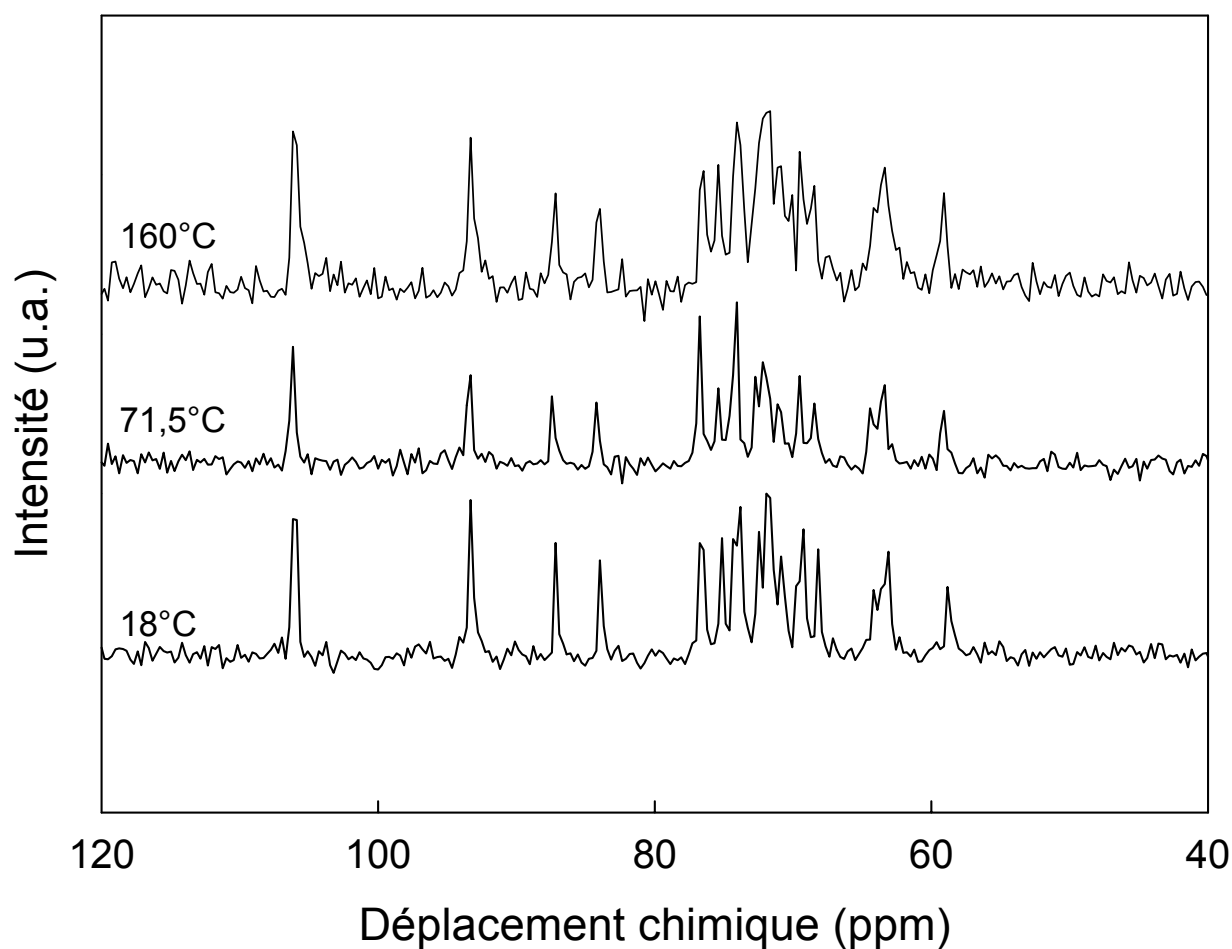


Fig. V.4 :  
Spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (spectromètre 400 MHz) du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin enregistrés à différentes températures

On ne décèle aucun développement des raies caractéristiques du  $\beta$ L. Le chauffage du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin n'entraîne donc aucun phénomène de mutarotation.

La figure 5 présente l'évolution des spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN d'un échantillon de  $\alpha$ L<sub>M</sub> en fonction de la température.

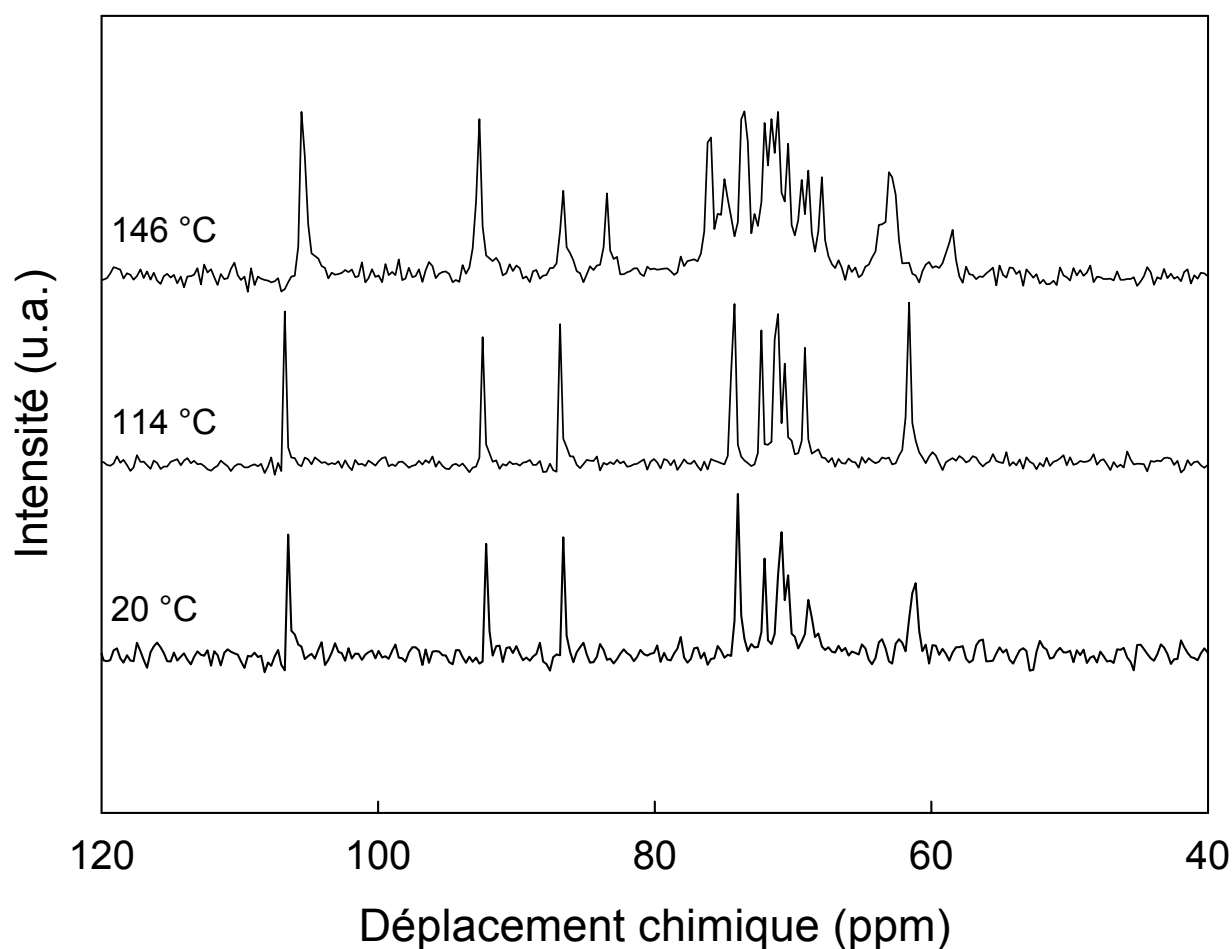


Fig. V.5 :  
Evolutions des spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (spectromètre 400 MHz) du  $\alpha$ L<sub>M</sub> cristallin en fonction de la température.

On constate que l'échantillon ne subit aucune modification tant que la température reste en dessous de la température de déshydratation du lactose monohydrate (qui se situe autour de 140 °C). Par contre, le spectre de l'échantillon enregistré à la température de 146 °C (température supérieure à celle à laquelle intervient la déshydratation du  $\alpha$ L<sub>M</sub>) est clairement différent du spectre caractéristique du  $\alpha$ L<sub>M</sub>. La position et la forme des raies du spectre de

l'échantillon après déshydratation permettent d'identifier sans ambiguïté le  $\alpha$ L<sub>S</sub>. Les données concernant l'évolution en température du  $\alpha$ L<sub>S</sub> ont montré que cette forme ne subissait pas de mutarotation au chauffage. Nous venons donc de montrer que le chauffage du  $\alpha$ L<sub>M</sub> n'entraînait pas non plus de mutarotation dans les conditions expérimentales de RMN.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Garnier et al [4, 14]. Ces auteurs constatent une augmentation de la teneur en  $\beta$ -lactose du  $\alpha$ L<sub>M</sub> lorsque l'échantillon est chauffé. Dans le même temps, ils rapportent que la mutarotation ne s'accroît significativement qu'à partir de 140 °C environ. Or, cette température correspond à celle de la déshydratation du  $\alpha$ L<sub>M</sub>. Cela suggère que la mutarotation observée dans ce cas est peut-être due à la solubilisation du lactose dans l'eau structurale lorsque celle-ci quitte la structure cristalline sous forme de vapeur (Berlin et al [15]). La différence entre ces résultats et les nôtres pourrait venir de conditions de déshydratations différentes. En effet, selon les conditions de déshydratations, une forme hydratée peut subir des changements de phases différents. Par exemple, le tréhalose dihydrate forme, après déshydratation, du tréhalose  $\alpha$  ou du tréhalose amorphe selon la vitesse de chauffe à laquelle il est soumis [16-18].

## **B.2. Etude de la mutarotation en fonction de la température dans un échantillon de $\alpha$ L amorphe**

L'évolution des spectres en fonction de la température d'un échantillon de  $\alpha$ L amorphisé par un broyage de 30 heures est représentée figure 6. Un maximum de précautions a été pris pour éviter toute mutarotation de l'échantillon due à une solubilisation causée par de l'humidité résiduelle :

- Le broyage a été effectué sous atmosphère inerte et sèche (N<sub>2</sub>).
- Le rotor contenant l'échantillon a été séché avant remplissage dans une étuve à 120 °C.
- Le transfert de la poudre broyée de la jarre vers le rotor a été réalisé sous boîte à gants contenant une substance dessiccative (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) et balayée à l'azote sec.
- Avant remplissage du rotor, la poudre récupérée de la jarre a été étalée sur banc Koffler à 80 °C (placé également dans la boîte à gants) pour enlever les traces d'humidité éventuelles.

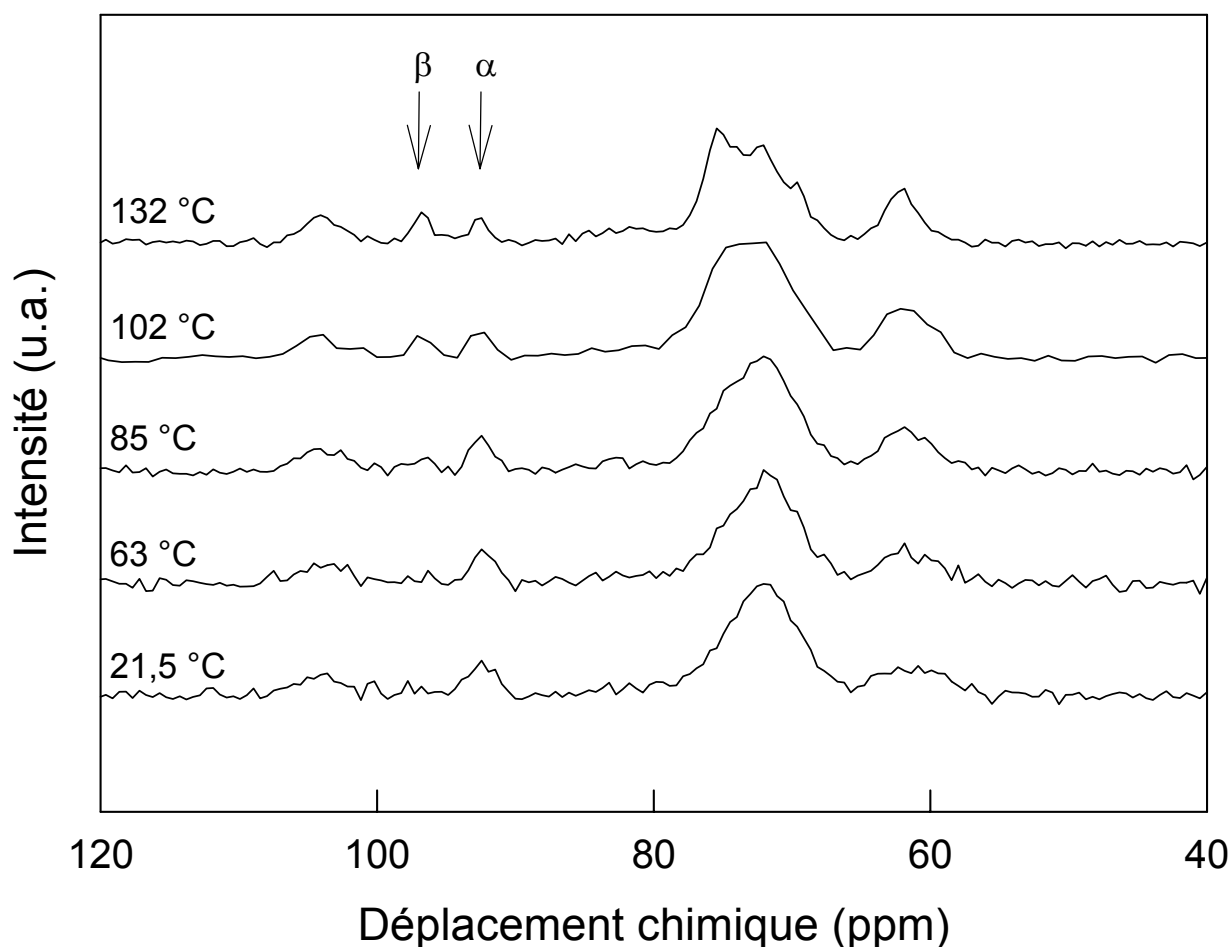


Fig. V.6 :  
 Spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (spectromètre 400 MHz) d'un échantillon de  $\alpha$ L amorphe à différentes températures.  
 Le développement de la raie à 98 ppm est caractéristique de la conversion des molécules de  $\alpha$ L en molécules de  $\beta$ L

Le spectre enregistré à température ambiante présente des raies très larges caractéristiques de l'état amorphe. L'évolution des spectres lors du chauffage met clairement en évidence le développement de la raie  $\text{C}_1'$  glucose (98 ppm) du  $\beta$ -lactose. Ce résultat montre que la mutarotation du lactose se produit à l'état amorphe. Il constitue la première observation directe in situ du phénomène. Le spectre réalisé à 132 °C montre une structuration des raies. La figure 7 présente un spectre enregistré avec le même échantillon après retour à la température ambiante.

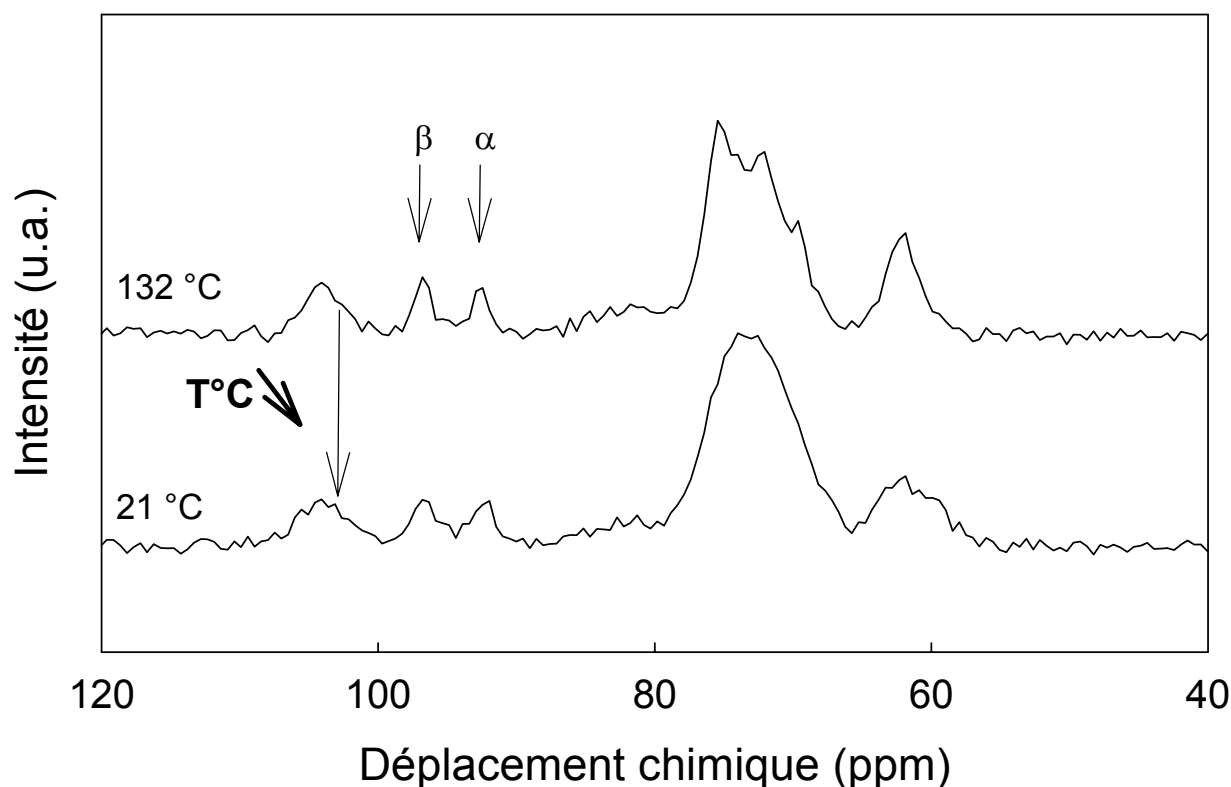


Fig. V.7 :  
Spectres <sup>13</sup>C CP-MAS RMN (spectromètre 400 MHz) du  $\alpha$ L amorphe porté à 132°C puis redescendu à température ambiante

On constate, sur le spectre enregistré à 21 °C, la disparition de la structuration visible à 132 °C. On a de nouveau un spectre typique de l'état amorphe avec, cependant, la raie supplémentaire à 98 ppm signalant la présence de  $\beta$ -lactose qui persiste. Cela indique que la mutarotation observée au chauffage n'est pas réversible au refroidissement. La disparition de la structuration des raies lorsque l'échantillon est refroidi de 132 °C à 21 °C prouve que cette structuration a une origine dynamique. La structuration doit être attribuée aux relaxations structurales qui deviennent de plus en plus rapides au-dessus de la température de transition vitreuse et qui permettent de moyenniser la distribution de déplacements chimiques.

La modélisation des spectres <sup>13</sup>C CP-MAS RMN d'un échantillon amorphe est difficile car on observe une distribution d'environnements et donc de fréquences RMN. Nous n'avons aucun moyen de remonter à cette distribution, et donc de connaître la forme de raie

exacte. Les raies des spectres du lactose amorphe ont donc été modélisées par des courbes gaussiennes et l'intégration des intensités des raies caractéristiques des anomères  $\alpha$  et  $\beta$  a été réalisée à l'aide du logiciel DMFIT. L'approximation gaussienne permet d'estimer le taux de  $\beta$ -lactose avec une précision de  $\pm 2\%$ . Le taux d'anomères  $\beta$  de l'échantillon de lactose amorphe en fonction de la température est représenté sur la figure 8.

Les points noirs représentent l'évolution de la mutarotation au cours du chauffage de l'échantillon amorphe ; le point blanc, le taux d'anomères  $\beta$  dans le même échantillon amorphe chauffé après retour à la température ambiante ; le triangle blanc, le taux d'anomères  $\beta$  dans un autre échantillon amorphe chauffé jusqu'à la température de recristallisation.

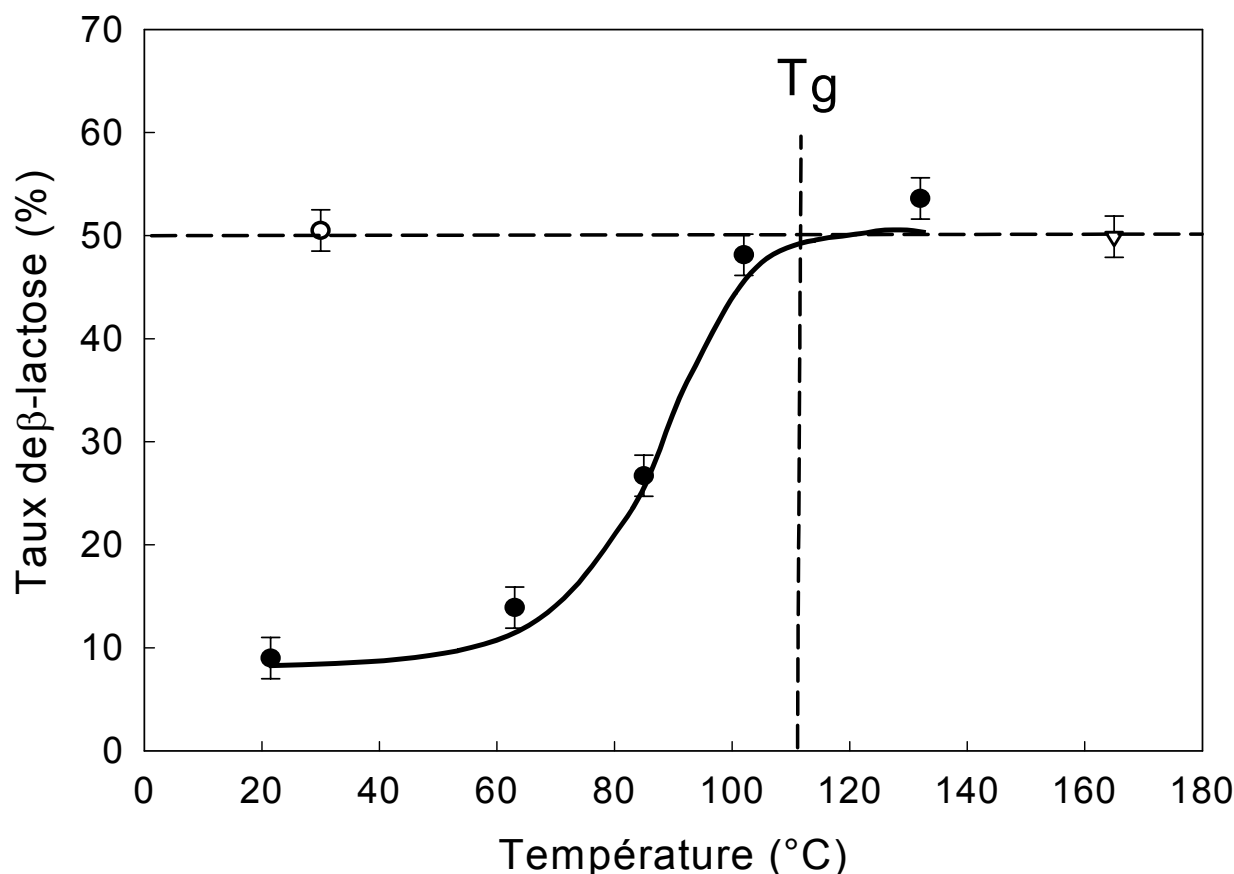


Fig. V.8 :

Evolution du taux de  $\beta$ -lactose en fonction de la température au sein d'un échantillon de  $\alpha$ L amorphe. Les cercles noirs sont relatifs au chauffage depuis 21.5°C jusque 132°C. Le cercle blanc est relatif au taux de  $\beta$ -lactose dans l'échantillon amorphe après retour à l'ambiante. Le triangle blanc est relatif au taux de  $\beta$ -lactose dans un échantillon recristallisé <sup>[6]</sup>. Les données sur l'échantillon amorphe sont obtenues à partir des spectres des figures V.6 et V.7.

La courbe en trait plein est un guide pour l'oeil.

A l'examen de la figure 8, il apparaît que la mutarotation se produit pour des températures inférieures à la température de transition vitreuse. Dès 63 °C, le pourcentage de  $\beta$ -lactose augmente par rapport au matériau non chauffé. Cette hausse se poursuit jusqu'à 132 °C, c'est-à-dire au-dessus de  $T_g$  où la mutarotation atteint une valeur d'équilibre de 50 %. Un chauffage supplémentaire ou un refroidissement de l'échantillon n'entraîne plus de modification de cette valeur. Au-delà de 160 °C, le mélange amorphe d'anomères  $\alpha$  et d'anomères  $\beta$  cristallise vers le composé équimolaire  $\alpha/\beta$  [6].

Cependant, le taux de  $\beta$ -lactose est différent de la valeur d'équilibre entre la température ambiante et 132 °C. Ce comportement semble prouver que la réaction de mutarotation n'atteint pas l'équilibre aux basses températures sur l'échelle de temps d'une expérience RMN (l'enregistrement d'un spectre dure environ 1 heure). La figure 9 montre l'évolution temporelle du spectre  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN du  $\alpha$ L amorphe lors d'un vieillissement isotherme à 85 °C. Ces données ont bien sûr été obtenues à partir d'un nouvel échantillon amorphe placé directement à cette température. La figure 10 présente l'évolution de la mutarotation déduite des spectres de la figure 9. Dans le cas de ces mesures isothermes, l'intégration dans le temps d'expérience entraîne une incertitude de  $\pm 5\%$  sur le taux de  $\beta$ -lactose mesuré.



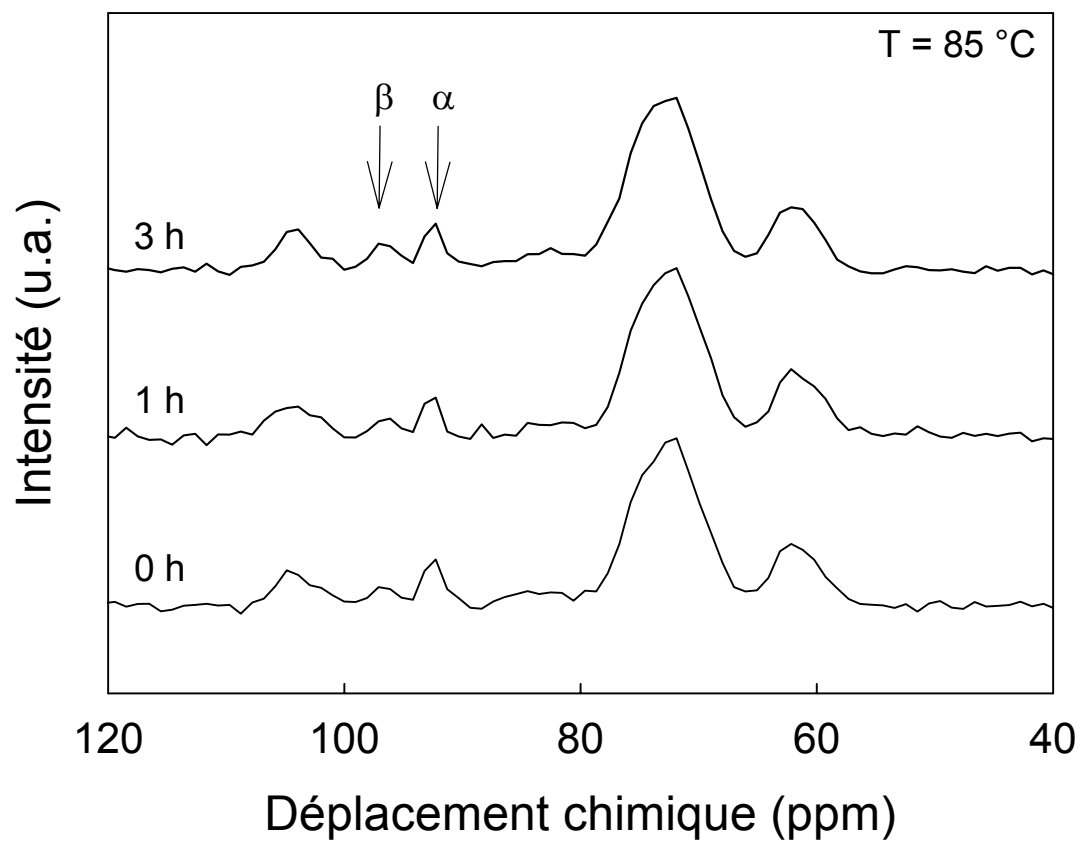


Fig. V.9 :  
Spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (spectromètre 400 MHz) du  $\alpha$ L amorphe enregistrés au cours d'un vieillissement isotherme de 3 heures à  $85\text{ }^\circ\text{C}$ .

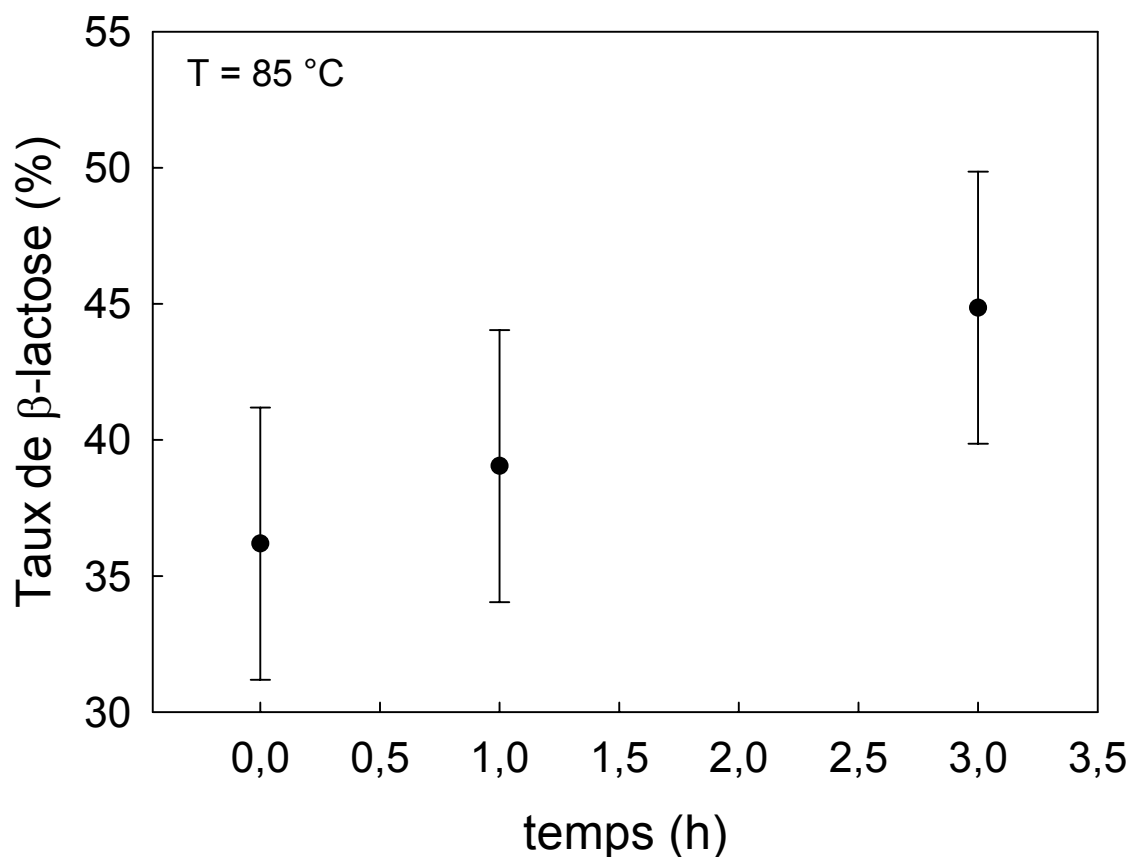


Fig. V.10 :

Evolution du taux de  $\beta$ -lactose au cours d'une isotherme à 85 °C d'un échantillon de  $\alpha$ L amorphe. Les données proviennent de l'analyse de la figure V.9

On constate que le taux de mutarotation progresse d'environ 3 % par heure. Cette évolution croissante du taux de  $\beta$ -lactose au cours du temps à 85 °C conforte l'hypothèse selon laquelle la mutarotation n'atteint pas l'équilibre aux basses températures sur l'échelle de temps d'une expérience RMN. Ce comportement explique, a posteriori, le taux d'anomères  $\beta$  d'environ 10 % détecté lors de la première mesure effectuée à température ambiante après le broyage. En effet, nous avons chauffé la poudre plusieurs heures à 80 °C sur banc Koffler avant de l'introduire dans le rotor. Cette mesure, destinée à éliminer les traces d'humidité éventuellement présentes dans la poudre, a entraîné une augmentation de la teneur en  $\beta$ -lactose de l'échantillon.

## C. Analyse et discussion

### C.1. Propriétés du lactose amorphe

Les résultats des paragraphes précédents montrent que la mutarotation ne se produit pas à l'état solide dans les échantillons de lactose cristallin. Par contre, la situation est différente en ce qui concerne le  $\alpha$ L amorphe où 50 % des molécules de  $\alpha$ -lactose se convertissent en molécules de  $\beta$ -lactose. Ainsi, le ratio  $\alpha/\beta$  de 1/1 est atteint à l'état amorphe plutôt que stabilisé par la recristallisation de l'échantillon. Cette remarque est appuyée par une étude de Lerk <sup>[19]</sup> portant sur l'évolution du taux de  $\beta$ -lactose en fonction de la température dans différents échantillons de lactose amorphe (préparé par atomisation et par lyophilisation) contenant au départ différents pourcentages de  $\beta$ -lactose. L'évolution du taux d'anomères  $\beta$  aboutit à 50 % quel que soit l'échantillon amorphe de départ. Ainsi, le taux de 50 % de  $\beta$ -lactose et de 50 % de  $\alpha$ -lactose semble être la valeur d'équilibre de la réaction de mutarotation à l'état solide. Cette valeur d'équilibre est éloignée de celle obtenue en solution aqueuse où la forme  $\beta$  est présente majoritairement. Ainsi, une solution aqueuse de lactose à une température de 20 °C et à l'équilibre thermodynamique contient 61 % d'anomère  $\beta$  et 39 % d'anomère  $\alpha$  <sup>[4]</sup>. Cette différence suggère que le profil énergétique de la réaction de mutarotation est différent du mécanisme proposé pour les solutions aqueuses <sup>[20]</sup>. Dans le solide, la différence d'énergie entre les états  $\alpha$  et  $\beta$  est très petite de sorte qu'ils sont équiprobables <sup>[20]</sup>.

L'évolution de la mutarotation dans l'échantillon amorphe (figure 8) met en évidence deux régimes différents correspondant à deux gammes de températures différentes <sup>[20]</sup>. Depuis la température ambiante jusque 120 °C environ, la fraction de  $\beta$ -lactose évolue avec la température. Lerk et al ont montré également que, dans cette gamme de températures, l'évolution de cette fraction dans des échantillons de lactose amorphe était dépendante du taux de  $\beta$ -lactose initialement présent <sup>[19]</sup>. Par contre, au-dessus de 120 °C, le taux de  $\beta$ -lactose est indépendant de la température et du taux de  $\beta$ -lactose de départ. Ces observations indiquent que la fraction de  $\beta$ -lactose à l'équilibre est atteinte à des températures suffisamment élevées et que les taux de  $\beta$ -lactose mesurés en dessous de 120 °C (cf. figure 8) sont hors-équilibre sur l'échelle de temps d'une expérience RMN. Ce caractère hors-équilibre est confirmé par les mesures de la fraction d'anomères  $\beta$  lors d'une isotherme à 85 °C (cf. figure 9) qui montrent

que les données présentées sont cohérentes avec un vieillissement du système qui relaxe lentement vers la valeur d'équilibre de 50 % de molécules en conformation  $\beta$ . Ces faits expérimentaux signalent que la mutarotation du lactose, bien qu'étant un processus chimique local, est fortement couplée aux relaxations structurales de l'état amorphe <sup>[20]</sup>. La figure 8 suggère que la température de transition vitreuse représente une température de changement pour la cinétique de la mutarotation. Aux basses températures, les relaxations structurales sont certainement trop lentes pour que la mutarotation puisse atteindre l'équilibre. En conséquence, le  $\alpha$ -lactose amorphe pur ne peut exister que dans des conditions de non-équilibre et il ne peut être obtenu qu'à des températures inférieures à  $T_g$  où la réaction de mutarotation est fortement ralentie. Cela explique également le rôle de l'eau dans les cas de mutarotation observés lors de broyage <sup>[21]</sup> ou de déshydratation <sup>[14]</sup> du lactose. L'effet plastifiant de l'eau favorise certainement la mutarotation en diminuant le  $T_g$  de l'échantillon plutôt qu'en servant d'intermédiaire chimique.

## C. 2. Mécanisme d'amorphisation

Le mécanisme d'amorphisation à l'état solide est un problème qui n'est toujours pas résolu à l'heure actuelle. Pour expliquer l'amorphisation par broyage des composés organiques, plusieurs hypothèses ont été avancées dont celle de fusion locale. Cette hypothèse suggère que les chocs et les frictions des billes contre la poudre entraînent une élévation locale de la température aux points d'impact. Cet échauffement ponctuel serait suffisant pour dépasser transitoirement la température de fusion du composé. Le brusque refroidissement après le choc tremperait le liquide formé au-dessus de la température de fusion qui se figerait à l'état vitreux. Ainsi, l'amorphisation de la substance ne serait pas réellement une transformation à l'état solide mais résulterait plutôt d'une succession de « fusions – trempes » locales.

Des expériences de DSC (cf. chapitre VI) révèlent que le  $\alpha L_s$  est totalement amorphisé dès 12 heures de broyage. Le lactose utilisé pour l'étude de la mutarotation ayant été broyé 30 heures, il a donc subi un broyage à l'état amorphe pendant 18 heures. Or, les mesures de RMN montrent que le taux de  $\beta$ -lactose reste très faible à la fin du broyage. Dans le même temps, une augmentation significative de 3 % par heure est notée dès que la température atteint 85 °C. En conséquence, la température au sein des jarres lors du broyage

n'a pu en aucun cas excéder 85 °C et, à plus forte raison, atteindre la température de fusion du composé (supérieure à 200 °C). Ce fait est un argument fort contre l'hypothèse de fusion locale.

## D. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré que la  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN est une technique parfaitement adaptée à l'étude de la mutarotation au sein d'échantillons de lactose pour deux raisons. D'une part, son utilisation ne nécessite pas de dissolution préalable du composé. La quantification du taux de  $\beta$ -lactose est donc directe et aucun artefact provenant d'un effet de solvant ne vient perturber les résultats. D'autre part, elle permet de suivre directement in situ la réaction de mutarotation en fonction de la température.

L'étude, in situ, de l'évolution de la mutarotation du lactose dans les échantillons **crystallins** en fonction de la température par  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN a montré que :

- Le  $\alpha\text{L}_\text{S}$  ( $\alpha$ -lactose anhydre stable) cristallin ne montre strictement aucune évolution lorsqu'il est chauffé depuis la température ambiante jusque 160 °C. L'échantillon ne présente en particulier aucun phénomène de mutarotation et reste du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  parfaitement pur sur la gamme de températures étudiée. Le phénomène de mutarotation ne se produit donc pas au chauffage du  $\alpha\text{L}_\text{S}$  cristallin tant que l'on ne dépasse pas la température de fusion de ce composé.
- Le  $\alpha\text{L}_\text{M}$  ( $\alpha$ -lactose monohydrate) cristallin ne montre aucune évolution lorsqu'il est chauffé depuis la température ambiante jusqu'à des températures inférieures à la température de déshydratation de ce composé (140 °C). Par contre, le  $\alpha\text{L}_\text{M}$  subit une transformation polymorphique cristal  $\rightarrow$  cristal vers le  $\alpha\text{L}_\text{S}$  lors de la déshydratation du composé. Or, nous avons montré que le  $\alpha\text{L}_\text{S}$  cristallin ne présente pas de mutarotation au chauffage. Il est donc clair que le  $\alpha\text{L}_\text{M}$  cristallin ne présente pas non plus de phénomène de mutarotation au chauffage. Ce résultat diffère toutefois de celui obtenu par Garnier et al <sup>[14]</sup> qui montrent que la

déshydratation du  $\alpha$ L<sub>M</sub> entraîne, au contraire, de la mutarotation. La différence provient sans doute de conditions expérimentales différentes.

L'étude, in situ, de l'évolution de la mutarotation du lactose **amorphe** en fonction de la température par <sup>13</sup>C CP-MAS RMN a mis en évidence que :

- Contrairement au  $\alpha$ L<sub>S</sub> et au  $\alpha$ L<sub>M</sub> cristallins, l'évolution au chauffage du  $\alpha$ L amorphe révèle une augmentation du taux de  $\beta$ -lactose. Cette mutarotation débute à des températures inférieures à celle de transition vitreuse. Le pourcentage de  $\beta$ -lactose atteint une valeur de 50 % à l'état amorphe au-dessus de la température de transition vitreuse du composé mais en dessous de la température de recristallisation du composé. Si l'on poursuit le chauffage de l'amorphe, cela n'entraîne pas de modification de cette valeur de  $\beta$ -lactose. Lorsque la température atteint la température de cristallisation, on assiste à la formation du composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Si l'on interrompt le chauffage de l'amorphe avant la cristallisation et que l'on refroidit l'échantillon, le taux de  $\beta$ -lactose ne change pas non plus et reste égal à 50 %. Ce taux de 50 % de  $\beta$ -lactose correspond donc à la valeur d'équilibre de la réaction de mutarotation à l'état solide. Les précautions expérimentales prises pour cette étude permettent d'affirmer que l'eau ne joue aucun rôle dans le développement de cette mutarotation qui se produit donc véritablement à l'état solide et en atmosphère sèche.
- Le suivi de la mutarotation sur plusieurs heures lors d'une expérience isotherme à 85 °C (T<sub>g</sub> – 30 °C) d'un échantillon de lactose amorphe parfaitement sec montre que le taux d'anomères  $\beta$  relaxe lentement vers la valeur d'équilibre de 50 % à une vitesse d'environ 3 % par heure. La réaction de mutarotation n'atteint donc pas l'équilibre sur l'échelle de temps d'une expérience RMN (environ une heure pour enregistrer un spectre) à des températures inférieures à la température de transition vitreuse du lactose. Par contre, le taux d'équilibre est atteint très rapidement lorsque la température de l'échantillon est supérieure à celle de T<sub>g</sub>. Bien qu'étant un processus chimique local, la mutarotation est donc reliée à la dynamique moléculaire dans l'état amorphe. Cette forte mutarotation

au chauffage montre que le  $\alpha$ L amorphe pur ne peut être obtenu que dans un état de « non équilibre » stabilisé de manière cinétique aux basses températures.

- Nous avons vu au début de ce chapitre qu'un échantillon de  $\alpha$ L<sub>S</sub> amorphisé par un broyage de 30 heures contenait moins de 4 % de  $\beta$ -lactose. Or, dès 12 heures de broyage, la DSC révèle que le lactose est totalement amorphe (cf. chapitre VI). Cela veut dire que l'échantillon de lactose a subi un broyage de 18 heures à l'état amorphe. Le fait d'avoir de la mutarotation dès 85 °C dans l'état amorphe et d'avoir un faible taux de mutarotation après broyage montre que, durant le broyage, la température de l'échantillon n'a pas dépassé 85 °C. L'amorphisation s'est donc opérée à une température nettement inférieure à la température de transition vitreuse du lactose et, a fortiori, inférieure à la température de fusion. Ainsi, cette amorphisation est une véritable transformation directe cristal → verre à l'état solide incompatible avec l'hypothèse de fusion/trempe locale.

## Références

- 1 S. Garnier, S. Petit, and G. Coquerel, *Influence of supersaturation and structurally related additives on the crystal growth of alpha-lactose monohydrate*, Journal of Crystal Growth **234**, 207 (2002)
- 2 T. D. Dincer, G. M. Parkinson, A. L. Rohl, and M. I. Ogden, *Crystallisation of  $\alpha$ -lactose monohydrate from dimethyl sulfoxide (DMSO) solutions: influence of  $\beta$ -lactose*, Journal of Crystal Growth **205**, 368 (1999)
- 3 *7th Symposium, Reims*, (2000), Association AVH,
- 4 S. Garnier, *Contribution à l'étude de la cristallisation en solution. Application à la purification et à l'étude de composés moléculaires: Un thiocarboester et le  $\alpha$ -lactose monohydrate*, University of Rouen, (2001)
- 5 W. L. Earl, *A cross polarization-magic-angle sample spinning N.M.R. study of several crystal forms of lactose*, Carbohydrate Research **115**, 23 (1983)
- 6 J. Lefebvre, J.-F. Willart, V. Caron, R. Lefort, F. Affouard, and F. Danede, *Structure determination of the 1/1 a/b mixed lactose by X-ray powder diffraction*, Acta Cryst. B **61**, 455 (2005)
- 7 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, and P. Derollez, *Ab initio structure determination of the hygroscopic anhydrous form of  $\alpha$ -lactose by powder X-ray diffraction*, Acta Crystallographica Section B Structural Science **60 Part 4**, 453 (2004)
- 8 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, J. F. Willart, and P. Derollez, *Combination of powder X-ray diffraction and energy minimisation for the structure determination of the stable anhydrous form of  $\alpha$ -lactose*, Acta Cryst. B **61** (2005)
- 9 P. Zhang, A. N. Klymachyov, S. Brown, J. C. Ellington, and P. J. Grandinetti, *Solid state  $^{13}C$  NMR investigations of the glycosidic linkage in  $\alpha$ - $\alpha'$ tréhalose*, Solid State Nuclear Magnetic Resonance **12**, 221 (1998)
- 10 E. P. O'Brien and G. Moyna, *Use of  $^{13}C$  chemical shift surfaces in the study of carbohydrate conformation. Application to cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins) in the solid state and in solution.*, Carbohydrate Research **339**, 87 (2004)
- 11 R. Lefort, A. De Gusseme, J. F. Willart, F. Danede, and M. Descamps, *Solid state NMR and DSC methods for quantifying the amorphous content in solid dosage forms: an application to ball-milling of trehalose*, International Journal of Pharmaceutics **280**, 209 (2004)



- 12 D. Massiot, et al., *Modelling one and two-dimensional Solid State NMR spectra.*, Magnetic resonance in Chemistry **40**, 70 (2002)
- 13 N. Bielecki and D. P. Burum, *Temperature dependence of  $^{207}\text{Pb}$  MAS spectra of solid lead nitrate. An accurate, sensitive thermometer for variable-temperature MAS*, Journal of Magnetic Resonance **A 116**, 215 (1995)
- 14 S. Garnier, Petit S., and Coquerel G., *Dehydration mechanism and crystallisation behaviour of lactose*, Journal-of-thermal-analysis-and-calorimetry **68**, 489 (2002)
- 15 E. Berlin, P. G. Kliman, B. A. Anderson, and M. J. Pallansch, *Calorimetric measurement of the heat of desorption of water vapor from amorphous and crystalline lactose*, Thermochemica Acta **2**, 143 (1971)
- 16 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)
- 17 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, M. Descamps, F. Leveiller, and R. Rameau, *Vitrification and polymorphism of trehalose induced by dehydration of trehalose dihydrate*, Journal of Physical Chemistry B **106**, 3365 (2002)
- 18 J. F. Willart, F. Danede, A. De Gusseme, M. Descamps, and C. Neves, *Origin of the dual structural transformation of trehalose dihydrate upon dehydration*, Journal of Physical Chemistry B **107**, 11158 (2003)
- 19 C. F. Lerk, A. C. Andreae, A. H. de-Boer, P. de-Hoog, K. Kussendrager, and J. van-Leverink, *Transitions of lactoses by mechanical and thermal treatment*, Journal of pharmaceutical sciences **73**, 857 (1984)
- 20 R. Lefort, V. Caron, J.-F. Willart, and M. Descamps, *Mutarotational Kinetics and Glass Transition of Lactose*, Solid State Communications **140**, 329 (2006)
- 21 M. Otsuka, H. Ohtani, N. Kaneniwa, and S. Higuchi, *Isomerization of lactose in solid-state by mechanical stress during grinding*, Journal-of-pharmacy-and-pharmacology **43**, 148 (1991)

## **CHAPITRE VI**

**Evolutions structurales, microstructurales et  
thermodynamiques du  $\alpha$ -Lactose sous broyage  
mécanique : du cristal vers l'amorphe**

Ce chapitre présente une étude détaillée de l'évolution du  $\alpha L_S$  sous broyage.

La section A décrit les évolutions structurales et microstructurales du  $\alpha L_S$  en fonction de la durée du broyage. La section B présente l'étude par RMN du carbone 13 à l'état solide de ces échantillons broyés. La section C concerne l'analyse calorimétrique de ces échantillons. La section D propose une synthèse et une discussion de l'ensemble de ces résultats.

## **A. Etude par diffraction des rayons X**

### **A.1. Evolution structurale sous broyage et estimation de la fraction amorphisée**

La figure 1 présente les diagrammes de DX d'échantillons de  $\alpha L_S$  broyés entre 0 minute et 50 heures. Chaque échantillon a été obtenu par broyage sous atmosphère inerte d'un gramme de  $\alpha L_S$  initialement cristallin. La vitesse de rotation des jarres, maintenue constante pour toute l'étude, a été fixée à 400 tours par minute. Pour éviter des échauffements au sein de la jarre, les broyages sont constitués de cycles de broyage (20 minutes) alternés avec des périodes de pause (10 minutes). Les diffractogrammes ont été enregistrés à température ambiante immédiatement après arrêt du broyeur. Les capillaires de Lindemann ont été remplis sous boîte à gants car des remplissages sous atmosphère normale provoquaient une recristallisation partielle vers le  $\alpha L_M$ .

Les diffractogrammes montrent que le  $\alpha L_S$  est très sensible aux effets du broyage. Le diagramme de l'échantillon broyé 1 minute révèle déjà une forte diminution de l'intensité ainsi qu'un élargissement des raies de Bragg. Cette tendance se poursuit avec la durée du broyage. On remarque une diminution progressive des raies et l'apparition d'un halo diffus. Après une heure de broyage, on note l'absence totale de raies de Bragg caractéristiques de l'ordre à longue portée dans les cristaux. Il ne reste plus qu'un halo diffus typique d'un état amorphe ou nanocristallin. Aucune évolution supplémentaire des diagrammes de diffraction X n'est perceptible pour des durées de broyage supérieures à 1 heure (Pour alléger la figure 1, seul le diffractogramme du composé broyé 50 heures est présenté).

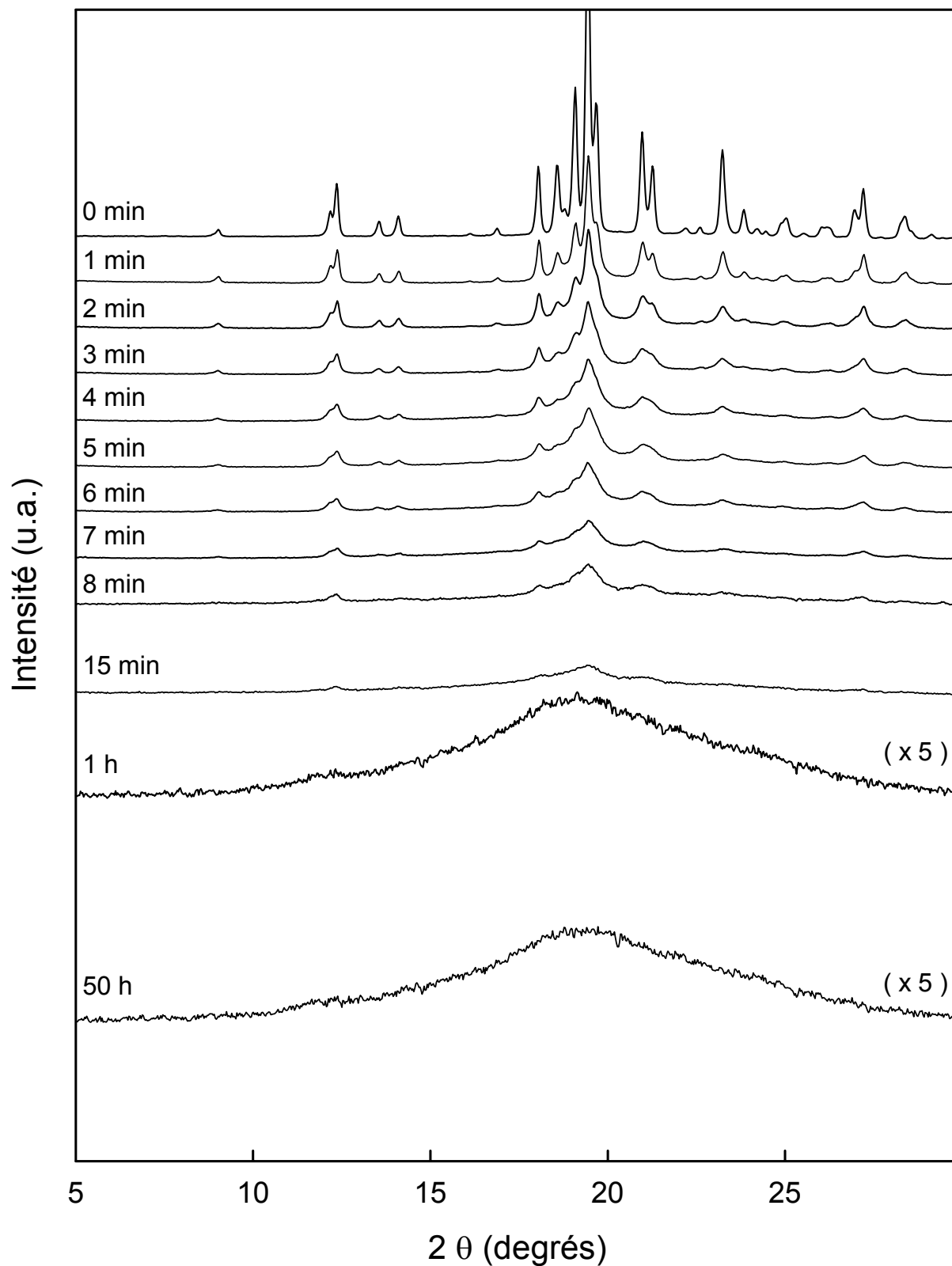


Fig. VI.1 :  
Evolutions structurales du  $\alpha$ L en fonction de la durée du broyage.  
Les diagrammes de diffraction des rayons X ont été enregistrés à température ambiante .

L'intensité intégrée des raies de Bragg est proportionnelle à la quantité de matière diffractante. Il est donc possible d'évaluer les fractions amorphe et cristalline des échantillons en suivant l'évolution de l'intensité intégrée des raies de Bragg. Pour les estimer le plus précisément possible, il est nécessaire de choisir une raie ou un groupe de raies suffisamment isolé. Ainsi, il ne peut y avoir de chevauchement avec d'autres raies lors de l'élargissement provoqué par le broyage. De fait, l'étude s'est concentrée sur deux raies situées entre  $11.8^\circ$  et  $12.6^\circ$ . Le rapport entre l'intensité intégrée de ces raies dans l'échantillon cristallin et l'intensité intégrée de ces raies dans un échantillon broyé permet d'estimer la fraction amorphe. Le tableau 1 donne les valeurs de l'intensité intégrée et la fraction amorphe qu'on en déduit en fonction de la durée du broyage. Il faut cependant noter que les échantillons broyés présentent la plupart du temps des granulométries (tailles de grains de poudre) différentes selon la durée du broyage, ce qui influe sur la quantité de matière introduite dans les capillaires et donc sur l'intensité intégrée des raies. En toute rigueur, l'estimation du taux d'amorphe à partir de diffractogrammes provenant d'échantillons différents nécessite de mélanger la poudre à analyser avec une quantité constante d'une substance étalon pour chaque échantillon <sup>[1]</sup>. La comparaison des intensités des raies de Bragg de l'échantillon avec les intensités des raies de Bragg de la substance étalon permet alors de s'affranchir du biais introduit par des taux de remplissage différents d'un échantillon à l'autre. Ici, cette méthode n'a pu être appliquée du fait de la propension des échantillons broyés à cristalliser en  $\alpha$ -lactose monohydrate. Il était nécessaire de les introduire dans les capillaires le plus rapidement possible et en limitant au maximum les manipulations de la poudre. De plus, la microstructure des cristallites (petits monocristaux constituant les échantillons polycristallins), à savoir leur taille et leurs déformations, influe aussi grandement sur l'aspect des diffractogrammes. Par exemple, une poudre nanocristalline présente généralement un diagramme de diffraction semblable à celui d'un amorphe du fait de l'élargissement important des raies de Bragg. Ces artefacts perturbent donc les valeurs de taux d'amorphe proposées dans le tableau 1. Néanmoins, ces valeurs permettent de suivre l'évolution du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin sous broyage.

Durée broyage (min)	Intensité intégrée	Fraction amorphe (%) du point de vue des RX
0	3325	0.0
1	3253	2.1
2	3208	3.5
3	2589	22.1
4	2384	28.3
5	2300	30.8
6	1963	41.0
7	1429	57.0
8	899	73.0
9	817	75.4
15	472	85.8
30	210	93.7
60	0	100.0

Tableau VI.1 :

Fraction amorphe estimée à partir des diagrammes de DRX au sein des échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyés

Ces données suggèrent que plus de la moitié de l'échantillon est amorphe après 7 minutes de broyage. La fraction amorphe, du point de vue des rayons X, augmente donc rapidement avec l'augmentation de la durée de broyage.

## A.2. Evolution microstructurale sous broyage

Il est possible d'estimer les paramètres de taille et de déformations des cristallites d'un échantillon par une analyse fine des diagrammes de DRX sur poudre. La méthode de Rietveld<sup>[2, 3]</sup> permet d'affiner la figure de diffraction dans son ensemble et d'obtenir ainsi des informations sur le profil de toutes les raies de Bragg d'un diagramme de diffraction des rayons X sur poudre. L'évolution microstructurale du  $\alpha$ L<sub>S</sub> sous broyage a été étudiée par cette méthode à l'aide du logiciel Fullprof<sup>[4]</sup> (cf. annexe C).

Conformément à la résolution de structure du  $\alpha$ L<sub>S</sub> par Platteau et al<sup>[5]</sup>, nous avons choisi un modèle analysant les diffractogrammes en terme d'effets de tailles isotropes et de déformations anisotropes (cf. annexe C) qui permet d'obtenir le meilleur affinement. Seules les 7 premières minutes de broyage ont été analysées. Pour des durées de broyage plus longues, les raies de Bragg ne sont plus suffisamment bien définies pour que l'affinement

converge. Les facteurs d'accord jugeant de la qualité des affinements sont donnés dans le tableau 1 de l'annexe E.

La figure 2 présente l'évolution du diamètre des cristallites en fonction de la durée du broyage.

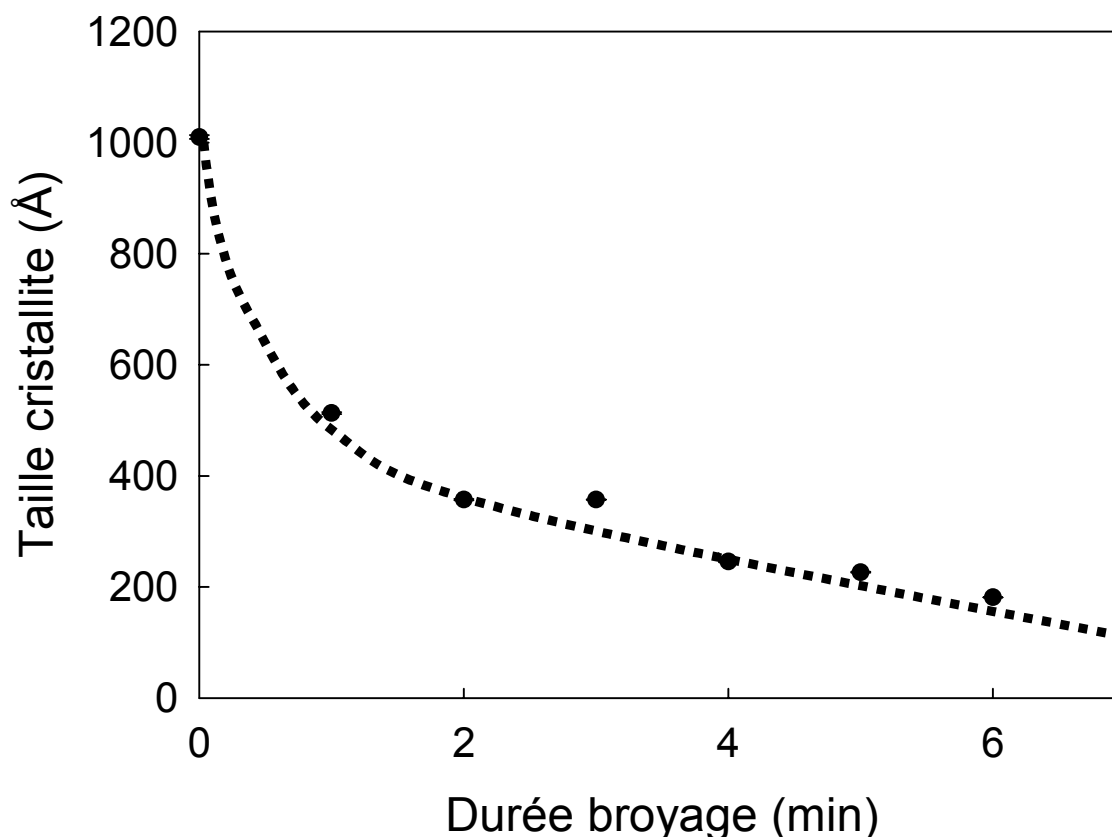


Fig. VI.2 :

Evolution du diamètre moyen des cristallites de  $\alpha L_5$  en fonction de la durée de broyage. La ligne en pointillé joignant les points expérimentaux est un guide pour l'œil

Le diamètre moyen des cristallites du  $\alpha L_5$  non broyé est de 1010 Å. Après 1 minute de broyage, cette valeur est quasiment divisée par deux (513 Å). Le diamètre des cristallites continue de décroître pour atteindre 116 Å après 7 minutes de broyage. Le broyage induit donc une forte réduction de la taille des cristallites.

La figure 3 présente l'évolution moyenne des déformations en fonction de la durée du broyage. La figure 4 est une projection de ces déformations sur le plan (**b**, **c**\*).

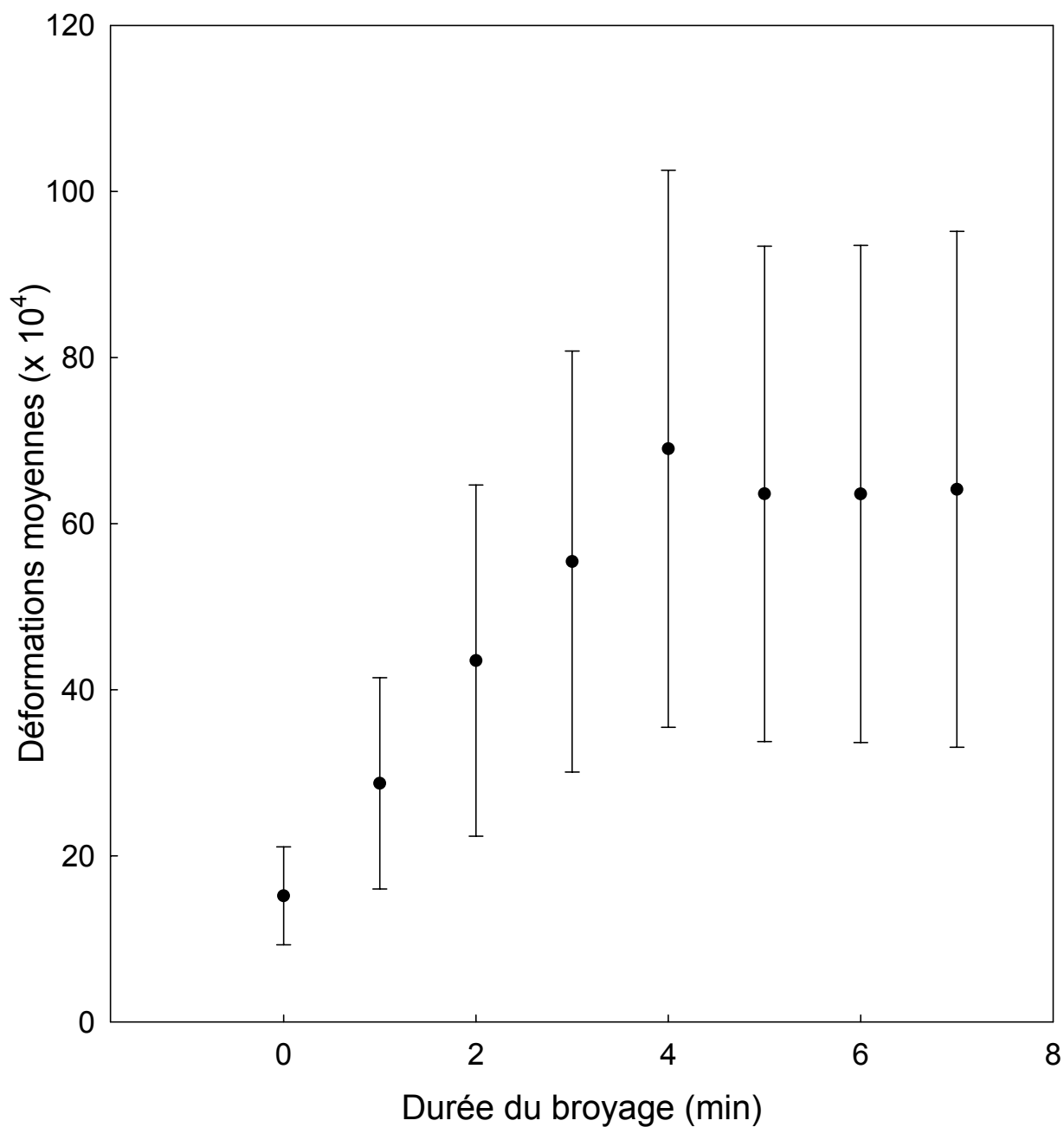


Fig. VI.3 :

Evolution des microdéformations moyennes au sein des cristallites de  $\alpha_L5$  en fonction la durée du broyage.

Ces valeurs moyennes sont calculées à partir des résultats obtenus sur l'ensemble des directions cristallographiques.

Les barres verticales représentent la déviation standard des valeurs moyennes. Elles reflètent le degré d'anisotropie dans le système et ne doivent pas être confondues avec des barres d'erreur.



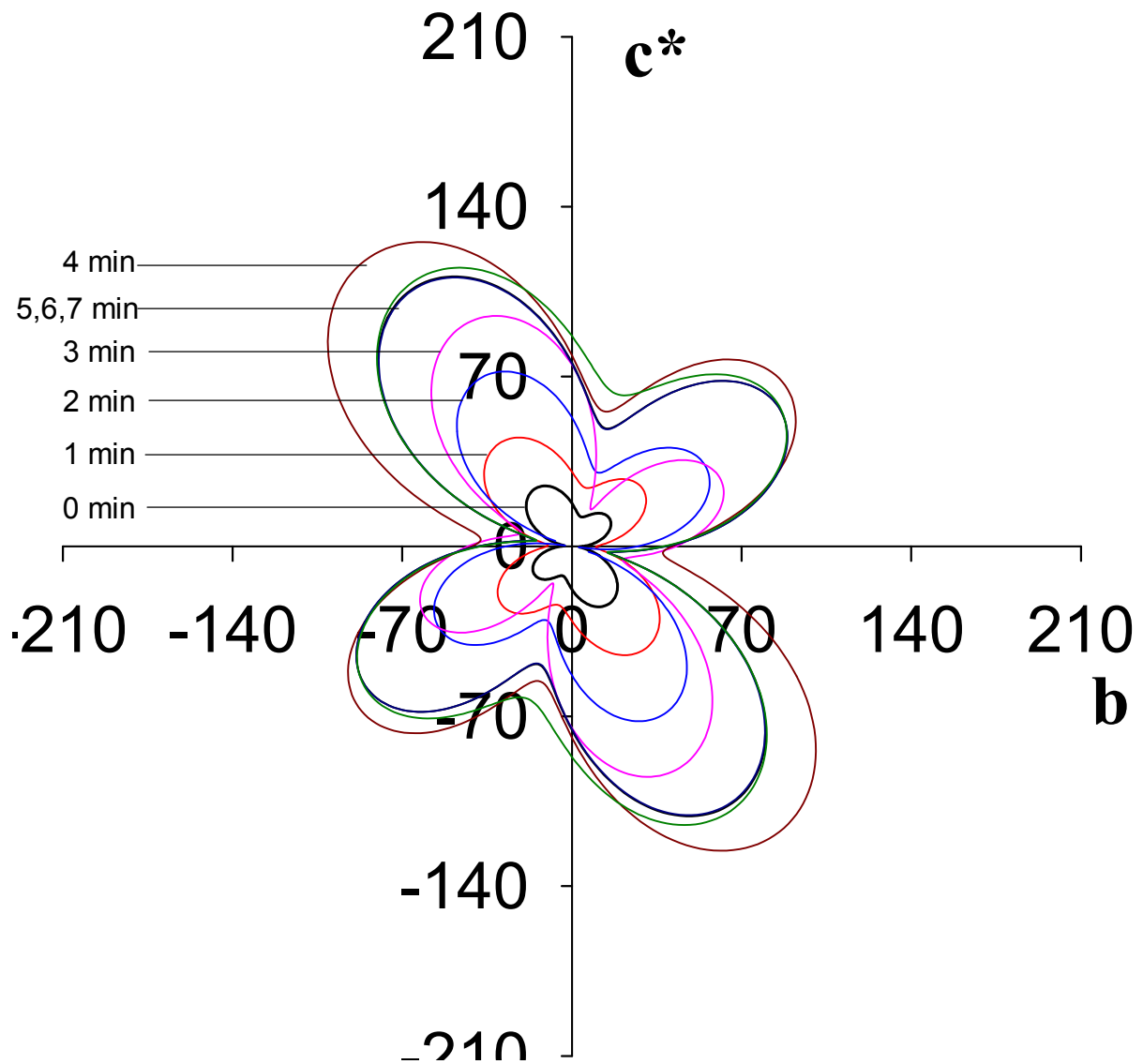


Fig. VI.4 :  
Projection dans le plan (**b,c\***) des microdéformations du  $\alpha L_S$  en fonction de la durée du broyage. Les valeurs numériques ont été multipliées par  $1.10^4$

Ces représentations (en particulier la figure 4) révèlent clairement le caractère anisotrope des déformations qui sont dues à des distorsions de réseau au sein des cristallites [6]. On remarque que l'anisotropie est déjà présente au sein du  $\alpha L_S$  non broyé. L'intensité des déformations augmente avec la durée du broyage jusque 4 minutes. Une diminution soudaine se produit à 5 minutes. Les déformations restent ensuite stationnaires jusque 7 minutes de broyage. Selon Platteau [7], il est difficile d'interpréter ces déformations en rapport avec la

structure du  $\alpha$ L<sub>S</sub> en raison de sa complexité même si le maximum des déformations semble correspondre aux directions des liaisons hydrogène.

De nombreux travaux sur la déformation et la rupture de matériaux ont mis en évidence le rôle prédominant des dislocations dans ces mécanismes. Comme les dislocations ne se créent et ne se déplacent facilement que dans certains plans privilégiés, les déformations ont en général un caractère anisotrope. Ce phénomène a été rapporté sur un grand nombre de matériaux comme les métaux, les cristaux inorganiques<sup>[8, 9]</sup>.

Par exemple, des investigations concernant le broyage du fer cristallin<sup>[10]</sup> révèlent des similarités avec celles menées sur le  $\alpha$ L<sub>S</sub>. La figure 5<sup>[10]</sup> présente les évolutions microstructurales de la poudre de fer en fonction de la durée de broyage.

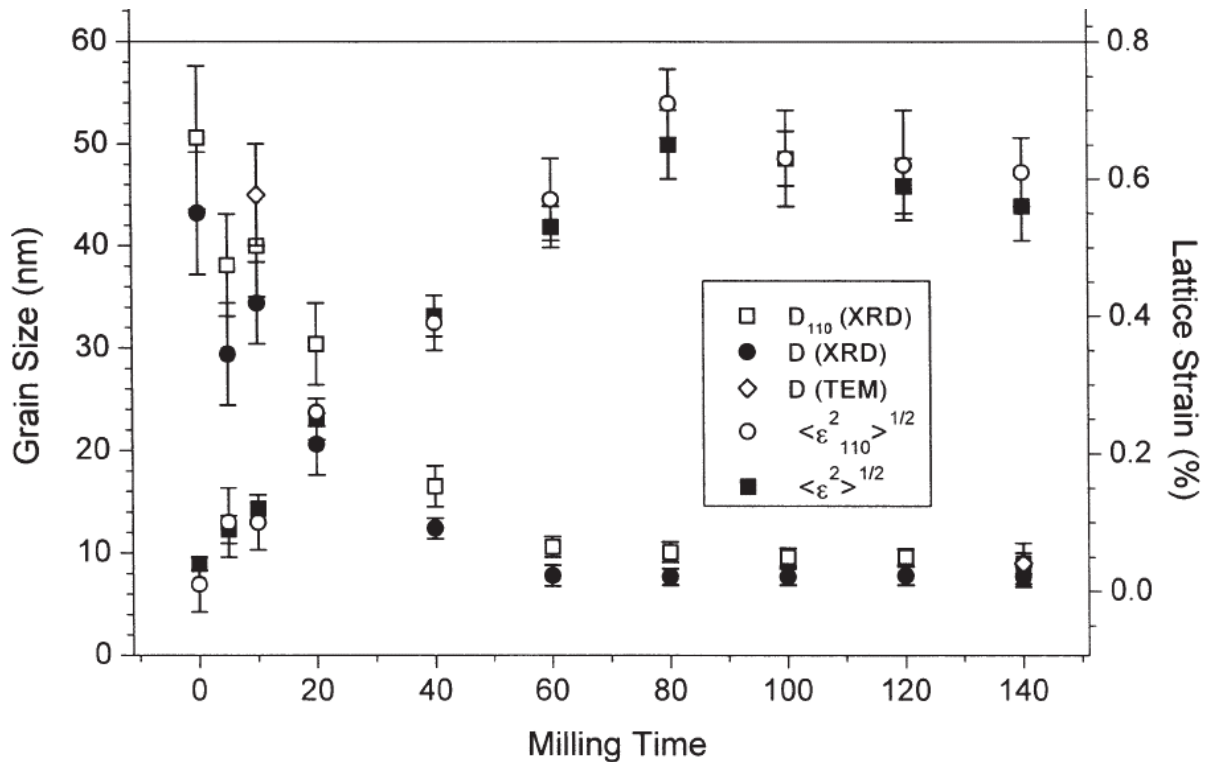


Fig.VI.5:  
Evolutions microstructurales de la poudre de fer en fonction de la durée de broyage (reproduites de la référence<sup>[10]</sup>).

D (XRD): Taille moyenne des cristallites estimée par DRX

D (MET): Taille moyenne des cristallites estimée par MET

$\langle \epsilon^2 \rangle^{1/2}$ : Déformations moyennes des cristallites par DRX

$D_{110}$ : Taille des cristallites dans la direction [110] par DRX

$\langle \epsilon^2_{110} \rangle^{1/2}$ : Déformations des cristallites dans la direction [110] par DRX

Les auteurs observent une évolution en deux temps :

- une diminution de la taille des cristallites parallèle à une augmentation des déformations.
- une stabilisation de la taille des cristallites et une diminution suivie d'une stabilisation de l'amplitude des déformations.

Ils relient cette évolution à un changement des propriétés des joints de grains (zones mal définies du point de vue cristallographique situées entre les cristallites) vis-à-vis des dislocations. Lors de la première étape, le broyage réduit la taille des cristallites et accroît la concentration en dislocations au sein de l'échantillon. Les dislocations s'empilent contre les joints de grains qu'elles ne peuvent franchir facilement, ce qui augmente les contraintes et les déformations. Lors de la seconde étape, les auteurs imputent la diminution des déformations à un « adoucissement » des joints de grains qui permet aux dislocations de franchir ces joints de grains en exerçant des contraintes moindres. On assiste alors à une diminution des déformations. Ces conclusions sont appuyées par des observations en DX, DSC et Microscopie Electronique en Transmission (MET) ainsi que par des simulations numériques.

En ce qui concerne le lactose, les observations directes de dislocations par MET se sont révélées impossibles car les molécules sont trop fragiles pour supporter le faisceau d'électrons et l'échantillon s'est dégradé avant de pouvoir obtenir un cliché. Par contre, les investigations microstructurales de la poudre de  $\alpha$ L<sub>S</sub> estimées par DRX sont compatibles avec les observations faites lors du broyage du fer. Il est à noter cependant que le fer ne semble pas, contrairement au lactose, s'amorphiser sous broyage.

Le caractère anisotrope des déformations et l'évolution microstructurale du  $\alpha$ L<sub>S</sub> en fonction de la durée du broyage semblent donc compatibles avec la création et la propagation de dislocations au sein des cristallites de lactose.

## **B. Etude par <sup>13</sup>C CP-MAS RMN**

Au cours du broyage, la diminution de l'intensité des raies de Bragg en diffraction des rayons X peut avoir pour origine l'augmentation de la fraction amorphe au sein des échantillons. Cependant, l'aspect des diffractogrammes est également sensible à la taille et à

la déformation des cristallites [6, 7]. Une autre méthode de quantification de la fraction amorphe, basée sur l'analyse des spectres de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN, est proposée ici.

### B.1. Principe de l'estimation de la fraction amorphe par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN

La RMN du carbone 13 est une technique qui sonde le déplacement chimique des atomes de carbone des molécules. Ce déplacement est sensible au type et à la conformation des liaisons intramoléculaires. Il est également très affecté par la nature amorphe ou cristalline des échantillons. Nous avons vu au chapitre V que le spectre du  $\alpha\text{L}_S$  cristallin présente des raies fines et bien définies alors que le spectre du lactose broyé 30 heures présente des raies fortement élargies.

Le principe complet de la détermination du taux d'amorphe dans des échantillons broyés a été publié par Lefort et al [11]. Cette méthode a été appliquée pour déterminer le taux d'amorphe dans des mélanges physiques de tréhalose (isomère du lactose) amorphe et de tréhalose cristallin ainsi que dans des échantillons broyés de tréhalose [11, 12]. Nous allons ici en rappeler les grandes lignes.

La quantification du taux d'amorphe suppose que chaque échantillon comprend des zones cristallines intactes et des zones totalement amorphes. L'analyse d'un spectre pour une durée quelconque de broyage suppose donc qu'il puisse s'interpréter comme une combinaison linéaire du spectre de l'échantillon non broyé parfaitement cristallin et du spectre de l'échantillon totalement amorphisé par broyage. Les spectres sont donc décrits par la relation suivante :

$$S(t) = X_{am}(t) \times S(t=30h) + (1 - X_{am}(t)) \times S(t=0)$$

Avec :

$S(t)$  : spectre de l'échantillon ayant été broyé pendant un temps  $t$

$X_{am}(t)$  : Fraction amorphe de l'échantillon ayant subi un broyage d'une durée  $t$

$S(t=30h)$  : Spectre référence de l'échantillon broyé 30 heures, totalement amorphe

$S(t=0)$  : Spectre référence de l'échantillon non broyé, parfaitement cristallin

Le meilleur affinement est déterminé par la méthode des moindres carrés qui donne la valeur de la fraction amorphe de l'échantillon ayant subi un broyage pendant un temps  $t$ .

Le résultat d'un affinement, pour un échantillon de  $\alpha L_S$  broyé 5 minutes, est fourni figure 6.

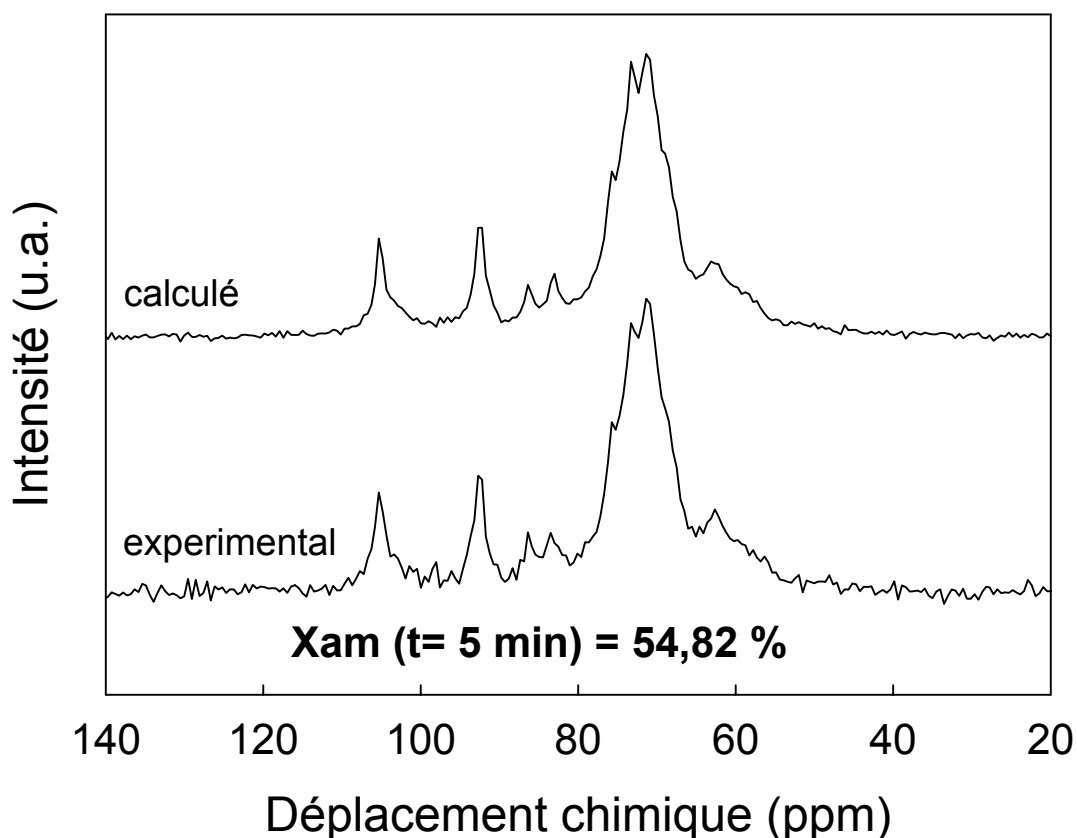


Fig. VI.6 :

Spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN expérimental et calculé du  $\alpha L_S$  broyé 5 minutes. Le spectre calculé est obtenu par combinaison linéaire du spectre du  $\alpha L_S$  cristallin et du  $\alpha L_S$  totalement amorphisé.

Cette combinaison linéaire permet d'estimer à 54.82 % le pourcentage d'amorphe dans l'échantillon broyé 5 minutes.

Le spectre obtenu par combinaison linéaire reproduit remarquablement bien le spectre expérimental. On note cependant une légère différence entre les deux concernant le haut du massif de raies situé entre 65 et 78 ppm. D'après cet affinement, la fraction amorphe de l'échantillon peut être estimée à 54.8 %.

Il est important de noter que le principal prérequis pour pouvoir appliquer cette méthode de quantification est la linéarité de la réponse RMN. Cela implique qu'une attention

particulière soit portée à la qualité des données expérimentales. Il est notamment nécessaire que la relaxation des échantillons soit complète pour chaque spectre. Cette condition est parfois très contraignante surtout quand des échantillons avec un  $T_1$  long ( $T_1$  représente le temps de relaxation spin-réseau) sont étudiés comme c'est parfois le cas avec la matière cristalline. Par contre, les artefacts dus à des inhomogénéités de polarisation croisée (qui peuvent fausser le résultat lorsque la quantification est effectuée par comparaison de deux pics au sein d'un même spectre) n'ont aucune influence avec la méthode de quantification proposée ici. Le signal RMN reste en effet quantitatif pourvu que tous les spectres aient été enregistrés dans les mêmes conditions. En effet, les spectres sont traités comme des combinaisons linéaires du spectre de l'échantillon totalement cristallin et du spectre de l'échantillon totalement amorphe.

## **B.2. Estimation de la fraction amorphe par $^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN**

La figure 7 présente les spectres RMN d'échantillons de lactose ayant été broyés de 0 à 30 heures (Chaque échantillon a été obtenu par broyage sous atmosphère inerte d'un gramme de  $\alpha\text{L}_S$  cristallin).

Les traits caractéristiques des spectres RMN de l'échantillon cristallin et de l'échantillon totalement amorphe ont été décrits au chapitre V. Pour les temps de broyage intermédiaires, nous observons un élargissement progressif des raies.

L'application de la méthode exposée au paragraphe B.1. a permis d'estimer le taux de lactose amorphe au sein des échantillons broyés à partir des spectres. Ces résultats sont reportés dans le tableau 2.

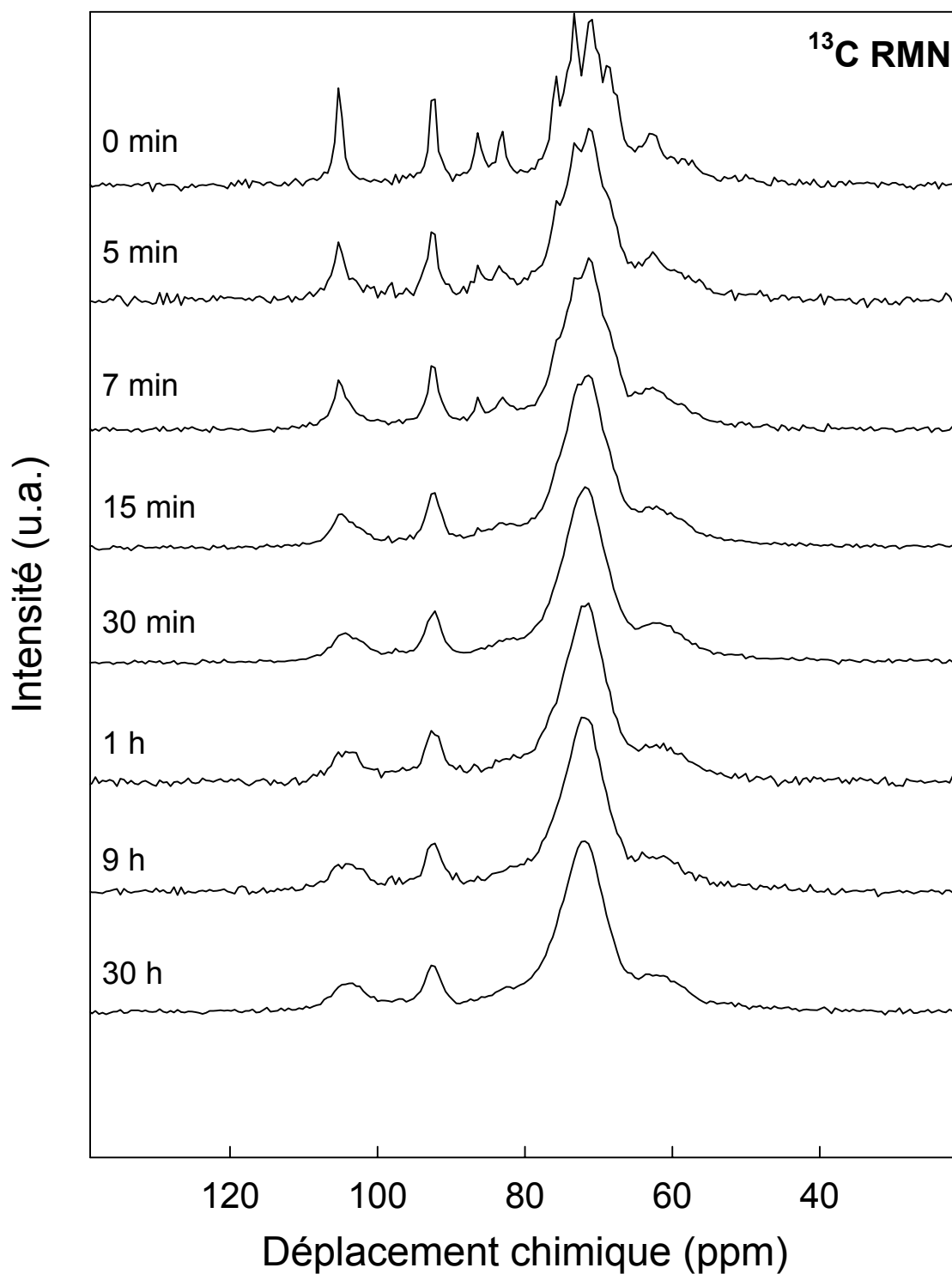


Fig. VI.7 :  
Spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN à température ambiante de  $\alpha\text{L}_s$  enregistrés après différents temps de broyage variant de 0 à 30 heures

<b>Durée broyage</b>	<b>% de lactose amorphe du point de vue de la RMN</b>
0 min	0.0
5 min	54.8
7 min	61.4
15 min	80.0
30 min	93.1
1 h	95.6
9 h	97.5
30 h	100.0

Tableau VI.2 :  
Estimation du taux de lactose amorphe à partir des spectres de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN

On remarque que l'évolution temporelle du taux de lactose amorphe déterminée par RMN semble plus rapide aux courts temps de broyage que celle estimée à l'aide de la diffraction des rayons X. On constate, par exemple, que plus de la moitié de l'échantillon est amorphisé après 5 minutes de broyage.

## **C. Etude par DSC**

### **C.1. Présentation des thermogrammes**

La figure 8 présente l'évolution des thermogrammes DSC enregistrés au chauffage à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  d'échantillons de  $\alpha\text{L}_S$  broyés entre 0 et 50 heures. La figure 8a correspond à un agrandissement de la zone de transition vitreuse. La figure 8b met en évidence les zones de cristallisation et de fusion.



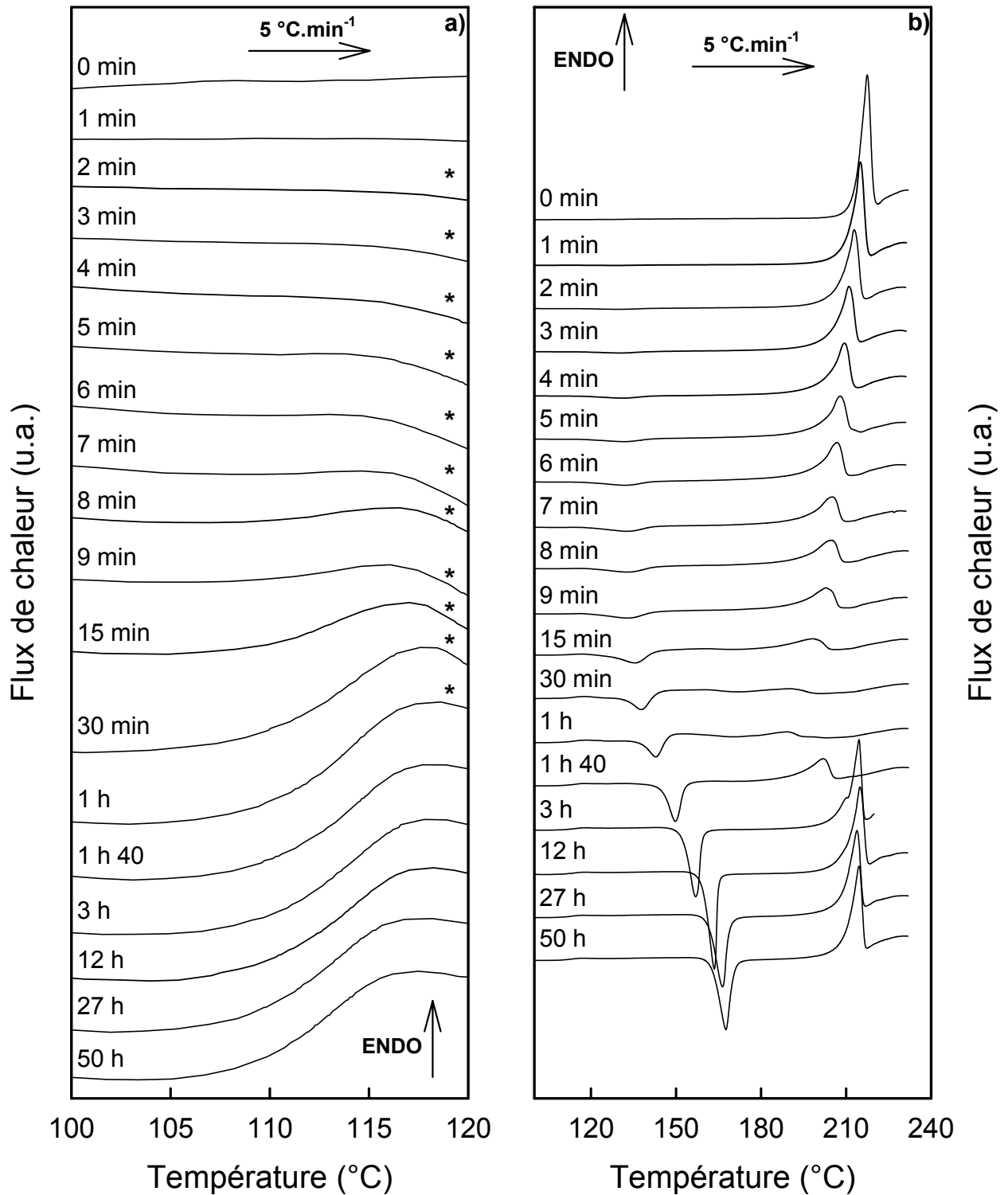


Fig.VI.8 :

Evolutions thermodynamiques du  $\alpha$ L en fonction de la durée du broyage :

- a) Thermogrammes DSC ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) dans la gamme  $100\text{ °C}$ -  $120\text{ °C}$ . L'échelle est dilatée d'un facteur 50 par rapport à b)
- b) Thermogrammes DSC ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) dans la gamme  $100\text{ °C}$ -  $240\text{ °C}$

Les spécificités des thermogrammes sont les suivantes :

- Un saut de  $C_p$  caractéristique de la transition vitreuse. Ce saut de  $C_p$  peut être détecté dès 5 minutes de broyage et son amplitude augmente jusqu'à 1 h 40 de broyage, après quoi il reste stationnaire jusque 50 heures de broyage. La position en température est fixée et ne dépend pas de la durée du broyage. La température de transition vitreuse se situe à 113 °C. Nous remarquons également, pour les courts temps de broyage, une diminution du flux de chaleur (repérée par une astérisque sur la figure 8) juste après le saut de  $C_p$ . Cet effet est perceptible à partir de 2 minutes de broyage et est maximal pour 15 minutes. Il est attribué au début de l'exotherme de recristallisation de la fraction amorphisée. Le décalage de l'exotherme de recristallisation vers les hautes températures avec l'augmentation de la durée du broyage donne à la transition vitreuse un caractère mieux défini. La transition vitreuse est parfaitement définie dès 1h40 de broyage.
- Un pic exothermique attribué à la recristallisation de l'échantillon. Il apparaît clairement à partir de 2 minutes de broyage. Sa position en température est de 129.4 °C. Son enthalpie est d'environ 3.1 J.g<sup>-1</sup>. Ce pic se développe et se décale continûment vers les hautes températures avec l'augmentation de la durée du broyage. Après 50 heures de broyage, l'exotherme se situe à 167.6 °C et son enthalpie est de 96.1 J.g<sup>-1</sup>. Le développement de cette recristallisation est une signature indirecte de l'amorphisation progressive qui se produit au cours du broyage. Pour des broyages de durée égale ou supérieure à 12 heures, la comparaison des enthalpies de recristallisation et des enthalpies de fusion indique que l'amorphisation est totale. La recristallisation des échantillons broyés est certainement induite par la présence de germes cristallins résiduels ayant échappé au broyage. Cette fraction de germes régresse au fur et à mesure du broyage. Il est donc normal d'observer un décalage de la température de recristallisation vers les hautes températures pour les échantillons broyés plus longtemps.

- Un endotherme caractéristique d'une fusion des produits. Son évolution en fonction de la durée du broyage est complexe et peut être divisée en deux étapes. Pour des broyages de durées comprises entre 0 et 1 heure, l'intensité du pic décroît. L'endotherme s'élargit progressivement et se décale de plus de 30 °C vers les basses températures. Cette évolution est si importante que la fusion est quasiment imperceptible pour les composés broyés 30 minutes et 1 heure. A l'inverse, pour les composés dont la durée de broyage est comprise entre 1 h 40 min et 50 heures, l'endotherme de fusion se développe, s'affine et se décale vers les hautes températures. Après 12 heures de broyage, la valeur de l'enthalpie de fusion est stationnaire. Cependant le pic de fusion reste sensiblement différent de celui du  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin non broyé. Cette fusion présente une enthalpie plus faible de 20 % et intervient 3 degrés en dessous de la fusion du  $\alpha$ L<sub>S</sub> non broyé. Ce comportement est cohérent avec les résultats du chapitre V qui ont mis en évidence une forte mutarotation dans le  $\alpha$ -lactose amorphisé par broyage lorsqu'il est chauffé. En effet, cette mutarotation entraîne une recristallisation vers le composé équimolaire  $\alpha/\beta$  dont l'enthalpie et la température de fusion sont légèrement plus basses que celles du  $\alpha$ L<sub>S</sub> pur initial (cf. chapitre IV). La présence d'un endotherme large et de faible amplitude succédant immédiatement à l'endotherme de fusion montre que tous les échantillons de lactose se dégradent lors de la fusion.

Durée broyage	$T_{CR}$ (°C)	$\Delta H_{CR}$ (J.g <sup>-1</sup> )	$T_f$ (°C)	$\Delta H_f$ (J.g <sup>-1</sup> )
0 min	-	-	217.1	150.1
1 min	129.3	1.1	215.0	140.8
2 min	129.4	3.1	212.8	129.1
3 min	131.2	5.1	211.0	116.7
4 min	130.8	7.4	209.3	103.0
5 min	131.8	11.3	207.9	91.6
6 min	132.6	13.5	206.8	89.8
7 min	133.5	15.5	205.0	75.7
8 min	133.7	14.1	204.7	74.7
9 min	133.4	15.1	203.0	68.6
15 min	135.3	23.8	198.7	40.2
30 min	137.9	21.9	190.9	15.5
1 h	142.8	23.8	189.2	15.2
1 h 40 min	149.8	60.8	201.7	58.7
3 h	156.9	84.9	214.5	104.9
12 h	163.5	96.1	214.9	122.0
27 h	166.4	92.9	213.8	118.9
50 h	167.6	96.1	214.5	117.0

Tableau VI.3 :  
Caractéristiques thermodynamiques des échantillons de  $\alpha L_S$  broyés

## C.2. Evaluation de la fraction amorphe par comparaison des enthalpies de recristallisation et de fusion

La méthode la plus couramment employée pour déterminer les fractions amorphes au sein d'échantillons consiste à comparer l'enthalpie de recristallisation et l'enthalpie de fusion rapportée à la température de recristallisation. Cette méthode est décrite en annexe D. Dans nos expériences, l'estimation du taux d'amorphe par cette méthode se heurte cependant à une difficulté majeure. En effet, l'étalement du pic de fusion au fur et à mesure du broyage rend difficile l'estimation précise de la température et de l'enthalpie de la fusion. En particulier, le taux d'amorphe des échantillons broyés entre 15 minutes et 1 heure n'a pas pu être estimé. Le tableau 4 présente les taux d'amorphe déduits de la comparaison des enthalpies des thermogrammes de DSC.

<b>Durée broyage</b>	<b>% de lactose amorphe</b>
0 min	0
5 min	15.10
7 min	24.93
15 min	?
30 min	?
1 h	?
9 h	100
30 h	100

Tableau VI.4 :

Estimation du taux de lactose amorphe à partir des enthalpies de recristallisation et de fusion  
Le chevauchement des événements thermodynamiques aux temps intermédiaires de broyage rend impossible l'estimation correcte de la quantité de  $\alpha$ L amorphe.

(?) : estimation non possible

Cette méthode ne permet donc pas de suivre la cinétique d'amorphisation sur toute la gamme de durées de broyage étudiée.

### **C.3. Evaluation de la fraction amorphe à partir de l'amplitude des sauts de $C_p$ à la transition vitreuse**

La fraction amorphe des échantillons peut également être déduite de la mesure de l'amplitude du saut de  $C_p$  à la transition vitreuse puisque cette amplitude est directement proportionnelle à la quantité de matière amorphe. En supposant que le composé broyé 50 heures est totalement amorphe (Cette hypothèse est raisonnable compte tenu des résultats exposés au chapitre IV), l'amplitude du saut de  $C_p$  correspondant est maximale et peut servir de référence pour estimer la proportion de verre au sein des échantillons. Cette proportion est donnée en effectuant le rapport des amplitudes des sauts de  $C_p$  des échantillons broyés de 0 à 27 heures sur l'amplitude du saut de  $C_p$  de l'échantillon broyé 50 heures. Les fractions d'amorphe estimées par cette méthode sont rassemblées dans le tableau 5.

<b>Durée broyage</b>	<b>% de lactose amorphe</b>
0 min	-
1 min	-
2 min	-
3 min	-
4 min	-
5 min	1.2
6 min	1.2
7 min	3.6
8 min	13.1
9 min	15.5
15 min	45.8
30 min	92.9
1 h	100
1 h 40 min	100
3 h	100
12 h	100
27 h	100
50 h	100

Tableau VI.5 :

Estimation du taux d'amorphe à partir de l'amplitude des sauts de  $C_p$  dans les échantillons de lactose broyés.

(-) : sans objet

Ces résultats montrent l'extrême sensibilité de la poudre de lactose aux effets du broyage puisque plus de la moitié de l'échantillon est déjà amorphe après 15 minutes de broyage. Toutefois, la cinétique d'amorphisation estimée à partir des thermogrammes de DSC semble plus lente que celles déterminées à partir des diagrammes de RX et des spectres de RMN.

## **D. Discussion**

L'évolution de la fraction amorphisée du lactose broyé estimée à partir de chaque technique expérimentale apparaît sur la figure 9. Seules les évolutions correspondant à la première heure de broyage sont reportées puisque dès 30 minutes de broyage, chaque technique conduit à une estimation du taux d'amorphe proche de 100 %.

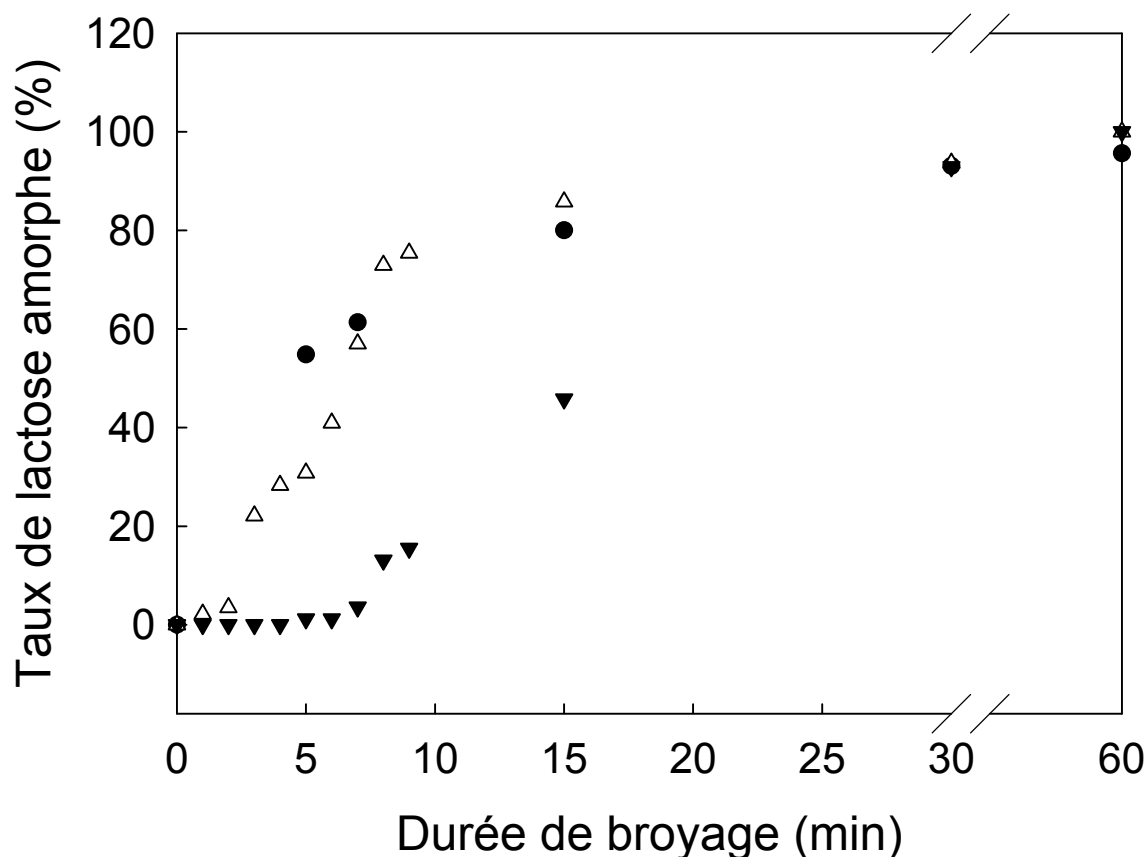


Fig. VI. 9 :

Evolution du taux d'amorphe dans les échantillons de  $\alpha$ L estimée en fonction de la durée du broyage par 3 techniques :

- à partir des amplitudes des sauts de Cp à Tg (▼)
- à partir des intensités intégrées en DRX (Δ)
- à partir des spectres  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (●)

La figure 9 met en évidence que les fractions amorphes ( $X_{\text{am}}$ ) données par la RMN et par la DRX sont systématiquement plus élevées que la fraction amorphe estimée par DSC pour les broyages de durée inférieure à 30 minutes. Les écarts sont maximaux pour 5 minutes de broyage où le taux d'amorphe estimé par RMN est 46 fois plus important que celui estimé par DSC et 1.8 fois important que celui estimé par DRX. Pour 15 minutes de broyage, les taux d'amorphe estimés par RMN et par DRX sont semblables et restent supérieurs à l'estimation donnée par DSC. Les valeurs de  $X_{\text{am}}$  deviennent comparables après 30 minutes de broyage

environ lorsque le taux d'amorphe est supérieur à 90 %. Deux raisons peuvent expliquer la différence entre les estimations données par ces techniques :

- Les thermogrammes présentent, particulièrement aux courts temps de broyage, un chevauchement des événements enthalpiques liés à la transition vitreuse et à la recristallisation des échantillons. Il est donc probable que le saut de  $C_p$  à  $T_g$  soit en partie occulté par l'exotherme de recristallisation conduisant à une sous-estimation de l'amplitude du saut. Le taux d'amorphe estimé est donc certainement inférieur au taux réel. Pour autant, cet effet ne paraît pas suffisant pour justifier une si grande différence.
- Les techniques utilisées (DSC, DRX, RMN...) ont clairement une sensibilité différente concernant le niveau de discrimination entre l'état cristallin et l'état amorphe. En général, il n'y a pas d'ambiguïté en ce qui concerne les cas extrêmes que sont le matériau totalement cristallin et le matériau totalement amorphe (verre de liquide, verre totalement amorphisé par broyage...). Par contre, les « états mal définis » pour lesquels le matériau contient des phases amorphes et cristallines (plus ou moins défectueuses, plus ou moins nanocristallines) sont complexes à analyser et il est difficile d'établir de façon précise la frontière entre le cristal et l'amorphe.
  - L'intensité des raies de Bragg en DRX (qui est une technique d'investigation structurale) est proportionnelle à la quantité de matière diffractante (en d'autres termes à la quantité de matière cristalline) dans l'échantillon. Toute perte de cristallinité entraîne une altération des pics de Bragg. Cependant, nous avons vu que des changements microstructuraux (qui ne sont pas forcément signe d'amorphisation) perturbent fortement les raies des diffractogrammes. A l'extrême limite, une poudre totalement nanocristalline présente un diffractogramme identique à celui d'une poudre totalement amorphe.
  - L'élargissement des raies des spectres de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN (qui est une technique qui sonde les échantillons au niveau de la molécule) observé sur les échantillons amorphes de tréhalose<sup>[11]</sup> ou de lactose est dû à une plus grande liberté de variation de l'angle de torsion de la liaison glycosidique (liaison reliant les deux unités de ces disaccharides) dans l'état amorphe que dans l'état cristallin<sup>[13]</sup>. Cependant, des défauts, tels que des dislocations au sein



de la structure cristalline de ces échantillons, peuvent aussi perturber cet angle de torsion. Il convient également de considérer un autre type de défauts : la surface des cristallites. La réduction de taille des cristallites observée au cours du broyage augmente la proportion de molécules situées en surface. Les molécules en périphérie des cristallites sont dans un environnement moins bien défini que les molécules situées au cœur des cristallites. Ces molécules ont donc plus de liberté concernant les variations de l'angle de torsion de la liaison glycosidique. Les défauts cristallins et la surface des cristallites peuvent donc entraîner un élargissement des raies des spectres de RMN du solide sans qu'il y ait présence de matière amorphe.

- En DSC, le développement d'un saut de  $C_p$  est dû à la libération de degrés de liberté (sur l'échelle de temps des expériences) dans la matière amorphe lors du passage de l'état vitreux à l'état liquide métastable. L'amplitude du saut de  $C_p$  est donc proportionnelle à la quantité de matière véritablement amorphe. En particulier, l'amplitude du saut de  $C_p$  n'est affectée ni par la présence de défauts dans la structure cristalline ni par la microstructure des cristallites.

Les écarts entre les pourcentages de fraction amorphe déterminés par DSC d'une part et par RMN et diffraction des rayons X d'autre part, pourraient donc être causés par l'introduction de défauts cristallins (dislocations, surface des cristallites) au cours des opérations de broyage.

Cette hypothèse est cohérente avec les évolutions microstructurales du  $\alpha L_S$  en fonction de la durée du broyage (cf. paragraphe A.2 de ce chapitre).

## E. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié les évolutions structurales, microstructurales et thermodynamiques du  $\alpha$ L<sub>S</sub> en fonction de la durée du broyage.

Nous avons estimé le taux d'amorphe dans les échantillons de lactose initialement cristallins en fonction de la durée du broyage par trois techniques différentes :

- La DRX, qui est une méthode d'investigation structurale. L'estimation du taux d'amorphe a été réalisée par comparaison des intensités intégrées du diffractogramme d'un échantillon cristallin non broyé avec celles des diffractogrammes des échantillons broyés.
- La <sup>13</sup>C CP-MAS RMN, qui est une méthode d'investigation au niveau moléculaire. L'estimation du taux d'amorphe a été effectuée en supposant que les spectres des échantillons de lactose broyés pouvaient s'interpréter comme une combinaison linéaire du spectre du  $\alpha$ L<sub>S</sub> parfaitement cristallin et du spectre du  $\alpha$ L totalement amorphe.
- La DSC, qui est une méthode d'investigation dynamique du point de vue de la transition vitreuse. L'estimation du taux d'amorphe a été faite par comparaison de l'amplitude du saut de Cp des échantillons broyés avec l'amplitude du saut de Cp d'un échantillon totalement amorphe lors de la transition vitreuse.

Les résultats montrent que les estimations de la fraction amorphe du lactose sous broyage ne sont pas comparables d'une technique à l'autre, en particulier pour les temps de broyage inférieurs à 15 minutes. Pourtant, la comparaison des taux d'amorphe estimés par <sup>13</sup>C CP-MAS RMN et par DSC sur des mélanges physiques de tréhalose cristallin et de tréhalose amorphe montre un parfait accord entre les deux techniques <sup>[11]</sup>. Les différences observées dans le cas du lactose traduisent le fait que les échantillons de lactose broyés ne peuvent être considérés comme des mélanges biphasiques simples de lactose amorphe et de lactose cristallin.

L'étude des évolutions microstructurales des échantillons broyés, réalisée par diffraction des rayons X, a mis en évidence plusieurs faits :

- Aux courts temps de broyage (jusque 4 minutes), les sollicitations mécaniques entraînent une réduction forte de la taille des cristallites associée à une augmentation des déformations, qui sont par ailleurs anisotropes, de ces cristallites.
- Aux temps de broyages supérieurs à 4 minutes, la cinétique de diminution de taille des cristallites ralentit considérablement. On note en parallèle une diminution soudaine de l'intensité des déformations au sein de ces cristallites (pour 5 minutes de broyage) qui reste, par la suite, constante.

La comparaison de l'évolution de la microstructure d'échantillons de poudre de fer broyés réalisée par Zhao et al <sup>[10]</sup> avec l'évolution de la microstructure du lactose décrite ci-dessus montre qu'elles sont très semblables. Les auteurs ont mis en évidence le rôle des dislocations dans les évolutions microstructurales des échantillons de fer. Selon eux, l'augmentation des déformations dans les cristallites de fer est due à des empilements de dislocations contre les joints de grains qu'elles ne peuvent franchir. Au-delà d'une certaine durée de broyage, les propriétés des joints de grains sont modifiées et les dislocations peuvent alors quitter les cristallites en exerçant des contraintes moindres. Cela entraîne une diminution soudaine des déformations. Des tentatives d'observations directes des dislocations par microscopie électronique en transmission sur les échantillons de lactose broyés ont été tentées mais les molécules de lactose se sont dégradées sous l'impact du faisceau d'électrons avant de pouvoir obtenir un résultat exploitable. Cependant, les évolutions microstructurales sous broyage du lactose semblent compatibles avec la création de dislocations lors du broyage.

Les évolutions microstructurales du lactose permettraient ainsi de comprendre l'origine des différences observées lors de l'estimation de la fraction amorphe par les différentes techniques. Les défauts cristallins (surface des cristallites et dislocations) seraient à l'origine de ces différences. Ils sont en effet responsables de l'élargissement des raies de Bragg dans les expériences de diffraction des rayons X. Ils sont aussi responsables des

variations de l'angle de torsion de la liaison glycosidique des molécules de lactose qui provoquent l'élargissement des raies RMN. Par contre, ils ne contribuent pas à l'amplitude du saut de  $C_p$  dans les thermogrammes de DSC puisque ce dernier a une origine dynamique liée à la libération des degrés de libertés des molécules de lactose lorsque la fraction amorphe passe d'un état vitreux à un état liquide métastable.

## Références

- 1 <http://epswww.unm.edu/xrd/xrdclass/09-Quant-intro.pdf>, (2003),
- 2 H. M. Rietveld, *Line profiles of neutron powder diffraction peaks for structure refinement*, Acta Cryst. **22**, 151 (1967)
- 3 H. M. Rietveld, *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures*, J. Appl. Cryst. **2**, 65 (1969)
- 4 *Abstracts of the Satellite Meeting on Powder Diffraction of the XV Congress of the IUCr, p. 127, Toulouse, France, (1990)*,
- 5 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, J. F. Willart, and P. Derollez, *Combination of powder X-ray diffraction and energy minimisation for the structure determination of the stable anhydrous form of  $\alpha$ -lactose*, Acta Cryst. B **61** (2005)
- 6 R. Guinebretière, *Diffraction des rayons X sur échantillons polycristallins* (Hermès Science Publications, Paris, 2002).
- 7 C. Platteau, *Détermination de la structure cristalline de matériaux d'intérêt pharmaceutique à partir de diagrammes de diffraction X sur poudre*, Université des Sciences et Technologies de Lille, (2004)
- 8 J. L. Martin, *Dislocations et plasticité des cristaux*, (2000).
- 9 J. Philibert, A. Vignes, Y. Bréchet, and P. Combrade, *Métallurgie*, (2002).
- 10 Y. H. Zhao, H. W. Sheng, and K. Lu, *Microstructure evolution and thermal properties in nanocrystalline Fe during mechanical attrition*, Acta Materiala **49**, 365 (2001)
- 11 R. Lefort, A. De Gusseme, J. F. Willart, F. Danede, and M. Descamps, *Solid state NMR and DSC methods for quantifying the amorphous content in solid dosage forms: an application to ball-milling of trehalose*, International Journal of Pharmaceutics **280**, 209 (2004)
- 12 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)
- 13 P. Zhang, A. N. Klymachyov, S. Brown, J. C. Ellington, and P. J. Grandinetti, *Solid state  $^{13}\text{C}$  NMR investigations of the glycosidic linkage in  $\alpha$ - $\alpha'$ tréhalose*, Solid State Nuclear Magnetic Resonance **12**, 221 (1998)

## **CHAPITRE VII**

**Nanocristallisation des échantillons de lactose  
faiblement broyés. Interrelation entre l'état  
physique et les propriétés chimiques du lactose**

L'évolution des courbes DSC présentées au chapitre précédent révèle la complexité des phénomènes thermodynamiques se produisant lors du chauffage des échantillons ayant subi un broyage de durée intermédiaire et pour lesquels l'amorphisation n'est que partielle. Cette complexité est notamment illustrée par le thermogramme du  $\alpha L_S$  broyé 1 heure. Après une faible recristallisation, la fusion est si étalée qu'elle est quasiment imperceptible. Ce phénomène disparaît pour des broyages de durée supérieure ou égale à 3 heures pour lesquels on retrouve les aspects habituels d'un thermogramme d'une substance amorphisée. Pourtant, du point de vue des rayons X, les diagrammes des échantillons ayant été broyés 1 heure ou plus sont parfaitement identiques et caractéristiques d'un amorphe.

Une analyse fine du thermogramme du lactose broyé 1 heure, représentatif de ces comportements singuliers, est réalisée en section A. La section B est consacrée à l'étude par diffraction des rayons X de la nature des phases recristallisées au chauffage dans les échantillons ayant subi des broyages de durée inférieure ou égale à 1 heure. La section C présente les courbes d'Analyse ThermoGravimétrique (ATG) des échantillons de lactose ayant subi des broyages de durée comprise entre 0 et 30 heures.

### **A. Etude par DSC du $\alpha L_S$ broyé 1 heure**

La figure 1 présente le thermogramme d'un échantillon de  $\alpha L_S$  ayant subi 1 heure de broyage. Nous avons superposé sur ce thermogramme les courbes de DSC du  $\alpha L_S$  non broyé et du  $\alpha L_S$  broyé 27 heures. Ces deux derniers thermogrammes correspondent aux cas limites d'échantillons totalement cristallin et totalement amorphe. Ils serviront de référence pour l'analyse du thermogramme plus complexe de l'échantillon broyé 1 heure. Le thermogramme d'un échantillon de  $\alpha L_S$  qui a été broyé 1 heure puis porté pendant 10 minutes à la température de l'extremum de son exotherme de recristallisation est également représenté.

Le thermogramme du lactose broyé 1 heure montre clairement un exotherme sur la gamme de températures 135,7 °C – 146,7 °C, attribué à la recristallisation de l'échantillon ( $\Delta H_{cr}(T_{cr}) = 23,2 \text{ J.g}^{-1}$ ). De manière générale, lorsqu'un amorphe recristallise au réchauffage, le flux de chaleur après recristallisation est inférieur à celui avant recristallisation puisque le nombre de degrés de liberté dans l'échantillon a diminué. Ce comportement est parfaitement visible sur le thermogramme de l'échantillon broyé 27 heures. Cependant, le thermogramme

de l'échantillon broyé 1 heure montre un comportement inverse. Le flux de chaleur après cristallisation est supérieur au flux de chaleur avant cristallisation. Ce flux de chaleur est également supérieur à ceux mesurés dans l'échantillon cristallin (non broyé) et dans l'échantillon totalement amorphe (broyé 27 heures). Ce flux de chaleur supérieur persiste jusqu'à environ 200 °C révélant l'existence d'un endotherme de faible intensité mais s'étalant sur un très large domaine de températures. Cet endotherme présente un creux autour de 170 °C (ou présente deux « bosses » de part et d'autre de 170 °C). Bien que cet endotherme soit très étalé et qu'il semble chevaucher l'exotherme de recristallisation, son enthalpie peut être estimée à 90 J.g<sup>-1</sup> environ. Cette valeur est comparable à l'enthalpie de fusion du  $\alpha/\beta$ , ce qui suggère que cet endotherme, qui s'étend de 145 °C à 200 °C, est très certainement dû à une fusion extrêmement étalée du lactose. La fusion du lactose s'accompagnant généralement de dégradations thermiques, ces dégradations doivent certainement contribuer à l'enthalpie de ce large endotherme.

Le thermogramme du composé broyé 1 heure puis recristallisé ne présente ni saut de Cp représentatif d'une transition vitreuse ni signe de cristallisation supplémentaire. Cela indique que la fraction de lactose amorphisée par broyage a recristallisé complètement au chauffage. En comparant ce thermogramme avec celui du  $\alpha_L$  broyé 1 heure, on constate que le large endotherme est également présent sur le thermogramme du  $\alpha_L$  broyé 1 heure puis recristallisé. Toutefois, l'aspect de l'endotherme est différent de celui visible sur le thermogramme du  $\alpha_L$  broyé 1 heure. On note, en particulier, l'absence du creux autour de 170 °C. Cette différence provient peut-être d'une évolution de la microstructure des cristallites lors du vieillissement isotherme de 10 minutes dans la zone de recristallisation de l'échantillon.

Cependant, la complexité de la fusion du lactose (elle s'accompagne de dégradations thermiques) ainsi que les chevauchements des phénomènes de cristallisation et de fusion sur le thermogramme du composé broyé 1 heure ne permettent pas de déconvoluer les phénomènes dus à la cristallisation de ceux dus à la fusion et, éventuellement, aux dégradations thermiques. Il n'est donc pas possible de pousser plus avant cette analyse des thermogrammes du  $\alpha_L$  broyé 1 heure et du  $\alpha_L$  broyé 1 heure puis recristallisé



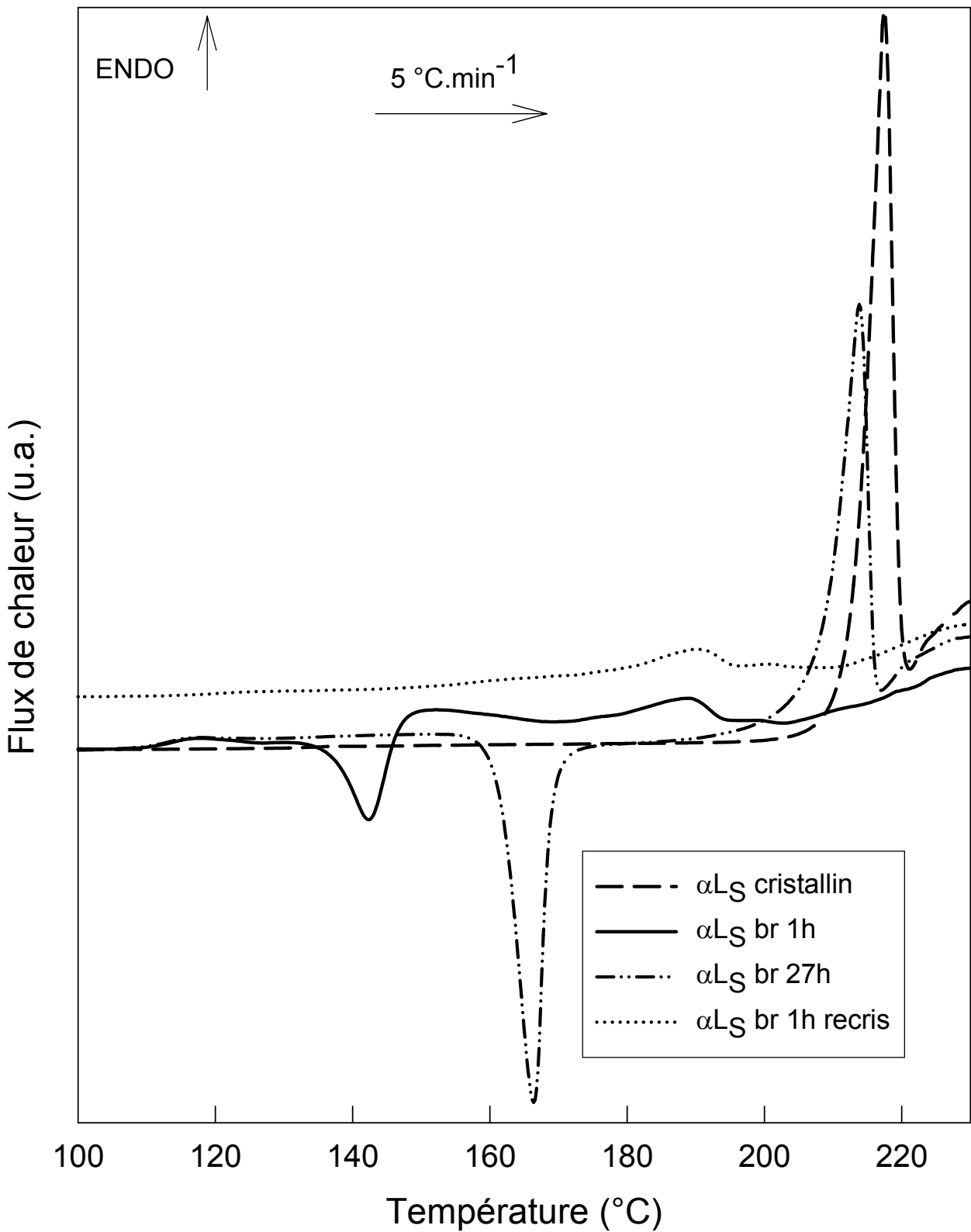


Fig. VII.1 : Thermogrammes enregistrés au chauffage (5 °C.min<sup>-1</sup>) d'échantillons de αL<sub>S</sub> cristallin, broyé 1h, broyé 27h, et broyé 1h puis recristallisé dans la zone de températures de cristallisation rapide. La position en flux de chaleur du thermogramme du αL<sub>S</sub> broyé 1h puis recristallisé a été décalée vers le haut afin de permettre une meilleure visibilité

Les échantillons de  $\alpha\text{L}_S$  ayant subi un broyage de durée inférieure à 1 heure présentent également un endotherme large débutant immédiatement à la fin de l'exotherme de cristallisation (cf. figure 8 du chapitre VI). Cependant, l'effet est moins prononcé que pour le  $\alpha\text{L}_S$  broyé 1 heure. De plus, ils présentent également un second endotherme attribué à la fusion du  $\alpha\text{L}_S$  non amorphisé résiduel. Ce second endotherme est mieux défini et se situe à plus haute température que le premier. Toutefois, la température de ce second endotherme est déprimée par rapport à l'endotherme de fusion du  $\alpha\text{L}_S$  non broyé (cf. figure 8 du chapitre VI).

### **B. Etude par diffraction des rayons X des phases recristallisées au chauffage des échantillons de lactose broyés**

La présence d'un endotherme aussi large débutant immédiatement après la recristallisation soulève la question de la structure et de la microstructure des phases recristallisées. La figure 2 rassemble les diffractogrammes des échantillons broyés 5, 9, 15 minutes et 1 heure portés pendant 10 minutes à la température de l'extremum de leur exotherme de recristallisation. Les diffractogrammes du  $\alpha\text{L}_S$  non broyé et du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  ont été également reportés à titre de comparaison. Il est à noter qu'avant recristallisation, les diffractogrammes des composés ayant subi un broyage de durée inférieure ou égale à 15 minutes présentent encore des raies de Bragg ou des traces de raies de Bragg caractéristiques du  $\alpha\text{L}_S$  alors que le diffractogramme du lactose broyé 1 heure présente uniquement un halo diffus.

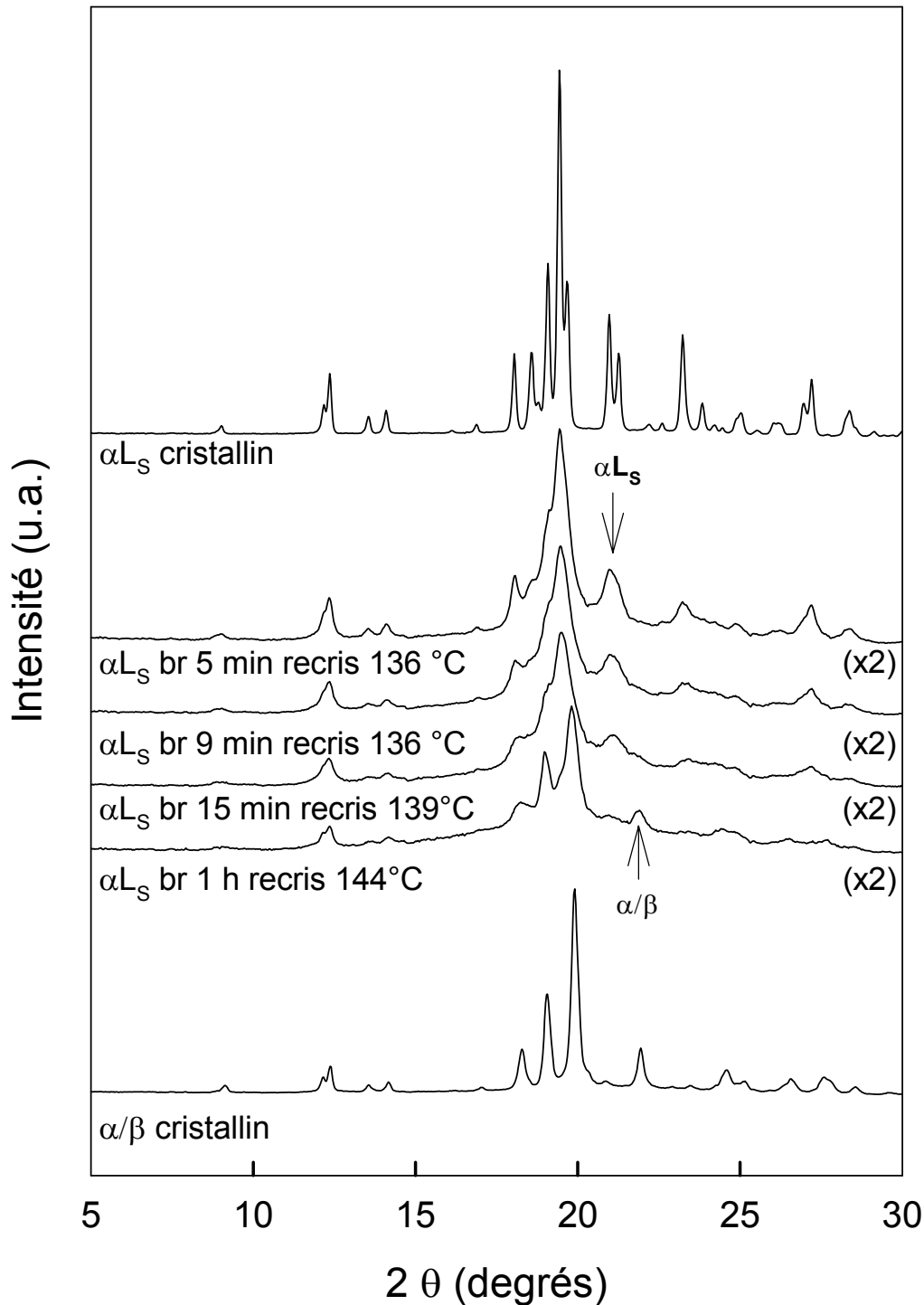


Fig. VII. 2 :

Diagrammes de diffraction des rayons X enregistrés à température ambiante :

- $\alpha L_S$  cristallin
- $\alpha L_S$  broyés (5 min, 9 min, 15 min, et 1h) puis recristallisés à la température de l'extremum de l'exotherme de cristallisation. Un coefficient multiplicatif a été appliqué aux diffractogrammes des échantillons broyés pour faciliter les comparaisons avec les diffractogrammes du  $\alpha L_S$  et du  $\alpha/\beta$
- Composé équimolaire  $\alpha/\beta$  obtenu par recristallisation de  $\alpha L_S$  totalement amorphisé par broyage

Les diagrammes de diffraction des rayons X des composés broyés 5, 9 et 15 minutes puis recristallisés montrent que la recristallisation a entraîné une augmentation de l'intensité des raies de Bragg du  $\alpha_L$  préexistantes. Cependant, les pics de Bragg restent beaucoup plus larges et moins intenses que ceux de l'échantillon cristallin non broyé. Ces particularités traduisent un caractère nanocristallin et/ou une grande concentration de défauts au sein de ces échantillons. Certains épaulements situés aux mêmes positions angulaires que les raies de Bragg du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  ne permettent pas d'exclure avec certitude la présence de cette phase au sein de ces échantillons.

A l'inverse, le diffractogramme obtenu après recristallisation du lactose broyé 1 heure montre que les raies de Bragg se situent aux mêmes positions angulaires que celles du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  (obtenu par recristallisation du  $\alpha_L$  broyé 23 heures). Aucune trace de  $\alpha_L$  ne semble détectable, ce qui indique que la recristallisation de cet échantillon conduit uniquement (en tout cas majoritairement) au composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Cependant, les raies de Bragg sont très larges, de faible intensité et le diffractogramme présente également un halo diffus.

Nous avons vu que le thermogramme du composé broyé 1 heure puis recristallisé (cf figure VII.1) ne présentait ni saut de  $C_p$  représentatif d'une transition vitreuse ni de signe de cristallisation supplémentaire. Le halo de diffusion visible sur le diffractogramme ne peut donc être attribué à la présence d'une fraction amorphe de l'échantillon n'ayant pas cristallisé lors de la première rampe en température. Ce halo de diffusion est sans doute dû à un recouvrement des raies de Bragg qui sont très larges. Ainsi, l'échantillon cristallise vers la forme  $\alpha/\beta$  avec une microstructure très différente de l'échantillon recristallisé après un broyage beaucoup plus long (23 heures).

## **C. Analyse thermogravimétrique des échantillons de lactose broyés**

### **C.1. Présentation générale des courbes d'ATG**

La figure 3 regroupe les courbes d'ATG des échantillons de lactose ayant subi des broyages de durée comprise entre 0 et 30 heures. Ces courbes ont été obtenues par chauffage des poudres à une vitesse de  $5\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  depuis la température ambiante jusque  $200\text{ }^\circ\text{C}$ .

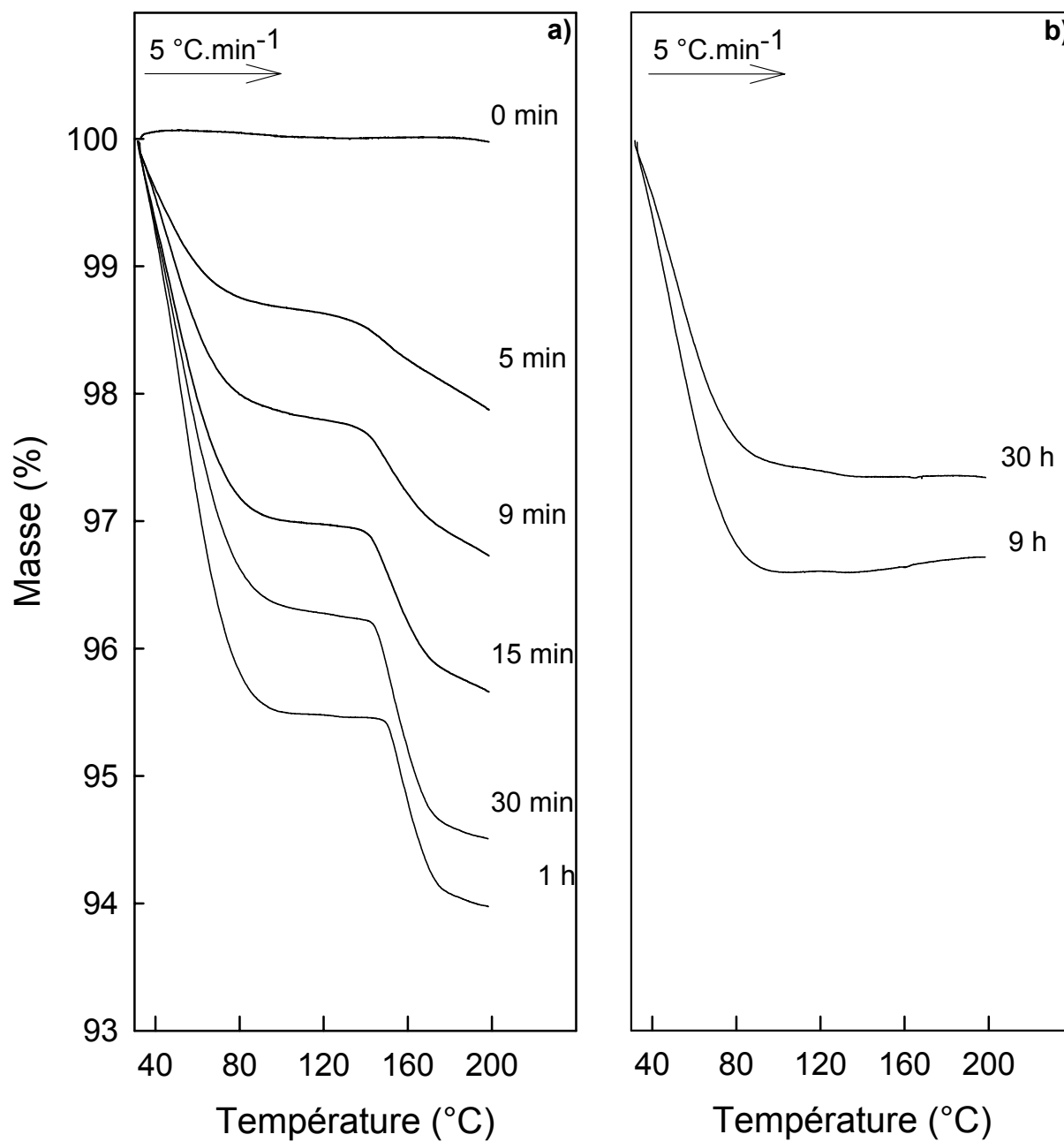


Fig. VII.3 :  
 Courbes d'ATG enregistrées au chauffage (5 °C.min<sup>-1</sup>) d'échantillons de  $\alpha$ L<sub>S</sub> broyés

Le  $\alpha$ L<sub>S</sub> cristallin non broyé ne présente aucune perte de masse, ce qui indique que l'échantillon initial est parfaitement sec avant broyage.

Par contre, pour des temps de broyage compris entre 5 minutes et 1 heure, les courbes d'ATG montrent :

- Une perte de masse visible entre 30 et 100 °C qui augmente avec la durée du broyage. Elle est de l'ordre de 1.2 % pour l'échantillon broyé 5 minutes et de l'ordre de 4.5 % pour l'échantillon broyé 1 heure. Puisque l'échantillon cristallin non broyé ne présente pas de perte de masse au chauffage, la perte de masse des échantillons broyés est clairement due à une légère prise d'eau lors du broyage lui-même et lors de la manipulation des échantillons nécessaire à leur caractérisation. Pour ces temps de broyage, les diagrammes de diffraction des rayons X de la figure 2 ne révèlent la présence d'aucune phase cristalline autre que le  $\alpha L_S$  ou le  $\alpha/\beta$ . Il n'y a en particulier aucune trace de lactose monohydrate. L'eau contenue dans ces échantillons après broyage n'est donc pas une eau « structurale » mais une eau libre adsorbée à la surface des grains de la poudre.
- Un plateau entre 100 et 140 °C où la masse de l'échantillon est stable.
- Une nouvelle perte de masse entre 140 et 200 °C qui croît avec la durée du broyage. Cette gamme de températures étant nettement supérieure à 100 °C, on peut penser que cette deuxième perte de masse n'est pas due à une perte d'eau mais plutôt à une dégradation thermique de l'échantillon. Cette hypothèse est confirmée par l'examen visuel de la poudre après chauffage à 200 °C qui montre clairement une couleur noirâtre.

Les courbes ATG des échantillons de lactose broyés 9 heures et 30 heures présentent elles aussi une perte de masse entre 30 et 100 °C que l'on attribue à un départ d'eau adsorbée à la surface des grains lors des phases de broyage et de récupération de la poudre dans les jarres après broyage. On constate cependant que la perte de masse est moindre par rapport aux échantillons moins longuement broyés. Elle est par exemple deux fois moins importante après 30 heures de broyage (2.3 %) qu'après 1 heure de broyage (4.5 %). Cette diminution de la perte de masse est sans doute liée au compactage de la poudre contre les parois des jarres pour les longs temps de broyage qui provoque une expulsion de l'eau adsorbée par la poudre.

## C.2. Comparaison entre la courbe d'ATG et le thermogramme du lactose broyé 1 heure

La figure 4 présente en parallèle la courbe d'ATG et le thermogramme réalisés avec la même vitesse de chauffe ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) pour un échantillon de  $\alpha\text{L}_S$  broyé 1 heure.

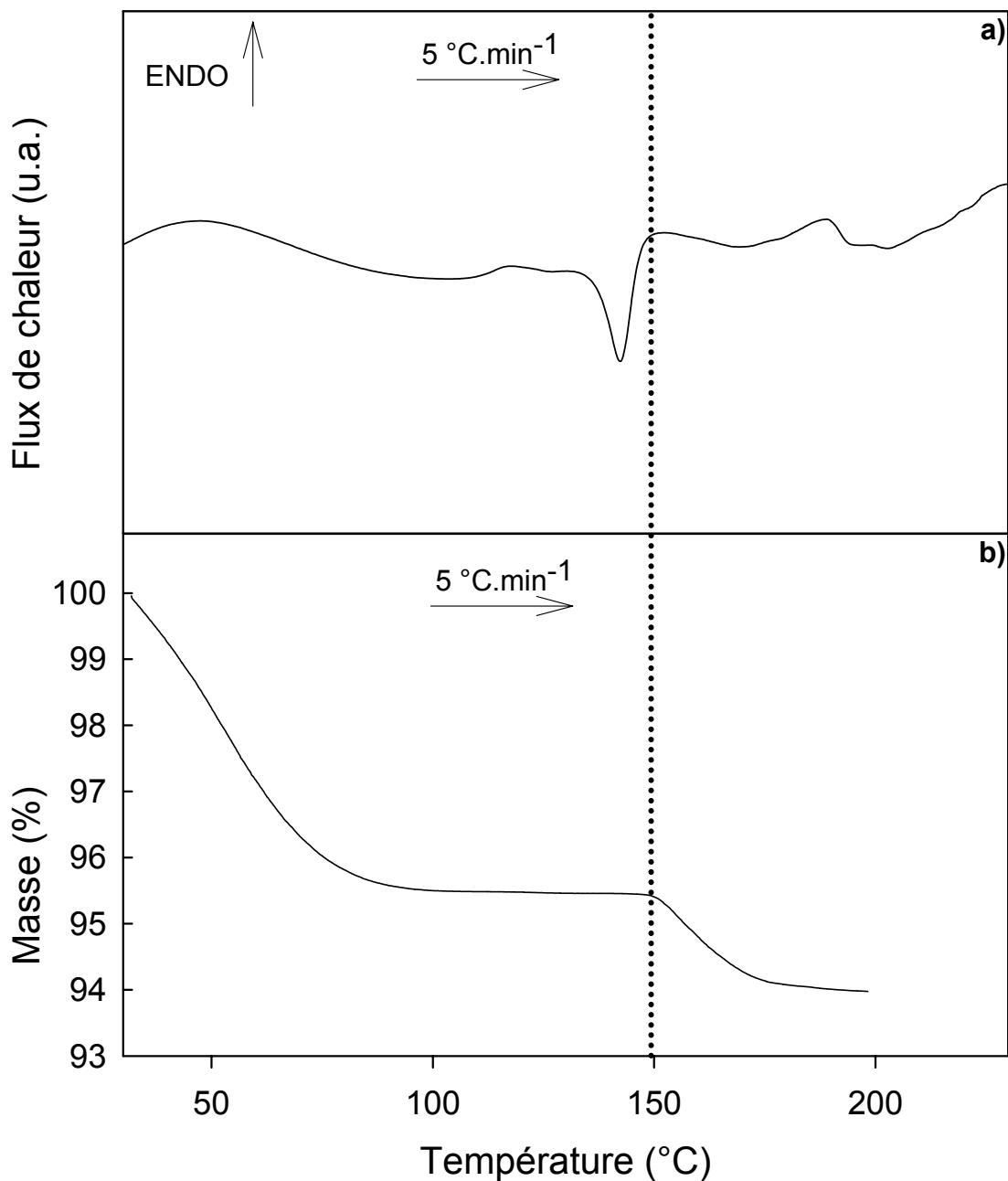


Fig VII.4 :  
 $\alpha\text{L}_S$  broyé 1h :  
 a) Thermogramme enregistré au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).  
 b) Courbe d'ATG enregistrée au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

La comparaison des deux courbes de la figure 4 révèle que la seconde perte de masse visible par ATG entre 150 °C et 200 °C correspond au large endotherme visible en DSC. Comme nous l'avons vu précédemment, cette seconde perte de masse ne peut être attribuée ni à un départ d'eau libre ni à un départ d'eau structurale. Elle est due à la dégradation thermique de l'échantillon. Nous avons vu au chapitre IV que la dégradation thermique accompagne la fusion du  $\alpha\text{L}_S$  cristallin non broyé. Ces résultats confirment donc que le large endotherme visible sur le thermogramme du lactose broyé 1 heure est bien une fusion très étalée du composé qui s'accompagne de la dégradation de l'échantillon.

La superposition (non présentée) sur une même échelle de températures des thermogrammes et des courbes ATG des autres échantillons ayant subi des broyages de durée inférieure à 1 heure met également en évidence que le large endotherme observé en DSC correspond à la seconde perte de masse visible en ATG. Ces échantillons présentent donc 2 fusions :

- Une première fusion étalée de la fraction du  $\alpha\text{L}_S$  amorphisée par broyage qui a recristallisé lors du chauffage. Cette fusion étalée débute immédiatement après la recristallisation de ces échantillons.
- Une seconde fusion mieux définie dont la température est plus élevée. Elle est attribuée à la fusion de la fraction du  $\alpha\text{L}_S$  qui n'a pas été amorphisée lors du broyage.

## **D. Discussion et conclusion**

### **D.1. Nanocristallisation des échantillons**

Les raies de Bragg larges et mal définies présentes sur tous les diffractogrammes des échantillons broyés (5, 9, 15 minutes et 1 heure) puis recristallisés au chauffage (cf. figure 2) sont le reflet d'une forte nanocristallisation et/ou d'une grande concentration de défauts cristallins au sein de ces échantillons.

Le diffractogramme enregistré après recristallisation au chauffage du  $\alpha\text{L}_S$  broyé 1 heure présente des raies de Bragg caractéristiques du composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Ce résultat



est cohérent avec ceux du chapitre IV où l'on montre que le  $\alpha L_S$  amorphisé totalement par un broyage de 23 heures recristallise intégralement vers cette phase. Cependant, la largeur des raies de Bragg est beaucoup plus importante lorsque l'échantillon a été broyé 1 heure que lorsqu'il a été broyé 23 heures. Cette largeur de raies de Bragg importante (dont l'origine ne peut être attribuée à une fraction amorphe qui ne recristalliserait pas au chauffage) signifie que l'échantillon broyé 1 heure contient, immédiatement après broyage, un grand nombre de germes cristallins résiduels à partir desquels la recristallisation s'opère au chauffage. Cependant, ces germes cristallins sont forcément de même nature que la phase cristalline de départ (cf. chapitre V), à savoir du  $\alpha L_S$ , alors que la phase recristallisée est différente de la phase de départ.

Une hypothèse plausible avec ce résultat serait que les germes de  $\alpha L_S$  résiduels serviraient de sites de nucléations hétérogènes à partir desquels les cristallites de composé équimolaire  $\alpha/\beta$  croîtraient. Les premiers signes de cristallisation au chauffage surviennent à 135.7 °C, température à laquelle la matrice amorphe est un mélange équimolaire de  $\alpha$ -lactose et de  $\beta$ -lactose (cf. chapitre V). Cette matrice ne peut donc que cristalliser vers le composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Cette nucléation hétérogène est facilitée par la similarité entre les structures du  $\alpha L_S$  et du  $\alpha/\beta$  <sup>[1]</sup> qui ont été présentées au chapitre IV. Les sites de nucléations étant multiples, la cinétique globale de cristallisation de la matrice amorphe est très rapide et la taille des cristallites de  $\alpha/\beta$  très petite. L'échantillon est alors constitué de nombreux germes de  $\alpha L_S$  indétectables aux rayons X et de nanocristaux de composé équimolaire  $\alpha/\beta$  qui donnent des raies de Bragg larges et peu intenses.

Cette hypothèse de nucléation hétérogène paraît raisonnable puisque ce phénomène a déjà été observé par Yu et al lors d'une étude menée sur des polyols <sup>[2]</sup>. Les auteurs rapportent un cas intéressant de nucléation hétérogène d'un polymorphe à la surface de noyaux cristallins d'un polymorphe différent sans conversion polymorphique (autrement dit, les germes du premier polymorphe ne se convertissent pas en l'autre polymorphe). Ils ont observé en particulier la nucléation hétérogène de mannitol  $\alpha$  sur des sphérolites de mannitol  $\delta$  et la nucléation hétérogène de sorbitol E à partir de sorbitol liquide ensemencé avec des germes de sorbitol  $\gamma$ .

Contrairement à ce qui est observé pour le  $\alpha L_S$  broyé 1 heure, les diffractogrammes enregistrés après recristallisation au chauffage des échantillons de  $\alpha L_S$  broyés 5, 9 et 15

minutes montrent que la recristallisation s'effectue vers la phase de départ. On peut s'étonner de cette recristallisation vers le  $\alpha L_S$  puisque nous avons montré au chapitre V que le lactose amorphe subissait au réchauffage une forte mutarotation avant de cristalliser vers le composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Il faut noter cependant que, pour ces échantillons broyés moins de 15 minutes, des raies de Bragg caractéristiques du  $\alpha L_S$  cristallin subsistent dans les diffractogrammes enregistrés immédiatement après broyage et avant chauffage des échantillons. Ces raies prouvent que les cristallites de  $\alpha L_S$  résiduels sont de tailles plus importantes dans ces échantillons que dans le  $\alpha L_S$  broyé 1 heure. On peut alors émettre plusieurs hypothèses compatibles avec ces résultats. La première serait d'affirmer que la répartition des cristallites de  $\alpha L_S$  au sein de la matrice amorphe (qui est, à la température à laquelle des échantillons recristallisent, un mélange équimolaire de molécules de  $\alpha$ -lactose et de molécules de  $\beta$ -lactose) serait telle qu'il serait impossible aux cristaux de composé équimolaire  $\alpha/\beta$  d'atteindre une taille suffisante pour être détectés par diffraction des rayons X. L'augmentation d'intensité des raies de Bragg du  $\alpha L_S$  au chauffage serait alors due à la « guérison » des défauts de ces cristallites. Une autre hypothèse serait de supposer, qu'à la température de cristallisation, les cristallites de  $\alpha L_S$  drainent les molécules de  $\alpha$ -lactose de la matrice amorphe pour croître. La réaction de mutarotation assurant l'équilibre entre les deux types de molécules à l'état amorphe (cf. chapitre V), les molécules de  $\beta$ -lactose se convertiraient en molécules de  $\alpha$ -lactose de manière à garder un taux constant de 50 % de molécules de  $\alpha$ -lactose à l'état amorphe. Ces molécules continueraient d'être incorporées aux cristallites de  $\alpha L_S$  jusqu'à ce que les échantillons soient totalement cristallins.

## **D.2. Interrelation entre les propriétés physiques et les propriétés chimiques des composés**

Les thermogrammes des échantillons broyés moins de 1 heure ont révélé que, au chauffage, la partie amorphe recristallise puis fond sur un large domaine de température qui débute immédiatement après la recristallisation et s'étend jusqu'à la température de fusion des échantillons cristallins non broyés. Le caractère nanocristallin, une large distribution de tailles des cristallites et une forte concentration de défauts cristallins sont certainement responsables de l'extrême étalement de l'endotherme de fusion. Les mesures ATG réalisées

en parallèle ont mis en évidence que cette fusion s'accompagnait sur cette gamme de température d'une perte de masse qui n'était pas due à un départ d'eau. Cette perte de masse est vraisemblablement causée par la dégradation chimique qui accompagne la fusion des échantillons.

Deux déductions principales ressortent de ces résultats :

- La fusion entraîne une dégradation des composés quelle que soit la température à laquelle elle intervient. La dégradation semble donc liée au mécanisme de fusion plutôt qu'à la température.
- Cette dégradation, liée à la fusion des échantillons de lactose, montre également qu'il y a une différence entre l'amorphisation par fusion (toujours accompagnée de dégradation) et l'amorphisation par broyage qui n'altère pas les molécules de lactose. Cette conclusion est cohérente avec les résultats des chapitres IV et V qui montrent la non validité de l'hypothèse de fusions locales.

Ces constats, ajoutés aux résultats décrits dans les chapitres IV, V et VI, soulignent l'interrelation entre les propriétés physiques (cristallinité) et les propriétés chimiques (mutarotation, caramélisation) du lactose.

## Références

- 1 J. Lefebvre, J.-F. Willart, V. Caron, R. Lefort, F. Affouard, and F. Danede, *Structure determination of the 1/1 a/b mixed lactose by X-ray powder diffraction*, Acta Cryst. B **61**, 455 (2005)
- 2 L. Yu, *Nucleation of one polymorph by another*, J. Am. Chem. Soc. **125**, 6380 (2003)

## **CHAPITRE VIII**

### **Transformations du tréhalose et du mannitol sous broyage**

Les chapitres IX et X concernent la mécanosynthèse d'alliages moléculaires binaires sur le système tréhalose/mannitol et sur le système lactose/mannitol. Avant d'examiner les effets du cobroyage, il convient de présenter les composés et leur comportement sous broyage. La section A est consacrée au tréhalose ; la section B, au mannitol.

## **A. Le tréhalose**

Le tréhalose est un sucre assimilable par l'organisme humain. Il est présent dans de nombreuses espèces animales et végétales : levures, plantes, algues, champignons, bactéries, insectes... On l'extrait des levures après leur avoir fait subir un choc thermique <sup>[1]</sup>. Ces organismes le synthétisent alors en grande quantité.

Le tréhalose est actuellement très étudié en biologie pour ses propriétés exceptionnelles de bioprotection des organismes « anhydrobiotiques » <sup>[1, 2]</sup>. Ces êtres sont capables de survivre à des déshydratations de longue durée sans que leurs fonctions vitales ne soient mises en danger. Pour réussir une telle prouesse, ils synthétisent des molécules bioprotectrices qui réduisent très fortement le métabolisme de leurs cellules sans les endommager. Lorsque les conditions redeviennent clémentes, l'activité métabolique reprend. On peut citer, comme exemple d'organismes anhydrobiotiques, les tardigrades. Les tardigrades sont des animaux articulés de très petites tailles (0.1 à 1 mm) qui pullulent sur les mousses ou les algues marines (Les tardigrades forment un petit embranchement.). Ces arthropodes microscopiques peuvent synthétiser du tréhalose jusqu'à 20 % de leur masse sèche lors de situations de sécheresse. Ils entrent alors dans une phase de quasi-inactivité pouvant se prolonger pendant des dizaines d'années. Au cours de réhydratation ultérieure, les tardigrades reprennent une activité métabolique normale.

D'autres composés ont aussi un rôle bioprotecteur. Il s'agit par exemple du glycérol, du dextran, ou du sucrose. Le caractère bioprotecteur du tréhalose est cependant beaucoup plus marqué. L'origine de cette propriété n'est pas encore comprise <sup>[1, 3]</sup>, mais ce composé offre des perspectives larges dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires où il devrait permettre de protéger les molécules actives des principaux stress de la formulation (déshydratation, température, compaction...). Ainsi, l'industrie pharmaceutique utilise les sucres comme excipients pour améliorer la stabilité des médicaments. Au cours d'opérations de lyophilisation par exemple, ils permettent de protéger les principes actifs. Pour l'industrie

agroalimentaire, le tréhalose possède une moindre cariogénicité, une meilleure stabilité thermique et une transition vitreuse plus élevée que le sucrose (isomère du tréhalose). Il pourrait ainsi être utilisé dans les boissons énergétiques, les confiseries et les produits surgelés.

Malgré ces propriétés attractives, le tréhalose est beaucoup moins employé que les autres sucres pour deux raisons principales. D'une part, les procédés de production du tréhalose étaient jusque-là plus coûteux que ceux des autres disaccharides. D'autre part, les autorisations d'utilisation de la FDA (2000) et de la Communauté européenne (2001) sont récentes.

Cette section est divisée en quatre parties. La première présente les caractéristiques physiques et chimiques du tréhalose. La deuxième partie est consacrée à l'étude de l'évolution structurale et microstructurale du tréhalose  $\beta$  ( $T_\beta$ ) sous broyage. La troisième partie porte sur l'évolution thermodynamique des échantillons de  $T_\beta$  broyé. La dernière partie compare les résultats obtenus sur le  $T_\beta$  avec ceux obtenus sur le  $\alpha L_S$ .

### A.1. Caractéristiques et polymorphisme du tréhalose

Le tréhalose est un disaccharide isomère du lactose, du sucrose et du maltose. Sa formule brute est  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Sa masse molaire est de  $342.29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Il est constitué de deux unités de glucose reliées par une liaison  $\alpha$ -glycosidique (Figure 1).

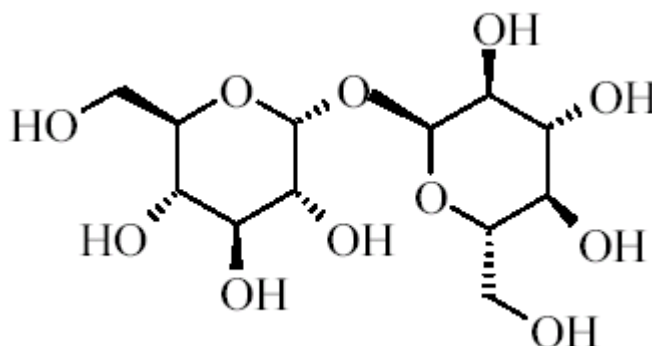
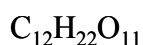


Figure VIII.1:

Formule développée de la molécule de tréhalose



Trois formes cristallines sont répertoriées pour le tréhalose <sup>[4]</sup> :

- Le tréhalose dihydrate ( $T_{2H_2O}$ ). C'est la forme la plus stable dans les conditions ambiantes de température et de pression. Elle est obtenue par évaporation d'une solution d'éthanol aqueuse.
- Le tréhalose  $\beta$  ( $T_\beta$ ). Il peut être cristallisé dans la pyridine. Il est aussi possible de l'obtenir par déshydratation du  $T_{2H_2O}$  pendant 4 heures sous vide à 135 °C. Ce composé hygroscopique doit être conservé dans un dessiccateur.
- Le tréhalose  $T_\alpha$ . Il est obtenu par déshydratation du  $T_{2H_2O}$  à 50 °C pendant 3 heures sous atmosphère inerte <sup>[5]</sup>. Cette phase est extrêmement hygroscopique et une transformation vers  $T_{2H_2O}$  est rapidement observée dans des conditions d'humidité ambiante <sup>[4]</sup>.

La figure 2 présente les diagrammes de diffraction X sur poudre et les thermogrammes des phases cristallines du tréhalose. Les structures du  $T_{2H_2O}$  <sup>[6]</sup> et du  $T_\beta$  <sup>[7]</sup> ont été résolues sur monocristal. Le tableau 1 présente les données structurales trouvées. Par contre, la structure de la phase  $T_\alpha$  n'est pas résolue. En effet, elle est très instable et son mode d'obtention ne permet pas d'obtenir de monocristaux.



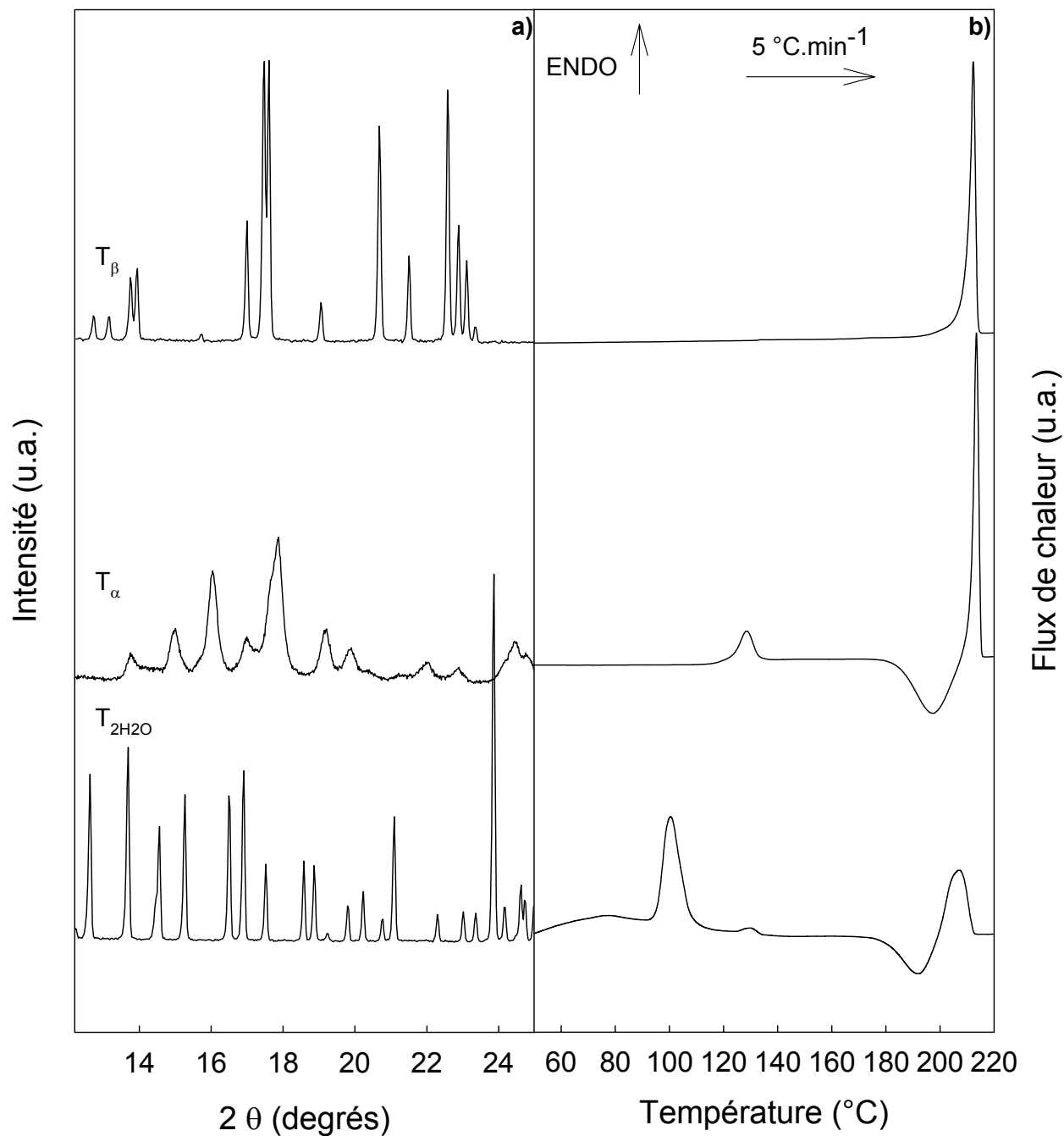


Fig VIII. 2 :

- a) Diagrammes de diffraction X sur poudre des 3 formes cristallines du tréhalose  
 b) Thermogrammes obtenus au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) des polymorphes du tréhalose

$T_{\beta}$  : Tréhalose anhydre beta

$T_{\alpha}$  : Tréhalose anhydre alpha

$T_{2H_2O}$  : Tréhalose dihydrate

Caractéristiques	$T_{2H_2O}$ <sup>[6]</sup>	$T_\beta$ <sup>[7]</sup>
Groupe d'espace	$P2_12_12_1$	$P2_1$
a (Å)	12.230	12.971
b (Å)	17.890	8.229
c (Å)	7.596	6.789
$\alpha$ (°)	90	90
$\beta$ (°)	90	98.12
$\gamma$ (°)	90	90
V (Å <sup>3</sup> )	1661.96	717.38
Z	4	2

Tableau VIII.1 :  
Caractéristiques structurales du  $T_{2H_2O}$  et du  $T_\beta$

Le thermogramme du  $T_\beta$  présente uniquement un endotherme de fusion à 212.3 °C. Le thermogramme du  $T_\alpha$  montre la fusion de cette phase à 125 °C suivie de la recristallisation et de la fusion de la phase  $\beta$  à plus haute température. Le thermogramme du  $T_{2H_2O}$  présente la déshydratation de la forme dihydrate qui peut conduire, selon la vitesse de chauffe, à la formation de tréhalose amorphe et/ou de  $T_\alpha$ .

Contrairement au lactose, les molécules de tréhalose ne subissent aucune altération lors de la fusion. L'état amorphe peut donc être obtenu de manière classique par trempe de la phase liquide <sup>[4, 8]</sup>. De plus, des investigations récentes menées dans le cadre de la thèse d'Armelle De Gusseme <sup>[4]</sup> montrent que le  $T_\beta$  subit une transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre sous broyage mécanique. En revanche, l'évolution microstructurale du tréhalose cristallin au cours du broyage n'a pas été étudiée.

## A.2. Evolutions structurales et microstructurales du tréhalose cristallin sous broyage

Plusieurs échantillons de  $T_\beta$  ont été broyés pendant des durées variant de 0 à 30 heures. Les diffractogrammes de ces échantillons broyés sont rassemblés sur la figure 3. La vitesse de rotation des jarres, maintenue constante pour toute l'étude, a été fixée à 400 tours par minute. Le broyage a été réalisé sous atmosphère inerte. Le remplissage des capillaires ayant servi à l'enregistrement des diagrammes de diffraction X a été effectué sous boîte à gants balayée à l'azote sec pour éviter toute absorption d'eau susceptible de provoquer l'apparition du tréhalose dihydrate.

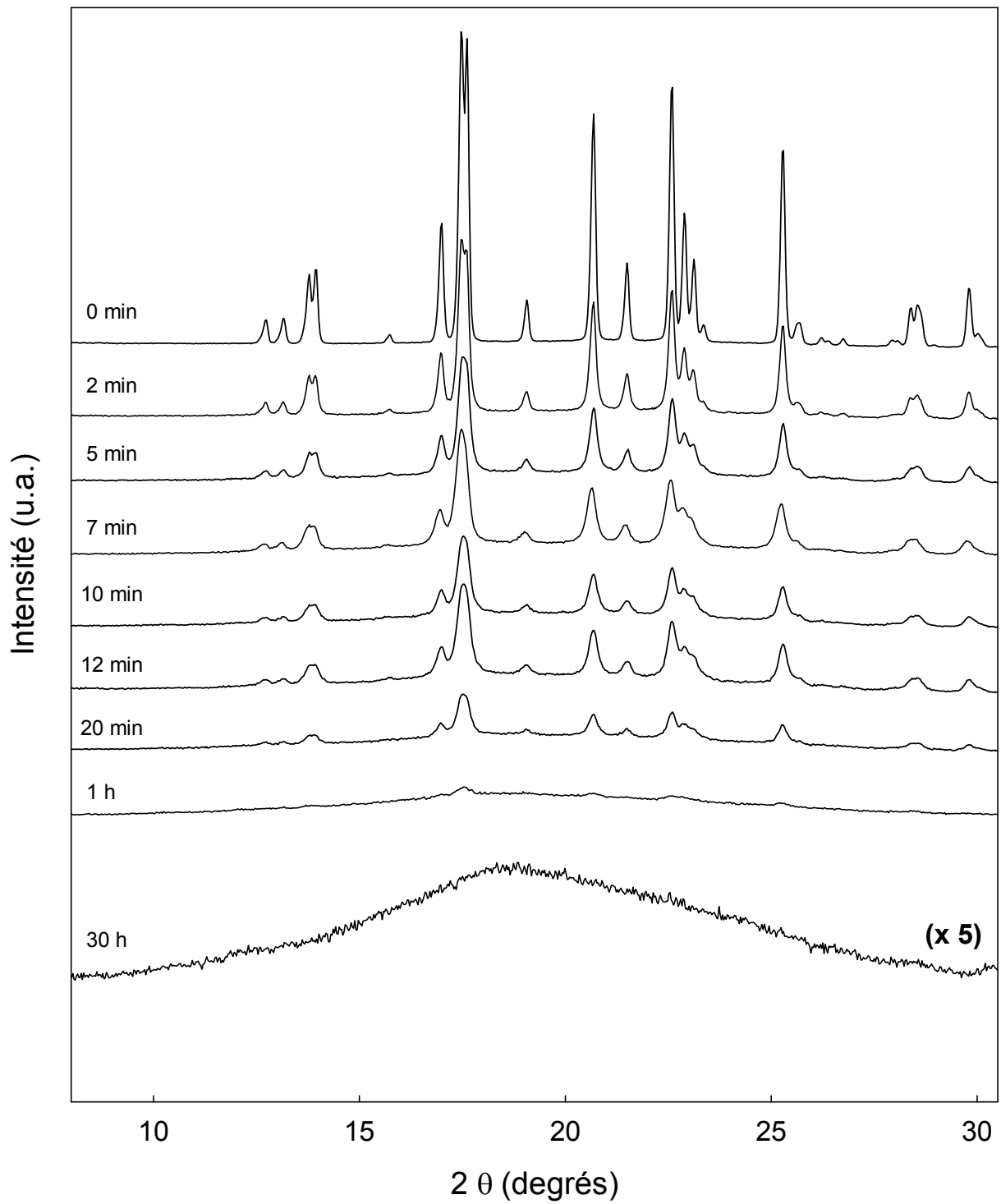


Fig. VIII. 3 :

Diagrammes de diffraction des rayons X du  $T_\beta$  pour différents temps de broyage

Le diffractogramme du  $T_\beta$  cristallin présente des pics de Bragg fins dont l'indexation est compatible avec le groupe d'espace  $P2_1$  déterminé par Jeffrey et al <sup>[7]</sup>. L'évolution des diffractogrammes montre que les raies de Bragg s'élargissent et que leur intensité diminue sous broyage. Parallèlement, un halo diffus se développe. Après 1 heure de broyage, les raies de Bragg ont quasiment disparu et sont très peu visibles. L'échantillon broyé 30 heures ne présente plus qu'un halo diffus représentatif d'une forte nanocristallisation ou d'un état amorphe.

L'analyse microstructurale des échantillons de  $T_\beta$  à partir des diffractogrammes a pu être réalisée pour des durées de broyage inférieures ou égales à 20 minutes. Au-delà de cette durée, les raies de Bragg ne sont plus suffisamment bien définies pour obtenir la convergence des affinements. La procédure utilisée pour extraire les données de tailles et de déformations des cristallites est la méthode de Le Bail <sup>[9]</sup> (cf. annexe C). Les données structurales nécessaires pour analyser les diffractogrammes sont fournies par la résolution de structure de Jeffrey et al <sup>[7]</sup>. Après quelques essais préliminaires, il ressort que le meilleur ajustement sur les diagrammes de DRX expérimentaux est obtenu pour un modèle fondé sur des tailles isotropes et des déformations anisotropes des cristallites. L'évolution du diamètre au cours du broyage est donnée sur la figure 4 ; celle des déformations au cours du broyage sur la figure 5. Le tableau 2 de l'annexe E donne les facteurs d'accord obtenus sur les affinements réalisés.

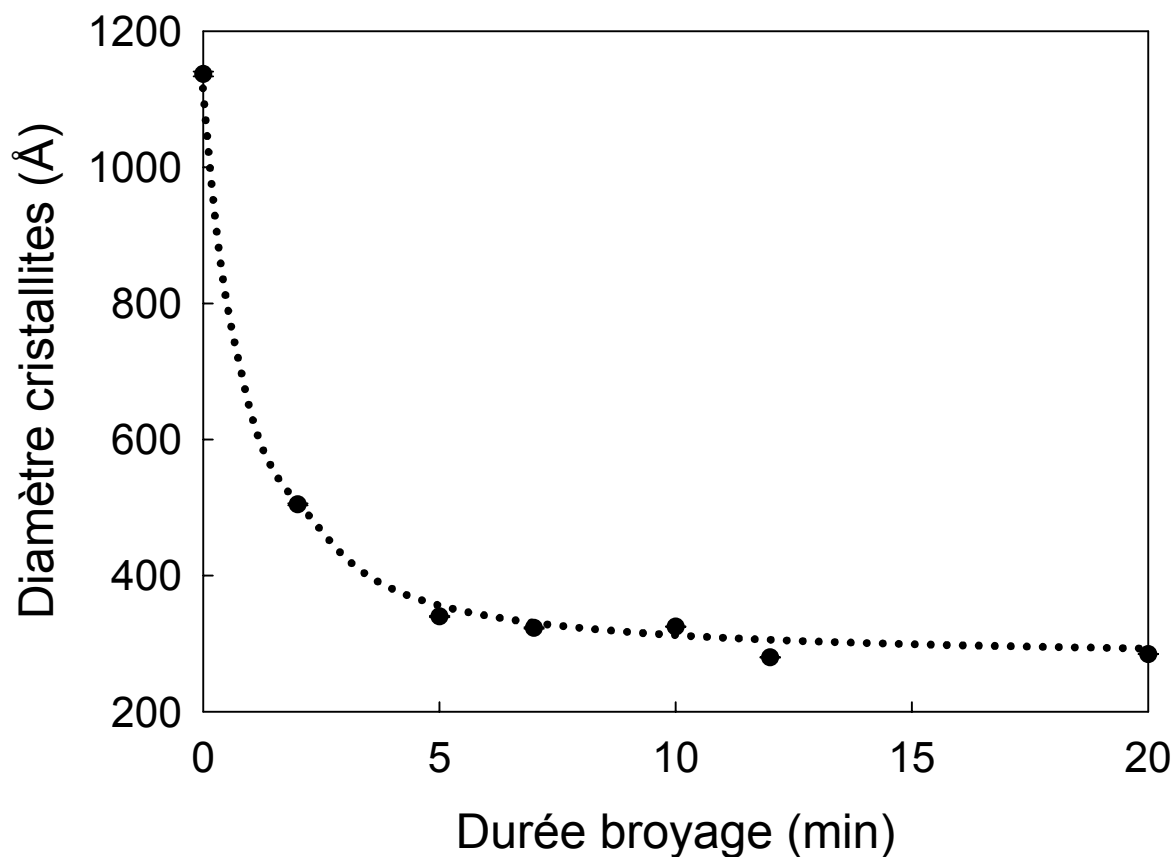


Figure VIII.4 :  
 Evolution du diamètre moyen des cristallites de  $T_{\beta}$  en fonction de la durée du broyage.  
 La courbe en pointillés est un guide pour l'œil

Le diamètre moyen des cristallites du  $T_{\beta}$  non broyé est de 1137 Å. Après 2 minutes de broyage, la valeur du diamètre initiale est divisée par plus de 2 (505 Å). Après 5 minutes de broyage, le diamètre n'évolue quasiment plus et atteint une valeur de 285 Å pour le tréhalose broyé 20 minutes.

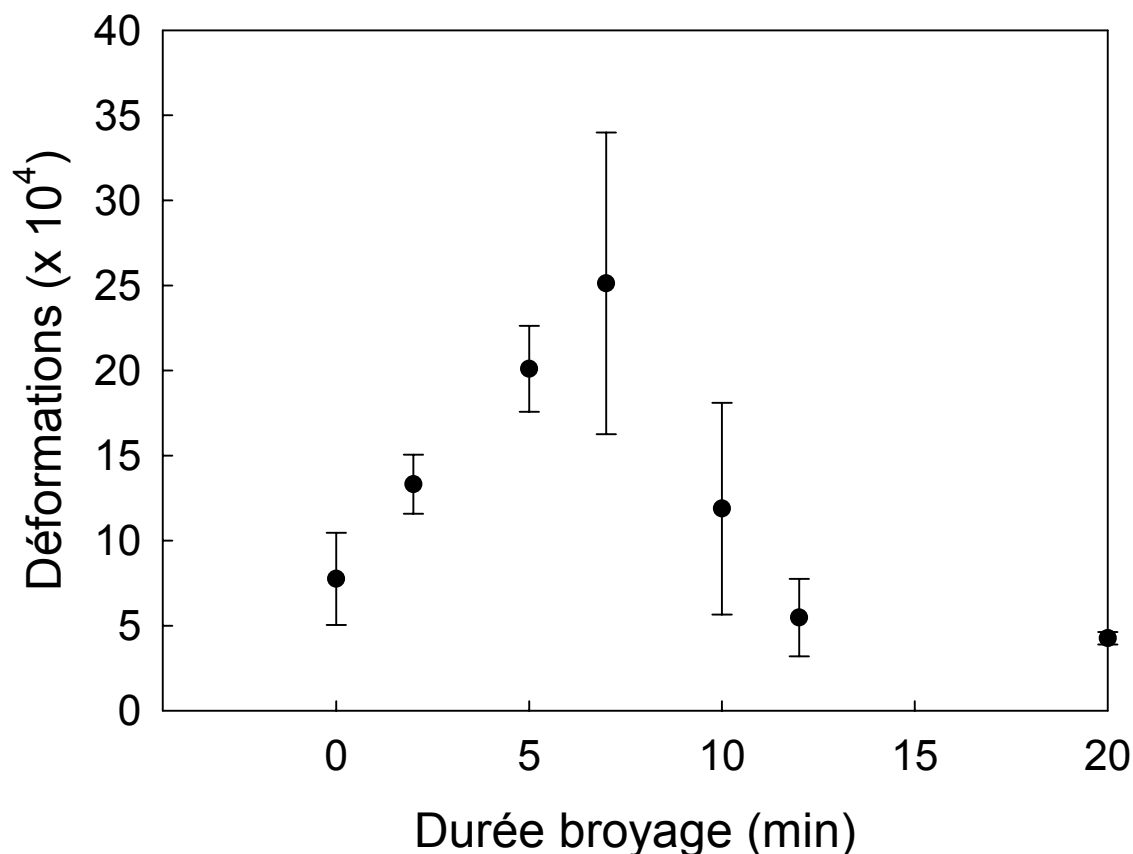


Fig. VIII.5 :

Evolution du niveau moyen des microdéformations au sein des cristallites de  $T_\beta$  en fonction la durée du broyage.

Les barres verticales représentent la déviation standard des valeurs moyennes, calculée à partir des résultats obtenus sur l'ensemble des directions cristallographiques. Elles reflètent le degrés d'anisotropie dans le système

L'évolution des déformations présente deux phases :

- Une augmentation linéaire du niveau moyen des déformations jusque 7 minutes de broyage. Cette évolution se déroule en parallèle avec la diminution de taille des cristallites.
- Une diminution soudaine de la valeur de ces déformations qui restent alors constantes. Cette stabilisation de l'évolution des déformations s'effectue parallèlement à la stabilisation de la taille des cristallites.

**A.3. Evolution thermodynamique du  $T_{\beta}$  cristallin sous broyage**

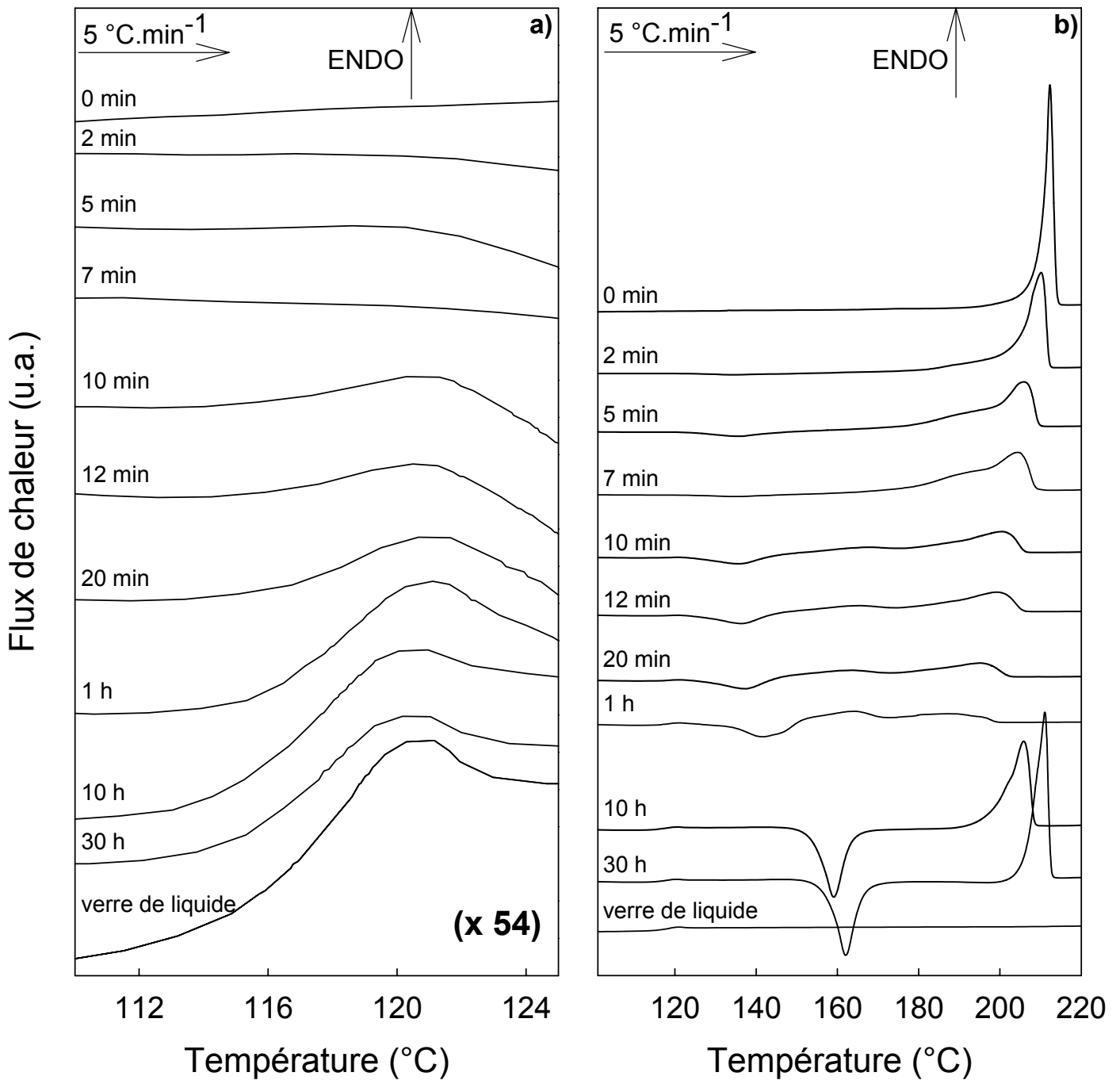


Fig. VIII. 6 :

Evolutions des thermogrammes (5 °C.min<sup>-1</sup>) du  $T_{\beta}$  en fonction de la durée du broyage.

- a) Zone de transition vitreuse. L'échelle est dilatée d'un facteur 54 par rapport à b).
- b) Zone montrant la recristallisation et la fusion des échantillons

La figure 6 montre l'évolution des thermogrammes ( $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) du  $T_{\beta}$  en fonction de la durée du broyage. La figure 6a représente un agrandissement de ces thermogrammes dans la zone de transition vitreuse. Pour comparaison, le thermogramme d'un échantillon de tréhalose vitreux préparé par fusion du cristal puis trempé du liquide est également représenté.

Les thermogrammes montrent une évolution continue et profonde des échantillons de  $T_{\beta}$  sur toute la durée du broyage. Les événements thermodynamiques recensés sont les suivants :

- Un saut de  $C_p$  caractéristique de la transition vitreuse qui est décelable dès 10 minutes de broyage. Ce saut de  $C_p$  se situe à une température fixe de  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$  en accord avec les travaux précédents <sup>[4, 8]</sup> et son amplitude augmente jusqu'à atteindre un maximum pour 10 heures de broyage. Cette amplitude est alors équivalente à celle du verre de liquide et indique que l'amorphisation du  $T_{\beta}$  par broyage est totale.
- Un exotherme de recristallisation qui est décelable dès 2 minutes de broyage. Sa position en température est de  $133.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  et son enthalpie est évaluée à  $3.3\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ . Cet exotherme se développe et se décale vers les hautes températures au cours du broyage. L'exotherme de l'échantillon broyé 30 heures est situé à  $162.1\text{ }^{\circ}\text{C}$  et son enthalpie est estimée à  $79.2\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ . Cette recristallisation traduit l'amorphisation progressive du tréhalose au fur et à mesure du broyage. Par contre, l'échantillon vitreux préparé par trempé de la phase liquide ne présente pas de cristallisation. La zone de recristallisation observée au réchauffage d'échantillons amorphes correspond au domaine de températures où la vitesse de croissance des cristallites est maximale. L'absence de recristallisation du liquide trempé est donc liée à une absence de nuclei dans cet échantillon. Pour les échantillons broyés dont l'enthalpie de cristallisation ( $\Delta H_{\text{CR}}(T_{\text{CR}})$ ) est inférieure à l'enthalpie de fusion à la température de cristallisation ( $\Delta H_{\text{f}}(T_{\text{CR}})$ ), la présence de cristallites est manifeste. Cependant, même lorsque  $\Delta H_{\text{CR}}(T_{\text{CR}}) = \Delta H_{\text{f}}(T_{\text{CR}})$ , la recristallisation persiste. Cela indique qu'il reste des germes cristallins



indéetectables par DRX qui se manifestent au réchauffage par une recristallisation effective de ces échantillons.

- Un endotherme caractéristique de la fusion des échantillons. L'évolution de cet endotherme peut se décrire en deux étapes. La première étape concerne les broyages de durée inférieure ou égale à 1 heure. On note que la température de fusion diminue avec l'augmentation du temps de broyage. L'endotherme de fusion s'étale et devient imperceptible à partir de 20 minutes de broyage. La deuxième étape concerne les échantillons broyés 10 et 30 heures. Le pic de fusion est de nouveau plus fin et se décale vers les hautes températures avec la durée du broyage. L'enthalpie de fusion du tréhalose broyé 30 heures ( $113.6 \text{ J.g}^{-1}$ ) est inférieure de 10 % environ à celle du composé cristallin ( $126.3 \text{ J.g}^{-1}$ ). Cependant, contrairement au lactose, l'échantillon recristallise vers la phase de départ. Ce résultat est en contradiction apparente avec l'amplitude du saut de  $C_p$  qui indique que les échantillons sont totalement amorphes dès 10 heures de broyage. Plusieurs raisons peuvent expliquer ces différences. Premièrement, il a été montré au cours de la thèse d'Armelle De Gussemé qu'une vitesse de chauffage de  $5 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$  pouvait ne pas permettre aux échantillons de tréhalose amorphisés par broyage de recristalliser totalement <sup>[4]</sup>. Deuxièmement, les échantillons broyés étant fortement hygroscopiques, une certaine quantité d'eau a pu être adsorbée à la surface des grains de la poudre et entraîner une erreur sur la masse réelle des échantillons.

Les quantifications des événements thermodynamiques décrits précédemment sont compilées dans le tableau 2. Le chevauchement des phénomènes thermodynamiques aux temps de broyages inférieurs ou égaux à 1 heure rend difficile l'estimation des enthalpies de cristallisation et de fusion.

Durée broyage	T <sub>cr</sub> (°C)	ΔH <sub>cr</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	T <sub>f</sub> (°C)	ΔH <sub>f</sub> (J.g <sup>-1</sup> )
0 min	-	-	212.3	126.30
2 min	133.5	3.32	210.2	122.30
5 min	136.0	8.76	205.9	104.80
7 min	134.8	4.59	204.5	104.50
10 min	136.1	12.28	200.7	46.39
12 min	136.6	14.90	193.9	44.51
20 min	137.5	16.45	195.8	29.82
1 h	141.8	30.03	189.5	17.84
10 h	159.1	75.49	205.9	97.00
30 h	162.1	79.24	211.1	113.60

Tableau VIII.2 :  
Caractéristiques thermodynamiques des échantillons de T<sub>β</sub> broyés

#### A.4. Comparaison αL<sub>S</sub> / T<sub>β</sub>

Les évolutions structurales et thermodynamiques des échantillons de T<sub>β</sub> et de αL<sub>S</sub> (cf. chapitre VI) en fonction de la durée du broyage présentent de grandes similarités. On note une diminution rapide de l'intensité des raies de Bragg des diagrammes de diffraction X pour conduire à un halo diffus caractéristique d'un matériau amorphe. Les analyses microstructurales réalisées aux courts temps de broyage sur le T<sub>β</sub> et sur le αL<sub>S</sub> (cf. chapitre VI) révèlent une évolution identique. On note en particulier une diminution très rapide de la taille des cristallites au début du broyage traduisant la forte sensibilité de ces composés aux impacts des billes. Dans le même temps, les déformations augmentent linéairement en fonction de la durée du broyage. Lorsque le diamètre des cristallites n'évolue plus, l'intensité des déformations baisse brutalement pour ensuite rester constante.

De même, les thermogrammes révèlent un comportement complexe identique pour les deux composés. L'endotherme de fusion se décale vers les basses températures pour les premiers temps de broyage et s'étale fortement pour des durées intermédiaires. Des temps de broyages plus longs ont pour conséquence l'apparition d'un endotherme de fusion à nouveau bien défini.

Ces similitudes de comportements microstructural et thermodynamique suggèrent que le broyage a les mêmes effets sur ces deux isomères. Les résultats obtenus sur le lactose sont vraisemblablement dus à l'introduction de défauts au sein de la structure cristalline de ce composé lors des impacts des billes. Les aspects des diagrammes DX et DSC du tréhalose conduisent à la même hypothèse que pour le lactose. Il conviendrait cependant d'observer directement ces défauts pour confirmer cette hypothèse. A cette fin, la microscopie électronique en transmission (MET) est la méthode la mieux adaptée. La principale difficulté pour appliquer cette technique aux composés pharmaceutiques étudiés réside dans le fait que les molécules ne supportent pas le faisceau d'électrons et se dégradent avant d'obtenir des clichés de MET exploitables.

## **B. Le mannitol**

Le mannitol est un polyol que l'on trouve dans les fruits de mer, les algues marines, l'herbe, les fruits et les champignons <sup>[10]</sup>. Son nom vient de sa présence dans un exsudat de la fleur du frêne (*Fraxinus ornus*) d'Europe du sud où son goût sucré rappelle la manne de la Bible <sup>[10]</sup>.

Dans le domaine pharmaceutique, le mannitol est utilisé à la fois comme principe actif et comme excipient <sup>[11, 12]</sup>.

Ses utilisations comme principe actif sont multiples. On l'administre principalement par voie intraveineuse. Il permet de traiter des patients souffrant d'insuffisance rénale oligurique (l'oligurie est une raréfaction du volume des urines). Il est prescrit pour le traitement de l'hypertension intracrânienne et intraoculaire. Il peut être utilisé également comme diurétique osmotique... Une autre de ses indications thérapeutiques est liée à sa capacité à « ouvrir » la barrière hémato-encéphalique. Cette propriété est utilisée afin de permettre à d'autres substances actives d'entrer directement en contact avec le cerveau (traitement de certains cancers, de la maladie d'Alzheimer...)

Il est fréquemment employé comme excipient dans les formulations pharmaceutiques, notamment pour les tablettes et les poudres à usage oral. Son excellente stabilité chimique et sa faible hygroscopicité permettent de l'utiliser pour protéger des

principes actifs particulièrement sensibles à l'humidité <sup>[13]</sup>. Enfin, ses propriétés cryoprotectrices en font un excellent support de lyophilisation.

Dans le domaine agroalimentaire, le mannitol est principalement employé comme édulcorant <sup>[11, 12]</sup>.

Son pouvoir sucrant équivaut à 0.7 fois celui du sucre de table (saccharose) et il possède une saveur douce sans arrière goût. Comme la plupart des polyols, il est moins cariogène que le sucre ordinaire. Son faible apport calorique le rend adapté à certains régimes. Comme il est converti en glycogène sans trop élever la glycémie (quantité de sucre dans le sang), il est également compatible avec l'alimentation des diabétiques <sup>[10]</sup>. Parce qu'il est le moins soluble et le moins hygroscopique des polyols, il est utilisé comme agent de saupoudrage pour les chewing-gum ou comme phase cristalline dans les pâtes à mâcher sans sucre. C'est également l'édulcorant utilisé pour les bonbons rafraîchissant l'haleine : sa dissolution endothermique entraîne une sensation de fraîcheur dans la bouche <sup>[13]</sup>. Il procure également une meilleure structure à certains produits alimentaires et prévient leur dessèchement.

Cette section est décomposée en deux parties. La première partie présente les propriétés chimiques et physiques du mannitol. La seconde partie est consacrée à l'étude du comportement du mannitol  $\beta$  ( $M_\beta$ ) et du mannitol  $\delta$  ( $M_\delta$ ) sous broyage.

### B.1. Caractéristiques et polymorphisme du mannitol

Le mannitol ou 1,2,3,4,5,6-hexanehexol est un polyol acyclique de formule brute  $C_6H_{14}O_6$ . Sa masse molaire est de  $182.2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . En solution, le mannitol a tendance à perdre un ion hydrogène, ce qui rend les solutions acides. La formule développée du mannitol est présentée ci-dessous :

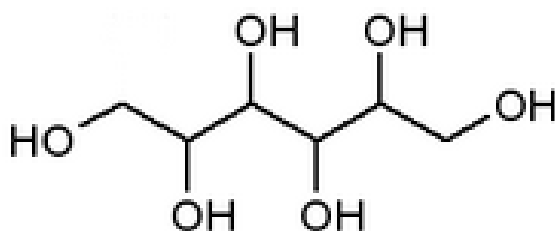


Figure VIII.7:

Formule développée de la molécule de mannitol



La littérature est assez confuse au sujet des différents polymorphes du mannitol. Pas moins de 8 polymorphes différents ont été répertoriés ; une même forme polymorphique pouvant avoir plusieurs appellations. Cependant, selon plusieurs auteurs <sup>[13-16]</sup>, seuls 3 polymorphes existeraient réellement :

- Le mannitol  $\beta$  ( $M_\beta$ ). C'est le polymorphe stable qui est disponible commercialement. Il est obtenu facilement par recristallisation du mannitol dans une solution d'éthanol aqueuse. La structure a été résolue par diffraction des rayons X sur monocristal <sup>[10]</sup>. Le groupe d'espace est  $P2_12_12_1$  avec 4 molécules par maille.
- Le mannitol  $\alpha$  ( $M_\alpha$ ). Il peut être obtenu par évaporation lente d'une solution aqueuse de mannitol et d'acide borique dans du méthanol. La structure a été résolue par diffraction des rayons X sur monocristaux par Kim et al <sup>[17]</sup>. Ces

auteurs appellent cette phase la forme K. Le groupe d'espace est également  $P2_12_12_1$  et la maille comprend 4 molécules.

- Le mannitol  $\delta$  ( $M_\delta$ ). Celui-ci est produit par recristallisation d'une solution aqueuse diluée d'acétone maintenue à une température inférieure à 0 °C (sinon des impuretés de  $M_\beta$  apparaissent) <sup>[13]</sup>. La structure a été résolue récemment par diffraction des rayons X sur poudre <sup>[18]</sup>. Le groupe d'espace est  $P2_1$  et il y a 1 molécule par maille. L'analyse structurale a révélé que le réseau de liaisons hydrogène de cette phase diffère significativement de celui des deux autres polymorphes.

Les autres formes de mannitol répertoriées seraient des mélanges de ces 3 polymorphes.

Le tableau 3 recense les principales caractéristiques structurales du  $M_\beta$ , du  $M_\alpha$  et du  $M_\delta$ .

Caractéristiques	$M_\beta$ <sup>[10]</sup>	$M_\alpha$ <sup>[17]</sup>	$M_\delta$ <sup>[18]</sup>
Groupe d'espace	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$	$P2_1$
a (Å)	8.672	8.942	5.08941
b (Å)	16.875	18.798	18.2504
c (Å)	5.560	4.893	4.91702
$\alpha$ (°)	90	90	90
$\beta$ (°)	90	90	118.303
$\gamma$ (°)	90	90	90
V (Å <sup>3</sup> )	813.65	822.47	402.103
Molécules/maille	4	4	1

Tableau VIII.3 :  
Caractéristiques structurales du  $M_\beta$ , du  $M_\alpha$ , et du  $M_\delta$

La figure 8 présente les diagrammes de diffraction X sur poudre et les thermogrammes (5 °C.min<sup>-1</sup>) des trois polymorphes du mannitol.

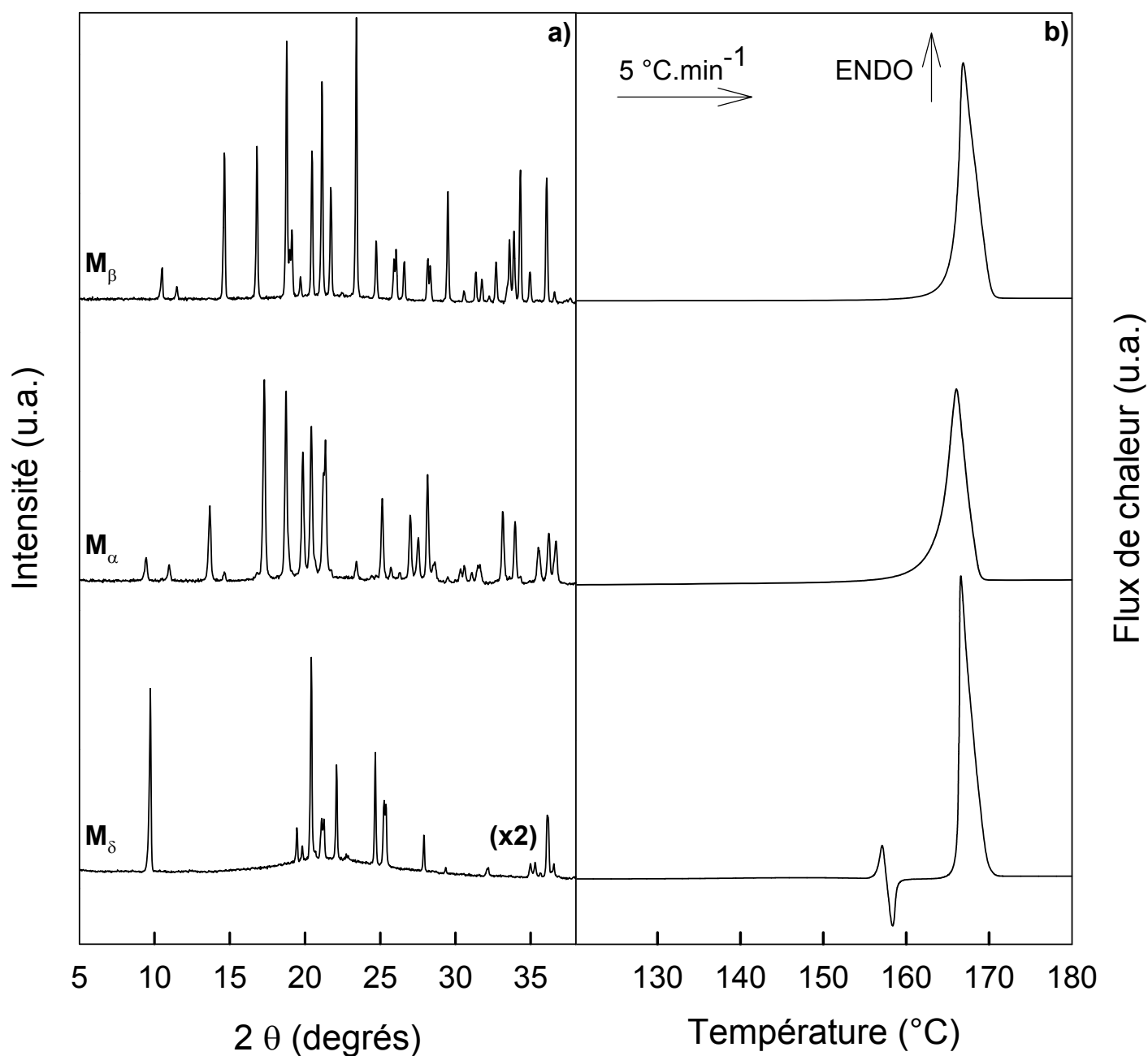


Fig. VIII.8 :

- a) Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre enregistrés à température ambiante des polymorphes du mannitol.  
 b) Thermogrammes enregistrés au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) des polymorphes du mannitol.

$M_{\beta}$  : Mannitol beta  
 $M_{\alpha}$  : Mannitol alpha  
 $M_{\delta}$  : Mannitol delta

Les enregistrements de DRX ont été réalisés sur des capillaires de Lindemann de 0.7 mm de diamètre sauf pour le  $M_{\delta}$  (0.5mm)

Le petit endotherme suivi d'un petit exotherme sur le thermogramme du  $M_\delta$  serait dû à une conversion du mannitol delta en  $M_\beta$  ou en  $M_\alpha$  ou en un mélange de formes  $\beta$  et  $\alpha$  <sup>[14]</sup>. Le mannitol est thermiquement stable et ne se dégrade pas lors de la fusion. Le mannitol liquide cristallise très facilement au refroidissement. Il est donc très difficile d'obtenir le verre par trempe du liquide. Cela nécessite de plonger l'échantillon directement dans l'azote liquide. Il est également possible de perturber la cristallisation avec des impuretés. Yu et al <sup>[16]</sup> tirent astucieusement parti de ce résultat pour déterminer la température de transition vitreuse du mannitol à partir de mélange mannitol/sorbitol de différentes concentrations. La transition vitreuse du mannitol pur est estimée à 12.6 °C par extrapolation des résultats expérimentaux.

Les thermogrammes de la figure 8 permettent d'estimer les températures de fusion des trois polymorphes cristallins du mannitol :

- $T_f(M_\delta) = 157.1 \text{ °C}$
- $T_f(M_\alpha) = 166.4 \text{ °C}$
- $T_f(M_\beta) = 166.8 \text{ °C}$

L'analyse calorimétrique des trois formes polymorphiques du mannitol a été réalisée précédemment par Burger et al <sup>[14]</sup>. Nos résultats de DSC confirment totalement leur analyse. En particulier, les températures de fusion des trois polymorphes sont dans le même ordre ( $T_f(M_\delta) < T_f(M_\alpha) < T_f(M_\beta)$ ).

Cela suggère que la phase  $\delta$  est la moins stable immédiatement en dessous de la fusion. Burger et al proposent un diagramme de stabilité relative des trois phases qui est reproduit partiellement sur la figure 9.



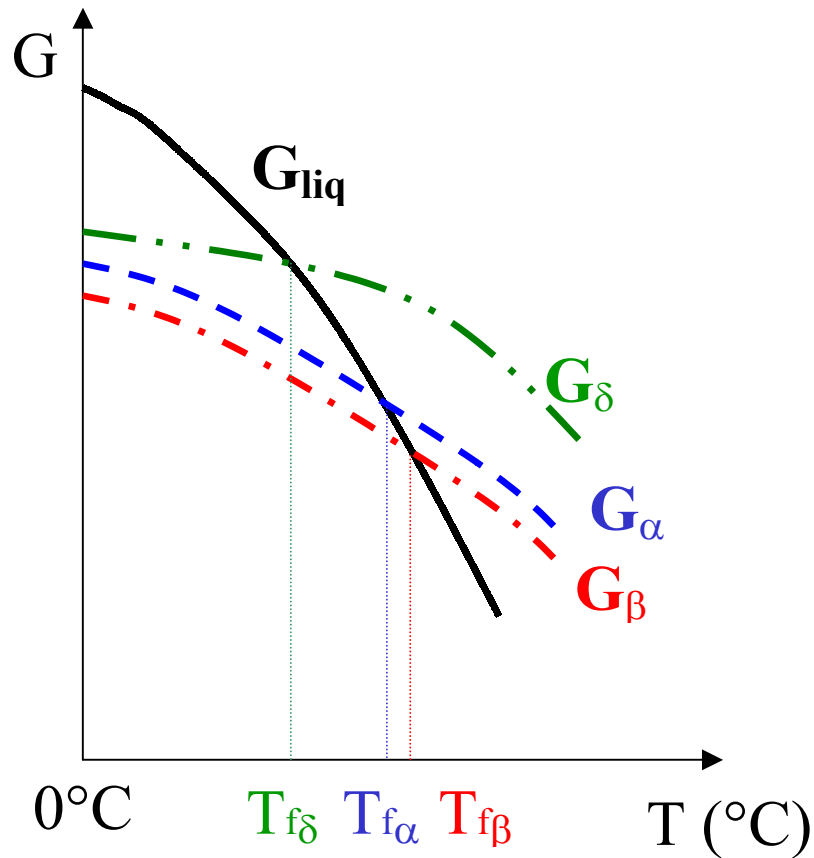


Fig. VIII.9:

Diagramme schématisé enthalpie libre/température inspiré par Burger et al <sup>[14]</sup>.

Ce diagramme montre les stabilités relatives des différentes formes du mannitol aux températures supérieures à 0 °C.

On remarque clairement sur ce diagramme de stabilité relative, dans la gamme de températures représentée, que la phase  $\delta$  est la moins stable, la phase  $\beta$  est la plus stable et la phase  $\alpha$  est de stabilité intermédiaire entre les deux autres formes cristallines.

## B.2. Transformation polymorphique sous broyage du $M_\beta$

La figure 10 présente l'évolution des diagrammes de diffraction X sur poudre du mannitol  $\beta$  soumis à des broyages mécaniques de durée comprise entre 0 et 10 heures.

Les diagrammes des échantillons broyés pour des durées comprises entre 0 et 40 minutes montrent une diminution de l'intensité des raies et un élargissement de celles-ci. Seules les raies de Bragg caractéristiques de la forme  $\beta$  sont observées.

Par contre, à partir de 1 heure de broyage, de nouvelles raies de Bragg se développent. Elles sont compatibles avec le groupe d'espace du polymorphe métastable  $\alpha$ . L'évolution des diagrammes pour les temps de broyage supérieurs à 1 heure montre une augmentation progressive de l'intensité des raies de Bragg spécifiques du  $M_\alpha$  au détriment des pics propres au  $M_\beta$ . Après 10 heures de broyage, les raies du  $M_\beta$  ont presque totalement disparu et le diffractogramme est alors typique du  $M_\alpha$  pratiquement pur. Au cours du vieillissement isotherme à température ambiante d'un échantillon de  $M_\alpha$  (obtenu par broyage du  $M_\beta$ ), présenté sur la figure 11, on observe clairement une conversion inverse lente de la forme métastable  $\alpha$  vers la forme stable  $\beta$ . Les traces de phase  $\beta$  qui subsistent après 10 heures de broyage sur la figure 10 résultent probablement de cet effet. On peut penser que l'échantillon est totalement converti en  $M_\alpha$  après 10 heures de broyage mais se retransforme partiellement en  $M_\beta$  au cours de la manipulation du composé (récupération du produit dans la jarre, remplissage du capillaire, installation sur le diffractomètre...) qui précède l'enregistrement du diffractogramme et au cours de l'enregistrement lui-même (durée 1 heure).

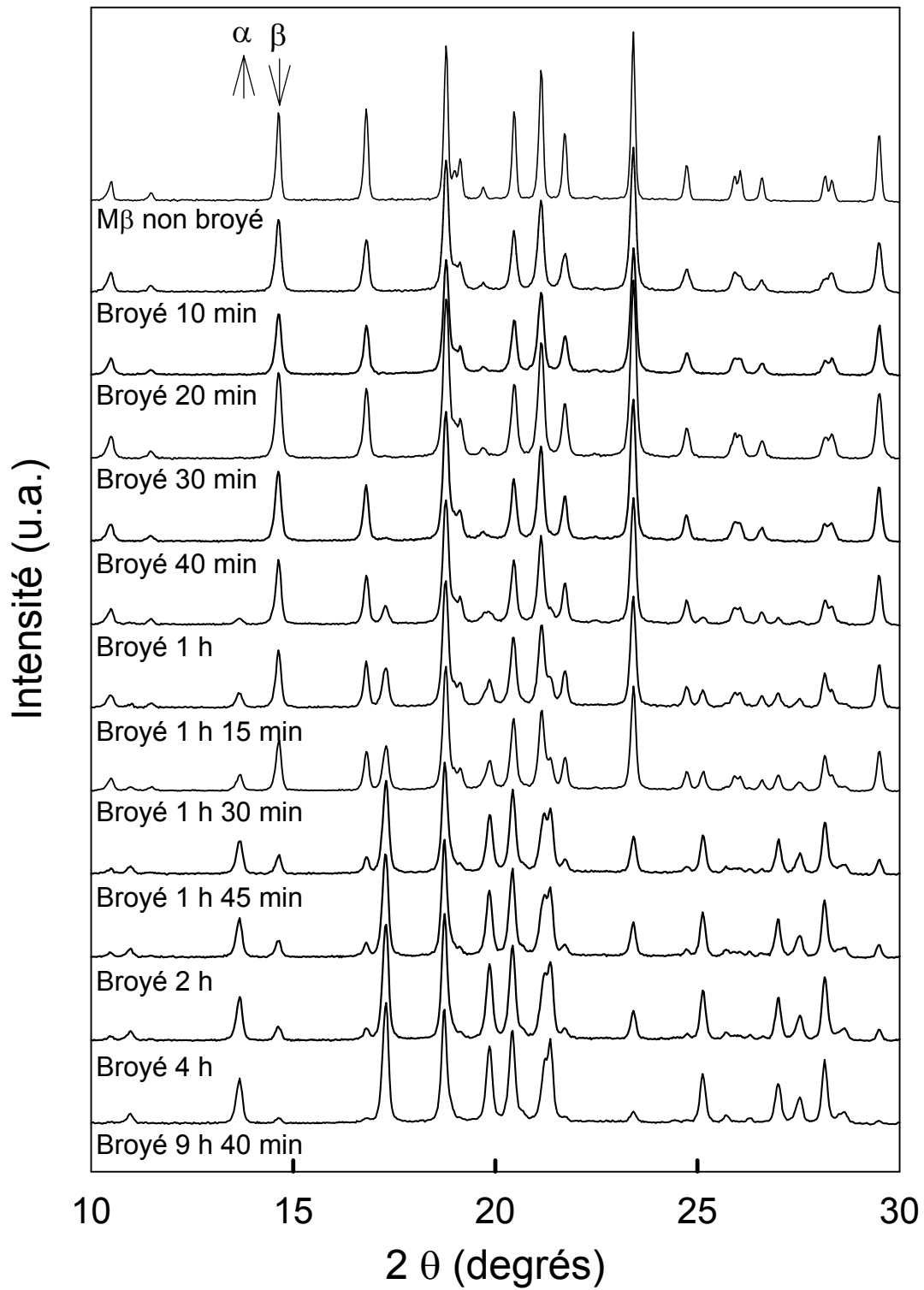


Fig. VIII.10 :  
Transformation sous broyage du mannitol  $\beta$  suivie par diffraction des rayons X pour des durées de broyage comprises entre 0 et 9 h 40 min

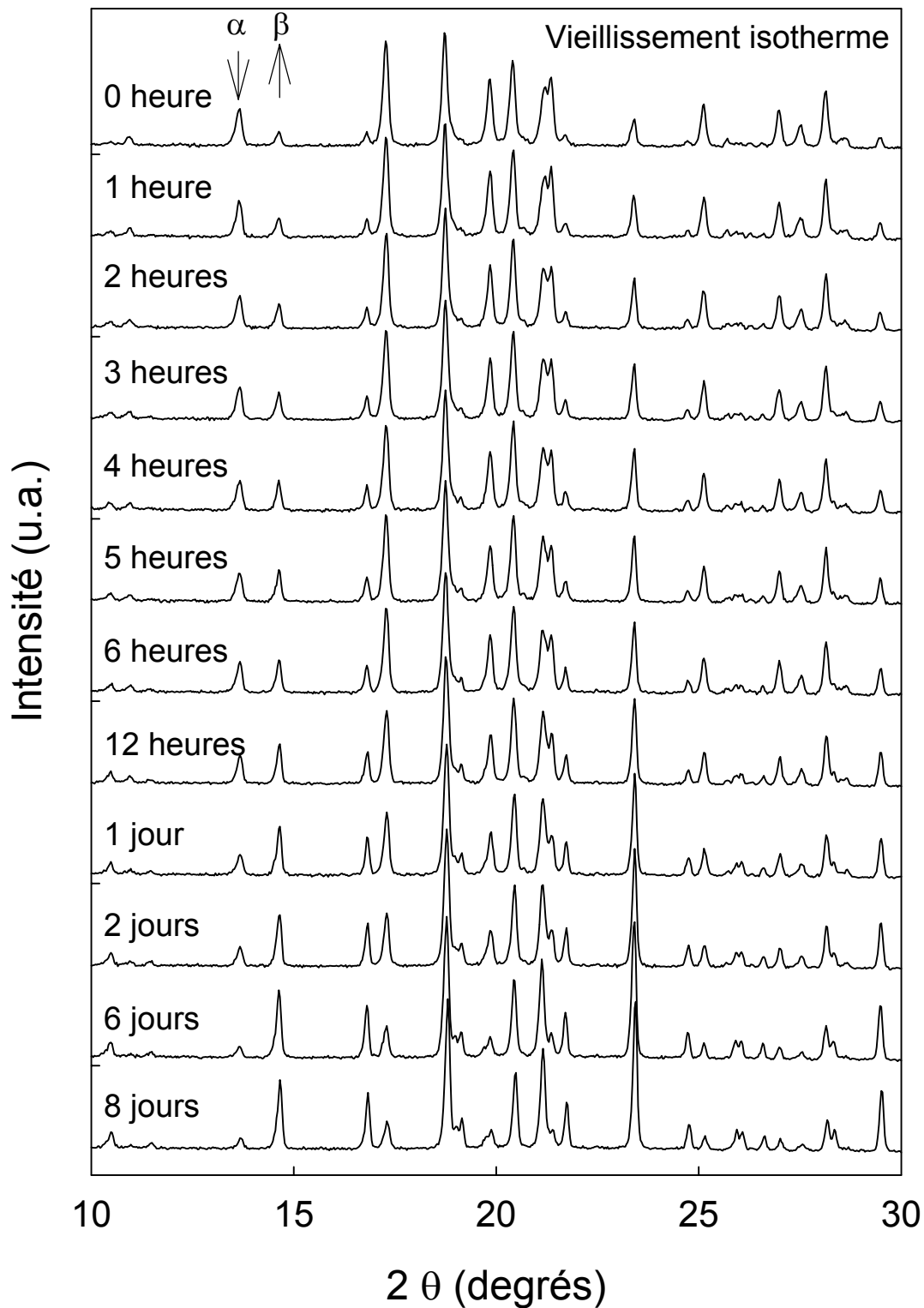


Fig VIII.11 :  
 Vieillissement isotherme (température ambiante) du  $M_\alpha$  suivi par diffraction des rayons X.  
 Le mannitol  $\alpha$  a été obtenu en broyant du mannitol  $\beta$  pendant 14 heures

Contrairement au broyage du  $\alpha L_S$  et du  $T_\beta$ , aucun halo diffus caractéristique d'un matériau amorphe n'est observé. Le broyage à température ambiante (supérieure à la température de transition vitreuse du mannitol amorphe) du mannitol  $\beta$  entraîne donc une transformation polymorphique totale vers la forme  $\alpha$ .

L'analyse des diffractogrammes par la méthode de Rietveld <sup>[19, 20]</sup> a permis d'obtenir les évolutions temporelles des fractions de  $M_\beta$  et de  $M_\alpha$ , c'est-à-dire la cinétique de conversion  $M_\beta \rightarrow M_\alpha$  sous broyage. Pour que les affinements convergent, il a été nécessaire de bloquer les paramètres modélisant les élargissement des raies. Les facteurs d'accords sont donnés dans le tableau 3 de l'annexe E.

La figure 12 présente la cinétique de conversion  $M_\beta \rightarrow M_\alpha$  sous broyage.

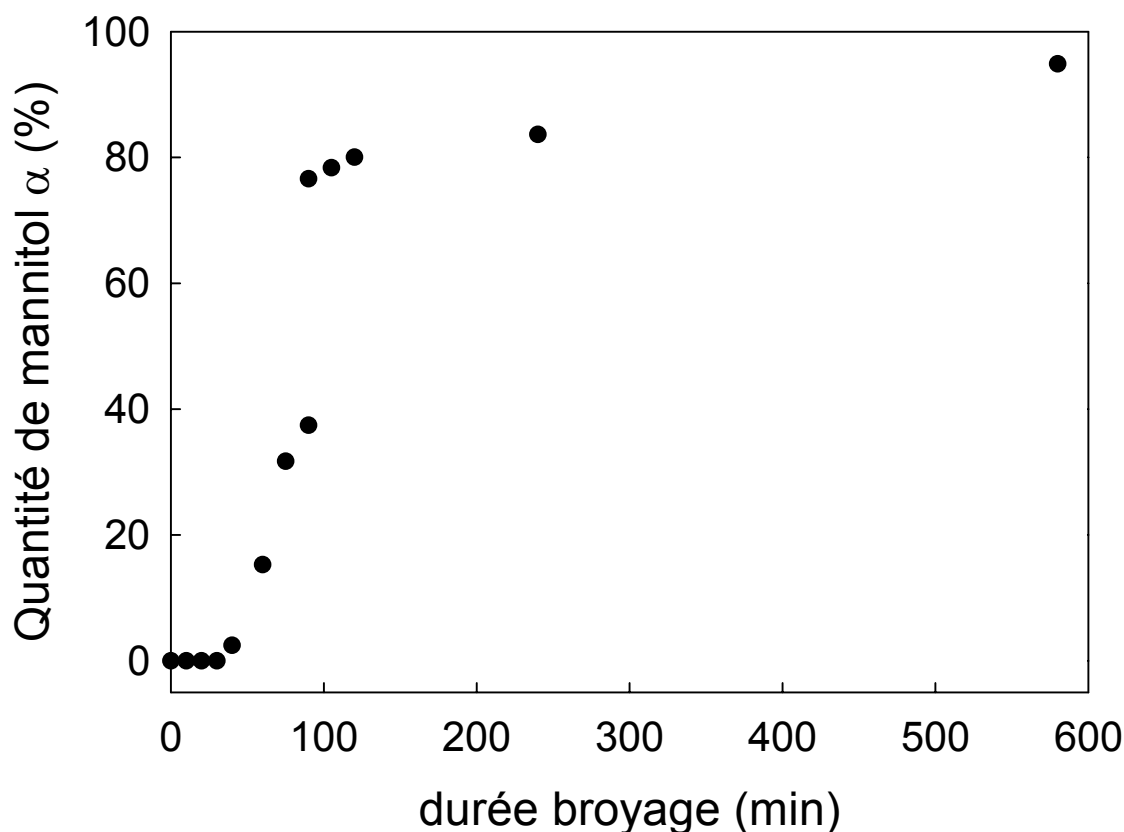


Fig. VIII. 12 :

Evolution de la quantité de mannitol  $\alpha$  en fonction de la durée du broyage au sein des échantillons constitués initialement de mannitol  $\beta$  pur. Ces informations ont été extraites des diffractogrammes de la figure VIII.10

Cette figure montre clairement qu'après un temps d'induction de 40 minutes environ, la transformation est assez rapide. Après ce temps d'induction, la conversion est quasiment complète après 1h30 de broyage.

Le diamètre moyen des cristallites des 2 polymorphes du mannitol en fonction de la durée du broyage est présenté sur la figure 13. Ces informations ont été extraites des diffractogrammes de la figure 10 par la méthode de Le Bail <sup>[9]</sup> en libérant les paramètres modélisant l'élargissement des raies. Les facteurs d'accord sont disponibles dans le tableau 4 de l'annexe E.

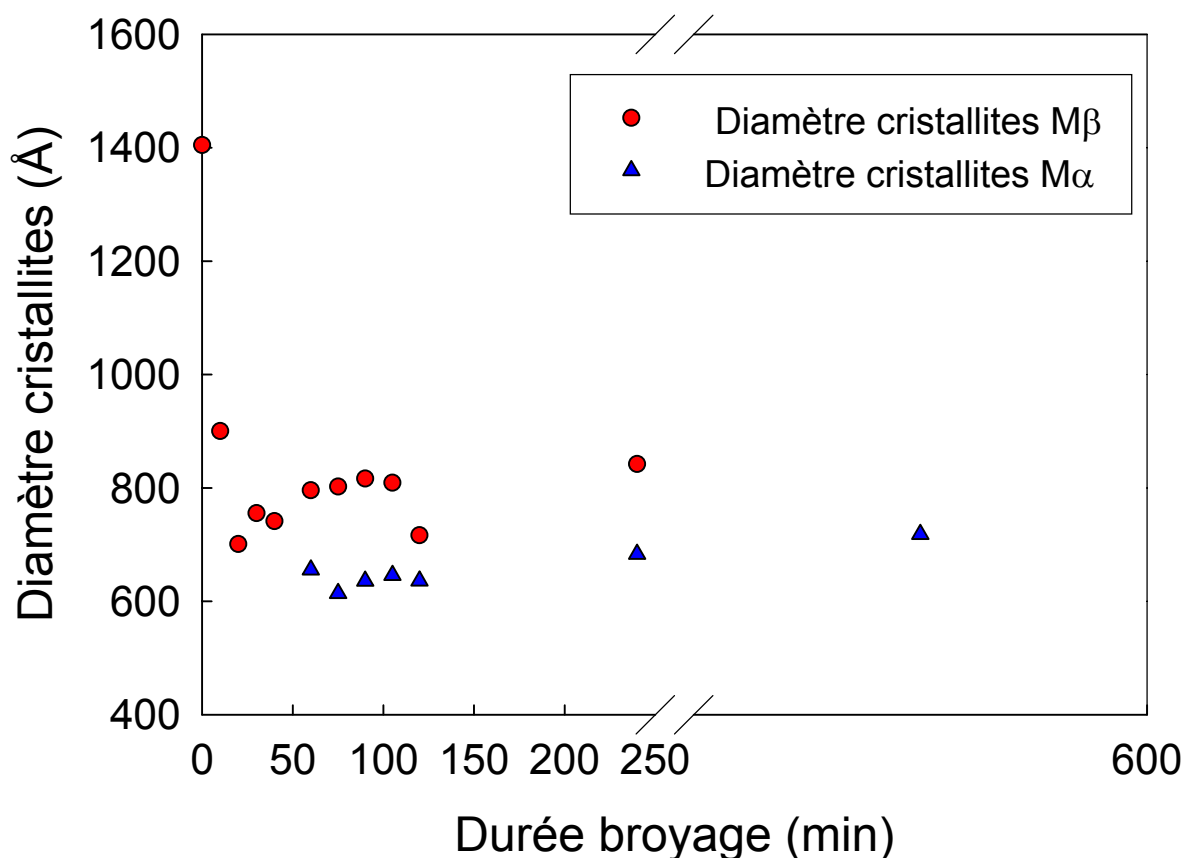


Fig. VIII.13 :

Diamètre moyen des cristallites de M $\beta$  et de M $\alpha$  dans les échantillons de mannitol broyés. Ces données ont été extraites des diagrammes de diffraction X de la figure VIII.10

Le diamètre des cristallites de  $M_{\beta}$  est de 1404 Å pour le composé non broyé. Au bout de 30 minutes de broyage, la taille des cristallites n'évolue plus. Elle est de 842 Å pour l'échantillon broyé 4 heures. La diminution de taille des cristallites de  $M_{\beta}$  explique l'élargissement des raies de cette phase au cours du broyage.

Le diamètre moyen des cristallites de  $M_{\alpha}$  est de 633 Å. Du début de l'apparition de cette phase après 30 minutes de broyage jusque 9 h 40 min, le diamètre reste globalement constant. Une très légère augmentation de la taille moyenne des cristallites est cependant observable au cours du broyage.

### **B.3. Transformation polymorphique du mannitol $\delta$ sous broyage**

La figure 14 présente les diagrammes de diffraction des rayons X du mannitol  $\delta$  cristallin non broyé, du mannitol  $\delta$  broyé 52 heures et vieilli 5 heures, et du mannitol  $\delta$  broyé 52 heures et vieilli 17 heures.

On constate que le mannitol  $\delta$  subit, comme le mannitol  $\beta$ , une transformation polymorphique sous broyage vers la forme métastable  $\alpha$ . Cependant, cette forme métastable  $\alpha$  se transforme, après arrêt du broyage, assez rapidement vers la phase stable  $\beta$ . Cela est révélé par les deux diagrammes de diffraction des rayons X enregistrés 5 heures et 17 heures après la cessation du broyage.

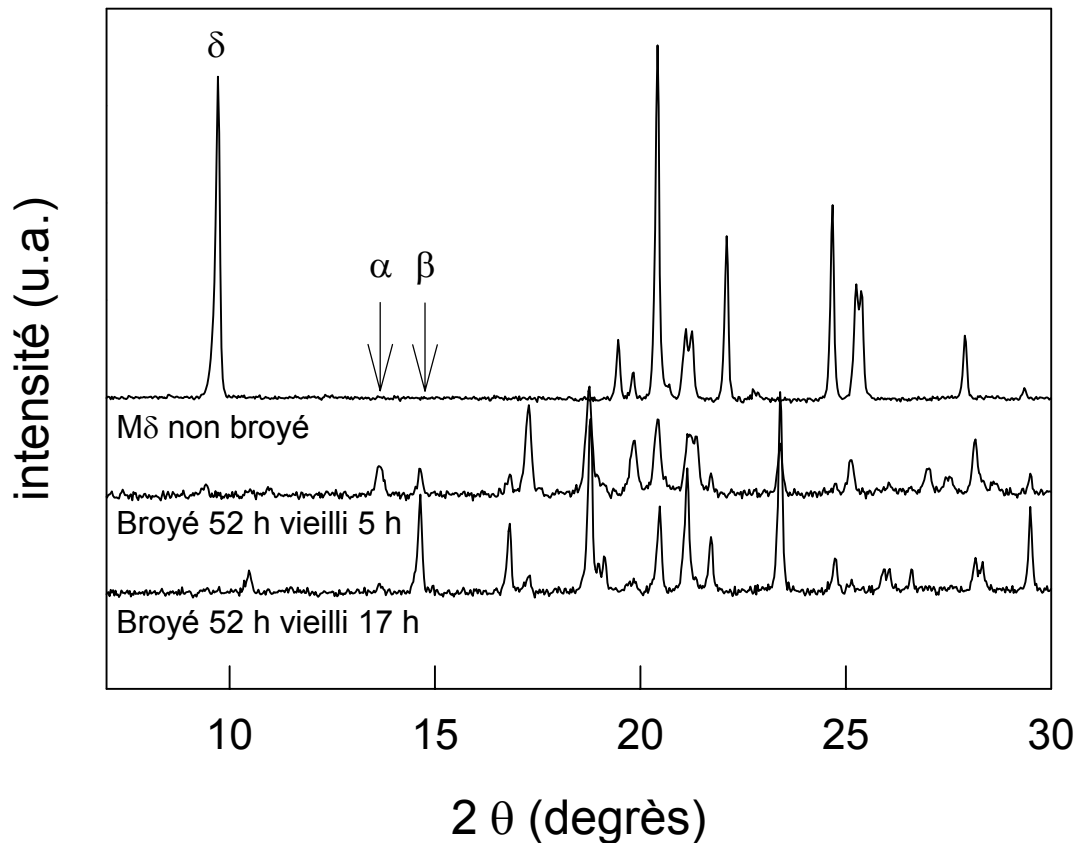


Fig. VIII.14 :  
 Diagrammes de diffraction des rayons X du mannitol  $\delta$ :  
 a) Non broyé  
 b) Broyé 52 heures puis vieilli 5 heures  
 c) Broyé 52 heures puis vieilli 17 heures

On constate que, dans les deux cas (broyage du mannitol  $\beta$  et broyage du mannitol  $\delta$ ), la forme métastable  $\alpha$  obtenue sous broyage se transforme lentement à température ambiante vers la forme cristalline stable  $\beta$ . Ces résultats révèlent donc que le broyage, réalisé avec les mêmes paramètres (intensité et température), de deux états physiques différents conduit à un état stationnaire qui est indépendant de l'état physique initial du matériau. Il est assez extraordinaire de constater qu'aussi bien le broyage de la forme la plus stable ( $\beta$ ) que celui de la forme la moins stable ( $\delta$ ) conduisent vers la forme de stabilité intermédiaire ( $\alpha$ ).



### **C. Conclusion-interprétation des résultats dans le cadre de la théorie des alliages forcés**

Dans ce chapitre, l'évolution sous broyage de deux composés différents, le tréhalose et le mannitol, a été étudiée.

Sous broyage à température ambiante, le tréhalose ( $T_g = 120\text{ °C}$ ) subit une transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre à l'état solide <sup>[8]</sup>. Les évolutions structurales, microstructurales et thermodynamiques sous broyage sont en tout point analogues à celles du lactose présentées aux chapitres IV et VI. Le tréhalose amorphe obtenu par broyage semble stable à température ambiante.

Nos investigations montrent que, sous broyage à température ambiante, les formes polymorphiques  $\beta$  et  $\delta$  du mannitol subissent toutes les deux une transformation polymorphique vers la forme métastable  $\alpha$ . La variété polymorphique  $\alpha$  obtenue sous broyage se transforme (au moins partiellement) vers la forme  $\beta$  lorsque l'opération de broyage est stoppée.

*Une approche en terme de matériaux forcés* <sup>[21, 22]</sup> permet de rendre compte de l'amorphisation d'un *composé pur*. Selon cette approche, l'état sous broyage d'un composé résulterait de la compétition entre deux phénomènes simultanés et antagonistes :

- un effet balistique, indépendant de la température, qui résulte des chocs et des cisaillements induits par les billes de broyage sur la poudre et qui dépend de la fréquence des chocs et des cisaillements.
- un effet de restauration thermique d'autant moins efficace que la température réelle de broyage est basse.

La compétition entre ces deux effets dépend de deux paramètres extérieurs : la température de broyage et l'intensité de broyage. Dans le cas d'un broyeur planétaire, cette intensité de broyage est définie comme étant la « puissance de choc injectée » qui est le produit de l'énergie cinétique des billes par la fréquence des chocs <sup>[23, 24]</sup>.

Nous avons vu au chapitre I que, du fait du broyage, le système explore son espace de configuration selon une règle différente de celle à l'équilibre thermodynamique. Le terme balistique conduit à définir une énergie libre « effective » dont les minima correspondent aux états stationnaires qui sont accessibles au système sous broyage et qui sont différents des états d'équilibre.

Selon ce schéma, et dans le cas où les effets balistiques sont dominants, l'état physique du système atteint à la température  $T$  sous broyage peut être décrit comme celui attendu pour le système à l'équilibre à une température « effective » donnée par :

$$T_{eff} = T \left( 1 + \frac{D_{bal}}{D_{ch}} \right)$$

$D_{ch}$  est le coefficient de diffusion chimique. Ce terme est d'autant moins efficace que la température est basse.  $D_{bal}$  est le coefficient de diffusion balistique, indépendant de la température.

Tout se passe comme si le système adoptait, sous sollicitations à la température réelle  $T$ , la configuration stable en l'absence de sollicitation à la température  $T_{eff}$ . Dans le cadre de ce formalisme, changer l'intensité de broyage produit le même effet, au niveau des transformations de phases que de changer la température du système. Le terme  $D_{bal}/D_{ch}$  est d'autant plus efficace que la température est basse.

La figure 15 représente l'évolution attendue de  $T_{eff}$  en fonction de la température de broyage à intensité de broyage fixée.

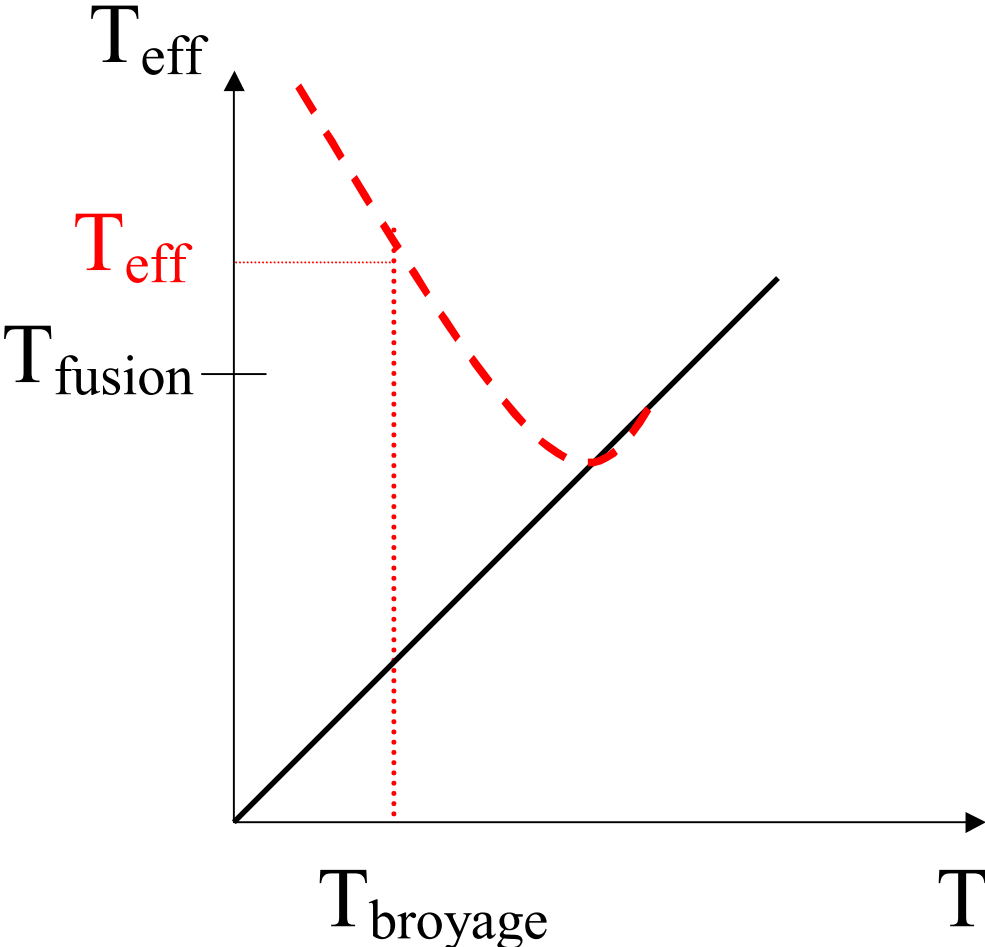


Fig. VIII.15 :  
Schéma illustrant le concept de température effective

Cette évolution montre que, par broyage d'un cristal à assez basse température, on peut espérer atteindre une température effective supérieure à celle de la température de fusion du composé. Partant d'un état cristallin ou  $D_{ch}$  est faible, cette aptitude à l'amorphisation peut être relativement facile si l'intensité de broyage est suffisante

Lorsque le broyage cesse, c'est cet état effectivement « trempé » que l'on observe. L'état observé ainsi que sa persistance dans le temps dépendent bien sur de facteurs cinétiques. Un composé amorphisé sous broyage qui a une forte propension à la recristallisation pourra apparaître cristallin plus ou moins partiellement.

Ce schéma permet de justifier l'amorphisation sous broyage du tréhalose et du lactose. Il est connu que le tréhalose est un bon formateur de verre qui présente une tendance faible à la recristallisation lors d'une trempe thermique [25].

En ce qui concerne le mannitol, il est plus difficile de décrire l'ensemble des états finaux par un schéma unique de température équivalente. En effet, il n'existe pas, à l'équilibre, de température de transition thermodynamique supérieure à la température de broyage entre les phases  $\beta$  et  $\alpha$  d'une part, et  $\delta$  et  $\alpha$  d'autre part (cf. figure VIII.9). On ne peut donc imaginer atteindre de manière effective une telle transition. Deux scénarii peuvent être envisagés pour expliquer la transformation observée en phase  $\alpha$  :

- L'idée la plus simple est d'admettre que le schéma d'amorphisation s'applique dans un premier temps et que c'est lors de la « trempe effective », après cessation du broyage, que le mannitol recristallise en phase  $\alpha$ . Cela est cohérent avec le fait que, lors d'une trempe thermique après fusion, le mannitol recristallise très facilement vers cette phase  $\alpha$ .
- Une autre possibilité consiste à imaginer un mécanisme en deux temps avec modification de la température effective au cours du broyage : amorphisation des cristaux sous broyage puis recristallisation sous broyage des amorphes obtenus. Le deuxième temps de ce dernier processus résulterait du broyage de l'amorphe dont le coefficient  $D_{ch}$  est plus élevé que celui du cristal. Cela conduirait finalement à une  $T_{eff}$  inférieure à celle de la fusion et située dans le domaine de cristallisation rapide de la phase  $\alpha$ . Ce dernier mécanisme a été proposé dans le cas de l'indométhacine car des traces d'amorphisation transitoire avaient été

clairement mises en évidence. Dans le cas du mannitol, la rapidité de cristallisation vers la phase  $\alpha$  ne permet pas de trancher nettement entre ces deux propositions.

Dans le cas d'un amorphe, le coefficient de diffusion chimique  $D_{ch}$  a une évolution en température très rapide, en particulier à proximité de la température de transition vitreuse ( $T_g$ ). Il en résulte qu'un broyage à température variable mais proche de  $T_g$  puisse induire des effets très différents sous broyage par modification de  $T_{eff}$ .

L'influence de la valeur de la température de transition vitreuse par rapport à la valeur de la température de broyage sur la nature des transformations observées lors du broyage de composés sera abordée lors de l'étude des cobroyages dans les chapitres IX et X.

## Références

- 1 J. H. Crowe, L. M. Crowe, A. E. Oliver, N. Tsvetkova, W. Wolkers, and F. Tablin, *The Trehalose Myth Revisited: Introduction to a Symposium on Stabilization of Cells in the Dry State*, *Cryobiology* **43**, 89 (2001)
- 2 L.-M. Crowe, *Lessons from nature: the role of sugars in anhydrobiosis*, *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular and integrative physiology* **131**, 505 (2002)
- 3 A. Lerbret, *Etude de l'action bioprotectrice des sucres : une investigation par dynamique moléculaire et spectroscopie Raman*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2005)
- 4 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)
- 5 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, M. Descamps, F. Leveiller, and R. Rameau, *Vitrification and polymorphism of trehalose induced by dehydration of trehalose dihydrate*, *Journal of Physical Chemistry B* **106**, 3365 (2002)
- 6 G. M. Brown, D. C. Rohrer, B. Berking, C. A. Beevers, R. O. Gould, and R. Simpson, *The crystal structure of alpha, alpha-Trehalose dihydrate from three independant X-ray determinations*, *Acta Crystallographica B* **B28**, 3145 (1972)
- 7 G. A. Jeffrey and R. Nanni, *The crystal structure of anhydrous alpha, alpha-trehalose at -150°*, *Carbohydrate Research* **137**, 21 (1985)
- 8 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, G. Odou, F. Danede, and M. Descamps, *Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling*, *Solid State Communications* **119**, 501 (2001)
- 9 A. Le Bail, H. Duroy, and J. L. Fourquet, *Ab-initio structure determination of LiSbWO6 by X Ray powder diffraction*, *Mat.Res.Bull.* **23**, 447 (1988)
- 10 H. M. Berman, G. A. Jeffrey, and R. D. Rosenstein, *The crystal Structures of the a' and b forms of D-Mannitol.*, *Acta Cryst. B* **24**, 442 (1968)
- 11 Wikipedia.
- 12 Roquette, <http://www.roquette.fr/fr/products/polyols.htm>,

- 13 T. Yoshinari, R. T. Forbes, P. York, and Y. Kawashima, *Moisture induced polymorphic transition of mannitol and its morphological transformation*, Int. J. Pharm **247**, 69 (2002)
- 14 A. Burger, J.-O. Henck, S. Hetz, J. M. Rollinger, A. A. Weissnigh, and H. Stottner, *Energy/temperature diagram and compression behavior of the polymorphs of D-Mannitol*, J. Pharm. Sciences **89**, 457 (2000)
- 15 A. I. Kim, M. J. Akers, and S. L. Nail, *The physical state of mannitol after freeze-drying : effects of mannitol concentration, freezing rate, and a noncrystallizing cosolute*, J. Pharm. Sciences **87**, 931 (1998)
- 16 L. Yu, D. S. Mishra, and D. R. Rigsbee, *Determination of the glass properties of D-mannitol using sorbitol as an impurity*, J. Pharm. Sciences **87**, 774 (1998)
- 17 H. S. Kim, G. A. Jeffrey, and R. D. Rosenstein, *The crystal structure of the K form of D-mannitol*, Acta Cryst. B **24**, 1449 (1967)
- 18 C. E. Botez, P. W. Stephens, C. Nunes, and R. Suryanarayanan, *Crystal structure of anhydrous d-D-mannitol*, Powder Diffraction **18**, 214 (2003)
- 19 H. M. Rietveld, *Line profiles of neutron powder diffraction peaks for structure refinement*, Acta Cryst. **22**, 151 (1967)
- 20 H. M. Rietveld, *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures*, J. Appl. Cryst. **2**, 65 (1969)
- 21 G. Martin and P. Bellon, *Driven alloys*, Solid State Physics, New York **50**, 189 (1997)
- 22 G. Martin, *Phase stability under irradiation : Ballistic effects*, Phys. Rev B **30**, 1424 (1984)
- 23 M. Abdellaoui and E. Gaffet, *A mathematical and experimental dynamical phase diagram for ball-milled Ni<sub>10</sub>Zr<sub>7</sub>*, J. Alloys and Comp. **209**, 351 (1994)
- 24 M. Abdellaoui and E. Gaffet, *The physics of mechanical alloying in a planetary ball mill : mathematical treatment*, Acta. Metall. Mater. **43-3**, 1087 (1995)
- 25 A. De Gusseme, L. Carpentier, J.-F. Willart, and M. Descamps, *Molecular Mobility in Supercooled Trehalose*, J. Phys. Chem. B **107**, 10879 (2003)

## **CHAPITRE IX**

### **Alliages moléculaires tréhalose/mannitol**



La synthèse d'alliages moléculaires est une voie prometteuse pour obtenir de nouvelles formulations dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Cependant, les alliages moléculaires sont difficiles à obtenir, aussi bien à l'état cristallin qu'à l'état amorphe :

- A l'état cristallin, il est généralement nécessaire que les molécules des composés entrant dans la composition des alliages possèdent des structures cristallographiques présentant des symétries compatibles entre elles et des paramètres de maille semblables. De plus, il faut que les molécules soient de forme, de taille, et de symétrie identiques. Compte tenu de la très grande diversité des systèmes moléculaires, ces conditions sont rarement satisfaites <sup>[1]</sup>.
- De ce fait, la plupart des alliages moléculaires sont obtenus à l'état amorphe par trempe thermique de mélanges liquides <sup>[2, 3]</sup>. Cependant, cette voie d'obtention de l'alliage présente, elle aussi, de nombreuses difficultés. Les différentes phases liquides ne sont pas toujours miscibles et beaucoup de composés moléculaires subissent des dégradations thermiques lors de la fusion <sup>[4]</sup>.

Une alternative à ces difficultés consiste à préparer les alliages par mécanosynthèse, c'est-à-dire par cobroyage des différentes substances cristallines <sup>[1-3, 5]</sup>.

Nous étudions dans ce chapitre la possibilité d'obtenir des alliages moléculaires binaires tréhalose/mannitol par mécanosynthèse et par fusion puis trempe de la phase liquide. Nous avons vu que le tréhalose vitreux présentait une zone de Tg supérieure à la température ambiante (Tg = 120 °C). A l'inverse, le mannitol amorphe se caractérise par un domaine de Tg inférieur à la température ambiante (Tg = 13 °C). Le broyage du tréhalose  $\beta$  entraîne une transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre à l'état solide ; celui du mannitol  $\beta$ , une transformation polymorphique vers la forme métastable  $\alpha$ .

La section A de ce chapitre présente une étude détaillée des produits finaux obtenus par cobroyage de mélanges tréhalose/mannitol en fonction de la composition. La section B décrit les résultats obtenus en fondant et en trempant les mélanges tréhalose/mannitol pour les mêmes compositions que celles de la partie A. La section C compare les mélanges obtenus par les deux voies.

### **A. Mécanosynthèse d'alliages tréhalose/mannitol à l'état amorphe**

Les mélanges physiques sont préparés en mêlant de la poudre cristalline de mannitol  $\beta$  avec de la poudre cristalline de tréhalose  $\beta$  dans les proportions molaires désirées. 1 gramme de mélange est introduit dans la jarre de broyage. Les mélanges de tréhalose et de mannitol sont broyés pendant 12 heures dans le broyeur planétaire avant caractérisation. Pour éviter tout échauffement dans les jarres, des périodes de broyage (20 minutes) alternent avec des périodes de pause (10 minutes). Les composés pharmaceutiques étant généralement hygroscopiques, les broyages sont réalisés en atmosphère sèche ( $N_2$ ). De plus, après broyage, pour limiter au maximum l'absorption d'eau provenant de l'humidité atmosphérique, les échantillons sont récupérés en boîte à gants et sont de nouveau soumis à un flux d'azote sec pendant une demi-heure.

La figure 1 présente les données structurales et thermodynamiques relatives aux mélanges broyés pour différentes fractions molaires en mannitol ( $X_{man}$ ).

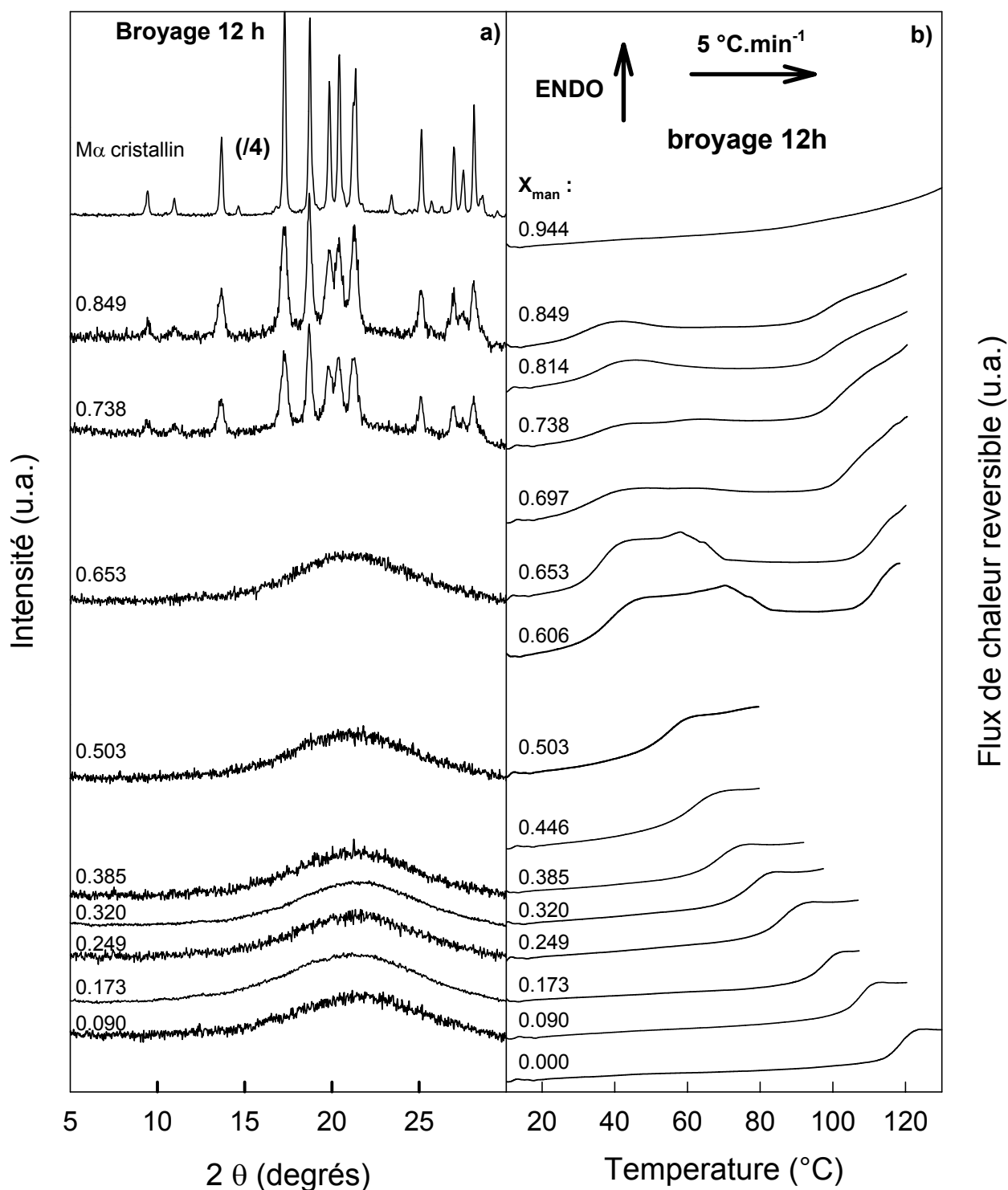


Fig. IX. 1 :

Etats structural et thermodynamique des mélanges binaires tréhalose  $\beta$  / mannitol  $\beta$  après 12 heures de cobroyage. Les compositions sont exprimées en fraction molaire de mannitol ( $X_{\text{man}}$ ).

- a) Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre enregistrés à température ambiante. Le diagramme du mannitol  $\alpha$  cristallin a été ajouté pour comparaison. Les enregistrements ont été effectués sur capillaires de Lindemann de 0.5 mm de diamètre sauf pour  $M_{\alpha}$  cristallin,  $X_{\text{man}} = 0.738$ ,  $X_{\text{man}} = 0.849$  (0.7 mm de diamètre).
- b) Partie réversible des thermogrammes obtenus au chauffage ( $5 \text{ °C.min}^{-1}$ ) par MDSC. Amplitude de modulation :  $0,796 \text{ °C}$  / Période de modulation : 60 secondes

### **A.1. Présentation des diffractogrammes des mélanges cobroyés**

La figure 1a montre les diagrammes de diffraction des rayons X des différents mélanges de tréhalose et de mannitol enregistrés après 12 heures de broyage. Pour comparaison, le diagramme du mannitol  $\alpha$  obtenu par broyage du mannitol  $\beta$  pur (Cf. chapitre VIII) est également représenté. On constate que pour  $0.090 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ , les diffractogrammes présentent un halo diffus caractéristique d'un matériau amorphe. Aucune trace de raies de Bragg n'est détectable. Par contre, pour  $X_{\text{man}} = 0.738$  et  $X_{\text{man}} = 0.849$ , on constate clairement que des raies de Bragg se superposent au halo diffus. Ces raies sont faibles, larges et augmentent d'intensité avec l'augmentation de la fraction de mannitol. La comparaison de ces deux diffractogrammes avec celui du  $M_{\alpha}$  met clairement en évidence que les raies présentes sur les diffractogrammes de ces mélanges correspondent à celles du  $M_{\alpha}$ . Aucune trace de raies caractéristiques d'une des formes cristallines du tréhalose ou du mannitol autre que le  $M_{\alpha}$  n'est visible. Pour  $X_{\text{man}} \geq 0.738$ , le broyage entraîne donc une amorphisation totale de la fraction de tréhalose alors que l'amorphisation de la fraction de mannitol n'est que partielle. De plus, la fraction cristalline non amorphisée du mannitol a subi une transformation polymorphique de la phase stable  $\beta$  vers la phase métastable  $\alpha$  en accord avec les résultats du broyage du mannitol  $\beta$  pur présentés dans le chapitre précédent.

### **A.2. Présentation des thermogrammes des mélanges cobroyés**

La figure 1b correspond aux thermogrammes obtenus par MDSC au réchauffage ( $5 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) des mélanges cobroyés. Elle présente le flux de chaleur réversible dans la zone de températures comprise entre les températures de transition vitreuse du mannitol et du tréhalose amorphes. Le flux de chaleur réversible n'est pas perturbé par la déshydratation liée au départ d'eau libre inévitablement adsorbée à la surface des grains des échantillons lors du broyage et de la récupération des poudres après broyage. Cette représentation permet donc de bien mettre en évidence les transitions vitreuses lorsqu'elles sont présentes.

Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ , les thermogrammes présentent un saut de  $C_p$  unique, caractéristique d'une transition vitreuse :

- Pour  $X_{\text{man}} = 0.000$  (tréhalose pur), la transition vitreuse se situe à  $119\text{ °C}$  conformément aux résultats du chapitre précédent et à ceux de la littérature <sup>[6]</sup>.
- Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ , la transition vitreuse se décale vers les basses températures et l'amplitude du saut de  $C_p$  l'accompagnant s'accroît avec l'augmentation de  $X_{\text{man}}$ . Cette évolution est cohérente avec le fait que le saut de  $C_p$  du mannitol pur amorphe ( $\Delta C_p(\text{mannitol}) = 231.4\text{ J.mol}^{-1}.\text{°C}^{-1} = 1.27\text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ ) <sup>[7]</sup> est plus important que celui du tréhalose pur amorphe ( $\Delta C_p(\text{tréhalose}) = 198.5\text{ J.mol}^{-1}.\text{°C}^{-1} = 0.58\text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ ) [8] .

Pour  $0.697 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ , les thermogrammes présentent deux sauts de  $C_p$  :

- La zone de températures du premier saut de  $C_p$  se situe entre  $33\text{ °C}$  et  $37\text{ °C}$ .
- La zone de températures du second saut de  $C_p$  se situe entre  $98$  et  $105\text{ °C}$ .

Pour  $X_{\text{man}} = 0.944$ , aucune transition vitreuse n'est détectable.

Les positions en température des transitions vitreuses des mélanges sont rassemblées dans le tableau 1.

$X_{\text{man}}$	Tg (°C)
0.000	119.0
0.090	107.4
0.173	97.0
0.249	87.1
0.320	78.6
0.385	69.6
0.446	61.6
0.503	55.4
0.606	39.7
0.653	35.8
0.697	34.3/104.4
0.738	36.0/101.5
0.814	36.2/98.7
0.849	33.0/98.2
0.944	-
1.000	13.0*

Tableau IX.1 :  
Températures de transition vitreuse des mélanges T<sub>β</sub>/ M<sub>β</sub> broyés 12 heures.  
(-) : sans objet  
(\*): tirée de Willart et al <sup>[7]</sup>

### A.3. Rationalisation de l'évolution des températures de transition vitreuse des alliages moléculaires dans le cadre de la loi de Gordon - Taylor

Pour les faibles concentrations en mannitol ( $0.090 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ ), les mélanges cobroyés présentent d'une part, un diagramme de diffraction des rayons X caractéristique d'un matériau amorphe et d'autre part, un thermogramme révélant une transition vitreuse unique qui se situe entre les Tg du mannitol pur amorphe et du tréhalose pur amorphe. Cette transition vitreuse unique indique que ces mélanges amorphes obtenus par cobroyage sont caractérisés par un processus de relaxation unique. Le mélange par cobroyage des molécules de tréhalose et de mannitol dans cette gamme de compositions est donc véritablement réalisé à l'échelle moléculaire et a permis d'accomplir une mécanosynthèse d'alliages moléculaires dans des conditions de non équilibre <sup>[2, 3, 7, 9]</sup>.

Par contre, pour les concentrations plus fortes en mannitol ( $0.738 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ ), les raies de Bragg qui persistent après broyage signalent qu'il n'est plus possible de réaliser une mécanosynthèse d'alliages amorphes avec nos conditions expérimentales de broyage. Néanmoins, pour  $0.697 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ , la présence d'une fraction de phase amorphe est attestée par les deux transitions vitreuses comprises entre les  $T_g$  des substances pures. La présence de deux sauts de  $C_p$ , situés entre les températures de transition vitreuse du tréhalose et du mannitol amorphes purs, indique que la phase amorphe est hétérogène : une fraction amorphe riche en mannitol ( $33^\circ\text{C} \leq T_g \leq 36.2^\circ\text{C}$ ) et une fraction amorphe riche en tréhalose ( $98.2^\circ\text{C} \leq T_g \leq 104.4^\circ\text{C}$ ).

L'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la fraction molaire de mannitol dans les alliages moléculaires amorphes homogènes ( $0.090 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ ) obtenus par mécanosynthèse est reportée sur la figure 2.

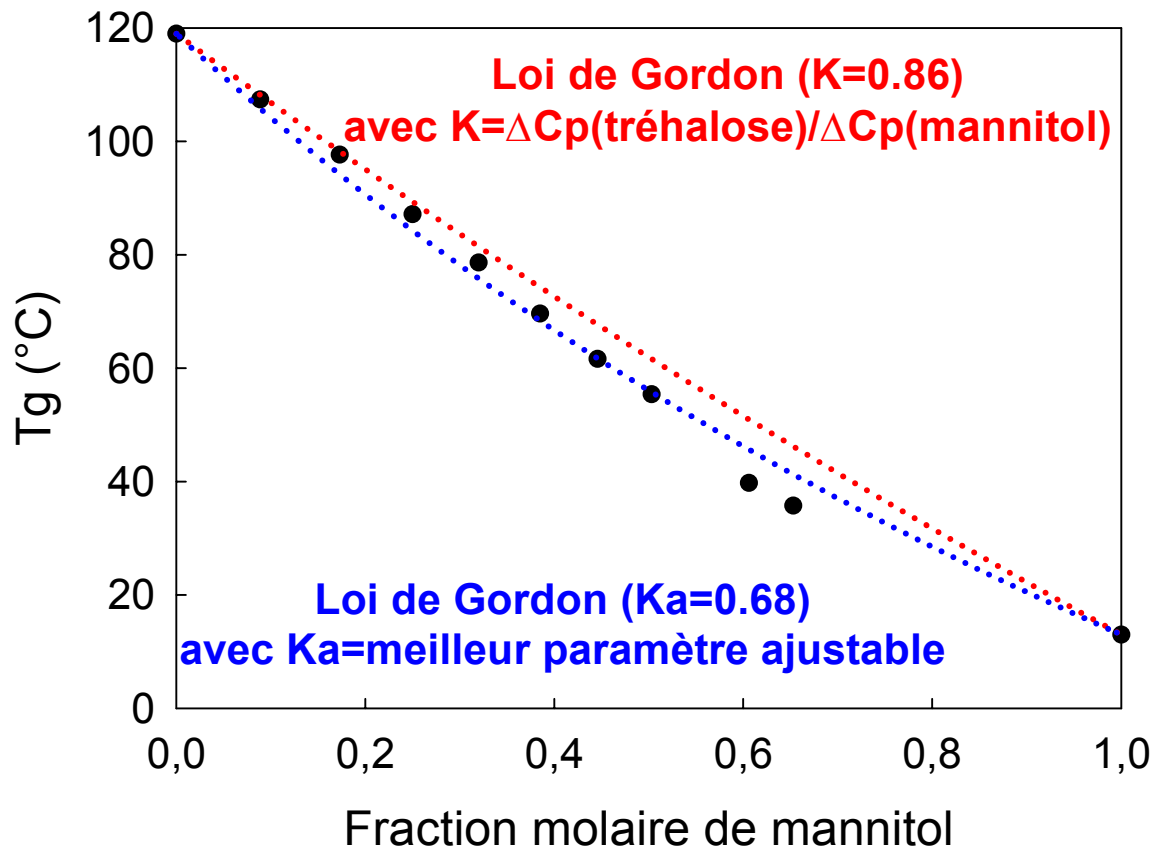


Fig. IX.2 :

Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la fraction molaire de mannitol ( $X_{\text{man}}$ ) dans les alliages moléculaires tréhalose / mannitol obtenus par mécanosynthèse.

La ligne en pointillés bleus représente le meilleur affinement de la loi de Gordon obtenue pour  $K_a = 0.68$ . La ligne en pointillés rouges représente la loi de Gordon obtenue pour  $K = \frac{\Delta C_p(\text{tréhalose})}{\Delta C_p(\text{mannitol})} = 0.86$ , valeur décrivant le comportement d'une solution régulière..

Le  $T_g$  du mannitol pur est tiré de Willart et al <sup>[7]</sup>

Par rapport aux valeurs obtenues pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.503$ , les températures de transition vitreuse des mélanges  $X_{\text{man}} = 0.606$  et  $X_{\text{man}} = 0.653$  semblent sous-estimées. Pour ces compositions, les zones de  $T_g$  des alliages devraient se situer entre 40 et 45 °C. Le passage de l'échantillon dans cette zone de température légèrement supérieure à la



température ambiante ne permet pas une évacuation totale de l'eau libre inévitablement adsorbée lors du broyage et des manipulations de la poudre. L'eau libre résiduelle joue alors le rôle de plastifiant et diminue la température de transition vitreuse du composé. Cet effet devient de moins en moins visible lorsque les Tg des alliages augmentent puisque de plus en plus d'eau libre est éliminée de l'échantillon avant son passage dans la zone de transition vitreuse.

L'évolution de la température de transition vitreuse montre une légère déviation négative par rapport à une évolution linéaire. En fait, le mélange des deux espèces chimiques entraîne une augmentation de l'entropie ce qui, d'après la théorie de Adam et Gibbs <sup>[10]</sup>, induit une augmentation de la mobilité moléculaire au sein de l'alliage amorphe.

L'évolution de la température de transition vitreuse d'alliages binaires en fonction de la composition a été étudiée par Gordon et al <sup>[11]</sup>. Ces auteurs ont rationalisé cette évolution dans le cadre du modèle des solutions régulières. Ils en ont déduit une équation qui prédit de façon satisfaisante l'évolution de la température de transition vitreuse dans de nombreux alliages binaires en fonction de leur composition (le raisonnement conduisant à cette équation est donné dans le chapitre I). Appliquée au système tréhalose/mannitol, l'évolution de la température de transition vitreuse du mélange Tg (X<sub>man</sub>) en fonction de la concentration X<sub>man</sub> en mannitol s'écrit :

$$T_g(X_{man}) = \frac{X_{man} T_g(X_{man}=1) + K(1-X_{man}) T_g(X_{man}=0)}{X_{man} + K(1-X_{man})}$$

Avec :

Tg(X<sub>man</sub> = 1) : température de transition vitreuse du mannitol (en °C)

Tg(X<sub>man</sub> = 0) : température de transition vitreuse du tréhalose (en °C)

K : constante non ajustable valant  $\frac{\Delta C_p(\text{tréhalose})}{\Delta C_p(\text{mannitol})} = 0.86$

Cette équation est également utilisée en considérant  $K$  comme un paramètre ajustable (que l'on appellera  $K_a$  pour  $K$  ajustable). Sa valeur est déterminée par le meilleur affinement de l'équation qui permet de reproduire l'évolution de  $T_g(X_{\text{man}})$  expérimentale.

Le meilleur ajustement de la loi de Gordon-Taylor sur l'évolution des températures de transition vitreuse expérimentales en fonction de la concentration en mannitol est reporté sur la figure 2. Il est obtenu pour  $K_a = 0.68$ . Cette figure montre aussi la loi de Gordon-Taylor attendue pour une solution régulière, c'est-à-dire pour  $K = 0.86$ . Les valeurs de  $K$  et de  $K_a$  sont assez proches l'une de l'autre. Elles révèlent que l'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la composition dans le système binaire tréhalose/mannitol est bien décrite par le modèle des solutions régulières. Cela indique que l'entropie d'excès de mélange est proche de zéro (ou encore que, dans ce système, l'entropie de mélange est proche de celle d'une solution idéale). Cela suggère que les interactions entre les molécules de tréhalose et de mannitol sont très faibles et qu'il n'y a vraisemblablement pas formation de liaisons hydrogène entre les deux types de molécules <sup>[12]</sup>. En effet, de telles liaisons conduiraient à un écart important par rapport au modèle des solutions régulières et sont souvent responsables d'une déviation positive de l'évolution de la température de transition vitreuse par rapport à un comportement linéaire. Les systèmes polyamine/polyalcool sont typiques de ce comportement <sup>[13]</sup>.

La courbe  $T_g(X_{\text{man}})$  expérimentale n'est tracée que jusqu'à  $X_{\text{man}} = 0.653$  puisque, au-dessus de cette valeur, les alliages ne peuvent pas être complètement formés par mécanosynthèse. On remarque cependant, par extrapolation, que les températures de transition vitreuse attendues pour les concentrations  $X_{\text{man}} \geq 0.697$  sont égales ou inférieures à la température ambiante. Dans ces conditions, la stabilité de l'alliage vis-à-vis de la recristallisation devient beaucoup plus faible et peut expliquer l'impossibilité pratique d'obtenir des alliages totalement amorphes par mécanosynthèse ayant une concentration en mannitol supérieure à 0.653. Nous avons alors un mélange contenant une fraction d'alliage moléculaire vitreux hétérogène mélangée à une fraction de mannitol  $\alpha$  cristallin comme le montrent les expériences de diffraction des rayons X et de DSC.

#### **A.4. Rupture de métastabilité des alliages tréhalose / mannitol obtenus par mécanosynthèse**

La figure 3a présente les thermogrammes des mélanges cobroyés dans les zones de cristallisation et de fusion des échantillons. Pour comparaison, les thermogrammes du  $T_{\beta}$  et du  $M_{\alpha}$  cristallins sont également représentés sur ces figures.

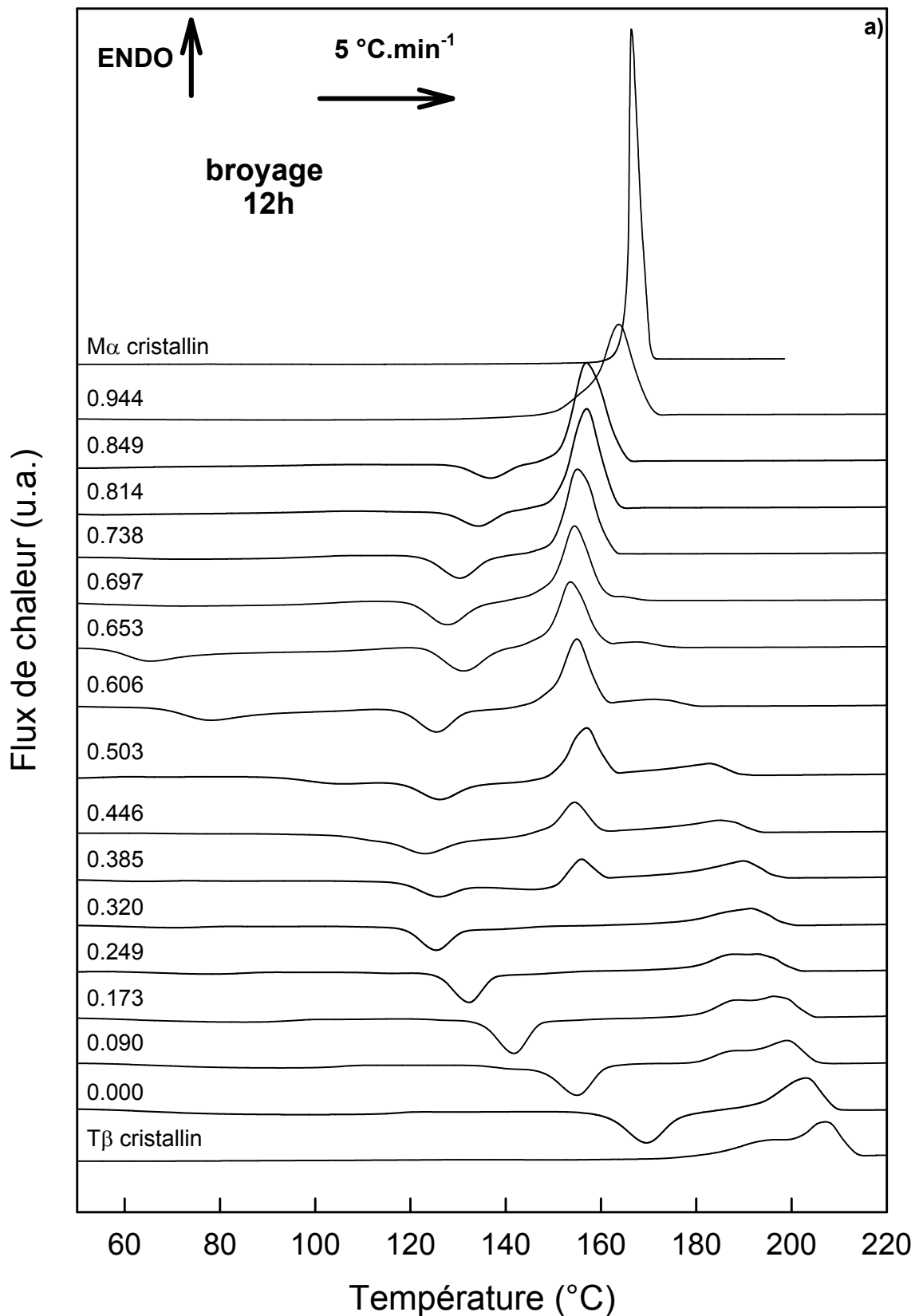


Fig.IX.3 :

a) Thermogrammes des mélanges tréhalose  $\beta$  / mannitol  $\beta$  broyés 12 heures obtenus au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) par MDSC.

Amplitude de modulation :  $0.796\text{ °C}$  / Période de modulation : 60 secondes.

Les thermogrammes du  $T_\beta$  et du  $M_\alpha$  cristallins ont été ajoutés pour servir de référence

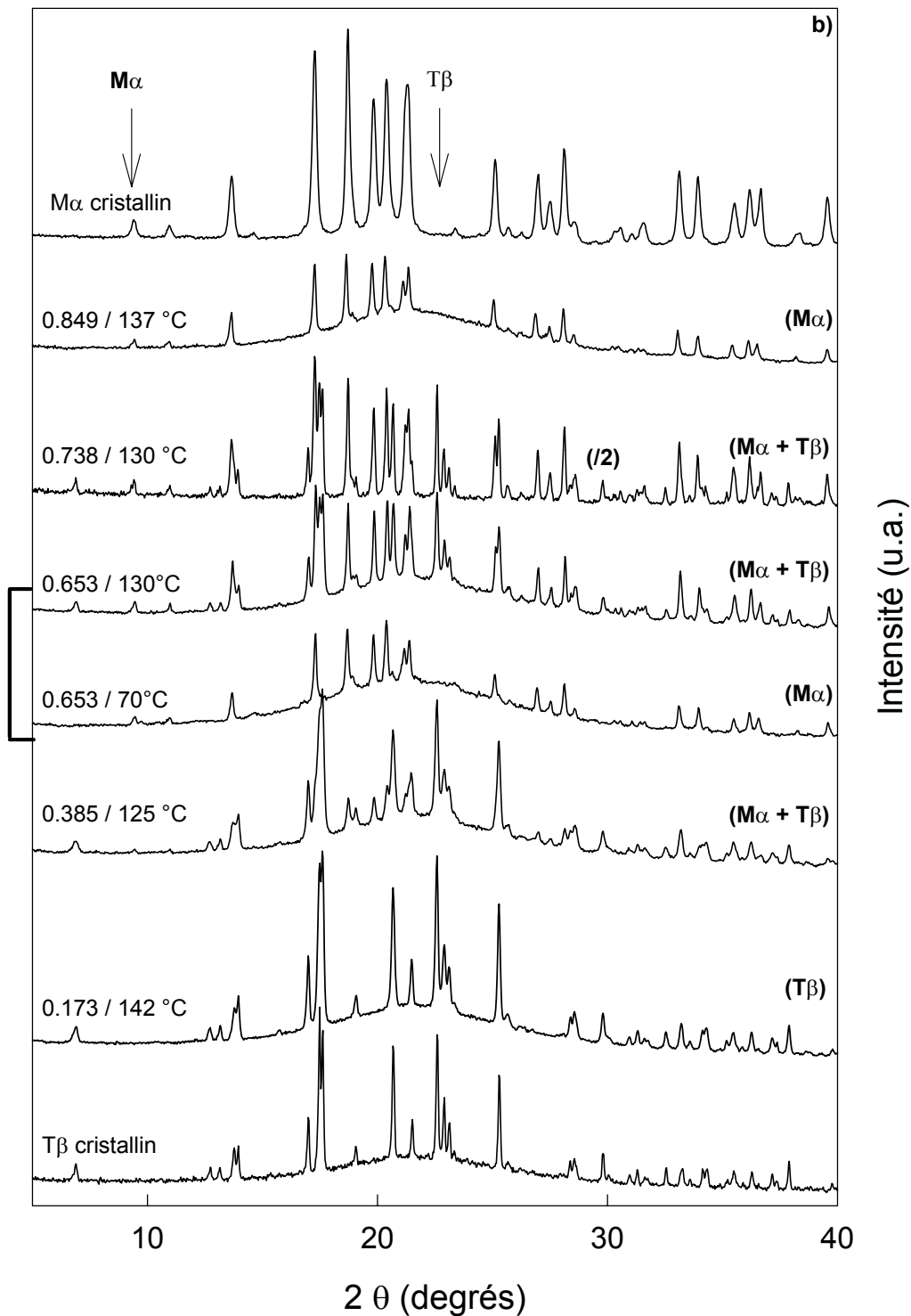


Fig. IX. 3 :

b) Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre de mélanges binaires T<sub>β</sub> / M<sub>β</sub> broyé 12 h enregistrés à température ambiante après avoir chauffé les échantillons dans la zone de cristallisation. Les concentrations et les températures de recristallisation sont reportées à gauche de la figure.

Les diffractogrammes des échantillons cristallins (M<sub>α</sub>, T<sub>β</sub>) non broyés ont été ajoutés pour permettre l'identification des phases recristallisées.

Les enregistrements ont été effectués sur capillaires de Lindemann de 0.5 mm de diamètre sauf pour M<sub>α</sub> et le mélange X<sub>man</sub> = 0.738 (0.7mm).

Ces thermogrammes présentent les caractéristiques suivantes :

- Des phénomènes exothermiques attribués à la recristallisation des échantillons broyés qui montrent la rupture de métastabilité des alliages vitreux intervenant au-dessus de la température de transition vitreuse (cf. figure 1).
  - Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.385$ , un seul phénomène exothermique est visible. Il se décale rapidement vers les basses températures avec l'augmentation de la concentration en mannitol.
  - Pour  $0.446 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ , deux exothermes de recristallisation sont visibles. Ils traduisent une séparation de phases lors de la dévitrification. L'exotherme situé à plus basse température se décale vers les basses températures avec l'augmentation de la concentration en mannitol. La position en température de l'autre exotherme oscille entre  $185\text{ °C}$  ( $X_{\text{man}} = 0.446$ ) et  $169\text{ °C}$  ( $X_{\text{man}} = 0.653$ ).
  - Pour  $0.697 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ , il y a de nouveau un pic de recristallisation unique qui se décale vers les hautes températures avec l'augmentation de la fraction molaire de mannitol.
  - Pour  $X_{\text{man}} = 0.944$ , aucun phénomène de recristallisation n'est visible.
  
- Des phénomènes endothermiques résultant de la fusion des échantillons.
  - Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.320$ , un seul phénomène endothermique est visible. Il se décale vers les basses températures, s'élargit et voit son enthalpie diminuer avec l'augmentation de  $X_{\text{man}}$ .
  - Pour  $0.385 \leq X_{\text{man}} \leq 0.697$ , un second pic de fusion apparaît à  $155.6\text{ °C}$ . La température à laquelle apparaît ce nouveau pic ne change pas avec l'augmentation de la concentration en mannitol. Par contre, son enthalpie s'accroît lorsque  $X_{\text{man}}$  augmente. Parallèlement à ce pic de fusion, l'endotherme qui était visible dès  $X_{\text{man}} = 0.000$  continue de se décaler vers les basses températures et de perdre en enthalpie. Il rejoint ainsi progressivement le second pic de fusion.
  - Pour  $0.738 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ , les deux pics sont confondus. La température de la fusion ne change pas avec la concentration en mannitol. Cette dernière reste inférieure à la température de fusion du mannitol  $\alpha$  pur.

Concernant le mélange  $X_{\text{man}} = 0.944$ , nous avons vu que la seule phase cristalline présente après cobroyage est celle du  $M_{\alpha}$ . L'absence de recristallisation et de transition vitreuse permet d'affirmer que cet échantillon est totalement cristallin et que le broyage n'a pas permis d'amorphiser, même partiellement, le mélange. Cependant, la fusion de ce mélange, inférieure à celle du  $M_{\alpha}$  pur, signifie que, au cours du cobroyage, les molécules de tréhalose ont été incorporées dans le  $M_{\alpha}$  de manière à former directement une solution solide cristalline de tréhalose dans du mannitol.

Les données relatives à l'ensemble des phénomènes thermodynamiques décrits ci-dessus sont rassemblées dans le tableau 2. Le chevauchement de plusieurs phénomènes thermodynamiques sur certains thermogrammes rend difficile la détermination précise de certaines températures et de certaines enthalpies.

Fraction molaire de mannitol	$T_{\text{CR1}}$ (°C)	$\Delta H_{\text{CR1}}$ (J.g <sup>-1</sup> )	$T_{\text{CR2}}$ (°C)	$\Delta H_{\text{CR2}}$ (J.g <sup>-1</sup> )	$T_{\text{f1}}$ (°C)	$\Delta H_{\text{f1}}$ (J.g <sup>-1</sup> )	$T_{\text{f2}}$ (°C)	$\Delta H_{\text{f2}}$ (J.g <sup>-1</sup> )
$T_{\beta}$ cristallin	-	-	-	-	207.0	148.9	-	-
0.000	169.5	82.6	-	-	203.0	114.4	-	-
0.090	155.1	81.9	-	-	199.0	84.9	-	-
0.173	141.7	69.5	-	-	196.2	95.1	-	-
0.249	132.3	52.3	-	-	192.8	76.2	-	-
0.320	119.0	41.7	-	-	191.5	70.7	-	-
0.385	125.3	28.2	-	-	155.6	37.5	189.9	61.2
0.446	122.8	67.2	-	-	154.3	64.0	185.0	43.4
0.503	102.0	9.1	126.2	42.0	156.8	101.5	182.9	34.9
0.606	77.9	60.3	125.5	46.3	154.9	137.0	172.0	13.4
0.653	64.5	34.6	131.1	52.7	153.5	129.1	168.7	5.4
0.697	127.8	56.8	-	-	154.4	143.9	?	?
0.738	130.4	51.5	-	-	155.0	172.5	-	-
0.814	134.3	27.1	-	-	157.0	194.2	-	-
0.849	136.8	27.8	-	-	156.9	212.7	-	-
0.944	-	-	-	-	163.7	233.2	-	-
$M_{\alpha}$ cristallin	-	-	-	-	166.4	274.5	-	-

Tableau IX.2 :  
Caractéristiques thermodynamiques des mélanges  $T_{\beta}/M_{\beta}$  broyés 12 heures.  
(-) : sans objet.  
(?) : estimation non possible

La figure 3b montre les diffractogrammes enregistrés à température ambiante de certains mélanges cobroyés puis recristallisés. Ils ont été obtenus en chauffant les échantillons broyés dans la zone de recristallisation rapide identifiée sur les thermogrammes de la figure 3a. Dans le cas où deux exothermes de recristallisation sont présents, l'échantillon a été successivement placé dans les deux zones de températures correspondantes.

Pour  $X_{\text{man}} = 0.173$ , le diffractogramme du mélange recristallisé comporte uniquement des raies de Bragg caractéristiques du  $T_{\beta}$ . Pourtant, la fusion de cette phase est déprimée par rapport à celle du  $T_{\beta}$  pur recristallisé. Ce comportement est caractéristique d'une solution solide cristalline dans laquelle les molécules de mannitol sont incorporées dans le réseau cristallin du  $T_{\beta}$ . La diminution de la température de fusion avec l'augmentation de la concentration en mannitol pour  $0.090 \leq X_{\text{man}} \leq 0.320$  est donc due à une augmentation de mannitol piégé dans le réseau cristallin du  $T_{\beta}$ .

Pour  $X_{\text{man}} = 0.385$ , le diffractogramme du mélange recristallisé présente des raies de Bragg propres au  $T_{\beta}$  et au  $M_{\alpha}$ . Bien que le thermogramme de cet échantillon présente un exotherme de recristallisation unique, il y a cristallisation simultanée de deux phases différentes.

Pour  $X_{\text{man}} = 0.653$ , le thermogramme du mélange présente deux exothermes de cristallisation. Le diffractogramme de ce mélange enregistré après la première cristallisation (70 °C) révèle des raies de Bragg caractéristiques du  $M_{\alpha}$  uniquement. Le diffractogramme de ce mélange enregistré après la seconde recristallisation (130 °C) montre que des raies de Bragg spécifiques du  $T_{\beta}$  sont apparues.

Pour  $0.385 \leq X_{\text{man}} \leq 0.697$ , les thermogrammes des mélanges font également apparaître deux fusions dont la première se produit à température constante quelle que soit la composition alors que la seconde se décale vers les basses températures lorsque  $X_{\text{man}}$  augmente. Ce comportement est caractéristique de mélanges présentant un eutectique et indique que les échantillons recristallisés sont formés de deux constituants. Le premier est un constituant eutectique biphasé constitué de cristaux de solution solide riche en  $T_{\beta}$  et de cristaux de solution solide riche en  $M_{\alpha}$  intimement mélangés. Il fond toujours à la même



température comme s'il s'agissait d'un corps pur. La variation de l'enthalpie du pic de fusion relatif au constituant eutectique biphasé traduit la variation de la quantité de ce constituant au sein des échantillons. Le second constituant est une solution solide tréhalose/mannitol riche en tréhalose dont la fusion dépend de la concentration.

Pour  $X_{\text{man}} \geq 0.738$ , les mélanges ne sont pas totalement amorphisés après broyage. Nous avons vu sur la figure 1a qu'il subsistait des raies de Bragg traduisant la présence de  $M_{\alpha}$  cristallin.

Pour  $X_{\text{man}} = 0.738$ , le diffractogramme du mélange enregistré après recristallisation de la partie amorphe prouve la présence de  $T_{\beta}$  et de  $M_{\alpha}$ . Comparé au diffractogramme du mélange enregistré immédiatement après broyage, les raies caractéristiques du  $M_{\alpha}$  se sont amplifiées. On en déduit que le tréhalose amorphe et une fraction supplémentaire de mannitol amorphe ont recristallisé.

Pour  $X_{\text{man}} = 0.849$ , le diffractogramme du mélange enregistré après recristallisation montre que seules des raies de Bragg caractéristiques du  $M_{\alpha}$  sont visibles. Comparé au diffractogramme enregistré immédiatement après broyage, les raies de Bragg du  $M_{\alpha}$  sont plus importantes. La température de fusion observée sur le thermogramme est néanmoins plus basse que celle du  $M_{\alpha}$  pur. Ce comportement est caractéristique d'une solution solide dans laquelle les molécules de tréhalose sont incorporées au réseau cristallin du mannitol.

### A.5. Diagramme de phases mannitol $\alpha$ / tréhalose $\beta$

Les résultats fournis par DSC et par DRX permettent de proposer un diagramme de phases métastable tréhalose  $\beta$  / mannitol  $\alpha$ . Celui-ci est présenté sur la figure 4.

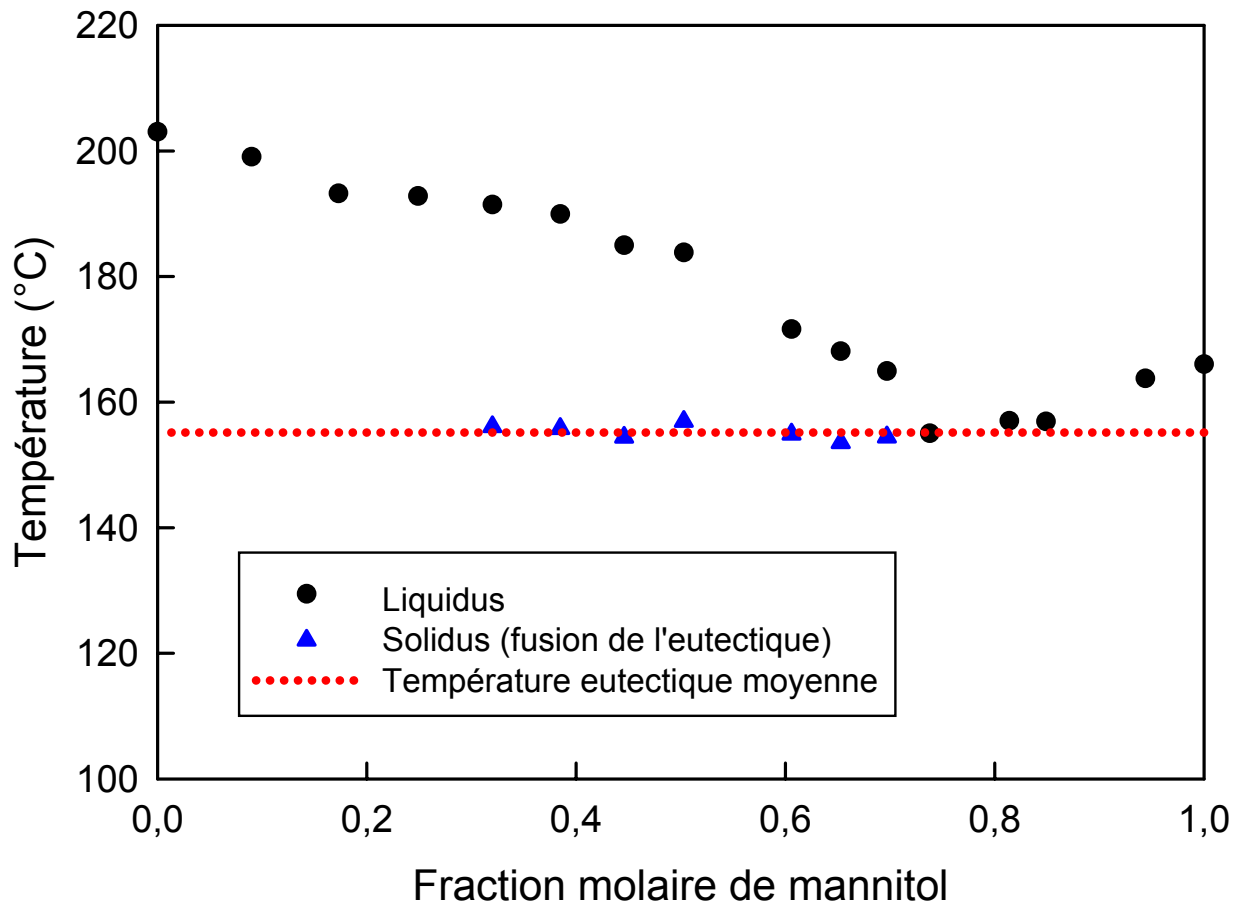


Fig. IX. 4 :

Diagramme de phases molaire du système métastable binaire  $T_{\beta} / M_{\alpha}$ .

Le liquidus et le solidus ont été obtenus à partir de l'analyse des courbes de DSC de la figure IX. 3

Ce diagramme se présente comme un diagramme à eutectique simple dont les constituants sont partiellement miscibles à l'état solide.

La construction de ce diagramme appelle plusieurs commentaires :

- Le solidus tracé dans la zone comprise entre  $X_{\text{man}} = 0$  et la composition eutectique est uniquement constitué des points de fusion de l'eutectique. En effet, les pics de fusion visibles sur les thermogrammes sont larges, même pour les corps purs. Or, la fusion d'un corps pur (comme le tréhalose ou le mannitol purs) devrait théoriquement prendre la forme d'un pic infiniment fin, ce qui n'est manifestement pas le cas sur les thermogrammes expérimentaux. Ce phénomène est vraisemblablement dû à la conductivité thermique et au volume des échantillons qui ne permettent pas à l'ensemble de la matière chauffée d'être à la même température au même instant  $t$ . De plus, les échantillons se présentent sous forme de poudre polycristalline, ce qui conduit à des températures de fusion légèrement différentes d'un cristallite à l'autre selon leur microstructure. En conséquence, le solidus délimitant le domaine d'existence de la solution solide cristalline de mannitol dans le tréhalose n'est pas tracé car les sources d'imprécisions sont trop importantes.
- Les analyses thermodynamiques des mélanges dont la composition est comprise entre la composition eutectique et  $X_{\text{man}} = 1$  montrent que les températures de fusion des solutions solides et de l'eutectique sont trop proches pour être différenciées. On ne peut donc pas distinguer la fusion de l'eutectique de la fusion des solutions solides riches en mannitol. Il est par conséquent impossible de tracer le triangle de Tammann (cf. chapitre I) qui détermine la composition à laquelle le mélange recristallise totalement en constituant eutectique biphasé ainsi que le domaine d'existence en compositions de ce constituant. Cependant, la composition pour laquelle la cristallisation se produit totalement vers le constituant eutectique biphasé peut être estimée à partir du prolongement des liquidus issus de  $M_{\alpha}$  et de  $T_{\beta}$ . Elle se situe vraisemblablement dans la zone  $0.697 \leq X_{\text{man}} \leq 0.738$ .
- Les expériences de DSC ont été réalisées avec une vitesse de chauffe de  $5 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Il se pourrait que cette vitesse soit trop élevée pour permettre au système d'être à tout instant à l'équilibre thermodynamique (condition

nécessaire pour l'obtention d'un diagramme de phases correct). En effet, dans ces conditions, certaines transformations dont la cinétique est lente pourraient ne pas se produire et le diagramme de phases expérimental s'écarterait du diagramme de phases à l'équilibre thermodynamique <sup>[14]</sup>. Il serait donc prudent de refaire ces mesures avec des rampes en température les plus petites possibles.

## **B. Synthèse d'alliages moléculaires tréhalose/mannitol par fusion des mélanges et par trempe de la phase liquide**

Le mannitol et le tréhalose sont des composés organiques qui ne subissent pas de dégradations thermiques au chauffage. Le mannitol, qui a la température de fusion la plus basse ( $T_f = 166$  °C), supporte même d'être chauffé à la température de fusion du tréhalose ( $T_f = 212$  °C). Ainsi, il est possible de fondre ces deux composés sans altérer leurs propriétés chimiques. Cette particularité permet d'étudier les mélanges de tréhalose et de mannitol fondus puis trempés. L'objectif est de tester la possibilité d'obtenir des alliages moléculaires amorphes par voie thermique (il faut que le tréhalose et le mannitol liquides soient miscibles) et, en cas de faisabilité, de les comparer avec ceux obtenus par mécanosynthèse. Les analyses DSC des mélanges liquides trempés proviennent des mêmes échantillons que ceux utilisés dans la partie A pour les analyses DSC des mélanges cobroyés. C'est-à-dire qu'après l'enregistrement des thermogrammes des échantillons cobroyés (figures 1 et 3), les liquides obtenus sont trempés puis soumis à un deuxième chauffage pour enregistrer les thermogrammes des mélanges liquides trempés. De cette façon, les compositions des mélanges sont rigoureusement identiques à celles des alliages obtenus par mécanosynthèse.

### **B.1. Présentation des thermogrammes des mélanges fondus puis trempés**

Les figures 5a et 5b présentent respectivement le flux de chaleur total et le flux de chaleur réversible enregistrés par MDSC lors du chauffage des mélanges liquides tréhalose/mannitol trempés.

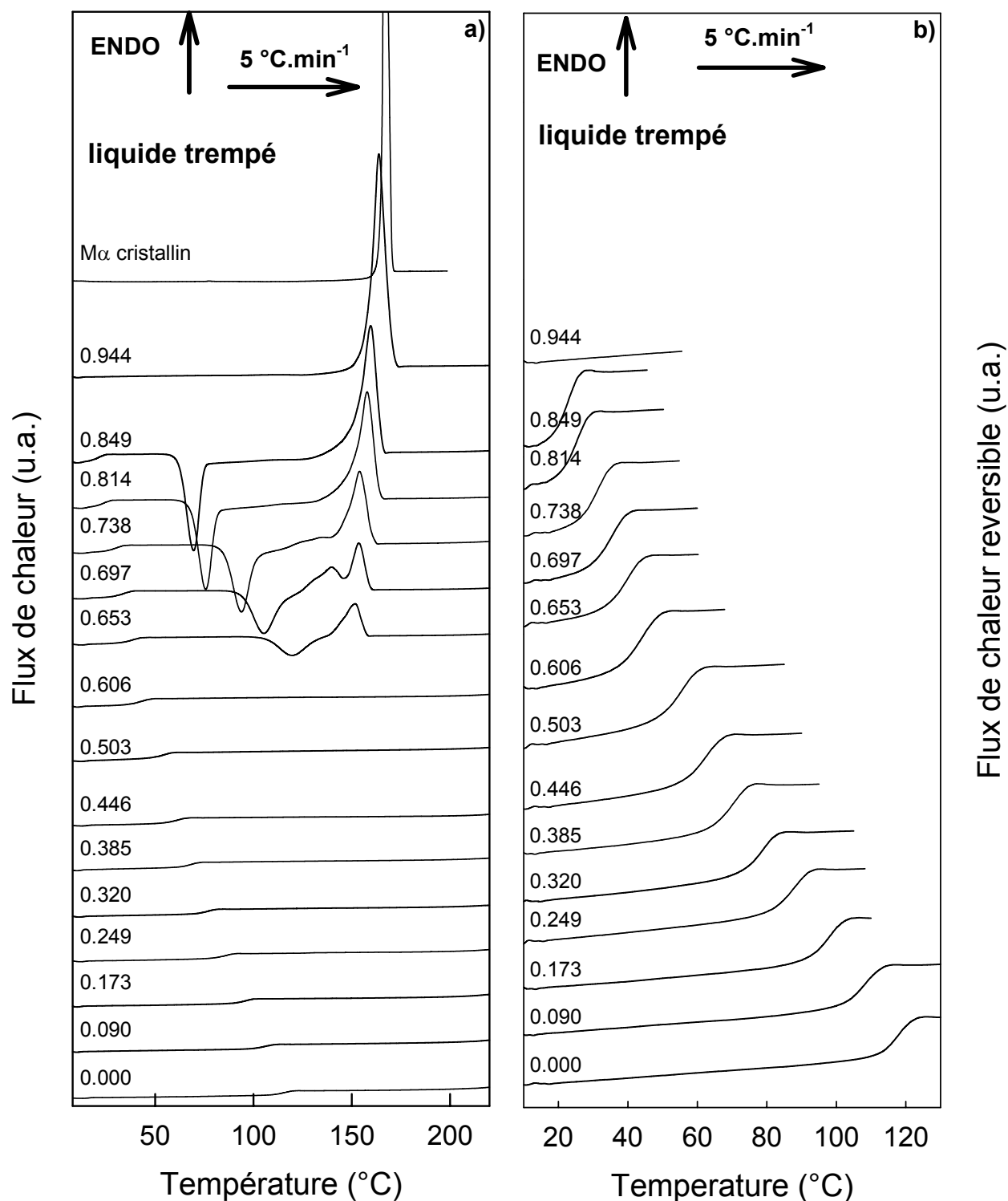


Fig. IX. 5 :

Mélanges binaires tréhalose / mannitol obtenus par fusion puis trempe de la phase liquide. Les compositions sont exprimées en fraction molaire de mannitol ( $X_{man}$ ).

a) Thermogrammes obtenus par MDSC au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

Amplitude de modulation :  $0.796\text{ °C}$  / Période de modulation : 60 secondes.

Le thermogramme du mannitol  $\alpha$  cristallin a été ajouté pour servir de référence

b) Partie réversible des thermogrammes mettant en évidence la transition vitreuse

Les thermogrammes présentent les caractéristiques suivantes :

- Un saut de  $C_p$  unique, caractéristique d'une transition vitreuse. Il est visible sur les mélanges pour lesquels  $0.090 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ . Il ne l'est pas pour  $X_{\text{man}} = 0.944$ . Il se décale vers les basses températures avec l'augmentation de la concentration en mannitol dans les mélanges. La température de transition vitreuse varie de 118.4 °C pour le tréhalose amorphe pur à 22.8 °C pour  $X_{\text{man}} = 0.849$ . L'amplitude du saut de  $C_p$  à la température de transition vitreuse augmente avec la concentration en mannitol dans les mélanges puisque l'amplitude du saut de  $C_p$  à  $T_g$  du mannitol pur est supérieur à celui du tréhalose pur.
- Un phénomène exothermique attribué à la recristallisation des échantillons. Celui-ci est présent pour  $0.653 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ . Le pic de recristallisation se décale rapidement vers les basses températures avec l'augmentation de la concentration en mannitol dans les mélanges. Il est absent pour  $X_{\text{man}} = 0.944$  et pour  $X_{\text{man}} \leq 0.606$ .
- Un phénomène endothermique attribué à la fusion des échantillons. Il est observé pour  $0.653 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ . Le pic de fusion semble avoir deux composantes pour les mélanges dont  $0.653 \leq X_{\text{man}} \leq 0.738$ . Les thermogrammes des mélanges dont la fraction molaire en mannitol est inférieure ou égale à 0.606 ne comportent aucun endotherme de fusion.

Le tableau 3 récapitule les phénomènes thermodynamiques visibles sur les thermogrammes que nous venons de décrire. Le chevauchement de certains phénomènes thermodynamiques et l'aspect mal défini de certains endothermes de fusion rendent difficile l'estimation des enthalpies et des températures dans certains cas.

Fraction molaire de mannitol	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>CR</sub> (°C)	ΔH <sub>CR</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	T <sub>fl</sub> (°C)	ΔH <sub>fl</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	T <sub>f2</sub> (°C)	ΔH <sub>f2</sub> (J.g <sup>-1</sup> )
M <sub>α</sub> cristallin	-	-	-	166.4	274.5	-	-
0.944	-	-	-	163.8	240.0	-	-
0.849	22.8	69.5	92.7	159.6	184.8	-	-
0.814	25.4	75.6	90.3	154.2	157.8	-	-
0.738	31.1	93.8	96.7	?	?	-	-
0.697	35.8	105.3	81.1	139.0	23.4	153.9	35.4
0.653	40.1	119.6	39.5	?	?	151.7	44.3
0.606	44.5	-	-	-	-	-	-
0.503	55.6	-	-	-	-	-	-
0.446	63.1	-	-	-	-	-	-
0.385	69.7	-	-	-	-	-	-
0.320	78.7	-	-	-	-	-	-
0.249	87.1	-	-	-	-	-	-
0.173	99.0	-	-	-	-	-	-
0.090	108.7	-	-	-	-	-	-
1.000	118.4	-	-	-	-	-	-
T <sub>β</sub> cristallin	-	-	-	-	-	207.0	148.9

Tableau IX.3 :

Caractéristiques thermodynamiques des mélanges tréhalose / mannitol fondus puis trempés

(-) : sans objet

(?) : estimation non possible

Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ , les mélanges de tréhalose et de mannitol obtenus par fusion puis trempé de la phase liquide présentent une transition vitreuse unique. Leur température de transition vitreuse se situe entre la température de transition vitreuse du tréhalose amorphe pur et celle du mannitol amorphe pur. Aucune transition vitreuse caractéristique du mannitol pur ou du tréhalose pur n'est détectée. Ces mélanges amorphes présentent un processus de relaxation unique qui atteste que la fusion puis la trempé de la phase liquide ont permis de réaliser des alliages moléculaires hors équilibre thermodynamique et homogènes. Cela met également clairement en évidence que le tréhalose et le mannitol liquides sont parfaitement miscibles.

Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.606$ , les mélanges ne cristallisent pas et ne fondent pas. Ces échantillons restent à l'état amorphe puis à l'état de liquide métastable lors du chauffage. Ce comportement s'oppose à celui des alliages amorphes obtenus à l'état solide qui présentent systématiquement des événements de cristallisation et de fusion lorsqu'ils sont chauffés à la même vitesse. Cela montre que la stabilité des alliages obtenus par trempe thermique est supérieure à celle des alliages obtenus par mécanosynthèse. Cette différence est probablement due à l'existence de germes cristallins résiduels au sein des échantillons cobroyés alors qu'ils sont inexistant dans les liquides trempés.

Pour  $0.653 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ , les mélanges recristallisent et fondent. Les échantillons sont donc trempés mais les alliages ainsi formés sont moins stables que ceux dont  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.606$ .

Pour  $X_{\text{man}} = 0.944$ , le mélange ne présente aucun phénomène de cristallisation. Par contre, l'endotherme de fusion observé sur le thermogramme indique que l'échantillon est cristallin. La vitesse de refroidissement (environ  $20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) a donc été insuffisante pour tremper cet échantillon et éviter la recristallisation.

## **B.2. Evolution des températures de transition vitreuse des mélanges liquides trempés en fonction de la concentration en mannitol – Rationalisation dans le cadre de la loi de Gordon-Taylor**

La figure 6 représente l'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la composition molaire des alliages moléculaires obtenus par trempe de la phase liquide.



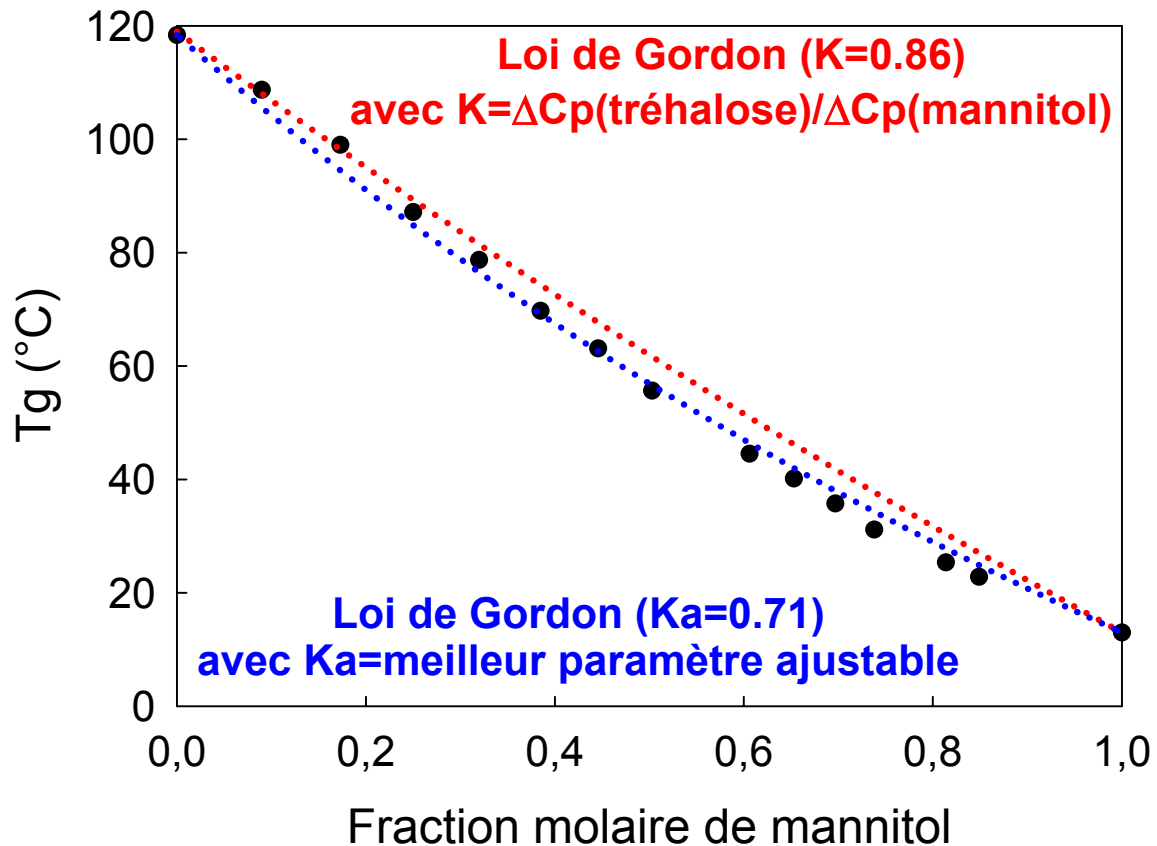


Fig. IX.6 :

Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la fraction molaire de mannitol dans les alliages moléculaires tréhalose / mannitol obtenus par fusion puis trempe de la phase liquide.

La ligne en pointillés bleus représente le meilleur affinement de la loi de Gordon obtenu pour  $K_a = 0.71$ . La ligne en pointillés rouges représente la loi de Gordon obtenue pour  $K = \frac{\Delta C_p(\text{tréhalose})}{\Delta C_p(\text{mannitol})} = 0.86$ , valeur décrivant le comportement d'une solution régulière.

Le Tg du mannitol pur est tiré de Willart et al <sup>[7]</sup>

Les courbes correspondant à l'équation de Gordon-Taylor <sup>[11]</sup> sont tracées pour  $K = 0.86$  et  $K_a = 0.71$ . La première valeur correspond à l'évolution des températures de transition vitreuse dans le cas de mélanges bien décrits par le modèle des solutions régulières. La seconde valeur est obtenue à partir de l'affinement de la loi de Gordon-Taylor reproduisant l'évolution des températures de transition vitreuse expérimentales. Les valeurs de K et de  $K_a$

sont assez proches l'une de l'autre et montrent que l'évolution de la température de transition vitreuse en fonction de la composition dans le système binaire tréhalose/mannitol est bien décrite par le modèle des solutions régulières. Cela indique que l'entropie d'excès de mélange est proche de zéro (ou encore que, dans ce système, l'entropie de mélange est proche de celle d'une solution idéale). Comme pour les alliages obtenus par mécanosynthèse, on en déduit que les interactions entre les molécules de tréhalose et de mannitol doivent être très faibles et qu'il n'y a probablement pas formation de liaisons hydrogène entre les deux types de molécules.

### **C. Comparaison des alliages obtenus par mécanosynthèse avec les alliages obtenus par trempe du liquide**

#### **C.1. Comparaison des solutions solides vitreuses formées par mécanosynthèse et par voie thermique**

La figure 7 superpose les évolutions de la température de transition vitreuse en fonction de la fraction molaire de mannitol pour les alliages moléculaires formés par mécanosynthèse d'une part, et pour les alliages moléculaires formés par fusion puis trempe de la phase liquide d'autre part.

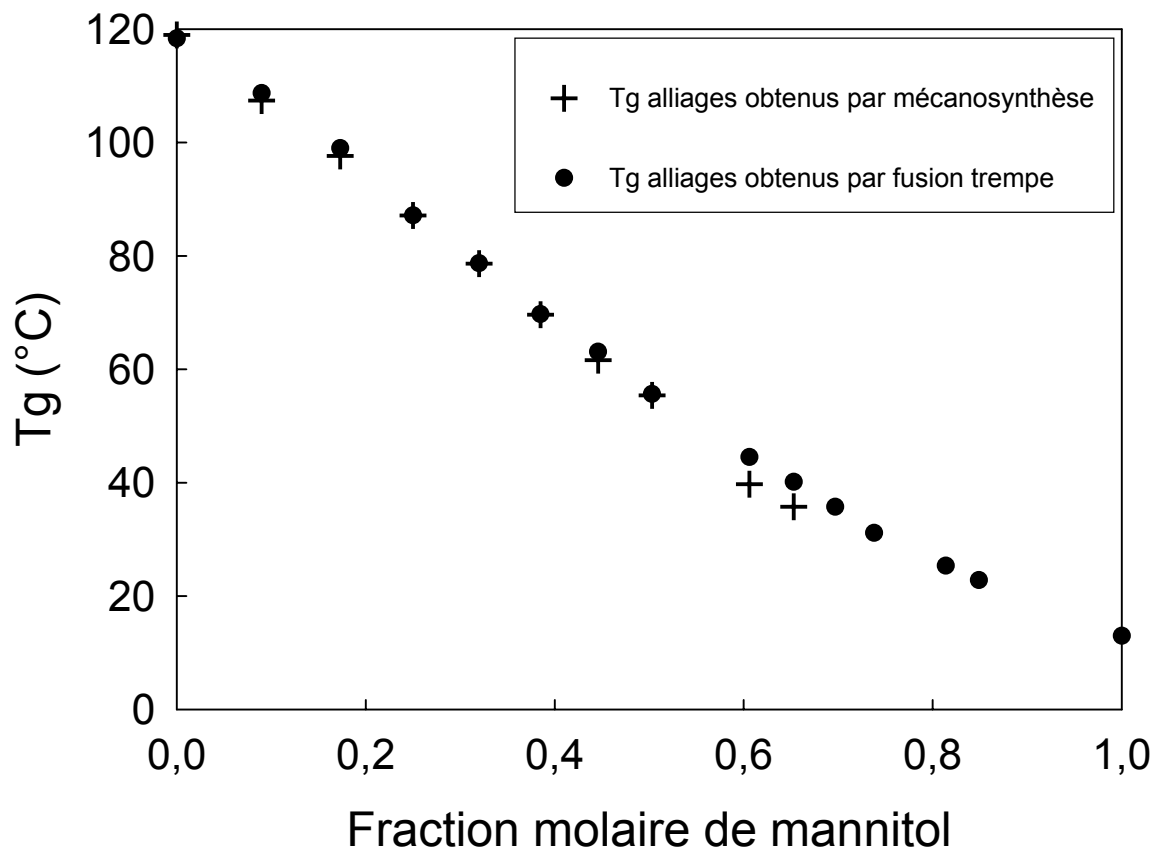


Fig. IX.7 :

Comparaison entre les températures de transition vitreuse des alliages obtenus par mécanosynthèse et les températures de transition vitreuse des alliages obtenus par fusion puis trempe de la phase liquide.

Le Tg du mannitol pur est tiré de Willart et al <sup>[7]</sup>

On constate que les transitions vitreuses se produisent aux mêmes températures pour les alliages formés par ces deux voies. On note cependant quelques faibles différences pour  $X_{\text{man}} = 0.606$  et  $X_{\text{man}} = 0.653$  où les zones de  $T_g$  des alliages formés par mécanosynthèse sont légèrement inférieures aux  $T_g$  des alliages formés par fusion-trempe. Ces différences confirment a posteriori l'hypothèse de l'effet plastifiant de l'eau sur les échantillons obtenus par mécanosynthèse (cf. partie A de ce chapitre). En effet, les alliages formés par trempe du mélange liquide sont totalement exempts d'eau résiduelle puisque, lors de la fusion-trempe, les températures atteintes ne permettent en aucune manière à une fraction d'humidité de subsister. Les températures de transition vitreuse observées sont alors celles d'échantillons parfaitement secs.

Les alliages moléculaires peuvent être obtenus par fusion puis trempe des mélanges liquides pour  $0 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ . Cette limitation est liée à la vitesse de trempe maximale dans la DSC qui est insuffisante pour tremper les échantillons trop riches en mannitol. En effet, il est possible de tremper le mannitol liquide pur par immersion directe dans de l'azote liquide. Par contre, le broyage ne permet pas de réaliser une mécanosynthèse d'alliages pour  $X_{\text{man}} \geq 0.697$ . En effet, pour ces compositions, la température de recristallisation des alliages hypothétiques est vraisemblablement égale ou se situe en dessous de la température ambiante (ce raisonnement se base sur l'évolution des températures de recristallisation observée sur les alliages obtenus par mécanosynthèse). Or, la température à laquelle les mélanges sont broyés est supérieure à la température ambiante (du fait de l'énergie thermique dégagée par les chocs et les frictions des billes entre elles et des billes contre les parois de la jarre). Ainsi, au cours du broyage, les mélanges dont la composition est supérieure à  $X_{\text{man}} = 0.653$  ne peuvent être stabilisés à l'état amorphe et former des alliages par mécanosynthèse. Il serait intéressant de réaliser des cobroyages à différentes températures pour examiner l'effet de la variation de ce paramètre sur la gamme de compositions accessible à la formation des alliages moléculaires par mécanosynthèse.

## C.2. Stabilité des alliages formés par les deux voies

Les alliages formés par mécanosynthèse présentent tous une rupture de métastabilité à des températures supérieures à la température de transition vitreuse. La rupture de métastabilité se produit au travers d'un phénomène de recristallisation des échantillons. L'analyse des thermogrammes des échantillons cobroyés a permis de remonter au diagramme de phases binaire tréhalose  $\beta$  / mannitol  $\alpha$ .

Par contre, les alliages formés par fusion puis trempe de la phase liquide se comportent différemment. Il n'y a pas, en particulier, de rupture de métastabilité après la transition vitreuse pour les alliages obtenus par voie thermique dont  $X_{\text{man}} \leq 0.606$ . Cela montre l'intérêt des alliages obtenus par mécanosynthèse qui, seuls, ont permis l'obtention du diagramme de phases.

Cette différence de comportement à la recristallisation entre les échantillons trempés et les échantillons broyés est presque systématique pour les composés purs. Elle est vraisemblablement due à la présence de germes cristallins résiduels dans les échantillons broyés. Cependant, il a été montré qu'un broyage prolongé du tréhalose <sup>[6]</sup> a donné naissance à un amorphe vitreux ne recristallisant pas au réchauffage. On peut donc penser qu'un cobroyage beaucoup plus long des mélanges tréhalose/mannitol pourrait empêcher la recristallisation au chauffage.

## D. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons étudié la possibilité d'obtenir des solutions solides moléculaires amorphes (vitreuses) de tréhalose et de mannitol, à la fois par mécanosynthèse (c'est-à-dire par cobroyage de poudres cristallines) et par fusion puis trempe des mélanges liquides. Les composés de départ sont le tréhalose  $\beta$  et le mannitol  $\beta$ .

Les résultats obtenus sur la gamme de compositions  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$  ( $X_{\text{man}}$  représente la fraction molaire de mannitol dans les mélanges) montrent qu'il est possible d'obtenir des alliages moléculaires vitreux à la fois par mécanosynthèse et par fusion puis trempe des phases liquides. La formation de ces alliages moléculaires est prouvée en diffraction des rayons X par l'absence totale de raies de Bragg et en DSC par la présence

d'une transition vitreuse unique située entre les transitions vitreuses du tréhalose et du mannitol amorphes purs. Cela prouve que l'on a obtenu, dans les deux cas, une solution solide amorphe homogène caractérisée par un seul processus de relaxation. De plus, les évolutions de la température de transition vitreuse en fonction de  $X_{\text{man}}$  suivent la même loi de Gordon-Taylor, ce qui montre que la dynamique des mélanges vitreux est indépendante de la voie de vitrification.

Aux températures supérieures aux températures de transition vitreuse des mélanges, les alliages cobroyés présentent systématiquement une rupture de métastabilité qui conduit à la recristallisation des échantillons. Par contre, les mélanges liquides trempés ne recristallisent pas au réchauffage. Cela révèle une stabilité plus grande des mélanges liquides trempés. Cette différence est probablement due à l'existence de germes résiduels cristallins dans les mélanges cobroyés ou à un ordre local légèrement différent entre les amorphes obtenus par les deux voies.

Les résultats obtenus sur la gamme de compositions  $0.697 \leq X_{\text{man}} < 1$  montrent que :

- Il n'est plus possible d'obtenir une solution solide amorphe totale par cobroyage. Dans ce cas, les mélanges cobroyés sont constitués d'une fraction cristalline de solution solide riche en mannitol  $\alpha$  et d'une fraction amorphe. De plus, pour  $0.697 \leq X_{\text{man}} \leq 0.849$ , la fraction amorphe présente deux zones de transition vitreuse bien distinctes. Une première se situe entre 33 °C et 37 °C tandis que la seconde se situe entre 98 °C et 105 °C. Tout se passe donc comme si deux types d'amorphe coexistaient : un amorphe riche en mannitol et un amorphe riche en tréhalose. Ces échantillons recristallisent également au chauffage.
- A la différence des mélanges cobroyés, les mélanges liquides trempés continuent de former des solutions solides vitreuses homogènes dans toute cette gamme de compositions.

La recristallisation systématique des mélanges tréhalose/mannitol **cobroyés** (contrairement aux mélanges liquides trempés qui ne recristallisent pas à toutes les compositions) permet d'établir le diagramme de phases du système métastable tréhalose  $\beta$ /mannitol  $\alpha$  (cf. figure 4). Ce diagramme se présente comme un diagramme à eutectique

simple dont les constituants sont partiellement miscibles à l'état solide (avec des domaines de solutions solides cristallines respectivement riches en  $T_\beta$  et riches en  $M_\alpha$ ) et totalement miscibles à l'état liquide.

La biodisponibilité de principes actifs est souvent bien meilleure à l'état amorphe qu'à l'état cristallin. C'est la raison pour laquelle la formulation des médicaments à l'état amorphe est un objectif important du génie pharmaceutique. Ce mode de formulation est cependant limité par la stabilité moindre de l'état amorphe par rapport à l'état cristallin. La synthèse d'alliages vitreux à partir d'un principe actif possédant une température de transition vitreuse basse (inférieure à la température ambiante) et d'un excipient possédant, au contraire, une température de transition vitreuse haute (supérieure à la température ambiante) garantit une meilleure stabilité du principe actif à l'état amorphe et permet d'envisager la formulation de médicaments dans cet état.

De ce point de vue, la possibilité de former des alliages vitreux par mécanosynthèse est très intéressante puisque, contrairement à la synthèse d'alliages par d'autres voies, elle est applicable à des composés susceptibles de subir des dégradations thermiques. Nous serons confrontés à cette situation dans le cas du système lactose/mannitol (présenté dans le chapitre suivant).

#### **Remarque sur le rôle de la température de broyage par rapport à la transition vitreuse du système :**

Les études concernant les transformations physiques induites par broyage mécanique qui sont publiées dans la littérature permettent de dégager les tendances suivantes :

- Le broyage des formes cristallines réalisé en dessous de la température de transition vitreuse du composé engendre, le plus souvent, une transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre <sup>[15]</sup>. C'est le cas, par exemple, du  $\alpha$ -lactose anhydre stable (chapitre IV) et du tréhalose  $\beta$  <sup>[6]</sup> (chapitre VIII) étudiés dans cette thèse. C'est aussi le cas de l'indométhacine ( $T_g = 42$  °C) fortement broyée à 4 °C <sup>[16]</sup> ou cryobroyée <sup>[17]</sup>.

- Le broyage des formes cristallines réalisé au-dessus de la température de transition vitreuse conduit au contraire à des transformations polymorphiques. Le broyage des formes  $\beta$  et  $\delta$  du mannitol illustre ce fait (chapitre VIII). C'est également le cas du sorbitol  $\Gamma$  <sup>[18]</sup>, de la forme I de la sulfamérazine <sup>[19]</sup> et de la fanansérine <sup>[20]</sup>.

L'origine de ces différences de comportements n'a encore jamais été étudiée en détail en raison de la difficulté de réaliser des opérations de broyage mécanique à température variable contrôlée. En effet, les appareils de broyage commerciaux fonctionnent généralement soit à température ambiante soit à la température de l'azote liquide. Cependant, des études de broyage réalisés à quelques températures différentes ont été effectuées au laboratoire sur l'indométhacine <sup>[21]</sup> et la fanansérine <sup>[20]</sup>. Elles ont permis de confirmer ces tendances.

Les investigations présentées dans ce chapitre ont permis de tester indirectement ces tendances, non pas en modifiant la température de broyage, mais en modifiant la zone de transition vitreuse de l'échantillon par changement de composition chimique. Les résultats montrent que, lorsque le domaine de températures de transition vitreuse est supérieur à la température de broyage, on assiste à une amorphisation complète de l'échantillon ( $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.653$ ). Par contre, lorsque  $T_g$  est inférieure à la température de broyage, on observe une transformation polymorphique cristal  $\rightarrow$  cristal ( $0.738 \leq X_{\text{man}} \leq 1.000$ ). La température de transition vitreuse semble donc être effectivement un paramètre essentiel qui gouverne la dualité amorphisation / transformation polymorphique lors des opérations de broyage. Il faut cependant noter qu'il n'est pas le seul. En effet, des investigations réalisées au laboratoire par Sylvain Desprez <sup>[21]</sup> montrent que, lorsque le broyage est réalisé à une température proche de la température de transition vitreuse, la nature de la transformation observée est sensible à l'intensité de broyage. Une intensité de broyage forte provoque une amorphisation tandis qu'une intensité de broyage faible entraîne une transformation polymorphique d'une phase cristalline vers une autre phase cristalline.



## Références

- 1 J. Font, J. Muntasell, E. Cesari, and J. Pons, *Preparation of molecular alloys by the ball-milling technique*, Journal of Materials Research **11**, 1069 (1996)
- 2 M. Nagahama, H. Suga, and O. Andersson, *Formation of molecular alloys by solid-state vitrification*, Thermochemica acta **363**, 165 (2000)
- 3 M. Nagahama and H. Suga, *Molecular alloys formed by solid-state vitrification*, Journal of Molecular Liquids **95**, 261 (2002)
- 4 J. F. Willart, V. Caron, R. Lefort, F. Danede, D. Prevost, and M. Descamps, *Athermal character of solid state amorphization of lactose induced by ball milling*, Solid State Communications **132**, 693 (2004)
- 5 J. Font, J. Muntasell, E. Cesari, and J. Pons, *Solid-state mechanical alloying of plastic crystals*, Journal of Materials Research **12**, 3254 (1997)
- 6 J. F. Willart, A. De Gusseme, S. Hemon, G. Odou, F. Danede, and M. Descamps, *Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling*, Solid State Communications **119**, 501 (2001)
- 7 J.-F. Willart, N. Descamps, V. Caron, F. Capet, F. Danède, and M. Descamps, *Formation of lactose-mannitol molecular alloys by solid state vitrification*, Solid State Communications **138**, 194 (2006)
- 8 R. Lefort, A. De Gusseme, J. F. Willart, F. Danede, and M. Descamps, *Solid state NMR and DSC methods for quantifying the amorphous content in solid dosage forms: an application to ball-milling of trehalose*, International Journal of Pharmaceutics **280**, 209 (2004)
- 9 E. Dudognon, J.-F. Willart, V. Caron, F. Capet, T. Larsson, and M. Descamps, *Formation of budesonide/ $\alpha$ -lactose glass solutions by ball-milling*, Solid State Communications **138**, 68 (2006)
- 10 G. Adam and J. H. Gibbs, *On the temperature dependence of cooperative relaxation properties in glass-forming liquids*, Journal of Chemical Physics **43**, 139 (1965)
- 11 J. M. Gordon, G. B. Rouse, J. H. Gibbs, and W. M. Risen, Jr., *The composition dependence of glass transition properties*, Journal of Chemical Physics **66**, 4971 (1977)
- 12 K. Takeda, K. Murata, and S. Yamashita, *Thermodynamic investigation of glass transition in binary polyalcohols*, Journal of Non Crystalline Solids **231**, 273 (1998)

- 13 K. Takeda, K. Murata, and S. Yamashita, *Thermodynamic study of the glass transition in polyamine-polyalcohol mixtures : Entropy-theoretical interpretation of anomalous glass transition behavior*, J. Phys. Chem. B **103**, 3457 (1999)
- 14 P. Claudy, *Analyse calorimétrique différentielle*, Paris, 2005).
- 15 I. Tsukushi, O. Yamamuro, and T. Matsuo, *Solid state amorphization of organic molecular crystals using a vibrating mill*, Solid State Communications **94**, 1013 (1995)
- 16 M. Otsuka, T. Matsumoto, and N. Kaneniwa, *Effect of environmental temperature on polymorphic solid-state transformation of indomethacin during grinding.*, Chem. Pharm Bull(Tokyo) **34**, 1784 (1986)
- 17 K. J. Crowley and G. Zografi, *Cryogenic grinding of indomethacin polymorphs and solvates: assessment of amorphous phase formation and amorphous phase physical stability.*, Journal of Pharmaceutical Sciences **91**, 492 (2002)
- 18 J.-F. Willart, J. Lefebvre, F. Danede, S. Comini, P. Looten, and M. Descamps, *Polymorphic transformation of the gamma-form of D-sorbitol upon milling: structural and nanostructural analyses*, Solid State Communications **135**, 519 (2005)
- 19 G. G. Zhang, C. Gu, M. T. Zell, R. T. Burkhardt, E. J. Munson, and D. J. Grant, *Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs*, Journal of Pharmaceutical Sciences **91**, 1089 (2002)
- 20 A. De Gusseme, *Transformations de Phases à l'état solide de matériaux pharmaceutiques: la fanansérine et le tréhalose*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2003)
- 21 S. Desprez, *Transformations de phases induites par broyage dans un composé moléculaire: l'indométhacine*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2004)

## **CHAPITRE X**

### **Alliages moléculaires lactose/mannitol**

Dans ce chapitre, nous testons la possibilité de réaliser des alliages moléculaires lactose/mannitol par mécanosynthèse. Contrairement au tréhalose étudié au chapitre précédent, le  $\alpha$ -lactose subit une forte mutarotation et une dégradation chimique lors de sa fusion. De ce fait, il est impossible d'obtenir des alliages amorphes lactose/mannitol par fusion puis trempe des mélanges liquides <sup>[1]</sup>. Le cobroyage du  $\alpha$ -lactose anhydre stable et du mannitol  $\beta$  cristallins présente donc ici tout son intérêt.

Dans la section A, nous présentons les résultats obtenus sur les cobroyages lactose/mannitol et nous décrivons l'évolution de la transition vitreuse des mélanges cobroyés. Dans la section B, nous étudions la rupture de métastabilité des mélanges cobroyés et nous établissons le diagramme de phases binaire du système lactose ( $\alpha/\beta$ ) /mannitol  $\alpha$ . Les résultats obtenus sur le système lactose/mannitol et ceux obtenus sur le système tréhalose/mannitol sont comparés dans la section C.

### **A. Cobroyages de mélanges de $\alpha$ -lactose anhydre stable et de mannitol $\beta$ - Evolution des températures de transition vitreuse en fonction de la composition**

Les mélanges physiques sont préparés en mêlant de la poudre cristalline de mannitol  $\beta$  avec de la poudre cristalline de  $\alpha$ -lactose anhydre stable dans les proportions désirées. La quantité introduite dans les jarres est systématiquement de 1 gramme de mélange. Les mélanges de lactose et de mannitol sont cobroyés pendant 12 heures au sein du broyeur planétaire avant caractérisation. Les broyages sont composés d'une succession de cycles comprenant 20 minutes de broyage séparées de 10 minutes de pause afin de limiter les élévations de température lors du broyage. Le lactose étant particulièrement hygroscopique, les broyages sont réalisés en atmosphère sèche.

La figure 1 présente les caractéristiques structurales et thermodynamiques des mélanges cobroyés pour différentes fractions molaires de mannitol ( $X_{\text{man}}$ ).

### **A.1. Etude par diffraction des rayons X sur poudre**

La figure 1a présente les diffractogrammes enregistrés après cobroyage de mélanges lactose/mannitol. Le diffractogramme du mannitol  $\alpha$  cristallin pur a été ajouté pour comparaison.

Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.385$ , les diffractogrammes des mélanges cobroyés présentent uniquement un halo diffus. Aucune raie de Bragg traduisant la présence de phases cristallines n'est visible. Ces échantillons sont donc, du point de vue des rayons X, totalement amorphes.

Pour  $X_{\text{man}} \geq 0.653$ , les diffractogrammes des mélanges présentent des raies de Bragg qui ne disparaissent pas au broyage. Ces raies correspondent clairement à la phase cristalline  $\alpha$  du mannitol. Aucune trace de raies de Bragg provenant d'une autre forme cristalline du mannitol ou d'une forme cristalline du lactose n'est décelée. Les raies de Bragg caractéristiques du mannitol  $\alpha$  sont cependant assez larges et peu intenses. Nous en concluons que le broyage a provoqué l'amorphisation totale de la fraction initialement cristalline de lactose et l'amorphisation d'une partie de la fraction cristalline de mannitol  $\beta$ . La fraction de mannitol qui n'a pas été stabilisée à l'état amorphe a subi une conversion polymorphique complète de la forme stable  $\beta$  vers la forme métastable  $\alpha$ . Cette transformation est également observée lors du broyage du mannitol  $\beta$  pur (cf. chapitre VIII)

### **A.2. Caractérisation thermodynamique des mélanges cobroyés**

La figure 1b présente les flux de chaleur réversibles obtenus par MDSC au chauffage ( $5 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) des mélanges de lactose et de mannitol cobroyés. La zone de températures représentée est comprise entre les températures de transition vitreuse du lactose et du mannitol amorphes.

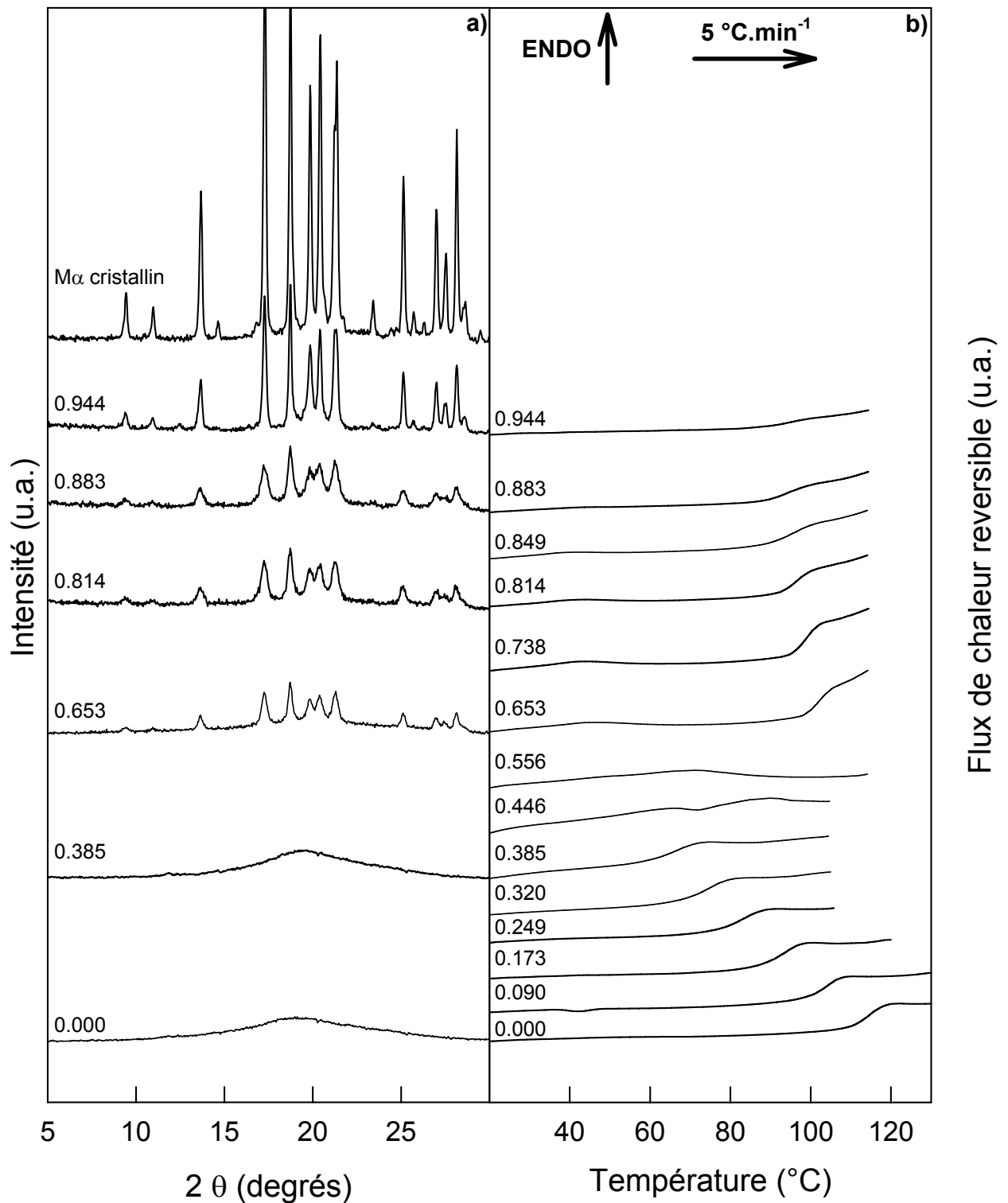


Fig.X.1 :

Etats structural et thermodynamique des mélanges binaires  $\alpha$ -lactose / mannitol  $\beta$  après 12 heures de cobroyage. Les compositions sont exprimées en fraction molaire de mannitol ( $X_{man}$ ).

- a) Diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre enregistrés à température ambiante. Le diagramme du mannitol  $\alpha$  cristallin a été ajouté pour comparaison.
- b) Partie réversible des thermogrammes obtenus au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) par MDSC. Amplitude de modulation :  $0,796\text{ °C}$  / Période de modulation : 60 secondes

Pour  $X_{\text{man}} = 0.000$ , Le thermogramme met en évidence un saut de chaleur spécifique, caractéristique de la transition vitreuse du lactose pur, à 115.0 °C.

Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.385$ , les thermogrammes présentent un saut de  $C_p$  unique dont la température est comprise entre les températures de transition vitreuse du lactose et du mannitol amorphes. La température de transition vitreuse de ces mélanges se décale rapidement vers les basses températures avec l'augmentation de la concentration en mannitol. De plus, l'amplitude du saut de  $C_p$  augmente légèrement avec la concentration en mannitol. Cette évolution est parfaitement cohérente avec le fait que le saut de  $C_p$  du mannitol amorphe ( $\Delta C_p = 231.4 \text{ J.mol}^{-1}.\text{°C}^{-1} = 1.27 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ ) [2] est plus important que celui du lactose amorphe ( $\Delta C_p = 160.8 \text{ J.mol}^{-1}.\text{°C}^{-1} = 0.47 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$ ) [1].

Pour  $X_{\text{man}} = 0.446$  et  $X_{\text{man}} = 0.556$ , aucune transition vitreuse n'est visible.

Pour  $0.653 \leq X_{\text{man}} \leq 0.883$ , les thermogrammes révèlent une augmentation légère du flux de chaleur réversible autour de 30-35 °C qui pourrait être un signe de transition vitreuse. On note également la présence d'un saut de  $C_p$  beaucoup plus marqué, caractéristique d'une transition vitreuse, dans la gamme de températures comprises entre 95 °C et 103 °C.

Pour  $X_{\text{man}} = 0.944$ , le thermogramme met en évidence un saut de  $C_p$  à 95 °C.

Les températures de transition vitreuse des mélanges sont regroupées dans le tableau X.1.

<b>Fraction molaire de mannitol</b>	<b>Tg (°C)</b>
0.000	115.0
0.090	103.8
0.173	93.8
0.249	84.1
0.320	74,5
0.385	67.31
0.446	?
0.556	?
0.653	102.5
0.738	99.6
0.814	97.1
0.849	94.8
0.883	94.5
0.944	95.0
1.000	13.0*

Tableau X.1 :  
Températures de transition vitreuse des mélanges lactose / mannitol broyés  
(?) : estimation non possible  
(\*): tirée de Willart et al <sup>[2]</sup>

### **A.3. Rationalisation de l'évolution de la transition vitreuse des alliages moléculaires lactose/mannitol dans le cadre de la loi de Gordon et al**

Les thermogrammes des mélanges cobroyés  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.385$  mettent en évidence une transition vitreuse unique dont la température est comprise entre la température de transition vitreuse du mannitol amorphe pur et celle du lactose amorphe pur. Ces résultats indiquent que le cobroyage a permis de réaliser de véritables solutions solides amorphes. Ces alliages moléculaires hors équilibre présentent une relaxation interne unique qui prouve que les composés ont été mélangés à l'échelle moléculaire pour donner une solution solide vitreuse homogène <sup>[2-5]</sup>. Nous avons reporté sur la figure 2 l'évolution de la température de transition vitreuse de ces alliages moléculaires en fonction de la fraction molaire de mannitol.



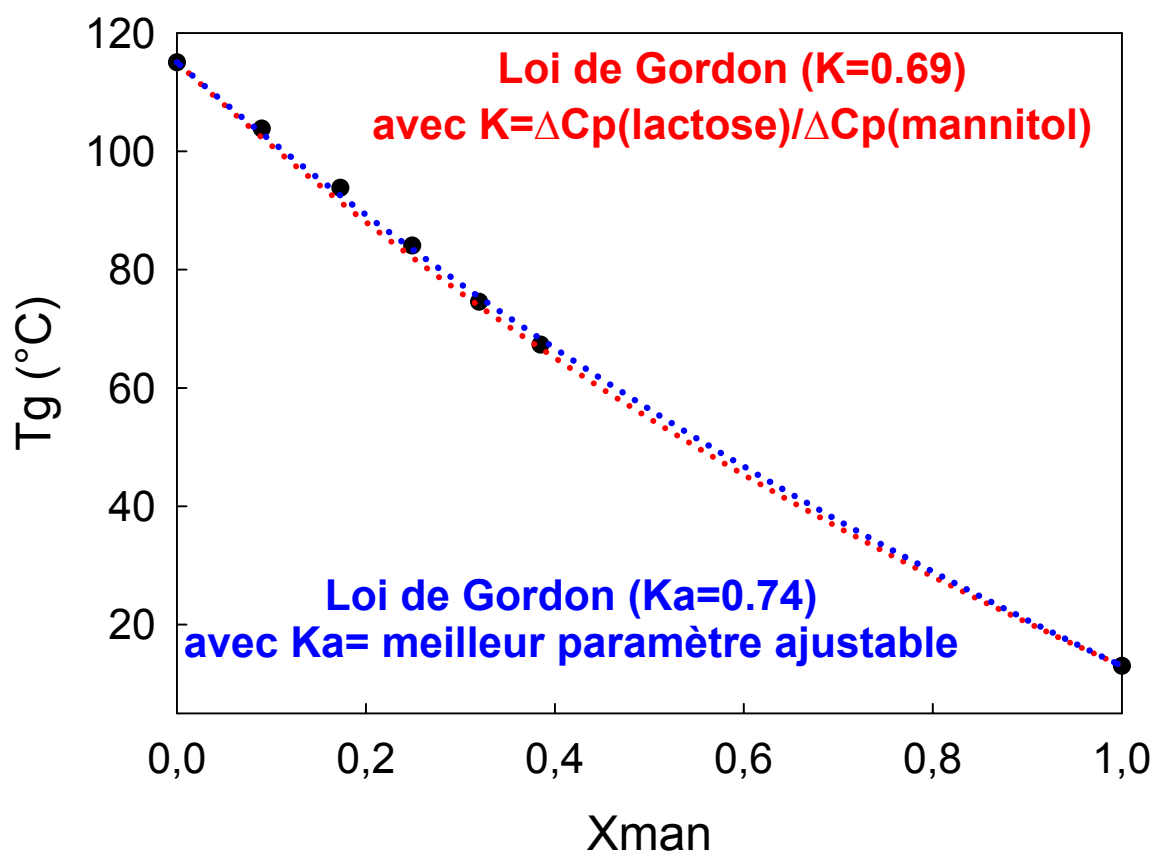


Fig. X.2 :

Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la fraction molaire de mannitol dans les alliages moléculaires lactose / mannitol obtenus par mécanosynthèse.

La ligne en pointillés bleus représente le meilleur affinement de la loi de Gordon obtenu pour  $K_a = 0.74$ . La ligne en pointillés rouges représente la loi de Gordon obtenue pour  $K = \frac{\Delta C_p(\text{lactose})}{\Delta C_p(\text{mannitol})} = 0.69$ , valeur décrivant le comportement d'une solution régulière

La légère déviation négative de l'évolution des températures de transition vitreuse en fonction de la concentration s'interprète, dans le cadre de la théorie d'Adam et Gibbs <sup>[6]</sup>, comme une accélération de la dynamique moléculaire due au mélange des deux types de molécules. Les courbes en pointillés, représentées sur la figure 2, permettent de situer les données expérimentales par rapport à la loi de Gordon et al <sup>[7]</sup> (cf. chapitre I et IX). La courbe

rouge est obtenue pour  $K = 0.69$ , constante non ajustable donnée par le rapport entre les sauts de  $C_p$  du lactose et du mannitol :

$$K = \frac{\Delta CP_{LACTOSE}}{\Delta CP_{MANNITOL}} = 0.69$$

La courbe bleue correspond à la loi de Gordon dans laquelle le paramètre  $K_a$  est considéré comme un paramètre ajustable. La valeur de  $K_a$  est donnée par le meilleur affinement reproduisant les données expérimentales. Celle-ci ( $K_a = 0.71$ ) est remarquablement proche de la valeur théorique de  $K$ . L'écart très faible entre ces deux valeurs signifie que les alliages moléculaires de lactose et de mannitol sont bien décrits par le modèle des solutions régulières stipulant que l'entropie d'excès de mélange est nulle. Ainsi, les interactions entre les molécules de lactose et les molécules de mannitol sont très faibles. En particulier, il n'y a probablement pas formation de liaisons hydrogène entre les deux types de molécules <sup>[8]</sup>. En effet, la formation de telles liaisons provoque souvent un ralentissement de la dynamique moléculaire entraînant une déviation positive de l'évolution des températures de transition vitreuse en fonction de la concentration dans les mélanges par rapport à une évolution linéaire <sup>[9]</sup>.

L'évolution expérimentale des températures de transition vitreuse des mélanges en fonction de la fraction molaire de mannitol n'est tracée que jusque  $X_{\text{man}} = 0.385$ . Pour  $X_{\text{man}} \geq 0.446$ , les données expérimentales montrent qu'il n'est plus possible de former une solution solide vitreuse homogène. Cela est cohérent avec le fait que ces mélanges présenteraient une température de transition vitreuse inférieure à la température de broyage s'ils étaient totalement vitrifiés. Par analogie avec ce qui a été proposé pour les alliages tréhalose/mannitol, on en déduit que, dans les conditions expérimentales de cette étude, les mélanges cobroyés ne peuvent être stabilisés à l'état amorphe pour  $X_{\text{man}} \geq 0.446$ . L'amorphisation de ces mélanges est donc partielle.

## **B. Rupture de métastabilité des mélanges cobroyés et construction du diagramme de phases binaire du système lactose/mannitol**

### **B.1. Rupture de métastabilité des mélanges cobroyés**

La figure 3a présente les thermogrammes obtenus au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) dans les zones de recristallisation et de fusion des mélanges cobroyés lactose/mannitol.

Les thermogrammes présentent les caractéristiques thermodynamiques suivantes :

- Un exotherme attribué à la recristallisation des échantillons. On constate une évolution en deux étapes. Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.385$ , la température à laquelle se produit la recristallisation diminue avec l'augmentation de la concentration en mannitol. A l'inverse, pour  $0.446 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ , le phénomène de recristallisation se décale vers les hautes températures lorsque la concentration en mannitol s'accroît.
- Des endothermes attribués à la fusion des échantillons. Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.173$ , un seul pic de fusion est visible. Il se décale vers les basses températures et son enthalpie diminue avec l'augmentation de la concentration en mannitol. A partir de  $X_{\text{man}} = 0.249$ , un second endotherme, situé à plus basse température que le premier, apparaît. L'enthalpie de cet endotherme augmente avec la concentration en mannitol. Par contre, la température à laquelle il apparaît est insensible aux changements de concentration. L'endotherme situé à plus haute température poursuit son glissement vers les basses températures et son enthalpie continue de diminuer avec l'augmentation de la concentration en mannitol. Il finit par rejoindre le pic de fusion qui se produit à température constante à  $X_{\text{man}} = 0.814$ . Pour  $0.814 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ , un seul pic de fusion est visible. Il se décale légèrement vers les hautes températures avec l'augmentation de la concentration en mannitol.

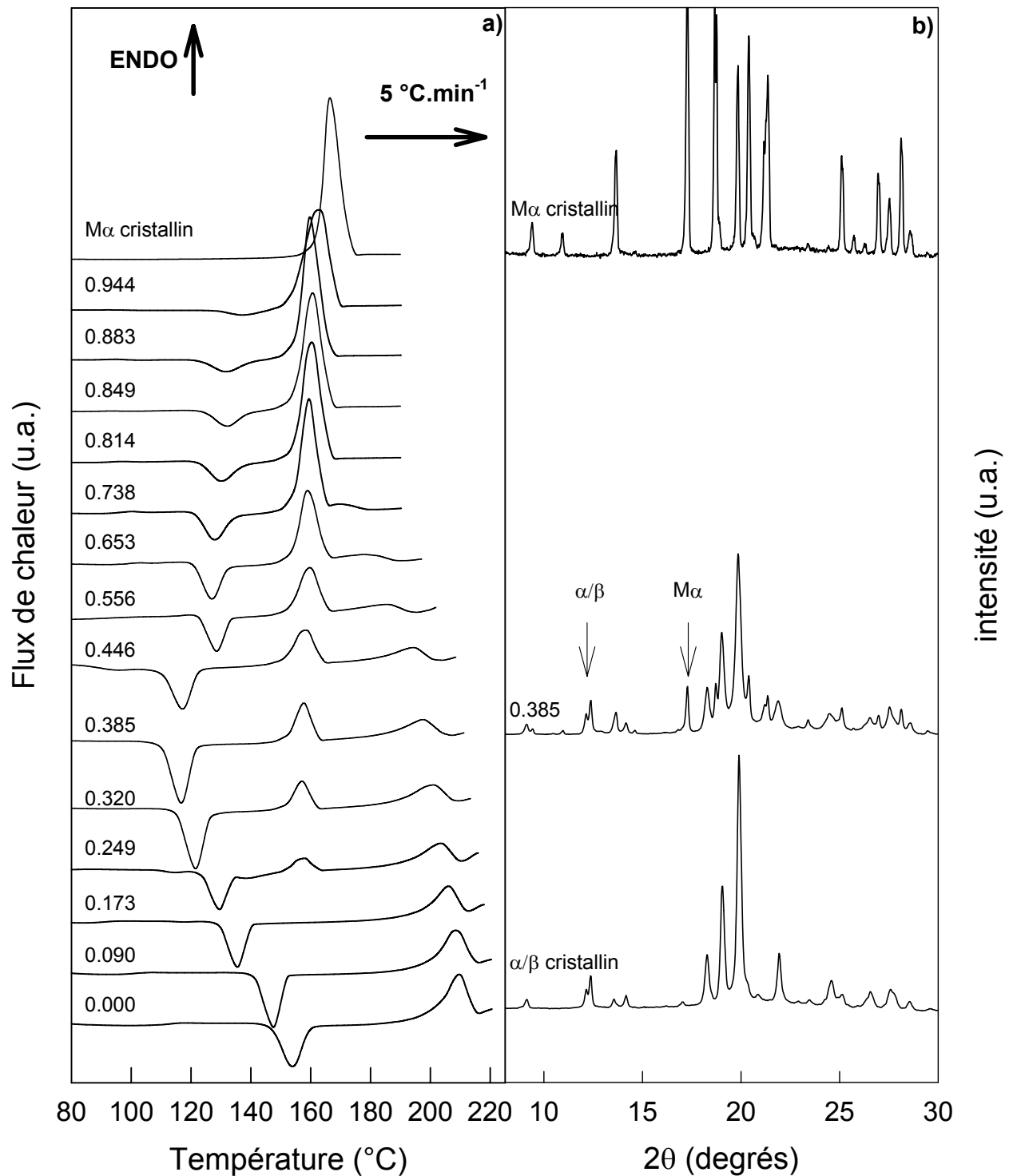


Fig.X.3 :

a) Thermogrammes obtenus au chauffage ( $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) par MDSC des mélanges binaires  $\alpha$ -lactose / mannitol  $\beta$  après 12 heures de cobroyage. Les compositions sont exprimées en fraction molaire de mannitol ( $X_{\text{man}}$ ).

Amplitude de modulation :  $0,796\text{ °C}$  / Période de modulation : 60 secondes.

b) Diagramme de diffraction des rayons X sur poudre du mélange  $X_{\text{man}} = 0.385$  enregistré à température ambiante après avoir chauffé l'échantillon dans la zone de recristallisation rapide. Les diagrammes du  $M\alpha$  et du lactose  $\alpha/\beta$  cristallins ont été ajoutés pour comparaison.

Les données concernant les phénomènes thermodynamiques décrits ci-dessus sont présentées dans le tableau 2. Le chevauchement de certains événements thermodynamiques et les problèmes de dégradations thermiques liés au chauffage du lactose rendent difficiles l'estimation des différents accidents enthalpiques.

Fraction molaire de mannitol	T <sub>CR1</sub> (°C)	ΔH <sub>CR1</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	T <sub>CR2</sub>	ΔH <sub>CR2</sub>	T <sub>f1</sub> (°C)	ΔH <sub>f1</sub> (J.g <sup>-1</sup> )	T <sub>f2</sub> (°C)	ΔH <sub>f2</sub> (J.g <sup>-1</sup> )
0.000	153.8	77.2	-	-	209.4	108.1	-	-
0.090	147.5	78.8	-	-	208.0	100.9	-	-
0.173	117.6	0.7	135.5	65.3	205.8	77.2	-	-
0.249	114.3	1.9	129.5	48.9	156.6	34.9	203.1	67.2
0.320	121.5	91.5	-	-	157.0	46.7	200.5	67.0
0.385	116.7	93.2	-	-	157.6	63.3	197.3	61.5
0.446	94.1	4.1	117.2	66.4	158.07	80.9	194.1	45.7
0.556	128.5	49.6	-	-	159.6	91.2	185.7	23.7
0.653	127.0	55.7	-	-	158.9	125.6	179.0	13.3
0.738	127.9	58.6	-	-	159.4	168.9	171.7	4.8
0.814	130.1	46.3	-	-	160.3	211.9	-	-
0.849	132.2	35.3	-	-	160.6	211.5	-	-
0.883	131.6	27.9	-	-	159.7	221.2	-	-
0.944	137.0	10.5	-	-	162.7	232.1	-	-
1.000	-	-	-	-	166.4	260.8	-	-

Tableau X.2. :  
Caractéristiques thermodynamiques des mélanges lactose/mannitol broyés  
(-) : sans objet

La figure 3b reproduit le diffractogramme du mélange  $X_{\text{man}} = 0.385$  enregistré à température ambiante après avoir chauffé l'échantillon jusque la température de recristallisation. Les diffractogrammes du  $M_{\alpha}$  et du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  ont été également reportés à titre de comparaison. Les raies de Bragg du diffractogramme du mélange  $X_{\text{man}} = 0.385$  recristallisé indiquent qu'il y a deux phases cristallines. L'une est le  $M_{\alpha}$  ; l'autre, le composé équimolaire  $\alpha/\beta$ . Les deux formes cristallines qui ont recristallisé à partir de l'alliage amorphe sont donc identiques à celles qui se développent individuellement à partir des composés amorphe purs.

Les résultats obtenus sur le mélange  $X_{\text{man}} = 0.385$  et sur le système tréhalose/mannitol permettent de comprendre l'évolution des phénomènes thermodynamiques en fonction de la concentration dans les mélanges du système lactose/mannitol :

- Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.173$ , les mélanges présentent une fusion unique dont la température diminue et s'éloigne de la température de fusion du composé équimolaire  $\alpha/\beta$  pur. Ce comportement est caractéristique de la formation d'une solution solide cristalline dans laquelle les molécules de mannitol sont incorporées dans le réseau cristallin du lactose  $\alpha/\beta$ .
- Pour  $0.249 \leq X_{\text{man}} \leq 0.738$ , le pic de fusion qui apparaît autour de  $159\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se développe avec l'augmentation de la concentration en mannitol, et dont la température de fusion est indépendante de la composition des mélanges, rappelle la fusion du composé eutectique biphasé observé sur le système tréhalose/mannitol. Le diffractogramme du mélange  $X_{\text{man}} = 0.385$  recristallisé confirme la présence de deux phases. Il y a donc également formation d'un constituant eutectique biphasé dans le système lactose/mannitol. Le second pic de fusion est attribué à la fusion de la solution solide riche en lactose. Il apparaît comme une légère bosse endothermique juste après l'endotherme de fusion de l'eutectique sur le thermogramme du mélange  $X_{\text{man}} = 0.738$ . Cela signifie que l'on s'approche de la composition eutectique.
- Pour  $0.814 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ , on note de nouveau la présence d'un pic de fusion unique. Sa température est déprimée par rapport à celle du mannitol  $\alpha$  cristallin pur. On en déduit qu'il y a formation de solution solide cristalline dans laquelle les molécules de lactose sont incorporées au réseau cristallin du mannitol  $\alpha$ . Cette solution solide coexiste vraisemblablement avec une fraction de constituant eutectique biphasé sur un certain domaine de compositions compris entre 0.814 et 0.944. Cependant, la proximité des fusions de l'eutectique et de la solution solide cristalline riche en mannitol ne permet pas de les distinguer par DSC.

## B.2. Diagramme de phases lactose ( $\alpha/\beta$ ) / mannitol $\alpha$

Les données fournies par les thermogrammes des mélanges de lactose et de mannitol de la figure 3 permettent de reconstituer le diagramme de phases binaire du système lactose ( $\alpha/\beta$ ) / mannitol  $\alpha$ . Celui-ci est représenté sur la figure 4.

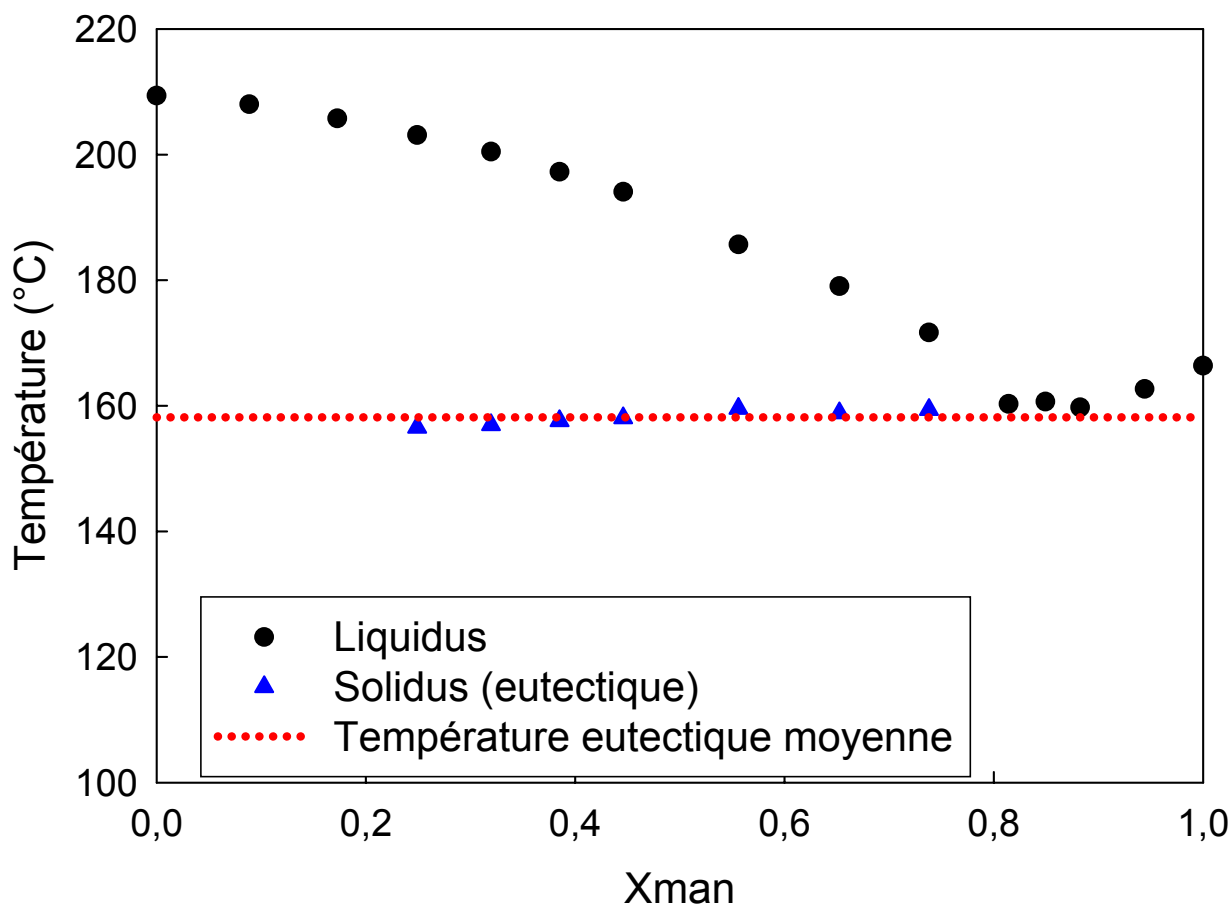


Fig. X. 4 :  
Diagramme de phases molaire du système métastable binaire ( $\alpha/\beta$ ) /  $M_\alpha$ .  
Le liquidus et le solidus ont été obtenus à partir de l'analyse des courbes de DSC présentées  
Fig. X.3

L'aspect de ce diagramme est semblable à celui d'un diagramme à eutectique simple dont les constituants seraient partiellement miscibles à l'état solide.

Certaines remarques concernant ce diagramme s'imposent :

- La partie du solidus tracé dans la zone de compositions comprise entre le lactose pur et la composition eutectique est uniquement constituée des points obtenus par la fusion de l'eutectique. En effet, la conductivité thermique et le volume des échantillons ne permettent pas à l'ensemble de la matière chauffée d'être à la même température à l'instant  $t$ . De plus, les échantillons se présentent sous forme de poudre polycristalline, ce qui conduit à des températures de fusion légèrement différentes d'un cristallite à l'autre selon leur microstructure. En conséquence, les pics de fusion correspondant aux solutions solides et aux corps purs sont larges. Il est donc préférable de ne pas tracer le solidus issu de la fusion des solutions solides car les sources d'erreurs sont trop importantes.
- Les courbes de DSC des mélanges dont la composition est comprise entre la composition eutectique et le mannitol pur ne permettent pas de distinguer la fusion de l'eutectique de la fusion des solutions solides riches en mannitol. Les températures de fusion des solutions solides et de l'eutectique sont en effet trop proches pour être différenciées. Le triangle de Tammann (cf. chapitre I), qui aurait permis de déterminer à la fois la composition à laquelle le mélange recristallise totalement en constituant eutectique biphasé et le domaine d'existence en compositions de ce constituant, ne peut donc être établi. Cependant, d'après les prolongements des liquidus issus de  $M_\alpha$  et du composé équimolaire  $\alpha/\beta$ , la composition pour laquelle la cristallisation se produit totalement vers le constituant eutectique biphasé se situe vraisemblablement dans la zone  $0.738 \leq X_{\text{man}} \leq 0.883$ .
- Ce diagramme a été tracé à partir des résultats obtenus sur un nombre nécessairement limité d'expériences. Il serait intéressant de les compléter en étendant les mesures à d'autres concentrations pour voir si certaines transformations ne seraient pas absentes du diagramme proposé ici (formation de



composé défini...). Dans ce cas, le diagramme serait plus complexe qu'un diagramme à eutectique simple.

- Les expériences de DSC ont été réalisées à une vitesse de chauffe de  $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Il se pourrait que cette vitesse soit trop élevée pour permettre au système d'être à tout instant à l'équilibre thermodynamique (condition nécessaire pour l'obtention d'un diagramme de phases correct). Il serait prudent de refaire ces mesures avec des rampes en température les plus petites possibles. Certaines transformations dont la cinétique est lente pourraient ne pas se produire à une rampe de température élevée. Dans ces conditions, le diagramme de phases proposé s'écarterait du diagramme de phases à l'équilibre thermodynamique <sup>[10]</sup>.

### **C. Interprétations en termes d'alliages forcés des résultats obtenus sur les systèmes tréhalose/mannitol et lactose/mannitol**

La confrontation des figures IX.1 et X.1, relatives aux effets du cobroyage du mannitol avec respectivement le tréhalose et le lactose, met en évidence des comportements communs qui révèlent les états physiques atteints sous broyage ou immédiatement après la cessation de celui-ci :

- *à faible concentration en mannitol* ( $0.000 < X_{\text{man}} < 0.385$  pour les mélanges lactose/mannitol,  $0.000 < X_{\text{man}} < 0.653$  pour les mélanges tréhalose/mannitol), on observe un état amorphe et la présence d'une transition vitreuse dont la zone de température diminue rapidement quand la concentration augmente. Cette évolution est représentée sur les courbes de Gordon Taylor (cf figures IX.2 et X.2). Cela montre que le broyage entraîne une amorphisation homogène de l'échantillon avec une évolution de  $T_g$  en fonction de la concentration analogue à ce que l'on pourrait attendre d'une solution liquide préparée à haute température (c'est-à-dire à des températures supérieures aux températures des liquidus visibles sur les diagrammes de phases des figures IX.4 et X.4) puis trempée rapidement de manière à éviter une cristallisation.

- *pour les concentrations fortes en mannitol* ( $X_{\text{man}} > 0.7$  dans les deux cas), on constate sur les diffractogrammes l'apparition de pics de Bragg caractéristiques du mannitol  $\alpha$  (ou d'une solution solide cristalline riche en mannitol  $\alpha$ ). Il est à noter que cette apparition de la phase cristalline  $\alpha$  du mannitol est brutale. En parallèle à cette apparition de solution solide cristalline riche en mannitol  $\alpha$ , on constate sur les thermogrammes la présence d'une transition vitreuse située à haute température ( $T_g \cong 90^\circ\text{C}, 100^\circ\text{C}$ ), c'est-à-dire à des températures légèrement inférieures à celle de la transition vitreuse des disaccharides purs amorphes. De plus, on remarque que l'amplitude du saut de chaleur spécifique à  $T_g$  diminue rapidement alors que sa position en température change peu quand la concentration en mannitol augmente. Cela signifie deux choses :
  - Puisque l'amplitude du saut de  $C_p$  du mannitol à  $T_g$  est supérieure à celle du lactose, cela indique clairement que la diminution d'amplitude observée est associée à une diminution du taux d'amorphe lui-même.
  - Le fait que la position en température de la transition vitreuse soit aussi élevée et ne bouge pratiquement pas avec la concentration signifie que cet amorphe présente une concentration élevée en disaccharide qui n'évolue que très peu.

Comme pour les transformations de phases induites par broyage des composés purs (cf. chapitre VIII), les observations faites sur l'évolution de l'état physique des systèmes tréhalose/mannitol et lactose/mannitol sous cobroyage pour des concentrations en mannitol variables, mais à température et intensité de broyage fixées, peuvent être analysées phénoménologiquement dans le cadre de la théorie des alliages forcés<sup>[11]</sup>.

Cette analyse phénoménologique est facilitée par la détermination qui a pu être faite des diagrammes de phases binaires dans les deux cas.

Dans le cadre de la description en système forcé, on peut imaginer que le cobroyage des cristaux conduise les systèmes dans une situation de température effective située très haut dans le diagramme de phases binaire (au-dessus du liquidus) donnant lieu à une solution « liquide » effective homogène en toute proportion. Lors de l'arrêt du broyage, on assiste,

comme pour les composés purs, à une « trempe effective » du système qui fige l'état atteint sous broyage.

Lors de la « trempe » se produisant à l'arrêt du broyage le comportement diffère selon la concentration en mannitol :

- *A faible concentration en mannitol*, le cobroyage des cristaux de tréhalose et de mannitol ou de lactose et de mannitol entraîne une coamorphisation de ces composés. Cette coamorphisation est figée lors de la « trempe » en une solution solide homogène vitreuse caractérisée par une valeur de Tg unique dont l'évolution en fonction de la concentration en mannitol suit la loi de Gordon-Taylor. L'observation de cet état est sans doute permise par le fait que les cinétiques de recristallisation lors de la « trempe effective » après cessation du broyage sont lentes.
- *Aux plus fortes concentrations en mannitol*, l'apparition brutale d'un système biphasique constitué de solution solide cristalline riche en mannitol et de solution solide vitreuse riche en disaccharide peut être comprise par le fait que, à ces plus fortes concentrations, le mannitol recristallise facilement (au moins en partie) au cours de la « trempe » effective qui n'est alors plus suffisante pour figer le système dans un état vitreux homogène. On assiste alors à une démixtion en une solution solide cristalline riche en mannitol  $\alpha$  et une solution solide vitreuse enrichie en disaccharide du fait de la cristallisation du mannitol. La position en température de la zone de transition vitreuse de cette solution solide vitreuse enrichie en lactose renseigne sur sa composition en mannitol et en disaccharide. Ce raisonnement est illustré sur le cas du système lactose/mannitol dans la figure 5 (Il peut être sans difficulté transposé au cas du système tréhalose/mannitol). Cette figure représente, **de manière qualitative**, le diagramme d'états lactose/mannitol. Un exemple de composition de la solution solide vitreuse correspond à la croix tracée sur le prolongement métastable du liquidus.

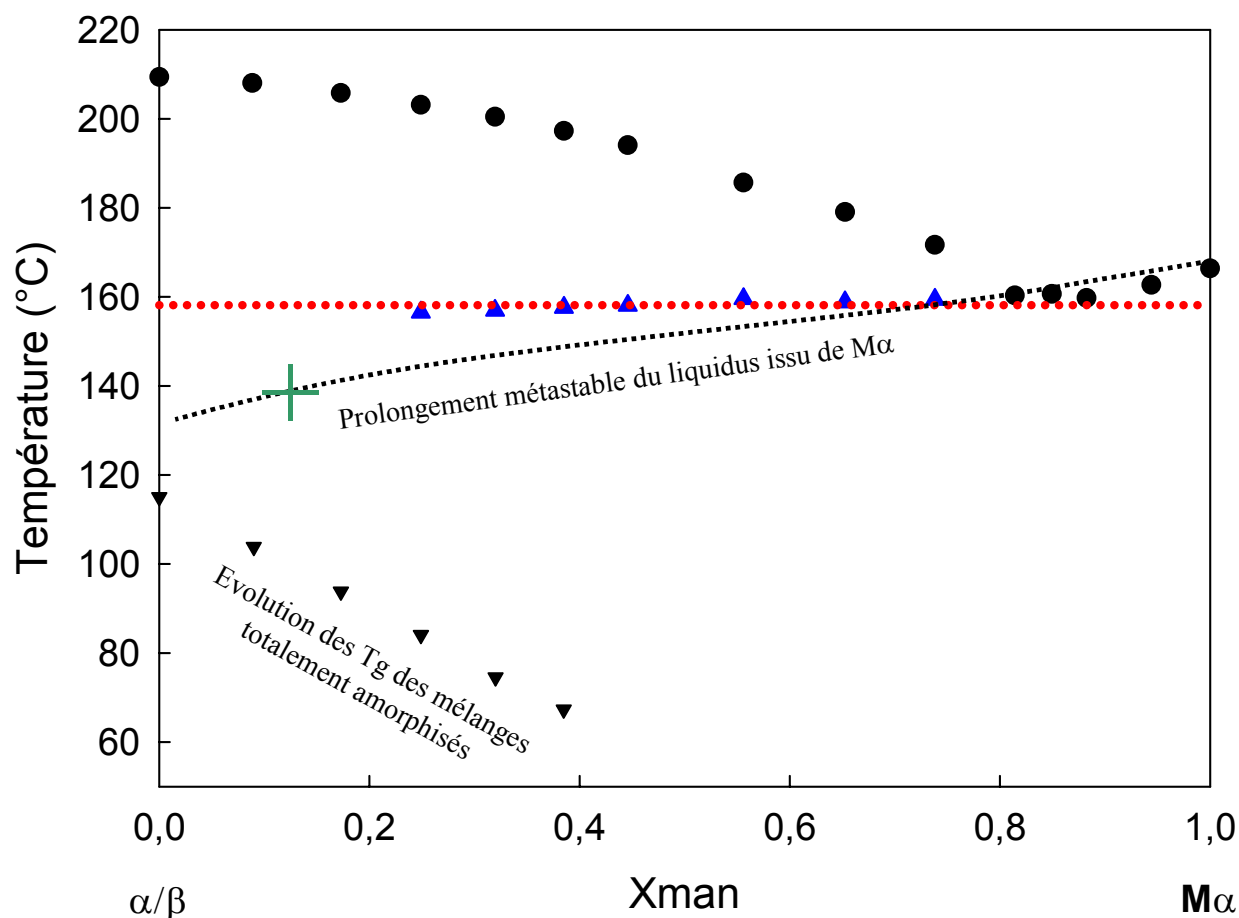


Fig.X.5 :

Diagramme d'états **qualitatif** du système lactose/mannitol. Ce diagramme est constitué de la superposition du diagramme de phases de la figure X.4, de l'évolution des  $T_g$  des mélanges cobroyés de la figure X.2, et du prolongement métastable **qualitatif** du liquidus issu de  $M\alpha$ . Lors de la « trempe effective », à l'arrêt du broyage, pour les mélanges  $X_{man} > 0.4$ , la propension à recristalliser du mannitol est suffisante pour que le système démixe en une solution solide cristalline riche en  $M\alpha$  et une solution solide vitreuse riche en lactose à  $T_g$  élevée dont la composition (qui est indépendante de la composition globale puisque la position en température de  $T_g$  n'évolue pratiquement pas) est donnée par la croix verte sur le liquidus métastable.

Les évolutions thermodynamiques des thermogrammes en fonction de la concentration globale en mannitol (pour  $X_{\text{man}} > 0.4$ ) montrent que, à concentration globale en mannitol croissante, correspond une augmentation de la fraction de mannitol cristallisée et une diminution de la fraction amorphe. Cela est confirmé par l'évolution linéaire de l'amplitude du saut de  $C_p$  à  $T_g$  (qui est proportionnelle au taux d'amorphe) en fonction du taux de mannitol qui est représentée sur la figure 6. Cela met en évidence que l'évolution est bien représentée par une règle des segments inverses mettant en jeu le mannitol cristallisé d'une part et le liquidus métastable riche en lactose d'autre part (prolongement métastable du liquidus issu du  $M_\alpha$ ). Ce raisonnement peut être fait également pour le système tréhalose/mannitol.

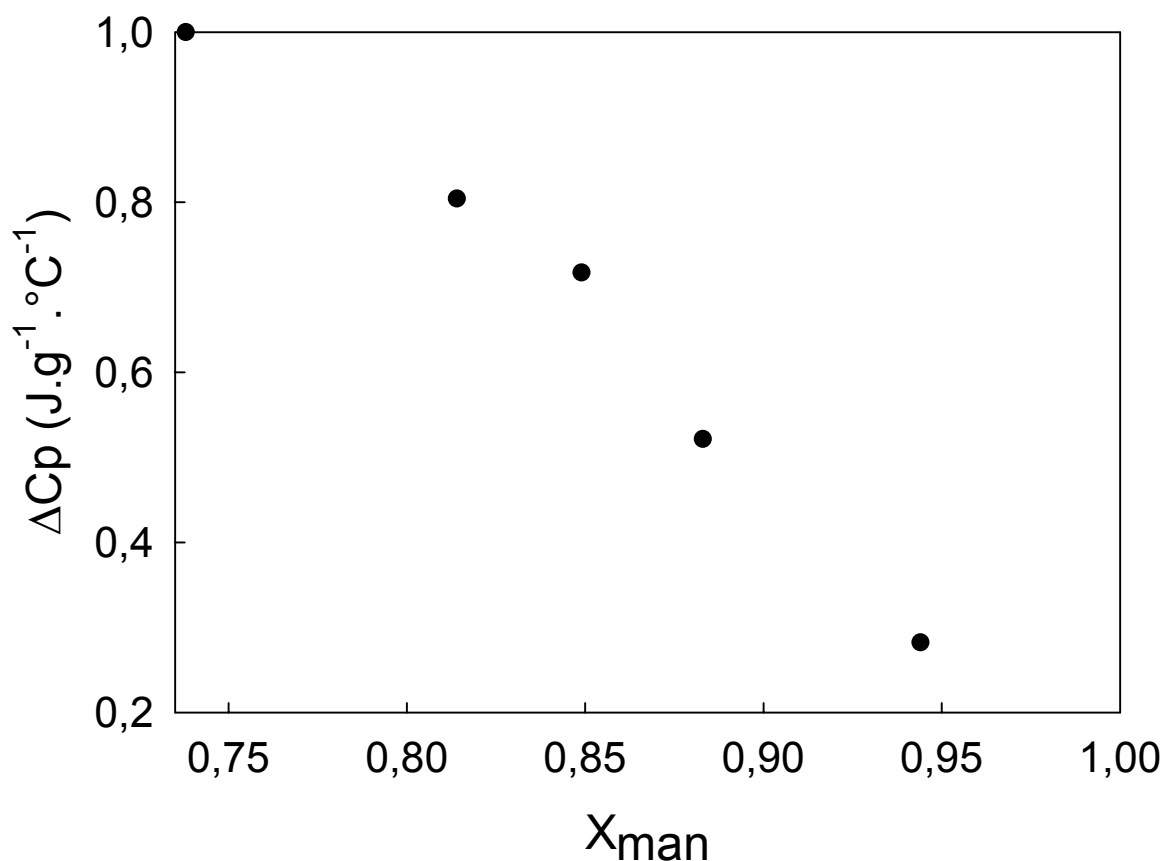


Fig. X. 6 :  
Variation de l'amplitude du saut de  $C_p$  pour les transitions vitreuses des mélanges  
 $X_{\text{man}} \geq 0.738$ .  
Les amplitudes des sauts de  $C_p$  ont été renormalisées de telle manière que pour  $X_{\text{man}} = 0.738$ , cette amplitude vaille 1

*Remarque :*

Ce raisonnement a été obtenu en imaginant deux étapes. Une amorphisation sous broyage suivie d'une démixtion lors de la trempe du système binaire amorphisé. Comme pour la transformation sous broyage du mannitol pur (cf. chapitre VIII), on peut aussi imaginer un autre scénario de transformation qui se produirait en deux temps mais au cours du broyage lui-même : amorphisation puis démixtion conduisant cette fois à une  $T_{\text{eff}}$  décroissante. C'est la valeur de cette température effective qui permet de situer l'état obtenu par rapport au diagramme de phases binaire métastable.

Le résultat final est équivalent quel que soit le raisonnement mais trancher entre ces deux scénarii serait de la plus haute importance pour progresser dans la compréhension du mécanisme de transformation de phases sous broyage lui-même.

## **D. Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons testé la possibilité de réaliser des alliages moléculaires lactose/mannitol vitreux par mécanosynthèse. Contrairement au cas précédent (tréhalose/mannitol), l'obtention de tels alliages par voie thermique est impossible à cause de la dégradation chimique accompagnant la fusion du lactose. Les composés cobroyés sont le  $\alpha$ -lactose anhydre stable et le mannitol  $\beta$ . Les résultats montrent que :

- Pour  $0.000 \leq X_{\text{man}} \leq 0.385$ , le cobroyage du système lactose/mannitol entraîne la formation d'alliages vitreux. De manière identique à ce qui a été obtenu sur le système tréhalose/mannitol, ces échantillons sont caractérisés par une absence totale de raies de Bragg en DRX et par la présence d'un saut de chaleur spécifique unique en DSC dont la position en température est comprise entre les températures de transition vitreuse du mannitol amorphe pur et du lactose amorphe pur. La transition vitreuse de ces mélanges se décale vers les basses températures lorsque la concentration en mannitol augmente en accord avec la loi de Gordon-Taylor. Le cobroyage permet donc de réaliser des solutions solides amorphes homogènes caractérisées par un processus de relaxation unique. Aux températures supérieures aux  $T_g$  des échantillons, on note une rupture de métastabilité se manifestant par la recristallisation des échantillons.

- Pour  $0.653 \leq X_{\text{man}} \leq 0.944$ , les échantillons sont constitués d'une fraction cristalline de mannitol  $\alpha$  et d'une phase amorphe. Comme dans le cas des alliages à base de tréhalose (chapitre IX), les analyses thermodynamiques révèlent l'existence de deux domaines de transition vitreuse : l'un à basse température (30-35 °C environ) et l'autre à plus haute température (entre 90 et 100 °C environ). Cependant, contrairement aux alliages tréhalose/mannitol, le saut de  $C_p$  se produisant à basse température est très faible. L'existence de deux sauts de  $C_p$  pour chacune de ces concentrations indique la présence de deux amorphes : un amorphe riche en mannitol et un amorphe riche en lactose. Au vu de l'amplitude des sauts de  $C_p$ , la phase amorphe riche en lactose est prépondérante par rapport à la phase amorphe riche en mannitol.

La recristallisation des mélanges lactose/mannitol **cobroyés** permet d'esquisser le diagramme de phases du système métastable lactose  $\alpha/\beta$  /mannitol  $\alpha$  (cf. figure 4). Ce diagramme se présente comme un diagramme à eutectique simple dont les constituants sont partiellement miscibles à l'état solide (avec des domaines de solutions solides cristallines respectivement riches en lactose  $\alpha/\beta$  et riches en  $M_\alpha$ ).

Nous avons également montré que les comportements sous cobroyage pouvaient s'interpréter dans le cadre de la théorie des alliages forcés.

Il serait intéressant de compléter ce travail sur les cobroyages par des études de la stabilité des alliages obtenus par mécanosynthèse. Bien qu'une valeur élevée de la température de transition vitreuse traduise un ralentissement de la mobilité moléculaire et constitue donc une indication sur la stabilité des solutions solides vitreuses obtenues, elle n'est pas un paramètre totalement déterminant. En ce sens, il serait très profitable de caractériser les évolutions dans le temps (notamment les phénomènes de vieillissement des verres) de ces solutions solides amorphes en fonction de divers paramètres comme la température de stockage, le degré d'hygrométrie dans lequel ces mélanges sont conservés...

## Références

- 1 J. F. Willart, V. Caron, R. Lefort, F. Danede, D. Prevost, and M. Descamps, *Athermal character of solid state amorphization of lactose induced by ball milling*, Solid State Communications **132**, 693 (2004)
- 2 J.-F. Willart, N. Descamps, V. Caron, F. Capet, F. Danède, and M. Descamps, *Formation of lactose-mannitol molecular alloys by solid state vitrification*, Solid State Communications **138**, 194 (2006)
- 3 M. Nagahama, H. Suga, and O. Andersson, *Formation of molecular alloys by solid-state vitrification*, Thermochemica acta **363**, 165 (2000)
- 4 M. Nagahama and H. Suga, *Molecular alloys formed by solid-state vitrification*, Journal of Molecular Liquids **95**, 261 (2002)
- 5 E. Dudognon, J.-F. Willart, V. Caron, F. Capet, T. Larsson, and M. Descamps, *Formation of budesonide/ $\alpha$ -lactose glass solutions by ball-milling*, Solid State Communications **138**, 68 (2006)
- 6 G. Adam and J. H. Gibbs, *On the temperature dependence of cooperative relaxation properties in glass-forming liquids*, Journal of Chemical Physics **43**, 139 (1965)
- 7 J. M. Gordon, G. B. Rouse, J. H. Gibbs, and W. M. Risen, Jr., *The composition dependence of glass transition properties*, Journal of Chemical Physics **66**, 4971 (1977)
- 8 K. Takeda, K. Murata, and S. Yamashita, *Thermodynamic investigation of glass transition in binary polyalcohols*, Journal of Non Crystalline Solids **231**, 273 (1998)
- 9 K. Takeda, K. Murata, and S. Yamashita, *Thermodynamic study of the glass transition in polyamine-polyalcohol mixtures : Entropy-theoretical interpretation of anomalous glass transition behavior*, J. Phys. Chem. B **103**, 3457 (1999)
- 10 P. Claudy, *Analyse calorimétrique différentielle*, Paris, 2005).
- 11 G. Martin and P. Bellon, *Driven alloys*, Solid State Physics, New York **50**, 189 (1997)



# **CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

## A. Conclusion générale

Le broyage mécanique <sup>[1]</sup> est connu pour fréquemment modifier l'état structural des matériaux <sup>[2, 3]</sup> en les plaçant dans des situations de non équilibre (matériaux forcés <sup>[4]</sup>). Cependant, qu'il s'agisse d'amorphisations ou d'interconversions polymorphiques, ces transformations à l'état solide sont encore fondamentalement mal comprises et leur manipulation reste fortement empirique. Jusqu'à présent, ces différents problèmes ont surtout été étudiés dans le domaine des alliages, des matériaux métalliques et organo-métalliques <sup>[4-8]</sup>. Par contre, très peu de travaux ont été réalisés dans le domaine des matériaux moléculaires purement organiques alors que, de par leurs constantes élastiques très faibles, ces matériaux sont particulièrement sensibles aux effets du broyage mécanique. La faiblesse des interactions inter-moléculaires (interactions de Van der Waals ou liaisons hydrogène) et les basses symétries des cristaux moléculaires (souvent monocliniques ou tricliniques) sont d'autres différences majeures avec les systèmes métalliques. Elles sont à l'origine de températures de transition vitreuse plus basses et généralement proches de l'ambiante c'est-à-dire proches de la température de broyage. Il faut, par conséquent, s'attendre à des comportements particuliers selon que le broyage est effectué à des températures supérieures ou inférieures à T<sub>g</sub>. Ce type de situation n'est pas rencontré ordinairement lors du broyage des métaux pour lesquels la température de transition vitreuse est beaucoup plus élevée.

Le domaine pharmaceutique est concerné en premier chef par les matériaux moléculaires que ce soit les substances actives ou les excipients de formulation. On y trouve donc une riche variété de systèmes moléculaires intéressants. Par ailleurs, la formulation des médicaments met en jeu des techniques très diverses (atomisation, lyophilisation, broyage...) qui posent également un grand nombre de problèmes fondamentaux non résolus (par exemple : stabilité des états amorphes, dévitrification, transformations forcées sous broyage). Il y a donc un intérêt physique pur et un intérêt pratique à travailler avec ce type de composés sur des sujets inspirés par les problématiques du domaine pharmaceutique.

Dans cette thèse, nous avons étudié les transformations sous broyage de trois composés moléculaires d'intérêt pharmaceutique : le lactose, le tréhalose et le mannitol. Ces composés ont été choisis pour leurs températures de transitions vitreuses situées de part et d'autre de la température ambiante et pour leurs évolutions variées sous broyage de manière à

permettre l'étude d'un grand nombre de situations différentes. De plus, cette variété de situations a été considérablement élargie par l'étude du cobroyage de ces différents composés. Sans changer ni l'intensité ni la température de broyage, la variation de la composition chimique des systèmes binaires cobroyés a permis de mettre en évidence les possibilités de coamorphisation et de dégager l'origine physique des limites de cette possibilité en fonction des paramètres expérimentaux. Les principaux résultats obtenus sont les suivants :

- Nous avons montré que le broyage du  $\alpha$ -lactose anhydre stable induit une transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre à l'état solide. Contrairement aux voies d'amorphisation habituelles (fusion-trempe, lyophilisation, spray-drying...), le broyage n'induit aucune mutarotation. Par contre, l'amorphe obtenu subit inévitablement au réchauffage une forte mutarotation à l'approche de  $T_g$  indiquant que le  $\alpha$ -lactose pur amorphe ne peut être obtenu que dans des conditions de non équilibre par amorphisation directe à l'état solide. De plus, en utilisant les propriétés de mutarotation comme une sonde chimique, nous avons pu prouver que l'amorphisation sous broyage n'est absolument pas liée à une élévation de température (même locale) de l'échantillon et qu'elle est, de ce fait, fondamentalement différente de la trempe du liquide. Par ailleurs, nous avons montré que la mutarotation, qui est un processus chimique local, semble être corrélée aux relaxations structurales lentes qui se produisent à l'état vitreux.
- L'estimation de la fraction de lactose amorphisé en fonction de la durée du broyage a été réalisée par trois techniques différentes (diffraction des rayons X sur poudre, RMN du carbone 13 à l'état solide et DSC). Les trois techniques ne donnent pas de résultats cohérents entre eux, en particulier pour les échantillons faiblement broyés. Nous avons montré que le désaccord apparent observé pourrait être expliqué par le fait que l'état physique du lactose aux courts temps de broyage ne peut se résumer à un état biphasique simple constitué de zones cristallines et de zones amorphes.
- Les analyses microstructurales (analyses des tailles et des déformations des cristallites) réalisées aux courts temps de broyage sur les échantillons de lactose et de tréhalose ont révélé une évolution en deux temps de la microstructure des échantillons. Au cours de la première étape, on note une diminution rapide de la

taille des cristallites ainsi qu'une augmentation des déformations, qui sont anisotropes, au sein de ces cristallites. Au cours de la seconde étape, on remarque une diminution soudaine de l'intensité des déformations qui reste alors constante ainsi qu'un ralentissement de la cinétique de diminution de taille des cristallites. Une origine possible à ces évolutions microstructurales serait la création de dislocations au sein des cristallites lors des chocs des billes de broyage contre la poudre. Des expériences de microscopie électronique en transmission ont été effectuées sur les échantillons de lactose broyés pour vérifier la présence effective de dislocations au sein de la structure des cristallites mais la dégradation du composé sous le faisceau d'électrons n'a pas permis de connaître la réponse. Néanmoins, l'hypothèse de l'existence de tels défauts, associés à une réduction forte de la taille des cristallites, donnerait une explication rationnelle à la différence observée dans l'estimation du taux d'amorphe selon la technique employée pour effectuer cette estimation.

- Nous avons également montré que le broyage des formes cristalline  $\beta$  et  $\delta$  du mannitol induit une transformation polymorphique vers la forme cristalline  $\alpha$  qui finalement reverse vers la forme stable  $\beta$  lorsque le broyage cesse. Puisque les formes  $\beta$  et  $\delta$  sont respectivement plus stable et moins stable que la forme  $\alpha$ , ces évolutions montrent que les transformations sous broyage s'apparentent à des transformations vers des états stationnaires, compatibles avec la théorie des matériaux forcés proposée par Martin et al <sup>[4]</sup>.
- Les cobroyages lactose/mannitol d'une part et tréhalose/mannitol d'autre part ont révélé la possibilité de former des alliages moléculaires amorphes et vitreux à l'état solide jusque des concentrations en mannitol de 39 % en moles pour les alliages lactose/mannitol et de 65 % en moles pour les alliages tréhalose/mannitol. Dans le cas du lactose, cette possibilité présente un intérêt pratique évident puisque, en raison des modifications chimiques qu'il subit au chauffage (mutarotation et caramélisation), l'obtention d'un alliage par trempe d'un mélange liquide est impossible. A l'inverse, dans le cas du tréhalose, l'alliage a pu être obtenu par fusion-trempe. Cela nous a permis de réaliser une étude comparée des alliages obtenus par cette voie avec ceux obtenus

directement à l'état solide par cobroyage. Cette étude a révélé l'importance du positionnement de la température de broyage par rapport à la température de transition vitreuse du mélange. Par ailleurs, l'aptitude à la recristallisation des alliages (lactose/mannitol et tréhalose/mannitol) obtenus par mécanosynthèse nous a permis d'esquisser le diagramme de phases des mélanges binaires lactose/mannitol et celui des mélanges binaires tréhalose/mannitol.

- Pour les concentrations en mannitol autorisant la formation totale de l'alliage par mécanosynthèse, nous avons pu montrer que l'évolution de la température de transition vitreuse des mélanges binaires en fonction de la concentration suivait parfaitement la loi de Gordon-Taylor <sup>[9]</sup>. Cette évolution montre aussi que la possibilité de former l'alliage par cobroyage disparaît lorsque sa température de transition vitreuse (théoriquement attendue) devient proche de la température de broyage. D'un point de vue fondamental, ce résultat indique que la transition vitreuse est directement impliquée dans la dualité "amorphisation/transformation polymorphique" qui caractérise les transformations induites par broyage mécanique. Il faut cependant noter que, dans la zone de transition vitreuse, les opérations de broyage peuvent conduire à des transformations de nature différente selon l'intensité du broyage. Par exemple Desprez et al ont montré que le broyage intense de la forme  $\gamma$  de l'indométhacine un peu en dessous de  $T_g$  induit une amorphisation<sup>[10]</sup>, alors qu'un broyage modéré induit une transformation polymorphique vers la forme métastable  $\alpha$ <sup>[10]</sup>. Il en est de même pour le broyage de la forme amorphe<sup>[10]</sup>. Cela montre que la rationalisation des transformations sous broyage met en jeu à la fois les propriétés intrinsèques liées à la transition vitreuse et les caractéristiques balistiques du broyage.

## B. Perspectives

A l'issue de ces travaux, certaines questions restent ouvertes.

Le lien qu'il semble y avoir entre la mutarotation, processus chimique local, et la transition vitreuse pose la question de la nature exacte du couplage entre ce type de réaction chimique et les caractères du verre lui-même. Il serait intéressant d'étudier plus finement

l'influence de la relaxation structurale (processus  $\alpha$ ) dont les temps caractéristiques sont de l'ordre de 100-1000 secondes à  $T_g$ . Aux basses températures, les relaxations secondaires  $\beta$ , plus rapides et subsistant à l'état vitreux, pourraient également avoir une influence non négligeable sur l'évolution lente de la mutarotation. Dans le cas du tréhalose, ces relaxations ont pu être analysées sur des échantillons amorphes obtenus par trempe du liquide <sup>[11]</sup>. Dans le cas du lactose, cela n'a pu être fait en raison des dégradations thermiques. Il serait donc très intéressant de prolonger ce travail par une analyse de la dynamique moléculaire du lactose amorphe obtenu par broyage. Il serait très instructif d'exploiter alors la possibilité d'accéder, à la fois, à l'amorphe  $\alpha$  pur et à l'amorphe  $\alpha/\beta$  pour confronter les relaxations secondaires de ces deux amorphes. Cela permettrait également d'éclairer les connections entre les processus cinétiques qui gèrent la mutarotation et ceux qui sont propres à l'état vitreux.

Les évolutions microstructurales du lactose et du tréhalose sous broyage posent la question de la nature des effets du broyage sur la structure cristalline de ces composés. Plusieurs théories expliquent le phénomène d'amorphisation sous broyage par l'introduction de défauts qui déstabilisent la structure cristalline et la font « basculer » à l'état amorphe<sup>[12, 13]</sup>. Il serait donc intéressant de pouvoir connaître la nature exacte des défauts induits par le broyage sur les composés moléculaires. Cela permettrait de mettre en place des études quantitatives et d'apporter des éléments de réponse concernant le rôle que ces défauts pourraient jouer dans les transformations de phases observées sous broyage. La simulation numérique pourrait s'avérer être une technique d'investigation adaptée à ce genre de problématique puisque les observations directes ne sont pas permises avec les composés pharmaceutiques. Cependant, pour mettre en place des simulations réalistes, il faudrait d'abord définir quels pourraient être les types de défauts envisagés, émettre des hypothèses raisonnables, en rapport avec la structure cristalline des composés thérapeutiques, quant à leur concentration et les perturbations qui en résulteraient. Cette tâche n'est pas simple à réaliser sur des composés dont la symétrie des molécules et la symétrie cristalline sont basses.

Si l'amorphisation par broyage peut être expliquée de manière naturelle dans le cadre de la théorie des alliages forcés de Martin et Bellon <sup>[4]</sup>, il est plus difficile d'expliquer simplement avec cette théorie les transformations cristal  $\rightarrow$  cristal que nous avons observées au cours de ce travail. En effet, pour les cas étudiés (mannitol pur et alliages à base de mannitol), il n'existe pas de température de transition thermodynamique d'équilibre qui puisse être

atteinte par une température effective (cf. Figure VIII.9). Nous avons donc envisagé deux scénarii. Le premier stipule une transformation en deux temps sous broyage avec modification de la température effective. Le second envisage une recristallisation postérieure à une amorphisation sous broyage. Ces deux scénarii sont compatibles avec nos résultats mais correspondent à des mécanismes de transformations effectifs différents. La réponse à cette question permettrait d'accéder à une compréhension plus profonde des transformations de phases sous broyage.

## Références

- 1 H. Bakker, G. F. Zhou, and H. Yang, *Mechanically driven disorder and phase transformations in alloys*, Progress in Materials Science **39**, 159 (1995)
- 2 T. P. Shakhshneider, *Phase transformations and stabilization of metastable states of molecular crystals under mechanical activation*, Solid State Ionics **101-103**, 851 (1997)
- 3 A. K. Galwey, *Structure and order in thermal dehydrations of crystalline solids*, Thermochemica Acta **355**, 181 (2000)
- 4 G. Martin and P. Bellon, *Driven alloys*, Solid State Physics, New York **50**, 189 (1997)
- 5 D. B. Witkin and E. J. Lavernia, *Synthesis and mechanical behavior of nanostructured materials via cryomilling*, Progress in Materials Science **51**, 1 (2006)
- 6 E. Ma, *Alloys created between immiscible elements*, Progress in Materials Science **50**, 413 (2005)
- 7 C. Suryanarayana, *Mechanical alloying and milling*, Progress in Materials Science **46**, 1 (2001)
- 8 R. Janot and D. Guerard, *Ball-milling in liquid media: applications to the preparation of anodic materials for lithium-ion batteries*, Progress in Materials Science **50**, 1 (2005)
- 9 J. M. Gordon, G. B. Rouse, J. H. Gibbs, and W. M. Risen, Jr., *The composition dependence of glass transition properties*, Journal of Chemical Physics **66**, 4971 (1977)
- 10 S. Desprez, *Transformations de phases induites par broyage dans un composé moléculaire: l'indométhacine*, Th. doct. : Milieux denses mater., University of Lille 1, (2004)
- 11 A. De Gusseme, L. Carpentier, J. F. Willart, and M. Descamps, *Molecular mobility in supercooled trehalose*, Journal of Physical Chemistry B **107**, 10879 (2003)
- 12 H. J. Fecht, *Defect-induced melting and solid state amorphization*, Nature **356**, 133 (1992)
- 13 P. R. Okamoto, N. Q. Lam, and L. E. Rehn, *Physics of crystal-to-glass transformations*, Solid state physics New-York 1955 **52**, 1 (1999)



## **ANNEXE A**

### **La calorimétrie différentielle à balayage (DSC)**

## A. DSC conventionnelle

La DSC conventionnelle est une technique classique qui permet :

- d'étudier les principales transitions thermodynamiques de composés soumis à des rampes de température ou à des expériences isothermes, notamment les phénomènes de transition vitreuse, de cristallisation et de fusion.
- de calculer la proportion de matériau amorphe (cf. annexe D).

Le principe de cette technique consiste à comparer la température du composé étudié à celle d'un composé de référence lors d'une élévation de température à vitesse constante ou lors d'une isotherme <sup>[1]</sup>. Le matériau de référence est un composé ne subissant pas de transition de phases dans la gamme de températures retenue. Les appareils disponibles au laboratoire fonctionnent suivant le principe de l'analyseur thermique différentiel. L'échantillon et la référence sont placés dans un même four dont la température varie linéairement avec le temps. L'appareil calcule le flux de chaleur à partir de la différence entre la température de l'échantillon et celle de la référence. Lorsque l'échantillon subit une transition de phases, un pic de température est observé. Lors d'une fusion, par exemple, la chaleur fournie par la source provoque la fusion de la matière à température constante tandis que la température de la référence continue de s'élever. On observe alors une transition endothermique. Une transition vitreuse se manifeste par un saut du flux de chaleur. Mathématiquement, le flux de chaleur mesuré avec une DSC conventionnelle s'écrit :

$$\dot{Q}(T) = \frac{dQ}{dt} = qC_p(q, T) + \dot{Q}_{cin}(T, t)$$

Avec :

$\dot{Q}(T)$  : flux de chaleur

q : vitesse de balayage en température

$C_p$  : chaleur spécifique

$\dot{Q}_{cin}$  : contribution supplémentaire qui vient perturber le retour à l'équilibre thermique du système (transformations impliquant une chaleur latente, rattrapage de l'enthalpie au réchauffage du verre...).

## B. DSC à modulation de température

Certains types de DSC permettent également de faire de la calorimétrie à modulation de température.

Nous exposons ici les éléments essentiels pour l'exploitation des signaux de DSC à modulation de température (MDSC). Des descriptions plus détaillées ont fait l'objet de publications [2-5].

Dans une expérience de calorimétrie à modulation, l'évolution de la température du four en fonction du temps s'écrit :

$$T(t) = T_i + qt + A \sin(\omega t)$$

Avec :

$T(t)$  : température du four à l'instant  $t$

$T_i$  : température initiale

$t$  : temps

$q$  : vitesse de balayage linéaire

$A$  : amplitude de la modulation

$\omega$  : pulsation de la modulation

Les deux premiers termes sont caractéristiques d'une expérience de DSC conventionnelle. Le terme  $A \sin(\omega t)$  représente une oscillation sinusoïdale de température de faible amplitude.

La dérivée par rapport au temps de la température du four traduit la perturbation subie par l'échantillon :

$$\dot{T}(t) = q + T_0 \cos(\omega t) ; T_0 = A\omega$$

La réponse de l'échantillon est un flux de chaleur modulé, de même période mais déphasé par rapport à la perturbation :

$$\dot{Q}(t) = qC_p(q, \bar{T}) + \dot{Q}_{cin}(\bar{T}, t) + \dot{Q}_0(\omega) \cos(\omega t + \varphi)$$

$\bar{T} = qt$  est la température moyenne.

Les deux premiers termes sont identiques à la réponse de l'échantillon lors d'une expérience de DSC conventionnelle.

En utilisant la notation complexe, le terme sinusoïdal peut s'écrire :

$$\dot{Q}_{\text{mod}} = \dot{Q}_0(\omega) \cos(\omega t + \varphi) = \text{Re} \left( \dot{Q}_{\omega, \varphi} \exp(-i\omega t) \right)$$

La perturbation peut s'écrire :

$$\dot{T}_{\text{mod}} = \dot{T}_0 \cos(\omega t) = \text{Re} \left( \dot{T}_0 \exp(-i\omega t) \right)$$

Le rapport des amplitudes complexes de la réponse et de la perturbation définit une susceptibilité complexe :

$$\chi^*(\omega) = \frac{\dot{Q}_{\omega, \varphi}}{\dot{T}_0} = C_p^*(\omega) + \chi_{\text{cin}}^*(\omega)$$

Avec :

$C_p^*(\omega)$  : chaleur spécifique complexe du matériau. En l'absence de processus cinétique, elle caractérise la manière dont l'échantillon répond à la perturbation de température sinusoïdale.

$\chi_{\text{cin}}^*(\omega)$  : Composante purement imaginaire associée aux transformations cinétiques (cristallisations, relaxations structurales...).

Le module de  $\chi^*(\omega)$  est facilement accessible expérimentalement. Il correspond au rapport entre les amplitudes des oscillations du flux de chaleur et de la modulation de température :

$$|\chi^*(\omega)| = \frac{\dot{Q}_0}{\dot{T}_0}$$

En dehors de la zone de transition vitreuse,  $C_p^*(\omega)$  se confond avec la chaleur spécifique statique  $C_p$ . De plus, si aucun processus cinétique n'intervient, alors  $\chi_{cin}^*(\omega)=0$  et  $|\chi^*|=C_p$ . La DSC modulée permet donc d'obtenir une mesure de la chaleur spécifique d'un matériau avec un seul balayage en température.

Un exemple des informations accessibles par DSC modulée est illustré sur la figure 1. Celle-ci présente des résultats obtenus sur le maltitol.

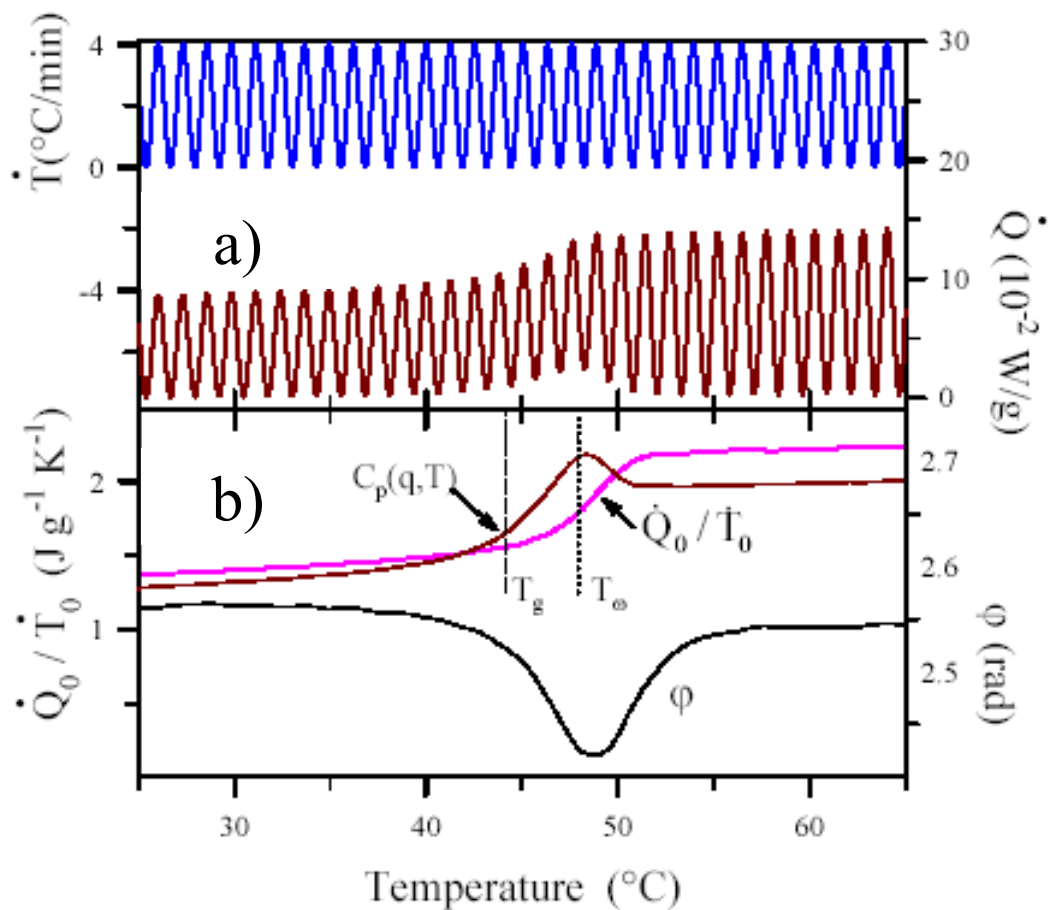


Fig. A.1:

a) Signaux bruts de MDSC : dérivée de la température modulée et flux de chaleur modulé.

b) Chaleur spécifique, module de la chaleur spécifique et déphasage

Les courbes de cette figure ont été enregistrées lors du chauffage à  $2\text{ °C.min}^{-1}$  du verre de maltitol obtenu par refroidissement du liquide à  $20\text{ °C.min}^{-1}$ . Les paramètres de modulation sont :  $A = 0.2\text{ °C}$  ;  $\omega = 2\pi / 40\text{ Hz}$ .

La figure 1a présente les données brutes de l'expérience : la perturbation imposée à l'échantillon et le flux de chaleur modulé qui en résulte.

La figure 1b montre les évolutions de la chaleur spécifique moyenne, de l'amplitude de la chaleur spécifique modulée et du déphasage qui se produit dans le domaine de transition vitreuse.

On retrouve sur cette figure les caractéristiques du domaine de transition vitreuse :

- Un saut de chaleur spécifique  $C_p(T)$  à  $T_g = 44\text{ °C}$ .
- Un saut de l'amplitude de la chaleur spécifique modulée,  $\frac{\dot{Q}_0}{\dot{T}_0}$ , à  $T_\omega = 48\text{ °C}$ .

La différence entre  $T_\omega$  et  $T_g$  provient du fait que  $T_\omega$  est fonction de la fréquence de la modulation alors que  $T_g$  est fonction de la vitesse moyenne de balayage.

Le déphasage  $\varphi$ , qui présente un extremum à  $T_\omega$ , est le résultat de deux contributions. L'une est due aux relaxations structurales de l'échantillon ; l'autre, aux transferts de chaleur entre le calorimètre et l'échantillon. Cette dernière contribution doit être éliminée avant analyse. A cette fin, on soustrait de la courbe expérimentale  $\varphi(T)$  une courbe proportionnelle à la chaleur spécifique de manière à ce que le déphasage soit nul en dehors du domaine de transition vitreuse <sup>[6]</sup>.

Il est possible de décomposer le flux de chaleur moyen en deux contributions : le flux de chaleur réversible et le flux de chaleur non réversible.

Le flux de chaleur réversible correspond à la réponse de l'échantillon en terme de capacité calorifique. Loin de tout évènement cinétique, il est simplement proportionnel à la chaleur spécifique du matériau. Sa formulation mathématique s'écrit :

$$\langle \dot{Q}(t)_{\text{Rev}} \rangle = q \frac{\dot{Q}_0}{T_0} = q |\chi(\omega)^*|$$

Le flux de chaleur non réversible s'obtient en soustrayant le flux de chaleur réversible du flux de chaleur moyen. Cette composante est supposée ne contenir que les contributions cinétiques de la réponse thermique.

$$\langle \dot{Q}(t)_{\text{N.Rev}} \rangle = \langle \dot{Q}(t) \rangle - \langle \dot{Q}(t)_{\text{Rev}} \rangle$$

## Références

- 1 P. Papon and J. Leblond, *Thermodynamique des états de la matière*, 1990).
- 2 M. Reading, A. Luget, and R. Wilson, *Modulated differential scanning calorimetry*, *Thermochimica Acta* **238**, 295 (1994)
- 3 B. Wunderlich, Y. Jin, and A. Boller, *Mathematical description of differential scanning calorimetry based on periodic temperature modulation*, *Thermochimica Acta* **238**, 277 (1994)
- 4 K. J. Jones, I. Kinshott, M. Reading, A. A. Lacey, C. Nikopoulos, and H. M. Pollock, *The origin and the interpretation of the signals of MTDSC*, *Thermochim. Acta* **304-305**, 187 (1997)
- 5 O. Bustin and M. Descamps, *Slow structural relaxations of glass-forming maltitol by modulated DSC calorimetry*, *Journal of Chemical Physics* **110**, 10982 (1999)
- 6 S. Weyer, A. Hensel, and C. Schick, *Phase angle correction for TMDSC in the glass-transition region*, *Thermochim. Acta* **304/305**, 267 (1997)



## **ANNEXE B**

### **La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

## A. Généralités sur la RMN

Cette méthode spectroscopique repose sur l'étude des transitions entre les niveaux d'énergie du moment magnétique du noyau (dans notre cas, les noyaux sont le carbone 13 ( $^{13}\text{C}$ ) et le proton ( $^1\text{H}$ )) en présence d'un champ magnétique extérieur.

Le principe de la RMN est le suivant <sup>[1]</sup>. La structure des spectres RMN provient de l'étagement des niveaux d'énergie du système de spins nucléaires. Les protons, les neutrons et les électrons sont dotés d'un spin. Les noyaux possèdent également un spin qui est la résultante des spins de leurs protons et de leurs neutrons. Il peut y avoir annihilation entre spins des neutrons et spins des protons. Ainsi, certains noyaux comme le carbone 12 ne possèdent pas de spin. Chaque spin est caractérisé par un « nombre de spin » noté  $I$  (que l'on appellera par abus de langage spin) qui est un entier ou un demi-entier. Il permet de déterminer le nombre d'états distincts dans lesquels les spins peuvent se trouver. Par exemple, le proton possède un spin de valeur  $\frac{1}{2}$  et peut se trouver dans deux configurations ( $+\frac{1}{2}$  et  $-\frac{1}{2}$ ). Pour un noyau quelconque de nombre de masse  $A$  et de numéro atomique  $Z$ , on observe les règles suivantes :

- Si  $A$  est impair,  $I$  est un demi entier ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ...).
- Si  $A$  est pair et  $Z$  est impair,  $I$  est un entier ( $^2\text{H}$ ,  $^{14}\text{N}$ ...).
- Si  $A$  et  $Z$  sont tous les deux pairs,  $I$  est nul ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ...).

L'existence d'un spin  $I$  non nul entraîne l'existence d'un moment magnétique  $\vec{\mu}$  colinéaire au moment cinétique  $\vec{I}$  :

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$$

Avec :

$\gamma$  : rapport gyromagnétique. Cette constante est caractéristique de chaque noyau.

$\hbar$  : Constante de Planck divisée par  $2\pi$ .

Dans le cas du carbone 13 ou du proton, l'existence d'un moment magnétique associé au spin  $I = \frac{1}{2}$  permet de considérer le spin comme une aiguille aimantée microscopique dont l'orientation est quelconque en l'absence de champ magnétique extérieur. Par contre, en présence d'un champ magnétique statique de module  $B_0$ , le spin peut s'orienter soit parallèlement au champ (position la plus stable) soit anti-parallèlement au champ

(position la moins stable). La différence d'énergie  $\Delta E$  entre les deux niveaux ainsi créés vaut  $\gamma \hbar B_0$ . On remarque que plus le champ magnétique extérieur est fort, plus la différence entre les niveaux d'énergie est importante. Cet écartement des niveaux d'énergie par un champ magnétique est dénommé « effet Zeeman ». Il est illustré sur la figure 1.

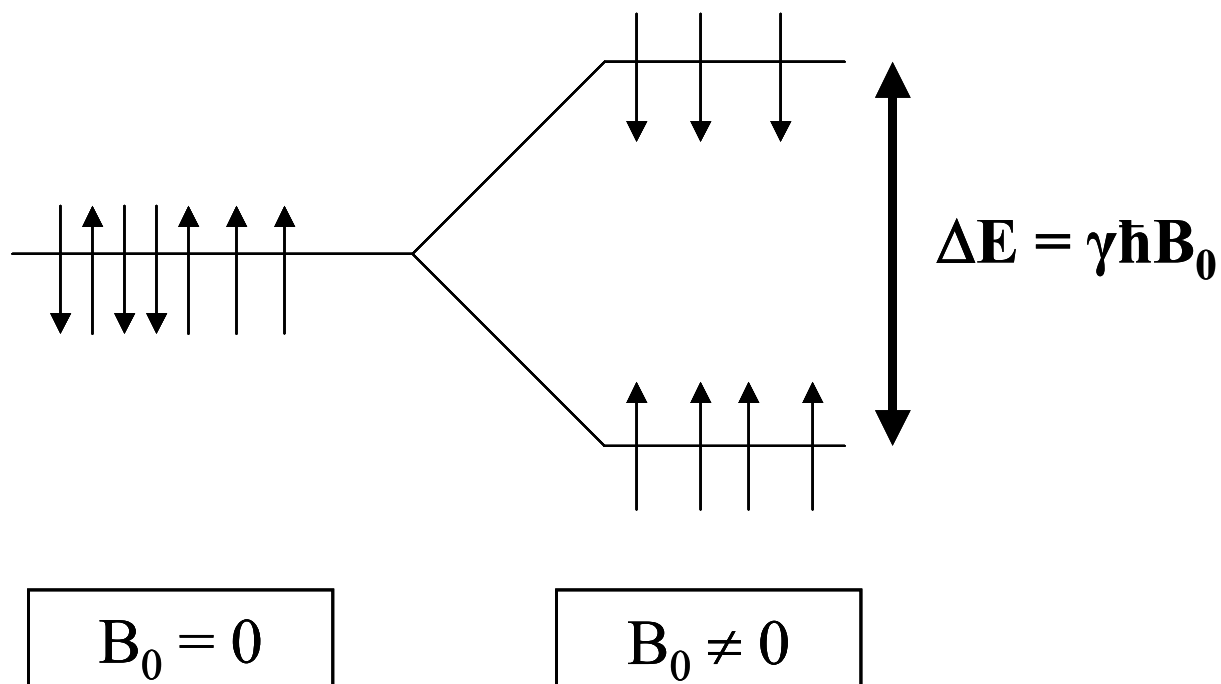


Fig. B.1 :

Effet Zeeman : levée de dégénérescence des niveaux d'énergie d'un spin 1/2 par application d'un champ statique  $B_0$

En envoyant une radiation électromagnétique dont la fréquence vérifie la relation de Bohr  $\Delta E = h\nu_0$ , il est possible de provoquer des transitions entre les deux niveaux d'énergie. La fréquence  $\nu_0$  ( $= \gamma B_0 / 2\pi$  en théorie) à laquelle ont lieu les transitions est appelée fréquence de Larmor et est proportionnelle au champ appliqué.

L'intérêt de la RMN pour l'étude des composés pharmaceutiques provient du fait que les nuages électroniques des noyaux d'une molécule peuvent perturber localement le champ  $B_0$ . On tient compte de cette perturbation en écrivant que le champ magnétique « ressenti » par un noyau quelconque d'une molécule a une valeur  $B_0(1-\sigma)$ ,  $\sigma$  étant le coefficient d'écran. Ainsi, la fréquence de résonance n'est plus égale à  $\gamma B_0 / 2\pi$  mais à :

$$\nu_0 = \frac{\gamma(1-\sigma)B_0}{2\pi}$$

Le coefficient d'écran est lié à l'environnement électronique du noyau considéré. De la sorte, la fréquence de résonance d'un noyau dépend du groupe chimique auquel il appartient. Les différents noyaux de carbone des molécules thérapeutiques ne vont donc pas présenter de phénomènes de résonance aux mêmes fréquences, ce qui va permettre de les différencier. Il s'agit d'un effet fin ( $\sigma$  est de l'ordre de  $10^{-6}$ ) qui nécessite d'avoir un champ magnétique très homogène sur tout le volume utile de l'échantillon.

Il est très difficile de mesurer le coefficient d'écran car il faudrait connaître  $\nu_0$  et  $B_0$  avec une très grande précision. Or, il est tout à fait impossible d'obtenir la valeur de  $B_0$  avec une précision meilleure que  $10^{-6}$  Tesla. En pratique, on préfère déterminer des différences de coefficient d'écran entre les noyaux d'une molécule servant de référence ( $\sigma_{ref}$ ) et ceux de l'échantillon étudié ( $\sigma_{ech}$ ) en ayant recours à une échelle définie par la relation :

$$\delta = (\sigma_{ref} - \sigma_{ech}) \cdot 10^6$$

$\delta$  est appelé le « déplacement chimique ». Il s'exprime en parties par million (ppm). Il est multiplié par un facteur  $10^6$  pour pouvoir l'exprimer par des nombres de l'ordre de l'unité, de la dizaine ou de la centaine. Il ne dépend ni de  $B_0$  ni de  $\nu_0$ . Il caractérise donc une propriété intrinsèque de la molécule.

Une expérience de RMN est schématisée sur la figure 2 <sup>[1]</sup>.

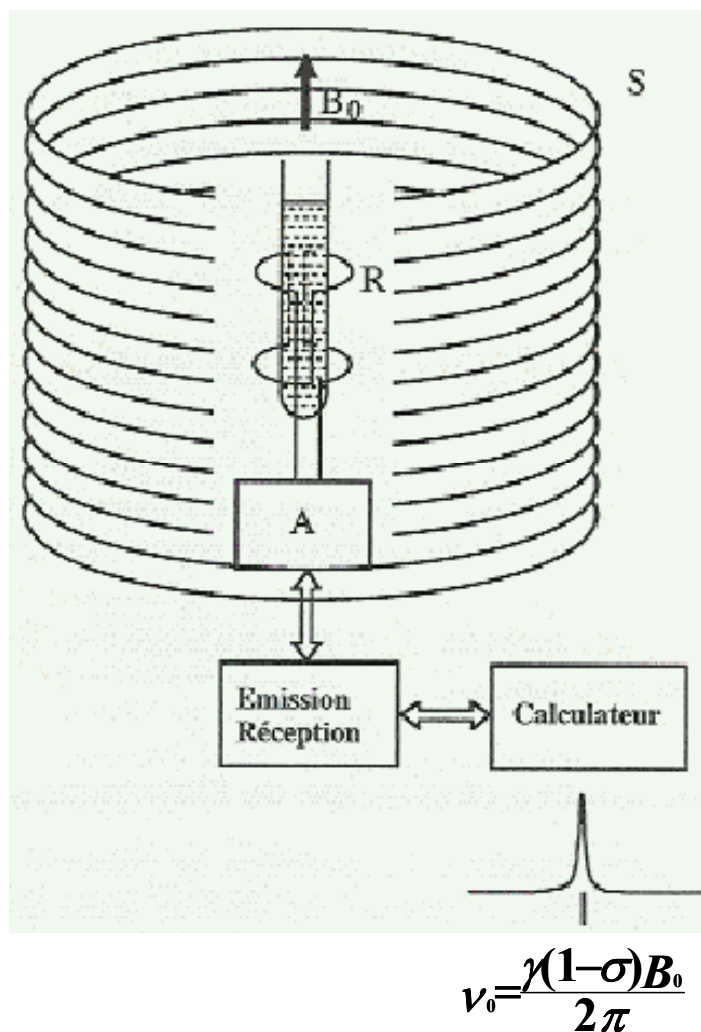


Fig. B.2 :

Un champ statique  $B_0$  aussi intense que possible (généralement créé au moyen d'une bobine supraconductrice) provoque un éclatement des niveaux d'énergie des spins de l'échantillon placé au centre du dispositif. Une bobine R, accordée à la fréquence de Larmor (circuits électriques représentés par A) permet :

- de créer un champ magnétique alternatif (émission) perpendiculaire à  $B_0$  qui induit la transition entre les deux niveaux d'énergie
- de détecter le signal de résonance à cette même fréquence (réception)

L'échantillon est placé au centre du dispositif. L'application d'un champ magnétique statique  $B_0$  intense provoque un éclatement des niveaux d'énergie des spins par effet Zeeman. Une bobine R accordée à la fréquence de Larmor génère un champ magnétique radiofréquence transversale à  $B_0$  qui induit des transitions entre niveaux d'énergie à des fréquences dépendant de l'environnement chimique du noyau. Le signal de résonance est détecté sur cette même bobine. Il est ensuite traité par un calculateur.

## B. RMN du $^{13}\text{C}$

La RMN du  $^{13}\text{C}$  présente quelques particularités notables par rapport à la RMN  $^1\text{H}$  [1, 2].

Contrairement au proton, le carbone 13 est une espèce à spin dilué. En effet, son abondance est de 1.1 % et, de ce fait, il est peu probable qu'une molécule pharmaceutique contienne plusieurs noyaux  $^{13}\text{C}$ . De plus, le rapport gyromagnétique du carbone 13 est environ 63 fois plus faible que celui du proton. Ces particularités ont pour conséquence que l'intensité du signal RMN du  $^{13}\text{C}$  est 6000 fois plus faible que l'intensité du signal RMN  $^1\text{H}$ . Il est donc nécessaire d'augmenter l'intensité du signal pour que le spectre soit exploitable.

Du fait de la faible abondance du  $^{13}\text{C}$ , il n'est généralement pas nécessaire de tenir compte du couplage spin-spin  $J^{13}\text{C}-^{13}\text{C}$  au sein d'une molécule (les couplages sont dus à des interactions entre les noyaux qui peuvent modifier profondément la structure des spectres). Par contre, les couplages  $J^{13}\text{C}-^1\text{H}$  ne sont pas négligeables et entraînent une grande complexité des spectres RMN du  $^{13}\text{C}$  s'ils ne sont pas neutralisés.

Pour contourner ces difficultés, les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  sont habituellement enregistrés en faisant appel à la technique de découplage des protons. Cette technique consiste à irradier les protons avec une seconde source de radiofréquence dans toute la gamme de fréquences de résonance des protons pendant que l'on observe les  $^{13}\text{C}$ . On rend ainsi égale la population des spins (+  $\frac{1}{2}$ ) et (-  $\frac{1}{2}$ ) des protons liés aux carbones. De ce fait, les couplages  $J^{13}\text{C}-^1\text{H}$  n'existent plus et seules persistent les résonances des carbones isolés. De plus, le signal est alors augmenté, par transfert de polarisation (on emploie aussi le terme de polarisation croisée ou de CP) des protons vers les carbones, d'un facteur dépendant des rapports gyromagnétiques des deux noyaux. C'est l'effet Overhauser Nucléaire (effet N.O.E.). On peut ainsi multiplier par 3 l'intensité des signaux des  $^{13}\text{C}$ . Cependant, cet effet n'est pas toujours maximum et dépend de plusieurs facteurs, notamment de la valeur du temps de relaxation  $T_1$  du noyau observé. Ainsi, des différences notables sur l'effet N.O.E. se produisent selon que le carbone est lié à zéro, un, deux, ou trois protons. Cela entraîne que la RMN  $^{13}\text{C}$  est difficilement quantitative dans le cas général.

### C. RMN de l'état solide

La principale difficulté de l'application de la RMN aux solides réside dans la faible résolution caractéristique des échantillons solides. Les problèmes de résolutions et de largeurs de raies ne sont pas les seuls inconvénients de la RMN des solides. Contrairement à ce qui se produit en solution, la rotation moléculaire est pratiquement absente et, de ce fait, les temps de relaxation spin-réseau sont très longs. Il faut donc attendre assez longtemps entre chaque mesure pour que les spins reviennent à l'équilibre.

Deux facteurs principaux contribuent à la largeur de raies dans les échantillons solides. Le premier est dû à l'interaction dipolaire magnétique entre les spins nucléaires. Dans le cas de la RMN du carbone 13, cette interaction est éliminée par la technique de découplage des protons. Le second facteur d'élargissement est l'anisotropie du déplacement chimique. Les déplacements chimiques proviennent de l'aptitude du champ  $B_0$  appliqué à induire des circulations d'électrons dans les molécules. De manière générale, cette aptitude dépend de l'orientation de la molécule par rapport au champ  $B_0$ . En solution, les molécules pivotent rapidement et le déplacement chimique significatif est « moyenné ». Par contre, dans un solide, les molécules sont fixes et selon leur orientation, elles vont présenter des résonances différentes. Ainsi, l'anisotropie du déplacement chimique n'est pas nulle.

Ces deux facteurs d'élargissement varient tous les deux en fonction de l'angle  $\theta$  entre le champ externe  $B_0$  et l'axe principal de la molécule proportionnellement à  $(1-3\cos^2\theta)$ . Pour réduire la largeur des raies, il suffit donc de rendre ce facteur de proportionnalité égal à zéro. Pour cela, on utilise la « rotation à l'angle magique » (en anglais *Magic Angle Spinning* ou MAS). Dans cette technique, l'échantillon est mis en rotation à grande vitesse à un angle de  $54.74^\circ$  par rapport au champ extérieur. La fréquence de rotation doit être supérieure à la largeur du spectre sinon on observe des raies parasites que l'on appelle « bandes de rotation ».

## Références

- 1 D. Canet, J. C. Boubel, and E. Canet-Soulas, *La RMN*, 2002).
- 2 P. W. Atkins, in *Chimie Physique*, edited by D. B. Université, 2000), p. 527.



## **ANNEXE C**

# **Analyse microstructurale par diffraction des rayons X sur poudre**

Depuis quelques années, la diffraction des rayons X sur poudre est devenue un outil puissant d'étude des matériaux. Elle permet notamment :

- de résoudre et d'identifier des structures cristallines de composés organiques dont les molécules sont de taille importante et dont la symétrie est basse (le plus souvent, ce sont des structures tricliniques ou monocliniques). C'est le cas par exemple de la phase anhydre stable et de la phase hygroscopique du  $\alpha$ -lactose qui ont été résolues au laboratoire <sup>[1, 2]</sup>.
- de réaliser des analyses microstructurales, c'est-à-dire de remonter à la dimension et aux déformations des cristallites. Ces informations sont particulièrement intéressantes dans le domaine des matériaux thérapeutiques où les opérations de broyage modifient fortement la morphologie des cristallites et induisent des transitions de phases à l'état solide.

### A. Principe de l'analyse microstructurale

Un diagramme de diffraction X contient quatre types d'information <sup>[3]</sup> :

- Les positions des raies à partir desquelles on détermine la maille élémentaire cristalline. La loi de Bragg relie l'angle de diffraction  $2\theta$  d'une famille de plans (hkl) à la distance entre deux plans successifs  $d_{hkl}$  de cette même famille.

$$\lambda = 2 \cdot d_{hkl} \cdot \sin(\theta_{hkl})$$

- L'intensité des raies qui renseigne sur la position des atomes à l'intérieur de la maille.

$$I_{hkl} = \left( \frac{I_0 \lambda^3 l_S}{64 \pi R} \right) \cdot \frac{1}{\mu} \left( \frac{e^2}{4 \pi \epsilon_0 m c^2} \right)^2 \cdot \frac{1}{V_C^2} \cdot J_{hkl} \cdot [L] \cdot [P] \cdot |F_{hkl}|^2$$

Avec :

$I_0$  : intensité du faisceau incident.

$\lambda$  : longueur d'onde du faisceau incident.

$l_S$  : hauteur de la fente du détecteur ou encore longueur du cône de diffraction mesurée par le détecteur.

$R$  : distance échantillon-détecteur

$\mu$  : coefficient linéaire d'absorption.

$\frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 m c^2} = R_0$  : rayon classique de l'électron où  $e$  représente la charge de l'électron,  $m$  sa masse,  $c$  est la célérité de la lumière et  $\epsilon_0$  est la permittivité du vide.  $J_{hkl}$ , la multiplicité de la réflexion (hkl) où  $h, k, l$  sont les indices de Miller.

$V_C$  : volume de la maille.

[L], le facteur de Lorentz qui correspond à la vitesse de passage d'un nœud réciproque dans la sphère d'Ewald. Il dépend de la configuration géométrique du dispositif.

[P], le facteur de polarisation. Il dépend des caractéristiques du monochromateur.

$F_{hkl}$  est le facteur de structure de la réflexion (hkl).

$$F_{hkl} = \sum_{j=1}^{\text{maille}} f_j \cdot \exp\left[-\frac{B_j \sin^2(\theta_{hkl})}{\lambda^2}\right] \cdot \exp[2\pi i(h \cdot x_j + k \cdot y_j + l \cdot z_j)]$$

La somme se fait sur tous les atomes de la maille.  $x_j, y_j, z_j$  sont les coordonnées réduites de l'atome  $j$  dans la maille,  $f_j$  est le facteur de diffusion atomique de l'atome

$j$  et  $\exp\left[-\frac{B_j \sin^2(\theta_{hkl})}{\lambda^2}\right]$  est le facteur de Debye-Waller qui traduit

l'atténuation d'intensité diffractée due aux vibrations thermiques des atomes.

- Le **profil des raies** (distribution d'intensité autour de la position de diffraction) qui dépend de la résolution expérimentale du diffractomètre et de la **microstructure** de la poudre à étudier.
- Le fond continu qui est dû en partie à certaines interactions entre le faisceau incident et le matériau étudié (diffusion Compton, fluorescence X...). Il peut aussi indiquer la présence de composantes amorphes dans la poudre étudiée.

Nous allons nous intéresser plus particulièrement au profil des raies et à la manière dont on en extrait les paramètres de taille et de déformations des cristallites. En théorie, pour un diffractomètre parfait et pour un cristal parfait de taille infinie, la figure de diffraction est constituée de raies fines assimilables à des pics de Dirac. En pratique, le montage

expérimental, la taille finie et les défauts des cristallites sont responsables d'une distribution d'intensité autour de la position de diffraction. La dépendance angulaire du profil  $h(2\theta)$  résulte donc du produit de convolution de  $f(2\theta)$ , représentant le profil pur associé aux effets propres de l'échantillon, par  $g(2\theta)$  qui représente la fonction d'appareil <sup>[3, 4]</sup> :

$$h(2\theta) = g(2\theta) \otimes f(2\theta)$$

La fonction d'appareil concerne la résolution du montage expérimental. Quelle que soit la qualité des montages utilisés, les différents éléments de l'appareillage induisent des aberrations qui sont responsables d'élargissements et de déformations des raies. Les aberrations principales sont : la distribution en longueur d'onde du faisceau, la divergence axiale qui est très importante aux faibles angles, la transparence de l'échantillon, les fentes, la largeur spectrale <sup>[4]</sup>... Pour mesurer cette contribution au profil des raies, nous enregistrons un diagramme de diffraction d'un cristal de NAC, considéré comme parfait et infini, et nous attribuons l'élargissement observé aux aberrations instrumentales.

La fonction  $f(2\theta)$  correspond à l'élargissement des raies dû à l'échantillon qui provient de la distribution en taille des cristallites et des distorsions du réseau cristallin. Il ne faut pas confondre cristallites et grains. Les cristallites sont des petits monocristaux (que l'on appelle aussi domaines de cohérence) qui constituent les unités élémentaires d'un polycristal. Les grains de poudres peuvent être monocristallins (constitués d'un seul cristallite) ou polycristallins (constitués de plusieurs cristallites).

Les domaines de cohérence étant de taille finie, les raies de la figure de diffraction présentent une dispersion d'intensité autour des positions de diffraction  $2\theta_{hkl}$ . Cet élargissement, qui est inversement proportionnel à la taille des cristallites, est donné par la formule de Scherrer <sup>[5]</sup> :

$$\Delta 2\theta = \frac{K\lambda}{L\cos\theta}$$

Avec :

- L, la dimension moyenne des cristallites.
- K, la constante de Scherrer ( $K \approx 1$ ).

Le diffractomètre du laboratoire possède une résolution permettant de mesurer des tailles inférieures ou égales à une centaine de nanomètres.

Un cristal parfait est une répétition tridimensionnelle de mailles identiques. Sous l'effet de contraintes externes (broyage...), des distorsions de réseau qui correspondent à des déformations locales (micro déformations) importantes sont créées. Il en résulte des variations de la moyenne des distances réticulaires  $d_{hkl}$  qui sont responsables d'un élargissement des raies donné par la relation :

$$\Delta 2\theta = -2\varepsilon \tan\theta$$

$\varepsilon$  (=  $\Delta d/d$ ) représente la déformation relative de la maille cristalline.

On remarque que les élargissements dus à la taille des cristallites et les élargissements causés par les distorsions de réseau n'ont pas la même dépendance angulaire. Il est donc possible de distinguer les deux effets et de séparer leur contribution respective à la distribution d'intensité autour des pics de Bragg. Des modèles mathématiques plus développés prennent en compte les effets de taille et de déformation anisotropes.

## **B. Modélisation des profils de raies** <sup>[3, 4]</sup>

La modélisation du profil des raies nécessite de prendre en compte les facteurs suivants :

- La forme de la raie que l'on modélise par la fonction mathématique qui simule le mieux la distribution d'intensité autour de la position de diffraction. Les fonctions les plus courantes sont les fonctions gaussienne, lorentzienne, Voigt, pseudo-Voigt, Pearson VII...
- La largeur de la raie. Nous utilisons ici la largeur à mi-hauteur (FWHM).
- L'asymétrie du pic par rapport à sa position de diffraction.

En diffraction X, la contribution de l'échantillon à l'élargissement des raies est très importante contrairement au cas de la diffraction neutronique. Il est donc plus difficile de modéliser les profils dans le cas de la diffraction des rayons X.

Les premières fonctions proposées pour modéliser les raies de diffraction ont été les fonctions gaussiennes qui s'écrivent de la façon suivante :

$$G(2\theta) = \frac{2}{HG} \left[ \frac{\ln(2)}{\pi} \right]^{\frac{1}{2}} \exp \left[ -\frac{4\ln(2)}{(HG)^2} (2\theta - 2\theta_{hkl})^2 \right]$$

Avec :

$H_G$ , la largeur à mi hauteur de la raie gaussienne.

$\theta_{hkl}$ , l'angle de diffraction de la raie hkl.

$G(2\theta)$ , la distribution d'intensité du profil gaussien à l'angle  $2\theta$ .

Si ces fonctions sont bien adaptées aux profils de raies neutroniques, le développement de diffractomètres de haute résolution a montré qu'il n'en est pas de même en diffraction X.

Les fonctions lorentziennes ont également été employées :

$$L(2\theta) = \frac{2}{\pi H_L} \left[ 1 + \frac{4(\sqrt{2}-1)}{(H_L)^2} (2\theta - 2\theta_{hkl})^2 \right]^{-1}$$

Avec :

$H_L$  est la largeur à mi hauteur de la raie lorentzienne.

$L(2\theta)$  est la distribution d'intensité du profil lorentzien à l'angle  $2\theta$ .

Depuis plusieurs années, les radiocristallographes décrivent les raies expérimentales comme des produits de convolution de fonctions lorentziennes et de fonctions gaussiennes.

$$V(2\theta) = G(2\theta) \otimes L(2\theta)$$

Ces fonctions, appelées fonctions de Voigt, donnent une très bonne description des pics de Bragg. Cependant, elles ont l'inconvénient d'être difficilement programmables et sont gourmandes en temps de calcul. On préfère utiliser des combinaisons linéaires de gaussiennes et de lorentziennes, connues sous le nom de fonctions pseudo-Voigt. Il en existe plusieurs formes. La plus simple consiste à prendre une pseudo-Voigt de la forme :

$$pV(2\theta) = \eta L(2\theta) + (1-\eta)G(2\theta)$$

où  $\eta$  représente la proportion de lorentzienne.

Généralement, on pose  $\eta = \eta_0 + X(2\theta)$  avec  $\eta_0$  et  $X(2\theta)$ , des paramètres à affiner. Cette fonction permet de réaliser des calculs rapides. Cependant, les paramètres  $\eta_0$  et  $X$  n'ont aucun sens physique.

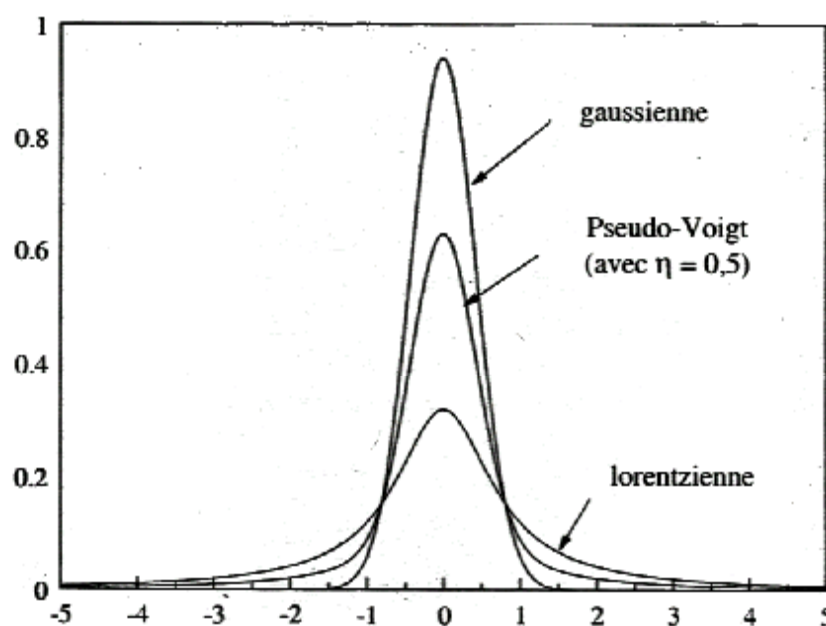


Fig. C.1 :

Fonctions gaussienne, lorentzienne et pseudo-voigt. D'après Guinebretière<sup>[4]</sup>

La fonction de Thompson-Cox-Hastings (TCH)<sup>[6]</sup> est une autre fonction pseudo-Voigt. Elle assigne des largeurs individuelles à la gaussienne ( $H_G$ ) et à la lorentzienne ( $H_L$ ). Elle modifie ainsi leur présence dans le profil total du pic. Le paramètre  $\eta$  n'est pas

directement affiné mais calculé à partir de  $H_G$  et  $H_L$ . La fonction TCH prend en compte les effets de tailles, les effets de déformations et le caractère isotrope ou anisotrope de ces effets. Ces effets sont modélisés par des termes jouant sur les largeurs à mi-hauteur des gaussiennes et des lorentziennes. Nous avons utilisé cette fonction dans nos expériences car elle rend bien compte de nos profils de raies.

Les largeurs à mi-hauteur des gaussiennes ( $H_G$ ) et des lorentziennes ( $H_L$ ) sont données par :

$$(H_G)^2 = \left[ U_{inst} + U_{st} + (1-\xi)^2 \Gamma_{st}^2(a_{st}) \right] (\tan\theta)^2 + V_{inst} \cdot \tan\theta + W_{inst} + \frac{I_{sz}}{(\cos\theta)^2}$$

$$H_L = \left[ X_{inst} + X_{st} + \xi \cdot \Gamma_{st}(a_{st}) \right] \tan\theta + \frac{Y_{inst} + Y_{sz} + F_{sz}(S_{sz})}{\cos\theta}$$

Les termes  $U_{inst}$ ,  $V_{inst}$ ,  $W_{inst}$ ,  $X_{inst}$  et  $Y_{inst}$  correspondent aux élargissements dus aux aberrations instrumentales. Ces paramètres ont été déterminés en enregistrant un diffractogramme d'un échantillon de NAC et en affinant le profil des raies observées.  $\xi$  est un paramètre permettant d'ajuster la distribution des déformations entre un profil purement gaussien ( $\xi=0$ ) et un profil purement lorentzien ( $\xi=1$ ).

Les termes indicés « sz » correspondent aux effets de tailles.  $I_{sz}$  et  $Y_{sz}$  concernent les effets isotropes.  $F_{sz}(S_{sz})$  prend en compte les effets anisotropes. Ce dernier terme consiste en un développement d'harmoniques sphériques :

$$F_{sz}(S_{sz}) = \frac{180\lambda S_{sz}(\theta_Q, \varphi_Q)}{\pi}$$

$$S_{sz}(\theta_Q, \varphi_Q) = \sum_{l,m} C_{l,m} Y_{l,m}(\theta_Q, \varphi_Q)$$

Avec :

$\theta_Q, \varphi_Q$  : angles définissant le vecteur de diffusion dans la direction (h, k, l).

$Y_{l,m}$  : fonctions harmoniques sphériques à affiner.

$C_{l,m}$  : coefficients ajustables attribués à chacune des  $Y_{l,m}$ .



$S_{SZ}$  : diamètre moyen des cristallites dans la direction ( $\theta$ ,  $\varphi$ ).

Seules les harmoniques sphériques invariantes par le groupe de Laüe du cristal doivent intervenir. Par exemple, dans le cas d'une symétrie triclinique ( $\alpha$ -lactose anhydre stable), la présence d'un centre d'inversion entraîne la nullité des  $C_{l,m}$  pour  $l$  impair.

Les termes indicés « st » renvoient aux effets de déformations. Les termes  $U_{st}$  et  $X_{st}$  servent à caractériser les effets isotropes. Le terme  $\Gamma_{st}^2(a_{st})$  correspond aux effets anisotropes et doit posséder la symétrie du groupe de Laüe du cristal. Il est donné par la formule :

$$\Gamma_{st}^2(a_{st}) = \langle d(h,k,l) \rangle^4 \sum_{H,K,L} S_{HKL} h^H k^K l^L$$

Où :  $\langle d(h, k, l) \rangle$  est la distance réticulaire moyenne de la réflexion (h, k, l)

$S_{HKL}$  est défini pour  $H+K+L=4$

Enfin, l'asymétrie des raies doit aussi être considérée. Cet effet, plus marqué aux faibles angles, se manifeste par une montée en intensité du pic de Bragg plus lente du côté des petits angles. Ces effets sont pris en compte par une fonction d'asymétrie dont nous ne donnerons pas dans les détails ici.

### C. Méthodes d'affinement et facteurs de fiabilité

Les études microstructurales des diagrammes de diffraction des rayons X ont été réalisées à l'aide du logiciel Fullprof [7]. A partir des données structurales fournies par l'utilisateur, Fullprof simule un diagramme théorique et le compare au diagramme expérimental. Deux méthodes ont été utilisées pour réaliser les affinements des diagrammes de diffraction des rayons X obtenus au cours de cette thèse :

- La méthode de Rietveld [8, 9]. Cette méthode nécessite de connaître la structure du composé c'est-à-dire le groupe d'espace, les paramètres de mailles ainsi que les positions des atomes dans la maille. Cette méthode permet de remonter à la microstructure des cristallites des échantillons. Elle permet également, lorsque

plusieurs phases cristallines sont en présence dans un échantillon, de les quantifier en comparant les intensités relatives des pics de Bragg de chaque phase.

- La méthode de Le Bail <sup>[10]</sup>. Cette méthode nécessite de connaître uniquement le groupe d'espace et les paramètres de maille du composé. L'intensité des raies est modélisée par itération puisque les positions des atomes dans la maille ne sont pas prises en compte. Cette méthode permet également de remonter à la microstructure des cristallites des échantillons. En effet, la microstructure influe sur le profil des raies et non sur leur intensité. Comparativement à la méthode de Rietveld, la méthode de Le Bail est plus rapide (il y a moins de paramètres à affiner) et permet de connaître la microstructure des échantillons lorsque les positions atomiques sont inconnues ou données avec trop peu de précision. Par contre, elle ne permet pas de connaître les pourcentages de phases cristallines dans les échantillons cristallins polyphasés.

A chaque itération de l'affinement, le logiciel modifie les paramètres choisis par l'utilisateur de sorte que le diagramme calculé tend vers le diagramme expérimental. Les facteurs de reliabilité dépendent de l'intensité en chaque point de mesure et sont révélateurs de l'écart entre les diagrammes observé et théorique.

Le facteur de profil pondéré  $R_{WP}$  est donné par la relation suivante :

$$R_{WP} = \sqrt{\frac{\sum_i W_i (y_{oi} - y_{ci})^2}{\sum_i W_i y_{oi}^2}}$$

Avec :

$W_i$  : fonction de poids.

$Y_{oi}$  : intensité mesurée au point  $i$  et corrigée du bruit de fond.

$Y_{ci}$  : intensité calculée au point  $i$ .

L'intensité observée en chaque point de mesure est corrigée du bruit de fond continu par  $Y_{oi} = Y_i - Y_{bi}$  où  $Y_i$  est l'intensité brute observée et  $Y_{bi}$ , l'intensité du bruit de fond continu évaluée graphiquement par interpolation linéaire.

Le facteur d'erreur statistique s'écrit :

$$R_{\text{exp}} = \sqrt{\frac{N-P+C}{\sum_i w_i Y_{oi}^2}}$$

Avec :

N : nombre de points du diagramme.

P : nombre de paramètres affinés.

C : nombre de contraintes appliquées sur les paramètres affinés.

Le résidu « goodness of fit »  $\chi^2$  est donné par :

$$\chi^2 = \left[ \frac{R_{wp}}{R_{\text{exp}}} \right]^2 = \frac{\sum_i W_i (Y_{oi} - Y_{ci})^2}{N-P+C}$$

$\chi^2$  doit normalement converger vers 1 pour que les résultats de l'affinement soit considérés comme corrects. Mais  $R_{\text{exp}}$  et  $\chi^2$  dépendent de la mesure. En effet, pour un long temps de comptage, l'intensité en chaque point  $Y_{oi}$  est grande. Cela entraîne une valeur faible pour  $R_{\text{exp}}$  et, par conséquent, une valeur élevée de  $\chi^2$ .

## Références

- 1 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, and P. Derollez, *Ab initio structure determination of the hygroscopic anhydrous form of  $\alpha$ -lactose by powder X-ray diffraction*, Acta Crystallographica Section B Structural Science **60 Part 4**, 453 (2004)
- 2 C. Platteau, J. Lefebvre, F. Affouard, J. F. Willart, and P. Derollez, *Combination of powder X-ray diffraction and energy minimisation for the structure determination of the stable anhydrous form of  $\alpha$ -lactose*, Acta Cryst. B **61** (2005)
- 3 C. Platteau, *Détermination de la structure cristalline de matériaux d'intérêt pharmaceutique à partir de diagrammes de diffraction X sur poudre*, Université des Sciences et Technologies de Lille, (2004)
- 4 R. Guinebretière, *Diffraction des rayons X sur échantillons polycristallins* (Hermès Science Publications, Paris, 2002).
- 5 P. Scherrer, *Bestimmung der grösse und der inneren struktur von Kolloiteilchen mittels röntgenstrahlen*, Göttingen Math. Phys. **1-2**, 96 (1918)
- 6 P. Thompson, D. E. Cox, and J. B. Hastings, *Rietveld Refinement of Debye-Scherrer Synchrotron X-ray Data from  $Al_2O_3$* , J. Appl. Cryst. **20**, 79 (1987)
- 7 *Abstracts of the Satellite Meeting on Powder Diffraction of the XV Congress of the IUCr*, p. 127, Toulouse, France, (1990),
- 8 H. M. Rietveld, *Line profiles of neutron powder diffraction peaks for structure refinement*, Acta Cryst. **22**, 151 (1967)
- 9 H. M. Rietveld, *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures*, J. Appl. Cryst. **2**, 65 (1969)
- 10 A. Le Bail, H. Duroy, and J. L. Fourquet, *Ab-initio structure determination of  $LiSbWO_6$  by X Ray powder diffraction*, Mat.Res.Bull. **23**, 447 (1988)

## **ANNEXE D**

### **Evaluation de la fraction amorphe d'un matériau par DSC**

Cette annexe présente la méthode qui permet de déterminer la fraction amorphe ( $X_{am}$ ) d'un échantillon par analyse d'un thermogramme de DSC enregistré au réchauffage <sup>[1]</sup>. Selon les cas, cette fraction amorphe peut se décomposer en une fraction qui recristallise au réchauffage ( $X'_{am}$ ) et une fraction qui ne recristallise pas ( $X''_{am}$ ) de sorte que :

$$X_{am} = X'_{am} + X''_{am}$$

La fraction amorphe qui ne recristallise pas est simplement obtenue par la comparaison des enthalpies de fusion de l'échantillon étudié ( $\Delta H_f$ ) et d'un échantillon purement cristallin du même composé ( $\Delta H^*_f$ ) à la température de fusion  $T_f$ :

$$(1 - X''_{am}) = \frac{\Delta H_f(T_f)}{\Delta H^*_f(T_f)}$$

La fraction amorphe qui recristallise est, quant à elle, obtenue par comparaison de l'enthalpie de recristallisation de l'échantillon étudié ( $\Delta H_{CR}$ ) et de l'enthalpie de fusion du composé totalement cristallin ( $\Delta H^*_f$ ). Cependant, comme le montre la figure 1, l'enthalpie du liquide métastable augmente plus rapidement au réchauffage que celle de l'état cristallin correspondant. Puisque la cristallisation intervient à une température  $T_{CR}$  comprise entre la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) et la température de fusion ( $T_f$ ), l'enthalpie de recristallisation à  $T_{CR}$  ( $\Delta H_{CR}(T_{CR})$ ) est toujours plus petite que l'enthalpie de fusion à  $T_f$  ( $\Delta H^*_f(T_f)$ ). De ce fait,  $\Delta H_{CR}(T_{CR})$  est toujours plus faible que  $\Delta H^*_f(T_f)$ . Cette différence est d'autant plus marquée que la recristallisation se produit à basse température.

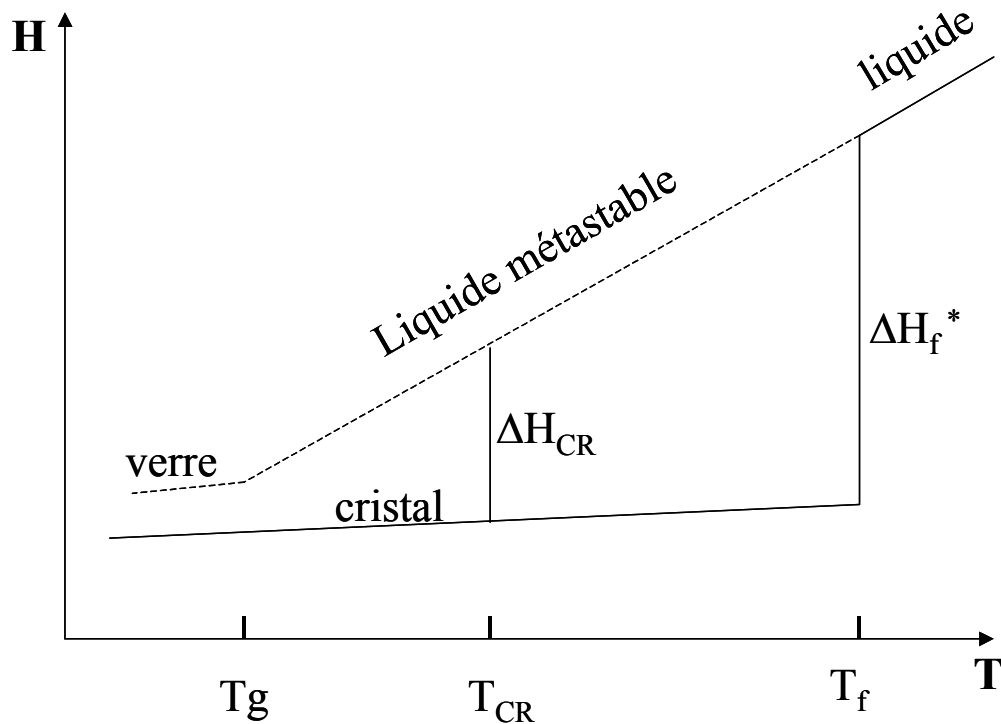


Fig. D. 1:

Evolution schématique des enthalpies en fonction de la température d'un composé à l'état cristallin et à l'état amorphe.  $T_g$ ,  $T_{CR}$ ,  $T_f$  sont respectivement les températures de transition vitreuse, de cristallisation et de fusion.  $\Delta H_{CR}$  et  $\Delta H_f^*$  sont respectivement les enthalpies de cristallisation et de fusion

Dans le cas particulier d'un composé totalement amorphe qui recristallise complètement, la différence d'enthalpie entre la fusion et la recristallisation est donnée par :

$$\Delta H_{CR}(T_{CR}) = \Delta H_f^*(T_f) - \int_{T_{CR}}^{T_f} \left( \frac{\partial H}{\partial T} \right)_{cristal} - \left( \frac{\partial H}{\partial T} \right)_{amorphe} dT$$

Si l'on suppose que la différence de chaleur spécifique ( $\Delta C_p$ ) entre les phases amorphe et cristalline est constante dans l'intervalle de température  $[T_{CR}; T_f]$  et que les

phénomènes de cristallisation et de fusion se produisent sur des intervalles de températures étroits, l'équation ci dessus se simplifie et peut s'écrire :

$$\Delta H_{CR}(T_{CR}) = \Delta H_f^*(T_f) - \Delta Cp(T_f - T_{CR}) = \Delta H_f^*(T_{CR})$$

où  $\Delta H_f^*(T_{CR})$  est l'enthalpie de fusion à la température de cristallisation du composé totalement cristallin.

Dans le cas plus général où le composé est partiellement amorphe et où seule une fraction de la partie amorphe recristallise, l'équation ci-dessus devient :

$$\Delta H_{CR}(T_{CR}) = \Delta H_f^*(T_{CR}) [X_{am}(1 - X''_{am})]$$

On déduit  $X_{am}$  en calculant :

$$X_{am} = \frac{\Delta H_{CR}(T_{CR})}{\Delta H_f^*(T_{CR})(1 - X''_{am})} = \frac{\Delta H_{CR}(T_{CR})}{\Delta H_f^*(T_{CR})} \times \frac{\Delta H_f^*(T_f)}{\Delta H_f(T_f)}$$



### Référence

- 1 R. Lefort, A. De Gusseme, J. F. Willart, F. Danede, and M. Descamps, *Solid state NMR and DSC methods for quantifying the amorphous content in solid dosage forms: an application to ball-milling of trehalose*, International Journal of Pharmaceutics **280**, 209 (2004)

## **ANNEXE E**

**Facteurs d'accord jugeant de la qualité des  
affinements réalisés sur les diagrammes de  
diffraction des rayons X sur poudre**

Les facteurs d'accord sont utilisés pour juger de la qualité des affinements. Sur les figures de diffraction des rayons X sur poudre, on aboutit généralement à des  $R_{WP}$  de l'ordre de 10 %. Compte tenu des conditions expérimentales dans lesquelles les diffractogrammes ont été obtenus (recouvrement partiel des pics de Bragg, durée d'acquisition limitée...), les résultats obtenus sont tout à fait satisfaisants.

### A. Analyses microstructurales des échantillons de lactose broyés

Durée broyage (min)	$R_{WP}$	$\chi^2$
0	6.57	4.34
1	7.37	3.88
2	7.98	3.61
3	8.18	2.37
4	7.82	2.46
5	7.28	1.92
6	8.47	2.46
7	9.35	2.80

Tableau E.1 :

Facteur de profil pondéré ( $R_{WP}$ ) et résidu ( $\chi^2$ ) rendant compte de la qualité des affinements réalisés par la méthode de Rietveld sur les diagrammes de rayons X sur poudre pour déterminer les microstructures des échantillons de lactose broyés.

### B. Analyses microstructurales des échantillons de tréhalose broyés

Durée broyage (min)	$R_{WP}$	$\chi^2$
0	5.46	6.42
2	5.71	1.41
5	6.59	1.18
7	7.21	1.30
10	8.24	1.03
12	7.78	1.14
20	13.1	1.08

Tableau E.2 :

Facteur de profil pondéré ( $R_{WP}$ ) et résidu ( $\chi^2$ ) rendant compte de la qualité des affinements réalisés par la méthode de Le Bail sur les diagrammes de rayons X sur poudre pour déterminer les microstructures des échantillons de tréhalose broyés.

### C. Estimation des phases $\alpha$ et $\beta$ au sein des échantillons de mannitol broyés

Durée du broyage	$R_{WP}$	$\chi^2$
40 min	11.7	1.71
1 h	11.3	1.60
1 h 15 min	10.6	1.61
1 h 30 min	9.84	1.38
1 h 45 min	14.5	2.69
2 h	12.9	2.33
4 h	14.3	3.18
9 h 40 min	10.5	1.73

Tableau E.3 :

Facteur de profil pondéré ( $R_{WP}$ ) et résidu ( $\chi^2$ ) rendant compte de la qualité des affinements réalisés par la méthode de Rietveld sur les diagrammes de rayons X sur poudre pour déterminer les pourcentages de  $M_\beta$  et de  $M_\alpha$  dans les échantillons de mannitol broyés.

### D. Analyses microstructurales des échantillons de mannitol broyés

Durée du broyage	$R_{WP}$	$\chi^2$
0 min	11.9	1.87
10 min	9.80	1.19
20 min	10.1	1.13
30 min	8.92	1.34
40 min	9.21	1.12
1 h	9.45	1.13
1 h 15 min	9.41	1.17
1 h 30 min	9.75	1.27
1 h 45 min	8.93	1.00
2 h	9.08	1.11
4 h	9.05	1.21
9 h 40 min	8.93	1.07

Tableau E. 4 :

Facteur de profil pondéré ( $R_{WP}$ ) et résidu ( $\chi^2$ ) rendant compte de la qualité des affinements réalisés par la méthode de Le Bail sur les diagrammes de rayons X sur poudre pour déterminer les microstructures des échantillons de mannitol broyés.

## Mécanosynthèse et Vitrification à l'état solide d'alliages moléculaires

Ce mémoire est consacré à la mécanosynthèse d'alliages moléculaires par cobroyage. Les composés étudiés sont des composés utilisés comme excipients dans l'industrie pharmaceutique. Il s'agit plus particulièrement du lactose, du tréhalose et du mannitol.

Nos investigations ont montré la possibilité d'obtenir, sur une certaine gamme de concentrations, des solutions solides vitreuses homogènes tréhalose/mannitol et lactose/mannitol par cobroyage des poudres cristallines correspondantes. Elles ont aussi permis de montrer de manière originale l'influence de la position relative de la température de broyage par rapport à la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) sur la nature des états obtenus par broyage en faisant varier la zone de  $T_g$  des alliages par changement de composition chimique.

Les transformations sous broyage des composés purs ont également été étudiées en détail. Le broyage du lactose et du tréhalose en dessous de  $T_g$  est à l'origine d'une transformation directe cristal  $\rightarrow$  verre à l'état solide. Par contre, le broyage des formes cristallines  $\delta$  et  $\beta$  du mannitol au-dessus de  $T_g$  engendre une transformation polymorphique vers la forme cristalline  $\alpha$  de stabilité intermédiaire montrant, de ce fait, le caractère stationnaire des états atteints au cours de ce type de transformations.

De plus, nos investigations ont permis de déterminer un certain nombre de propriétés spécifiques de ces systèmes inaccessibles à partir des liquides purs et des mélanges liquides. La mutarotation du lactose a pu être caractérisée en détail. Les diagrammes de phases des mélanges lactose/mannitol et tréhalose/mannitol ont pu être établis.

L'ensemble de ces résultats a été obtenu par DRX, RMN, DSC et ATG.

*Mots clefs* : mécanosynthèse, alliages moléculaires, solutions solides vitreuses, solutions solides cristallines, verre, transition vitreuse, amorphisation, polymorphisme, transformations de phases, broyage, mutarotation, diagrammes de phases, lactose, tréhalose, mannitol, composés d'intérêt pharmaceutique.

---

## Mechanosynthesis and solid state vitrification of molecular alloys

This thesis deals with molecular alloys mechanosynthesis obtained by co-milling. The compounds studied are used as excipients in pharmaceutical industry. It concerns lactose, trehalose and mannitol.

We show that co-milling of crystalline powders of trehalose/mannitol and of lactose/mannitol generate, for some composition range, homogeneous glass solutions. These studies show, from original way, the influence of milling temperature regard to glass transition temperature ( $T_g$ ) on the nature of the final states obtained by milling : we have changed the glass transition temperature by changing the chemical composition of molecular alloys.

The effect of milling on the pure compounds has also been studied. Ball milling of lactose and trehalose below their  $T_g$  induces a direct crystal  $\rightarrow$  glass transformation. Ball milling above  $T_g$  of mannitol  $\beta$ , stable form, and of mannitol  $\delta$ , the most metastable form, induces a polymorphic transformation towards mannitol  $\alpha$ , which is of intermediate stability. These results show that states obtained under ball milling are stationary states rather than thermodynamic equilibrium states.

Moreover, our investigations permit to determine some specific properties of the systems studied which are not accessible from liquid states. We have characterised in details mutarotation of lactose. Binary phase diagrams trehalose/mannitol and lactose/mannitol are also proposed.

All the results have been obtained by XRD, NMR, DSC and TGA experiments.

*Key words* : mechanosynthesis, molecular alloys, glass solutions, solid solutions, glass, glass transition, amorphization, polymorphism, phase transformations, milling, mutarotation, phase diagrams, lactose, trehalose, mannitol, pharmaceutical compounds.