

THÈSE

présentée pour obtenir le titre

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

École doctorale : Science des Procédés

Spécialité : Génie des Procédés et de l'environnement

par

SÉBASTIEN TEYCHENÉ

Ingénieur INSA Toulouse

Génie des Procédés Industriels et de l'Environnement

**MAÎTRISE DU POLYMORPHISME DANS LES PROCÉDÉS DE
CRISTALLISATION DE PRODUITS D'INTÉRÊTS
PHARMACEUTIQUES :
*Application à La Cristallisation de l'Eflucimibe***

Soutenue le 15 Décembre 2004,

Composition du jury

M. Édouard PLASARI (LSGC - Nancy)	Rapporteur
M. Stéphane VEESLER (CRMCN - Marseille)	Rapporteur
M. Pierre AIMAR (LGC - Toulouse)	Président
M. Jean Marie AUTRET (Pierre Fabre - Gaillac)	Examineur
MM. Christine FRANCES (LGC - Toulouse)	Examineur
MM. Béatrice BISCANS (LGC - Toulouse)	Directeur de thèse

*À Johanne,
À mes parents,
À mon frère.*

Remerciements

Cette thèse s'est déroulée au Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse dans le département Génie des Interfaces et Des Milieux Divisés. En 2001, suite à l'explosion de l'usine AZF, le LGC fut totalement détruit. La solidarité, le courage et la ténacité, qu'ont faits preuve les femmes et les hommes du laboratoire, ont permis non seulement de rétablir physiquement le laboratoire mais aussi de poursuivre les activités de recherche dans un temps record. Cette thèse n'aurait jamais pu être menée à bien sans eux.

Je tiens à remercier très chaleureusement ma directrice de Thèse Béatrice Biscans de m'avoir encadré et accompagné tout au long de ces trois années. L'enthousiasme, l'intuition scientifique et la ténacité dont elle a fait preuve, ainsi que la confiance et la liberté qu'elle m'a accordée au cours de ce travail de thèse, m'ont permis d'entreprendre de nombreuses expériences et ont grandement contribué à la richesse de cette thèse.

Je remercie sincèrement Pierre Aimar pour l'honneur qu'il me fait en présidant ce jury.

Je suis également reconnaissant envers Messieurs Edouard Plasari et Stéphane Veesler, qui ont accepté d'être rapporteurs de cette thèse et qui ont apportés ainsi leurs contributions à ce manuscrit. Merci pour les remarques, suggestions et critiques qui m'ont permis d'en améliorer le contenu tout en me donnant de nouvelles voies de recherche pour l'avenir.

Je tiens à remercier particulièrement Christine Frances pour son amitié et pour l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail, notamment sur la rhéologie, et d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je tiens ensuite à remercier les Laboratoires Pierre Fabre de Gaillac, et tout particulièrement Jean Marie Autret, Catherine Diard, Marc Nicolas pour leurs soutiens et la confiance qu'ils m'ont témoignés tout au long ces trois années de thèse.

Je teins à remercier Dominique Anne-Archard pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée lors de la réalisation des expériences de rhéologie.

Un grand merci à Jean Luc Trompette pour son aide et pour les nombreuses discussions que l'on a pu avoir.

Je remercie l'équipe de la Plate Forme de Génie des Procédés, et tout particulièrement Christine Rouch, Martine Auriol, Marie-line Pern et Marie Line De sozan, pour tous les travaux d'analyses que nous avons réalisés.

Je ne peux oublier les thésards ou stagiaires du labo avec qui j'ai partagé une tranche de vie de laboratoire et auprès de qui j'ai beaucoup appris et partagé. Merci et bonne chance donc à Luli & Christophe, Fred, Carlos, Pierre Marie, Marie, Shila, Aurélia, Sophie, Malorie, Nelson, Léna, Séverine and... Mr White.

Enfin, je remercie Johanne pour son aide, sa présence et sa patience tout au long de cette thèse ainsi que ma famille qui a été d'un grand soutien.

RÉSUMÉ

Ces travaux de thèse portent sur l'étude de la cristallisation et du polymorphisme d'un produit organique pharmaceutique. L'éflucimibe est un principe actif pharmaceutique développé par les laboratoires Pierre Fabre. Les nombreuses techniques de caractérisation mis en œuvre ont permis d'identifier à température ambiante deux polymorphes de conformation, A et B. La cristallisation en solution de l'éflucimibe entraîne l'apparition concomitante des deux formes.

Des études thermodynamiques, de détermination des diagrammes de phases des deux polymorphes, et cinétiques (nucléation, transitions) ont permis de déterminer les domaines de prédominance de chaque polymorphe. Le polymorphe souhaité (forme A), a pu être isolé en contrôlant rigoureusement les paramètres du procédé (concentration initiale, ensemencement, vitesse de refroidissement).

Bien que ces résultats soient conservés lors d'un changement d'échelle, les études de cristallisation montrent que le système évolue vers un ensemble très structuré qui prend en masse. Cet état est un frein pour l'extrapolation du procédé. Des études réalisées en rhéologie des suspensions ont permis de mettre en évidence qu'à partir d'une concentration en particules seuil, la suspension évolue vers arrangement fractal, de type gel, par un mécanisme d'agrégation DLCA.

MOTS-CLÉS : *Cristallisation industrielle, Polymorphisme, Solubilité, Mécanismes de nucléation, Caractérisation de poudres, Rhéologie des suspensions, Extrapolation de procédés.*

ABSTRACT

This thesis deals with the industrial crystallization of a pharmaceutical compound : Eflucimibe. Eflucimibe is a drug, developed by the Pierre Fabre Company, which exhibits two polymorphs. These polymorphs can crystallize concomitantly. The A form is the form of industrial interest. The main objectives of our study are the comprehension of the mechanism which governs the polymorphism and the control of the crystallization process. Specific polymorph characterization techniques (RX, DSC, and Spectroscopy) have been chosen and applied. The solubility curves of the two polymorphs have been measured experimentally and modelled (UNIQUAC). The solubility and the physico-chemical properties of the two forms are very close. The determination of nucleation kinetics of the two polymorphs let us draw up a predominance diagram. The results show that, even in presence of seeds, the A form can only be obtain at low concentration and temperature.

The study of the crystallization process shows that if the A form can be isolated; the suspension went toward a very structured network, which limit the process extrapolation. The rheological behaviour of these suspensions shows that over a certain concentration the particles form a very structured gel.

KEYWORDS : *Industrial crystallization, Polymorphism, Solubility, Nucleation mechanism, Powder characterization, Suspension rheology, Scale-up.*

Nomenclature

Lettres Romanes

A_0	Constante cinétique de nucléation	$\text{m}^{-3}.\text{s}^{-1}$
a_i	Activité du composé i	
A_k	Surface de Van der Waals du groupement k	$\text{cm}^2.\text{mol}^{-1}$
a_{ij}	Paramètre du modèle UNIQUAC pour les composé i et j	
B_0	Vitesse de nucléation primaire homogène	$\text{s}^{-1}.\text{m}^{-3}$
B_2	Vitesse de nucléation secondaire	$\text{s}^{-1}.\text{kg}^{-1}$
b_{ij}	Paramètre du modèle UNIQUAC pour les composé i et j	
ΔC_p	Différence de capacité calorifique	$\text{J}.\text{mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$
c_{ij}	Paramètre du modèle UNIQUAC pour les composé i et j	
$C_{s,i}$	Concentration du composé i	$\text{mg}.\text{g}^{-1}_{\text{solution}}$
C^0	Concentration initiale	$\text{mg}.\text{g}^{-1}$
d	Dimension Euclidienne ($d = 3$)	
D^*	Coefficient d'auto-diffusion du solvant ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)	$\text{m}^2.\text{s}^{-1}$
D_{SL}^∞	Coefficient de diffusion à dilution infinie	$\text{m}^2.\text{s}^{-1}$
d_1	Dimension «chimique» ($d = 1, 3$)	
d_a	Diamètre de l'agitateur	m
D_f	Dimension fractale de l'agrégat	
d_m	Diamètre moléculaire	m
D_r	Diamètre du réacteur	m
d_{cr}	Distance entre les plans cristallins	m
D_{SL}	Coefficient de diffusion du solide dans le liquide	$\text{m}^2.\text{s}^{-1}$
$F(t)$	Fonction de fluage du matériau	Pa
ΔG_{AB}	Différence d'enthalpie libre entre les polymorphes A et B	$\text{J}.\text{mol}^{-1}$
ΔG_{crit}	Variation d'enthalpie libre associée à la formation d'un nucleus	$\text{J}.\text{mol}^{-1}$
G'	Module d'accumulation ou module d'élasticité	Pa
G''	Module de dissipation ou module visqueux	Pa

$G(S)$	Vitesse de croissance des nuclei	m.s^{-1}
$G(t)$	Fonction de relaxation du matériau	Pa
G^*	Module de rigidité complexe	Pa
g^E	Enthalpie libre d'excès	J.mol^{-1}
ΔH_{AB}	Différence d'enthalpie entre les polymorphes A et B	J.mol^{-1}
$\Delta_{fus}H_i$	Enthalpie de fusion du composé i	J.mol^{-1}
$\Delta_{pt}H$	Différence d'enthalpie au point triple	J.mol^{-1}
$\Delta_{tr}H_{A,B}$	Enthalpie de la transition entre la forme A et B	J.mol^{-1}
H_L	Hauteur de remplissage du liquide	m
J	Vitesse de nucléation massique	kg.s^{-1}
k	Constante de Boltzmann	$1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$
k	Constante de Boltzmann	$1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$
k_{n2}	Constante de la vitesse de nucléation secondaire	
l_p	Largeur des conte-pales	m
μ	Potentiel chimique du composé	J.mol^{-1}
M	Masse molaire	mol.g^{-1}
m	masse	g
Mt	Couple de l'agitateur)	Nm
$\mathcal{N}a$	Nombre d'Avogadro	$6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
N	Vitesse d'agitation	tr.min^{-1}]
n	Ordre de la nucléation primaire	
$n2$	Ordre de la nucléation secondaire	
n_i	Nombre de molle du composé i	mol
N_p	Nombre de puissance	
N_q	Nombre de pompage	
P	Pression	Pa
P^2	Coefficient de régression du modèle	
q_i	Paramètre surfacique du modèle UNIQUAC pour le composé i	
Q_k	Paramètre surfacique pour le groupement k	
R	Constante des gaz parfait	$8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$
r_i	Paramètre volumique du modèle UNIQUAC pour le composé i	
R_k	Paramètre volumique pour le groupement k	
R_t	Grandeur proportionnelle au couple de l'agitateur	
Ra_{mass}	Fraction massique d'éthanol dans le mélange éthanol – n-heptane	
ΔS_{AB}	Différence d'entropie entre les polymorphes A et B	$\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$
S	Rapport de sursaturation $S = C/C^*$	
s_i	Degré de sursaturation du composé i	

S_s	Surface spécifique mesurée par BET	$\text{m}^2.\text{g}^{-1}$
T	Température	K
t	Temps	s
T_t	Température de transition entre la forme méta-stable et la forme stable	K
$T_{fus,i}$	Température de fusion du composé i	K
t_g	Temps de croissance des nucléi	s
t_{ind}	Temps d'induction	s
t_n	Temps de nucléation	s
T_{PM}	Température de prise en masse	$^{\circ}\text{C}$
T_{pt}	Température du point triple	K
t_{tr}	Temps nécessaire pour atteindre un état stationnaire de nucléation	s
Δu_i^v	Enthalpie de vaporisation du composé i	$\text{J}.\text{mol}^{-1}$
ΔV	Différence de Volume	m^3
v	Vitesse de translation(v)	$\text{m}.\text{s}^{-1}$
V_i^L	Volume molaire de la phase liquide du composé i	m^3
V_m	Volume moléculaire	m^3
V_k	Volume de Van der Waals du groupement k	$\text{cm}^3.\text{mol}^{-1}$
V_{ref}	Vitesse de refroidissement	$^{\circ}\text{C}.\text{h}^{-1}$
w_i	Fraction massique du composé i	
x	Fraction molaire	
z	Nombre de coordination	

Lettres Grecques

α	Angle de déphasage	$^{\circ}$
γ_i	Coefficient d'activité du composé i	
δ_i	Paramètre de solubilité du composé i	$\text{J}^{1/2}.\text{cm}^{-3/2}$
Φ_i	Fraction volumique du composé i	
$\Delta_{mix}G$	Enthalpie libre du mélange	$\text{J}.\text{mol}^{-1}$
$\dot{\Gamma}$	Vitesse de cisaillement	s^{-1}
Γ	Déformation du matériau	
γ_i	Coefficient d'activité du composé i	
λ_k	Moment d'ordre k de la distribution de taille des cristaux	
μ	Viscosité dynamique	$\text{Pa}.\text{s}$
μ_0	Viscosité à cisaillement nul	$\text{Pa}.\text{s}$
μ_{∞}	Viscosité à cisaillements infinis	$\text{Pa}.\text{s}$
ν_k^i	Nombre de groupement fonctionnel de type k dans la molécule i	
θ_i	Fraction surfacique moléculaire du composé i	

ρ	Masse volumique	kg.m^{-3}
σ^+	Composante de la tension superficielle résultant des interactions électron accepteur	mJ.m^2
σ^-	Composante de la tension superficielle résultant des interactions électron donneur	mJ.m^2
σ^{AB}	Composante de la tension superficielle résultant des interactions de type Acide-Base de Lewis	mJ.m^2
σ^{LW}	Composante dispersive de la tension superficielle	mJ.m^2
σ_L	Tension superficielle du liquide	mJ.m^2
σ_S	Tension superficielle du solide	mJ.m^2
σ_{CL}	Tension interfaciale cristal-solution	mJ.m^2
ς	Exposant de la loi d'échelle pour la contrainte seuil	
ς	Exposant de la loi d'échelle pour le module élastique	
τ	Contrainte de cisaillement	Pa
τ_c	Contrainte critique de cisaillement	Pa
τ_H	Contrainte critique de cisaillement du modèle Herschel-Buckley	Pa
τ_{ij}	Paramètre d'interaction binaire entre les composés i et j	
ω	Féquence	Hz

Exposants

0	condition initiale
Co	Combinatoire
Re	Residuelle

Sommaire

Introduction	1
I Éléments bibliographiques sur la cristallisation des polymorphes	3
I.1 Généralités sur la cristallisation	4
I.1.1 La solubilité	4
I.1.2 Sursaturation - métastabilité	6
I.1.3 La nucléation	6
I.1.3.1 Nucléation primaire homogène	7
I.1.3.2 Nucléation primaire hétérogène	8
I.1.3.3 Le temps d'induction	8
I.1.3.4 Nucléation secondaire	9
I.2 Approche fondamentale du polymorphisme	10
I.2.1 Aspects Thermodynamiques	11
I.2.1.1 La stabilité des polymorphes	11
I.2.1.2 Énantiotropie et monotropie	13
I.2.1.3 Équilibre entre polymorphes	15
I.2.2 Aspects Cinétiques	17
I.2.2.1 Loi d'Ostwald	17
I.2.2.2 Cinétiques des transitions de phases	19
I.2.2.3 Vitesse relative de nucléation	22
I.2.3 Cas particuliers de polymorphisme	22
I.2.3.1 Les polymorphes concomitants	22
I.2.3.2 Le polymorphisme de conformation	23
I.3 Méthodes et techniques analytiques pour la caractérisation des polymorphes	24
I.3.1 La cristallographie : Étude de l'arrangement cristallin	25
I.3.1.1 Diffraction aux rayons X sur un monocristal	25
I.3.1.2 Rayons X sur des poudres (Powder X.R.D.)	26
I.3.2 Spectroscopie : Étude de l'arrangement moléculaire	27
I.3.2.1 Spectroscopie Infra-Rouge	27
I.3.2.2 Spectroscopie RMN à l'état solide	29
I.3.3 Microscopie : Étude du faciès	30
I.3.3.1 Microscopie Photonique	30
I.3.3.2 Microscopie Électronique	30

I.3.4	Analyses Thermiques : Étude des transitions	31
I.3.4.1	Présentation générale	31
I.3.4.2	Courbes de DSC et de TG	33
I.3.4.3	Facteurs influençant les courbes de DSC et de TG	34
I.3.4.4	Limitations de la DSC	35
I.4	Contrôle et maîtrise du polymorphisme en cristallisation	36
I.4.1	Représentation schématique des facteurs influençant la cristallisation des polymorphes	36
I.4.2	Les facteurs primaires	36
I.4.2.1	Température et concentration	36
I.4.2.2	Ensemencement	37
I.4.2.3	Vitesse de refroidissement	39
I.4.3	Les facteurs secondaires	39
I.5	Conclusion	39
II	Méthodes de caractérisation des polymorphes de l'éfucimibe	41
II.1	Caractérisation des formes polymorphes	42
II.1.1	Diffraction des rayons X sur poudre	42
II.1.1.1	Protocole expérimental	42
II.1.1.2	Résultats obtenus à température ambiante	43
II.1.1.3	Influence de la température	45
II.1.2	Analyses Thermiques	48
II.1.2.1	Thermogravimétrie	48
II.1.2.2	Calorimétrie Différentielle à Balayage - DSC	48
II.1.3	Méthodes spectroscopiques	51
II.1.3.1	Spectroscopie infrarouge	51
II.1.3.2	Spectroscopie RMN en phase solide	53
II.1.4	Microscopie Electronique à Balayage	54
II.2	Détermination des diagrammes de phases des polymorphes	54
II.2.1	Etudes préliminaires	54
II.2.2	Détermination expérimentale des solubilités	55
II.2.2.1	Protocole expérimental	55
II.2.2.2	Solubilité dans les solvants purs	56
II.2.2.3	Solubilité dans les mélanges de solvants	58
II.2.3	Modélisation des courbes de solubilité	62
II.2.3.1	Calcul des coefficients d'activité	62
II.2.3.2	Modélisation des équilibres binaires Liquide-Solide	65
II.2.3.3	Test du modèle - Prédiction des équilibres ternaires	66
II.3	Conclusion	68
III	Étude cinétique des polymorphes de l'éfucimibe	71
III.1	Matériels et méthodes	71
III.1.1	Conception de l'installation	71

III.1.2	Génération des formes solides	73
III.1.3	Isolement et caractérisation du solide	73
III.2	Détermination expérimentale des cinétiques de nucléation	74
III.2.1	Détermination de la largeur des zones métastables de l'efflucimibe	74
III.2.1.1	Zones métastables réalisées sans ensemencement	74
III.2.1.2	Zones métastables réalisées avec ensemencement	76
III.2.2	Détermination du temps d'induction	77
III.2.3	Évolution des formes polymorphes en solution	78
III.3	Interprétation des résultats	80
III.3.1	Détermination de la tension interfaciale cristal – solution	80
III.3.1.1	A partir des mesures de temps d'induction	80
III.3.1.2	A partir de corrélations empiriques	82
III.3.1.3	A partir des mesures d'angle de contacts	82
III.3.2	Évaluation des cinétiques de nucléation	84
III.3.2.1	Loi de Nyvlt	84
III.3.2.2	Loi de nucléation primaire	85
III.3.3	Diagramme de prédominance des formes	88
III.4	Conclusion	89

IV Procédé de cristallisation de l'efflucimibe 91

IV.1	Dispositif expérimental et méthodes	91
IV.1.1	Description du dispositif expérimental	91
IV.1.1.1	Conception du cristalliseur	91
IV.1.1.2	Description de l'unité LABMAX	93
IV.1.1.3	Les capteurs utilisés	94
IV.1.1.4	Avantages et inconvénients de l'installation	96
IV.1.2	Caractéristiques des matières premières	96
IV.1.3	Protocoles expérimentaux	96
IV.1.3.1	Génération du solide	96
IV.1.3.2	Caractérisation des cristaux	97
IV.2	Influence des paramètres du procédé sur le polymorphisme	99
IV.2.1	Influence des matières premières	99
IV.2.2	La maturation	100
IV.2.3	Définition d'un protocole d'ensemencement	101
IV.2.3.1	Ensemencement en voie sèche	102
IV.2.3.2	Ensemencement en voie humide	104
IV.2.3.3	Conclusion : protocole d'ensemencement retenu	105
IV.2.4	Vérification des domaines de prédominance des formes polymorphes	105
IV.3	Influence des paramètres opératoires sur les propriétés d'usage de la suspension	107
IV.3.1	Définition d'une cristallisation de référence	107
IV.3.2	Influence des paramètres opératoires du procédé	111
IV.3.2.1	Influence de la concentration initiale	112
IV.3.2.2	Influence de la vitesse de refroidissement	113

IV.3.3	Influence de la vitesse d'agitation	115
IV.3.3.1	Vitesse d'agitation moyenne à élevée	115
IV.3.3.2	Vitesses d'agitation faibles	117
IV.3.3.3	Conclusions sur l'agitation	119
IV.4	Conclusion	119
V	Rhéologie des suspensions d'efflucimibe générées lors de la cristallisation	121
V.1	Principes et notions fondamentales de la rhéologie des suspensions denses .	121
V.1.1	Définitions	121
V.1.1.1	La contrainte de cisaillement	122
V.1.1.2	Déformation et vitesse de cisaillement	122
V.1.2	Modes de mesure et typologie d'écoulement	123
V.1.2.1	Mesures en cisaillement simple (viscosimétrie)	123
V.1.2.2	Mesures en mode dynamique : les fluides viscoélastiques .	128
V.1.3	Relation structuration - rhéologie	130
V.2	Procédures expérimentales	132
V.2.1	Rhéomètres et géométries	132
V.2.2	Préparation de l'échantillon	133
V.2.3	Protocole de mesure	134
V.3	Résultats et discussion	135
V.3.1	Résultats des mesures en cisaillement simple	135
V.3.2	Résultats des mesures en mode dynamique	137
V.3.3	Discussion - Structure du réseau de particules	139
V.4	Conclusion	141
	Conclusion générale	143
	Références bibliographiques	147
	Liste des tableaux	155
	Liste des figures	157

Introduction générale

La cristallisation est une opération à la base de la fabrication de nombreuses substances d'intérêt pharmaceutique. En fait, en tant qu'étape de génération des particules, elle conditionne les qualités physiques et chimiques du produit et a souvent une implication sur les opérations ultérieures de lavage, filtration, séchage. La cristallisation est donc à l'origine de la future qualité d'usage de la poudre.

Ces dernières années, de nombreuses études fondamentales ont contribué au développement de concepts thermodynamiques, cinétiques et hydrodynamiques régissant la cristallisation. Ces progrès ont permis de mieux contrôler ces procédés. Dans le cas de l'industrie pharmaceutique, le phénomène de polymorphisme s'ajoute aux contraintes «classiques» de cristallisation.

Le polymorphisme est défini comme la possibilité qu'ont certaines molécules d'exister sous au moins deux structures cristallines distinctes. Dans le domaine pharmaceutique, le polymorphisme concerne plus de 80% des molécules de principe actif. Les différences de propriétés physico-chimiques entre deux polymorphes engendrées par les différences de structures peuvent avoir des conséquences dramatiques en terme de bio disponibilité, processabilité galénique, stabilité... Les facteurs, influençant la nature du polymorphe formé sont de deux natures. Les paramètres physico-chimiques (solvants, additifs, pH...) peuvent orienter la cristallisation vers certaines formes polymorphes. Les paramètres du procédé (semences, température, concentration, mode de création de la sursaturation...) jouent également un rôle très important sur la maîtrise du polymorphisme.

La difficulté de compréhension des mécanismes à l'origine du développement des cristaux réside dans le fait que dans la plupart des conditions, les phénomènes physico-chimiques et hydrodynamiques agissent simultanément sur la qualité du produit obtenu.

Sur le plan pharmaceutique, le polymorphe actif n'est pas forcément la forme thermodynamiquement stable. Dans ce cas, il faut pouvoir maîtriser d'une part l'apparition des cristaux de la forme souhaitée et d'autre part, éviter leur évolution vers une autre forme.

Dans ce travail, le principe actif cristallisé, l'éflucimibe, présente un polymorphisme particulier. L'objectif de l'étude est de mettre au point une méthodologie pour comprendre les différents processus à l'origine du polymorphisme en utilisant des outils de caractérisation adaptés.

La démarche suivie est dans un premier temps de réunir toutes les informations disponibles dans la littérature pour caractériser et expliquer la formation des formes polymorphes. Des techniques adaptées au cas de l'éflucimibe ont été retenues et ont permis de mettre en évidence deux polymorphes notés A et B.

Les recherches ont ensuite porté sur les aspects thermodynamiques et cinétiques du polymorphisme de l'éflucimibe. Le procédé est finalement envisagé en étudiant l'influence des conditions opératoires dans une installation de laboratoire. La faisabilité du procédé au niveau industriel (extrapolation) est étudiée.

Ce mémoire est divisé en cinq chapitres.

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique des différents aspects théoriques et pratiques répondant aux problématiques de la cristallisation en milieu pharmaceutique, en mettant l'accent notamment sur le polymorphisme. Cette partie regroupe les différents aspects cinétiques et thermodynamiques de la cristallisation des polymorphes, ainsi que les outils utilisés pour l'identification et la caractérisation des formes cristallines.

Le chapitre II présente les méthodes spécifiques mises en oeuvre pour caractériser les différentes formes cristallines de l'éflucimibe et leur comportement avec la température. Les outils utilisés (rayons X, spectroscopie, calorimétrie. . .) pour documenter et décrire le type de polymorphisme ainsi que la nature des transitions observées, sont présentés. Les polymorphes A et B de l'éflucimibe et leurs propriétés ont été identifiés et caractérisés. Une étude de solubilité de ces deux formes a ensuite été réalisée. Cette étude permet d'une part de définir le polymorphe stable d'un point de vue thermodynamique et d'autre part de choisir le «meilleur» solvant de cristallisation.

Dans le chapitre III, à partir des données thermodynamiques et structurales, des expériences spécifiques de cinétiques ont été réalisées afin de pouvoir dégager un maximum d'informations sur le comportement des polymorphes en solution. Une étude expérimentale de la nucléation des polymorphes basée sur la détermination de la largeur de la zone métastable et des temps d'induction est réalisée. Ces informations permettent d'une part de déterminer les propriétés de surface des différents polymorphes et d'autre part d'établir des domaines d'apparition et de prédominance des formes cristallines.

Après avoir déterminé les paramètres fondamentaux des polymorphes (thermodynamiques, cinétiques et structuraux), le procédé de cristallisation peut être envisagé. Etant données les caractéristiques des deux polymorphes ainsi que leurs propriétés thermodynamiques très proches, la cristallisation s'avère difficile à comprendre et à maîtriser. C'est pourquoi l'influence des différents paramètres opératoires du procédé sur la forme polymorphe obtenue, mais aussi sur la qualité des cristaux formés a été étudiée. Cette étude est présentée dans le chapitre IV.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à une étude du comportement rhéologique des suspensions de cristallisation. En effet, la maîtrise du polymorphisme au niveau industriel, passe aussi par le contrôle de l'évolution de la structuration de la suspension au cours de la cristallisation. Une augmentation trop grande de la viscosité du milieu peut rendre le système d'agitation, les capteurs et la régulation de température totalement inefficaces. De plus, des hétérogénéités de température peuvent apparaître, entraînant la formation d'une ou plusieurs formes polymorphes non souhaitées. En vue de l'extrapolation du procédé, il s'avère donc indispensable de pouvoir disposer d'un outil fiable qui permette d'une part de caractériser la viscosité du milieu mais aussi qui soit capable de donner des informations sur l'état d'agrégation du système et sur le seuil concentration de prise en masse.

Chapitre I

Éléments bibliographiques sur la cristallisation des polymorphes

La cristallisation en solution est un procédé de séparation et de purification très largement répandu dans l'industrie chimique. Cette opération unitaire est généralement utilisée comme méthode de production, de séparation et de purification. Un de ses principaux rôles est la production de cristaux à propriétés contrôlées. Ainsi, la distribution de taille, la morphologie, la pureté, la structure cristalline (polymorphe, solvants...), la densité, la viscosité et la filtrabilité des suspensions doivent être maîtrisées par ce procédé.

Bien que la problématique de la cristallisation appliquée à l'industrie pharmaceutique soit la même que dans les autres industries, la complexité et la diversité chimique des entités à cristalliser rendent ce procédé unique. En effet, la masse molaire des composés organiques rencontrés en milieu pharmaceutique est très variable (de 100 à 1000 daltons). De plus, ces composés présentent une très grande variabilité au niveau des groupements chimiques qu'ils possèdent, allant de groupements ioniques (sels) à des groupements extrêmement hydrophobes (fluor, soufre). Par conséquent, les interactions entre des molécules identiques ou avec des molécules de solvant, de co-solvant ou avec des impuretés, sont très diverses. Les phases solides (y compris les polymorphes et les solvates) formées par de telles molécules sont mal comprises et difficiles à prédire.

En raison de l'utilisation finale de ces composés, il est nécessaire d'avoir un contrôle très strict du procédé. En effet, étant données les vertus thérapeutiques des principes actifs, il est évident que la pureté et la reproductibilité des cristaux produits sont primordiales. De la même manière, le contrôle de la distribution de taille et de la morphologie des particules est indispensable, car ces propriétés conditionnent la vitesse de dissolution in vivo des médicaments ou « biodisponibilité », notamment pour des composés hydrophobes ou insolubles dans l'eau.

La cristallisation est aussi utilisée comme étape intermédiaire de purification dans de nombreux procédés en raison de son efficacité de séparation à faible température. Dans ce cas la distribution de taille et la morphologie conditionnent la suite du procédé par leurs effets sur la coulabilité, la filtrabilité et la vitesse de centrifugation. Lors de la production à l'échelle industrielle, une mauvaise séparation entre le solvant de cristallisation et les

cristaux peut provoquer une chute de productivité et une stabilité réduite du principe actif.

Les problématiques récurrentes du procédé de cristallisation dans l'industrie pharmaceutique sont donc le contrôle de la sursaturation (pour des cristallisoirs batch), l'utilisation efficace de l'ensemencement, la connaissance exhaustive des solubilités des principes actifs dans différents solvants (afin de maximiser la purification et la production) et enfin l'identification et l'obtention de la forme polymorphe la plus stable.

L'objectif de ce chapitre est de présenter à partir des travaux de la littérature les différents aspects théoriques et pratiques répondant aux problématiques de la cristallisation dans l'industrie pharmaceutique, en mettant notamment l'accent sur le polymorphisme cristallin.

Dans une première partie, les concepts gouvernant la cristallisation en solution seront très brièvement rappelés. Le polymorphisme sera ensuite abordé en développant ses aspects thermodynamiques et cinétiques. Des méthodes de caractérisation spécifiques aux formes polymorphes seront finalement présentées.

I.1 Généralités sur la cristallisation

I.1.1 La solubilité

A température et pression fixée, la solubilité se définit comme l'équilibre, entre une solution de concentration en soluté donnée et une phase solide de composition et de structure donnée. D'un point de vue thermodynamique, à l'équilibre, le potentiel chimique du cristal est égal à celui de la solution. L'égalité de ces potentiels chimiques implique l'égalité des fugacités et l'équation générale de la solubilité peut être écrite de la manière suivante :

$$\ln(x_i\gamma_i) = \frac{\Delta_{pt}H}{R} \left(\frac{1}{T_{pt}} - \frac{1}{T} \right) - \frac{\Delta C_p}{R} \left(\ln \frac{T_{pt}}{T} - \frac{T_{pt}}{T} + 1 \right) - \frac{\Delta V}{RT} (P - P_{pt}) \quad (\text{I.1})$$

où T_{pt} et H_{pt} sont respectivement la température et l'enthalpie du point triple, ΔC_p et ΔV représentent la différence de capacité calorifique et de volume du liquide et du solide.

Dans la plupart des cas, les effets de la pression et de la variation de capacité calorifique sur la solubilité sont négligeables. De plus, la température et l'enthalpie du point triple, inconnues pour la majorité des substances, sont remplacées par l'enthalpie et la température de fusion. L'équation générale de la solubilité devient donc :

$$\ln(x_i\gamma_i) = \frac{\Delta_{fus}H}{R} \left(\frac{1}{T_{fus}} - \frac{1}{T} \right) \quad (\text{I.2})$$

Dans le cas de solution idéale (ou en première approximation), le coefficient d'activité γ_i est pris égal à 1.

Dans le cas de molécules non-électrolytes, les interactions solvant-soluté (responsables du « pouvoir solubilisant » du solvant) sont dues à la présence de forces électrostatiques, dispersives et chimiques. Même si la solution ne contient pas d'ions, les interactions électrostatiques peuvent être très importantes à cause de la polarité des molécules. En effet,

une molécule électriquement neutre peut avoir un moment dipolaire non nul à cause de la répartition asymétrique de ces charges électriques.

Les molécules de solvant et de solutés non polaires peuvent aussi interagir au moyen des forces dispersives (sous formes d'attractions et de répulsions). Ces interactions polaires ou dispersives sont responsables de la non-idéalité de la solution et affectent la solubilité à travers les coefficients d'activité (Prausnitz et coll., 1986).

De manière générale, les coefficients d'activité sont inférieurs à 1 quand les interactions polaires sont prépondérantes, ce qui se traduit par une augmentation de la solubilité du composé par rapport à la solubilité idéale. De nombreuses méthodes peuvent être mises en œuvre pour calculer les coefficients d'activités. Elles sont basées sur la théorie des solutions régulières (Scatchard - Hildebrand) ou sur des méthodes de contribution de groupes (UNIFAC, UNIQUAC, Wilson, NRTL. . .). Cependant, il n'existe aucune méthode générale pour la détermination des coefficients d'activité d'un composé dissout dans un liquide.

Lors de la recherche d'un solvant adéquat pour le développement et le dimensionnement d'un procédé de cristallisation, il arrive fréquemment que les propriétés recherchées ne puissent pas être obtenues avec des solvants purs. De plus, pour diverses raisons (économiques, de sécurité, toxicologiques, de stabilité du produit) le choix des solvants à utiliser est très limité. Il est donc possible que le soluté n'atteigne pas la solubilité requise dans ces solvants (solubilité trop faible) ou que la solubilité ne varie pas suffisamment avec la température pour pouvoir mettre en œuvre une cristallisation par refroidissement. Dans ces cas, une possibilité consiste à utiliser un mélange de solvant. En effet, dans de nombreux systèmes, la solubilité obtenue dans un mélange de solvants peut largement dépasser celle obtenue pour les solvants purs (Domańska, 1990; Gordon, 1968; Bustamante et coll., 1998). Ce maximum de solubilité peut être prédit au moyen de la théorie des solutions régulières de Scatchard - Hildebrandt (Prausnitz et coll., 1986) :

$$\ln \gamma_2 = \frac{V_2^L (\delta_1 - \delta_2)^2 \Phi_1^2}{RT} \quad (\text{I.3})$$

avec γ_i le coefficient d'activité du composé i , V_2^L le volume molaire du soluté, δ_i le paramètre de solubilité, et Φ_1 la fraction volumique du solvant. Le paramètre de solubilité est défini par la relation :

$$\delta_i = \left(\frac{\Delta u_i^v}{V_i^L} \right) \quad (\text{I.4})$$

avec Δu_i^v l'enthalpie de vaporisation et V_i^L le volume molaire de la phase liquide. En pratique, ces grandeurs peuvent être, soit trouvées dans la littérature pour les solvants (Hansen, 1999) soit estimées par des mesures de solubilité dans plusieurs solvants ou par des méthodes de contribution de groupes pour les solutés (Barra, 1999).

D'après cette théorie, il apparaît clairement que si les paramètres de solubilités du solvant et du soluté sont identiques, le coefficient d'activité est égal à 1 (valeur minimale du coefficient d'activité en utilisant cette approche). Lorsque le coefficient d'activité est égal à 1, la solubilité est maximale. Par conséquent, en choisissant deux solvants dont les paramètres de solubilité sont respectivement supérieurs, pour l'un, et inférieurs, pour l'autre, à celui du soluté, il est possible de préparer un « solvant parfait » dans lequel

la solubilité sera maximale. Le paramètre de solubilité d'un mélange de solvant est défini par :

$$\delta = \frac{\sum x_i V_i \delta_i}{\sum x_i V_i} \quad (\text{I.5})$$

Il est donc possible de déterminer, a priori, la composition du solvant pour laquelle la solubilité sera maximale. D'autres approches peuvent être utilisées, telle que les méthodes de contribution de groupes. En 1999, Frank et coll. (Frank et coll., 1999) ont réalisé une synthèse des différentes méthodes permettant de réaliser des «screening» de solvants rapides afin d'accélérer le développement des procédés de cristallisation des produits organiques.

I.1.2 Sursaturation - métastabilité

La connaissance de la variation de la solubilité avec la température permet de déterminer la production maximale accompagnant le changement d'état du système, provoquant la formation des cristaux. Ce bilan massique, très important lors du dimensionnement et du développement des procédés de cristallisation, ne donne aucune indication sur la vitesse de formation des cristaux ni sur le temps requis pour obtenir le rendement désiré. La cristallisation est un processus gouverné essentiellement par la cinétique d'apparition et de croissance des cristaux, et ce «temps» dépend de la force motrice appelée sursaturation. D'un point de vue thermodynamique, la sursaturation est définie comme un écart à l'équilibre par la relation :

$$\mu - \mu^* = RT \ln \frac{a_i}{a_i^*} = RT \ln \frac{\gamma_i x_i}{\gamma_i^* x_i^*} = RT \ln(S) \quad (\text{I.6})$$

avec : μ potentiel chimique de la solution, a_i l'activité du composé i , x_i la fraction molaire du soluté et γ_i son coefficient d'activité.

S représente la *sursaturation* définie comme le rapport entre l'activité à l'équilibre et l'activité du soluté en solution ($S = \frac{\gamma_i x_i}{\gamma_i^* x_i^*}$). Par définition, si $S = 1$ la solution est dite saturée, si $S < 1$ la solution est sous-saturée, et à l'inverse si $S > 1$, elle est sursaturée.

Une solution sursaturée est métastable, c'est-à-dire qu'une faible perturbation peut engendrer un changement d'état vers un état final stable prédéterminé.

Une question vient alors à l'esprit : pourquoi les solutions sursaturées sont-elles métastables ? Il paraîtrait logique que lorsque l'équilibre est franchi, des cristaux doivent se former spontanément. Or, ce n'est jamais le cas et pour répondre à cette question, il faut s'intéresser au phénomène appelé *nucléation*.

I.1.3 La nucléation

La nucléation est le commencement du processus de cristallisation et se traduit par la naissance d'un nouveau cristal. Les solutions sursaturées présentent une zone métastable dans laquelle la nucléation n'est pas spontanée. Il faut augmenter le niveau de sursaturation pour que la solution atteigne un état dans lequel la nucléation spontanée est possible. Cet état de sursaturation est appelé *limite de zone métastable*. La figure I.1 illustre les domaines du diagramme concentration – température, définissant la zone métastable pour un système soluté – solvant donné. La connaissance de la largeur de la zone métastable est très

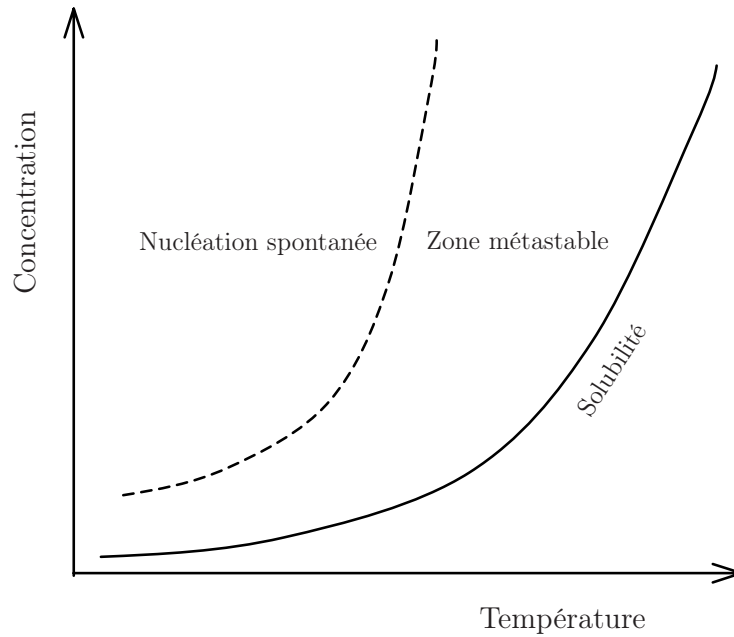


FIG. I.1: Diagramme concentration – température pour un système soluté – solvant donné

importante en cristallisation car elle permet d'une part de définir la marge de manœuvre du procédé, et d'autre part d'avoir des informations précises sur les mécanismes de nucléation prédominants dans un système donné. Cependant, cette largeur de zone métastable est grandement influencée par l'histoire de la solution, la vitesse de refroidissement, les impuretés, la concentration. . . Deux principaux mécanismes de nucléation ont été identifiés : la nucléation primaire, qui se produit en absence de cristaux et la nucléation secondaire qui est induite par la présence de cristaux ainsi que par leurs interactions avec l'environnement (parois, agitateur, sonde. . .).

I.1.3.1 Nucléation primaire homogène

Ce type de nucléation se produit très rarement en pratique, car il implique l'absence totale de corps étranger en solution (poussières, impuretés...). Cependant il est à la base de nombreuses théories sur la nucléation. La théorie classique de la nucléation (Zettlemoyer, 1969) considère que la nucléation est le résultat d'une série de réactions bimoléculaires conduisant à la formation d'amas moléculaires dont la taille atteint une valeur critique à partir de laquelle ils forment des nuclei. La vitesse de formation de ces nuclei, définie comme le nombre de nuclei formés par unité de temps et de volume par ce mécanisme, est donnée par une loi de type Arrhenius :

$$B_0 = A \exp\left(-\frac{\Delta G_{crit}}{kT}\right) \quad (I.7)$$

avec ΔG_{crit} : la variation d'enthalpie libre associée à la formation d'un nucleus de taille critique r_c , dont l'expression est alors :

$$\Delta G_{crit} = \frac{16\pi\sigma^3V^2}{3(kT \ln S)^2} \quad (I.8)$$

où σ est la tension interfaciale du solide, V le volume molaire ($V = \frac{M_s}{\rho_s N_a}$) et S la sursaturation. L'expression de la vitesse de nucléation primaire homogène obtenue est la suivante :

$$B_0 = A \exp\left(-\frac{16\pi\sigma^3 v^2}{3(kT)^3(\ln S)^2}\right) \quad (\text{I.9})$$

Le paramètre A est un facteur de fréquence dépendant de ν_0 : la fréquence des collisions entre les molécules actives N_1 , de la tension interfaciale σ et de la barrière énergétique ΔG_a pour la diffusion au sein de la solution (Walter, 1969).

$$A = 2v\sqrt{\frac{\sigma}{kT}}\nu_0 N_1 \exp\left(-\frac{\Delta G_a}{kT}\right) \quad (\text{I.10})$$

I.1.3.2 Nucléation primaire hétérogène

En pratique, lors de la cristallisation, des corps étrangers (poussières, impuretés, moisissures...) peuvent initier une nucléation primaire hétérogène. La présence de telles substances dans la solution saturée réduit l'énergie nécessaire à la nucléation, cette dernière a donc lieu à un degré de sursaturation plus faible que pour les systèmes homogènes. La diminution de la barrière d'enthalpie libre dépend essentiellement de l'angle de contact θ entre le solide étranger et la solution sursaturée (Volmer, 1939).

$$\Delta G_{crit}^{hom} = \phi \Delta G_{crit}^{het} \quad (\text{I.11})$$

avec $\phi = \frac{(2+\cos\theta)(1-\cos\theta)^2}{4}$

I.1.3.3 Le temps d'induction

Le temps d'induction est défini comme la période qui s'écoule entre la création de la sursaturation et l'apparition du premier nucléus détectable. Ce temps est souvent utilisé comme une mesure macroscopique simple de la cinétique de nucléation. En faisant l'hypothèse que le mécanisme de formation des premiers nuclei est contrôlé principalement par la vitesse de nucléation (Mullin, 2001), le temps d'induction (t_{ind}) est inversement proportionnel à la vitesse de nucléation B_0 :

$$\frac{1}{t_{ind}} \propto \exp\left(-\frac{16\pi\sigma^3 v^2}{3(kT)^3(\ln S)^2}\right) \quad (\text{I.12})$$

En traçant la variation du logarithme du temps d'induction en fonction du niveau de sursaturation, il est possible, dans certains cas, d'identifier les différents mécanismes de nucléation. Ces changements de mécanismes se traduisent sur la figure I.2 par des changements de pentes. De manière générale, trois zones peuvent être identifiées : la région I pour les faibles sursaturations, caractéristique de la nucléation primaire hétérogène ; la région III à forte sursaturation où le mécanisme de nucléation homogène prédomine et enfin une région intermédiaire (II) dans laquelle les deux mécanismes coexistent. Dans le cas où une zone de nucléation primaire homogène peut être déterminée, la pente de la droite permet de calculer la tension interfaciale cristal - solution.

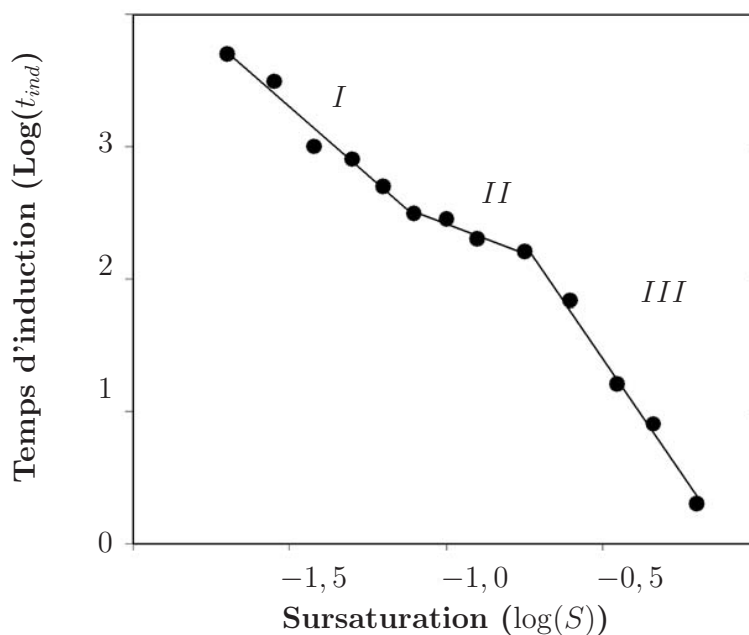


FIG. I.2: Variation du logarithme du temps d'induction en fonction du logarithme de la sursaturation pour $Ni(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ à 25°C d'après Söhnel et Mullin 1979 (Mullin, 2001)

I.1.3.4 Nucléation secondaire

La nucléation secondaire a lieu lorsque des cristaux de soluté sont présents (ou ajoutés délibérément) dans la solution. Elle dépend fortement des conditions de cristallisation :

- sursaturation,
- viscosité de la solution,
- densité des cristaux en solution,
- conditions hydrodynamiques (agitation en particulier),
- dureté et rugosité des cristaux,
- additifs éventuels.

En outre, trois types de nucléations secondaires peuvent être identifiés :

Nucléation secondaire vraie : formation des nuclei à partir de la solution (mécanismes similaires à ceux observés lors de la nucléation primaire),

Nucléation secondaire apparente : il n'y a pas réellement formation de germes. Elle se produit lorsque des cristallites ou des agglomérats de la surface du cristal ou de son voisinage se détachent. La vitesse de la nucléation secondaire apparente ne dépend ni de la sursaturation ni des conditions hydrodynamiques.

Nucléation secondaire de contact : le contact entre un cristal et d'autres surfaces (cristal, agitateur, parois..) provoque la formation de nuclei par modification des énergies d'interaction.

Compte tenu de la complexité du problème, la description de la vitesse de nucléation secondaire ne peut être envisagée qu'en simplifiant au maximum le problème. La vitesse

de nucléation secondaire peut être décrite au moyen d'une loi puissance (Myerson, 2002) :

$$B_2 = k_{n2} \lambda_k^j \Delta W_{max}^{n2} \quad (\text{I.13})$$

B_2 : Nombre de nuclei formés par unité de temps et de masse de solution.

k_{n2} : Constante dépendant des conditions hydrodynamiques de la suspension (dissipation visqueuse et turbulente)

$n2$: Ordre de la nucléation (inférieur à celui de la nucléation primaire)

λ_k : Moment d'ordre k de la distribution de taille des cristaux : $\lambda_k = \int n(L) L^k dL$ avec $n(L) = \frac{dN}{dL}$ la densité de population des cristaux de taille L.

De nombreux mécanismes ont été proposés sans toutefois arriver à une conclusion définitive.

I.2 Approche fondamentale du polymorphisme

La notion de polymorphisme a été introduite pour la première fois par Martin Heinrich Klaproth en 1788 à propos du carbonate de calcium $CaCO_3$ qui cristallise sous trois formes différentes : la vaterite (maille hexagonale), l'aragonite (maille orthorhombique) et la calcite (forme stable, maille rhomboédrique). Mais d'un point de vue cristallographique la première définition du polymorphisme est créditée à Mitscherlich (1822), qui identifia différentes structures cristallographiques des sels d'arsenate, de phosphate et de soufre. Le premier exemple de polymorphisme de composé organique fut découvert en 1832 par Wölmer et Liebig lors de leurs travaux sur la benzamide (Berstein, 2002). Mais ce n'est qu'en 1965, qu'une définition rigoureuse du polymorphisme fut donnée par Mc Crone qui définit le polymorphisme comme «la possibilité qu'ont les molécules d'exister sous au moins deux structures cristallines distinctes». Cette définition inclut les polymorphes de conformation dans lesquels les molécules flexibles peuvent adopter différentes conformations (Corradini, 1973; Panagiotopoulos et coll., 1974). Cependant, il faut compléter cette définition en précisant que les systèmes polymorphes possèdent des états liquide et vapeur identiques et que lorsque les mailles cristallines incorporent des molécules de solvant, ces polymorphes sont considérés comme des pseudo-polymorphes (solvates). Les divers modes d'arrangement ou de conformation des solides cristallins sont représentés schématiquement sur la figure I.3.

Dans le domaine pharmaceutique, le polymorphisme concerne plus de 80% des molécules de principe actif (Giron, 1994). Les différences de propriétés physico-chimiques engendrées par les différences de structures peuvent avoir des conséquences dramatiques en terme de biodisponibilité, processabilité galénique, stabilité... C'est pourquoi l'industrie pharmaceutique porte un intérêt croissant sur la compréhension des relations entre les propriétés de l'état solide et les comportements des principes actifs.

En outre, le besoin d'une grande pureté ainsi que d'une production élevée nécessite d'opérer loin de l'équilibre, ce qui provoque la formation de structures polymorphes, qui

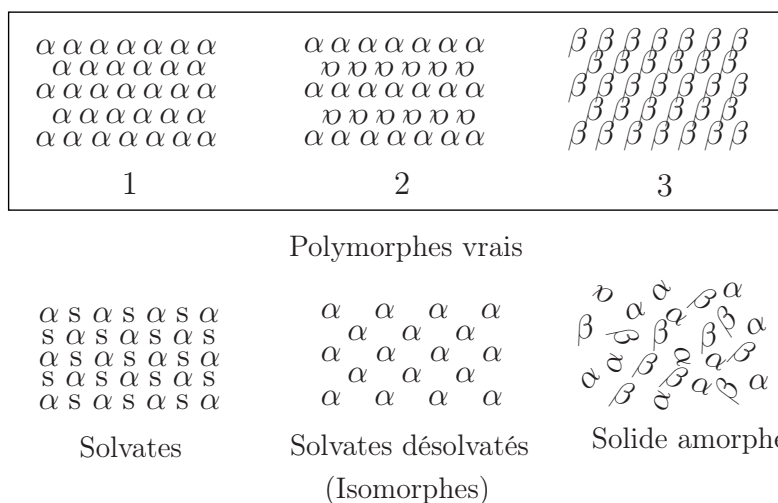


FIG. I.3: Différentes formes des solides cristallins. α : molécule organique, β : même molécule organique mais de conformation différente. s : molécule de solvant. Polymorphes vrais : les formes 1 et 2 diffèrent par l'empilement ; les formes 1 et 3 diffèrent par la conformation moléculaire. Solvates : co-cristal constitué par la molécule organique et le solvant. La désolvatation des solvates provoque la formation de cristaux de faible densité qui garde la structure du solvate initial (isomorphe). Solide amorphe : arrangement aléatoire des molécules.

pour une température et une pression données, ne sont pas les plus stables. De telles structures peuvent éventuellement subir, par la suite, une transformation vers la phase la plus stable. L'objectif de cette partie est de présenter les différents mécanismes de cette transformation ainsi que les aspects thermodynamiques et cinétiques des systèmes polymorphes.

I.2.1 Aspects Thermodynamiques

I.2.1.1 La stabilité des polymorphes

Pour comparer les propriétés thermodynamiques de deux polymorphes (notés A et B), les variations respectives d'enthalpie libre, d'entropie et d'enthalpie peuvent être considérées :

$$\Delta G_{AB} = G_B - G_A \quad (\text{I.14})$$

$$\Delta S_{AB} = S_B - S_A \quad (\text{I.15})$$

$$\Delta H_{AB} = H_B - H_A \quad (\text{I.16})$$

Afin de déterminer la stabilité des polymorphes, ainsi que le sens de la transformation polymorphique (à température et pression constante), il faut étudier la variation d'enthalpie libre donnée par l'équation :

$$\Delta G_{AB} = \Delta H_{AB} - T\Delta S_{AB} \quad (\text{I.17})$$

La figure I.4 représente l'évolution des grandeurs thermodynamiques G et H avec la température pour deux polymorphes notés A et B. Les courbes d'enthalpie libre se croisent

en un point T_t (*température de transition*). En ce point, les enthalpies libres sont identiques et les deux polymorphes sont à l'équilibre ($\Delta G = 0$); pour cette même température, $H_B > H_A$ et donc, suivant les équations I.14 et I.17, $S_B > S_A$.

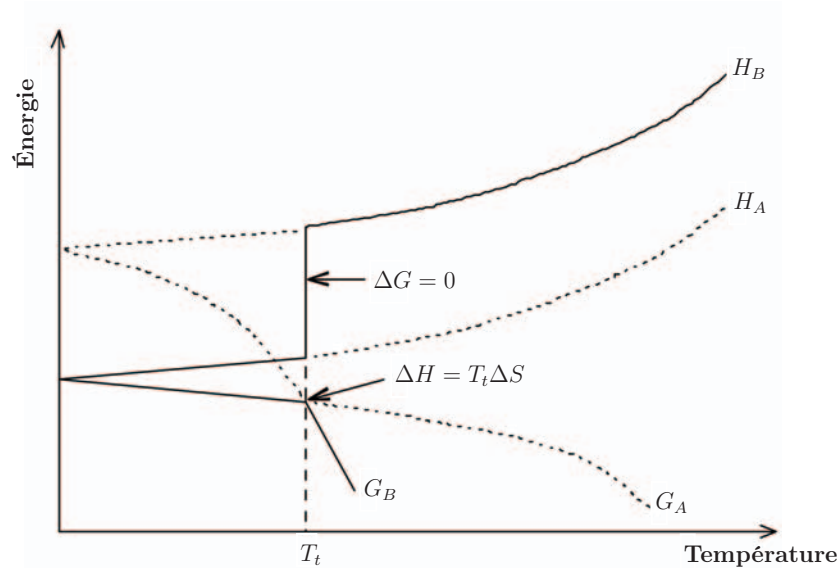


FIG. I.4: Evolution de l'enthalpie libre G et de l'enthalpie H (à pression constante) en fonction de la température T , pour un système constitué de deux polymorphes.

En dessous de la température T_t , le polymorphe A est le plus stable (car $G_A < G_B$); par contre au delà de cette température, c'est le polymorphe B le plus stable ($G_B < G_A$). Par conséquent, pour des conditions de température et de pression définies, il ne peut exister qu'un seul polymorphe stable, et les autres sont dits «instables». Cependant, si la vitesse de transformation de la phase instable vers la phase stable est infiniment lente, alors ce polymorphe est dit «métastable». La variation d'enthalpie libre peut aussi être exprimée, pour les solides et les liquides, en terme d'activité (considérée, en première approximation, proportionnelle à la solubilité), soit (Burger & Ramberger, 1979b) :

$$\Delta G_{AB} = RT \ln \left(\frac{a_A}{a_B} \right) = RT \ln \left(\frac{\gamma_A x_A}{\gamma_B x_B} \right) \quad (\text{I.18})$$

Si $\gamma_A \approx \gamma_B$ alors :

$$\Delta G \approx RT \ln \left(\frac{C_{s,A}}{C_{s,B}} \right) \quad (\text{I.19})$$

En résumé, le polymorphe le plus stable est celui dont l'enthalpie libre, l'activité, la solubilité, la vitesse de décomposition ... sont les plus faibles.

Remarque :

Si les différences de solubilité sont suffisamment grandes, les données de solubilité peuvent servir pour déterminer les régions de stabilité thermodynamique des polymorphes. En

revanche, si les courbes de solubilité sont pratiquement identiques, l'observation des transitions en fonction du temps, à différentes températures, donne des informations sur la stabilité relative des polymorphes.

I.2.1.2 Énantiotropie et monotropie

D'après les considérations précédentes, et en se reportant à la figure I.4, le polymorphe A est stable en dessous de la température de transition (i.e. il a la plus faible enthalpie libre), tandis qu'au delà de cette température, c'est le polymorphe B le plus stable. On dit que ces deux polymorphes sont *énantiotropes*. Pour un tel système, la transformation est réversible. En effet, à une certaine température, les courbes d'enthalpie libre des deux polymorphes se croisent avant que le point de fusion ne soit atteint.

Toutefois, un polymorphe peut être stable sur toute la gamme de température, et par conséquent, tous les autres polymorphes sont instables. Le système formé par ces différentes phases solides est dit alors *monotrope*. Pour un tel système, les courbes d'enthalpie libre ne se croisent pas en dessous du point de fusion. La forme polymorphe dont l'enthalpie libre et la solubilité sont les plus élevées est donc toujours instable.

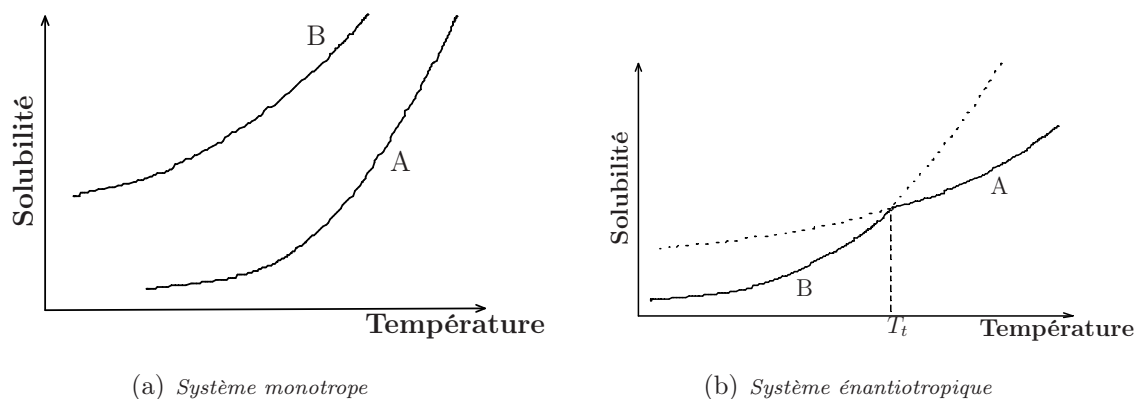


FIG. I.5: Solubilités des systèmes constitués de deux polymorphes

La figure I.5 représente les phénomènes de monotropie (I.5(a)) et d'énantiotropie (I.5(b)) en terme de solubilité. Pour un système monotrope, la stabilité relative des deux polymorphes est indépendante de la température (les courbes de solubilité ne se croisent pas). Pour les systèmes énantiotropes, la température de transition peut être considérée comme une discontinuité au point d'intersection des deux courbes de solubilité.

Pour faciliter la différenciation entre les systèmes monotropes et énantiotropes, *Burger* et *Ramberger* (Burger & Ramberger, 1979b, 1979a) ont développé quatre « règles thermodynamiques ». Leur champ d'application a été ensuite élargie par Yu (Yu, 1998). Les deux règles les plus utilisées sont :

- La règle sur *l'enthalpie de transition* : si la transition entre deux polymorphes est endothermique, alors les deux polymorphes sont énantiotropes. De la même manière si la transition entre deux polymorphes est exothermique, les deux polymorphes sont monotropes.

– La règle sur *l'enthalpie de fusion* : si le polymorphe, dont la température de fusion est la plus élevée, a l'enthalpie de fusion la plus faible, alors les deux polymorphes sont énantiotropes. Par contre, si ce polymorphe a l'enthalpie de fusion la plus grande alors, les deux polymorphes sont monotropes.

Les différentes règles énoncées par Burger (Burger & Ramberger, 1979b, 1979a) sont résumées dans le tableau I.1. Les deux dernières lois (règles sur l'IR et la densité) sont moins fiables et elles ne sont pas (ou très peu) utilisées.

MONOTROPIE (<i>Fig.I.5(a)</i>)	ÉNANTIOTROPIE (<i>Fig.I.5(b)</i>)
Transition > température de fusion de A A toujours stable	Transition < température de fusion de A A stable pour $T > T_{transition}$ B stable pour $T < T_{transition}$
Transition irréversible Solubilité A < solubilité B	Transition réversible Solubilité de A supérieure pour $T < T_{transition}$ Solubilité de A inférieure pour $T < T_{transition}$
Transition B \rightarrow A : exothermique $\Delta_{fus}H_f^A > \Delta_{fus}H_f^B$ Pic IR A après B Densité A > densité B	Transition B \rightarrow A : endothermique $\Delta_{fus}H_f^A < \Delta_{fus}H_f^B$ Pic IR A avant B Densité A < densité B

TAB. I.1: Règles thermodynamiques pour caractériser les transitions polymorphiques (la forme A est celle dont la température de fusion est la plus élevée) d'après Burger et Ramberger (Burger & Ramberger, 1979b, 1979a).

I.2.1.2.1 Détermination de la température de transition

Pour des systèmes présentant le phénomène d'énantiotropie, l'enthalpie libre de la transformation de A vers B est nulle au point de transition et T_t peut être déterminée, à partir des enthalpies de solution, des données sur les solubilités ou des vitesses intrinsèques de dissolution, de la manière suivante :

$$T_t = \frac{\Delta H_{AB}}{\Delta S_{AB}} = \frac{\Delta H_A - \Delta H_B}{(\Delta H_A - \Delta H_B)/T - R \ln(x_B/x_A)} \quad (\text{I.20})$$

Cette approche suppose que la variation de capacité calorifique entre les deux polymorphes est négligeable, et indépendante de la température.

Ce point de transition peut aussi être estimé à partir des données sur les enthalpies et les températures de fusion des deux polymorphes, d'après la relation proposée par Yu (Yu, 1995) :

$$T_t = \frac{\Delta_{fus}H_A - \Delta_{fus}H_B + 0,003\Delta_{fus}H_A(T_{fus,B} - T_{fus,A})}{\frac{\Delta_{fus}H_A}{T_{fus,A}} - \frac{\Delta_{fus}H_B}{T_{fus,B}} + 0,003\Delta_{fus}H_A \ln\left(\frac{T_{fus,A}}{T_{fus,A}}\right)} \quad (\text{I.21})$$

où $\Delta_{fus}H_A$ et $\Delta_{fus}H_B$ et $T_{fus,A}$ et $T_{fus,B}$ sont respectivement les enthalpies et les températures de fusion des formes A et B. Le terme $0,003\Delta_{fus}H_A$ représentant la différence de capacité calorifique entre le liquide et le solide, est indépendant de la température.

De manière générale, les températures de transition déterminées par ces trois méthodes (données de solubilité, enthalpie de fusion, enthalpie de solution) donnent des résultats similaires. En effet, toutes ces méthodes sont basées sur l'extrapolation de la variation avec la température de la différence d'enthalpie libre des deux polymorphes, à partir de l'équation de Gibbs - Helmholtz. Ces trois modèles reposent sur l'hypothèse que la différence de capacité calorifique entre les polymorphes est négligeable. Généralement, la différence des enthalpies de fusion des polymorphes A et B est de l'ordre de 1 à 10 kJ.mol⁻¹ tandis que la valeur ΔCp_{AB} est de l'ordre de 10 J.mol⁻¹ ce qui justifie les approximations réalisées dans l'équation I.21 où $\Delta Cp_{A-liquide} \approx \Delta Cp_{B-liquide} \approx 0,003\Delta_{fus}H_A \approx 0,003\Delta_{fus}H_B$.

I.2.1.3 Équilibre entre polymorphes

I.2.1.3.1 Loi de variance de Gibbs

Deux polymorphes d'un constituant donné, forment deux phases solides distinctes. De plus si elles sont en équilibre, elles doivent obéir à la loi de la variance de Gibbs :

$$F = C - P + 2 \quad (\text{I.22})$$

avec C le nombre de constituants (ici égal à 1), P nombre de phases (ou nombre de polymorphes) et F la variance ou degré de liberté du système.

Donc si $C = 1$ et $P = 2$, le système n'a qu'un degré de liberté. Par conséquent, à pression constante, l'équilibre entre les polymorphes n'est possible qu'à une seule température. De la même manière, à température constante, il ne peut exister qu'à pression fixée. De plus, comme F ne peut être négatif, pas plus de trois polymorphes ne peuvent être en équilibre simultanément. Maintenant, en regardant les diagrammes de phases (par exemple ceux présentés sur la figure I.5), il est possible de préparer les formes métastables des polymorphes soit par cristallisation «rapide» pour les systèmes monotropes, soit par changement de température pour les systèmes énantiotropes. La formation de solides métastables sera suivie par la transformation en composé le plus stable, puisque le système aura tendance à atteindre un état d'équilibre.

I.2.1.3.2 Les différentes transformations polymorphiques

Durant cette transformation, les molécules de la phase solide subissent un changement de «position» afin d'établir une nouvelle structure dont l'enthalpie libre est plus faible (i.e. plus stable). A ce stade deux types de transformation ont été mis en évidence (Davey, 2000) :

Transformations par reconstruction : Dans ce cas, les structures cristallines étant totalement différentes, la transition se traduit par la désintégration du polymorphe métastable et ensuite par la reconstruction du nouveau. Généralement, cette transformation est catalysée si les cristaux sont en contact avec leur solution saturée. Elle s'opère, schématiquement en trois étapes :

1. Dissolution de la phase métastable,
2. Nucléation de la phase stable,
3. Croissance cristalline de la phase stable.

Transformation par déplacement : Cette transformation se passe à l'état solide et peut se dérouler en l'absence de solvant. Des molécules d'une structure peuvent être déplacées pour donner naissance à une nouvelle structure. Un exemple d'une telle transformation est la transition entre les polymorphes A et B de l'acide téréphtalique, dans lequel le réseau des liaisons hydrogène glisse et pivote afin de former une structure plus stable. Cette transition s'effectue sans détruire le cristal parent. Cette transformation s'effectue en trois étapes :

1. Relâchement et brisure des forces intermoléculaires du polymorphe métastable,
2. Formation d'un solide désordonné (forme amorphe locale),
3. Formation de nouvelles forces intermoléculaires, donnant naissance à la forme cristalline stable.

La variation d'enthalpie libre liée à la transformation polymorphique peut être écrite suivant l'équation I.18. Elle peut être endothermique ou exothermique tant que ΔG reste négatif. Pour une transformation endothermique ($\Delta H > 0$), la variation d'entropie est nécessairement positive et donc la nouvelle phase formée est plus désordonnée. Cette transition est appelée transition ordre-désordre.

I.2.1.3.3 Solubilité relative

La solubilité relative est le rapport entre la solubilité du polymorphe le plus stable et celle d'un polymorphe instable. En utilisant la loi de Van't Hoff (équation I.2), ce rapport est défini par la relation (Kitamura, 1989) :

$$-\ln \left(\frac{x_A \gamma_A}{x_B \gamma_B} \right) = \frac{\Delta_{fus} H_A}{RT} \left(\frac{T}{T_{fus,A}} - 1 \right) - \frac{\Delta_{fus} H_B}{RT} \left(\frac{T}{T_{fus,B}} - 1 \right) \quad (I.23)$$

De plus, si $T_{fus} \approx T_{fus,A} \approx T_{fus,B}$ et $T \ll T_{fus}$:

$$\ln \left(\frac{x_A \gamma_A}{x_B \gamma_B} \right) = -\frac{\Delta_{tr} H_{A,B}}{RT} \left(\frac{T - T_{fus}}{T_{fus}} \right) \quad (I.24)$$

Où $\Delta_{tr} H_{A,B}$ représente l'enthalpie de la transformation de A en B. Cette chaleur est indépendante du solvant et peut être déterminée par des mesures calorimétriques (par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) par exemple). Cette approche permet de déduire, avec suffisamment de précision, la solubilité des polymorphes instables à partir des mesures calorimétriques et des données de solubilité de la forme stable (sous réserve qu'il n'y ait pas de transformations à l'état solide lors des mesures d'enthalpies et de températures de fusion).

L'utilisation des grandeurs thermodynamiques, pour caractériser et comprendre les phénomènes liés au polymorphisme, semble être indispensable. Cependant, lors d'expériences de cristallisation, le polymorphe obtenu (en respectant les contraintes thermodynamiques),

ne correspond pas forcément à la forme la plus stable. De plus, si c'est la forme métastable qui représente un intérêt industriel, il est nécessaire de déterminer et de maîtriser les vitesses de conversion d'une forme à l'autre ainsi que les phénomènes qui catalysent ces transformations. C'est pourquoi l'étude de la cinétique des systèmes polymorphes représente aussi un intérêt majeur.

I.2.2 Aspects Cinétiques

Dans l'industrie pharmaceutique, les différents polymorphes sont habituellement préparés par cristallisation en solution en utilisant différents solvants, et différents modes de création de sursaturation. La sursaturation nécessaire pour la cristallisation peut être obtenue par évaporation du solvant, refroidissement de la solution (ou réchauffement si la solution possède une solubilité inverse avec la température), addition d'un anti-solvant (ou précipitant), variation de pH... Ces procédés obéissent non seulement aux lois thermodynamiques, mais ils sont aussi gouvernés par la cinétique.

I.2.2.1 Loi d'Ostwald

Au 19^{ème} siècle, Gay Lussac observa, lors des expériences de cristallisation, qu'une forme instable était fréquemment obtenue en premier et se transformait par la suite en forme stable (Verma & Krishna, 1966). Cette observation fut ensuite décrite thermodynamiquement par Ostwald, qui stipule que « dans tous les procédés, ce n'est pas la forme la plus stable, avec la plus faible enthalpie libre qui est formée mais la moins stable avec une enthalpie libre proche de celle de l'état initial (Ostwald, 1897, 1899).

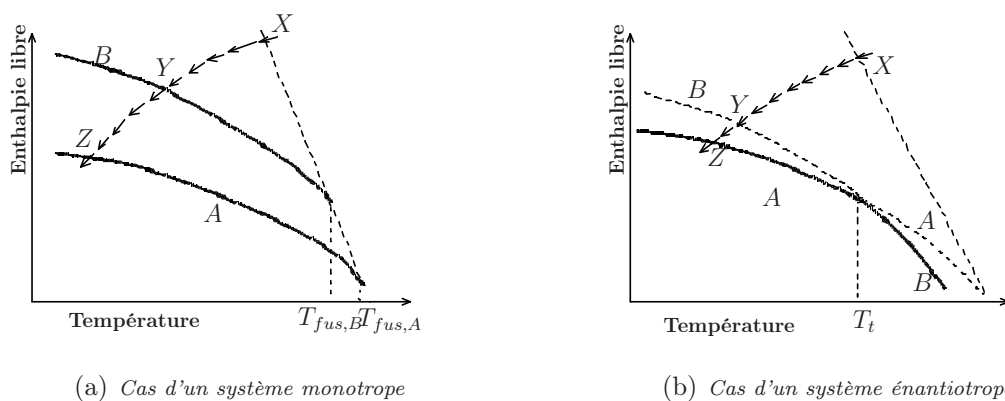


FIG. I.6: Illustration schématique de la loi d'Ostwald pour des systèmes monotrope et énantiotrope

La figure I.6 illustre l'énoncé de la loi d'Ostwald. Considérons tout d'abord, un système monotrope (I.6(a)), dont les conditions initiales sont représentées par le point X, correspondant à un état de sursaturation donné. Si ce système est refroidi (chemin fléché), l'enthalpie libre va décroître en même temps que la température. Avant d'atteindre le point Y ($\beta_b = 1$), la forme B aura tendance à se former plutôt que la forme la plus stable (forme A).

En fait, suivant la loi d'Ostwald, le point Y correspond au polymorphe instable qui a une enthalpie libre proche de l'état initial. De la même manière, dans un système énantiotrope (Fig.I.6(b)), c'est la forme B qui aura tendance à se former en premier. Dans de tel cas, et d'après l'expression de la fréquence de nucléation I.9, $B_{0,A} < B_{0,B}$ bien que la sursaturation de la forme A soit supérieure à celle de la forme B. Cette anomalie peut être expliquée de deux manières : soit, la forme métastable B a une énergie interfaciale inférieure à la forme A, soit le facteur de croissance cinétique est bien supérieur pour la forme B comparé à la forme A.

Pour illustrer l'influence de la tension interfaciale sur la nucléation des différents polymorphes, Klein et coll. (Klein et coll., 1989a) ont réalisé un calcul simple de la fréquence de nucléation homogène. Par exemple, si pour la forme A, la sursaturation est telle que $S_A = 1,78$ et la tension interfaciale $\gamma_A = 0,01 \text{ J.m}^{-2}$ et pour la forme B : $S_B = 1,60$ et $\gamma_B = 0,008 \text{ J.m}^{-2}$ alors cette différence de seulement 20% entre les tensions interfaciales provoque une augmentation considérable de la fréquence de nucléation de telle sorte que $B_{0,A} = 4 \text{ m}^{-3}.\text{s}^{-1} \ll B_{0,B} = 2,4 \cdot 10^7 \text{ m}^{-3}.\text{s}^{-1}$.

Toutefois, la loi d'Ostwald n'est pas une loi universelle de la thermodynamique, mais plutôt un cas particulier des processus de nucléation et de croissance (Davey et coll., 1997a; Blagden, 2001; Blagden et coll., 1998a).

Par exemple, le sulphathiazole est un système tétramorphique (Blagden et coll., 1998a), et suivant la loi d'Ostwald, le système va subir des transformations depuis la forme la plus métastable (D), en passant par les autres formes instables (C et B), jusqu'à la forme thermodynamiquement stable (forme A). Cette transformation est mis en œuvre à travers un processus de croissance–dissolution (Fig. I.7). Dans de tels cas, la stabilisation d'une des formes métastables requiert le ralentissement ou l'annulation d'un ou plusieurs processus de transformation vers la forme thermodynamiquement stable. Par exemple, la stabilisation de la forme D (Cf Fig. I.8) nécessite l'inhibition des transformations (a) D vers C, (b) C vers B et (c) B vers A. Pour la stabilisation de la forme C, les étapes de transformations (b) et (c) doivent être inhibées etc...

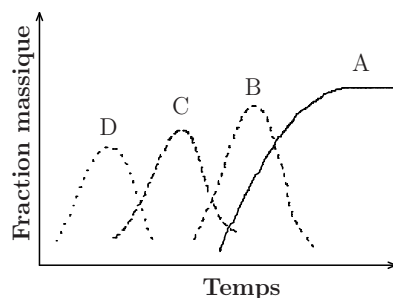


FIG. I.7: *Processus de croissance–dissolution*

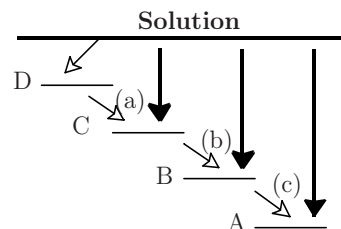


FIG. I.8: *Modes de transformations entre polymorphes*

En utilisant des additifs qui interfèrent sélectivement sur la nucléation ou la croissance d'un polymorphe (Davey et coll., 1997a; Cardew & Davey, 1982) («Taylor made addi-

tives»), il est possible de contrôler ou d'empêcher la dissolution d'une forme métastable et de ralentir considérablement la croissance de la forme stable (Garcia & coll., 2002).

I.2.2.2 Cinétiques des transitions de phases

I.2.2.2.1 Transformations à l'état solide («displacive transformation»)

Bien que la plupart des transformations se fassent lorsque le solide cristallin est en suspension, l'étude des transitions polymorphiques solide-solide (en l'absence de solvant) est importante à considérer (Davey, 2000). En effet, l'apparition ou la disparition subite d'une forme cristalline peut causer des problèmes dans les procédés de fabrication (transport, filtration...), et peut engendrer des dangers pharmaceutiques, si la transformation a lieu lorsque le principe actif est sous sa forme finale.

Ces transformations peuvent être observées en l'absence de solvant (pendant la phase de maturation ou lors du stockage, conditionnement...) et les étapes de nucléation et de croissance se déroulent au sein même du cristal de la forme instable.

La transformation «displacive», est une transformation du premier ordre qui présente une déformation du réseau cristallographique homogène. Le terme displacive signifie que les déplacements relatifs des atomes sont faibles (de l'ordre du dixième d'une distance inter-atomique). Dans ce type de transformation, la nucléation de la forme stable a lieu au niveau des joints de grain. La croissance des nuclei s'effectue dans le cristal jusqu'à ce que les nouveaux grains se superposent à ceux existants. La nucléation est présumée instantanée ou à vitesse constante. La figure I.9 illustre les différentes étapes cinétiques de cette transformation (Davey, 2000).

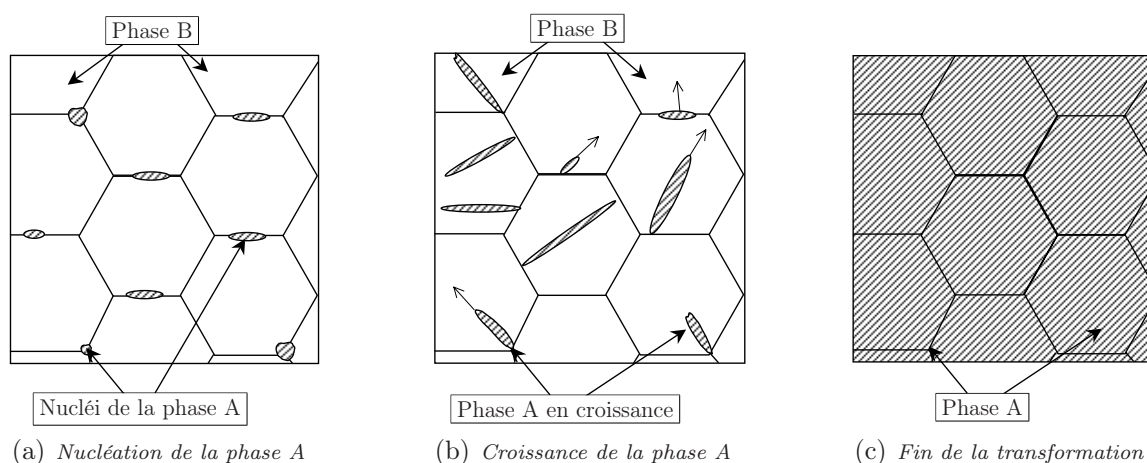


FIG. I.9: Étapes cinétiques de la transformation à l'état solide.

Si cette transformation est limitée par l'étape de croissance du polymorphe A, le volume des cristaux transformé au cours du temps est donné par l'expression suivante (Davey, 2000) :

$$\frac{v(t)}{v_{total}} = 1 - \exp(-kt^n) \quad (\text{I.25})$$

où $v(t)$ et v_{total} sont respectivement le volume des cristaux formés au cours du temps et le volume total des cristaux, et k la constante cinétique de croissance (s^{-n}). La valeur de n

est déterminée à partir de la dimension (1,2 ou 3) du processus de croissance. Généralement $n = 2$ car ces cristaux croissent en plaquettes pour minimiser l'énergie à l'interface.

Cependant, si les cristaux sont réduits à l'état de poudre, la transformation peut devenir limitée par l'étape de nucléation de la forme A. En effet, en diminuant la taille des cristaux il est possible que certains fragments ne contiennent plus de nucleus de A. Dans ce cas, l'expression de la cinétique est modifiée de la manière suivante (Davey, 2000) :

$$\frac{v(t)}{v_{total}} = 1 - \exp\left(-\frac{t}{t_n}\right) \quad (\text{I.26})$$

avec t_n : le temps d'induction ou de nucléation.

Ce type de transformation est rencontré le plus souvent dans les cristaux minéraux ou dans les alliages (transformations marasténiques).

I.2.2.2.2 Transformations par reconstruction («solvent mediated transformation»)

Les mécanismes mis en jeu lors des transformations par reconstruction sont totalement différents de ceux présentés précédemment. La cinétique de ces transformations est limitée par la vitesse de dissolution du polymorphe métastable (B) et par la vitesse de croissance de la forme stable (A).

En considérant un système monotrope, par exemple celui de la figure I.10, la solution, de composition x^0 est initialement sursaturée vis à vis de la forme A et B. Suivant la loi d'Ostwald, la forme B va nucléer en premier jusqu'à ce que la concentration de la solution chute à la valeur x_B , la solubilité de la forme métastable. La solution est maintenant sursaturée uniquement pour la forme stable (A). Les nuclei de la forme A peuvent croître au dépends de la forme B. La composition de la solution va continuer à diminuer jusqu'à ce qu'elle atteigne la solubilité de la forme stable (x_A), et les solides vont se transformer complètement en forme stable.

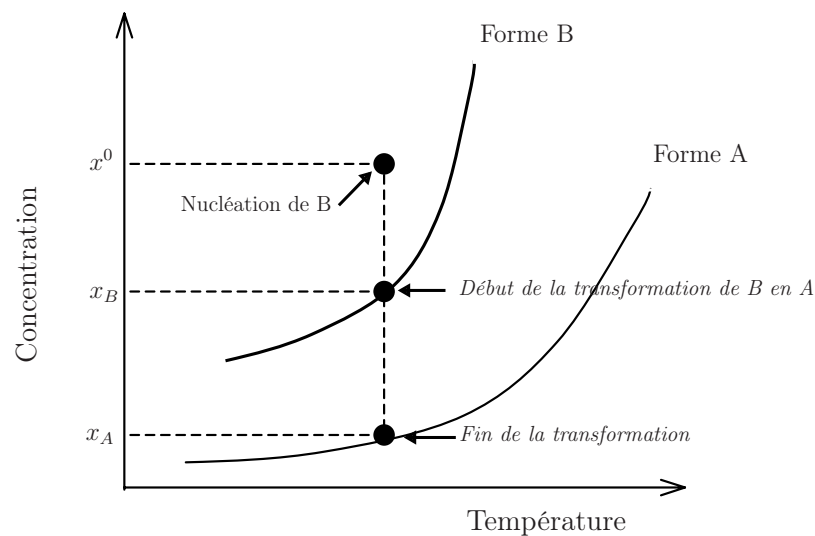


FIG. I.10: Exemple de courbes de solubilité de deux polymorphes monotropes

A partir de la figure I.10, deux sursaturations relatives (s) peuvent être définies. La première est la force motrice de la croissance du polymorphe stable donnée par :

$$s = \frac{x - x_A}{x_A} \quad (\text{I.27})$$

la seconde expression est la description de la sursaturation relative au début de la transformation :

$$s_{B,A} = \frac{x_B - x_A}{x_A} \quad (\text{I.28})$$

La cinétique de cette transformation peut être décrite par les trois mécanismes suivants :

1. dissolution de la forme métastable :

$$\frac{dL_B}{dt} = -k_D(s_{B,A} - s) \quad (\text{I.29})$$

2. croissance de la forme stable :

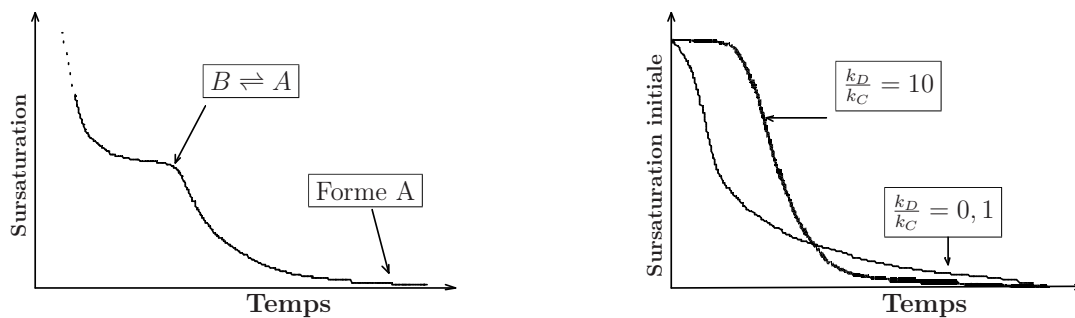
$$\frac{dL_A}{dt} = k_C s^g \quad (\text{I.30})$$

3. bilan massique :

$$s = s^0 - (s^0 - s_{B,A}) \left(\frac{L_B}{L_B^0} \right)^3 - s \left(\frac{L_A}{L_A^f} \right)^3 \quad (\text{I.31})$$

Où L_A et L_B sont respectivement les tailles des cristaux de la forme A et B, les exposants 0 et f font référence aux valeurs initiales et finales, et s^0 est la sursaturation relative qu'il y aurait si les cristaux des deux formes étaient dissous.

La résolution de ces trois équations permet d'avoir accès aux courbes de sursaturation en fonction du temps pour différentes conditions opératoires. L'allure générale des graphes typiquement obtenus est représenté sur la figure I.11(a).



(a) Allure générale des courbes cinétiques

(b) Cas de transformations limitées par la croissance ou par la dissolution

FIG. I.11: Allure des courbes cinétiques pour les transformations en présence de solvant.

Sur ce graphe (I.11(a)), on note :

- une décroissance de la sursaturation à partir de la valeur maximale de $s_{B,A}$: nucléation et croissance du polymorphe stable,

- un équilibre entre la croissance du polymorphe stable et la dissolution de la forme métastable : palier de sursaturation,
- la dissolution totale de la forme métastable et la fin de la croissance de la forme stable (jusqu'à ce que la sursaturation soit nulle).

La figure I.11(b) montre plus en détails les différentes étapes de la transformation polymorphique. Les courbes ont été choisies afin d'illustrer les cas où la cinétique est contrôlée soit par la croissance ($\frac{k_D}{k_C} = 10$) soit par la dissolution de la forme métastable ($\frac{k_D}{k_C} = 0, 1$).

Ces deux cas extrêmes sont identifiables à partir de la longueur relative des plateaux au maximum de sursaturation. Ainsi, si la forme métastable se dissout assez rapidement pour maintenir la solution à sa concentration maximale, le plateau sera grand. En d'autres termes, plus la forme métastable se dissout rapidement plus le plateau est grand.

De manière générale, après une période d'induction correspondant au temps de nucléation, la transformation a lieu, avec une solution de concentration constante (correspondant à la solubilité de la forme métastable). Ce palier correspond à un équilibre entre la dissolution de la forme métastable et la cristallisation de la forme stable (alimentation – consommation). Par la suite, la baisse de concentration est due au fait que la vitesse de dissolution diminue à cause de la disparition progressive de la forme métastable (Davey, 2000).

I.2.2.3 Vitesse relative de nucléation

Dans le cas des polymorphes, Kitamura (Kitamura, 1989) a introduit une vitesse relative de nucléation. Par exemple, dans le cas de deux polymorphes, A et B, on obtient la relation suivante :

$$R = \frac{B_{0,A}}{B_{0,A} + B_{0,B}} = \left\{ 1 + \frac{A_B}{A_A} \exp \left[- \frac{16\pi}{3(kT)^3} \left(\frac{\sigma_B^3 v_B^2}{(\ln S_B)^2} - \frac{\sigma_A^3 v_A^2}{(\ln S_A)^2} \right) \right] \right\}^{-1} \quad (\text{I.32})$$

Dans cette équation, la sursaturation (S) et la tension interfaciale (σ) apparaissent comme les paramètres clefs de la vitesse relative de nucléation des polymorphes à température constante. La loi d'Ostwald indique que lorsque la sursaturation est faible, le rapport de sursaturation (S) semble gouverner la cristallisation et c'est la forme stable qui cristallise préférentiellement. Par contre, lorsque la sursaturation est grande, la différence de tension interfaciale devient relativement prépondérante et la forme métastable a tendance à précipiter en premier. Cependant, en pratique, de tels comportements sont difficilement observables.

I.2.3 Cas particuliers de polymorphisme

I.2.3.1 Les polymorphes concomitants

Dans certains cas, les conditions cinétiques et thermodynamiques provoquent soit la superposition des domaines d'apparition des polymorphes soit l'apparition simultanée des différentes formes. Il en résulte que le procédé de cristallisation peut produire plus d'une forme polymorphe pour des conditions expérimentales identiques. De nombreux auteurs

se sont intéressés à la détermination précise des structures cristallines de tels polymorphes (Berstein & Goldstein, 1988; Ashwell et coll., 1999; Wojtyk et coll., 1999). Ces études montrent que dans la majorité des cas, les polymorphes concomitants proviennent de la formation de structures cristallines iso-énergétiques, c'est-à-dire que l'environnement chimique et les interactions moléculaires, au sein des cristaux, sont identiques même si ces molécules cristallisent dans des systèmes cristallins différents.

D'un point de vue thermodynamique, les différents polymorphes ne peuvent co-exister qu'à la température de transition ($\Delta G_{A-B} = 0$ équilibre thermodynamique, cf. paragraphe I.2.1.1). La probabilité de réaliser une cristallisation à une telle température est faible et par conséquent si des polymorphes concomitants sont produit lors de la cristallisation, alors la cinétique joue dans ce cas un rôle prépondérant. Cependant si de tels systèmes restent en solution suffisamment longtemps, la forme métastable va subir une transformation vers la forme la plus stable. Cette technique, appelée maturation est couramment employée pour produire la forme la plus stable (McCrone, 1965; Cardew et coll., 1984).

Ce phénomène est très répandu et de nombreux exemples sont disponibles dans la littérature (Kelly et coll., 2001, 1997; Dunitz & Berstein, 1995a; Fu et coll., 1994). Ces études montrent à quel point il est délicat de développer une procédure de cristallisation rigoureuse pour contrôler la forme polymorphe désirée. La méthode la plus courante est la détermination empirique des domaines de prédominance des formes en fonction des conditions opératoires (température, concentration, solvant, vitesse de refroidissement, semences...). Les polymorphes concomitants proviennent de la superposition de ces domaines et le contrôle du procédé de cristallisation nécessite la définition précise de leurs frontières.

I.2.3.2 Le polymorphisme de conformation

Le polymorphisme de conformation apparaît lorsque plusieurs conformations moléculaires peuvent être stabilisées à l'état solide (Berstein, 2002). Ceci induit deux complications supplémentaire lors de la cristallisation. D'une part, un grand nombre de structures sont possibles et les polymorphes résultant diffèrent non seulement par le mode d'assemblage des molécules au sein de la maille cristalline mais aussi par les conformations moléculaires (cf. figure I.12).

La cristallisation de telles molécules est plus difficile car en solution les molécules existent sous différents conformères d'énergie équivalentes. Le système doit donc sélectionner les différents conformères qui peuvent cristalliser, ce problème est identique à la cristallisation d'enantiomères à partir d'un mélange racémique (Jaques et coll., 1991).

D'un point de vue thermodynamique, les conformères qui cristallisent sont ceux qui peuvent s'assembler de manière à minimiser l'énergie du système ($G = H - TS$). Le terme enthalpique (H) domine généralement à faible température et conduit à la formation de structures denses et très organisées. En revanche, le terme entropique (TS) devient plus important aux températures élevées ce qui favorise la formation de structures plus désordonnées ou moins cristallines. D'un point de vue moléculaire, ce type de polymorphisme peut provenir des différentes forces inter ou intra-moléculaires : interactions ioniques, forces de van der Waals (Yu et coll., 2000; Peterson et coll., 1999), interactions dipôle-dipôle, liaisons hydrogène (Byrn et coll., 1972; Jeffrey & Kim, 1970)

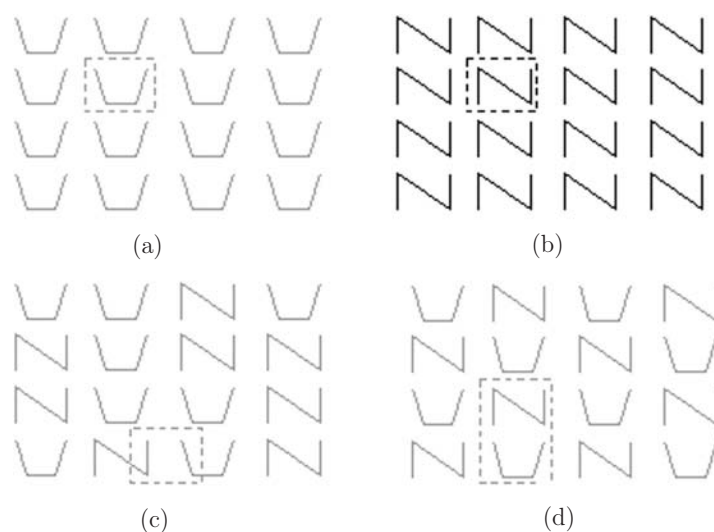


FIG. I.12: Représentation schématique des trois possibilités d'arrangement des différents conformères (*cis* et *trans*) dans un cristal. Le rectangle en pointillé représente une maille cristalline élémentaire possible. (a) et (b) Polymorphes de conformation, (c) Isomorphisme de conformation ; (d) Synomorphisme de conformation

Pour ce type de molécules, typiquement rencontrées dans l'industrie pharmaceutique, il est impossible de prédire quel conformère va cristalliser, car il résulte en général de la compétition entre les différentes forces inter ou intra moléculaires et des conditions thermodynamiques. De plus, le nombre important de structures possibles ne facilite pas la cristallisation et conduit à d'autres formes de solidification (forme amorphes ou solvates).

I.3 Méthodes et techniques analytiques pour la caractérisation des polymorphes

Comme les polymorphes diffèrent par leurs structures cristallines, et que les propriétés physiques ou chimiques varient d'une forme à l'autre, n'importe quelle technique qui mesure les propriétés des solides peut en principe suffire pour les détecter et les caractériser. Cependant parmi tous les outils disponibles, il est clair que la diffraction des rayons X, la microscopie, les analyses thermiques, la spectrométrie et la Résonance Magnétique Nucléaire sont les méthodes les plus appropriées pour étudier les polymorphes et les solvates.

Bien qu'une approche universelle et systématique de caractérisation serait nécessaire et indispensable, les différents types de polymorphisme impliquent l'utilisation de stratégies et techniques différentes suivant les cas étudiés (solvates ou polymorphes vrais, petites ou grosses molécules, mélanges de polymorphes ou forme pure...).

A l'heure actuelle, les chercheurs disposent d'une gamme importante de méthodes analytiques pour mener à bien des études de caractérisation. A chaque étape du développement du principe actif, ces techniques doivent permettre de répondre aux questions suivantes :

- Quel est le type de polymorphisme ?
- Comment les polymorphes peuvent-ils être distingués et quantifiés ?
- Quelles sont les différences de structures entre les polymorphes ?
- Comment les différences de propriétés entre les polymorphes affectent-elles la qualité et la performance du principe actif ?
 - Est-ce que les propriétés peuvent être prédites à partir des structures et vice versa ?

Cette partie est donc consacrée exclusivement à la description et à l'application des techniques et des méthodes les plus fréquemment utilisées lors de la caractérisation des polymorphes.

I.3.1 La cristallographie : Étude de l'arrangement cristallin

La cristallographie aux rayons X, réalisée soit sur un cristal isolé soit sur une poudre, permet essentiellement d'analyser la structure élémentaire du cristal, c'est donc une technique particulièrement appropriée pour l'étude des polymorphes et des solvates.

I.3.1.1 Diffraction aux rayons X sur un monocristal

L'arrangement tridimensionnel des atomes dans une structure cristalline est capable de diffracter une lumière dont la longueur d'onde est du même ordre de grandeur que la longueur périodique du réseau moléculaire. Cette période est de l'ordre de 10^{-10} m et correspond à la longueur d'onde des rayons X. Toutes des techniques de diffraction des rayons X est basée sur la loi de Bragg qui décrit la diffraction d'un rayon X monochromatique incident à la surface d'un plan constitué d'atomes :

$$n\lambda = 2d \sin(\theta) \quad (\text{I.33})$$

n : Ordre du réseau de diffraction,

λ : Longueur d'onde du faisceau incident,

d : Distance entre les plans cristallins,

θ : Angle du faisceau de diffraction.

La détermination expérimentale des angles de réflexion et de diffraction permet de calculer les paramètres de maille du réseau cristallin, et les intensités associées permettent de déterminer la structure atomique du cristal.

La cristallographie aux rayons X sur un cristal isolé permet donc d'avoir accès à des informations très précises sur la structure du cristal :

- Paramètres de la maille unitaire,
- Densité,
- Désordre cristallin,
- Conformation moléculaire,
- Empilement moléculaire
- Réseau des liaisons hydrogène.

C'est pourquoi l'utilisation de cette technique s'est largement répandue. On peut trouver dans la littérature de nombreux exemples d'utilisation des rayons X pour caractériser

non seulement les différentes structures cristallines mais aussi pour identifier les origines de ces différences : liaisons hydrogène (Pienaar et coll., 1993a, 1993b), arrangement de différents conformères (probutol (Gerber et coll., 1993), nitrofurantoïne (Pienaar et coll., 1993b)), conformation moléculaire, torsion de liaisons (torsion autour de la liaison C-N pour le loméridine dihydrochloride (Hiramatsu et coll., 1996), faible différence de conformation pour le spironlactone (Agafonov et coll., 1991))...

Cependant, bien que cette méthode soit la plus précise, la nécessité d'avoir un échantillon de très bonne qualité (« cristal parfait ») limite son champ d'applications à des cristaux isolés de grande pureté (monocristaux). C'est pourquoi on a recours, la plupart du temps, à des techniques alternatives pour caractériser des solides qui ne sont pas parfaitement cristallins ou purs (Powder XRD, RMN, Spectroscopie ...).

I.3.1.2 Rayons X sur des poudres (Powder X.R.D.)

La diffraction aux rayons X sur des poudres est la technique prédominante pour étudier des structures polycristallines : elle est utilisée comme méthode systématique pour la caractérisation des polymorphes et solvates.

Le matériau est bombardé par un faisceau de rayons X monochromatiques et parallèles de longueur d'onde connue, produit grâce à une anticathode de cuivre (Energie du rayonnement : 8047 eV ; Longueur d'onde ($K_{\infty} = 1$) : 1,5405 Å). Le rayonnement émis est défini par un système de fentes (fentes Soller) et de fenêtres situées avant et après l'échantillon. Ce dernier est étalé sous forme de poudre sur une lame de verre qui tourne d'un mouvement uniforme autour d'un axe situé dans son plan (cercle goniométrique), permettant ainsi d'augmenter le nombre d'orientations possibles des plans réticulaires. Les particules étant orientées au hasard, il y aura toujours une famille de plans donnant lieu à la diffraction, de telle sorte que l'on obtiendra simultanément tous les faisceaux susceptibles de diffracter : ces faisceaux forment des cônes de demi-angle au sommet 2θ .

Un détecteur ou compteur (Geiger-Müller ou compteur à scintillation) mesure l'intensité du rayonnement X diffracté dans certaines directions. Il tourne autour du même axe mais à une vitesse double de celle de l'échantillon. Pour un angle d'incidence θ , l'angle mesuré par le déplacement du compteur sera donc 2θ . Un diaphragme à couteau permet d'éliminer l'effet parasite du faisceau incident dans les petits angles ($2\theta < 10^\circ$). L'enregistrement réalisé est la courbe de l'intensité des rayons X diffractés en fonction des angles de diffraction.

Le cliché XRPD (X ray Powder Diffraction) est donc constitué d'une série de pics détectés pour chaque angle caractéristique. Ces angles et leurs intensités relatives peuvent être corrélés, à partir de la loi de Bragg (Eq.I.33) à l'espacement des plans cristallins pour fournir une caractérisation cristallographique complète de l'échantillon.

En outre, la diffraction des rayons X sur les poudres est massivement utilisée pour les analyses quantitatives de mélanges de phases solides. Les principes fondamentaux et les expressions mathématiques reliant l'intensité à la composition ont été développées en 1948 par Klug et Alexander (Byrn et coll., 1995). Les méthodes de diffraction des rayons X sont basées sur l'hypothèse que les particules sont assez petites pour que les effets d'extinction moléculaire et de micro-absorption soient négligeables. De plus, pour que la

quantification soit significative, il faut minimiser les effets d'orientation préférentielle, ce qui est en pratique très difficile à mettre en oeuvre. Lorsque l'on veut quantifier un mélange de polymorphes une méthode classique consiste à réaliser un mélange standard de deux formes polymorphes. Le coefficient d'absorption de l'échantillon est constant et une relation linéaire relie l'intensité des pics et la composition.

Les rayons X sur poudres sont parfois utilisés pour déterminer le degré de cristallinité d'un échantillon. En effet, si les clichés à 100% et 0% de cristallinité d'un solide peuvent être déterminés, alors l'intégration de l'intensité des pics peut être utilisée pour déduire le pourcentage de cristallinité de l'échantillon. Ces méthodes ont été utilisées pour mesurer le degré de cristallinité du digoxine (Black & Lovering, 1977) et du gluceptate de calcium (Suryanarayanan & Mitchell, 1985).

En outre, l'utilisation d'une source de rayons X plus brillante et plus intense, telle que le rayonnement synchrotron, permet d'obtenir des clichés RX plus fins et donc une connaissance plus précise de la structure de l'échantillon. Cependant, cette technique est assez peu utilisée car elle est très onéreuse et complexe à mettre en oeuvre.

I.3.2 Spectroscopie : Étude de l'arrangement moléculaire

La spectroscopie est l'analyse de radiations émises, absorbées ou diffusées par les molécules.

En complément des méthodes de diffraction aux rayons X, sensibles aux interactions à «longues échelles» (paramètres de mailles unitaires), la spectroscopie est sensible aux interactions «courtes échelles» (influence de la maille unitaire sur les liaisons) dans les solides moléculaires.

I.3.2.1 Spectroscopie Infra-Rouge

La spectroscopie IR est basée sur le fait que toutes les liaisons d'une molécule vibrent. Ces vibrations peuvent être excitées par l'absorption de radiations électromagnétiques et l'observation des fréquences d'absorption donne des informations précieuses sur l'identité de la molécule et fournit des informations quantitatives sur la flexibilité des liaisons.

Les méthodes spectroscopiques sont non - destructrices et peuvent être utilisées en complément d'autres techniques classiques (TGA, microscopie, DSC, XRD) pour les analyses quantitatives des poudres.

Les nombres d'ondes associés aux divers modes de vibrations des composés chimiques sont compris entre $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$. Ces modes peuvent être directement observables sur leur spectre infrarouge. Le spectre IR d'un solide reflète donc les détails de la structure cristalline.

I.3.2.1.1 Spectroscopie IR, FTIR

L'acquisition d'un spectre de grande qualité nécessaire à la caractérisation des polymorphes et des solvates est réalisée grâce aux méthodes FTIR (Fourier Transform Infra-Red). Cette approche minimise les problèmes de transmission et d'atténuation du faisceau. De manière générale tous les spectromètres FTIR utilisent un interféromètre de Michelson. La radiation entrant dans l'interféromètre est divisée en deux faisceaux. La recombinaison

de ces deux faisceaux produit un spectre d'interférences et la propriété de destruction ou de reconstruction des ondes donne un signal de type sinusoïdal.

Quelquefois, les spectres FTIR de composés polymorphiques sont très similaires, indiquant que le mode de vibration des molécules n'est pas directement affecté par les différences de structures cristallines. Des exemples de ces comportements sont mis en évidence par des études réalisées sur l'étoposide (Jasti et coll., 1995), le tegafur (Uchida et coll., 1993), le loromeridine dichlorique (Hiramatsu et coll., 1996) et le carbamazépine (Lowe et coll., 1987).

Dans la majorité des cas, les spectres FTIR des systèmes polymorphes diffèrent de manière significative et cette technique a été proposée pour réaliser un suivi en ligne de la cristallisation des polymorphes (Févotte, 2002).

La spectroscopie à température variable peut être un outil puissant pour l'étude des transitions de phases et/ou des processus de désolvatation. Cette technique a été combinée avec une analyse de facteur de structure pour déterminer trois transitions de phases et quatre changements de conformation, observés lors de la cristallisation du pentaerythritol tetrastearate (Gu, 1993; McMahon et coll., 1996). Dans cette étude, chaque événement thermique a été validé par des études de DSC analogues.

Contrairement à la diffraction des rayons X, qui donne l'arrangement des molécules au sein du réseau cristallin, la spectroscopie vibrationnelle IR donne des informations sur l'influence du réseau cristallin sur les différents modes de vibration des liaisons de la molécule. Il en résulte donc souvent un recouvrement de la majorité des pics caractéristiques des composés pharmaceutiques. Cependant, si des bandes d'absorption non équivalentes peuvent être identifiées alors l'intensité des bandes peut être utilisée pour des analyses quantitatives sur des mélanges contenant différentes formes polymorphes. L'équation de Kubelka -Munk (Hiramatsu et coll., 1996) (analogue à la loi de Beer-Lambert pour la transmission), est utilisée pour décrire quantitativement les radiations :

$$F(R_\infty) = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty} + \frac{2,303ac}{d_L} \quad (\text{I.34})$$

où $F(R_\infty)$ est la fonction de Kubelka -Munk, R_∞ est la réflectance absolue d'un échantillon infiniment mince, a est le coefficient d'absorption molaire, c est la concentration molaire, et d_L le coefficient de diffusion de la lumière (Stephenson, Forbes & Reuztel-Edens, 2001).

De telles études requièrent la préparation, non triviale, d'échantillons de calibration contenant des quantités connues de la substance à analyser. En effet, il est très difficile de réaliser des mélanges physiques de poudres dont les morphologies sont différentes.

De toutes les méthodes spectroscopiques d'analyse quantitative, la spectroscopie à infrarouge est probablement la méthode la plus facile à mettre en œuvre pour des analyses en continu, discontinu et pour le contrôle qualité (Stephenson, Forbes & Reuztel-Edens, 2001).

1.3.2.1.2 Spectroscopie Raman

Les modes de vibration d'une molécule peuvent être aussi étudiés au moyen de la spectroscopie Raman, qui mesure la diffusion non élastique d'une radiation par un milieu non

absorbant (Grassely et coll., 1981). L'effet Raman est induit par les interactions entre le moment dipolaire de la molécule et le champ vectoriel électrique de la radiation incidente. Les spectres Raman sont obtenus à partir de l'observation de la lumière diffusée perpendiculairement ou rétrodiffusée d'un rayon laser éclairant un échantillon à analyser.

Bien que les spectroscopies Raman et IR soient sensibles aux mêmes modes de vibration, les différentes lois gouvernant l'intensité des pics, pour les différents types de spectroscopie, peuvent donner des informations complémentaires. En effet, pour des structures de faible symétrie, fréquemment rencontrées dans les molécules d'intérêt pharmaceutique, toutes les bandes de vibrations seront actives (à des degrés différents) soit en Raman soit en absorption IR.

Les bandes de diffusion de Raman sont souvent très fines ; cette technique offre donc une meilleure définition spectrale que celle obtenue avec la spectroscopie IR (peu de recouvrement entre les bandes d'absorption).

De par sa capacité à mesurer des vibrations de faibles fréquences, la spectroscopie Raman permet d'avoir également accès aux modes de vibrations du réseau cristallin. De tels travaux ont été effectués sur les diverses formes de l'ampicilline et de la griseofulvine (Bellows et coll., 1977; Bolton & Prasad, 1981), et des informations précieuses ont été obtenues quant à la nature des solvates formés.

De plus, des études intéressantes ont été réalisées par spectrométrie Raman à température variable, afin d'étudier l'évolution du réseau cristallin au cours des transformations polymorphiques (Randall et coll., 1995) et du processus de désolvatation (Bolton & Prasad, 1981).

I.3.2.2 Spectroscopie RMN à l'état solide

Cette technique est de plus en plus utilisée pour la caractérisation des solides d'intérêt pharmaceutique (Britain, 1997; Bugay, 1993, 1995). Elle se situe à mi-chemin entre la spectroscopie IR et la diffraction de rayons X. Alors que la spectroscopie IR met en évidence des différences d'environnement moléculaire entre polymorphes et que la diffraction de rayons X donne des informations sur les différences de structure cristalline, la RMNS donne des informations sur l'environnement de chaque atome dans la maille cristalline. Les polymorphes se différencient par leur structure cristalline et éventuellement par leur conformation moléculaire, (l'environnement d'au moins un atome est différent d'une forme à l'autre) ; ces différences sont ainsi détectables en RMN du solide.

De nombreux exemples de caractérisation sont disponibles dans la littérature (Harris, 1985; Stephenson, Forbes & Reutzler-Edens, 2001; Byrn et coll., 1988; Stoltz et coll., 1991) : en particulier la structure cristalline du fosinopril de sodium a pu être déterminée au moyen d'un monocristal, mais celle de sa forme métastable n'a pas pu être obtenue. Des études en spectroscopie IR ont permis d'identifier un polymorphisme de conformation, et les études complémentaires en RMNS suggèrent que ce polymorphisme est dû à une différence de conformation cis-trans le long de la chaîne peptidique (Brittain et coll., 1993).

L'utilisation de cette technique pour la caractérisation de solides d'intérêt pharmaceutique présente de nombreux avantages. D'une part, le signal n'est pas influencé par la granulométrie de l'échantillon ; et d'autre part, son intensité est directement proportionnelle

au nombre de noyaux (atomes C ou H) qui le constituent. Par conséquent, la présence de mélange de formes polymorphes peut être détectée (superposition des différents spectres) (Lin, 1992; Gerber et coll., 1993; Anwar et coll., 1989) et un dosage quantitatif peut être réalisé. Cependant, lors de la mesure, l'échantillon peut être soumis à un stress mécanique important pouvant entraîner un échauffement local de la poudre, suffisant pour provoquer des transitions de phases.

I.3.3 Microscopie : Étude du faciès

La microscopie est un outil très important pour la caractérisation des polymorphes.

Un cristal est un polyèdre solide délimité par des faces planes, identifiées par leur indices de Miller, l'empilement des mailles élémentaires suivant les trois directions de l'espace donne la morphologie du cristal. Les microscopies photonique et électronique respectivement ont un champ d'application très vaste dans la caractérisation des polymorphes et des solvates. Bien que le grossissement du microscope optique soit relativement faible, son utilisation est facile et rapide à mettre en œuvre. L'utilisation de lumières polarisées augmente de manière considérable le champ d'application de cette technique. Les travaux effectués avec un microscope électronique peuvent être réalisés à des niveaux très élevés de grossissement (Zoom max = $\times 90000$), et les images obtenues donnent de nombreuses informations tridimensionnelles. Ces deux méthodes sont complémentaires. McCrone (McCrone, 1993) a mené à bien de nombreuses études grâce à l'utilisation de la microscopie sur des cristaux. Il conclut que la microscopie électronique fournit des informations précises sur la topographie et la forme des cristaux, alors que la microscopie photonique (couplée avec des lumières polarisées) fournit des informations sur les propriétés optiques des cristaux.

I.3.3.1 Microscopie Photonique

La microscopie photonique détermine les propriétés optiques (birefringence, indices de réfraction, dispersion des couleurs ...) et les propriétés morphologiques des particules.

Combinée avec des méthodes thermiques (Hot-Stage Microscopie, HSM), c'est un outil très puissant pour la découverte de nouveaux polymorphes et pour la détermination de leur stabilité. Cette technique est basée sur l'observation au microscope du comportement des cristaux pendant le refroidissement ou le réchauffement de quelques grammes d'échantillons. Il est donc possible de déterminer entièrement le diagramme de phase des cristaux à partir de cette technique. La microscopie thermique permet ainsi de déterminer précisément les points de fusion des cristaux, et à partir de cycles de refroidissement et de chauffage, il est possible de déterminer la nature des transitions (Lafferrere, 2002).

I.3.3.2 Microscopie Électronique

La microscopie électronique permet des résolutions plus importantes que le microscope optique. C'est une technique de plus en plus utilisée pour les études de faciès. L'inconvénient principal de cette technique est que l'échantillon doit être placé dans une enceinte et bombardé d'un faisceau d'électrons; ces conditions peuvent influencer la structure de certains matériaux.

I.3.4 Analyses Thermiques : Étude des transitions

L'analyse thermique comprend une famille de techniques analytiques, qui permet de mesurer une propriété physique (perte de masse, propriétés dimensionnelles, flux de chaleur, conductivité thermique...) en fonction de la température et du temps. L'échantillon est soit chauffé, soit refroidi, soit maintenu à température constante lorsque l'on étudie ses propriétés thermophysiques. L'analyse thermique peut être utilisée pour caractériser les propriétés et les composants suivants (Sichina, 2001) :

- Pureté,
- Polymorphisme et métastabilité,
- Diagrammes de phases,
- Cinétique,
- Dosage des hydrates,
- Influence des additifs,
- Étude de l'état amorphe,
- Dénaturation des protéines...

Les deux techniques les plus utilisées pour la caractérisation des solides en milieu pharmaceutique sont la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et la ThermoGravimétrie (TG). La DSC mesure la réponse de l'échantillon en terme de flux de chaleur, tandis que la thermogravimétrie mesure la perte de masse en fonction de la température et du temps.

Le couplage entre DSC et TG est particulièrement important. La DSC fournit des informations sur un changement de flux thermique (dû par exemple, à un changement de capacité calorifique) et des enthalpies de transitions. En plus, la TG donne la perte de masse associée à la disparition d'un composé volatil (solvants par exemple) ainsi que le changement de masse attribué aux transitions.

I.3.4.1 Présentation générale

I.3.4.1.1 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

La DSC est une technique de mesure dans laquelle le flux de chaleur absorbé ou dégagé par un échantillon est suivi en fonction du temps et/ou de la température.

La DSC est basée sur une *méthode différentielle de mesure*. Cette méthode consiste à mesurer les différences de propriétés (physiques, chimiques...) entre l'échantillon à analyser et un échantillon de référence. Pour permettre de telles mesures, les appareils de DSC sont constitués de deux compartiments jumeaux. L'avantage principal de cette méthode de mesure est que, en première approximation, une perturbation, comme la variation de température dans le système environnant, affecte de la même manière l'échantillon et la référence.

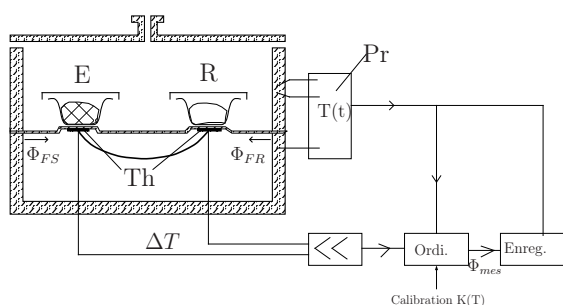
La DSC permet de mesurer rapidement et avec suffisamment de précision des chaleurs de réaction, de transition, de fusion ... ainsi que les températures associées, en utilisant de petites quantités d'échantillon (quelques milligrammes contre quelques grammes pour la calorimétrie classique). A cause de l'utilisation de plus en plus importante de la DSC, favorisée par sa facilité apparente d'utilisation et d'interprétation, des approximations et des négligences sont apparues (inconcevables en calorimétrie « classique »). Par exemple :

- L'estimation des incertitudes de mesure est rarement réalisée. La calibration, les facteurs influents, et les considérations théoriques de la DSC doivent être pris en compte,
- L'interprétation des mesures de DSC est souvent insuffisante ou fautive lorsque :
 - ★ les incertitudes de mesures ne sont pas prises en considération,
 - ★ les sources d'erreur systématique sont ignorées,
 - ★ les lois thermodynamiques et cinétiques ne sont pas prises en compte,
 - ★ les résultats ne sont pas confirmés par d'autres expériences.

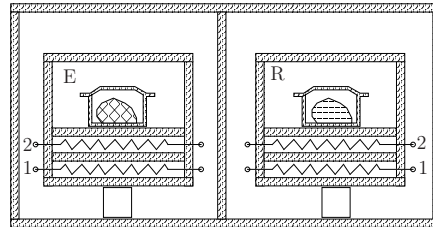
Comme les méthodes d'analyses thermiques peuvent être adaptées pour répondre aux spécifications des échantillons et aux besoins des procédés, deux technologies d'appareils de DSC sont disponibles (Höhne et coll., 1996) :

Heat Flux DSC : (Cf. Fig.I.13(a)) Cet appareil appartient à la catégorie des calorimètres à *échange de chaleur*. Le signal mesuré est une différence de température, qui décrit l'intensité de l'échange, cette différence est proportionnelle à la densité de flux de chaleur Φ .

Power compensation DSC : (Cf. Fig.I.13(b)) Il appartient à la famille des calorimètres à *compensation de chaleur*. La quantité de chaleur qui doit être mesurée est compensée (presque totalement) par une énergie électrique, en augmentant ou en diminuant l'effet Joule.



(a) Heat Flux DSC (Hemminger, 1994)



(b) Power Compensation DSC (Hemminger, 1994).

FIG. I.13: Les deux technologies d'appareil de DSC. *E* : Échantillon, *R* : Référence, *Th* : Thermocouple différentiel, *Pr* : Programmeur et contrôleur, Φ_{FS} : Flux thermique enceinte-échantillon, Φ_{FR} : Flux thermique enceinte-référence, Φ_{mes} : Flux thermique mesuré, $K(T)$: Facteur de calibration, 1 : Résistance chauffante, 2 : Thermomètre résistance.

I.3.4.1.2 Thermogravimétrie

La thermogravimétrie (TG) mesure la perte de masse d'un échantillon, induite thermiquement, en fonction de la température appliquée. Par conséquent, les analyses de TG sont restreintes aux transitions provoquant des pertes ou des gains de masse et sont largement utilisées pour étudier les processus de désolvatation et de décomposition thermique.

La TG est un outil intéressant lorsque qu'elle est utilisée avec d'autres méthodes thermiques : le couplage TG-DSC ou TG-DTA permet d'identifier les différents événements

thermiques observés. En effet, les processus de désolvatation ou les réactions de décomposition sont accompagnés par un changement de masse, qui se traduit sur les courbes de TG par une perte de masse dans la même gamme de température. Par contre, les transitions entre phases (solide–solide ou liquide–solide), ne se traduisent pas par une variation de masse et donc les thermogrammes obtenus ne font rien apparaître lors de ces transitions.

Le principe des mesures de thermogravimétrie est simple : la masse d'un échantillon chauffé (ou refroidi) dans un creuset est enregistrée en continue. Cette masse est mesurée, en général, au moyen d'une microbalance qui permet d'enregistrer des variations au milligramme près. L'enceinte de mesure est construite de telle manière que l'atmosphère peut être contrôlée (par ventilation ou par un écoulement gazeux). Afin de mesurer le comportement thermique réel de l'échantillon (et pas celui du creuset), le thermocouple doit être placé le plus près possible de la poudre.

Même si la méthodologie de la thermogravimétrie est relativement simple, la précision des mesures dépend fortement de l'échantillon et de l'appareillage. La vitesse de chauffe (ou de refroidissement) du creuset affecte significativement les températures de transition, alors que l'atmosphère gazeuse de l'enceinte de mesure peut influencer la nature des réactions thermiques. L'échantillon lui-même joue un rôle important sur la qualité des données obtenues. En effet, les paramètres comme la quantité d'échantillon, la nature des gaz dégagés, la répartition granulométrique des particules, et la conductivité thermique influencent les thermogrammes obtenus.

I.3.4.2 Courbes de DSC et de TG

La méthode DSC étant largement utilisée dans notre étude, ce paragraphe décrit brièvement les types de courbes obtenues classiquement en DSC ainsi que les limitations de cette technique.

Type 1 : La transformation solide–solide a lieu avant le point de fusion. Cette transition est exothermique pour les systèmes monotropiques et endothermique pour les systèmes énantiotropiques. La thermobalance ne détecte pas de perte de masse. Le calcul de pureté réalisé sur le pic de fusion n'est pas affecté par cette transition si elle a lieu bien avant le point de fusion. Les figures I.14 I.15 et présente respectivement les données DSC obtenues pour la tolbutamide et a penicillamine (Giron, 1994). Les transition S–S ont lieu avant le point de fusion.

Type 2 : Quelques composés ont des points de fusion distincts. Après la fusion du composé le plus « volatil », les cristaux de la forme ayant le point de fusion le plus élevé se développent à partir du « fondu », identifiable à la DSC par un pic exothermique. Ensuite, cette deuxième forme fond et donne un second pic endothermique (fusion de la deuxième forme). De telles courbes de DSC correspondent soit à un phénomène d'énantiotropie soit à un phénomène de monotropie, et l'échantillon peut être une forme pure ou un mélange.

Les courbes obtenues par TG sont indispensables pour éviter de mauvaises interprétations de ces courbes DSC. McCaulay (McCauley, 1991) a étudié le polymorphisme du phthalysulphathiazole par DSC. Les courbes montrent deux pics endothermiques

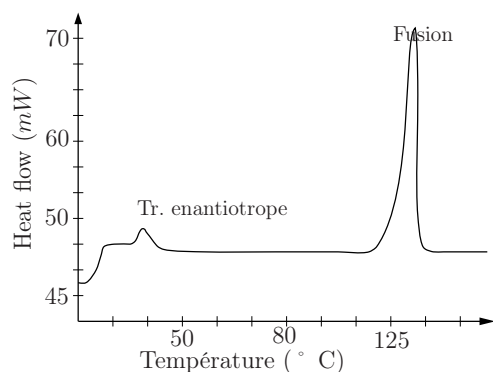


FIG. I.14: Courbes DSC du tolbutamide (pic de transition endothermique énantiotrope et pic de fusion (Giron, 1994)

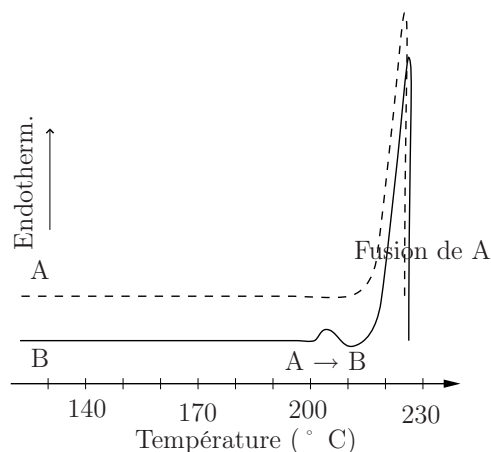


FIG. I.15: Transition énantiotrope de la pénicillamine à l'état solide juste avant le pic de fusion (Giron, 1994)

séparés par un pic exothermique. L'analyse des courbes de TG démontre une forte décomposition lors du premier pic. Le produit formé par cette dégradation recristallise et fond à une température plus élevée.

Type 3 : Chaque forme cristalline présente un pic endothermique et aucune transition entre les formes n'est observée.

Aucune conclusion concernant la stabilité thermodynamique à température ambiante ne peut être émise, à partir d'une seule analyse DSC, pour les types 2 et 3. Des études complémentaires sont nécessaires.

I.3.4.3 Facteurs influençant les courbes de DSC et de TG

Les facteurs influençant les courbes de DSC et de TG ont été responsables d'erreurs d'interprétations importantes, comme le soulignent de nombreux auteurs (Doekler, 1989; Millet et coll., 1985).

I.3.4.3.1 Influence des conditions opératoires

La vitesse de chauffe en DSC et TG mais aussi la masse de l'échantillon ont une influence directe sur la résolution des événements thermiques, et cette influence est très dépendante de l'instrumentation.

Mises à part quelques exceptions (tolbutamide par exemple), la vitesse de chauffe influence fortement, non seulement la cinétique des transitions, mais aussi la résolution des pics. Une vitesse de chauffe rapide permet d'obtenir la fusion de la forme polymorphique dont le point de fusion est le plus faible. Si cette vitesse est trop importante, ne laissant pas le temps à la transition polymorphique d'avoir lieu, un seul pic de fusion correspondant à la forme dont le point de fusion est le plus faible est obtenu. Par exemple, la figure I.16 représente le cas du temazepan (Giron, 1979). A vitesse de chauffe modérée (5 °C/min), deux pics de fusion sont observés : fusion de la forme 1 suivie par la fusion de la forme 2, dont le point de fusion est le plus élevé. Par contre la recristallisation exothermique de forme 2 à partir du fondu de la forme 1 n'apparaît que lorsque la vitesse de chauffe est

faible (1,25 °C/min). La figure I.16 montre aussi l'influence de la masse de l'échantillon. Plus la quantité d'échantillon est faible, meilleure est la résolution des pics et plus les transitions sont rapides.

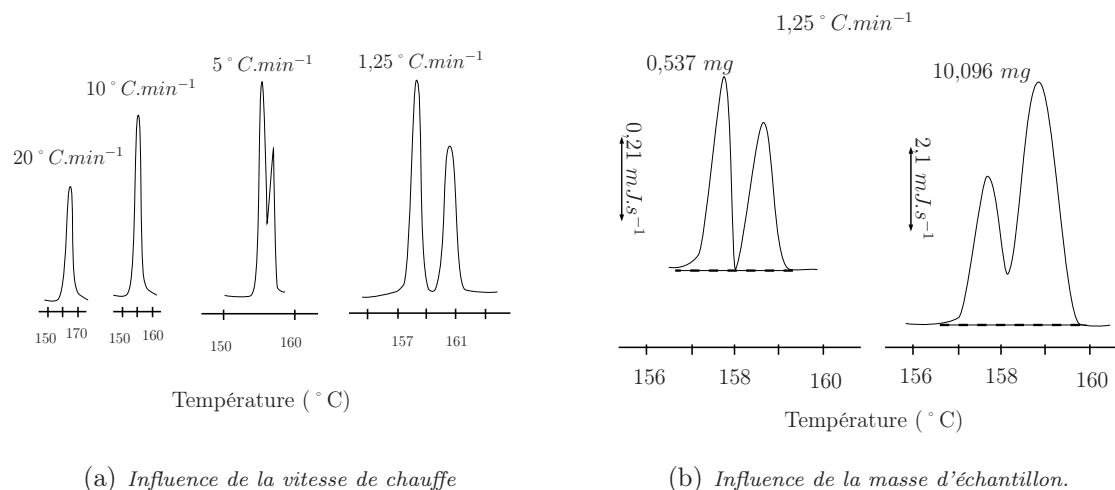


FIG. I.16: Influence des paramètres opératoires sur les courbes DSC d'une forme métastable du temazepan (Giron, 1994).

Il est parfois possible que les transitions solide–solide n'apparaissent pas car l'enthalpie de transition est trop faible. Dans ces cas de figure, la diminution de la vitesse de chauffe entraîne la transformation totale vers la forme polymorphique la plus stable sans que cette transition ne soit détectée sur les courbes de DSC.

I.3.4.3.2 Influence de la qualité de l'échantillon

La taille des particules, la géométrie des cristaux, les impuretés et les nuclei des polymorphes sont les principaux facteurs influençant les cinétiques des transitions de phase.

De manière générale, la présence d'impuretés a tendance à modifier la forme des pics et à diminuer la température de fusion du cristal. Si les pics de fusion sont très proches, la DSC ne permet pas, dans ce cas, d'identifier les différentes formes polymorphiques. Pour distinguer les polymorphes, la thermomicroscopie est ici un outil complémentaire indispensable.

I.3.4.4 Limitations de la DSC

Les limitations de la DSC apparaissent à travers plusieurs exemples. Le mannitol est un excipient souvent utilisé comme additif de cristallisation. Les auteurs ont obtenu quatre formes polymorphiques, et ont identifié trois d'entre elles à partir des données de la bibliographie (DSC, IR, rayons X...). Les courbes de DSC des trois polymorphes sont identiques, et l'analyse de DSC n'est capable de distinguer qu'une seule forme parmi les quatre obtenues (Giron, 1990).

Si les composés étudiés, comme le midodrin hypochloreux (Burger & Ratz, 1990), se décomposent mais ne font pas apparaître de point de fusion, la DSC ne convient pas pour étudier ce type de polymorphisme.

De plus, les analyses DSC réalisées sur des mélanges de polymorphes obtenus en laboratoire peuvent être totalement différentes de celles réalisées sur un mélange obtenu industriellement après stockage. Le plus souvent, à cause des paramètres cinétiques, le thermogramme est mal défini et les pics ne sont pas séparés, rendant l'interprétation des courbes impossible.

I.4 Contrôle et maîtrise du polymorphisme en cristallisation

La cristallisation de composés d'intérêt pharmaceutique est, en général, très compliquée car elle résulte de la compétition de nombreux mécanismes comme la nucléation et la croissance des différentes formes cristallines mais aussi, de la transformation des formes métastables vers les formes stables. C'est pourquoi, pour contrôler le polymorphisme, il est nécessaire de connaître et de comprendre non seulement l'influence des différentes conditions opératoires sur le polymorphisme mais aussi les différents mécanismes élémentaires mis en jeux lors de la cristallisation. Pour réaliser une nucléation sélective il est donc essentiel de connaître les paramètres clés du procédé.

I.4.1 Représentation schématique des facteurs influençant la cristallisation des polymorphes

Un diagramme schématique des facteurs influençant la cristallisation des polymorphes, proposé par Kitamura (Kitamura, 2002), est représenté sur la figure I.17. Cet auteur a identifié deux types de facteurs : les facteurs primaires liés aux polymorphes et au procédé comme la sursaturation, la température, les semences et les facteurs secondaires constitués par les substances externes comme le solvant, les additifs, le pH... La solubilité n'apparaît pas comme un facteur influant. Cependant, la sursaturation de chaque forme, la stabilité relative et le sens des transformations entre polymorphes sont basés sur la connaissance des solubilités.

I.4.2 Les facteurs primaires

I.4.2.1 Température et concentration

Lors des procédés de cristallisation par refroidissement, la température et la concentration varient simultanément et il est très difficile d'étudier ces facteurs indépendamment. Une des possibilités est d'utiliser une méthode de «cristallisation différentielle» . Une faible quantité de cristaux est produite en maintenant la concentration de la solution et la température constante. Cette approche a été mis en œuvre pour la cristallisation d'acides aminés (Kitamura, 2002), et des dérivés du thiazole (Kitamura & Nakamura, 2002). Lorsque les polymorphes cristallisent séparément, la cinétique de nucléation de chaque polymorphe, ainsi que la vitesse relative de nucléation peuvent être déterminées au moyen de l'équation (I.32). De cette manière, à température constante, il est possible de déterminer l'influence

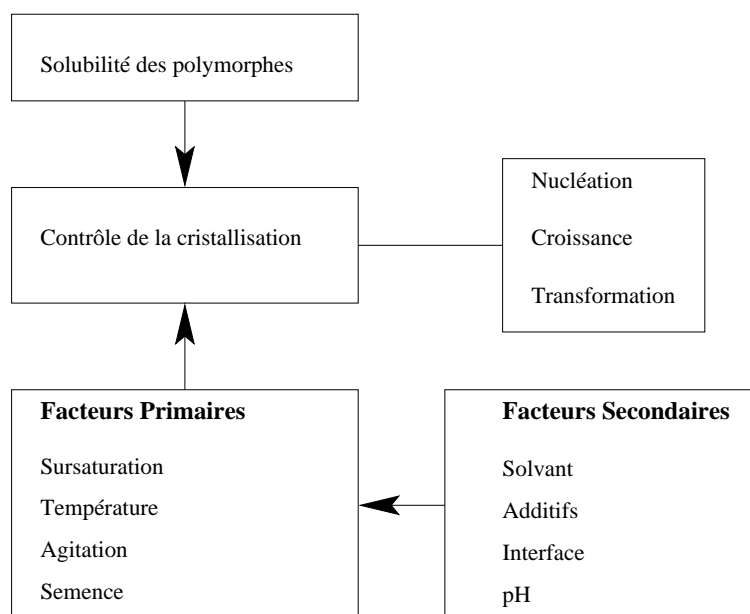


FIG. I.17: Représentation schématique des facteurs influençant la cristallisation des polymorphes (Kitamura, 2002)

du degré de sursaturation sur la nature du polymorphe formé (à condition de connaître toutes les autres grandeurs de l'équation I.32).

Le rôle de la température est plus délicat à étudier. En effet pour des systèmes énantiotropes il est clair qu'elle conditionne directement la cristallisation, en favorisant la formation de la forme stable (Nass, 1991). Pour les polymorphes de conformation, il est possible que la température joue un rôle non négligeable sur la nature des conformères stables en solution. Dans ce cas, la température serait responsable de la formation d'une forme métastable même pour des systèmes monotropes (Berstein, 2002).

Lorsque les cinétiques de transformation le permettent, la maturation est une technique très fiable pour obtenir le polymorphe le plus stable à la température considérée.

I.4.2.2 Ensemencement

L'ensemencement avec la forme souhaitée est l'une des techniques les plus utilisées lors de la cristallisation de polymorphes. Beckmann (Beckmann, 2000b) a développé une stratégie d'ensemencement afin d'obtenir la forme désirée (stable ou métastable). Le choix et la préparation des semences sont des paramètres très importants. En effet, avant toute introduction dans le cristallisateur, il est nécessaire de bien caractériser les semences afin d'être sûr de leur pureté. Dans le cas de l'abecarnil (Beckmann & Otto, 1996; Beckmann, 2000a) la forme métastable devait être cristallisée. La présence de moins de 5% de la forme stable dans les semences provoque la prolifération de cette forme pour en obtenir jusqu'à 50% dans le produit final. La granulométrie des semences doit aussi être contrôlée. En effet, les cristaux doivent présenter des surfaces spécifiques aussi grandes que possible. Cependant, un compromis doit être trouvé car les particules fines ont une forte tendance à l'agglomération ce qui diminue l'efficacité de l'ensemencement. De plus, il est préférable

de réaliser un ensemencement en voie humide afin d'une part d'éviter l'empoisonnement des semences par l'environnement, mais aussi pour des raisons de facilité d'introduction (pompage).

Pour un procédé de cristallisation en solution par refroidissement, il est important de déterminer la température d'introduction des semences. Les semences peuvent être introduites à des niveaux faibles de sous-saturation. Dans ce cas, les semences vont se dissoudre jusqu'à ce que la saturation soit atteinte. Cette dissolution va « activer » les semences comme si elles avaient été introduites en voie humide. Cependant la quantité et la distribution de taille des semences doivent être ajustées en fonction de la vitesse de refroidissement, afin qu'elles ne soient pas toutes dissoutes avant d'atteindre la sursaturation. La limite haute d'ensemencement est déterminée par la largeur de la zone métastable, afin d'éviter la nucléation spontanée.

La détermination du point d'ensemencement nécessite la connaissance préalable des courbes de solubilité et des limites de zones métastables. Les semences sont introduites classiquement entre un état sous saturé proche de la courbe de solubilité et au maximum au quart ou à la moitié de la largeur de la zone métastable. En pratique, la température d'ensemencement est déterminée par introduction progressive des semences au cours du refroidissement et le point d'ensemencement correspond à l'augmentation brutale de la turbidité de la solution. Ces observations sont résumées sur la figure I.18.

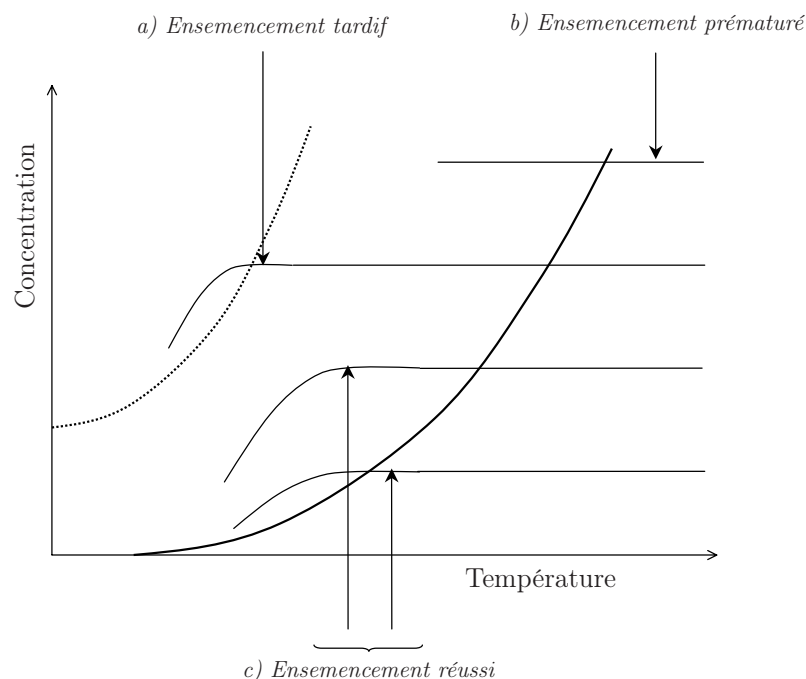


FIG. I.18: Représentation schématique des différentes procédures d'ensemencement. a) Ensemencement tardif : la nucléation spontanée n'est pas évitée. b) Ensemencement prématuré : dissolution des semences. c) Ensemencement réussi : la dissolution des semences ou la nucléation spontanée sont évitées au profit de la nucléation secondaire et de la croissance

I.4.2.3 Vitesse de refroidissement

La vitesse de refroidissement est un facteur qui n'apparaît pas directement dans les critères définis par Kitamura (cf. figure I.17). Cependant, il est très important de contrôler cette grandeur car elle conditionne le niveau de sursaturation et la limite de la zone métastable. Par exemple, si une forme métastable doit être cristallisée, une vitesse élevée de refroidissement doit être utilisée, afin d'éviter toute transformation vers des formes plus stables. Une pratique couramment utilisée pour produire des formes métastables, à l'échelle du laboratoire, consiste à ajouter brutalement un non-solvant froid. Ce refroidissement brutal empêche, pour des raisons cinétiques, la formation de la forme la plus stable. Cependant, il est très difficile de contrôler la taille des cristaux produits par un tel procédé.

En revanche si des cristaux de la forme stable doivent être produits, la meilleure solution consiste à maintenir, au cours de la cristallisation, un niveau de sursaturation toujours inférieur à la solubilité de la forme métastable.

I.4.3 Les facteurs secondaires

Le rôle des facteurs secondaires influençant la cristallisation est plus délicat à déterminer. Le rôle des additifs lors de la cristallisation est très compliqué. Il nécessite une description précise des différentes formes polymorphes, notamment de la vitesse de croissance des faces constituant les différents cristaux. Ces additifs sont en général utilisés pour inhiber la croissance de la forme stable au profit de la forme métastable. Ils sont choisis en connaissant les molécules ou les parties de molécules présentes sur les faces des cristaux. Ces nouvelles interactions additifs-molécules créent de nouvelles surfaces défavorables à la croissance cristalline. Le rôle et le choix du solvant est aussi complexe. En effet, un solvant dans lequel le composé a une solubilité faible aura tendance à orienter la cristallisation vers la forme métastable. Mais pour des raisons économiques, écologiques et de productivité, la cristallisation doit être réalisée dans un solvant résultant d'un compromis entre ces différentes contraintes.

I.5 Conclusion

Dans ce chapitre, les différents aspects du polymorphisme, rencontrés en milieu pharmaceutique ont été présentés. La problématique du polymorphisme occupe une place prépondérante dans chaque étape de la chaîne de fabrication du solide. Il apparaît donc primordial de bien identifier, dans un premier temps, les polymorphes susceptibles d'apparaître ou de disparaître lors de ces différentes étapes, et, dans un deuxième temps, de maîtriser à chaque instant la nature et la quantité des formes présentes.

Étant donnée la complexité chimique des composés organiques synthétisés dans les industries pharmaceutiques, chaque système polymorphe présente son propre «challenge». C'est pourquoi une étape préliminaire de caractérisation est indispensable. L'utilisation conjointe des différentes techniques d'analyse, présentées dans ce chapitre, doit permettre d'appréhender correctement les divers problèmes.

Dans un deuxième temps, une fois le polymorphe à produire est identifié et caractérisé, une étude de stabilité thermodynamique doit être effectuée. Celle-ci permet de déterminer comment les différentes formes polymorphes sont reliées entre elles (énantiotropie ou monotropie) ainsi que leur domaine respectif de stabilité. Cette étape nécessite la connaissance détaillée des diagrammes de phases, réalisés à partir de mesures de calorimétrie ou de solubilité. Toutefois, la description et la compréhension de tels systèmes ne peut se limiter à une étude thermodynamique. Étant donnés les mécanismes mis en jeu (nucléation, croissance, transition de phases...), les aspects cinétiques doivent être pris en considération. Les nombreuses études disponibles dans la littérature mettent en évidence à quel point il est difficile d'obtenir la phase cristalline la plus stable, thermodynamiquement, pour des raisons cinétiques. La connaissance des contraintes cinétiques nécessite la mise en place d'expériences permettant de déterminer l'évolution, au cours du temps, des différentes formes polymorphes lors de la cristallisation, de la mise en forme, et du stockage.

Enfin, une fois que toutes les contraintes liées à la nature des différentes formes cristallines ont été déterminées, le procédé de fabrication des cristaux polymorphes peut être étudié. En s'appuyant sur les considérations précédentes, la mise au point d'un procédé robuste de cristallisation industrielle, nécessite une étude approfondie de l'influence des paramètres du procédé (type de cristallisation, vitesse d'agitation, technique d'ensemencement, création de la sursaturation...) sur la qualité et la quantité des formes polymorphes générées.

L'objectif de la thèse est de traiter la cristallisation par refroidissement de cristaux polymorphes d'intérêt pharmaceutique. Dans un premier temps, il faudra déterminer la nature du polymorphisme afin de pouvoir développer des méthodologies de caractérisation adaptées. Ces outils seront utilisés tout au long de l'étude pour déterminer la stabilité relative des différentes formes polymorphes et pour qualifier et quantifier la nature des cristaux formés.

Dans un deuxième temps, une étude cinétique sur la détermination des zones métastables et des temps d'induction sera réalisée afin de pouvoir mettre en place des stratégies d'ensemencement et de refroidissement optimal.

Enfin, en vue de l'extrapolation du procédé à l'échelle industrielle, il faudra déterminer l'influence des paramètres du procédé sur la nature des polymorphes formés, ainsi que sur la qualité des jus de cristallisation.

Chapitre II

Méthodes de caractérisation des polymorphes de l'éflucimibe

L'athérosclérose, maladie plurifactorielle, est à l'origine de 30 à 50% des décès dans les pays développés (Ribet et coll., 2002). Des taux élevés de LDL - cholestérol représentent un facteur de risque majeur de cette pathologie. L'inhibition de l'enzyme acyl-coenzyme A cholestérol O-acyl-transférase (ACAT) présente un intérêt potentiel pour la découverte de traitements nouveaux ou complémentaires à ceux existants. Cette enzyme est impliquée dans l'absorption intestinale du cholestérol, dans l'assemblage et la sécrétion des VLDLs hépatiques et dans la formation des dépôts de cholestérol estérifié sur la paroi vasculaire.

L'éflucimibe ou (*S*)-2', 3', 5'-triméthyl-4'-hydroxy- α -dodécylthio-phénylacétanilide (figure II.1) est un puissant inhibiteur d'ACAT découvert au Centre de Recherche Pierre - Fabre (Ribet et coll., 2002).

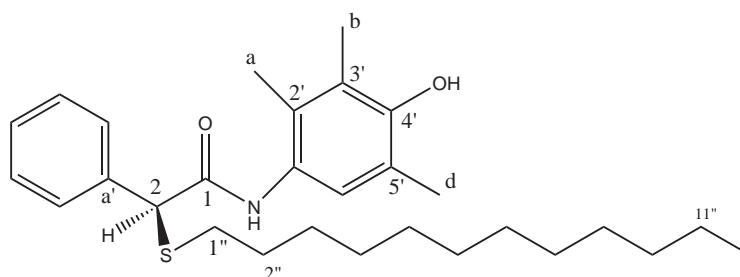


FIG. II.1: Formule développée de l'éflucimibe (la numérotation est utilisée pour faciliter l'attribution des spectres RMN-CPMAS.)

Le polymorphisme cristallin peut affecter les propriétés chimiques, biologiques et pharmaceutiques d'un principe actif, c'est pourquoi il est très important de déterminer les différentes formes polymorphes du solide cristallin. En vue de la cristallisation industrielle des poudres d'éflucimibe, il est aussi très important de mettre au point des méthodes de caractérisation fiables et rapides permettant de suivre la qualité des cristaux formés.

L'objectif de ce chapitre est dans une première partie de caractériser les polymorphes de l'éflucimibe, en mettant en œuvre les techniques décrites au chapitre I. Dans une deuxième

partie, les solubilités des polymorphes identifiés sont déterminées et modélisées dans un système de solvants sélectionné.

La première partie de ce chapitre concerne donc l'utilisation conjointe des techniques de caractérisation telles que la diffraction des rayons X sur poudre (XRPD), l'analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC), la spectroscopie infrarouge, et la résonance magnétique nucléaire en phase solide (RMNS). Ces techniques ont permis de recenser et de décrire le type de polymorphisme rencontré au cours de cette étude ainsi que la nature des transitions observées.

La deuxième partie présente la détermination expérimentale et la modélisation des équilibres de solubilité des différents polymorphes dans divers solvants purs ou binaires. Cette étude permet d'une part de mettre en évidence les relations physico-chimiques entre les différentes phases cristallines et d'autre part de déterminer le meilleur solvant à utiliser lors du dimensionnement du procédé de cristallisation.

II.1 Caractérisation des formes polymorphes

L'éflucimibe a pour formule brute $C_{29}H_{43}NO_2S$ et pour masse moléculaire $469,73 \text{ g.mol}^{-1}$. Tous les échantillons étudiés se présentent sous la forme d'une poudre microcristalline blanche de consistance cireuse. Leur pureté chimique, évaluée par chromatographie en phase liquide haute performance (colonne Symmetry C8 $5\mu\text{m}$, Waters, solvant : $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$, 850/150/0,1) est supérieure à 99 % (p/p). Leur pureté optique, mesurée par chromatographie en phase liquide chirale (colonne Chiralpack AS, Diacel ; solvant : Hexane / Ethanol, 90/10) est supérieure à 99 %.

Des études préliminaires de caractérisation par diffraction de rayons X sur poudres classiques ont permis d'identifier parfaitement à température ambiante deux variétés polymorphes notées A et B. Initialement, de très faibles quantités de formes A et B pures, ont été rigoureusement isolées et préparées au Centre de Recherche Pierre Fabre. Les deux polymorphes ont été ensuite obtenus au laboratoire, de manière reproductible, en quantité plus importantes pour pouvoir les caractériser par différentes techniques. Cette partie présente en détails cette étude de caractérisation.

II.1.1 Diffraction des rayons X sur poudre

II.1.1.1 Protocole expérimental

Les études préliminaires réalisées avec des sources conventionnelles de rayons X n'ont pas permis de conclure sur l'existence d'une phase unique à température ambiante. Étant donné qu'il est impossible de différencier les formes A et B à l'aide d'un rayonnement X conventionnel, l'utilisation du source de rayonnement synchrotron s'est avérée nécessaire pour la poursuite de l'étude. Des échantillons constitués des formes A et B pures, puis d'un mélange des deux formes ont été analysés à l'installation Européenne de Rayonnement Synchrotron (E.S.R.F.), située à Grenoble.

Ces échantillons ont été placés dans des capillaires tournants, ouverts à l'air, en verre borosilicaté de 1 mm de diamètre. Les longueurs d'ondes de $0,515519\text{\AA}$ (pour les formes

pures) ou $0,516610\text{\AA}$ (pour les mélanges) ont été sélectionnées à l'aide d'un double monochromateur Si(111).

Les mesures réalisées à température ambiante, ont été effectuées à l'aide d'un analyseur Ge(111), d'un Scintillateur NaI et d'un Détecteur PMT. Cette combinaison permet l'acquisition des clichés avec une très grande définition angulaire (inférieure à $0,003^\circ 2\theta$). Les données ont été récoltées entre $0,75$ et $20^\circ 2\theta$.

Comme la nature de l'échantillon limite la résolution, les données de diffraction collectées lors de la montée en température ont été obtenues à des résolutions angulaires plus faibles, de l'ordre de $0,02^\circ 2\theta$ (détecteur 2D constitué de fibres optiques couplées avec une caméra CCD). Ce type de combinaison est un bon compromis entre résolution et temps d'acquisition. La gamme d'angle de diffraction balayée varie de $0,7$ à $15^\circ 2\theta$. Chaque échantillon est chauffé de 25 à 135°C par pas de $0,3^\circ\text{C}$. Après chaque pas, le système est laissé à l'équilibre pendant 30 s puis une acquisition de 5 s est réalisée.

II.1.1.2 Résultats obtenus à température ambiante

Parmi tous les échantillons analysés à température ambiante, deux phases, A et B, peuvent être clairement identifiées. Les clichés obtenus lors des études de diffractions de rayons X hautes définitions sont présentés sur la figure II.2 pour la forme A et II.3, pour la forme B.

Il apparaît clairement sur ces clichés que les deux formes diffractent peu, qu'elles présentent des pics plutôt larges et qu'au-delà de $10^\circ 2\theta$, aucun pic de diffraction n'est observée.

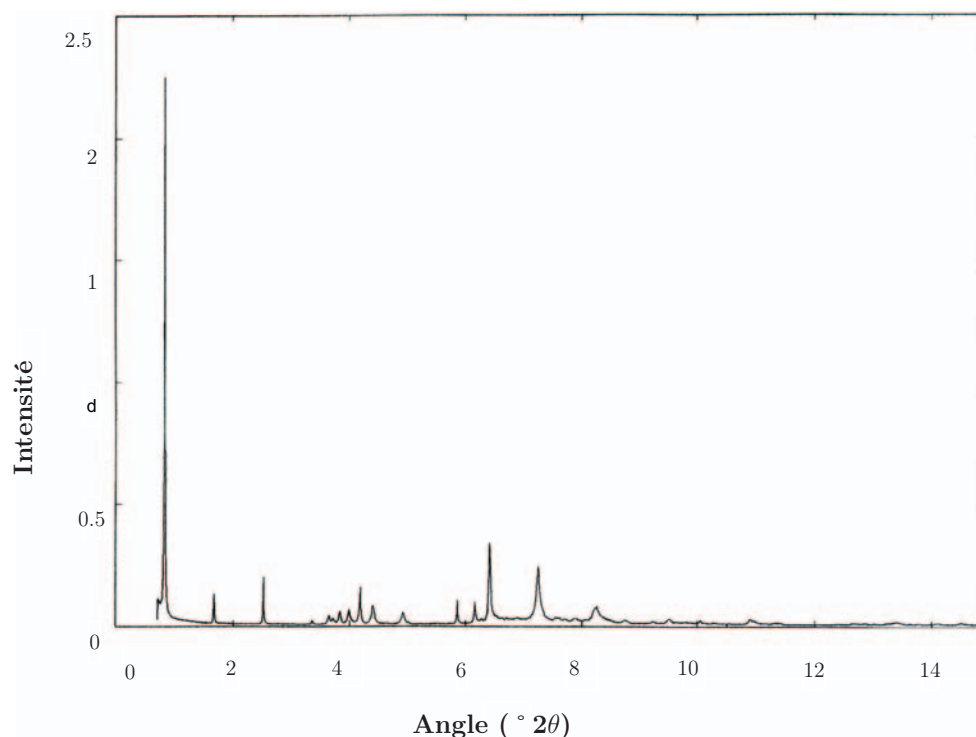


FIG. II.2: Clichés RX sur poudre obtenus pour la forme A pure de l'éflucimibe.

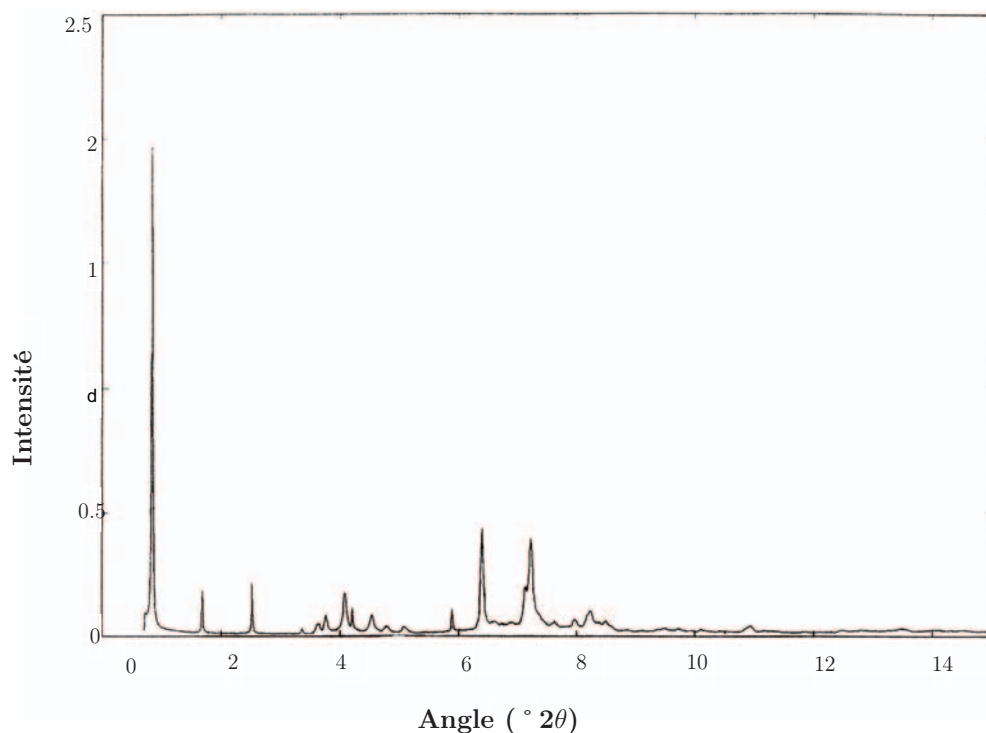


FIG. II.3: Clichés RX sur poudre obtenus pour la forme B pure de l'éflucimibe.

A cause du faible degré de cristallinité des échantillons, il n'a pas été possible d'obtenir la structure cristalline des différentes formes à partir de ces diffractogrammes. Cependant, quelques hypothèses, quant à la structure possible des cristaux, peuvent être avancées.

Les clichés RX montrent des raies de diffraction aux petits angles, dont la périodicité suggère l'existence de phase lamellaire. L'utilisation de la loi de Bragg donne :

- $k = 1$ pour $d_{cr} = 35.3\text{Å}$,
- $k = 2$ pour $d_{cr} = 17.6\text{Å}$,
- $k = 3$ pour $d_{cr} = 11.75\text{Å}$,

Ces trois raies (notées 00L) ne résultent donc que de la contribution d'un seul plan cristallin. En outre, leur finesse indique un grand degré d'ordre selon une direction parallèle à l'axe principal de la molécule. Ceci est en accord avec la forme allongée de la molécule. La première pic de diffraction observée pour les deux formes à $0,84^\circ 2\theta$ correspond à une distance réticulaire d'environ 35Å . Cette valeur indique la présence de deux chaînes aliphatiques entre deux plans réticulaires de la maille cristalline. De plus, les premiers pics, non 00L, apparaissant à des distances plus faibles ($d < 8,2\text{Å}$), suggèrent que les autres paramètres de maille sont beaucoup plus petits. Une schématisation de l'arrangement des molécules au sein de la maille cristalline est proposée sur la figure II.4.

Des essais ont été réalisés pour estimer la composition d'un mélange des formes A et B. Cependant, comme la structure cristalline de chacune des formes reste inconnue, la méthode permettant d'accéder à la composition du mélange est basée sur un grand nombre d'hypothèses et ne peut donc être quantitative. En effet sur quelques essais réalisés, il apparaît clairement que l'utilisation des rayons X sur poudre surestime largement la

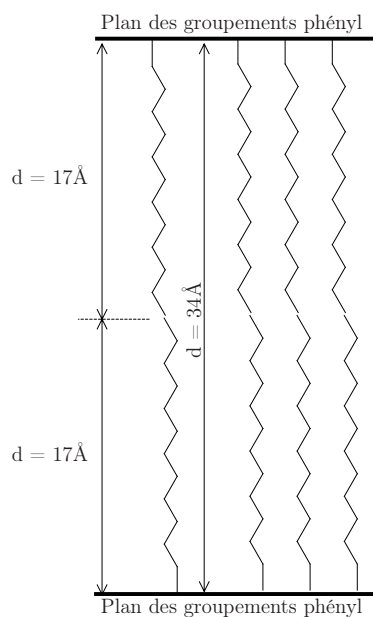


FIG. II.4: Représentation schématique de la maille cristalline des cristaux d'éflucimibe.

quantité de forme A présente dans le mélange. Cependant, elle peut être mise en œuvre pour estimer rapidement la quantité minimale de forme B présente dans l'échantillon.

Enfin, en comparant les diffractogrammes de poudre des deux variétés de polymorphe, il semble que les pics de la forme B soient plus larges que ceux de la forme A. Par conséquent, la forme B présenterait un désordre plus important que la forme A et pourrait être, alors, la forme métastable à température ambiante. En outre, il est possible de relier la taille des cristallites et la largeur des pics de diffraction par la formule de Scherrer :

$$L_{pic} = \frac{k\lambda}{\Delta} d \cos(\theta) \quad (\text{II.1})$$

où k est un facteur de forme qui vaut 1 ou 0,9 (selon la forme supposée du cristallite), d le diamètre du cristallite, et λ la longueur d'onde des rayons X. D'après cette équation, les résultats obtenus par microscopie électronique à balayage, présentés sur les photographies de la figure II.12), sont qualitativement en accord avec les clichés RX : les cristallites de la forme B sont plus petits que ceux de la forme A.

II.1.1.3 Influence de la température

II.1.1.3.1 Étude de la forme A

L'examen des diffractogrammes de poudre obtenus de 25 °C à 130 °C pour la forme A (figure II.5) fait apparaître un changement de phase cristalline à environ 110 °C, indiquant une modification des paramètres de la maille cristalline à cette température.

D'autres transitions sont observées entre 75 et 105 °C mais elles sont plus délicates à interpréter. Elles seraient dues à des modifications successives de la structure lamellaire par expansion thermique, suivant l'axe principal de la maille cristalline. Ce comportement peut être mis en évidence en suivant le devenir du pic de diffraction à $2,58^\circ 2\theta$ (pic 003),

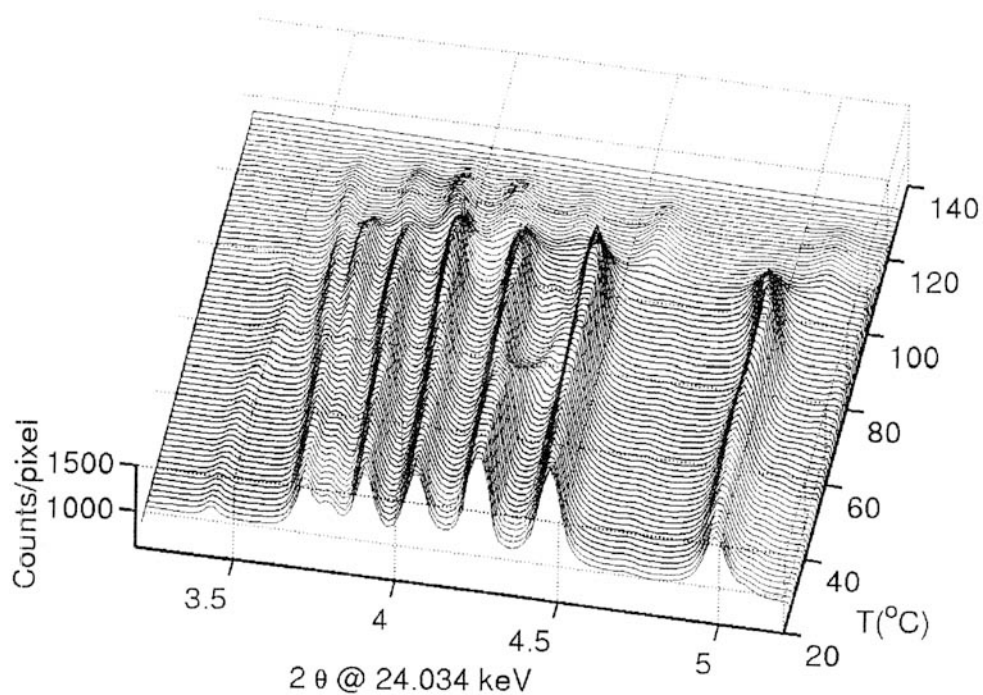


FIG. II.5: Clichés RX sur poudre en fonction de la température pour la forme A pure de l'éflucimibe.

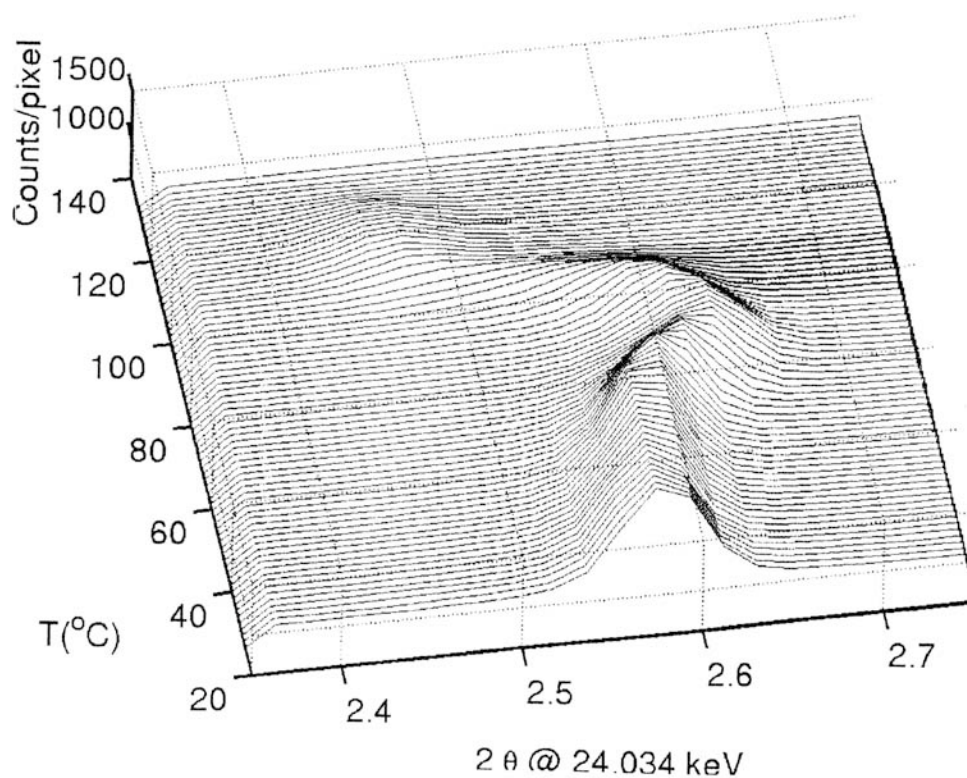


FIG. II.6: Évolution du pic de diffraction obtenue à 2,58 ° 2θ (pic 003) pour la forme A pure en fonction de la température

au cours de la montée en température représenté sur la figure II.6. Sur la figure II.6, deux autres singularités peuvent être remarquées. En effet, deux changements de pente peuvent être observés vers 34°C et 118°C . Ces changements de pente pourraient être attribués à un changement de conformation de la molécule (modification d'élément de symétrie) dans le réseau cristallin. Enfin, pour la variété A, la fusion intervient vers 130°C .

II.1.1.3.2 Étude de la forme B

L'évolution des clichés RX avec la température pour le polymorphe B est présentée sur la figure II.7. Les clichés RX obtenus sont plus faciles à interpréter ; ils font apparaître deux transitions de phase (transitions du 1^{er} ordre) vers 80 puis 110°C . La fusion de la forme B intervient aux alentours de 130°C . Aucun autre évènement thermique n'est détecté sur ce diagramme. Quelles que soient les formes étudiées, le comportement lors du chauffage

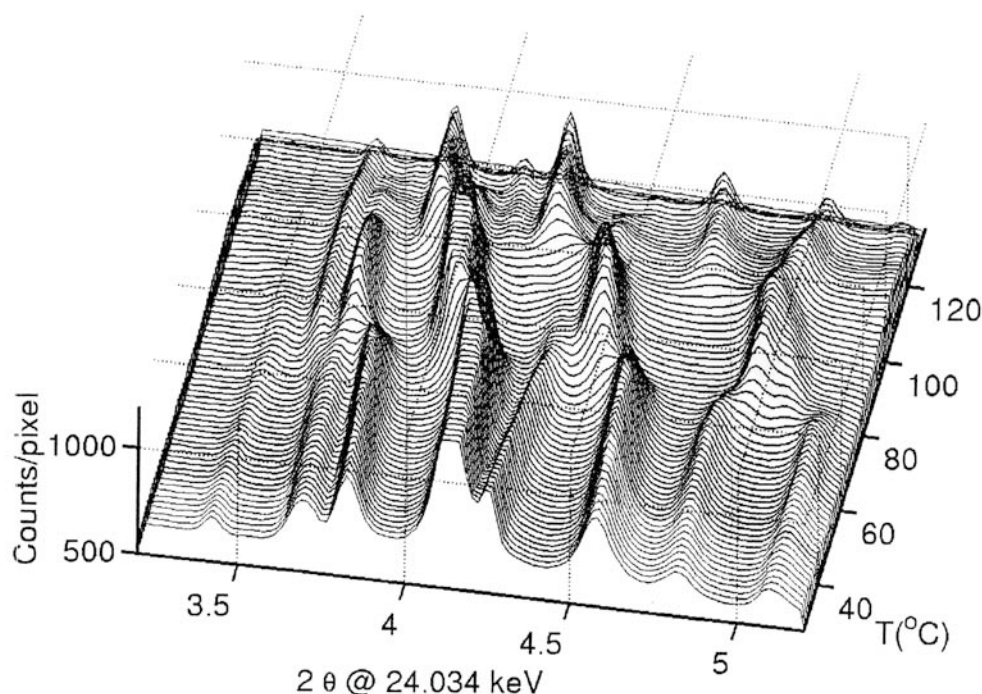


FIG. II.7: Clichés RX sur poudre en fonction de la température pour la forme B pure de l'éflucimibe.

est parfaitement reproductible.

II.1.1.3.3 Discussion : comparaison des clichés RX des deux formes

En comparant les clichés RX obtenus en fonction de la température pour les polymorphes A et B, il apparaît clairement qu'aucune transition de phase entre les polymorphes A et B n'est observée. En outre, étant donnée la nature des transitions obtenues ainsi que la présence de phase lamellaire dans les deux polymorphes, il est probable qu'une différence de conformation soit à l'origine des différences de structure cristalline entre les formes A et B.

II.1.2 Analyses Thermiques

II.1.2.1 Thermogravimétrie

L'analyse thermogravimétrique, utilisée pour déterminer le domaine de stabilité de l'éflucimibe, a été réalisée à l'aide d'une thermobalance Dupont 2000 (TA instruments). Les échantillons ($m \approx 10\text{mg}$) sont disposés sur une nacelle de platine maintenue sous balayage d'azote. Le domaine de température exploré est compris entre 30 et 450 °C à une vitesse de chauffe de 5 °C.min⁻¹. Tous les échantillons étudiés ne montrent aucune perte de masse pour des températures inférieures à 150 °C. Sous atmosphère d'azote, la décomposition de la substance fondue apparaît vers 200 °C. Ces résultats montrent d'une part que les différentes formes polymorphes ne sont pas dues à la présence de solvates et d'autre part que les poudres d'éflucimibe peuvent être étudiées par DSC.

II.1.2.2 Calorimétrie Différentielle à Balayage - DSC

II.1.2.2.1 Protocole expérimental de mesure

Si les différentes variétés polymorphes de l'éflucimibe ont été identifiées et caractérisées par diffraction de rayons X haute définition, cette méthode reste lourde à mettre en œuvre. Il est donc intéressant de disposer d'une technique plus simple et plus rapide pour qualifier les produits issus du procédé de cristallisation. La DSC (calorimétrie différentielle à balayage), méthode thermique, permet d'atteindre cet objectif. Cependant, la mise au point d'une méthodologie de caractérisation, via la DSC, nécessite des expériences préliminaires permettant de vérifier que les événements thermiques observés en DSC (transitions de phases, ordre de ces transitions, et fusion) sont en accord avec ceux obtenus lors des mesures de diffraction de rayons X sur poudre.

Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un appareil DSC 2920 de TA instrument. Une des caractéristiques remarquables de cet appareil est d'atteindre, à l'aide d'un module complémentaire (RCA), des températures extrêmement basses (de l'ordre de -60 °C). Ceci permet d'une part de s'assurer de la congélation totale de l'échantillon (et éventuellement du solvant résiduel) et d'autre part de détecter des transitions de phase bien en dessous de la température ambiante.

Différents essais préliminaires ont conduit au protocole suivant : les profils thermiques sont enregistrés de -40 à 140 °C à la vitesse de 5 °C.min⁻¹. 2 à 4 mg d'échantillon sont pesés dans une nacelle d'aluminium sertie. Ce creuset est ensuite placé dans un four balayé par un flux d'azote à un débit d'environ 20 ml.min⁻¹. Des cycles de refroidissement - chauffage, sans atteindre la fusion, ont également été mis en œuvre pour vérifier la réversibilité des événements thermiques observés.

II.1.2.2.2 Résultats et discussion

Forme A

Le profil thermique obtenu pour la forme A est représenté sur la figure II.8. Le thermogramme présente au moins cinq endothermes entre 30 et 140 °C. L'endotherme compris entre 75 et 105 °C est complexe et peut se décomposer en plusieurs événements thermiques

successifs. L'étude aux rayons X suggère que cet événement serait dû à des modifications de la structure lamellaire avec la température (expansion thermique).

Les cycles de refroidissement - chauffage mis en œuvre ont mis en évidence que la transition de phase observée vers 35 °C est totalement réversible et pratiquement instantanée. C'est pourquoi, au cours de cette étude, seule la forme A1 (forme stable en dessous de 35 °C) sera considérée comme la forme stable de la variété polymorphe A.

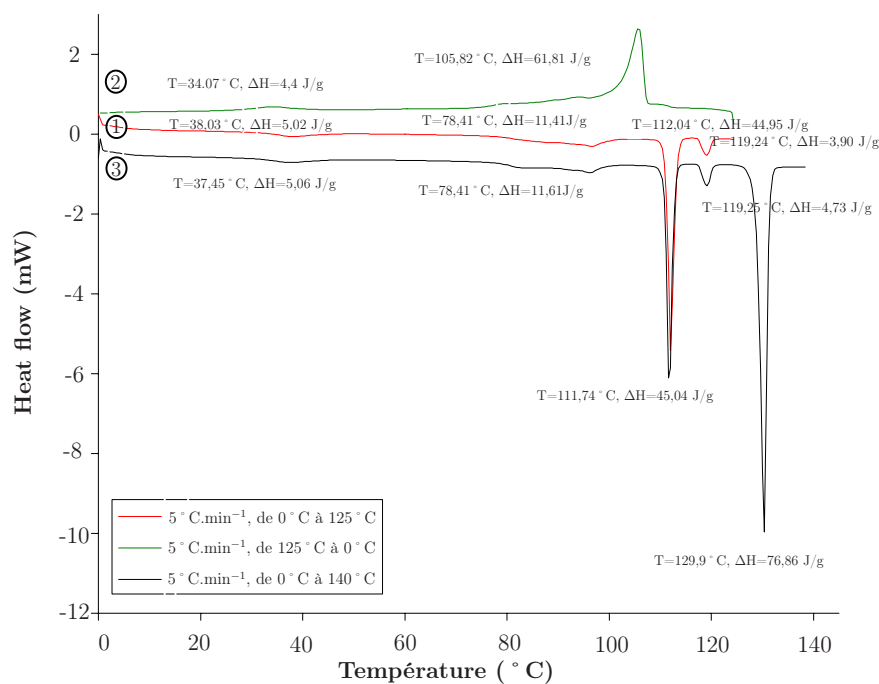


FIG. II.8: Profils thermiques de la forme polymorphe A obtenus par DSC. 1-Première montée en température (pas de fusion), 2-Refroidissement, 3-Deuxième montée en température jusqu'à la fusion

Forme B

Le profil thermique obtenu pour la forme B montre entre 30 et 140 °C trois endothermes (cf. figure II.9). Dans ce cas aussi, les cycles de refroidissement – chauffage ont permis de mettre en évidence la réversibilité totale des événements thermiques.

Toutes les transitions observées aux rayons X sur poudres en fonction de la température ont été également observées en DSC.

Discussion

Les résultats obtenus pour les formes A et B pures montrent que les points de fusion des deux polymorphes sont impossibles à discerner, l'analyse thermique ne permet donc pas de conclure sur la stabilité relative des deux polymorphes en terme d'énantiotropie et de monotropie. Cependant, elle peut fournir quelques informations sur la stabilité des deux formes. En effet, après la fusion, le refroidissement contrôlé du fondu (de 5 à 20 °C.min⁻¹) conduit le plus souvent à un mélange des variétés cristallines A et B. En revanche, un refroidissement très brutal, conduit toujours à la formation de la forme B. Ce résultat suggère, d'après la loi d'Ostwald, que la forme B est la forme métastable.

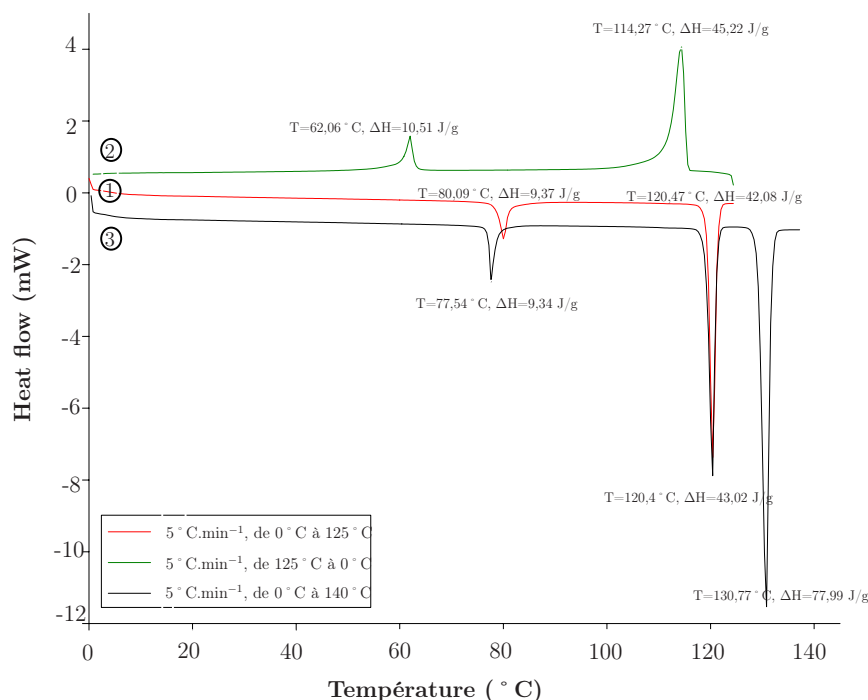


FIG. II.9: Profils thermiques de la forme polymorphe B obtenus par DSC. 1-Première montée en température (pas de fusion), 2-Refroidissement, 3-Deuxième montée en température jusqu'à la fusion

Comme les résultats obtenus en diffraction de rayons X sur poudre haute définition et en DSC sont en parfait accord et comme les thermogrammes des deux polymorphes diffèrent de manière significative (au moins deux pics différents), cette méthode peut être utilisée pour caractériser les poudres obtenues par cristallisation. Cependant, comme les points de fusion des variétés polymorphes sont identiques, la détermination des quantités relatives des deux formes n'est possible qu'en considérant les pics caractéristiques des transitions à 34 °C et 112 °C obtenus pour la forme A. Pour des mélanges de cristaux, la quantité de chaque forme peut influencer de manière non négligeable l'allure des profils thermiques (Giron, 1994). En outre, l'aire de ces pics dépend aussi du mode d'obtention du mélange, de la granulométrie... Cette méthode est donc au mieux semi-quantitative : elle permet d'identifier si les cristaux obtenus sont des formes A ou B pures ou s'il s'agit d'un mélange.

La composition en polymorphes des poudres cristallisées est évaluée à partir des pics caractéristiques de la forme A à 35 °C et 112 °C, par la relation :

$$w_A = \frac{1}{2} \frac{A_{fus}^{ref}}{A_{fus}} \left(\frac{A_{110}}{A_{110}^{ref}} + \frac{A_{35}}{A_{35}^{ref}} \right) \quad (II.2)$$

où A_{fus} , A_{110} , A_{35} représentent respectivement les aires des pics de fusion et ceux des transitions observées pour la forme A vers 112 et 35 °C.

Pour illustrer cette approche, des mélanges physiques de poudres, préparés à partir des formes A et B pures, ont été analysés en DSC. Le tableau II.1 montre les résultats obtenus pour quelques essais.

TAB. II.1: Caractérisation de mélanges physiques de poudres de A et B pur par DSC

Échantillon	Prélèvement	w _A (mélange initial)	w _A (obtenu par DSC)
1	1	0,81	0,72
	2	0,81	0,91
2	1	0,33	0,21
	2	0,33	0,15
3	1	0,5	0,59
	2	0,5	0,38

Ces résultats montrent que d'une part, la reproductibilité des mesures est mauvaise, et d'autre part que les résultats obtenus sont, d'un point de vue quantitatif, assez loin de la réalité. En effet, la réalisation de mélanges physiques de poudres, est très difficile (problème d'homogénéité, de granulométrie...) et cette méthode ne permet pas de mettre en œuvre une procédure d'étalonnage de la DSC pour améliorer cette technique de caractérisation.

Par conséquent, nous retiendrons cette méthode pour comparer des échantillons entre eux et pour déterminer une composition relative en forme A et B dans les poudres obtenues lors des expériences de cristallisation. Les informations obtenues seront du type : forme pure (A ou B) ou mélange riche en A ou B.

II.1.3 Méthodes spectroscopiques

Ces études ont été réalisées au Centre de Recherche Pierre Fabre à Castres (Ribet et coll., 2002).

II.1.3.1 Spectroscopie infrarouge

Les spectres IR sont enregistrés à température ambiante sur un spectromètre NICOLET 510 P. Les échantillons ont été finement broyés et mélangés en présence de bromure de potassium. Les spectres sont enregistrés de 4000 à 400 cm⁻¹ avec une résolution de 2 cm⁻¹.

Les deux formes polymorphes présentent des spectres très voisins dans le domaine de l'IR moyen (cf. figure II.10). Pour des raisons de lisibilité, le spectre IR a été divisé en deux parties : la figure II.10(a) donne les spectres de A et B dans la zone 3700–2700cm⁻¹, et la figure II.10(b) dans le domaine 1700 – 650cm⁻¹.

Sur la figure II.10(a), l'examen de la zone spectrale comprise entre 2700 et 3700 cm⁻¹ fait clairement apparaître la présence de liaisons hydrogène intermoléculaires. La vibration de valence du groupe OH qui s'étale de 3500 à 3350 cm⁻¹ est révélatrice de l'association entre plusieurs molécules. En effet, si seulement deux molécules étaient impliquées dans cette association, les liaisons hydrogènes intermoléculaires conduiraient à des bandes d'absorption beaucoup plus fines. La localisation de la vibration de valence du groupe NH entre 3300 et 3200 cm⁻¹ est due aussi à la présence de liaisons hydrogène dans lesquelles le groupement amide est impliqué. En solution chloroformique diluée, le spectre IR des deux variétés polymorphes met en évidence trois bandes d'absorptions à 3610, 3410, 3340 cm⁻¹.

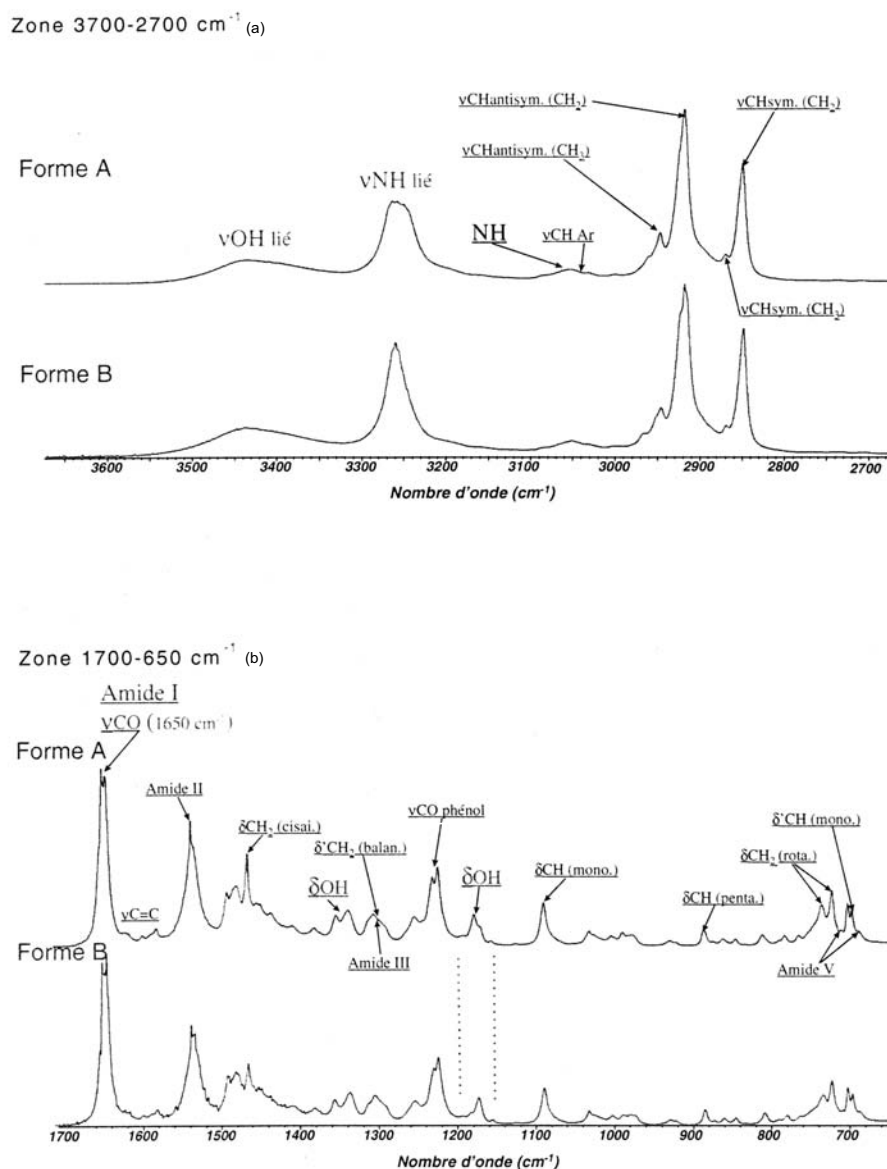


FIG. II.10: Spectres infrarouges obtenus en réflexion diffuse pour les formes A et B de l'éflocimibe

La bande d'absorption à 3610 cm^{-1} est caractéristique du groupe OH libre alors que les autres sont dues aux vibrations du groupe NH.

L'interprétation du spectre a été facilitée par deutérisation des atomes d'hydrogène labiles. Grâce à cet échange, isotopique, les vibrations de déformation du groupe OH sont attribuées à 1178 et 1350 cm^{-1} (figure II.10(b)); la fréquence de ces bandes est influencée par le type de liaisons H dans lesquelles le groupe OH est engagé. En outre, après deutérisation, il est possible d'associer d'une part, le mode de vibration NH à la bande de très faible intensité située à 3080 cm^{-1} , et d'autre part de localiser la vibration amide II et amide III à 1540 et 1300 cm^{-1} respectivement. Ces observations confirment le caractère NH prédominant des bandes d'absorption.

Entre les deux variétés polymorphes, une différence significative de la fréquence de vibration de la bande de déformation du groupe OH est observée. Ceci est en faveur de

liaisons intermoléculaires différentes, qui proviennent de la différence de structure entre les deux polymorphes.

II.1.3.2 Spectroscopie RMN en phase solide

Les spectres RMN CP/MAS ont été enregistrés à la fréquence nominale de 125,7 MHz sur un spectromètre DMX 500 équipé d'une sonde de mesure Doty XC5 doublement accordée sur les noyaux ^1H et ^{13}C . L'analyse est réalisée sur un échantillon soumis à une rotation à l'angle magique de $54^\circ 44''$ et une fréquence de $8 \text{ kHz} \pm 1 \text{ Hz}$. Le transfert de polarisation est obtenu en utilisant un temps de contact de $500 \mu\text{s}$. Les spectres sont enregistrés à 25°C . Les spectres obtenus pour les deux formes polymorphes sont représentés sur la figure II.11.

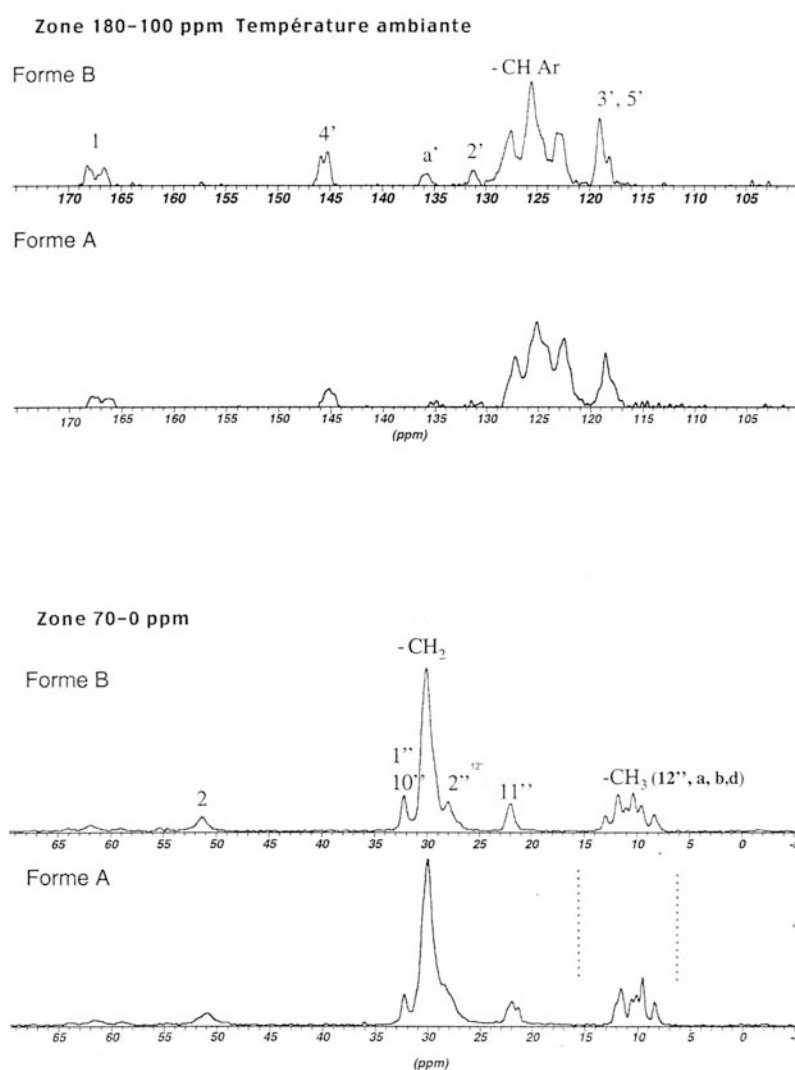


FIG. II.11: Spectres RMN ^{13}C en phase solide pour les formes A et B de l'éflucimibe, obtenus à 125,72 MHz.

Leur forte ressemblance suggère des organisations cristallines voisines. L'attribution des raies du spectre RMN en phase solide est basée sur la comparaison avec l'étude RMN haute

résolution réalisée en milieu liquide dans le diméthylsulfoxyde. Les noyaux ^{13}C qui résonnent à 168 ppm (C-1), 146 ppm (C-4') et 22ppm (C-11'') sont dédoublés, ce qui indique la présence de deux ou quatre molécules dans une unité asymétrique de la maille cristalline. Les déplacements des groupes méthyliques entre 15 et 5 ppm sont différents entre les deux formes. Une conformation différente du cycle aromatique qui les porte, expliquerait cette différence de résonance. Ceci est en accord avec les différents modes de liaisons hydrogène observés pour chaque polymorphe par spectrométrie IR, dans lesquels le groupement OH est impliqué.

Ces résultats sont en faveur d'un polymorphisme conformationnel entre les formes A et B, lié à une différence de conformation du cycle phénolique.

II.1.4 Microscopie Electronique à Balayage

Des études complémentaires de caractérisation ont été réalisées notamment au microscope électronique à balayage. Dans tous les cas étudiés, les deux formes cristallines de l'éflucimibe présentent des faciès aciculaires (aiguilles - cf. figure II.12) . Cet outil ne se révèle donc pas d'une grande aide pour discriminer les polymorphes. En revanche, ces visualisations permettent de mettre en évidence l'organisation des cristaux. Il est à prévoir que les étapes de cristallisation et de filtration seront influencées par cet arrangement.

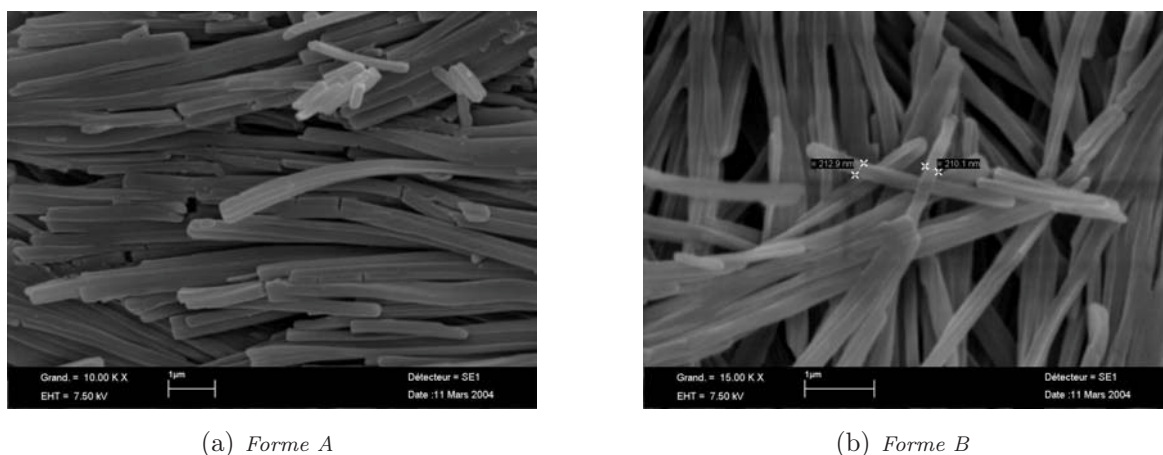


FIG. II.12: Photographie réalisées au microscope électronique à balayage des formes A et B de l'éflucimibe.

II.2 Détermination des diagrammes de phases des polymorphes

II.2.1 Etudes préliminaires

A l'issue de l'étude du polymorphisme de l'éflucimibe, deux formes polymorphes, respectivement notées A et B sont apparues. Bien que les techniques de caractérisation n'aient pas permis de déterminer les paramètres de maille de ces deux formes cristallines, deux résultats importants sont à noter. Tout d'abord, il semblerait que compte tenu de la forme

de la molécule d'éflucimibe (longue chaîne aliphatique), le polymorphisme observé est un polymorphisme de conformation. D'autre part, la forme B serait la forme métastable.

L'apparition de ces deux formes A ou B lors du procédé de cristallisation dépend en partie du solvant dans lequel l'éflucimibe est dissous.

Afin de déterminer le meilleur solvant de cristallisation, une série de tests préliminaires de solubilisation ont été réalisés par les laboratoires Pierre Fabre. Les principaux résultats obtenus à 20 ° C sont présentés dans le tableau II.2.

TAB. II.2: *Étude préliminaire de solubilité de l'éflucimibe dans différents solvants à 20 ° C*

Solvants testés	Solubilité en <i>mg/ml</i>
Diméthylformamide	220
Diméthylsulfoxyde	212
Tétrahydrofurane	180
Chloroforme	80
Ethanol absolu	7,2
Propan-2-ol	5,1
Isopropanol	3,4
Méthanol	3,3
Ethanol 95	2,9
Acétonitrile	0,9
n-heptane	0,01
n-hexane	0,01
eau	« 0,001

Parmi les solvants présentant peu de risque pour l'organisme et donc autorisés par la pharmacopée européenne, l'éthanol absolu est celui dans lequel la solubilité de l'éflucimibe est la plus grande. D'autre part les solvants de type n-heptane, eau, n-hexane peuvent être utilisés comme antisolvant. Pour la suite de l'étude, les solvants de cristallisation choisis sont l'éthanol et le n-heptane.

La cristallisation en solution de principe actif, présentant le phénomène de polymorphisme, nécessite la connaissance très précise des données de solubilité dans tout le domaine de température exploité par le procédé (Beckman et coll., 1984). C'est pourquoi une étude détaillée sur la détermination des diagrammes de phases des polymorphes de l'éflucimibe a été réalisée dans des solvants purs respectivement l'éthanol et le n-heptane, puis dans des mélanges de ces deux solvants.

II.2.2 Détermination expérimentale des solubilités

II.2.2.1 Protocole expérimental

Les solubilités dans les solvants purs ou des mélanges de solvants ont été déterminées suivant une procédure classique décrite par Mullin (Mullin, 2001).

Les solvants utilisés, lors de cette étude ont une pureté chimique supérieure à 99,9% (Qualité Normapur). Six solutions agitées, contenant un excès de solide, sont maintenues à température constante ($\pm 0,1$ °C) à pression atmosphérique pendant 24H, jusqu'à ce que l'équilibre thermodynamique soit atteint (3H dans notre cas). Les solutions saturées et le solide en excès, placées dans des erlenmeyers de 50 ml sont plongées dans un bain thermostaté. Afin de minimiser les pertes de solvant par évaporation et d'éviter toute surpression, chaque erlenmeyer est surmonté d'une colonne réfrigérante à pointe de Vigreux. L'agitation est assurée par des barreaux aimantés tournant à vitesse constante. La température du bain est maintenue constante à l'aide d'un thermoplongeur, d'un groupe de froid et d'une unité de régulation. La température de chaque solution est suivie par un thermomètre (Sonde Pt 100) plongé dans une solution témoin contenant le solvant dans lequel la solubilité est déterminée.

Au bout de 24 heures, l'agitation est arrêtée pour permettre la décantation du solide en excès. La solution surnageante est ensuite récupérée à l'aide d'une seringue munie d'un filtre de 13 mm de diamètre et de 45 μm de porosité (filtre millipore Millex hydrophobe 0,45 μm) puis pesée. Tout le matériel de filtration (seringues, aiguilles, filtres) a été préalablement placé dans une étuve stabilisée à la température de l'essai. Lors de la pesée, pour minimiser les évaporations de solvant, les capsules de verre dans lesquelles sont injectées les échantillons sont hermétiquement fermées.

Pour éviter toute cristallisation, le surnageant est dilué dans du tétrahydrofurane (THF) puis analysé par Chromatographie Liquide Haute Précision (HPLC Merck, Lachrom, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$).

La phase solide en excès est récupérée, séchée 14 heures à 50 °C puis analysée par DSC afin de déterminer la nature et l'abondance relative des variétés polymorphes.

Les solubilités ont été déterminées pour une gamme de températures comprise entre 20 et 55 °C. La température maximale des essais est déterminée par le point d'ébullition du mélange de solvants (65 °C pour le mélange éthanol – n-heptane).

II.2.2.2 Solubilité dans les solvants purs

Les valeurs expérimentales obtenues pour les solvants purs sont données dans le tableau II.3. L'analyse des phases solides récupérées ne montre pas de conversion de la forme A en en forme B et réciproquement pendant la mesure. Par ailleurs, la transition de phase observée vers 35 °C pour la variété polymorphe A n'est pas décelable sur le diagramme de solubilité. Les phases solides associées à cette transition présenteraient des solubilités très proches.

Chaque résultat présenté dans ce tableau est une moyenne d'au moins deux essais identiques. Les écarts obtenus (de l'ordre de 5%) sont non négligeables et sont dus principalement à l'évaporation du solvant au cours de la manipulation mais aussi à l'erreur systématique liée à la méthode de dosage par HPLC (dilution, courbe d'étalonnage...).

Ce tableau montre que la solubilité des deux formes augmente avec la température. De plus, il semblerait que la forme B, plus soluble que la forme A dans l'intervalle de température considéré, soit la forme thermodynamiquement instable.

TAB. II.3: Solubilités C^* ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ des formes A et B de l'éflucimibe dans l'éthanol pur et le n-heptane pur pour différentes températures.

éthanol	T (K)	C^* ($\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{solution}}^{-1}$)	
		Forme A	Forme B
	293,15	$5,732 \pm 0,2$	$5,854 \pm 0,3$
	298,15	$8,412 \pm 0,2$	$8,004 \pm 0,2$
	303,15	$10,497 \pm 0,2$	$11,439 \pm 0,3$
	308,15	$14,786 \pm 0,4$	$16,243 \pm 0,3$
	310,15	$16,929 \pm 0,7$	$18,656 \pm 0,4$
	313,15	$20,701 \pm 1$	$22,921 \pm 0,5$
	318,15	$29,748 \pm 2$	$32,669 \pm 0,7$
	323,15	$43,615 \pm 2$	$46,398 \pm 0,9$
	327,15	$54,725 \pm 4$	$61,439 \pm 1$
	328,15	$57,741 \pm 3$	$65,908 \pm 2$
n-heptane			
	293,15	$0,044 \pm 0,007$	$0,045 \pm 0,008$
	298,15	$0,086 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,01$
	303,15	$0,128 \pm 0,01$	$0,164 \pm 0,01$
	308,15	$0,193 \pm 0,014$	$0,212 \pm 0,02$
	313,15	$0,375 \pm 0,06$	$0,410 \pm 0,07$
	318,15	$0,604 \pm 0,1$	$0,623 \pm 0,07$
	323,15	$1,016 \pm 0,08$	$1,088 \pm 0,09$
	327,15	$1,751 \pm 0,2$	$1,794 \pm 0,1$
	328,15	$1,643 \pm 0,1$	$1,93 \pm 0,1$

Pour les essais réalisés dans l'éthanol absolu, il a été possible de réaliser un diagramme donnant la variation du logarithme de la solubilité en fonction de l'inverse de la température, présenté sur la figure II.13. Ces résultats montrent que les courbes de solubilité se croisent à une température inférieure à 0°C et en dessous de cette température, la forme B deviendrait la forme stable. Cependant, étant donnée la faible différence de solubilité des deux formes et l'incertitude des mesures, il apparaît difficile, à partir de cette approche, de déterminer des grandeurs thermodynamiques classiques pour les polymorphes, telles que la température et l'enthalpie de transition de la forme A vers la forme B.

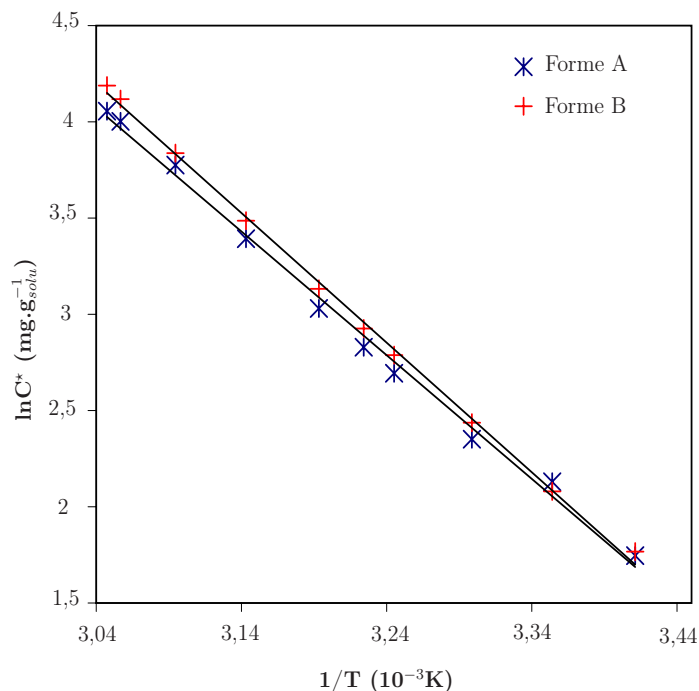


FIG. II.13: Variation du logarithme de la solubilité en fonction de l'inverse de la température pour les polymorphes A et B dans l'éthanol pur.

II.2.2.3 Solubilité dans les mélanges de solvants

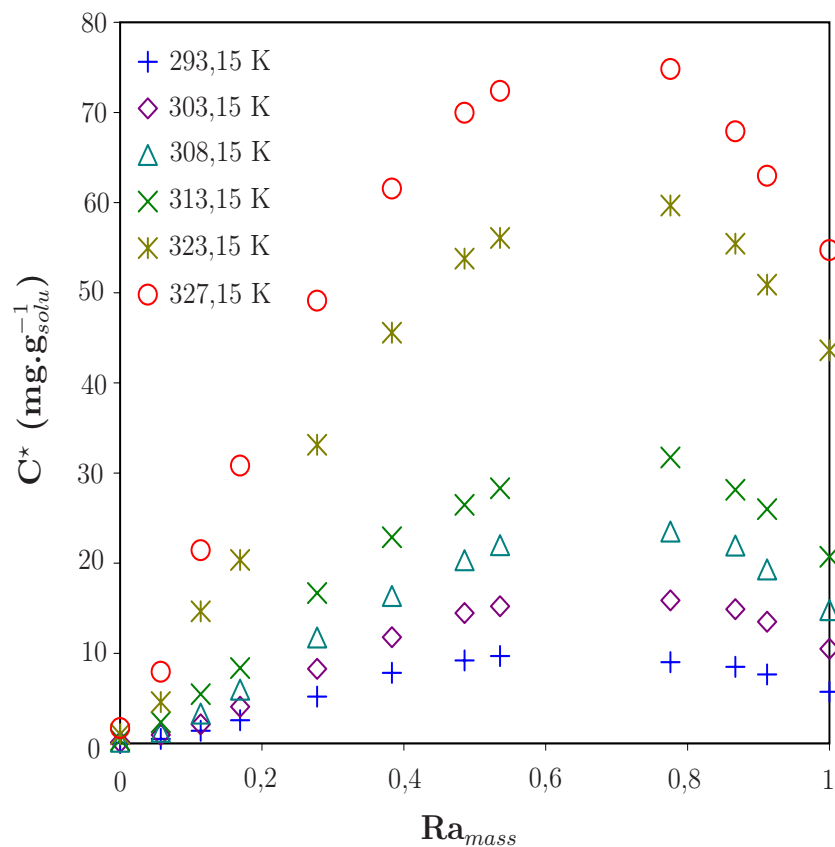
II.2.2.3.1 Détermination expérimentale des solubilités

La procédure classique de détermination des solubilités et le dispositif expérimental, précédemment décrits, ont également été utilisés pour déterminer les solubilités de l'éflucimibe pour différents mélanges d'éthanol et de n-heptane. La composition du solvant est définie de la manière suivante :

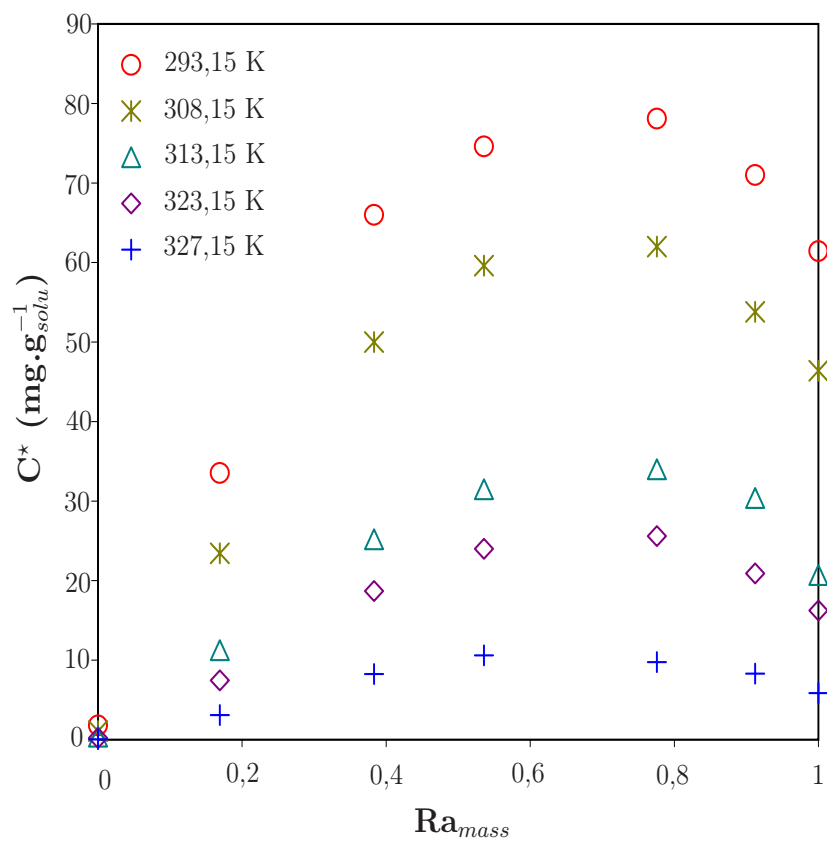
$$Ra_{mass} = \frac{m_{EtOH}}{m_{EtOH} + m_{n-hept}} \quad (\text{II.3})$$

Ra_{mass} correspond à la fraction massique d'éthanol dans le mélange éthanol – n-heptane.

Ces expériences ont été réalisées à six températures pour la forme A et cinq températures pour la forme B. La gamme de température étudiée correspond à celle utilisée lors du procédé de cristallisation. Les résultats obtenus pour différentes valeurs de Ra_{mass} sont présentés sur les figures II.14(a) et II.14(b) et dans le tableau II.4 .



(a) Forme A



(b) Forme B

FIG. II.14: Diagramme ternaire de solubilité des formes A (a) et B (b) dans les mélanges de solvants éthanol - n-heptane.

TAB. II.4: Résultats des mesures de solubilités des formes A et B dans les mélanges de solvants éthanol – n-heptane pour différentes températures.

Ra_{mass}	Solubilité, C^* (mg/ $g_{solution}$)					
	293,15 K	303,15 K	308,15 K	313,15 K	323,15 K	327,15 K
Forme A						
0,912	7,66 ±0,5	13,50 ±0,6	19,30 ±0,8	26,00 ±1	50,89 ±1	62,97 ±1,2
0,867	8,50 ±0,3	14,90 ±1	21,95 ±2	28,14 ±2	55,44 ±2	67,90
0,776	9,01 ±0,2	15,87 ±0,8	23,50	31,73 ±2	59,67 ±1	74,82 ±3
0,536	9,70 ±0,4	15,21 ±0,6	22,00 ±0,8	28,31 ±2	56,07 ±1	72,39 ±2
0,486	9,20	14,47 ±0,7	20,33 ±0,9	26,48 ±1	53,79 ±1	69,96 ±2
0,383	7,83 ±0,9	11,78 ±0,9	16,36 ±0,5	22,87 ±0,8	45,56 ±1	61,55 ±1
0,278	5,20 ±0,7	8,28 ±0,3	11,76 ±0,2	16,68 ±1	33,14 ±0,6	49,11 ±0,9
0,169	2,58 ±0,1	4,07 ±0,05	5,97 ±0,1	8,37 ±0,6	20,36 ±1	30,82 ±1
0,114	1,41 ±0,05	2,12 ±0,05	3,31 ±0,1	5,47 ±0,3	14,65 ±0,9	21,44 ±0,9
0,057	0,50 ±0,04	0,95 ±0,07	1,30 ±0,02	2,36 ±0,04	4,59 ±0,8	7,95 ±0,7
Forme B						
0,912	8,31 ±0,3	-	20,90 ±0,6	30,40 ±1±1	53,80 ±1	71,10±2
0,776	9,76	-	25,63 ±0,7	34,08 ±1	62,13 ±2	78,13 ±3
0,536	10,60	-	24,13 ±0,6	31,12	59,60	74,64
0,383	8,25 ±0,4	-	18,71 ±0,9	25,21 ±1	50,23 ±0,7	66,32 ±1
0,169	3,10 ±0,005	-	7,46 ±0,1	11,25 ±0,3	23,44	33,53±1

Ces résultats montrent que quelque soit la forme A ou B, les courbes de solubilité passent par un maximum pour un rapport massique d'éthanol, Ra_{mass} , compris entre 0,6 et 0,8 pour toute la plage de température étudiée.

De plus, quelle que soit la composition du solvant, la solubilité de la forme B est toujours supérieure à celle de la forme A. Il semblerait toutefois, que sur un diagramme $\ln(C^*) = f(1/T)$, les courbes se croisent à une température inférieure à 0 ° C.

II.2.2.3.2 Discussion

Le maximum de solubilité observé lors des expériences de solubilité traduit la non idéalité du mélange et l'écart de la courbe de solubilité à la droite, représentant la loi d'additivité obtenue pour un mélange idéal, augmente avec la température. Ce comportement peut s'expliquer en examinant les propriétés du mélange éthanol – n-heptane.

D'un point de vue thermodynamique, le mélange éthanol – n-heptane est miscible en toute proportion quelle que soit la température. Les variations de l'enthalpie libre d'excès (équation II.4) et de l'enthalpie libre du mélange (équation II.5) éthanol – n-heptane à 25 ° C (Christensen et coll., 1984), dont les expressions sont rappelées ci-dessous, sont représentées sur la figure II.15.

$$\frac{g^E}{RT} = \sum_i x_i \ln \gamma_i \quad (\text{II.4})$$

$$\frac{\Delta_{mix}g}{RT} = \sum x_i \ln x_i + \frac{g^E}{RT} \quad (\text{II.5})$$

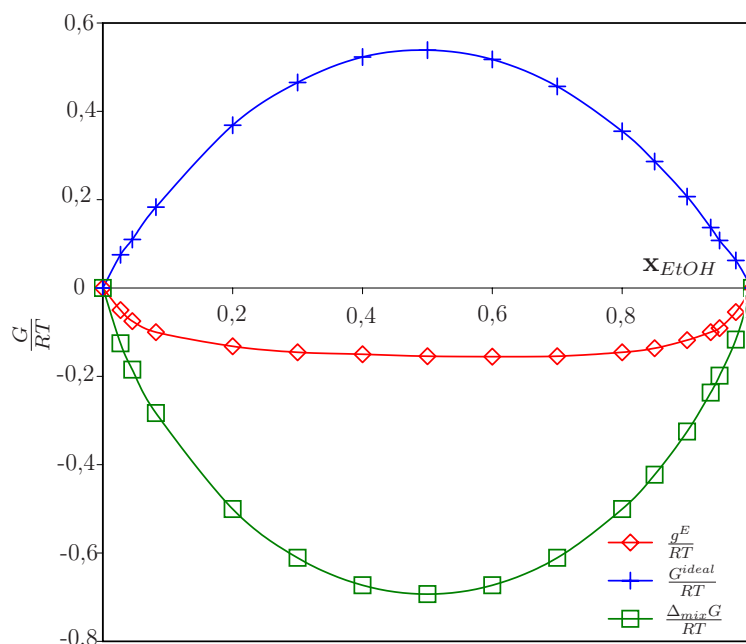


FIG. II.15: Diagramme d'enthalpie libre pour le mélange éthanol – n-heptane à 25°C en fonction de la fraction molaire d'éthanol.

La mauvaise affinité entre les molécules présentes en solution provoque une augmentation de l'enthalpie libre d'excès du mélange par rapport à la loi de Raoult. Il en résulte des coefficients d'activité supérieurs à 1 et une enthalpie libre d'excès positive. Ceci se traduit par une nette augmentation de l'enthalpie libre du mélange. Dans ce cas, les molécules d'éthanol ont tendance à s'associer entre elles par la formation d'un réseau de liaisons hydrogène. Le minimum d'enthalpie libre du mélange se situe aux alentours de $x_{EtOH} = 0,65$ (point azéotrope) et correspond au mélange le plus favorable entre les deux espèces.

En considérant les fractions molaires de chaque constituant dans le mélange ternaire éthanol – n-heptane – éflucimibe, il apparaît clairement que le maximum de solubilité est proche du minimum d'enthalpie libre du mélange de solvants. En effet, l'introduction de molécules d'heptane dans le binaire éthanol – éflucimibe doit permettre de briser le réseau de liaisons hydrogène entre molécules d'éthanol en favorisant la formation de liaison hydrogène éthanol – éflucimibe. Cependant, à cause de la présence de molécules d'éflucimibe, le comportement du mélange binaire (ethanol – n-heptane) n'est pas parfaitement superposable au comportement du mélange ternaire. Ce décalage montre que les interactions de type polaires ne sont pas les seules à l'origine du maximum de solubilité (gène stérique, interactions dipôle-dipôle, répulsions électrostatiques...); ces interactions sont difficilement qualifiables et quantifiables.

Ce maximum de solubilité aurait pu être aussi prédit en utilisant les paramètres de solubilité. Ces paramètres ont été initialement utilisés pour la prédiction de la solubilité dans les industries de fabrication de peinture, d'encre et de plastique. Leur application dans l'industrie pharmaceutique pour prédire l'activité d'un principe actif est beaucoup

plus récente (Barra, 1999; Hancock et coll., 1997). En utilisant la théorie de Scachard - Hildebrant (eq I.3), et en connaissant les paramètres de solubilités des solvants et du soluté, il est possible de prédire la composition optimale du mélange de solvants (composition pour laquelle la solubilité est maximale). Dans la littérature, un grand nombre de paramètres de solubilité est disponible pour les solvants organiques, (Barton, 1991), notamment pour l'éthanol et le n-heptane. En revanche, pour les solides, peu de publications font référence à la détermination expérimentale des paramètres de solubilité. Comme la détermination expérimentale des paramètres de solubilité des solides est assez complexe (Barra, 1999), les méthodes de contribution de groupes de Hoy (Hoy, 1970) et van Krevelen (Van Krevelen, 1990) sont fréquemment utilisées. Pour des principes actifs, leur précision est de l'ordre de 10% (Verheyen et coll., 2001), ce qui est suffisant pour prédire approximativement le comportement du mélange de solvant vis-à-vis du soluté (maximum de solubilité par exemple). Les paramètres de solubilité obtenus pour les solvants et le soluté sont donnés dans le tableau II.5. A partir de l'équation I.5, le maximum de solubilité se situe autour de $x_{EtOH} = 0,65 - 0,7$. On retrouve donc la valeur du maximum obtenue expérimentalement.

TAB. II.5: Paramètres de solubilité de l'eflucimibe, l'éthanol et le n-heptane

Composé	Source	$\delta(\text{J}^{1/2}.\text{cm}^{-3/2})$
Eflucimibe	<i>Van Krevelen (Van Krevelen, 1990)</i>	20,03
	<i>Hoy et al. (Hoy, 1970)</i>	20,20
EtOH	<i>Exp. (Barton, 1991)</i>	26,60
n-heptane	<i>Exp. (Barton, 1991)</i>	14,85

II.2.3 Modélisation des courbes de solubilité

II.2.3.1 Calcul des coefficients d'activité

II.2.3.1.1 Choix du modèle

Le système ethanol – n-heptane – éflucimibe est fortement non idéal, notamment à cause des interactions polaires solvant-soluté. Par conséquent, la description rigoureuse des équilibres liquide-solide pour un tel mélange passe par la détermination des coefficients d'activité des espèces en solution.

Ces coefficients sont généralement déterminés à partir de l'enthalpie libre d'excès par la relation (Prausnitz et coll., 1998) :

$$\left(\frac{\partial n_i g^E}{\partial n_i} \right) = RT \ln \gamma_i \quad (\text{II.6})$$

Deux types d'approches sont couramment utilisées pour la détermination de g^E . La première est basée sur l'utilisation de modèles semi-empirique de type UNIQUAC, Wilson et NRTL. Pour les mélanges binaires, ces modèles ne font qu'interpoler les données existantes afin d'avoir accès aux différents coefficients d'activité. En revanche, si les paramètres d'interaction binaire sont connus, ils peuvent être utilisés pour la prédiction des équilibres multicomposants.

La deuxième approche est basée sur des méthodes de contribution de groupe qui déterminent les coefficients d'activité à partir de la structure moléculaire des constituants du mélange. Les interactions entre molécules sont traitées comme la somme des interactions entre groupes constituant les différentes molécules. La formule chimique développée de chaque constituant doit être connue afin de décomposer ces derniers en différents groupements fonctionnels. Les contributions de groupe peuvent être alors évaluées par les modèles ASOG et UNIFAC dans le cas des équilibres liquide-gaz et seulement par UNIFAC dans le cas des équilibres liquide-liquide et liquide-solide (Danner & Daubert, 1983). Les paramètres de contribution de groupe sont fonction de l'équilibre considéré (liquide-liquide ou gaz-liquide) du fait des hypothèses faites dans les modèles.

La méthode prédictive UNIFAC n'a pas pu être utilisée dans le cas de l'efflucimibe. En effet, d'une part les données concernant les groupement -S-, -CONH-, n'existent pas dans la littérature (Gmehling, 1995) et d'autre part, la méthode UNIFAC ne donne pas des résultats satisfaisants pour des solutés polaires (Gracin et coll., 2001).

Par ailleurs, les calculs des solubilités et des coefficients d'activité des polymorphes ne peuvent être basés uniquement sur la structure des molécules en solution comme le ferait une méthode de contribution de groupe «pure» telle que UNIFAC. En effet, la prédiction, ou la régression des équilibres liquide-solide pour des systèmes polymorphes doit tenir compte de la différence de solubilité induite par la différence de structures cristallines. Cette «faiblesse» du modèle UNIFAC vient du fait qu'il a été établi pour la prédiction des équilibres liquide - vapeur ou liquide - liquide dans lesquels l'organisation de la matière a très peu d'influence.

Par conséquent, les méthodes semi-empiriques semblent être les mieux adaptées pour ce problème. Deux méthodes ont été testées : UNIQUAC et Wilson. Cependant, le modèle de Wilson a été abandonné. En effet, les paramètres d'interaction binaire entre l'efflucimibe et le n-heptane n'ont pu être déterminés car les solubilités sont trop faibles et les coefficients d'activité trop élevés.

II.2.3.1.2 Le modèle UNIQUAC

Le modèle UNIQUAC (UNIversal QUAsi Chemical theory) décrit l'enthalpie libre d'excès comme la somme de deux termes : un terme de contribution entropique (ou combinatoire) qui tient compte de la taille et de la forme des molécules dans le mélange, et un terme de contribution enthalpique (ou résiduelle) qui décrit les forces d'interaction intermoléculaires. La distinction entre ces deux contributions est nécessaire car la non idéalité d'une phase liquide, induite par la taille et la forme des molécules ne peut être seulement associée à des interactions énergétiques. Les équations du modèle sont (Prausnitz et coll., 1998) :

$$\frac{g^E}{RT} = \frac{g_{Co}^E}{RT} + \frac{g_{Re}^E}{RT} \quad (\text{II.7})$$

ou

$$\ln \gamma_i = \ln \gamma_i^{Co} + \ln \gamma_i^{Re} \quad (\text{II.8})$$

avec :

$$\ln \gamma_i^{\text{Co}} = \ln \frac{\phi_i}{x_i} + \frac{z}{2} q_i \ln \frac{\theta_i}{\phi_i} + l_i - \frac{\phi_i}{x_i} \sum_j x_j l_j \quad (\text{II.9})$$

et

$$\ln \gamma_i^{\text{Re}} = q_i \left[1 - \ln \left(\sum_j \theta_j \tau_{ji} \right) - \sum_j \frac{\theta_j \tau_{ij}}{\theta_k \tau_{kj}} \right] \quad (\text{II.10})$$

z est le nombre de coordination égal à 10 dans le modèle UNIQUAC, et l_i est un paramètre relatif au constituant i donné par l'expression suivante :

$$l_i = \frac{z}{2} (r_i - q_i) - (r_i - 1) \quad (\text{II.11})$$

La taille et la forme des molécules sont prises en compte respectivement dans le terme de fraction volumique moléculaire ϕ_i et dans le terme de fraction surfacique moléculaire θ_i pour chaque composant i . Ils ont été définis par Flory et Huggins par les équations (Prausnitz et coll., 1998) :

$$\phi_i = \frac{r_i x_i}{\sum_j x_j r_j} \quad (\text{II.12})$$

$$\theta_i = \frac{q_i x_i}{\sum_j x_j q_j} \quad (\text{II.13})$$

Les paramètres r_i et q_i sont liés à la structure de la molécule. Ils sont obtenus à partir de la somme des paramètres de surface, R^k , et de volume, Q^k , de chaque groupement fonctionnel de la molécule :

$$r_i = \sum_k \nu_k^i R_k \text{ et } q_i = \sum_k \nu_k^i Q_k \quad (\text{II.14})$$

où ν_k^i est le nombre de groupements fonctionnels de type k dans la molécule i . Les paramètres R_k et Q_k sont obtenus à partir des volumes V_k et des surfaces A_k de van der Waals (Bondi, 1964) :

$$R_k = \frac{V_k}{15.17} \quad (\text{II.15})$$

$$Q_k = \frac{A_k}{2.9 \cdot 10^9} \quad (\text{II.16})$$

Dans ces équations, les facteurs de normalisation, 15, 17 et $2,5 \cdot 10^9$ préconisés par Abrams et Prausnitz (Prausnitz, 1981) sont définis comme étant le volume et l'aire d'un groupe CH_2 dans une molécule de polyéthylène. Ils permettent de ramener les paramètres R_k et Q_k à des valeurs proches de 1 si le groupe en question est semblable par sa structure à ce groupe de référence (Achard, 1992).

Les paramètres d'interactions binaires, τ_{ij} , interviennent uniquement dans le terme de contribution enthalpique du modèle UNIQUAC (equation II.10). Suivant les recommandations de Holerbaum and Gmehling (Gmehling, 1995), ils sont souvent dépendants de la température et doivent être introduits de la manière suivante :

$$\tau_{ij} = \exp \left(- \frac{u_{ij} - u_{ii}}{RT} \right) \quad (\text{II.17})$$

$$u_{ij} - u_{ii} = \Delta u_{ij} = a_{ij} + b_{ij} T + c_{ij} T^2 \quad (\text{II.18})$$

où a , b , c et u sont les paramètres du modèles UNIQUAC.

Dans le cas des polymorphes, comme la molécule initialement dissoute est la même, ce sont uniquement les paramètres d'interaction binaire qui vont changer d'une forme à l'autre.

II.2.3.2 Modélisation des équilibres binaires Liquide-Solide

L'utilisation du modèle UNIQUAC pour prédire les solubilités dans un mélange de solvants nécessite la détermination préalable des paramètres structuraux (r_k , q_k) et énergétiques (τ_{ij}) du modèle.

II.2.3.2.1 Détermination des paramètres r_k et q_k

Comme certains groupements fonctionnels (-S- et -CHONH- par exemple), ne sont pas répertoriés dans la littérature, ils ont été décomposés en groupes indépendants et les valeurs des paramètres r_k et q_k ont été calculées à partir des surfaces et des volumes de Van der Waals. La décomposition UNIQUAC des molécules de solvants et de soluté est présentée dans le tableau II.6.

TAB. II.6: Décomposition UNIQUAC de l'éflucimibe, l'éthanol et le n-heptane

Groupement	Eflucimibe		Ethanol		n-Heptane	
	$\nu_k R_k$	$\nu_k Q_k$	$\nu_k R_k$	$\nu_k Q_k$	$\nu_k R_k$	$\nu_k Q_k$
ACH	3,1878	2,4	0	0	0	0
ACCH	0,8121	0,348	0	0	0	0
ACCH ₃	3,7989	2,904	0	0	0	0
ACOH	0,8952	0,68	0	0	0	0
CH ₂	7,4184	5,94	0	0	3,372	2,7
CH ₃	0,9011	0,848	1,2044	1,124	1,8022	1,696
-CONHAC	1,6546	1,068	0	0	0	0
-S-	0,7118	0,52	0	0	0	0
CH ₂ OH	0	0	0,9011	0,848	0	0
Total	19,3799	14,708	2,1055	1,972	5,1742	4,396

A cause de la taille et de la forme de la molécule de soluté les valeurs des paramètres r_k et q_k sont plus élevées que celles obtenues pour les autres molécules.

II.2.3.2.2 Détermination des paramètres d'interaction binaire

Pour le système binaire éthanol – n-heptane, les paramètres d'interaction binaire, établis à partir des équilibres liquide-vapeur, ont été relevés dans la banque de données du logiciel Prophy (Prosim S.A.).

En revanche, comme les paramètres d'interaction des binaires éthanol – éflucimibe et n-heptane – éflucimibe ne sont pas répertoriés dans les tables, ils ont été estimés à partir des équilibres liquide-solide correspondants. La régression de ces coefficients a été réalisée par minimisation des écarts relatifs entre les coefficients d'activité expérimentaux et ceux calculés pour le soluté et le solvant. Ce calcul est réalisé à partir de la méthode Nelder-Mead Simplex à l'aide du logiciel MATLAB. Les paramètres d'interaction binaire ainsi obtenus

TAB. II.7: Paramètres d'interaction binaire du modèle *UNIQUAC* pour les systèmes éflucimibe – éthanol, éflucimibe – n-heptane et éthanol – n-heptane

Composés binaires		$\Delta u_{ij} = a_{ij} + b_{ij}T + c_{ij}T^2$		
i	j	a_{ij}	b_{ij}	c_{ij}
Eflucimibe (A)	Ethanol	-103,3166	-19,5994	0,0892
Eflucimibe (B)	Ethanol	-103,3010	-19,5159	0,0892
Eflucimibe (A)	n-heptane	-1,1898	13,4349	-0,0461
Eflucimibe (B)	n-heptane	-1,1898	13,4507	-0,0463
Ethanol	Eflucimibe (A)	-39416,0309	122,0524	0,1124
Ethanol	Eflucimibe (B)	-39227,9027	122,5310	0,1125
n-heptane	Eflucimibe (A)	3729,3367	-10,9842	-0,0155
n-heptane	Eflucimibe (B)	3713,4210	-11,0232	-0,0155
Ethanol	n-heptane	-466,0634	-0,0318	0,0021
n-heptane	Ethanol	4247,8271	-0,0259	0,0134

sont regroupés dans le tableau II.7. Leur connaissance permet de prédire les concentrations à l'équilibre de l'éflucimibe dans le mélange éthanol – n-heptane. En outre, cette prédiction permet de tester la validité et la robustesse du modèle.

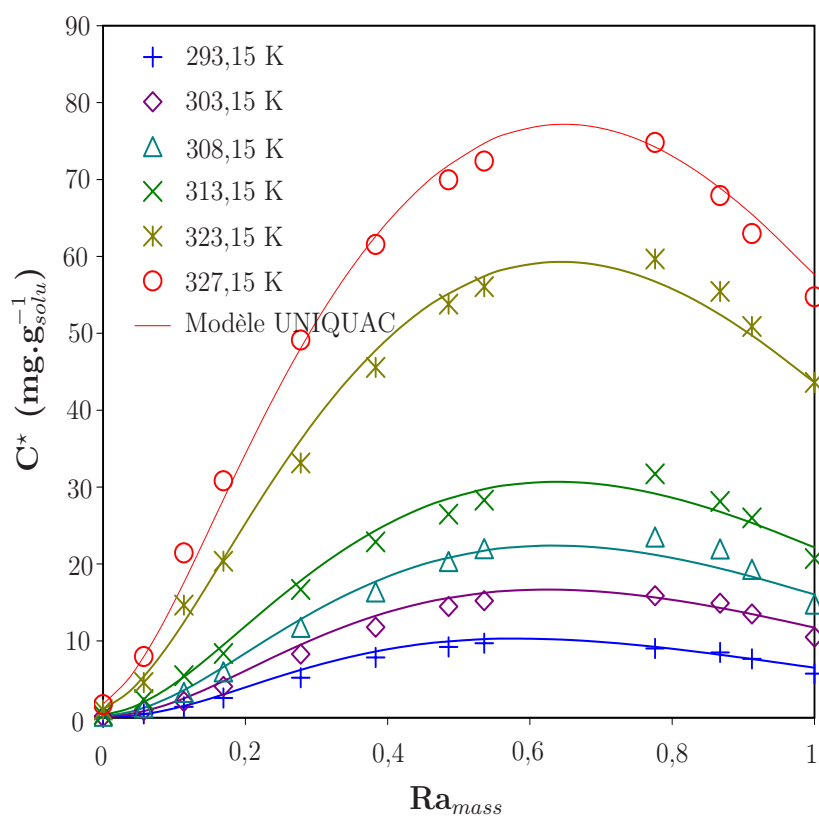
II.2.3.3 Test du modèle - Prédiction des équilibres ternaires

Les résultats obtenus pour la modélisation des solubilités des formes A et B (binaires et ternaires) sont présentés sur les figures II.16(a) et II.16(b).

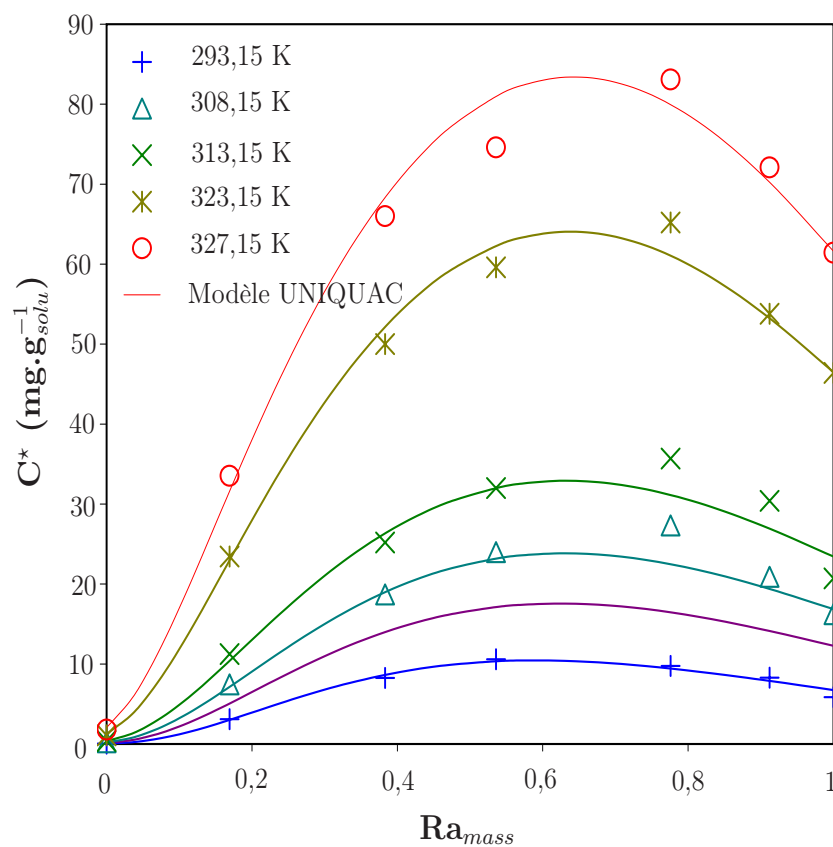
Pour analyser la qualité du modèle, un coefficient de régression P^2 a été défini de la manière suivante :

$$P^2 = 1 - \frac{\sum_n (w_{\text{exp}} - w_{\text{calc}})^2}{\sum_n (w_{\text{exp}} - w_m)^2} \quad (\text{II.19})$$

où w_{exp} et w_{cal} représentent respectivement les fractions massiques expérimentales et calculées, et w_m , la fraction massique moyenne pour une série expérimentale donnée. Les valeurs obtenues pour ce coefficient ainsi que les erreurs relatives entre l'expérience et le modèle sont données dans le tableau II.8.



(a) Forme A



(b) Forme B

FIG. II.16: Représentation des équilibres liquide – solide : éflucimibe – éthanol – *n*-heptane par le modèle UNIQUAC. Les symboles correspondent aux points expérimentaux et la ligne continue au modèle

TAB. II.8: Coefficient de régression et erreur relative du modèle UNIQUAC pour la prédiction des équilibres liquide–solide des formes A et B de l'éflucimibe

Série	% Ecart relatif		P^2	
	A	B	A	B
293,15	8,5%	6,2%	0,97	0,98
303,15	9,3%	-	0,97	-
308,15	6,7%	10,1%	0,97	0,98
313,15	7,1%	7,3%	0,97	0,99
323,15	6,7%	5,8%	0,98	0,99
327,15	4,4%	5,2%	0,99	0,99
EtOH pur	7,0%	4,7%	0,99	0,99
n-heptane pur	9,7%	13,4%	0,97	0,98

Les écarts relatifs et le coefficient de régression varient respectivement de 5% à 11% et de 0,97 à 0,99. D'après ces résultats, le modèle est en bon accord avec les expériences. Cependant, comme le modèle UNIQUAC prédit difficilement des valeurs de coefficients d'activité élevés, les résultats obtenus pour les faibles concentrations (aux températures basses et/ou aux faibles fractions d'éthanol) sont moins précis. De plus, le maximum de solubilité observé lors des expériences, autour de 0,7, semble plutôt bien décrit par le modèle $Ra_{mass} \approx 0,7$.

Du point de vue du polymorphisme, les valeurs légèrement différentes obtenues pour les paramètres d'interaction binaire mettent en évidence la similarité énergétique entre les deux cristaux polymorphes, responsable de la faible différence de solubilité.

Même si ce modèle n'est pas parfait (écart relatif de l'ordre de 8%) et qu'il nécessite la mise en place d'un nombre important de mesures de solubilité dans les solvants purs, il peut se révéler très utile d'une part pour prédire la solubilité dans les solvants binaires, et d'autre part, il peut être utilisé pour déterminer le meilleur mélange de solvants pour le procédé de cristallisation. De plus, comme ce modèle fait la distinction entre la contribution entropique (due à la forme et à la taille de la molécule) et la contribution enthalpique (due aux interactions énergétiques entre le solvant et le soluté), il peut être utilisé aisément pour des systèmes polymorphes dans lesquels seule la contribution énergétique va changer.

II.3 Conclusion

Dans ce chapitre, des techniques d'analyse performantes et complémentaires ont été mises en œuvre pour caractériser le polymorphisme cristallin de l'éflucimibe et identifier les méthodes les plus pertinentes pour discriminer les variétés polymorphes (DSC et RX sur poudre).

L'utilisation conjointe de la DSC et de la diffraction de rayons X sur poudre en fonction de la température a permis d'expliquer les différents phénomènes endothermiques observés avant la fusion.

Bien que les paramètres des mailles cristallines soient inconnus, la diffraction des rayons X sur poudre haute résolution permet d'obtenir quelques informations sur la structure cristalline des polymorphes de l'éflucimibe. Les molécules seraient tout le temps orientées suivant l'axe principal du cristal et les transitions de phases observées pour chaque famille polymorphe seraient dues soit à une réorientation des molécules suivant cet axe, soit à de faibles changements de conformation.

En revanche, une analyse quantitative rigoureuse d'un mélange des polymorphes A et B n'est pas possible car elle nécessite l'obtention de monocristaux de chaque forme.

Les résultats obtenus par spectroscopie infrarouge et résonance magnétique nucléaire montrent que les deux polymorphes diffèrent essentiellement par un changement de conformation du groupement phénol impliqué dans des liaisons hydrogène intermoléculaires.

Les études de solubilité ont permis de conclure sur la stabilité des formes polymorphes : la forme A serait la forme stable pour des températures supérieures à 0 °C. En outre, les données d'équilibre du système éflucimibe – éthanol – n-heptane ont été déterminées expérimentalement pour les formes A et B à différentes températures. Les courbes de solubilité présentent un maximum de solubilité pour une fraction d'éthanol (dans le mélange éthanol – n-heptane) proche du point azéotropique du mélange $x_{EtOH} \approx 0,65$. Ce maximum de solubilité est dû aussi à l'évolution des interactions polaires (principalement à cause des liaisons hydrogène) solvant – soluté lorsque le mélange est enrichi en éthanol.

Afin d'avoir des diagrammes de phase plus détaillés, un modèle semi-empirique UNIQUAC a été mis en œuvre. Ce modèle permet d'avoir accès non seulement aux solubilités à toutes températures et toutes compositions du solvant mais aussi aux coefficients d'activité du mélange.

Les comportements très similaires observés lors des expériences de spectroscopie, de diffraction de rayon X sur poudres et de solubilité annoncent une difficulté de séparation des deux formes polymorphes à cause des propriétés physico-chimiques voisines. De plus, la faible différence de solubilité risque de ralentir la transformation de la forme polymorphe métastable vers la forme polymorphe stable. Toutes ces observations témoignent de la difficulté rencontrée lors de la mise en œuvre d'un procédé de cristallisation pour la sélection de tels polymorphes. Il faudra donc avoir d'une part une connaissance précise, si possible, de la cinétique (nucléation, croissance et transition de phases) des différents polymorphes et d'autre part un contrôle extrêmement fin des paramètres du procédé.

Ces deux enjeux majeurs font l'objet des chapitres suivants.

Chapitre III

Étude cinétique des polymorphes de l'éfucimibe

De nombreuses études, disponibles dans la littérature (Blagden et coll., 1998b; Davey et coll., 1997b; Dunitz & Berstein, 1995b), montrent à quel point il est difficile d'obtenir le polymorphe le plus stable thermodynamiquement pour des raisons purement cinétiques. C'est pourquoi l'étude des cinétiques d'apparition et de transformation des polymorphes présente un intérêt considérable.

Ce chapitre traite des différents aspects cinétiques rencontrés lors de la cristallisation de l'éfucimibe.

La première partie présente le dispositif expérimental utilisé ainsi que les différents protocoles de génération, d'isolement et de caractérisation du solide.

La deuxième partie concerne l'étude expérimentale proprement dite. Nous nous sommes attachés ici à déterminer les largeurs des zones métastables (avec et sans ensemencement), qui définissent la marge de manœuvre du procédé et les temps d'induction, qui permettent de connaître les cinétiques de nucléation à température constante. Enfin, une étude de maturation a été réalisée afin d'évaluer la vitesse de transformation de la forme métastable vers la forme stable au cours du temps.

La dernière partie du chapitre concerne l'interprétation des résultats expérimentaux obtenus. Ces derniers ont été traités en termes d'énergie de surface et de cinétique de nucléation, afin de pouvoir établir un diagramme de prédominance des formes en fonction de la température, de la concentration et de la vitesse de refroidissement.

III.1 Matériels et méthodes

III.1.1 Conception de l'installation

Toutes les expériences présentées dans ce chapitre ont été réalisées dans un cristalliseur discontinu. L'installation utilisée est représentée schématiquement sur la figure III.1 ; deux photographies de celle-ci sont également données sur les figures III.2(a) et III.2(b).

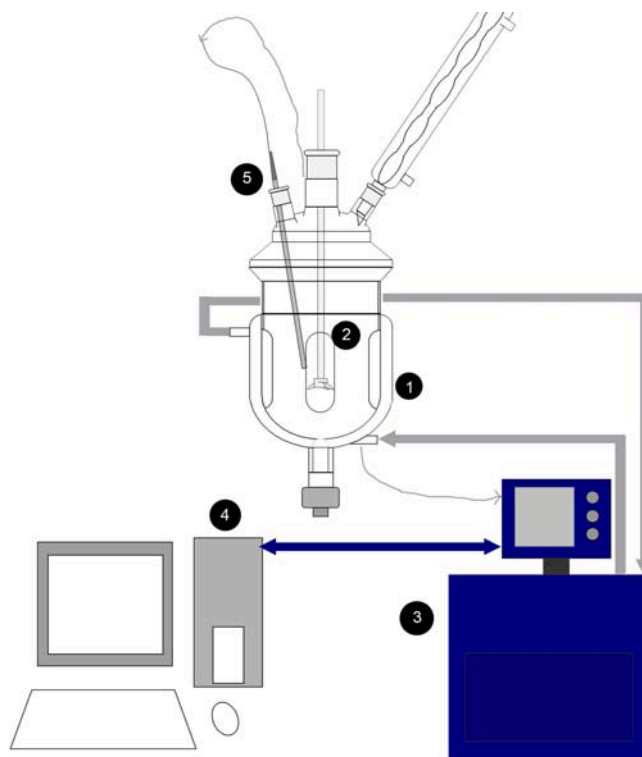


FIG. III.1: Représentation schématique de l'installation expérimentale de détermination des cinétiques de nucléation de l'éflucimibe. 1-réacteur thermostaté, 2- Mobile d'agitation, 3-Cryostat programmable, 4- Système d'acquisition et de contrôle, 5-sonde de température Pt100



(a) Photographie de l'ensemble du système expérimental



(b) Photographie du cristallisateur de 150mL

FIG. III.2: Photographie du dispositif expérimental de détermination des cinétiques de nucléation de l'éflucimibe

Cette installation comprend :

- un réacteur double-enveloppe, en Pyrex, à fond bombé, d'un volume effectif de 150 mL : ($H = D = 5\text{cm}$).
- un système d'agitation constitué de 4 contre pales en verre (incrustées dans le réacteur), et d'un mobile d'agitation axial pompant (hélice marine en inox). Le diamètre de l'agitateur est choisi de telle manière que : $d = 0,6D_{\text{réacteur}} = 3\text{cm}$.
- un système de refroidissement programmable (cryostat THERMOHAAKE P2-40L), qui assure la régulation de la température du réacteur via un circuit de fluide caloporteur. Une sonde de température Pt100 ($\pm 1/10^\circ\text{C}$) plongée dans le cristalliseur et reliée au thermostat permet d'imposer un profil de température au contenu du réacteur. Ce système permet d'atteindre des vitesses de refroidissement allant jusqu'à $80^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$.
- un ordinateur qui permet d'enregistrer et d'imposer des profils de température au fluide caloporteur et au volume réactionnel.

Les prélèvements sont effectués à l'aide de seringues en verre préalablement chauffées à la température de l'essai.

III.1.2 Génération des formes solides

Le solvant choisi est un mélange d'éthanol et de n-heptane dans des proportions proches du point azéotrope (75/25 volumique), correspondant au maximum de solubilité de l'éflucimibe déterminé expérimentalement (cf. paragraphe II.2.2.3). Initialement, le cristalliseur est rempli du mélange éthanol – n-heptane – éflucimibe, et chauffé 5°C au-dessus de la température de saturation. Pour éliminer toute trace de solide résiduel, cette température est maintenue constante pendant 20 min. Le système est ensuite refroidi à vitesse constante ; la nucléation est détectée visuellement par l'apparition d'un trouble dans la solution. Lorsque la température finale est atteinte, le cristalliseur est aussitôt vidangé (pas de maturation).

Pour les expériences réalisées en présence de semences, des cristaux d'éflucimibe (forme A, B ou mélange) ont été introduits légèrement en dessous de la température de saturation ($-0,5^\circ\text{C}$) de la forme polymorphe désirée.

III.1.3 Isolement et caractérisation du solide

Les poudres obtenues, après nucléation, sont filtrées sous vide pendant 10 min, puis séchées 15 heures à l'air ($\approx 20^\circ\text{C}$) et 5 heures dans une étuve à 35°C .

Les cristaux sont analysés essentiellement par DSC, en utilisant le protocole défini au chapitre précédent. Pour vérifier la qualité de ces analyses, quelques échantillons sont caractérisés également par Diffraction de Rayons X sur Poudres (DRXP). Les profils DSC et DRXP sont comparés à ceux obtenus pour les formes pures.

L'analyse thermique est basée sur la comparaison entre les pics, obtenus avant la fusion, de la forme A de référence, et ceux obtenus pour les poudres cristallisées, suivant l'équation II.2 présentée au chapitre précédent.

III.2 Détermination expérimentale des cinétiques de nucléation

III.2.1 Détermination de la largeur des zones métastables de l'éflucimibe

Étant donnée la faible différence de solubilité entre les deux polymorphes, une séparation sélective de l'une ou l'autre des deux formes semble difficile. En effet, une cristallisation «classique» de la forme A, dans laquelle la solution est toujours sursaturée en A et sous-saturée en forme B, est très délicate, voire impossible, à mettre en œuvre. C'est pourquoi, pour pouvoir maîtriser le procédé de cristallisation, il est nécessaire d'évaluer les cinétiques de nucléation et les zones de prédominance de chaque polymorphe dans une large gamme de température et de concentration. Ceci est réalisé expérimentalement en déterminant la limite des zones métastables et les temps d'induction ainsi que la nature des cristaux formés.

Ces expériences ont été effectuées avec et sans ensemencement. Dans chaque cas, l'influence de la vitesse de refroidissement et du couple concentration/température initiale a été étudiée.

III.2.1.1 Zones métastables réalisées sans ensemencement

Les résultats obtenus pour la largeur de la zone métastable et les conditions opératoires correspondantes sont indiqués dans le tableau III.1. Les courbes de sursaturation limite,

TAB. III.1: Largeur des zones métastables (exprimées en différence de température ΔT) obtenue sans ensemencement pour différentes concentrations et vitesses de refroidissement

Solubilité		Vitesse de refroidissement		
C^0 (mg.g ⁻¹)	T^* (K)	$V_{ref}=5$ °C.h ⁻¹	$V_{ref}=10$ °C.h ⁻¹	$V_{ref}=20$ °C.h ⁻¹
Forme A		$\Delta T_A = T_{met} - T_A^*$		
16,86	304,2	16,4 ($\pm 0,2$)	18,8 ($\pm 0,2$)	21,1 ($\pm 0,5$)
31,74	314,0	14,7 ($\pm 0,2$)	17,7 ($\pm 0,3$)	20,1 ($\pm 0,6$)
42,30	318,8	13,1 ($\pm 0,3$)	17,2 ($\pm 0,4$)	19,4 ($\pm 0,3$)
59,69	323,4	13,6 ($\pm 0,2$)	16,2 ($\pm 0,3$)	18,7 ($\pm 0,3$)
81,89	327,5	14,5 ($\pm 0,3$)	16,8 ($\pm 0,5$)	18,6 ($\pm 0,4$)
Forme B		$\Delta T_B = T_{met} - T_B^*$		
16,86	303,4	15,7 ($\pm 0,2$)	18,1 ($\pm 0,2$)	20,4 ($\pm 0,5$)
31,74	313,6	14,2 ($\pm 0,2$)	17,2 ($\pm 0,3$)	19,6 ($\pm 0,6$)
42,30	318,2	12,6 ($\pm 0,3$)	16,7 ($\pm 0,4$)	18,9 ($\pm 0,3$)
59,69	322,7	12,9 ($\pm 0,2$)	15,5 ($\pm 0,3$)	18,0 ($\pm 0,3$)
81,89	327,5	13,6 ($\pm 0,3$)	15,9 ($\pm 0,5$)	17,7 ($\pm 0,4$)

correspondant aux différentes vitesses de refroidissement étudiées, ainsi que les courbes de solubilité des deux formes, sont représentées sur la figure III.3. Dans l'ensemble, les expériences étaient plutôt reproductibles (écart type < 5%) en terme de température de nucléation.

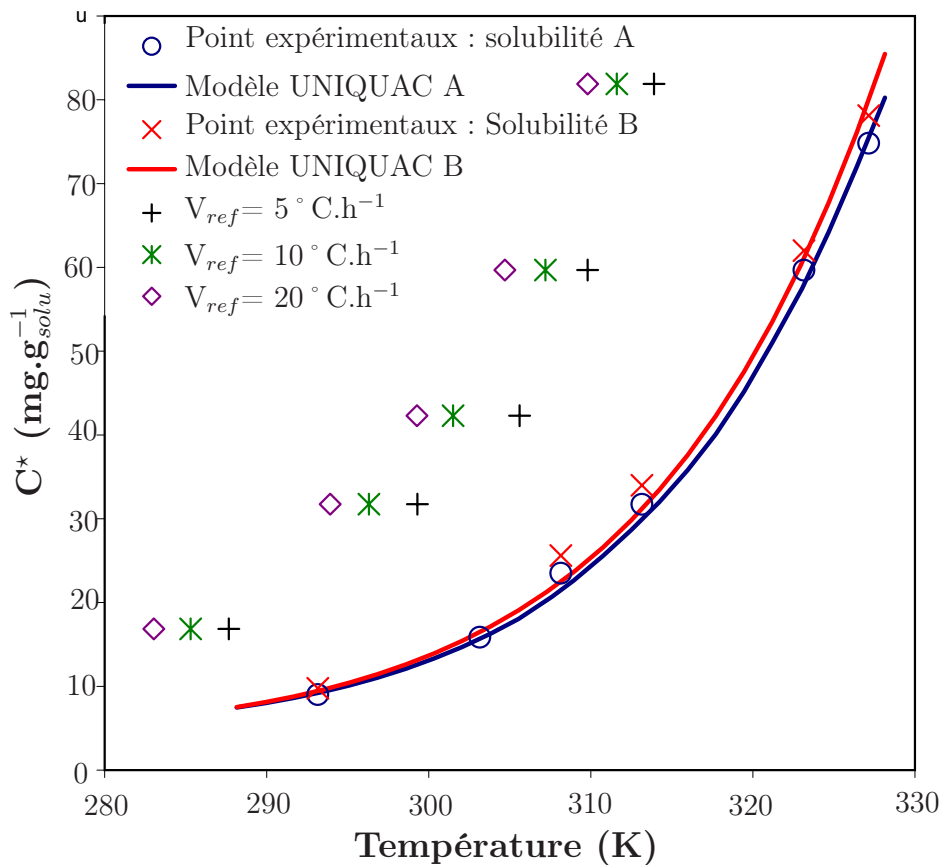


FIG. III.3: Représentation des largeurs des zones métastables obtenues sans ensemencement

Ces essais montrent que la zone métastable de l'efflumimibe est relativement large, de l'ordre de $10\text{--}20\text{ }^\circ\text{C}$, quelle que soit la forme polymorphe. De plus, la largeur de la zone métastable dépend fortement de la vitesse de refroidissement ; la température d'apparition des premiers cristaux est 30% plus faible à $5\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ qu'à $20\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$.

En revanche, la largeur de cette zone ne semble pratiquement pas être influencée par la concentration initiale : les courbes de sursaturation limite et de solubilité sont presque parallèles.

Les résultats des analyses DSC réalisées sur les poudres obtenues peu après la nucléation et en fin de cristallisation sont présentés dans le tableau III.2.

Ces résultats montrent qu'un mélange des polymorphes A et B est obtenu dans la majorité des cas. En effet, au point de nucléation spontanée, la solution est sursaturée pour les formes A et B. Les cinétiques de nucléation des deux formes semblent être similaires de telle sorte que les températures d'apparition des cristaux soient très proches. La technique d'analyse mise en œuvre ne permet pas de connaître précisément ni la forme qui apparaît en premier, ni de discriminer les cinétiques respectives de nucléation.

En outre, aucun lien évident direct entre la variété polymorphique obtenue et la vitesse de refroidissement ou la concentration initiale ne peut être mis en évidence. Toutefois, une tendance peut être dégagée : aux faibles valeurs du couple concentration/température, la

TAB. III.2: Fraction massique de la forme A dans les poudres obtenues peu après la nucléation et en fin de cristallisation

C^* (mg.g ⁻¹)	w_A à la détection des cristaux		
	5 ° C.h ⁻¹	10 ° C.h ⁻¹	20 ° C.h ⁻¹
16,86	-	-	-
31,74	95%	61%	
42,30	44%	89%	60%
59,69	4%	64%	66%
81,89	14%	22%	14%

cristallisation est orientée vers la forme A, et aux fortes concentrations/températures vers la forme B.

III.2.1.2 Zones métastables réalisées avec ensemencement

III.2.1.2.1 Ensemencement forme A

Une faible quantité de semences de forme A pure ($w_{sem} \ll 1\%m_{crist}$) est introduite à la température de saturation moins 0,5 ° C, et en dessous de la courbe de saturation de la forme B. Les résultats de largeur de zone métastable sont présentés dans le tableau III.3. Ces essais ont été réalisés pour des conditions données d'agitation et pour une masse fixe de semence.

TAB. III.3: Largeurs des zones métastables (exprimées en terme de différence de température ΔT) obtenues avec ensemencement (forme A) pour différentes concentrations et vitesses de refroidissement

C^0 (mg.g ⁻¹)	$\Delta T_A = T_{met} - T_A^*$		$\Delta T_B = T_{met} - T_B^*$	
	$V_{ref}=5$ ° C.h ⁻¹	$V_{ref}=20$ ° C.h ⁻¹	$V_{ref}=5$ ° C.h ⁻¹	$V_{ref}=20$ ° C.h ⁻¹
16,86	6,7 (±1, 2)	7,5(±1, 6)	6,2 (±1, 2)	7,0(±1, 6)
31,74	6,2(±1, 5)	6,6(±1, 7)	5,8(±1, 5)	6,2(±1, 7)
42,30	5,8(±1, 9)	6,4 (±2, 0)	5,2(±1, 9)	5,8(±2, 0)
59,69	5,1(±1, 4)	5,8 (±1, 9)	4,7(±1, 4)	5,4(±1, 9)
81,89	5,0(±0, 9)	6,0(±1, 7)	4,7(±0, 9)	5,7(±1, 7)

L'introduction de semence provoque la nucléation secondaire et une diminution de la largeur de la zone métastable. Dans ce cas, la vitesse de refroidissement se semble pas influencer la température d'apparition des premiers cristaux.

La composition des poudres obtenues, déterminée par DSC, est donnée dans le tableau III.4.

Ce tableau montre clairement que la semence en forme A oriente la nucléation vers la forme A. Cependant, aux fortes concentrations/températures, un mélange des deux formes est obtenu. L'obtention de forme B à température élevée, en dépit des semences introduites, peut être due soit à des conditions thermodynamiques et cinétiques telles que la nucléation

TAB. III.4: Fractions massiques de la forme A dans les poudres obtenues peu après la nucléation lorsque des semences de la forme A sont introduites

C^* (mg.g ⁻¹)	5 ° C.h ⁻¹	20 ° C.h ⁻¹
16,86	- -	-
31,74	100%	100%
42,30	100%	100%
59,69	64%	63%
81,89	22%	35%

spontanée de la forme B est inévitable, soit à la présence de nuclei de la forme B dans la semence, non décelées aux RX et en DSC, qui proliféreraient dans le produit final.

Comme la forme A est préférentiellement cristallisée à faible température, là aussi, la température permet de contrôler la quantité relative de A et B cristallisé.

III.2.1.2.2 Ensemencement forme B

Une série d'expériences a été réalisée en introduisant des semences de la forme B pure. Les résultats obtenus pour la largeur des zones métastables sont identiques à ceux obtenus précédemment. Ils montrent que lorsque des semences de forme B sont introduites, la forme B est majoritairement obtenue pour pratiquement toute la gamme de température. Toutefois, aux faibles températures, des traces de la forme A apparaissent (cf. tableau III.5).

TAB. III.5: Température de nucléation et fractions massiques de la forme A dans les poudres obtenues peu après la nucléation lorsque des semences de la forme B sont introduites (Vitesse de refroidissement fixée à 5 ° C.h⁻¹).

C^* (mg.g ⁻¹)	ΔT_A (K)	ΔT_B (K)	w_A
16,86	6,9 (± 0,9)	6,1 (± 0,9)	-
31,74	6,5 (± 1,4)	6,1 (± 1,4)	7%
42,30	5,8 (± 0,8)	5,2 (± 0,8)	8%
59,69	5,6 (± 1,5)	4,9 (± 1,5)	0%
81,89	6 (± 1,0)	5,0 (± 1,0)	0%

III.2.2 Détermination du temps d'induction

Le temps d'induction est une donnée intéressante pour le contrôle d'opération de cristallisation. Il s'agit du temps nécessaire à l'apparition des premiers nuclei en solution, après avoir créé un niveau de sursaturation donné. La vitesse de refroidissement est de 85 ° C.h⁻¹, et la température finale, 35 ° C, est atteinte au maximum en 10 minutes (de 50 ° C à 35 ° C). Le temps $t = 0$ est initié lorsque la température finale est atteinte. L'apparition des cristaux d'éflucimibe est caractérisée par l'apparition d'un trouble suivi d'une prise en masse de la solution.

Dans ces expériences, les points correspondant aux plus grandes et aux plus faibles différences de températures n'ont pas été retenus, car la procédure expérimentale utilisée n'est plus valable : les temps d'induction sont soit trop élevés ($t > 15\text{h}$) soit trop faibles ($t < t_{\text{refroidissement}}$) pour pouvoir les mesurer précisément. Les résultats (temps d'induction et fraction massique en forme A) obtenus ainsi que les conditions opératoires correspondantes sont données dans le tableau III.6.

TAB. III.6: Conditions opératoires, fraction massique de forme A et temps d'induction mesurés à différents niveaux de sursaturation

C (mg.g ⁻¹)	S _A	S _B	t _{ind} (s)	w _A
31,73	1,50	1,42	2001758	–
41,72	1,97	1,87	8519,5	–
43,53	2,05	1,95	6840,7	0,91
45,12	2,13	2,02	6210,2	0,60
46,35	2,19	2,09	4104,0	0,66
49,15	2,32	2,21	2953,9	0,49
52,62	2,48	2,36	1614,3	0,20
54,40	2,57	2,44	1201,6	0,50
56,05	2,64	2,51	1074,9	0,06
58,01	2,74	2,60	802,1	0,01
59,69	2,82	2,67	735,2	0,08

Les temps d'induction obtenus sont très élevés (supérieurs à 1 heure) pour des rapports de sursaturations inférieurs à 2,2 et diminuent en fonction de la sursaturation. Ce résultat est classique en cristallisation.

Les résultats obtenus en DSC, montrent que lorsque le niveau de sursaturation augmente, la teneur des poudres en forme A diminue ($w_A > 90\%$ pour $S < 2,1$ et $w_A < 10\%$ pour $S > 2,4$). Ces résultats sembleraient être en accord avec la loi d'Ostwald et d'autre part avec la tendance observée précédemment : pour les expériences réalisées sans ensemencement, la quantité de forme A diminue lorsque la valeur du couple concentration/température augmente.

III.2.3 Évolution des formes polymorphes en solution

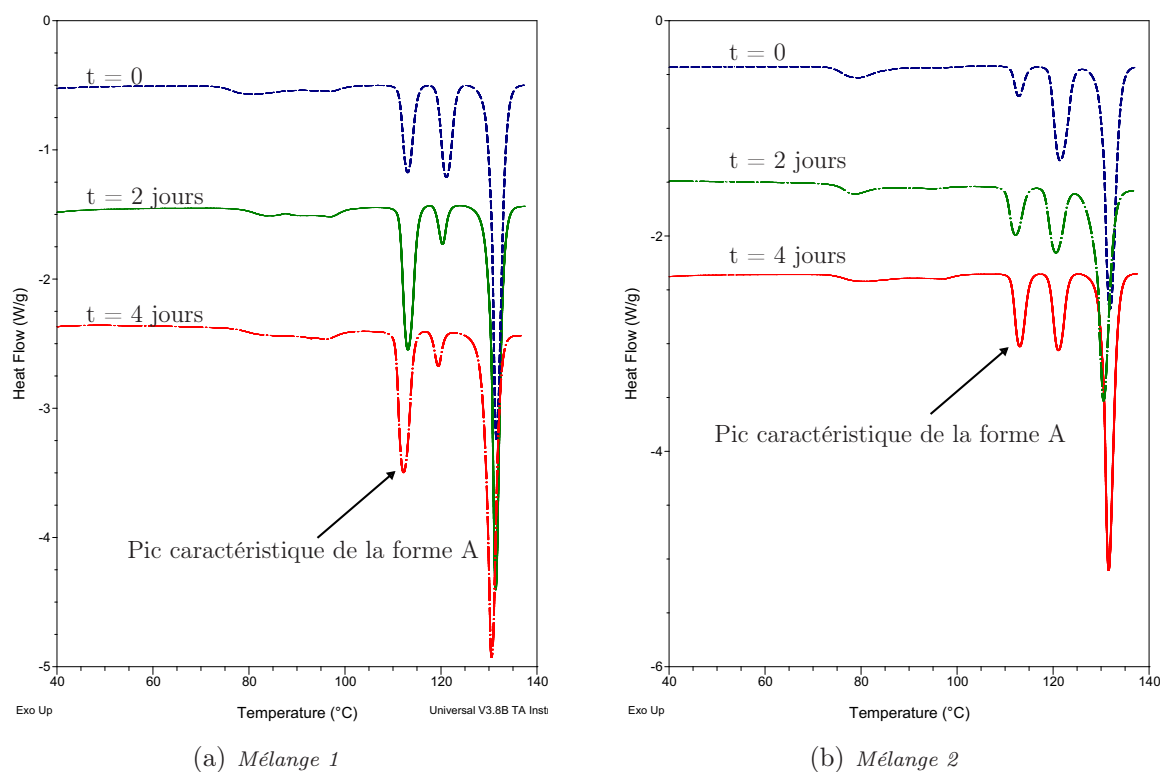
Quelques essais de maturation ont été réalisés. Des suspensions contenant de la solution saturée et un mélange de poudre, constitué d'une quantité donnée de cristaux de forme A pure et B pure, sont placées dans des erlenmeyers, hermétiquement fermés, et maintenus à température ambiante sous agitation douce pendant 4 jours.

Bien que cette technique ne soit pas très précise, à cause des cinétiques mises en jeu et des risques d'évaporation des solvants, elle permet toutefois d'avoir une idée sur l'évolution de la suspension au cours du temps. Les compositions initiales des poudres utilisées, en forme A et B, sont données dans le tableau III.7.

TAB. III.7: Compositions initiales des mélanges physiques de poudres utilisés lors des expériences de maturation

Mélange	w_A	w_B
1	0,60	0,40
2	0,05	0,95

Les échantillons prélevés au cours du temps sont filtrés, séchés et analysés en DSC. Les résultats concernant l'évolution de la composition du mélange au cours du temps à température ambiante, sont présentés sur la figure III.4.

**FIG. III.4:** Évolution de la composition des mélange 1 et 2 en solution saturée au cours du temps à température ambiante

Ce graphique montre une évolution nette de la solution de la forme B vers la forme A. Sur toute la durée de l'expérience, la concentration de la forme A pure est constante. La transformation entre les deux polymorphes est lente ; en 4 jours la suspension I passe de 60 à 95% massique en forme A et la suspension II de 5 à 65%. Ces expériences sont en accord avec la loi d'Ostwald et avec les résultats de la littérature, notamment les tests de stabilité relative des polymorphes de McCrone (McCrone, 1965) : le polymorphe le plus stable nucléé et croit au détriment des formes métastables.

III.3 Interprétation des résultats

III.3.1 Détermination de la tension interfaciale cristal – solution

III.3.1.1 A partir des mesures de temps d'induction

Le temps d'induction, t_{ind} , est la somme du temps nécessaire pour atteindre un état stationnaire de nucléation, t_{tr} , du temps de nucléation, t_n , et du temps de croissance du nucleus critique pour qu'il atteigne une taille détectable, t_g . Soit :

$$t_{ind} = t_{tr} + t_n + t_g \quad (\text{III.1})$$

Lorsque l'apparition du tout premier «super-nucleus» (nucleus de taille détectable) entraîne la solution en dehors de l'état métastable et si la nucléation est stationnaire, (t_{tr} négligeable), le temps d'induction est donné par :

$$t_{ind} = \frac{1}{BV} \quad (\text{III.2})$$

avec B la vitesse de nucléation primaire homogène ($\text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$) et V le volume de la suspension (m^{-3}). Cette approche est valable uniquement si la technique expérimentale permet de détecter l'apparition du tout premier nucleus ou de compter le nombre de nuclei N qui apparaissent en solution.

Cependant, dans la plupart des cas c'est l'apparition progressive d'une grande quantité de nuclei et leur croissance qui provoque la rupture de métastabilité de la solution. Par conséquent, pour des méthodes volumétriques de détermination de temps d'induction, l'expression devient (Kashchiev, 2000) :

$$t_{ind} = \frac{1}{AVS} \exp\left(\frac{B'}{\ln^2 S}\right) + \left(\frac{3\alpha_v}{\pi ASG^3(S)}\right)^{1/4} \exp\left(\frac{B'}{4\ln^2(S)}\right) \quad (\text{III.3})$$

avec :

$$B' = \frac{16\pi\sigma_{CL}^3 V_m^2}{3k^3 T^3} \quad (\text{III.4})$$

Avec k la constante de Boltzmann, V_m le volume moléculaire, et σ_{CS} la tension interfaciale cristal - solution. Cette approche nécessite la connaissance de la variation de la vitesse de croissance des cristallites en fonction de la sursaturation, $G(S)$. Expérimentalement, il est très délicat de déterminer cette grandeur pour des composés organiques. C'est pourquoi la détermination de la tension interfaciale cristal-solution, est généralement réalisée en négligeant cette vitesse de croissance, à partir de l'équation suivante pour le temps d'induction :

$$t_{ind} = \frac{k_B}{B_0} = \frac{k_B}{A_0} \exp\left(\frac{B'}{\ln^2(S)}\right) \quad (\text{III.5})$$

Avec k_B , une constante de proportionnalité et A_0 le paramètre cinétique de nucléation primaire homogène.

Différentes fonctions du facteur pré-exponentiel, A_0 , sont disponibles dans la littérature suivant le modèle de nucléation utilisé (Kashchiev, 2000; Mersmann et coll., 2002). De manière générale, A_0 dépend d'un facteur de collision moléculaire, de l'énergie interfaciale

crystal solution et de la barrière énergétique de diffusion de la solution vers le nucleus. Pour évaluer ce paramètre, Kind et Schubert (Mersmann et coll., 2002) proposent la relation :

$$A_0 = \frac{3}{2} D_{SL} d_m^2 (CNa)^{7/3} \left(\frac{\sigma_{CS} d_m^2}{kT} \right)^{1/2} \quad (\text{III.6})$$

avec D_{SL} le coefficient de diffusion du soluté dans le solvant, d_m le diamètre moléculaire et C la concentration de la solution exprimée en $\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$.

En supposant une nucléation concomitante des deux polymorphes, les données expérimentales obtenues pour le temps d'induction, des formes A et B de l'éflucimibe, ont été représentées suivant l'équation III.7, sur les figures III.5(a) et III.5(b).

$$\ln(t_{ind}) = \ln\left(\frac{k_B}{A_0}\right) + \frac{B'}{\ln^2(S)} \quad (\text{III.7})$$

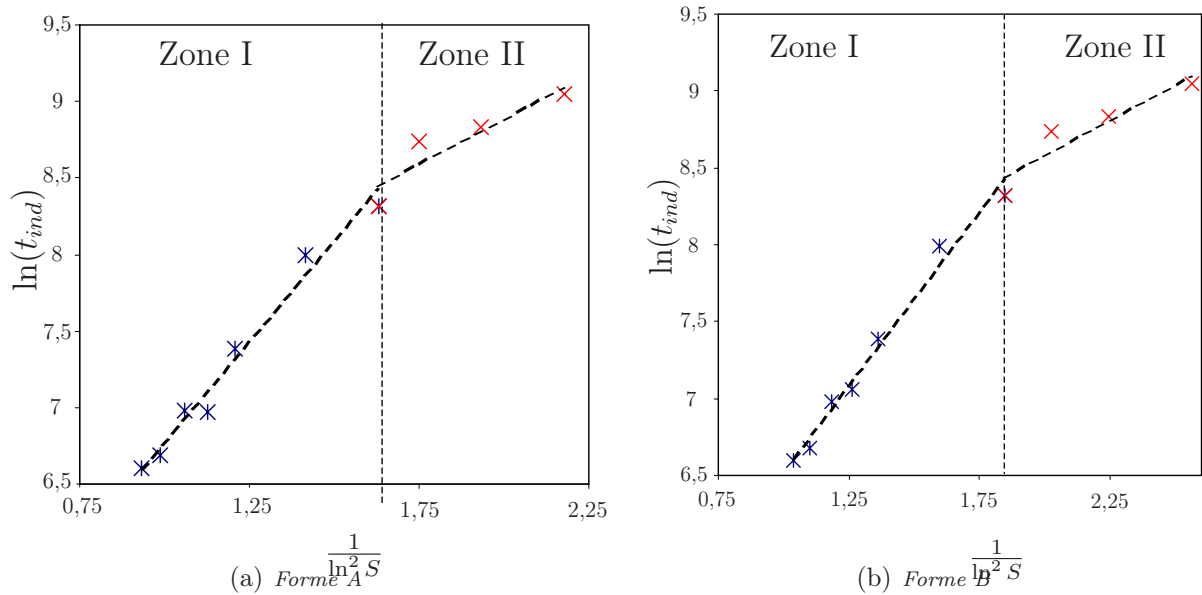


FIG. III.5: Évolution du temps d'induction en fonction du niveau de sursaturation des formes A et B. Zone I : Nucléation primaire homogène, Zone II : nucléation primaire hétérogène

Sur les figures III.5(a) et III.5(b), il est possible de distinguer un changement de pente, aux alentours de $S \approx 2$. Cette variation indique le passage d'un mécanisme de nucléation homogène à un mécanisme de nucléation hétérogène. La tension interfaciale cristal-solution est estimée à partir de la pente B' dans la région de nucléation homogène (région I).

Suivant la loi d'Ostwald, c'est la forme B qui cristalliserait en premier et qui serait responsable de l'apparition du premier cristal. Cependant, étant donnée la faible différence de structure et de solubilité entre les deux formes (ou d'enthalpie libre cristal-solution), il est raisonnable de considérer une nucléation concomitante des polymorphes A et B ; c'est à dire que les temps d'induction des deux polymorphes sont identiques : $t_{ind,A} \approx t_{ind,B} \approx t_{ind}$. A partir de cette hypothèse, il est possible de calculer les tensions interfaciales cristal-solution, de la forme A et B. Les résultats ainsi obtenus et les paramètres de calcul sont reportés dans le tableau III.8.

TAB. III.8: Tensions interfaciales cristal-solution des formes A et B obtenues à partir des temps d'induction

	V_m (nm^3)	B'	σ_{CS} ($mJ.m^{-2}$)
A	0,692	2,578	2,91
B	0,699	2,248	2,78

Les faibles valeurs de tension interfaciale obtenues sont du même ordre de grandeur que celle observées pour ce type de composé organique dans la littérature, par exemple : pour le C_2H_5O (Chen et coll., 1993) : $0,3 < \sigma_{CS} < 0,9mJ.m^{-2}$, pour le paracétamol : $1,4 < \sigma_{CS} < 2,8mJ.m^{-2}$ (Granberg et coll., 2001) et pour le ketoprofène, (Espitalier, 1994), $\sigma_{CS} = 1,47mJ.m^{-2}$.

Cette faible valeur d'énergie interfaciale montre que la différence d'enthalpie libre entre la surface du cristal, à l'interface avec la solution, et la structure cristalline, à l'intérieur du cristal, est faible. A partir de l'énergie interfaciale le diamètre critique des nuclei est estimé de 9 à 25 Å dans la gamme de sursaturation étudiée. Le nombre de molécules nécessaires pour former un nucleus stable est évalué à environ une centaine (entre 100 et 200) à faible sursaturation et à quelques dizaines (entre 10 et 60) à forte sursaturation.

Afin de vérifier ces résultats expérimentaux, deux autres approches ont été utilisées.

III.3.1.2 A partir de corrélations empiriques

Une approche possible pour calculer la tension interfaciale est de faire appel à des corrélations, établies par Bennema et Söhnel (équation III.8) et Mersmann (équation III.9), qui relie l'énergie interfaciale, entre un solide et sa solution saturée, à sa solubilité.

$$\sigma_{CS} = 0,25kTV_m^{-2/3}(0.7 - \ln x^*) \quad (\text{III.8})$$

$$\sigma_{CS} = 0,414kT(C_s \mathcal{N}_a)^{-2/3} \ln \frac{C_s}{C^*} \quad (\text{III.9})$$

Dans le cas de l'effucimibe, les valeurs obtenues par ces corrélations sont d'un ordre de grandeur supérieur (\approx dix fois plus grandes) à celles obtenues expérimentalement soit : $15 - 20mJ.m^2$. Ce résultat n'est pas surprenant car ces relations empiriques ont été établies pour des composés inorganiques, dont les valeurs d'énergie interfaciale sont comprises entre $50 - 150mJ.m^2$ pour des composés peu solubles et entre $10 - 30mJ.m^2$ pour des composés plus solubles.

III.3.1.3 A partir des mesures d'angle de contacts

La deuxième approche pour déterminer les tensions interfaciales est expérimentale. Dans un premier temps, la tension superficielle du solide est déterminée à partir des mesures d'angle de contact entre le solide et des liquides de différentes énergies de surface.

La détermination de cet angle est réalisée sur un compact de poudre, obtenu à partir d'un gâteau de filtration, poli et dépoussiéré. En toute rigueur, il faudrait que le compact soit immergé par le fluide de mesure afin de minimiser la diffusion du liquide de la goutte dans le solide. Néanmoins, étant donnée la faible porosité du gâteau et la faible mouillabilité

de la surface par les liquides employés, ces mesures ont été réalisées à sec. Les angles de contacts mesurés (moyenne d'au moins trois essais), ainsi que les énergies de surface des liquides utilisés sont donnés dans le tableau III.9.

TAB. III.9: Résultats de la mesure de l'angle de contact et les tensions superficielles des liquides de référence utilisés en $mJ.m^2$

	σ	σ^{LW}	σ^{AB}	σ^+	σ^-	$\cos \theta$
Eau	72,8	21,8	51	25,5	25,5	-0,831 \pm 0,001
Formamide	58	39	19	2,28	39,6	-0,649 \pm 0,002
α -Bromonaphtalene	44,4	44,4	0	0	0	0,964 \pm 0,008

La tension superficielle du solide est ensuite déterminée en combinant la loi de Young (Neumann & Spelt, 1996) :

$$\sigma_S = \sigma_{SL} + \sigma_L \cos \theta \quad (III.10)$$

et de la loi de Fowkes (Neumann & Spelt, 1996) :

$$\sigma_{SL} = \sigma_S + \sigma_L - 2\sqrt{\sigma_S^{LW}\sigma_L^{LW}} - 2\sqrt{\sigma_S^{AB}\sigma_L^{AB}} \quad (III.11)$$

pour obtenir un système de trois équations à trois inconnues, du type :

$$\frac{\sigma_{Li}(1 + \cos \theta_i)}{2} = \sqrt{\sigma_S^{LW}\sigma_{Li}^{LW}} + \sqrt{\sigma_S^+\sigma_{Li}^+} + \sqrt{\sigma_S^-\sigma_{Li}^-} \quad (III.12)$$

avec

$$\sigma^{AB} = 2\sqrt{\sigma^+\sigma^-}$$

où σ_S et σ_L sont respectivement les tensions superficielles du solide et du liquide, l'exposant LW représente la composante dispersive de la tension superficielle (où composante de Lifshitz-van der Waals), et l'exposant AB représente la composante résultant des interactions de type Acide-Base de Lewis (σ^+ représente les interactions électron accepteur et σ^- les interactions électron donneur). Les résultats obtenus, par cette approche, pour la tension superficielle de l'éflucimibe, ainsi que les diverses contributions, sont données dans le tableau III.10

TAB. III.10: Tensions superficielles et ses composantes déterminées par la méthode de la goutte posée pour les poudres d'éflucimibe en $mJ.m^2$

	σ_S	σ_S^{LW}	σ_S^{AB}	σ_S^+	σ_S^-
Eflucimibe	43,4	42,8	0,6	23,9	0,003

La tension interfaciale cristal - solution peut être ensuite déterminée, à partir de la tension superficielle du solide et de la solution saturée, grâce à l'équation d'état de la tension interfaciale. L'équation III.13 est une des formes possibles de cette équation d'état, où le terme exponentiel est une extension de la loi de Berthelot, et le paramètre β un coefficient empirique (Neumann & Spelt, 1996). Bien que cette approche ne soit pas très précise lorsque des mélanges (solvant-soluté) sont employés, et lorsque des interactions

polaires (de type liaisons hydrogènes) sont présentes, elle s'est révélée assez utile lors de la détermination de la tension interfaciale cristal - solution de composés organiques (Neumann & Spelt, 1996).

$$\sigma_{CS} = \sigma_{LV} + \sigma_{SV} - 2\sqrt{\sigma_{LV}\sigma_{SV}}e^{-\beta(\sigma_{LV}-\sigma_{SV})^2} \quad (\text{III.13})$$

La résolution de cette équation donne $\sigma_{CS} = 7,32 \text{ mJ.m}^2$. Là aussi, le résultat obtenu est d'un ordre de grandeur supérieur à celui déterminé expérimentalement. Les raisons des écarts obtenus par cette approche sont d'une part dues au fait que l'approche par équation d'état néglige la différence entre l'énergie de surface et la tension superficielle du solide. D'autre part, l'équation III.13 n'est pas applicable pour des mélanges de solvants et l'influence de la concentration en soluté n'est pas prise en compte.

Cette approche montre que la détermination de la tension interfaciale cristal - solution saturée, très utile lors du dimensionnement des procédés de cristallisation, ne peut être réalisée qu'à partir d'expériences de détermination de temps d'induction.

III.3.2 Évaluation des cinétiques de nucléation

Les résultats obtenus sur les mesures de largeur de zones métastables ont été interprétés en terme de cinétique de nucléation. Deux approches classiques ont été utilisées : d'une part l'application de la loi de Nyvlt (Mullin, 2001) qui permet d'estimer de façon globale les paramètres cinétiques de la nucléation primaire, et d'autre part l'expression de la vitesse a été évaluée à partir de relations issues de la théorie classique de la nucléation.

III.3.2.1 Loi de Nyvlt

Selon Nyvlt, la vitesse de nucléation primaire peut s'exprimer simplement en fonction de la sursaturation absolue ($\Delta C_{max} = C_{met} - C^*$) :

$$J = k_1 \Delta C_{max}^n \quad (\text{III.14})$$

Avec J la vitesse de nucléation massique (kg.s^{-1}), k_1 la constante cinétique de nucléation ($\text{kg}^{1-n}.\text{kg}^{n-1}.\text{s}^{-1}$), et n l'ordre de la nucléation primaire.

À partir d'un bilan matière de cristallisation et d'hypothèses simplificatrices, Nyvlt relie la vitesse de refroidissement et la largeur de la zone métastable (ΔT_{max}) de la manière suivante (Mullin, 2001) :

$$\ln\left(\frac{dT}{dt}\right) = (n-1) \ln\left(\frac{dC^*}{dT}\right) - \ln k_1 + n \ln \Delta T_{max} \quad (\text{III.15})$$

Pour appliquer cette équation, les points expérimentaux obtenus lors de la mesure des zones métastables de l'éflucimibe ont été reportés sur un diagramme donnant la variation du logarithme de la vitesse de refroidissement en fonction du logarithme de largeur de la zone métastable.

La pente des droites (figure III.6) donne l'ordre de la nucléation primaire, n . Sa valeur permet de calculer la constante cinétique k_1 de l'équation III.14 :

$$n = 4,76(\pm 0,79) - k_1 = 1,59710^{-06}(\pm 10^{-6})$$

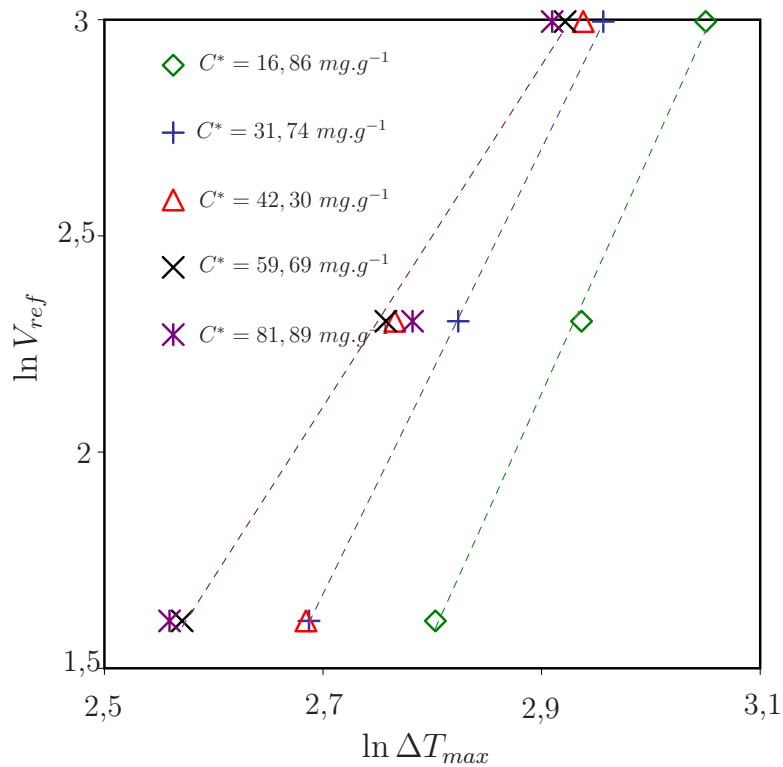


FIG. III.6: Variation de la vitesse de refroidissement en fonction de la largeur de la zone métastable

La valeur obtenue pour l'ordre de nucléation paraît faible pour une nucléation primaire, elle est généralement comprise entre 5 et 10. Cette approche, utile pour le dimensionnement des cristallisoirs, est source d'erreurs systématiques car les hypothèses de calculs considèrent que les droites représentées sur la figure III.6 sont parallèles.

III.3.2.2 Loi de nucléation primaire

L'estimation des cinétiques de nucléation des polymorphes est réalisée à partir des largeurs de zones métastables obtenues sans ensemencement. En faisant l'hypothèse que la nucléation primaire est homogène (sans impureté), la cinétique est donnée par la relation suivante (Mersmann et coll., 2002) :

$$B_0 = A_0 \exp \left(- \frac{16\pi}{3} \left(\frac{\sigma_{CL} d_m^2}{kT} \right)^3 \frac{1}{\ln^2 S} \right) \quad (\text{III.16})$$

où A_0 est le facteur pré-exponentiel défini dans l'équation III.6, d_m , le diamètre de la molécule d'éflucimibe dont la valeur a été estimée par un logiciel de simulation moléculaire (*Molecular Modeling Pro*) : $d_m = 13,67 \text{ \AA}$, σ_{CL} est la tension interfaciale déterminée précédemment (cf. tableau III.8).

La connaissance du facteur pré-exponentiel A_0 nécessite la détermination du coefficient de diffusion D_{SL} de l'éflucimibe dans le mélange de solvants.

Pour des solutions binaires non-électrolytes, l'estimation de ce coefficient est réalisée en général à partir de la relation de Hartley-Crank (Myerson, 2002) :

$$D_{SL} = \frac{d \ln a_S}{d \ln \gamma_s} (x_S D_{SL}^\infty + (1 - x_S) D^*) \frac{\mu}{\mu_{ss}} \quad (\text{III.17})$$

avec D_{SL}^∞ le coefficient de diffusion à dilution infinie, D^* , le coefficient d'auto-diffusion du solvant, μ et μ_{ss} sont respectivement les viscosités du solvant et de la solution saturée. Le coefficient de diffusion à dilution infinie est estimé à partir de la relation de Wilke-Chang (Myerson, 2002) :

$$D_{SL}^\infty = 7,4 \cdot 10^{-8} \frac{\sqrt{f M_L T}}{\mu V_s^{0,6}} \quad (\text{III.18})$$

avec M_L la masse molaire du solvant, f le facteur d'association (1,5 pour l'éthanol et 1 pour le n-heptane), V_s le volume molal du soluté au point normal d'ébullition. Ce volume a été estimé par addition des volumes molaires des groupements d'atomes de Lebas (Reid et coll., 1987) et la valeur obtenue est : $550 \text{ cm}^3 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Le coefficient de diffusion D^* utilisé dans l'équation III.17 n'a pas de sens physique pour des mélanges de solvants. Par conséquent, une valeur approchée de ce coefficient est calculée en considérant le mélange éthanol – n-heptane comme un pseudo-fluide : les coefficients d'auto-diffusion des solvants et de diffusion du soluté à dilution infinie du mélange ont été calculés à partir des résultats obtenus pour les solvants purs pondérés par les fractions molaires, soit :

$$D_{mel}^* = x_{EtOH} D_{EtOH}^* + (1 - x_{EtOH}) D_{Hept}^* \quad (\text{III.19})$$

$$D_{Smel}^\infty = x_{EtOH} D_{SEtOH}^\infty + (1 - x_{EtOH}) D_{SHept}^\infty \quad (\text{III.20})$$

Les résultats obtenus pour les solvants purs et pour le mélange de solvants sont donnés dans le tableau III.11.

TAB. III.11: Coefficients de diffusion de l'eflucimibe dans les solvants purs et dans le mélange éthanol – n-heptane ($T = 298,15 \text{ K}$)

Solvant	D^* ($10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	D_{SL}^∞ ($10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	D_{Sl} ($10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
Ethanol	2,34	1,23	1,91
n-heptane	2,99	3,46	1,88
Mélange (75/25)	2,42	1,50	2,34

Les cinétiques de nucléation des polymorphes A et B, calculées à partir des données expérimentales et des paramètres estimés précédemment, sont données dans le tableau III.12.

Les résultats présentés dans ce tableau montrent que quelle que soit la vitesse de refroidissement, les cinétiques de nucléation des deux polymorphes sont du même ordre de grandeur et augmentent avec le niveau de sursaturation.

Il faut noter cependant que pour des sursaturations relativement élevées, il semblerait que $B_0^A < B_0^B$ bien que la constante de vitesse A_0 et la sursaturation soient plus élevées

TAB. III.12: Cinétiques de nucléation des polymorphes A et B pour les différentes conditions opératoires étudiées lors des mesures de zones métastables sans ensemencement

V_{ref} (° C.h ⁻¹)	S_A	B_0^A (m ³ .s ⁻¹)	S_B	B_0^B	R(eq. I.32)	B_0^A/B_0^B
5	2,25	6,0 10 ¹¹	2,19	1,9 10 ¹¹	0,76	0,3
	2,42	3,3 10 ¹⁴	2,33	2,4 10 ¹⁵	0,12	7,1
	2,39	5,6 10 ¹⁵	2,36	2,3 10 ¹⁶	0,20	4,0
	2,49	1,1 10 ¹⁷	2,47	7,2 10 ¹⁷	0,13	6,5
	2,60	1,2 10 ¹⁸	2,537	8,1 10 ¹⁸	0,13	6,5
10	2,81	2,0 10 ⁷	2,44	578949	0,73	0,4
	2,91	2,2 10 ¹⁶	2,83	1,2 10 ¹⁷	0,16	5,4
	2,98	9,5 10 ¹⁷	2,82	1,3 10 ¹⁸	0,23	3,3
	3,05	1,2 10 ¹⁹	2,92	3,0 10 ¹⁹	0,17	5,0
	3,09	1,6 10 ²⁰	2,92	1,1 10 ²¹	0,17	5,0
20	2,91	6,3 10 ⁶	2,91	143694	0,73	0,4
	3,39	2,3 10 ¹⁹	3,16	4,3 10 ¹⁹	0,16	5,4
	3,38	9,1 10 ²⁰	3,30	2,0 10 ²¹	0,23	3,3
	3,53	8,8 10 ²¹	3,32	1,9 10 ²²	0,17	5,0
	3,55	4,4 10 ²²	3,33	1,8 10 ²³	0,17	5,0

pour la forme A. D'autre part, aux plus faibles sursaturations la vitesse de nucléation de A est plus importante que celle de la forme B.

Ces résultats sont en accord avec la loi d'Ostwald : pour des fortes sursaturations, la différence de tension interfaciale, même très faible (moins de 5% d'écart), gouverne le mécanisme de nucléation et pour des sursaturations plus faibles, c'est la différence de sursaturation qui gouverne la nucléation.

Ces résultats sont en accord avec les analyses DSC présentées précédemment. A savoir, à forte concentration, c'est la forme métastable (B) qui a tendance à cristalliser, et à faible concentration, la forme A.

Lors de l'ensemencement avec la forme A, l'obtention d'un mélange à forte concentration peut être due principalement à deux phénomènes. Le premier est cinétique et thermodynamique. En effet, comme la différence de structure et d'enthalpie libre critique de cristallisation des deux polymorphes est négligeable et comme $\sigma_{CS}^A > \sigma_{CS}^B$ donc $J_B \gg J_A$, alors, l'introduction de semence provoque la nucléation de la forme B.

L'autre phénomène repose sur des considérations structurales. En effet, il a été montré, dans le chapitre précédent, que les polymorphes A et B sont vraisemblablement des polymorphes de conformation. L'apparition de la forme B à forte température, quelles que soient les semences introduites, pourrait être expliquée par la stabilité des conformères en solution. En effet, il est possible que le conformère B, responsable de la formation du polymorphe B, soit le plus stable en solution à forte température et donc majoritaire en solution.

III.3.3 Diagramme de prédominance des formes

Comme les vitesses de nucléation des deux formes sont similaires, il est possible qu'il y ait nucléation d'une forme suivie rapidement par la nucléation de l'autre. Il est également possible que la forme B cristallise en premier, pour des niveaux élevés de sursaturation, puis se transforme progressivement en forme A. Ces deux phénomènes doivent avoir lieu simultanément lors de la cristallisation de l'éfucimibe et sont responsables de l'obtention du mélange des deux formes obtenus dans les prélèvements réalisés peu après la nucléation.

L'étude cinétique et l'étude thermodynamique, présentée précédemment, permettent donc de définir des domaines de prédominance des formes polymorphes.

Les études de maturation, réalisées à 20°C, montrent que la cinétique de transformation de la forme métastable B vers la forme stable A est très lente, principalement à cause de la faible différence de solubilité entre les deux formes. Par conséquent, il semblerait que c'est l'étape de nucléation qui conditionnerait la nature de la forme polymorphe obtenue. La maîtrise du polymorphisme lors de cristallisation en solution passe donc par le contrôle de l'étape de nucléation. Ce contrôle sera réalisé par une procédure d'ensemencement rigoureuse : température d'introduction, qualité et quantité des semences.

Les figures III.7(a) et III.7(b) présentent respectivement les diagrammes de prédominance des formes polymorphes avec et sans ensemencement.

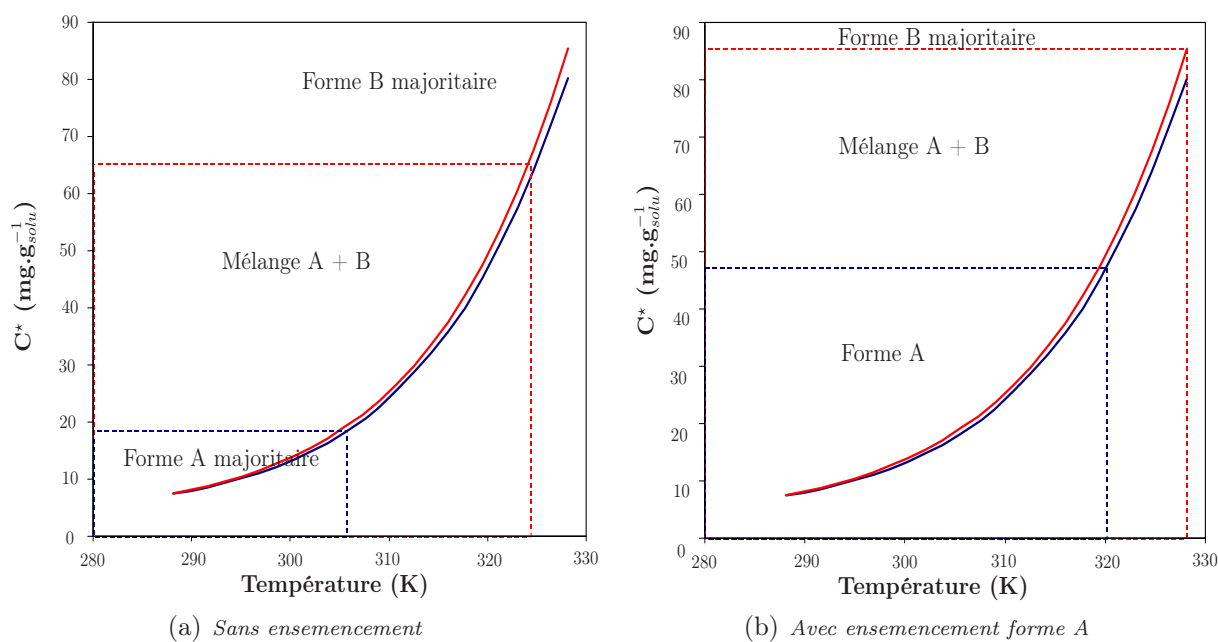


FIG. III.7: Diagramme de prédominance des formes polymorphes

Ce type de diagramme est très utile lors de la conception d'unité de cristallisation de polymorphes concomitants. En définissant ainsi les frontières de chaque forme, il est donc possible de mettre en œuvre une cristallisation sélective de l'une ou l'autre forme polymorphe.

III.4 Conclusion

L'étude présentée dans ce chapitre a permis de mettre en évidence l'importance de la cinétique lors de la cristallisation des polymorphes de l'efflucimibe.

En effet, la mise en œuvre des différents types d'expériences présentées au début de chapitre, conclut à l'obtention des informations nécessaires pour pouvoir mettre en place un procédé robuste de cristallisation. En outre, en dépit des approximations réalisées, l'estimation des cinétiques de nucléation de chaque polymorphe par des caractérisations DSC a permis de mettre au point un diagramme de prédominance des polymorphes.

Les expériences de maturation, effectuées à température ambiante, ont permis de démontrer que la forme B évoluerait bien vers la forme A en solution, par le biais de mécanismes de dissolution – croissance. Cependant, la lenteur de ces transformations montre que c'est l'étape de nucléation qui gouverne la quantité de forme A obtenue dans les poudres finales.

Bien que le système se comporte comme un système monotrope, dans la gamme de température considérée, la conception du procédé de cristallisation devrait être réalisée de telle manière que la forme A cristallise préférentiellement. Comme c'est l'étape de nucléation qui gouverne la nature des poudres obtenues, il faudra non seulement mettre en place une procédure rigoureuse d'ensemencement, mais aussi, bien choisir les domaines de cristallisation (température-solubilité-vitesse de refroidissement) afin de maximiser son rendement.

A partir de ces résultats et des diagrammes de phase des différents polymorphes, il apparaît clairement que le procédé de cristallisation doit être réalisée à faible concentration de la solution initiale avec des semences de la forme A pure.

Chapitre IV

Procédé de cristallisation de l'éflucimibe : *paramètres influençant la qualité des cristaux*

Après avoir déterminé les conditions thermodynamiques et cinétiques de la nucleation des polymorphes A et B de l'éflucimibe, le procédé de cristallisation peut être envisagée. Ce chapitre présente le dispositif expérimental retenu pour mettre en œuvre la cristallisation. L'influence des conditions opératoires est analysée en vue de l'extrapolation.

IV.1 Dispositif expérimental et méthodes

Les expériences de cristallisation ont été réalisées dans une installation automatisée Labmax (Mettler-Toledo), une photographie de l'installation est donnée sur la figure IV.1. Cette partie décrit brièvement les différentes unités de l'installation ainsi que ses avantages et ses inconvénients.

IV.1.1 Description du dispositif expérimental

IV.1.1.1 Conception du cristalliseur

Le cristalliseur et le système d'agitation utilisés dans cette étude sont représentés sur la figure IV.2.

Le cristalliseur est constitué d'une cuve en verre, à fond bombé, d'une capacité nominale de 750mL. Les règles de dimensionnement classiques ont été suivies pour assurer une bonne homogénéisation de la suspension de cristaux (Klein et coll., 1989b). Le diamètre du réacteur, $D_r = 10 \text{ cm}$ est égal à la hauteur de remplissage du liquide, soit $H_L = D_r = 10 \text{ cm}$.

Pour éviter la formation de vortex lors de l'agitation, la cuve est équipée de contre-pales moulées dans la paroi interne du réacteur. Pour des raisons mécaniques (pour éviter l'entrée en résonance du système), le nombre de contre pales est de 4. Elles sont situées de façon diamétralement opposée. La largeur de chaque contre-pale est fixée à $l_p = D_r/10 = 1 \text{ cm}$, et leur hauteur est de 13 cm afin qu'elles dépassent du liquide. Ce type de réacteur est



FIG. IV.1: Photographie de l'ensemble du dispositif expérimental



FIG. IV.2: Photographie du cristalliseur de 750 mL

tout à fait représentatif des réacteurs polyvalents rencontrés dans l'industrie pharmaceutique. L'homogénéisation du système est assurée par un mobile d'agitation à débit axial pompant. Le mobile choisi est un impeller A310 de Lightnin. Ce type d'agitateur offre un grand débit de pompage (forte circulation du fluide dans la cuve et mise en suspension optimale des particules) tout en minimisant le taux de cisaillement. Le dimensionnement du mobile a été effectué en respectant la relation suivante : $d_a = 0,6D_r = 6\text{cm}$ (Klein et coll., 1989b). Pour que la boucle de recirculation soit complète, le mobile est placé à une hauteur correspondant à $1/3$ de la hauteur de liquide. Les caractéristiques et le schéma du mobile d'agitation sont donnés respectivement dans le tableau IV.1 et sur la figure IV.3.

TAB. IV.1: Caractéristiques du mobile d'agitation A310 (Lightnin)

	N_P (Nombre de puissance)	N_Q (Nombre de pompage)	Nbre de pales
A310	0,3	0,5	4



FIG. IV.3: Mobile d'agitation A310

IV.1.1.2 Description de l'unité LABMAX

Le Labmax se présente sous la forme d'une unité compacte constituée de trois modules :

- Une unité de régulation thermique,
- Une unité de contrôle des instruments,
- Un échangeur de chaleur (ou thermostat),

L'unité de contrôle et de régulation thermique permettent d'enregistrer et de contrôler en temps réel les signaux fournis par les différents capteurs de l'installation (turbidité, température, vitesse d'agitation...). L'automate permet de réaliser des expériences, dont le protocole est bien défini, sans l'intervention d'un opérateur. Les erreurs de manipulation sont ainsi évitées, et la répétabilité des expériences est grandement facilitée.

Les différentes entrées du Labmax rendent le système très évolutif en ajoutant par exemple d'autres sondes (Raman, pH et conductivité) des balances ou des pompes. . Il est donc possible d'adapter l'installation aux différents cas d'étude.

Le thermostat permet de réguler très précisément et très rapidement la température du réacteur. Il est représenté schématiquement sur la figure IV.4. La régulation de la température de l'intérieur du réacteur (T_r), est assurée par la circulation d'une huile de silicone (fluide caloporteur). Celle-ci passe par la double enveloppe du réacteur puis par un échangeur à plaques dans lequel circule le fluide provenant du cryostat. Le débit de l'huile de silicone est déterminé par l'unité de régulation du Labmax et ajusté au moyen d'un système d'électro-vannes. Les deux circuits de fluide caloporteur permettent d'une part au système de s'adapter très rapidement aux différentes consignes imposées et d'autre

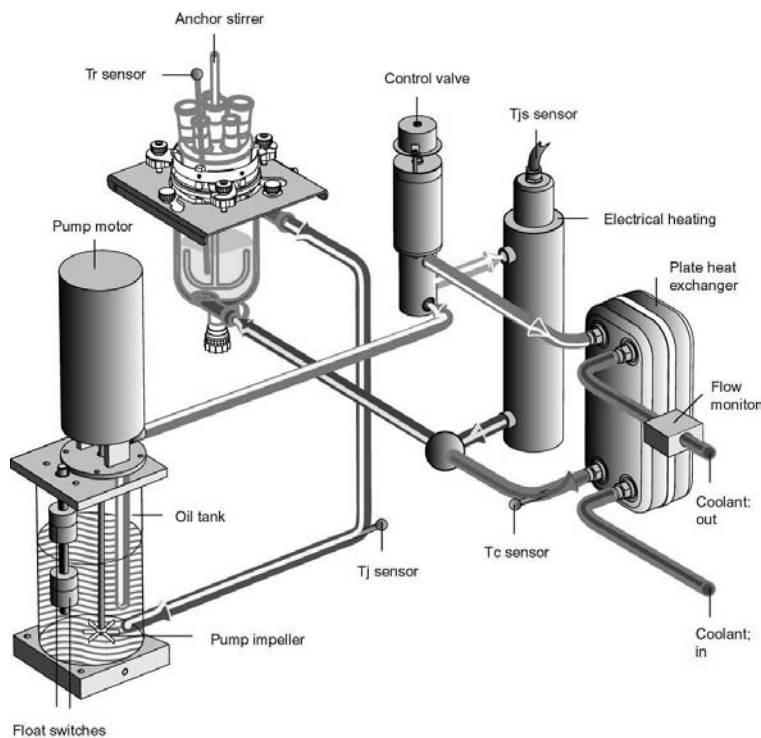


FIG. IV.4: Représentation schématique du système de régulation de température du LabMax

part ils permettent d'atteindre des vitesses de refroidissement très élevées (supérieures à $100\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$). Le capteur de couple de l'agitateur assure une vitesse d'agitation constante, donc indépendante de l'évolution de la viscosité du milieu, tout au long de la cristallisation. La régulation de la vitesse d'agitation fournit de plus, en temps réel, une valeur caractéristique semi-quantitative de la viscosité de la suspension.

IV.1.1.3 Les capteurs utilisés

Outre le capteur de température, qui permet la régulation et l'enregistrement de la température au coeur du réacteur, le suivi en ligne de la cristallisation est effectué à partir de deux capteurs qui permettent d'évaluer la turbidité et le couple moteur de l'agitateur.

IV.1.1.3.1 La sonde de turbidité

Le turbidimètre utilisé dans cette étude est le FSC402 de Mettler-Toledo. La sonde (OFS12H_407N) est basée sur le principe de mesure de la diffusion arrière de la lumière (cf. figure IV.5). Sa construction simple (la source de lumière et le détecteur se trouvent l'un à côté de l'autre) permet des distances de mesure extrêmement courtes rendant l'effet d'absorption quasiment inexistant. De plus, ce type de technologie permet de s'affranchir des erreurs de mesures causées par le phénomène de diffusion multiple. Cependant, l'inconvénient majeur de ces sondes est qu'il n'est possible de mesurer que des valeurs de turbidité relativement importantes car le signal émis de la diffusion arrière est beaucoup plus faible que celui de la diffusion avant. La longueur d'onde de la source lumineuse est proche du domaine infrarouge ($\lambda \approx 0,88\mu\text{m}$).

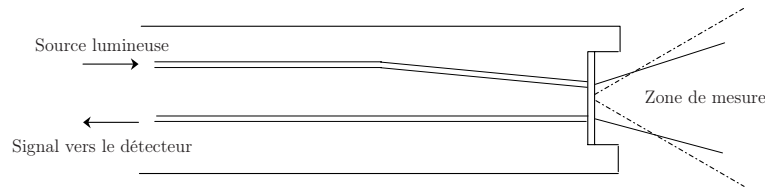


FIG. IV.5: Sonde de mesure de turbidité d'une solution par rétrodiffusion.

La mesure de turbidité est une mesure relative. La sonde est donc étalonnée sur deux valeurs de référence obtenues dans l'éthanol pur à 20 ° C pour la valeur 0% et dans une solution opaque (du lait par exemple) pour la valeur à 100%. La turbidité donne une information quantitative sur la concentration en particules présentes dans le milieu. Cependant, la diffusion de la lumière dépend de la taille des objets à étudier et de la température. Par conséquent, la calibration d'une telle sonde en fonction de la concentration est très délicate pour des systèmes fortement anisotropes et polydispersés (cas de suspensions d'éflucimibe). Dans ce cas, elle ne donne que des informations qualitatives sur la concentration des particules en suspension.

IV.1.1.3.2 Mesure du couple associé au système d'agitation

Le Labmax ne mesure pas la valeur absolue du couple de l'agitateur, mais une grandeur qui lui est proportionnelle, notée R_t , et définie de la manière suivante :

$$R_t(t) \propto \text{Couple} = R_t(t-1) - \sum (R_{set} - R) \Delta t \quad (\text{IV.1})$$

où R_{set} et R sont respectivement la vitesse d'agitation de consigne et celle mesurée. Il faut remarquer cependant que les mesures réalisées par cette méthode sont moins précises que celles réalisées directement avec un couple-mètre. La figure IV.6, issue du guide d'utilisation du Labmax, présente la variation de l'incertitude absolue des mesures en fonction de la vitesse d'agitation. Ce graphe montre clairement une forte augmentation de l'imprécision de la valeur de R_t mesurée quand la vitesse d'agitation augmente. Par exemple, l'incertitude de mesure est doublée lorsque la vitesse passe de 300 à 400 $\text{tr} \cdot \text{min}^{-1}$.

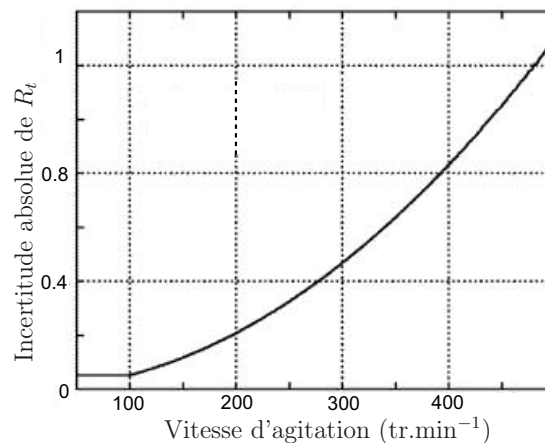


FIG. IV.6: Variation de l'incertitude absolue de mesure de R_t en fonction de la vitesse d'agitation (d'après RXEForum.com).

IV.1.1.4 Avantages et inconvénients de l'installation

L'utilisation du dispositif Labmax pour cristalliser l'éflucimibe a permis de mettre en évidence les avantages et les inconvénients d'une telle installation, ces critères sont résumés dans le tableau IV.2.

TAB. IV.2: *Avantages et inconvénients du système Labmax*

Avantages	Inconvénients
Facilité d'utilisation	Changement du réacteur
Reproductibilité des expériences	Limitations sur la mesure du couple
Sécurité	Sonde de conductivité pas adaptée
Système de régulation très performant	Logiciel pas ou peu modifiable
Contrôle précis des grandeurs mesurées	
Automatisation des tâches	
Système évolutif	

IV.1.2 Caractéristiques des matières premières

Trois lots successifs d'éflucimibe, produits industriellement, ont été utilisés pour cette étude. Ils sont notés OP210, OP220 et OP240. Ces matières premières ont été caractérisées par DSC, BET, HPLC (pour la pureté chimique). Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau IV.3.

TAB. IV.3: *Caractéristiques des produits utilisés*

Lots	Pureté chimique	Surface spécifique ($m^2.g^{-1}$)	Polymorphisme w_A (DSC)
OP210	> 99.9	9,8	0,73
OP220	> 99.9	9,6	0,88
OP240	> 99.9	10,2	0,56

On peut noter que la pureté est identique mais que la proportion de polymorphe A dans le produit est différente selon le lot. Cette différence provient des conditions d'une première cristallisation ayant permis d'obtenir ces produits. Pour nos essais, ces produits sont dissous dans le mélange de solvant éthanol – n-heptane pour réaliser la cristallisation.

IV.1.3 Protocoles expérimentaux

IV.1.3.1 Génération du solide

IV.1.3.1.1 Protocole de cristallisation

La génération du solide est effectuée par cristallisation. Pour cela, une masse de cristaux d'éflucimibe, correspondant à la concentration souhaitée est versée dans le mélange éthanol – n-heptane, préalablement introduit dans le réacteur. La température de la suspension est ensuite augmentée afin d'assurer la dissolution totale des cristaux et atteindre une

température initiale fixée. Lorsque la dissolution est totale, la cristallisation est conduite par refroidissement programmé. L'acquisition des températures (de double enveloppe et de l'intérieur du réacteur), de la turbidité et du couple de l'agitateur est faite en ligne.

Différents modes d'ensemencement ont été étudiés. La poudre à introduire est préalablement broyée finement (broyage au pilon). Lorsque les semences sont introduites en voie humide, une suspension de cristaux et de solution saturée sont préparées dans un erlenmeyer à la température de l'essai. Dans ces expériences, la quantité et la qualité des semences ainsi que la température d'introduction peuvent varier d'une expérience à l'autre. La quantité varie de 0,5% à 2% de la masse à cristalliser et la température d'introduction est comprise entre $T_{sat} - 0,5$ et $T_{sat} - 1$.

Le refroidissement du milieu est interrompu lorsque la température dans le cristalliseur atteint 20°C. A cette température, un prélèvement est effectué et le reste de la suspension est laissé à maturation pendant 5 heures.

L'obtention du produit final sec à partir de la suspension récupérée se fait selon un protocole d'isolement défini dans le paragraphe suivant.

IV.1.3.1.2 Protocole de filtration et de séchage

La première étape d'isolement du solide est réalisée par filtration. Pour cela, la suspension est filtrée pendant 15 minutes sur un filtre millipore sous vide. Un lavage au n-heptane est ensuite effectué. Le solide lavé est filtré à nouveau sous vide pendant 10 minutes.

Le séchage est réalisé en deux étapes. Dans la première étape, le solide est étalé sur un papier filtre puis laissé pendant 15 heures à l'air libre sous une hotte aspirante à 20°C. Pour éliminer toute trace de solvant, la deuxième étape du séchage est effectuée dans une étuve ventilée à 35 ° C pendant 5 heures . La température est laissée volontairement à cette température afin de limiter, au maximum, les transitions solide-solide et d'autre part pour accélérer le processus de séchage.

IV.1.3.2 Caractérisation des cristaux

La détermination de la composition des poudres obtenues en polymorphes est effectuée par DSC, suivant le protocole défini au chapitre II. Dans cette partie, les protocoles opératoires utilisés mais aussi les problèmes rencontrés lors des essais de caractérisation de la forme, de la taille et de la porosité des cristaux sont présentés.

IV.1.3.2.1 Granulométrie laser

La visualisation des cristaux d'éflucimibe (Chapitre II Paragraphe II.1.4) a mis en évidence un faciès en aiguille. Il faut donc s'attendre à une difficulté d'utilisation des techniques granulométriques classiques, essentiellement fondées sur des équivalences avec des objets sphériques. Néanmoins, des essais de mise au point d'une méthode granulométrique ont été réalisés afin de disposer de mesures comparatives entre différents échantillons.

Les essais de détermination de la distribution de taille des cristaux ont été réalisées en utilisant divers protocoles. Toutes ces analyses ont été effectuées à l'aide d'un granulomètre laser Mastersizer 2000 (Malvern Instrument).

La première méthode utilisée est la granulométrie en voie sèche. Les poudres sèches sont introduites dans le compartiment d'échantillonnage (Sirroco, Malvern) et pour ne pas

casser les particules, une faible pression d'aspiration est appliquée. Étant donnée la forte tendance à l'agglomération des particules (particules fortement électrostatiques), ce type d'appareillage ne peut être utilisé. Cette méthode ne donne pas de résultats satisfaisants en termes de reproductibilité et de représentativité des mesures.

La deuxième méthode consiste à analyser les poudres en voie humide. La mesure est réalisée juste après la filtration sur un produit encore humide. L'échantillon prélevé est dispersé dans le n-heptane (non solvant) sous une agitation très douce à 20 ° C. La mesure de granulométrie est effectuée au moyen du micro-échantillonneur (Hydro μP - Malvern instrument). Comme les poudres ont tendance à s'agglomérer, l'échantillon est passé sous ultrasons avant la mesure. Un exemple de la répartition granulométrique obtenue est donné dans la figure IV.7.

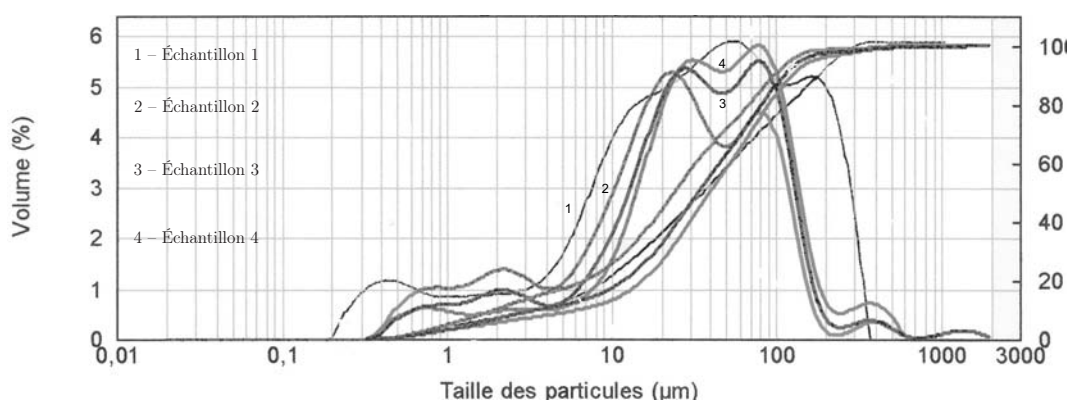


FIG. IV.7: Exemple de répartition de la taille des cristaux obtenue par granulométrie laser en voie humide. Résultats obtenus pour un même lot pour différents échantillonnages.

Cette figure montre que même si les échantillons sont issus d'un même lot, la répartition granulométrique des particules, obtenue pour un même protocole de mesure, varie significativement d'un échantillonnage à l'autre. De plus, les pics observés entre 50 et 100 μm ne correspondent pas à la longueur des aiguilles visualisées au MEB (environ 20 μm). Ils sont caractéristiques de l'agrégation des particules en cours de la mesure. Cet exemple est représentatif de l'ensemble des mesures réalisées par granulométrie laser. Malgré tous les soins apportés pour réaliser cette caractérisation, la granulométrie laser en voie humide pose, dans notre cas, un problème de reproductibilité et de représentativité des mesures.

D'autres essais infructueux ont été réalisés en faisant varier l'intensité et la durée des ultrasons, la quantité de poudres introduite, le temps d'acquisition et la vitesse de circulation de la suspension.

D'après ces résultats, la mesure de la distribution de taille des particules par granulométrie laser n'est pas applicable à notre cas. La notion de taille caractéristique des cristaux d'éflucimibe ne peut donc s'envisager que par visualisation. Elle reste qualitative dans notre étude.

IV.1.3.2.2 Détermination de la surface spécifique : BET

La détermination de la surface spécifique des poudres a été réalisée par mesure BET. L'appareil utilisé est un ASAP de Micromeretics. 1g de poudre est placé sous vide (de

0,004 à 0,006mmHg) pendant 24 heures à 50 ° C afin d'assurer un dégazage optimal de l'échantillon. La surface spécifique est ensuite déterminée en utilisant la théorie BET ; les résultats obtenus sont des moyennes de trois essais dont l'écart type est inférieur à 20%.

IV.1.3.2.3 Microscopie Électronique à Balayage

Des photographies ont été réalisées au microscope électronique à balayage sur des poudres sèches et sur les gâteaux de filtration. Elles permettent de visualiser le faciès et les dimensions des cristaux et d'analyser de façon qualitative l'influence des paramètres du procédé sur ces propriétés.

IV.2 Influence des paramètres du procédé sur le polymorphisme

A l'issue de l'étude des cinétiques de cristallisation (Chapitre III) des domaines de prédominance des polymorphes A et B en fonction de la concentration et de la température ont été déterminés. Sur le plan industriel, la forme A qui serait la forme la plus stable (Chapitre II) est la forme recherchée. Le procédé de cristallisation a donc été mis en œuvre dans le Labmax en poursuivant deux objectifs essentiels. Le premier est de produire la forme A majoritairement. D'après les résultats du chapitre III, cela conduit donc à envisager des cristallisations ensemencées avec ce polymorphe. Le deuxième objectif est de prévoir l'extrapolation du procédé. La première étape est donc de vérifier que les domaines de concentration/température de nucléation et croissance des polymorphes A et B délimités lors des essais effectués dans un réacteur de 150mL sont transposables à l'échelle du Labmax (750mL).

IV.2.1 Influence des matières premières

Comme précisé au paragraphe IV.1.2, trois lots de matière première ont été mis à notre disposition pour cette étude. Afin d'analyser l'influence des matières premières, une série d'expériences a été menée en utilisant les lots OP240, OP220, OP210.

Afin de couvrir une large gamme de conditions opératoires, ces expériences ont été réalisées à deux vitesses de refroidissement (5, et 20 ° C.h⁻¹ et deux concentrations initiales (31,7 et 81,9 mg.g⁻¹). Les cristallisations sont ensemencées avec des cristaux de forme A pure, et la vidange du réacteur est réalisée lorsque la température du milieu atteint 20 ° C (pas de maturation). Le tableau IV.4 présente les résultats obtenus en terme de fraction massique de la forme A dans les cristaux obtenus et de surface spécifique des poudres pour les conditions opératoires utilisées. Ces résultats montrent que, la matière première ne joue pas un rôle majeur dans la cristallisation de l'éflucimibe : la surface spécifique obtenue par BET et la fraction massique de la forme A sont approximativement constantes pour des conditions opératoires fixées. Lors d'essais industriels, ce résultat n'a pas été vérifié pour l'un des lots (OP220) qui a conduit à l'obtention de cristaux majoritairement de forme B. Des poussières ou des impuretés présentes dans le milieu pourraient peut être expliquer ces résultats.

TAB. IV.4: Influence de la matière première sur la fraction massique de forme A et sur la surface spécifique des poudres cristallisées.

Matière première	T ⁰ (K)	C ⁰ (mg.g ⁻¹)	V _{ref} (° C.h ⁻¹)	w _A	S _{sp} (m ² .g ⁻¹)
OP240	45	31,74	5	≈ 1	9,2
	45	31,74	20	≈ 1	9,4
	55	81,89	5	0,13 (±0,02)	9,6
	55	81,89	20	0,15 (±0,03)	9,8
OP210	45	31,74	5	≈ 1	9,6
	45	31,74	20	≈ 1	9,1
	55	81,89	5	0,15 (±0,03)	9,8
	55	81,89	20	0,16 (±0,05)	9,4
OP220	45	31,74	5	≈ 1	9,3
	45	31,74	20	≈ 1	9,2
	55	81,89	5	0,09 (±0,01)	9,7
	55	81,89	20	0,07 (±0,03)	9,5

Comme à l'échelle du laboratoire, la matière première ne semble pas influencer de manière sensible le résultat de la cristallisation, les lots OP240, OP210 et OP220 seront utilisés indifféremment dans la suite de l'étude.

IV.2.2 La maturation

Dans le chapitre III, on a montré que la maturation pouvait être utile pour augmenter sensiblement la quantité de forme A dans les poudres finales. Des essais de maturation ont donc été réalisés pour favoriser la production de la forme A. Dans ces expériences, trois concentrations initiales ont été testées. Les vitesses d'agitation et de refroidissement sont maintenues constantes pendant la cristallisation à de valeurs respectives de 450 tr.min⁻¹ et 10 ° C.h⁻¹. L'ensemencement est réalisé avec des cristaux du polymorphe A. Lorsque la température du cristallisateur atteint 20 ° C, un échantillon est prélevé et analysé en DSC. Le reste de la suspension est maintenue à 20 ° C pendant 5 heures. La composition en polymorphes (DSC) des poudres obtenues en fin de cristallisation (sans maturation) et en fin de maturation sont données dans le tableau IV.5. Ce tableau montre que pour des

TAB. IV.5: Influence de la maturation sur la fraction massique en polymorphe A (V_{ref} = 10 ° C.h⁻¹) pour un temps de maturation de 5 heures

Expérience	C ⁰ (mg.g ⁻¹)	w _A (t _{maturation} = 0)	w _A (t _{maturation} = 5h)
mat03	81,89	0,14	0,09
mat02	43,53	0,97	0,97
mat01	31,74	1	1

concentrations initiales supérieures à 43,53mg.g⁻¹, l'évolution de la fraction massique de

la forme A au cours de la maturation n'est pas celle attendue. Ce résultat surprenant peut être expliqué en regardant l'évolution de la température de l'intérieur du réacteur et celle de la double enveloppe en fonction du temps de maturation, représentées sur les figures IV.8(a) et IV.8(b).

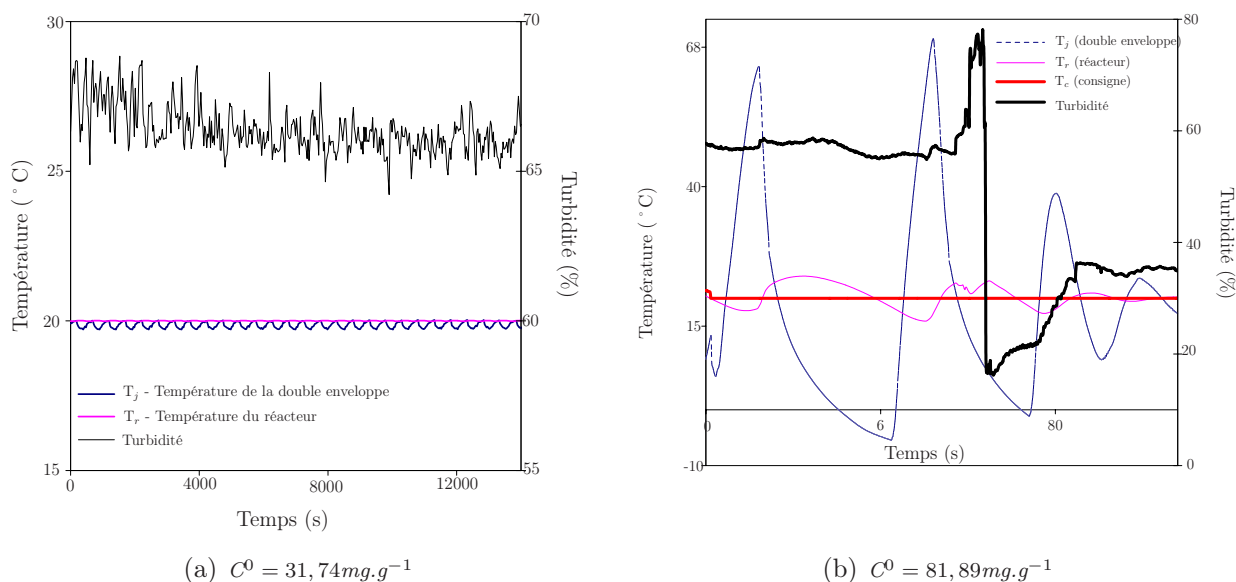


FIG. IV.8: Allure des courbes de turbidité de température du réacteur et de la double enveloppe au cours de la maturation à 20 °C (a) pour $C^0 = 31,74 \text{mg.g}^{-1}$ (b) pour $C^0 = 81,89 \text{mg.g}^{-1}$

La figure IV.8(a) présente une évolution normale des courbes de turbidité et de températures obtenue pour une concentration initiale faible ($C^0 = 31,74 \text{mg.g}^{-1}$). En revanche lorsque la concentration initiale est plus importante, au cours de la cristallisation, la suspension évolue vers un système très structuré qui prend en masse. Il en résulte une forte diminution de l'efficacité des transferts thermiques paroi - suspension. Le système s'adapte donc pour maintenir la température de consigne. Comme en témoigne les courbes de turbidité et de températures présentées sur la figure IV.8(b), cet état entraîne donc des différentiels de températures très importants au sein du réacteur, responsables des phénomènes de dissolution - recristallisation non maîtrisés.

A partir de ces résultats, la maturation pour ce dispositif expérimental ne peut être envisagé lors de la production des cristaux de forme A de l'efflucimibe. En effet, à faible concentration, elle ne joue pas un rôle important, et d'autre part, à forte concentration, elle ne peut être maîtrisée.

IV.2.3 Définition d'un protocole d'ensemencement

La nucléation contrôle la qualité des poudres obtenues et en vue de l'extrapolation du procédé, des protocoles d'ensemencement sont proposés. Il faut noter cependant qu'il n'a pas été possible de réaliser un ensemencement avec la forme A en maintenant une température constante et inférieure à la température de saturation du polymorphe B. De plus, d'un point de vue industriel, il paraît difficile de maintenir une température constante et homogène dans l'ensemble du réacteur à 0,5 ou 1 °C près.

L'objectif de cette étude est de définir un protocole d'ensemencement dans des conditions de cristallisation fixées (vitesse de refroidissement, vitesse d'agitation, concentration initiale). Deux modes d'introduction des semences (voie sèche, voie humide) ont été testés. L'influence de la qualité et de la quantité des semences introduites a aussi été évaluée.

IV.2.3.1 Ensemencement en voie sèche

IV.2.3.1.1 Influence de la quantité de semences

Les expériences ont été réalisées à une concentration initiale de $43,53 \text{ mg.g}^{-1}$ pour une vitesse d'agitation et une vitesse de refroidissement constante, respectivement 450 tr.min^{-1} et $10 \text{ }^\circ\text{C.h}^{-1}$. Les semences (de forme A pure) sont introduites à $45 \text{ }^\circ\text{C}$ avec une quantité (w_s) variant de 0,5% à 1,5% de la masse à cristalliser. Les résultats obtenus en terme de turbidité sont présentés sur la figure IV.9.

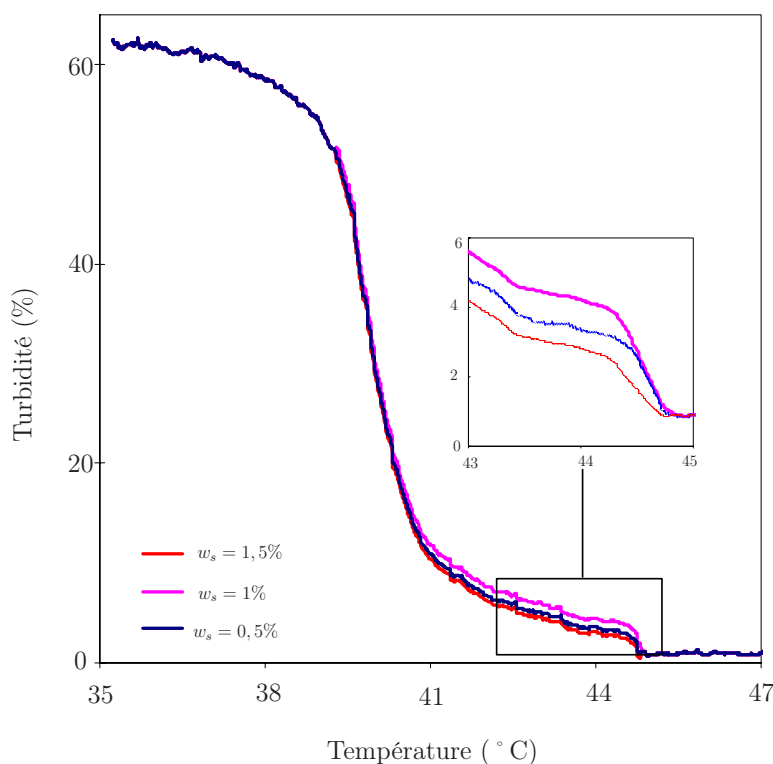


FIG. IV.9: Allure des courbes de turbidité des expériences réalisées à $C^0 = 43,53 \text{ mg.g}^{-1}$ $V_{ref} = 10 \text{ }^\circ\text{C.h}^{-1}$ en fonction de la quantité de semences (A pure) introduites.

L'évolution de la turbidité (de droite à gauche sur la figure IV.9) montre une augmentation progressive de la turbidité jusqu'à $41 \text{ }^\circ\text{C}$ et une élévation brutale du signal pour les températures supérieures, jusqu'à atteindre un palier. Pour les trois quantités de semences testées, les courbes se superposent. Toutefois, dans la zone d'ensemencement (partie encadrée sur la figure IV.9) on peut noter une différence de niveau des paliers de turbidité. Ces résultats montrent que la quantité de semences introduites (entre 0,5% et 1,5%) joue un rôle négligeable sur les courbes de turbidité. En effet, la seule influence perçue, se situe peu de temps après l'introduction des semences : le premier palier de turbidité est plus important lorsque la quantité de semences diminue.

Les analyses DSC sur les poudres obtenues en fin de cristallisation, présentées sur la figure IV.10, donnent rigoureusement les mêmes résultats : 100% de forme A quelques soient la quantité de semences introduites.

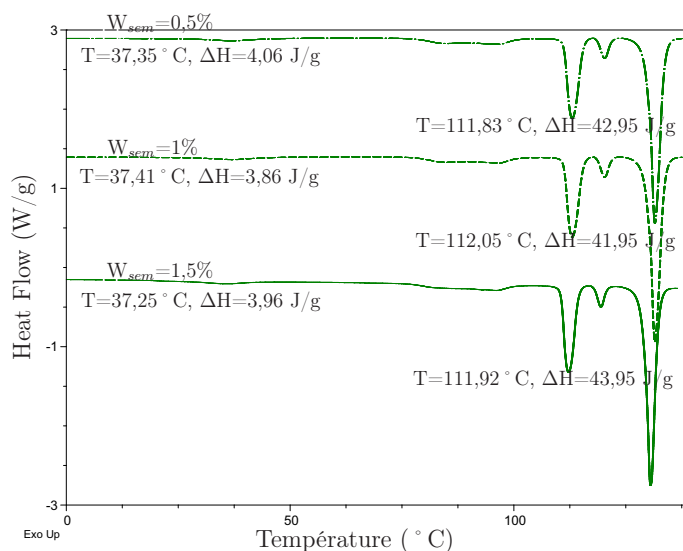


FIG. IV.10: Résultats de la DSC sur les poudres obtenues après cristallisation lorsque 0,5%, 1% ou 1,5% de semences de forme A sont introduites.

Ce résultat est important car d'un point de vue du polymorphisme, la quantité de semence introduites ne joue pas un rôle primordial, il faut cependant introduire suffisamment de « surfaces » pour induire la nucléation secondaire de la forme souhaitée et pour éviter leur dissolution.

IV.2.3.1.2 Influence de la qualité des semences

Afin de mettre en évidence l'importance de la qualité des semences introduites, des expériences ont été réalisées avec des semences contenant des quantités variables de formes A et B.

L'ensemencement est réalisé lorsque la température de saturation de la forme A est atteinte. Deux qualités de semences ont été utilisées, elles ont été obtenues à partir d'expériences réalisées précédemment. Les semences de type A_I, et A_{II} contiennent respectivement $\approx 90\%$ et 60% de forme A.

Les courbes de turbidité enregistrées sont identiques à celles obtenues précédemment lorsque 1% de semences sont introduites. On observe donc encore que la nature des polymorphes de la semence n'influence pas la cinétique de nucléation de façon détectable.

Le tableau IV.6 donne la composition des poudres obtenues en fonction de la qualité des semences introduites.

TAB. IV.6: Influence de la «qualité» des semences sur la fraction massique de forme A contenue dans les poudres cristallisées ($V_{ref} = 10^\circ \text{C.h}^{-1}$)

C (mg.g ⁻¹)	Semences	w _A
31,74	A pur	1
	AI	0,47
	AII	0,29
81,89	A pur	≈0,15
	AI	0,15
	AII	0,08

Pour l'expérience réalisée à 31,74mg.g⁻¹, l'introduction de semences contenant même une très faible quantité du polymorphe B provoque la prolifération de la forme B dans le produit final. En effet, si l'on compare les résultats obtenus avec les semences A_I et A_{II}, et ceux obtenus lors d'un ensemencement réalisé avec de la forme A pure, la quantité de polymorphe A obtenu dans les cristaux est divisée par respectivement 2 et 3. En outre, par rapport à la composition initiale des semences, un enrichissement de 50% en forme B est observé.

Pour l'expérience réalisée à forte concentration, dans tous les cas, l'apparition de la forme B est favorisée. L'influence de la qualité des semences est négligeable.

Ces expériences montrent que l'ensemencement doit être réalisé impérativement avec des cristaux du polymorphe A soigneusement caractérisés jusqu'à la concentration initiale limite de 45 mg.g⁻¹. Au delà, quelle que soit la nature des semences introduites, on obtient le polymorphe B (résultats identiques à ceux obtenus lors du chapitre III).

IV.2.3.2 Ensemencement en voie humide

Deux essais de cristallisation avec ensemencement en voie humide ont été réalisés pour des concentrations initiales de 43,53 mg.g⁻¹ et 81.89 mg.g⁻¹. La quantité de semences introduite correspond approximativement à 1% de la masse totale à cristalliser. Les résultats DSC obtenus sur les poudres finales sont donnés dans le tableau IV.7.

TAB. IV.7: Influence du mode d'introduction des semences (sec ou humide) sur la fraction massique de forme A contenue dans les poudres cristallisées ($V_{ref} = 10^\circ \text{C.h}^{-1}$)

C (mg.g ⁻¹)	Mode	w _A
43,53	Sec	0,98
	Humide	1
81,89	Sec	≈ 0,1
	Humide	≈ 0,1

Ce tableau montrent que dans ce cas, l'activation des semences n'influence pas de manière significative la fraction massique de forme A obtenue dans les poudres finales. De

plus, l'évolution de la turbidité en fonction de la température ne semble pas être influencée par un ensemencement en voie humide.

Même si ce type d'ensemencement n'apporte pas d'avantage sur la cristallisation du polymorphe A de l'éflucimibe, il est fortement recommandé pour une cristallisation à l'échelle industrielle. En effet, l'introduction de semences en voie humide permet notamment de limiter les risques en terme de sécurité des opérateurs (poudres très volatiles, introduction au moyen d'une pompe), mais aussi d'éviter la pollution des semences par des corps étrangers (poussières).

IV.2.3.3 Conclusion : protocole d'ensemencement retenu

A l'échelle du laboratoire, comme le risque de pollution des semences est limité, et comme la formation du polymorphe de forme A n'est pas influencée par le mode d'introduction, les ensemencements sont réalisés en voie sèche pour des raisons de commodité de mise en œuvre. A l'échelle industrielle, un mode d'ensemencement en voie humide paraît plus adapté.

Les cristaux introduits (forme A pure) seront préalablement caractérisés et broyés très finement afin d'augmenter l'efficacité de la nucléation secondaire de surface. La quantité introduite est de 1% de la masse à cristalliser.

IV.2.4 Vérification des domaines de prédominance des formes polymorphes

Des essais ont été menés selon le protocole décrit au paragraphe IV.1.3. Les résultats sont présentés dans le tableau IV.8. Ces résultats montrent que même si les compositions

TAB. IV.8: Fraction massique de forme A (W_A) obtenue dans le cristalliseur de 750mL avec un ensemencement en forme A pour différentes vitesses de refroidissement et différentes concentrations initiales

	Concentration initiale ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	31,74	43,53	59,69	81,89
$V_{ref} = 5^\circ \text{C}\cdot\text{h}^{-1}$	1	1	0,3	0,1
$V_{ref} = 10^\circ \text{C}\cdot\text{h}^{-1}$	1	0,98	0,3	0,11
$V_{ref} = 20^\circ \text{C}\cdot\text{h}^{-1}$	1	1	0,4	0,16

en polymorphes obtenues ne sont pas rigoureusement identiques à celles obtenues précédemment, la tendance est respectée, et les domaines de prédominance obtenus pour un volume de 150 mL peuvent être extrapolés à l'échelle du Labmax.

Dans ces expériences, le volume du réacteur autorise la réalisation de prélèvements en cours de refroidissement. Le matériel (seringue en verre, filtres, buchner) est préalablement chauffé à la température de l'essai. Connaissant la masse totale prélevée et la masse de solide sec récupéré, il est possible de connaître la concentration de la solution à chaque prélèvement. En outre, des analyses DSC ont été réalisées pour connaître l'évolution de la composition en polymorphes au cours du temps. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV.9.

TAB. IV.9: Résultats des prélèvements réalisés pour les expériences de cristallisations effectués avec ensemencement en forme A à 10°C.h^{-1}

C^0 (mg.g ⁻¹)	T_{prl} (K)	$C - C_A^*$ (mg.g ⁻¹)	$C - C_B^*$ (mg.g ⁻¹)	Rendement	w_A (DSC)
81,79	326,5	8,35	4,07	2%	0,75
	325,3	5,70	2,38	10%	0,65
	324,7	2,93	2,15	17%	0,53
	320,5	3,79	1,37	37%	0,33
	318,9	4,87	2,61	42%	0,18
	317,2	3,66	1,72	49%	0,15
	315,5	2,60	0,98	56%	0,13
	307,7	2,20	0,57	74%	0,11
	298,2	1,17	0,12	87%	0,11
59,69	319,9	10,05	7,70	4%	0,70
	318,3	7,03	4,36	18%	0,64
	317,1	3,07	1,85	36%	0,56
	315,9	2,73	0,69	36%	0,47
	314,8	2,68	1,01	40%	0,41
	307,3	2,19	1,33	62%	0,31
	304,4	2,08	1,19	69%	0,30
	295,3	0,95	0,55	82%	0,27
43,53	316,3	5,26	3,26	2%	0,95
	315,0	6,03	5,05	7%	0,96
	313,6	5,40	4,29	16%	0,97
	312,0	2,88	1,67	30%	0,98
	310,0	0,86	-0,36	42%	0,98
	308,3	0,65	-0,40	48%	0,98
	302,8	0,32	-0,41	63%	0,98
	298,3	0,80	-0,09	72%	0,98
31,74	312,1	3,54	2,32	0%	1,00
	310,9	4,52	2,90	4%	1,00
	309,6	3,63	2,25	14%	1,00
	307,4	1,01	-0,60	34%	1,00
	305,9	0,21	-0,93	42%	1,00
	298,9	0,23	-0,40	60%	1,00
	295,2	0,20	-0,12	68%	1,00
	286,1	0,22	-0,11	68%	1,00

Les fractions massiques de forme A obtenues en fin de cristallisation sont identiques à ceux du tableau IV.8. Pour les expériences réalisées à faible concentration, l'ensemencement est réussi et la fraction massique en forme A est constante. En revanche, pour des

concentrations initiales élevées la fraction massique en forme A, diminue au cours de la cristallisation, mais sa masse cristallisée augmente.

Les résultats obtenus en terme de différence de concentration montrent que la nucléation a lieu lorsque la solution est sursaturée pour les formes A et B, peu de temps après l'introduction des semences. D'autre part, pour les expériences réalisées à des concentrations initiales de 59,69 et 81,89 mg.g⁻¹, la solution n'est jamais sous-saturée en forme B ($\Delta C_B > 0$).

L'augmentation de la masse cristallisée de la forme A au cours du refroidissement suggère que les processus de nucléation et de croissance des deux polymorphes ont lieu simultanément pour des concentrations initiales élevées. La solution n'est jamais sous-saturée en forme B, il est donc impossible que cette forme se dissolve. Par conséquent, l'augmentation de la quantité de polymorphe A obtenue dans les poudres ne peut être due aux phénomènes de croissance – dissolution.

En conclusion, du point de vue du polymorphisme, l'obtention de la forme A pure (où très fortement majoritaire) ne peut être assurée, de manière reproductible, que lorsque la cristallisation, ensemencée avec la forme A, est réalisée pour des concentrations initiales faibles ($C^0 < 50\text{mg.g}^{-1}$).

IV.3 Influence des paramètres opératoires sur les propriétés d'usage de la suspension

Cette partie regroupe les résultats expérimentaux obtenus lors de la cristallisation de l'éflocimibe. Quelle que soit la nature du polymorphe formé, la suspension de cristaux évolue vers un ensemble très structuré qui prend en masse. L'amélioration des étapes de filtration et de séchage, en vue de l'extrapolation du procédé, nécessite donc le contrôle de l'évolution de la structuration de la suspension au cours de la cristallisation. En effet, même si l'on contrôle la forme polymorphe obtenue lors du procédé, l'extrapolation de cette cristallisation sera fortement limitée par la prise en masse du milieu.

L'objectif de ce paragraphe est donc de comprendre les mécanismes de structuration de la suspension au cours de la cristallisation. Pour cela, l'influence des paramètres opératoires sur la cinétique de structuration est étudiée. Cette analyse est effectuée à partir d'une expérience de référence.

IV.3.1 Définition d'une cristallisation de référence

L'expérience de référence a été définie, au niveau du laboratoire, en favorisant les conditions d'obtention de la forme A tout en conservant un rendement et une productivité correcte. Elle est notée R01, et regroupe les conditions opératoires suivantes :

- La concentration initiale en éflocimibe est fixée à 43,53 mg.g⁻¹.
- La vitesse de refroidissement est de 10 °C.h⁻¹ pendant toute le refroidissement.
- A la fin de la cristallisation, il n'y a pas de maturation, les cristaux sont immédiatement filtrés dès que la température de 20 °C est atteinte.

- La vitesse d'agitation a été déterminée pour assurer une bonne homogénéisation du réacteur. Pour l'expérience de référence, elle est de $450 \text{tr} \cdot \text{min}^{-1}$.
- L'ensemencement (forme A pure, voie sèche) est réalisé dès que la température de saturation de la forme A est atteinte. La quantité de semences correspond à 1% de la masse à cristalliser.

La reproductibilité de l'expérience de référence a été évaluée sur trois expériences. Pour chacune d'entre elles, les valeurs du couple, de la turbidité, et la température de prise en masse sont enregistrées et sur les poudres sèches, des analyses BET ont été réalisées. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau IV.10.

TAB. IV.10: *Reproductibilité de l'expérience de référence, R01*

	Prise en masse T_{pm} (° C)	Couple moyen R_t	Surface spécifique BET ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
Essai 1	33,7	≈ 1	9,2
Essai 2	32,4	$\approx 0,7$	9,3
Essai 3	34,1	$\approx 0,4$	9,2
Moyenne (M)	33,4	0,6	9,2
Écart type (E)	0,9	0,4	0,06
$C_V(E/M)$	2,5%	67%	0,6%

Mises à part les valeurs concernant l'évolution du couple, les résultats obtenus caractérisent un niveau de reproductibilité très satisfaisant ($E < 3\%$).

Comme le montre la figure IV.11, l'évolution de la grandeur caractéristique du couple, R_t ne semble pas reproductible ni représentative. En effet, pour ces trois expériences, la variation de R_t au cours de la cristallisation est toujours inférieure au seuil de sensibilité des mesures. Ce capteur ne peut donc pas être utilisé pour caractériser la prise en masse du système. Deux hypothèses peuvent être alors émises quant à ces résultats. D'une part, le capteur n'est pas assez sensible pour détecter l'évolution de la viscosité du milieu et d'autre part, l'agitateur creuse et repousse la masse de cristaux dans sa périphérie de telle manière que le capteur ne perçoive pas l'effet de la prise en masse.

La température de prise en masse a été détectée visuellement, et à partir du profil de température de la double enveloppe. En effet, lorsque la prise en masse du système est atteinte les échanges thermiques paroi - jus de cristallisation sont moins efficaces. Le système de régulation adapte donc la température de la double enveloppe pour maintenir la température de l'intérieur du réacteur à la température de consigne. Ceci se traduit par des «accidents» sur le profil de température de la double enveloppe (Cf. figure IV.12). Une valeur moyenne de la température de prise en masse de $33,39 \text{ ° C} (\pm 0,87)$ est obtenue pour l'expérience de référence avec une bonne reproductibilité.

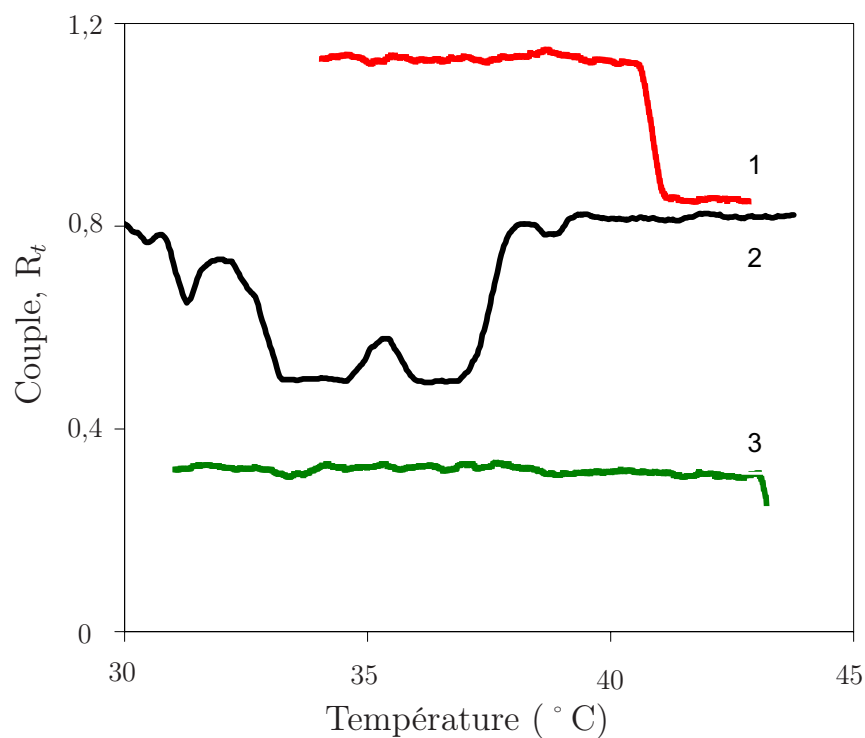


FIG. IV.11: Évolution du couple de l'agitateur pour les trois expériences de référence au cours du refroidissement

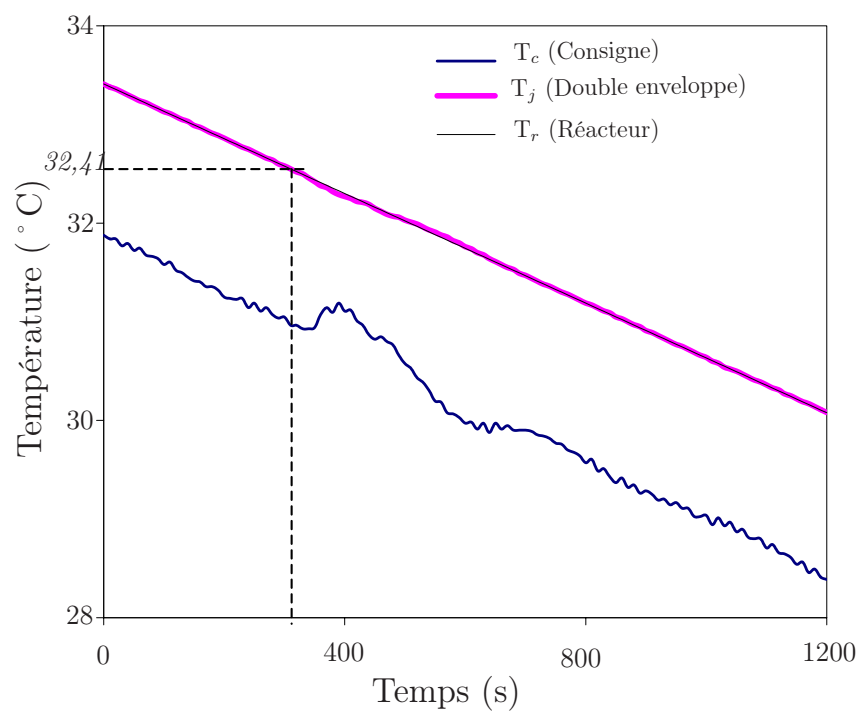


FIG. IV.12: Exemple d'évolution de la température (double enveloppe, réacteur, consigne) pendant la prise en masse (Essai 3)

La figure IV.13 présente la variation de la turbidité de l'expérience de référence. La reproductibilité des mesures a été estimée par un intervalle de confiance défini de la manière suivante :

$$IC = Moyenne \pm \frac{2Cv.Moyenne}{\sqrt{3}} \quad (IV.2)$$

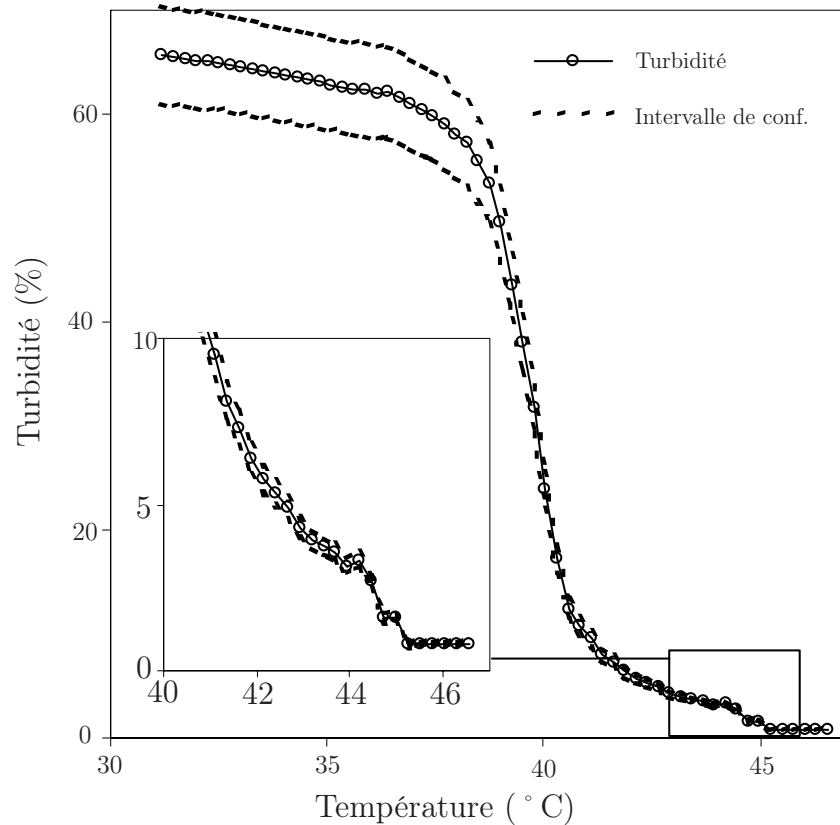


FIG. IV.13: Évolution de la valeur moyenne de la turbidité et de l'intervalle de confiance au cours du refroidissement

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une reproductibilité des mesures correcte avant la prise en masse ($E < 10\%$). La courbe de turbidité peut être divisée en trois parties : la première portion (notée I sur la figure) correspond à l'introduction des semences suivie d'une faible augmentation de la turbidité (temps d'induction et début de la nucléation). Ensuite, la turbidité augmente brutalement (portion notée II). Enfin, dans la troisième portion (notée III), elle croît de nouveau lentement pour atteindre un palier autour de 70%.

Les prélèvements présentés précédemment (cf. tableau IV.9) sont en accord avec l'évolution de la turbidité : avant 42 °C, la concentration de la solution évolue lentement puis elle chute brutalement pour atteindre la solubilité ($T \approx 39$ °C).

En terme de reproductibilité, les écarts assez importants observés en dessous de $T=35$ °C, sont dus à la structuration de la suspension (précédant la prise en masse) qui gêne la mesure de turbidité. En outre, il n'est pas possible de détecter la prise en masse du système

à l'aide de cette sonde, et, au delà de cette prise en masse, il est difficile de savoir ce que le capteur mesure.

La surface spécifique, obtenue par mesure BET, est faible ($S_s = 9,2m^2.g^{-1}$). Les cristaux ne semblent donc pas être poreux. De plus, la reproductibilité des mesures est très bonne.

IV.3.2 Influence des paramètres opératoires du procédé

A partir de cette expérience de référence, l'influence des paramètres opératoires sur la structuration de la suspension, en cours de cristallisation, peut être étudiée. Les paramètres opératoires considérés sont :

- la concentration initiale de l'efflucimibe en solution,
- le profil de refroidissement,
- la vitesse d'agitation.

Le tableau IV.11 regroupe l'ensemble des expériences réalisées pour étudier l'influence des conditions opératoires.

TAB. IV.11: Liste des expériences réalisées pour l'étude des paramètres opératoires du procédé. Toutes les cristallisations sontensemencée (voie sèche) avec 1% de forme A pure.

Reference de l'expérience	Vitesse de Refroidissement ($^{\circ}C.h^{-1}$)	Concentration initiale ($mg.g^{-1}$)	Vitesse d'agitation ($tr.min^{-1}$)	Paramètres étudiés
R01	10	43,53	450	Expérience de référence
EC31	10	31,74	450	Concentration initiale
EC60	10	59,69	450	
EC82	10	81,89	450	
EV60-5	5	59,69	450	Vitesse de refroidissement
EV60-8	8,5	59,69	450	
EV60-20	20	59,69	450	
EV82-5	5	81,89	450	Concentration initiale et
EV82-8	8,5	81,89	450	
EV82-20	20	81,89	450	Vitesse de refroidissement
EN200	10	43,53	200	Vitesse d'agitation
EN350	10	43,53	350	
EN600	10	43,53	600	
EN45-80	10	43,53	80	
EN45-50	10	43,53	50	
EN31-80	10	31,74	80	Vitesse d'agitation et Concentration initiale
EN31-50	10	31,74	50	

IV.3.2.1 Influence de la concentration initiale

Lors de ces expériences, l'effet de la concentration initiale sur la structuration de la suspension a été étudiée pour quatre concentrations : 31,74 ; 43,53 ; 59,69 ; 81,89 mg.g⁻¹. Les vitesses de refroidissement et d'agitation ont été fixées à 450 tr.min⁻¹ et 10 ° C.h⁻¹.

Les données de prise en masse de la suspension (température concentration) et la surface spécifique des cristaux produits sont données dans le tableau IV.12.

TAB. IV.12: Influence de la concentration initiale sur la surface spécifique des cristaux, la température et la concentration de prise en masse du magma

Lots	T_{pm} (° C)	ΔT_{pm} (K)	ΔC_{pm} (mg.g ⁻¹)	BET (m ² .g ⁻¹)
ER01	33,39	11,61	24,61	9,2
EC31	-	-	9,6	
EC60	43,72	6,28	25,05	9,8
EC82	49,82	5,18	25,76	9,5

Les résultats obtenus par mesure BET montrent que la surface spécifique des poudres sèches ne varie pas de manière significative d'une expérience à l'autre.

Les résultats montrent que plus la concentration initiale est élevée, plus la température de prise en masse est grande. Pour l'expérience réalisée à une concentration initiale de 31,74mg.g⁻¹, aucune prise en masse n'a été détectée. D'un point de vue du procédé, il est donc préférable d'opérer à faible différence de concentration ($\Delta C = C^{final} - C^0 \leq 21\text{mg.g}^{-1}$) pour assurer une bonne homogénéisation du réacteur pendant la cristallisation.

La température de prise en masse peut être transposée en terme de différence de concentration entre la solution initiale et la solution à l'équilibre à la température de prise en masse ($\Delta C = C^0 - C^*(T_{PM})$). La valeur obtenue pour les trois expériences se situe autour de 23 mg.g⁻¹. Cette valeur donnerait donc une indication du seuil de concentration au delà duquel la prise en masse a lieu. Ce résultat permet d'expliquer aussi l'absence de prise en masse pour l'expérience EC31. En effet, à 20 ° C, la concentration à l'équilibre est de l'ordre de 10 mg.g⁻¹, la différence maximale de concentration est alors de approximativement 20mg.g⁻¹, ce qui est inférieur au seuil trouvé précédemment.

En outre, entre les expériences ER01, EC60 et EC82 la valeur du seuil augmente sensiblement. Cette tendance est due à l'augmentation de température, qui entraînerait une diminution de la viscosité et donc une meilleure «fluidité» de la suspension.

Les évolutions de la turbidité enregistrées au cours du refroidissement sont présentées sur la figure IV.14.

L'allure des courbes obtenues pour les expériences ER01, EC60, et EC82 sont similaires. Après ensemencement, la nucléation ne démarre pas immédiatement (faible pente de turbidité). Ensuite, une fois la nucléation démarrée, la turbidité augmente brutalement pour atteindre un palier autour de 65% - 70 %.

Pour l'expérience EC31, la turbidité n'atteint pas le palier observé précédemment dans la gamme de température étudiée, elle continue à augmenter légèrement. La prise en masse

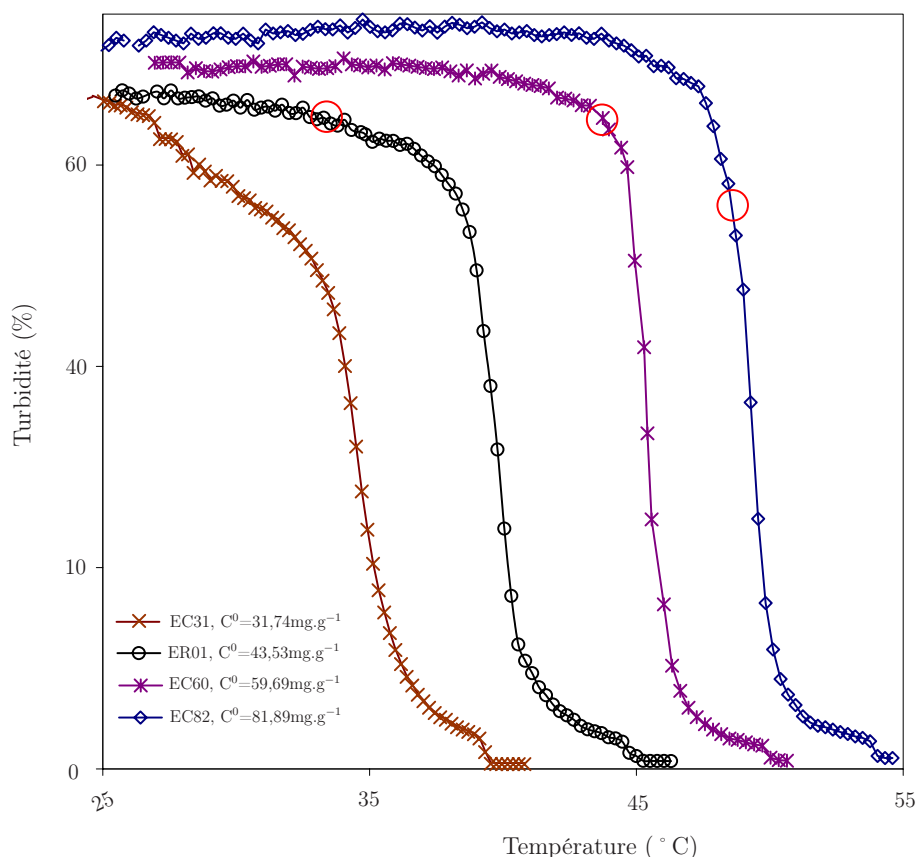


FIG. IV.14: Évolution de la turbidité au cours du refroidissement pour différentes concentrations initiales ($V_{ref}=10^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ et $N=450\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$). Les cercles représentent la prise en masse du système.

du système pourrait être responsable du palier de turbidité. En effet, l'agglomération autour de la sonde peut obstruer le capteur, qui ne reçoit plus d'informations sur la suspension mais uniquement sur l'agglomérat qui l'entoure.

Les cercles représentés sur les courbes de turbidité indiquent la prise en masse du système (figure IV.14). Étant donnée la pente élevée des courbes et les incertitudes sur les températures de prise en masse, il est difficile de mettre en évidence un lien entre la turbidité et la prise en masse du système. Cependant pour ces trois expériences, la prise en masse se situe peu après l'augmentation brutale de turbidité, et dans une gamme comprise entre 55% et 65%.

IV.3.2.2 Influence de la vitesse de refroidissement

Afin de mettre en évidence l'influence de la vitesse de refroidissement sur la cristallisation, deux séries d'expériences ont été réalisées. Dans la première, la concentration initiale est fixée à $45,53\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ et la vitesse d'agitation à $450\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau IV.13.

TAB. IV.13: Influence de la vitesse de refroidissement sur la surface spécifique, la température et la concentration de prise en masse pour $C^0=43,53\text{mg.g}^{-1}$ et $N=450\text{tr.min}^{-1}$.

Essais	V_{ref}	T_{pm} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔC_{pm} (mg.g^{-1})	BET ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)
ER01	10	33,39	24,61	9,2
EV5	5	35,21	22,33	9,4
EV8	8,5	31,11	22,93	9,2
EC20	20	34,84	21,53	9,2

Ces résultats montrent que la vitesse de refroidissement influence peu la surface spécifique et la prise en masse du système. De la même manière, les allures des courbes de turbidité, présentées sur la figure IV.15, sont peu influencées par la vitesse de refroidissement. La seule influence notable de la vitesse de refroidissement est l'augmentation de la longueur du palier de turbidité observée (zone I) lorsque la vitesse augmente.

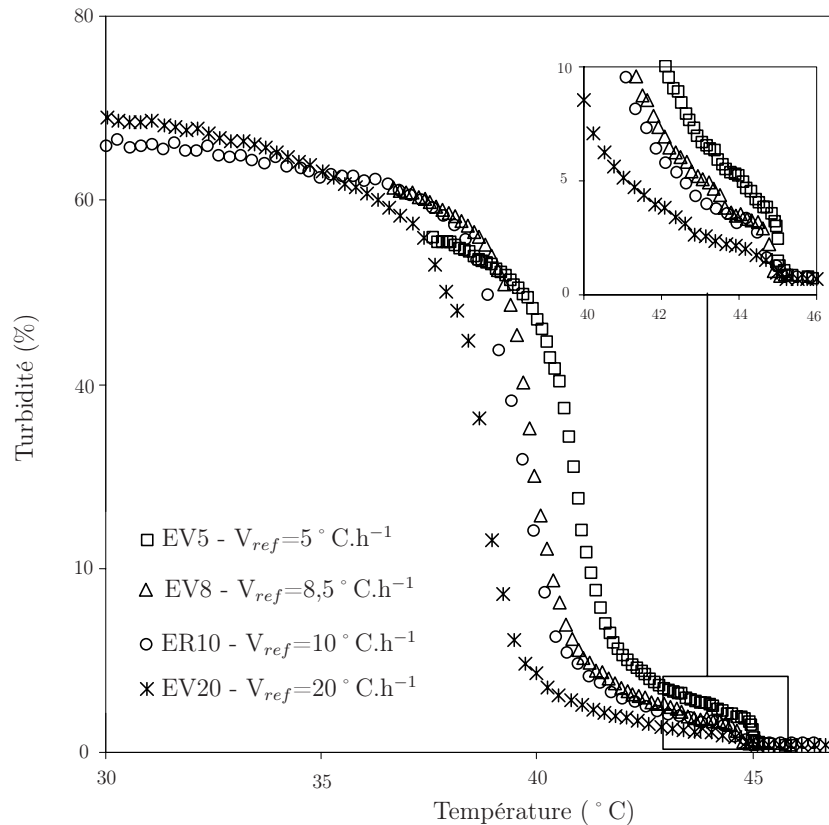


FIG. IV.15: Évolution de la turbidité au cours du refroidissement pour différentes vitesses de refroidissement ($C^0=43,53\text{mg.g}^{-1}$ et $N=450\text{tr.min}^{-1}$)

Afin de vérifier si ces observations sont valables pour des températures plus élevées, une deuxième série d'expériences a été réalisée en augmentant la concentration initiale en solide. Les résultats obtenus, ainsi que les conditions opératoires correspondantes, sont présentés dans le tableau IV.14.

TAB. IV.14: Influence de la vitesse de refroidissement sur le BET, la température et la concentration de prise en masse pour $C^0=59,69\text{mg.g}^{-1}$ puis $81,89\text{mg.g}^{-1}$ et $N=450\text{tr.min}^{-1}$.

Essais	V_{ref}	T_{pm} (°C)	ΔC_{pm} (mg.g ⁻¹)	BET (m ² .g ⁻¹)
ER01	10	33,39	24,61	9,2
EV60-5	5	41,89	24,03	9,3
EV60-8	8,5	43,7	24,12	9,6
EC60	10	4,72	25,09	9,8
EC60-20	20	43,73	23,22	9,3
EV82-5	5	48,85	25,71	9,7
EV82-8	8,5	47,93	26,85	9,5
EC82	10	48,89	25,76	9,5
EV82-20	20	49,52	26,12	9,1

Cette série d'expériences confirme les tendances observées précédemment. A la lumière des ces résultats, il est clair que la vitesse de refroidissement ne joue pas un rôle prépondérant sur la prise en masse du système. Quel que soit la vitesse d'agitation, la concentration critique de prise en masse se situe autour de 22-25 mg.g⁻¹ pour une concentration initiale de 45,53mg.g⁻¹. Cette valeur seuil augmente légèrement avec la température (à cause notamment de la viscosité du milieu).

IV.3.3 Influence de la vitesse d'agitation

L'hydrodynamique du réacteur est un paramètre très important dans les procédés de cristallisation. L'agitation doit être conçue pour optimiser les transferts de matière, de chaleur et la mise en suspension des cristaux formés, tout en limitant leur brisure (impact sur les pales de l'agitateur ou contraintes de cisaillement trop élevées).

Dans cette étude, les expériences ont été divisées en deux parties. La première concerne l'étude d'une agitation de puissance moyenne à élevée. Dans la deuxième série de très faibles vitesses d'agitation ont été testées.

IV.3.3.1 Vitesse d'agitation moyenne à élevée

Cette série à été réalisées pour des vitesses d'agitation variant de 200 à 600tr.min⁻¹ pour une concentration initiale de 43,53mg.g⁻¹ et une vitesse de refroidissement de 10 °C.h⁻¹. Les résultats obtenus ainsi que les conditions opératoires correspondantes sont donnés dans le tableau IV.15. Ces résultats montrent que la température de prise en masse diminue lorsque la vitesse d'agitation augmente. La stabilité d'une suspension, et donc la prise en masse, dépend d'un équilibre entre les forces hydrodynamiques (de transport et de cisaillement) et les forces interparticulaires (Van de Waals, électrostatiques, hydratation...). Par conséquent, une augmentation de la vitesse d'agitation favorise la rupture des agrégats mais augmente aussi la probabilité de rencontre des particules (le nombre de collisions augmente). Il paraît donc difficile de prévoir et d'évaluer l'influence de l'agitation sur la prise en masse du système, il faudrait décorrélérer les différents effets.

TAB. IV.15: Influence de la vitesse d'agitation sur la surface spécifique, la température et la concentration de prise en masse pour $C^0=43,53\text{mg.g}^{-1}$ et $V_{ref}=10^\circ\text{C.h}^{-1}$.

Essais	N (tr.min ⁻¹)	P/V (W.kg ⁻¹)	T _{pm} (°C)	ΔC _{pm} (mg.g ⁻¹)	BET (m ² .g ⁻¹)
ER01	450	0,272	33,39	24,61	9,2
EN200	200	0,017	34,91	23,03	9,1
EN350	350	0,093	33,715	24,26	9,3
EN600	600	0,471	33,65	24,71	9,6

Les courbes de turbidité obtenues sont présentées sur la figure IV.16. D'après cette figure, la vitesse d'agitation influence la pente de la courbe de turbidité et la longueur du palier de turbidité observé peu après l'introduction des semences.

Pour l'ensemble de ces expériences, l'augmentation de la vitesse d'agitation induit une diminution de la longueur du premier palier de turbidité. Pour l'expérience réalisée à 200tr.min⁻¹, l'agitation semble influencer de manière non négligeable la pente de la courbe de turbidité. La diminution de cette pente peut être attribuée à la diminution de l'efficacité des transferts de matière et donc à une nucléation secondaire plus lente.

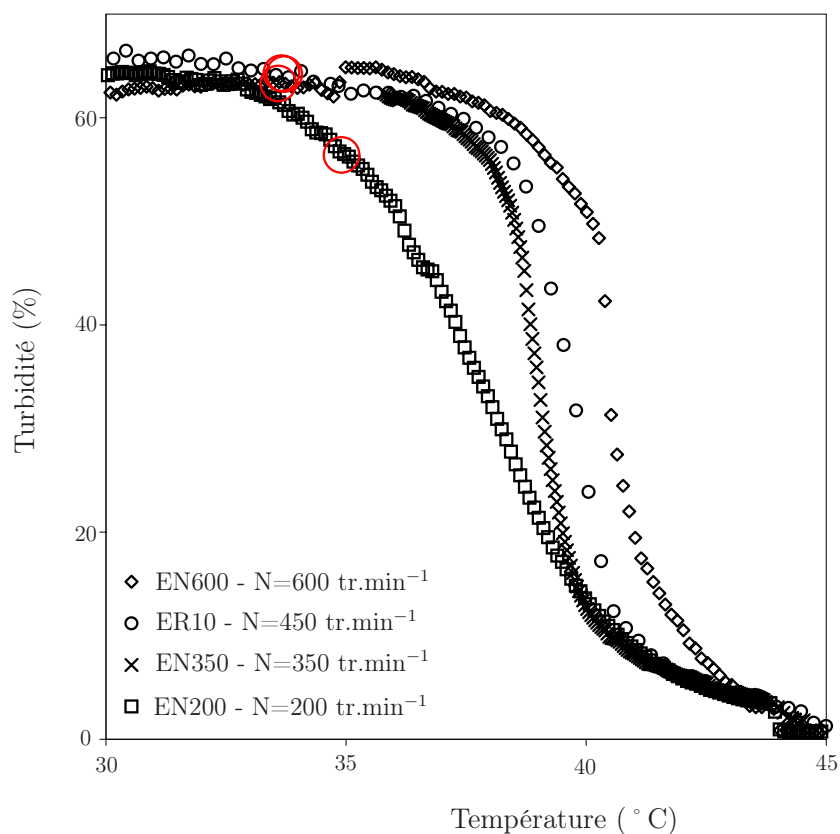


FIG. IV.16: Évolution de la turbidité au cours du refroidissement pour différentes vitesses d'agitation ($C^0=43,53\text{mg.g}^{-1}$ et $V=10^\circ\text{C.h}^{-1}$)

IV.3.3.2 Vitesses d'agitation faibles

La deuxième série d'expériences a été réalisée pour des vitesses d'agitation très faibles, de l'ordre de 50 à 100 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$. Les résultats obtenus en terme de température de prise en masse et de surface spécifique sont donnés dans le tableau IV.16.

TAB. IV.16: Influence de la vitesse d'agitation sur la surface spécifique, la température et la concentration de prise en masse pour $C^0 = 43,53$ puis $31,74 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ et $V_{ref} = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$.

Essais	N ($\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$)	P/V ($\text{W}\cdot\text{kg}^{-1}$)	T_{pm} ($^\circ\text{C}$)	ΔC_{pm} ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	BET ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)
ER01	450	0,272	33,39	24,61	9,2
EN45-80	80	$8,2\cdot 10^{-4}$	Décantation		9,6
EN45-50	50	$2,7\cdot 10^{-4}$	Décantation		9,2
EC31	450	0,272	-	-	9,6
EN31-80	80	$8,2\cdot 10^{-4}$	Décantation		9,1
EN31-50	50	$2,7\cdot 10^{-4}$	Décantation		9,6

Lorsque la vitesse d'agitation est très faible, les résultats présentés dans le tableau sont totalement différents de ceux obtenus précédemment. Dans cette série de cristallisation, aucune prise en masse n'est observée. En effet, la diminution des forces hydrodynamiques entraîne la formation de gros agglomérats ($d_p \approx 3\text{mm}$) relativement sphériques. Cependant, comme la vitesse d'agitation est faible, elle n'est pas suffisante pour mettre en suspension l'ensemble des particules formées et les agglomérats décantent dans le fonds du cristalliseur. Pour illustrer ces résultats, des photographies réalisées en cours d'expérience sont présentées sur les figures IV.17(a) et IV.17(b).



(a) Photographie de l'ensemble des agglomérats formés lors du refroidissement ($N=50 \text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$)

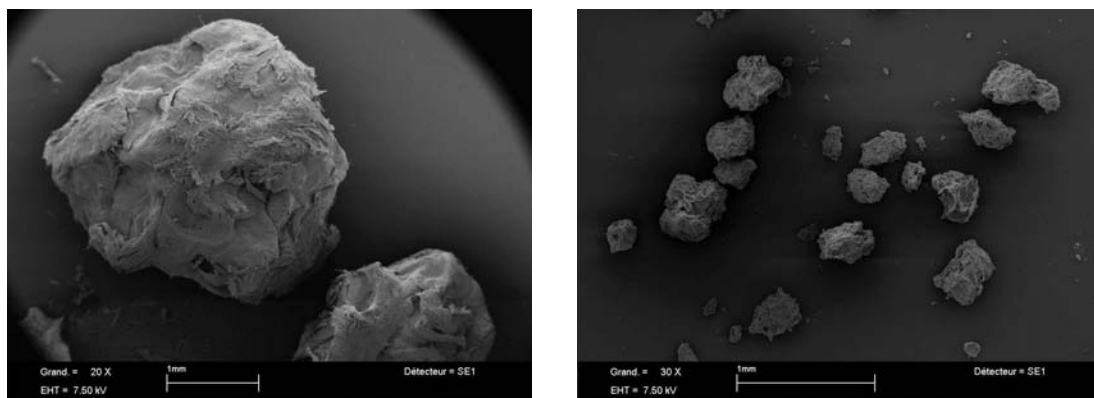


(b) Détails sur les agglomérats formés ($N=50 \text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$)

FIG. IV.17: Photographie de l'expérience réalisée à $50 \text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$.

La tenue mécanique de ces particules est très faible et les étapes de filtration et de séchage les détruisent en grande partie.

Des photographies de ces particules, réalisées au microscope électronique à balayage, sont présentées sur les figures IV.18(a) et IV.18(b). Ces images montrent que les cristaux ont tendance à s'assembler en forme de pelote, comme le feraient des matériaux fibreux.



(a) Photographie MEB des agglomérats obtenus à 50tr.min^{-1} .

(b) Photographie MEB des agglomérats obtenus à 80tr.min^{-1} .

FIG. IV.18: Photographie réalisées au MEB des agglomérats obtenus pour les expériences à 50 et 80tr.min^{-1}

La figure IV.19 montre les courbes de turbidité pour les expériences réalisées à faibles vitesses d'agitation.

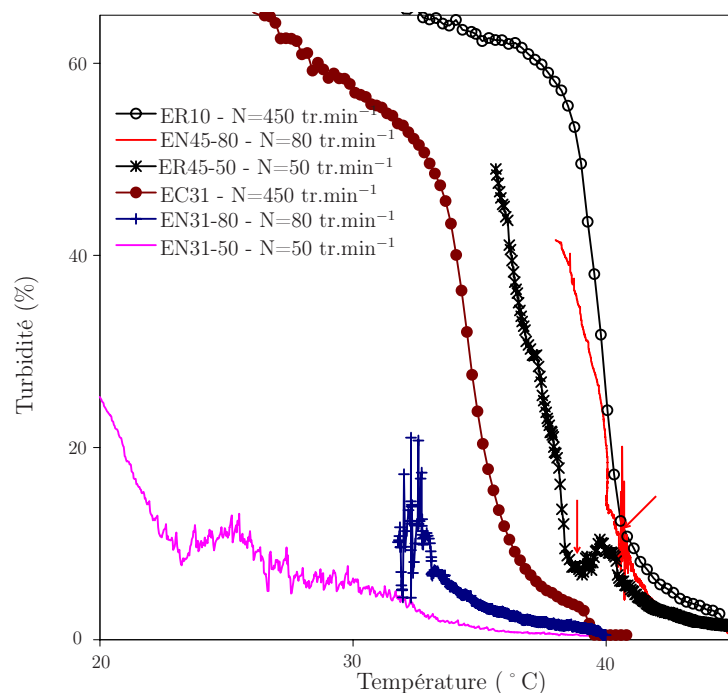


FIG. IV.19: Évolution de la turbidité au cours du refroidissement pour différentes vitesses d'agitation ($C^0 = 43,53$ et $31,74 \text{mg.g}^{-1}$ et $V = 10 \text{ } ^\circ \text{C.h}^{-1}$). Les flèches indiquent le point de décantation. A partir de cet état, la vitesse d'agitation est de 100tr.min^{-1} .

Cette figure montre, pour des vitesses d'agitation faibles ($\leq 80\text{tr.min}^{-1}$), une augmentation progressive de la turbidité, après ensemencement, accompagnée d'oscillations. Ce comportement est caractéristique d'un milieu non homogène avec une alternance de zones de fluide limpide et de zone contenant des particules.

Pour les expériences EN45-50 et EN45-80, une fois le point de décantation atteint (repéré par des flèches sur la figure IV.19), la vitesse d'agitation est augmentée pour remettre les particules en suspension ($N=100\text{tr.min}^{-1}$). Comme le montrent les courbes de turbidité, une augmentation de la vitesse d'agitation, supérieure à 80tr.min^{-1} , provoque une re-dispersion totale des particules et entraîne de nouveau la prise en masse du système (cf courbes de turbidité après les flèches).

Ces essais permettent de penser qu'une méthode d'agglomération consolidée des particules pourrait résoudre les problèmes de mise en œuvre de la cristallisation (addition d'un agent liant ou par cristallisation sphérique).

IV.3.3.3 Conclusions sur l'agitation

Bien qu'une vitesse d'agitation faible semble favorable pour améliorer les propriétés de coulabilité et de filtrabilité de la suspension, elles ne peuvent pas être retenues pour l'extrapolation du procédé à l'échelle industrielle.

En effet, du point de vue du polymorphisme, la faible puissance d'agitation peut diminuer fortement l'efficacité de l'ensemencement (par décantation des semences ou diminution de la cinétique de nucléation secondaire) et donc entraîner une cristallisation concomitante des polymorphes.

En outre, du point de vue du procédé, l'extrapolation paraît délicate. D'une part, l'influence de l'hydrodynamique du réacteur sur la formation des agglomérats n'est pas totalement maîtrisée (décantation notamment) et d'autre part, une faible puissance d'agitation peut induire des hétérogénéités de température à l'intérieur du réacteur.

D'après ces observations, pour maîtriser l'homogénéisation de la suspension jusqu'à la prise en masse, une agitation de puissance moyenne peut être utilisée $N \approx 400\text{tr.min}^{-1}$. Le problème majeur que pose le choix de cette gamme de vitesse d'agitation, est l'évolution de la structuration de la suspension qui provoque la prise en masse.

IV.4 Conclusion

De cette étude, il ressort que lors de ce changement d'échelle, le diagramme de prédominance des formes polymorphes est conservé. L'extrapolation à une plus grande échelle peut être envisagée en opérant à des concentrations initiales inférieures à $45,53\text{mg.g}^{-1}$ avec un ensemencement en voie humide de cristaux de forme A pure finement broyées.

Cependant, du point de vue de l'hydrodynamique, l'évolution de la suspension au cours de la cristallisation rend l'extrapolation du procédé délicate. Étant donné les problèmes posés par la prise en masse du système (maturation, régulation) dans un réacteur de 750mL, il est difficile d'extrapoler cette cristallisation à un réacteur de 3 ou 4 m³. Même

en conservant les résultats obtenus dans le réacteur du laboratoire, le problème de la structuration de la suspension se sera pas résolu.

La maîtrise de l'extrapolation du procédé passe donc par la maîtrise et la compréhension de l'évolution de la structure de la suspension au cours du refroidissement. Cependant, les méthodes classiques utilisées pour décrire cette structuration (microscopie, granulométrie, potentiel zeta...) ne sont pas adaptés à ce cas. C'est pourquoi, la rhéologie est une des méthodes expérimentales qui pourrait être adaptée pour la description qualitative et quantitative de la structure de cette suspension.

Chapitre V

Rhéologie des suspensions d'éflucimibe générées lors de la cristallisation

La suspension obtenue lors de la cristallisation de l'éflucimibe est une suspension dense, constituée de particules fortement anisotropes (forme d'aiguille). Les expériences de cristallisation présentées dans le chapitre IV, mettent en évidence une prise en masse du système en cours de refroidissement. Les outils classiques (granulométrie, BET, turbidimétrie...) ne permettent pas de caractériser l'évolution structurale de la suspension de cristaux. C'est pourquoi pour mieux appréhender cet état et en se référant aux différentes études réalisées sur des gels colloïdaux ou sur les boues de station d'épuration, une étude rhéologique a été réalisée. Cependant, la rhéologie de tels systèmes n'est pas a priori prévisible, et la plupart des travaux existant traitent de particules sphériques.

Ce chapitre est donc consacré à l'étude rhéologique des suspensions d'éflucimibe obtenues lors de la cristallisation. Dans un premier temps, des notions de bases, nécessaires à la compréhension de cette approche, sont rappelées brièvement. Le dispositif expérimental ainsi que les protocoles de mesures mis au point sont présentés dans la deuxième partie. Enfin, à partir des résultats de ces mesures, un mode d'assemblage des particules au sein du réseau responsable de la prise en masse du système, est proposé en termes de modèle d'agrégation, de dimension fractale et de mode d'empilement des aiguilles.

V.1 Principes et notions fondamentales de la rhéologie des suspensions denses

V.1.1 Définitions

La rhéologie est l'ensemble des études de l'écoulement et des déformations des matériaux sous l'action de contraintes. Certains fluides, et tout particulièrement les suspensions « concentrées », ne coulent pas sous l'action de la gravité seule lorsqu'ils reposent sur des surfaces en pente. Il semble même qu'ils puissent reprendre une certaine consistance lorsqu'ils sont laissés au repos. Ce comportement est totalement différent de celui des liquides simples (eau, huile ...), qui répondent immédiatement à toute sollicitation extérieure, en

s'écoulant et en conservant la même consistance. La résistance à l'écoulement de ces matériaux ne peut donc pas être caractérisée uniquement par la viscosité, mais par plusieurs paramètres dépendant éventuellement des conditions d'écoulement.

Ces suspensions ont d'une part un comportement analogue à celui d'un liquide puisqu'elles peuvent être déformées de manière quelconque sans perdre leurs propriétés mécaniques; d'autre part, elles ont un comportement analogue à celui d'un solide puisqu'elles cessent de s'écouler si l'effort appliqué est insuffisant. Ainsi, la résistance à l'écoulement de ces matériaux est liée à la rigidité du réseau de particules formé au sein du liquide. La rhéologie permet donc une mesure macroscopique de la force nécessaire pour vaincre les résistances locales à l'écoulement, induites par cet édifice.

V.1.1.1 La contrainte de cisaillement

La contrainte de cisaillement (τ) est la grandeur dynamique fondamentale en rhéologie. Au cours d'un mouvement de cisaillement simple (cisaillement permanent d'un fluide entre deux plans parallèles), deux couches successives en contact se déplacent relativement l'une par rapport à l'autre. Il apparaît à la surface de ces deux couches des forces de frottement qui s'exercent tangentiellement à leur surface. Ce sont les forces de cisaillement. La contrainte de cisaillement est définie en rapportant ces forces de cisaillement à l'unité de surface, par l'équation suivante :

$$\tau = \frac{dF}{dS} \quad (\text{V.1})$$

Il faut noter cependant que lors des mesures « classiques » de rhéologie, les forces de pression s'exerçant perpendiculairement à la surface sont négligeables par rapport aux forces de cisaillement.

V.1.1.2 Déformation et vitesse de cisaillement

La déformation et la vitesse de cisaillement sont les grandeurs cinématiques fondamentales de la rhéologie. Dans le cas où le fluide est cisailé entre deux plans parallèles, le plan supérieur étant en mouvement de translation à la vitesse v (figure V.1) par rapport au plan inférieur, la déformation due au cisaillement est définie de la manière suivante :

$$\Gamma = \frac{dv(y, t)}{dy} \quad (\text{V.2})$$

Cette déformation dépend donc du gradient de vitesse généré entre deux couches de fluide infiniment voisines.

La vitesse de cisaillement ($\dot{\Gamma}$) est la variation temporelle de cette déformation, elle est définie par l'équation :

$$\dot{\Gamma} = \frac{d\Gamma}{dt} \quad (\text{V.3})$$

La viscosité apparente (μ) est définie comme le rapport entre la contrainte de cisaillement et la vitesse de cisaillement :

$$\mu = \frac{\tau}{\dot{\Gamma}} \quad (\text{V.4})$$

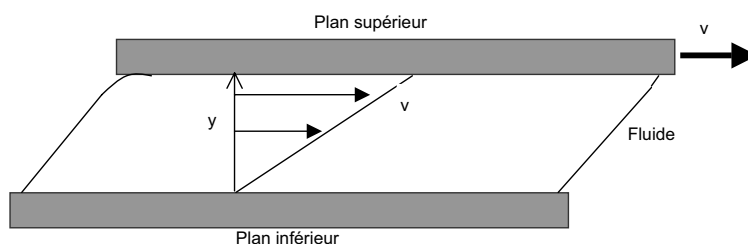


FIG. V.1: Représentation schématique du cisaillement d'un fluide entre deux plans parallèles en mouvement relatif.

V.1.2 Modes de mesure et typologie d'écoulement

Deux modes de mesures distincts peuvent être mis en œuvre en rhéologie : des mesures en cisaillement simple ou en mode dynamique. Les deux approches fournissent des renseignements totalement différents mais complémentaires quant à la caractérisation des suspensions. Les études réalisées en cisaillements simples donnent des informations essentiellement sur le comportement en écoulement des matériaux, alors que les mesures réalisées en mode dynamique permettent de caractériser de manière plus précise leur caractère viscoélastique.

V.1.2.1 Mesures en cisaillement simple (viscosimétrie)

V.1.2.1.1 Mise en œuvre des mesures

La mesure en cisaillement simple est le mode de mesure le plus facile à mettre en œuvre. Son principe est présenté pour un rhéomètre plan – plan rotatif représenté schématiquement sur la figure V.2.

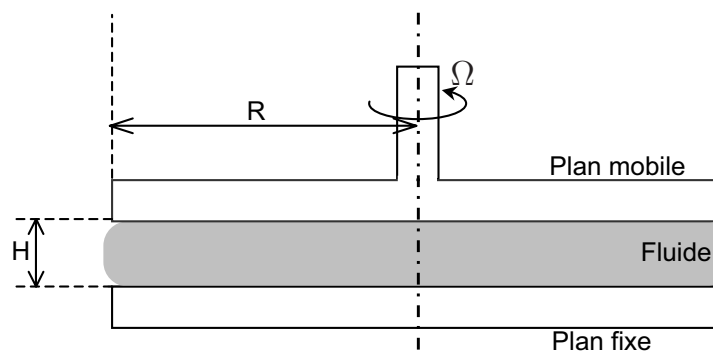


FIG. V.2: Représentation schématique d'un rhéomètre plan-plan rotatif

Cette géométrie est la plus simple qui puisse être conçue. Elle est composée de disques coaxiaux en rotation relative. L'échantillon est placé sur le disque inférieur (immobile), puis le plan supérieur est progressivement rapproché à la distance appropriée. Pendant cette phase, il faut vérifier que l'écrasement de l'échantillon ne développe pas d'efforts normaux importants qui risqueraient d'endommager l'appareil. Ce risque est grand avec

les suspensions très concentrées car le fluide peut migrer à travers le réseau de grains conduisant ceux-ci à s'empiler les uns sur les autres pour former une structure très rigide.

La géométrie plan – plan ne permet pas de contrecarrer les variations de gradient de vitesse au sein de l'échantillon en fonction de la distance par rapport à l'axe. La vitesse d'un point du plan situé à une distance r de l'axe vaut $r\Omega$, et en supposant que tout se passe localement comme entre les deux plans parallèles en translation relative, le gradient de vitesse local vaut :

$$\dot{\Gamma} = \frac{\Omega r}{H} \quad (\text{V.5})$$

et le couple appliqué à l'un des deux disques s'écrit :

$$Mt = \int_0^R 2\pi\tau(r)dr = \frac{2\pi}{(\Omega/H)^3} \int_0^{R\Omega/H} \dot{\Gamma}^2 \tau(\dot{\Gamma}) d\dot{\Gamma} \quad (\text{V.6})$$

Où Γ est la vitesse angulaire, H la hauteur de fluide cisailé et r la distance par rapport à l'axe.

La borne supérieure de la seconde intégrale correspond au gradient de vitesse à la périphérie ($\dot{\Gamma}_R = \Omega R/H$). L'expression de la contrainte de cisaillement (eq. V.7) est alors obtenue en dérivant l'équation V.6 par rapport à cette valeur.

$$\tau(\dot{\Gamma}) = \frac{3Mt}{2\pi R^3} + \frac{\dot{\Gamma}_R}{2\pi R^3} \frac{dMt}{d\dot{\Gamma}_R} \quad (\text{V.7})$$

On a montré que pour les fluides à seuil (Coussot & Ancey, 1999) le premier terme de l'équation V.7 est largement prédominant tant que la contrainte appliquée à la suspension n'est pas trop grande devant la contrainte seuil. Pour les fluides newtoniens, le deuxième terme de l'équation V.7 est loin d'être négligeable, et la contrainte de cisaillement vaut finalement :

$$\tau(\dot{\Gamma}) = \frac{2Mt}{2\pi R^3} \quad (\text{V.8})$$

L'inconvénient majeur de la géométrie plan–plan réside dans la variation du gradient de vitesse entre une valeur théorique nulle près de l'axe et une valeur maximale à la périphérie. Les calculs sont moins directs et il est à craindre une migration des particules les plus grosses. En contrepartie, cette géométrie présente l'avantage, par rapport aux géométries capillaires ou à cylindres coaxiaux, que la contrainte transmise à travers l'échantillon est constante. Par rapport à la géométrie cône – plan, on s'affranchit plus facilement des problèmes liés au blocage des particules. La mise en place des échantillons est facile et rapide, et lors des expériences, il est possible de visualiser le comportement de la suspension en cours de mesure pour assurer son bon déroulement (visualisation du creusement, du glissement, évaporation...). La géométrie plan–plan est donc fortement recommandée pour des études concernant des suspensions dont le comportement rhéologique est inconnu et lorsque la répartition granulométrique des particules est très large. C'est pourquoi cette géométrie a été retenue pour effectuer les mesures.

V.1.2.1.2 Effets perturbateurs intervenants lors des expériences de rhéologie

Les différents effets perturbateurs importants rencontrés lors des mesures de rhéologie sont :

La dimension du rhéomètre : les effets de bords sont responsables de l'hétérogénéité des contraintes de cisaillement au sein du matériau,

Le glissement aux parois (figure V.3). C'est l'effet le plus courant et le plus grave qui puisse survenir lors d'une expérience de rhéologie. Pour des suspensions, il est très probable qu'il résulte essentiellement du cisaillement préférentiel d'une couche très fine de fluide près de la paroi. La conséquence de ce phénomène est un abaissement du niveau de contrainte mesuré, pour une vitesse de cisaillement donnée, c'est-à-dire l'obtention d'une viscosité plus faible que la viscosité réelle. Ce phénomène peut être évité en utilisant des surfaces suffisamment rugueuses devant la taille maximale des particules.

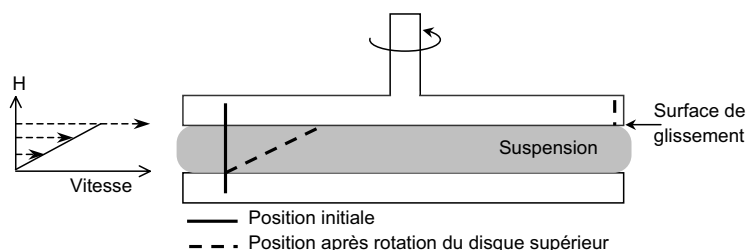


FIG. V.3: Conséquence d'un glissement à la paroi du disque supérieur. Le profil des vitesses au sein du fluide est discontinu, la ligne de référence apparaît brisée au niveau du plan supérieur.

La fracturation (figure V.4) : ce phénomène a des conséquences analogues à celles présentées précédemment. Dans ce cas, la surface de discontinuité n'est plus localisée uniquement le long d'une interface outil-suspension, mais à l'intérieur de l'échantillon. Ce phénomène est encore mal compris et mal maîtrisé et correspondrait à un minimum sur la courbe d'écoulement.

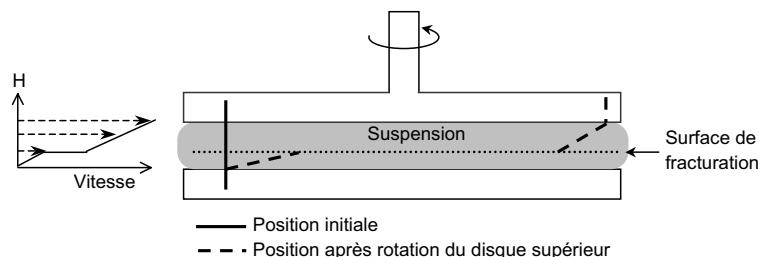


FIG. V.4: Conséquence d'une fracturation au sein de l'échantillon : le profil des vitesses au sein du fluide est discontinu. La ligne de référence apparaît brisée au niveau d'un plan situé loin des surfaces des deux disques

Le creusement (figure V.5) : la périphérie de l'échantillon initialement droite se déforme vers l'intérieur du matériau au cours de l'écoulement. L'effet sur la viscosité est moins

important que celles provoqué par le glissement ou la fracturation. Cependant, le creusement entraîne des incertitudes de mesures très importantes notamment sur la surface de l'échantillon réellement cisailé.

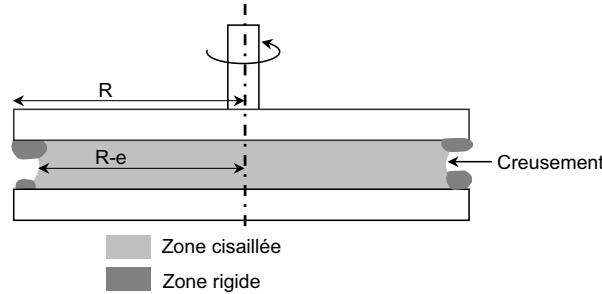


FIG. V.5: Aspect extérieur du creusement : le volume cisailé est plus faible

L'évaporation. L'évaporation du liquide provoque une diminution de la quantité de matériau cisailé et une augmentation de la viscosité de la suspension (car la fraction volumique en solide augmente). Une technique consiste à réaliser les mesures en atmosphère saturée en liquide interstitiel (piège à solvant).

La migration : la sédimentation et la ségrégation. Ces deux phénomènes impliquent une hétérogénéité des cisaillements et une surestimation de la viscosité réelle.

V.1.2.1.3 Typologie de l'écoulement

L'écoulement des fluides newtoniens est le cas le plus simple qui puisse exister. En effet, la vitesse de cisaillement et la contrainte sont reliées par une relation linéaire, et la pente de cette droite correspond à la viscosité réelle du fluide.

Cependant, la majorité des fluides (et des suspensions), présentent des comportements non newtoniens qui font appel à l'utilisation de modèles rhéologiques plus complexes pour décrire leur comportement sous écoulement.

Les fluides à contrainte critique

Cette catégorie de fluides est plus communément appelée fluide à seuil ou fluide plastique. Un rhéogramme type de ces fluides est représenté sur la figure V.6. Il s'agit de l'ensemble des fluides ne s'écoulant pas avant qu'une contrainte de cisaillement minimale ne leur soit appliquée. Le tableau V.1 fournit les principales loi d'écoulement utilisées pour décrire le comportement de tels fluides (Midoux, 1993).

TAB. V.1: Modèles rhéologiques décrivant l'écoulement des fluides à contrainte critique

Modèles	Loi rhéologique
Bingham	$\tau = \tau_B + \mu_B \dot{\Gamma}$
Herschel-Buckley	$\tau = \tau_H + K \dot{\Gamma}^n$
Casson général	$\tau^n = \tau_C^n + (k_c \dot{\Gamma})^n$
Casson	$\tau^{1/2} = \tau_C^{1/2} + (k_c \dot{\Gamma})^{1/2}$

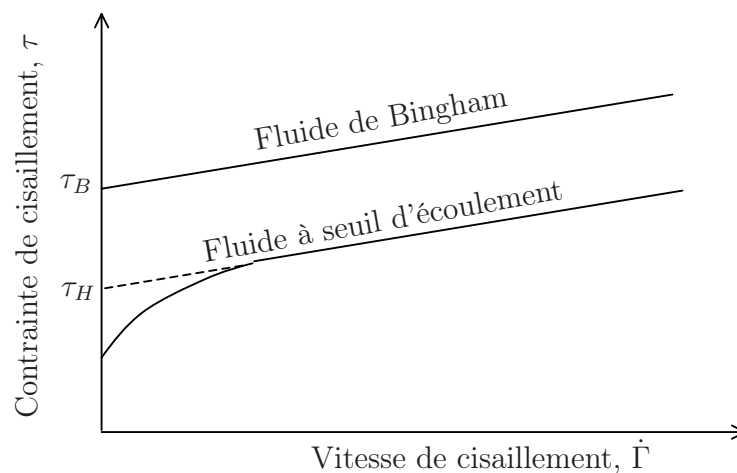


FIG. V.6: Rhéogrammes caractéristiques des fluides présentant un seuil d'écoulement

Le modèle de Herschel-Buckley est celui permettant de décrire la plupart des fluides plastiques. Le modèle de Bingham est le plus simple, ce type de fluide s'écoule comme un fluide newtonien lorsque la contrainte seuil τ_B est dépassée. Ce modèle permet de décrire un grand nombre de matériaux (boue de forage, peintures à l'huile, suspensions agglomérées...).

Fluides sans contrainte critique

La figure V.7 présente les courbes d'écoulement des deux principales catégories de fluides sans contrainte critique : les fluides pseudoplastiques (ou rhéofluidifiants) et les fluides dilatants (ou rhéoépaississants).

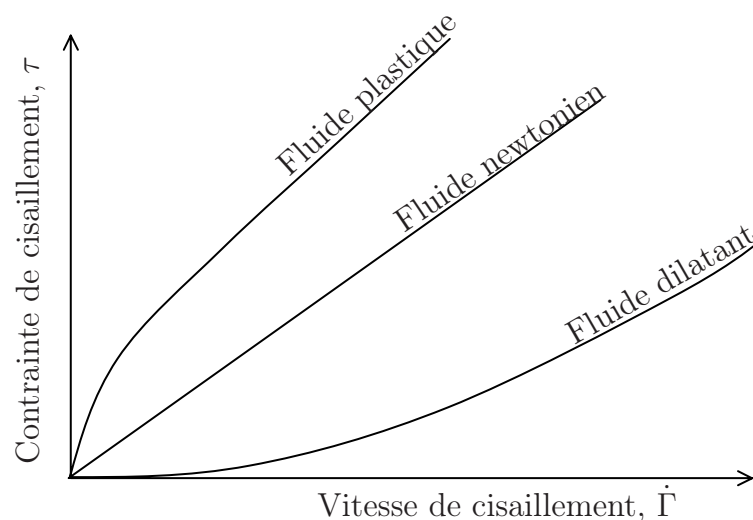


FIG. V.7: Rhéogrammes caractéristique des fluides ne présentant pas de seuil d'écoulement

Les principales lois rhéologiques décrivant le comportement de tels fluides sont présentées dans le tableau V.2 (Midoux, 1993).

TAB. V.2: *Modèles rhéologiques pour les fluides ne présentant pas de contrainte critique*

Modèles	Loi rhéologique
Oswald de Waele	$\tau = K\dot{\Gamma}^n$
Ellis	$\tau = \frac{\mu_0}{1+(\tau/\tau_{1/2})^{\alpha-1}}\dot{\Gamma}$
Cross	$\tau = \left[\tau_\infty + (\mu_0 - \mu_\infty)(1 + (\lambda\dot{\Gamma})^2)^{(n-1)/2} \right] \dot{\Gamma}$
Carreau	$\tau = \left[\tau_\infty + \frac{\mu_0 - \mu_\infty}{(1 + \dot{\Gamma}t_1)^p} \right] \dot{\Gamma}$

Parmi ces modèles d'écoulement, la loi d'Oswald de Waele est la plus utilisée. Dans ce modèle, k est appelé la consistance du fluide et n l'indice d'écoulement. L'écart à l'unité de la valeur n ($0 \leq n \leq 1$), traduit les imperfections visqueuses du fluide (écart par rapport au fluide newtonien). Parmi les fluides présentant un comportement pseudoplastique, on compte les suspensions de particules asymétriques, les ciments, les colles et certaines peintures...

Les fluides dilatants obéissent également à une loi puissance d'Oswald mais avec $n > 1$, la vitesse de cisaillement croît avec l'augmentation de la contrainte de cisaillement. Cette catégorie de fluide est plus rare et correspond essentiellement à des suspensions dont la teneur en solide est importante ($\phi_s > 50\%$). Ce type de comportement peut avoir pour origine une transition ordre - désordre entre les particules constitutives du fluide. Pour les faibles vitesses de cisaillement, les particules sont globalement alignées alors que pour les valeurs de cisaillement élevées, elles sont dispersées aléatoirement, ce qui induit une augmentation de viscosité.

La thixotropie

La consistance de certains fluides dépend aussi bien de la vitesse de cisaillement que de la durée du cisaillement. Dans ces conditions, la viscosité apparente n'est plus constante pour une valeur donnée de la contrainte de cisaillement (ou vitesse de cisaillement) mais dépend également du temps. Ainsi l'écoulement d'un matériau peut être facilité par l'agitation préalable de l'échantillon. La méthodologie étudiée, pour déterminer le caractère thixotrope, consiste le plus souvent à réaliser des cycles de cisaillement montée - palier - descente.

Le cisaillement provoque une déstructuration qui conduit à l'obtention de rhéogrammes différents pour la montée et la descente en cisaillement. Ce caractère peut être associé à la réversibilité de la déstructuration. En effet, après un temps de repos suffisant, le matériau doit retrouver sa structure initiale. Toutefois, la caractérisation de tel fluide est très délicate, et la mesure doit être réalisée dans des conditions expérimentales strictement identiques.

V.1.2.2 Mesures en mode dynamique : les fluides viscoélastiques

Toutes les suspensions présentent des propriétés visqueuses, cependant, certaines d'entre elles possèdent une structure complexe et peuvent donc présenter des propriétés élastiques. Ce comportement se manifeste notamment lors de la suppression ou de l'application brutale d'une contrainte, par l'apparition d'un régime transitoire pendant lequel la structure

de l'échantillon évolue avant de se stabiliser. Les propriétés viscoélastiques de certains matériaux sont déterminées par des mesures de rhéologie en mode dynamique.

V.1.2.2.1 La viscoélasticité linéaire

Un fluide viscoélastique récupère une partie de ses déformations après suppression des contraintes. La contrainte associée à une déformation diminue en fonction du temps.

Le comportement viscoélastique peut être décrit comme l'association de ressorts et d'amortisseurs. A partir des lois d'association en série et en parallèle, il est possible d'établir l'équation rhéologique de chaque modèle et d'en déduire les fonctions de fluage et relaxation du matériau. Les modèles de Kelvin-Voigt et Maxwell généralisés suffisent pour décrire n'importe quelle fonction de fluage et de relaxation. Le modèle de Maxwell correspond à l'association en parallèle de x liquides de Maxwell, chacun d'eux est constitué d'un ressort et d'un amortisseur en série.

Le modèle de Kelvin-Voigt généralisé est constitué par l'association en série d'un liquide de Maxwell et de y solides de Kelvin-Voigt (association parallèle d'un ressort et d'un amortisseur).

L'équation générale du comportement viscoélastique est la suivante :

$$\dot{\Gamma} = \frac{\tau(t)}{\mu} + \frac{1}{G} \frac{d\tau(t)}{dt} \quad (\text{V.9})$$

Pour un solide de Kelvin-Voigt, $\tau = \tau_0$ pour $t \gg 0$ et $\Gamma = 0$ pour $t < 0$, la relation V.9 devient :

$$\Gamma(t) = \frac{\tau_0}{G} (1 - \exp(\frac{-t}{t_r})) \quad (\text{V.10})$$

Le facteur temps intervient dans les propriétés viscoélastiques à travers le temps de relaxation ($t_r = \frac{\mu}{G}$). Ce temps correspond à la période pendant laquelle la tension Γ diminue de $1/e$ de sa valeur initiale, et si $t \gg t_r$ alors :

$$\Gamma(t) = \tau F_\infty + \frac{\tau t}{G} \quad (\text{V.11})$$

Les fonctions de fluage $F(t)$ et de relaxation $G(t)$ caractérisent l'écoulement des fluides viscoélastiques selon les modes de mesures en cisaillement simple.

En réalité, les propriétés viscoélastiques, déterminées par des mesures de cisaillements simples, ne sont pas aisées à déterminer et leur caractérisation ne fournit pas des paramètres clés identifiables. En outre, la méthode de sollicitation en cisaillement simple repose sur des échelons de contraintes (fluage) ou de déformations (relaxation) imposés de façon instantanée. Ce principe théorique est confronté dans la pratique à l'inertie du système de mesure des rhéomètres. C'est pourquoi, la détermination des propriétés viscoélastiques des suspensions est réalisée en utilisant les propriétés de réponse oscillatoire de fluides soumis à des sollicitations de type sinusoïdale en fonction du temps.

V.1.2.2.2 Les paramètres complexes

En mode dynamique, l'échantillon est soumis à des contraintes ou à des déformations oscillantes en fonction du temps à une fréquence ω donnée. A l'instant initial, $t = 0$:

$$\Gamma = \Gamma_0 \cos(\omega t) \quad (\text{V.12})$$

$$\tau(\omega) = \mu\omega\Gamma_0 \cos(\omega t + \alpha) = \tau_0 \cos(\omega t + \alpha) \quad (\text{V.13})$$

La contrainte mesurée est en déphasage avec la déformation d'un angle α compris entre 0 et $\pi/2$. En fonction du temps de mesure, ce décalage par rapport aux conditions initiales devient :

$$\Gamma(\omega t) = \Gamma_0 \exp(j\omega t) = \Gamma_0(\cos(\omega t) + j \sin(\omega t)) \quad (\text{V.14})$$

soit : $\Gamma(\omega t) = \Gamma'(\omega) + j\Gamma''(\omega)$ et $\tau(\omega t) = \tau'(\omega) + j\tau''(\omega)$.

Par analogie avec le solide de Hooke, un module de rigidité complexe $G^*(\omega)$ peut être défini de la manière suivante :

$$G^*(\omega) = \frac{\tau(\omega t)}{\Gamma(\omega t)} = G'(\omega) + jG''(\omega) \quad (\text{V.15})$$

La rigidité d'accumulation $G'(\omega)$ traduit la capacité du fluide à conserver l'énergie sous forme élastique (en phase avec la déformation). Les propriétés visqueuses sont exprimées par la rigidité de la dissipation $G''(\omega)$ (déphasage de $\pi/2$ par rapport à la déformation). Les relations trigonométriques classiques donnent :

$$\tan \alpha = \frac{G''}{G'} \quad (\text{V.16})$$

Par conséquent, la mesure de l'angle de déphasage donne une information sur le comportement de la suspension en fonction du cisaillement appliqué, ainsi :

- si $\alpha < 45^\circ$, $G' > G''$: la suspension se comporte comme un solide (un gel par exemple),
- si $\alpha > 45^\circ$, $G' < G''$: la suspension se comporte comme un liquide.

A partir de la détermination des deux modules G' et G'' , l'analyse oscillatoire permet une identification très précise de la structure de la suspension. Elle peut être également utilisée pour mettre en évidence certaines transitions (fusion, transition vitreuse, gélification...).

V.1.3 Relation structuration - rhéologie

Les interactions entre particules jouent un rôle déterminant sur la stabilité et sur les propriétés rhéologiques d'une suspension. Les concepts développés par De Gennes (De Gennes, 1980) pour la formation de gel de polymères ont été appliqués dans le cas de gels de colloïdes afin d'étudier les effets des forces inter-particulaires sur l'élasticité des dispersions. En outre, de nombreux auteurs (Tempel, 1979; Vreeker et coll., 1992) ont mis en évidence des similarités entre les réseaux créés par des cristaux de composés organiques et les gels de colloïdes. Ainsi, les propriétés macroscopiques de ces matériaux (l'élasticité en particulier), structurés comme les gels de colloïdes, sont très dépendantes de leur structure au niveau microscopique ou nanométrique. Brown et Ball (Brown & Ball, 1987) ont développé une théorie pour expliquer les propriétés élastiques des gels colloïdaux à partir de leur structure. En outre, de nombreux auteurs (Channel & Zukoski, 1997; Shih et coll., 1990; Pignon et coll., 1997) ont montré que les propriétés mécaniques (plasticité et module élastique) sont

principalement gouvernées par la dimension fractale des agrégats constituant la structure et responsables du comportement rhéologique. De plus, de nombreuses suspensions agrégées présentent une variation, de type loi puissance, des paramètres rhéologiques en fonction de la concentration volumique des particules. De manière générale, ces auteurs proposent une variation du module élastique et du seuil d'écoulement suivant les équations :

$$G' \approx \phi^\xi \quad (\text{V.17})$$

et

$$\tau_c \approx \phi^\varsigma \quad (\text{V.18})$$

Les exposants ξ et ς sont liés au mécanisme d'agrégation des particules, et à la dimension fractale des agrégats. Ces exposants sont reliés à la dimension fractale de la manière suivante :

$$\xi = \frac{d + d_1}{d - D_f} \quad (\text{V.19})$$

et

$$\varsigma = \frac{d}{d - D_f} \quad (\text{V.20})$$

avec d la dimension Euclidienne (i.e. $d = 3$), d_1 la «dimension chimique» des éléments et D_f la dimension fractale des agrégats. La valeur de d_1 est difficile à estimer, et de manière générale $d_1 = 1, 3$ en première approximation.

Il existe principalement deux modèles d'agrégation « cluster – cluster » qui dépendent de la probabilité de collage des agrégats. Dans le cas d'une croissance par collision (mécanisme DLCA « Diffusion Limited Cluter–Cluster Agregation »), la probabilité de collage des agrégats est proche de 1, et la valeur de l'exposant ξ est de $3, 5 \pm 0, 2$. Ce processus est tri-dimensionnel et entraîne la formation d'agrégats ouverts, dont la dimension fractale est d'environ 1,8. Lorsqu'il existe des répulsions interparticulaires, l'efficacité de collision est plus faible : l'agrégation péricinétique est lente, elle est limitée par l'intégration (mécanismes RLA « Reaction Limited Agregation »). Dans ce cas, les agrégats formés ont des structures plus compactes que ceux formés par mécanisme DLCA, et une dimension fractale proche de 2,1. En effet, comme l'efficacité de collision est faible, les particules ont besoin d'entrer plusieurs fois en contact, avant de s'agréger, elles ont donc l'opportunité de s'interpénétrer et d'explorer plusieurs configurations (Buscall et coll., 1988).

Dans ces modèles, les particules élémentaires ou les agrégats croissent jusqu'à ce qu'ils se «touchent», et forment ainsi un réseau particulaire qui occupe l'espace disponible. Lorsque la fraction volumique atteint une certaine valeur, la taille des agrégats cesse d'augmenter. Par conséquent, toute quantité de matière solide incorporée au réseau particulaire au delà de cette concentration critique remplit les espaces vacants de la structure. Il n'en résulte en aucun cas une augmentation de la taille de l'agrégat mais plutôt une consolidation de l'édifice. C'est pourquoi, les lois d'échelles (eq. V.19 et V.20) observées à faible concentration volumique ne sont souvent pas applicables pour des concentrations volumiques élevées. Ces observations ont conduit certains auteurs (Brown & Ball, 1987; Kantor & Webman, 1984; Shih et coll., 1990) à considérer différents régimes rhéologiques suivant la force relative des

liaisons responsables de la solidité de l'édifice. Ainsi, pour des faibles fractions volumiques ($\phi < 0,1$), le régime est dit à «liaisons fortes» (strong-link regime); le module élastique et la contrainte seuil d'écoulement obéissent aux lois de Brown et Ball (équations V.19 et V.20). En revanche, pour des fractions volumiques en solide élevées ($\phi > 0,1$), le régime est dit de liaisons faibles («weak-link regime»), et l'équation V.19 est modifiée de la manière suivante :

$$\xi = \frac{1}{d - D_f} \quad (\text{V.21})$$

Il est possible de déterminer à quel régime rhéologique la suspension appartient, en considérant la variation de la limite de la viscoélasticité linéaire ($\dot{\Gamma}_0$) en fonction de la fraction volumique. Cette grandeur croît avec ϕ pour un régime de liaisons faibles, et décroît pour un régime de liaisons fortes.

L'estimation de la dimension fractale d'une suspension agrégée nécessite la détermination des modules élastiques pour différentes fractions volumiques en solide, et en considérant un régime rhéologique (liaisons forte ou faibles), la pente de la droite $\log G' = f(\log(\phi))$ permet donc d'accéder à la dimension fractale de l'agrégat infini.

V.2 Procédures expérimentales

V.2.1 Rhéomètres et géométries

Les mesures ont été réalisées dans un rhéomètre à contrainte imposée Bohlin CVOR200 (Malvern Instrument). Ce type d'appareil permet une grande précision de mesure sur une gamme importante de contrainte de cisaillement de 10^{-5} à 500 Pa par exemple. Le contrôle de la température est assuré par une cellule à effet Peltier, qui permet un réglage très précis et très rapide de la température. Une photo de l'appareil utilisé est présentée sur la figure V.8.



FIG. V.8: Photographie du rhéomètre Bohlin CVOR 200

La géométrie utilisée est de type plan – plan striée, de 25 mm. La profondeur des stries, $p_s = 500\mu\text{m}$, est grande devant la dimension des particules et permettent ainsi d'éviter le phénomène de glissement. Étant donnée la tension de vapeur élevée du mélange de solvants (éthanol – n-heptane), un piège à solvant est utilisé. Celui-ci limite l'évaporation en saturant l'atmosphère de la cellule de mesure avec le mélange de solvants (cf paragraphe V.1.2.1.2).

V.2.2 Préparation de l'échantillon

Les suspensions ont été élaborées lors d'expériences de cristallisation supplémentaires (notée R1 à R9) réalisées suivant le protocole défini au chapitre précédent. Lorsque le refroidissement est achevé, les échantillons sont directement prélevés (pas de maturation) et stockés pendant 1H dans un récipient hermétiquement clos à 20 ° C. La numérotation (R1 à R9) des différentes suspensions ainsi que les conditions opératoires de cristallisation correspondantes sont données dans le tableau V.3

TAB. V.3: *Caractéristiques des suspensions d'éflucimibe obtenues après cristallisation étudiées par rhéologie*

Référence du lot	Vitesse de refroid. (° C.h ⁻¹)	Concentration initiale (mg.g ⁻¹)	Fraction vol. en solide	Paramètre étudié
R1 et R1(bis)	10	81,89	0,0491	Concentration
R2	10	71,45	0,0415	
R3 et R3(bis)	10	59,69	0,0352	
R4	10	52,92	0,0284	
R5	10	43,53	0,0222	
R6	20	81,89	0,0488	Vitesse de refroidissement
R7	20	43,53	0,0219	
R8	5	81,89	0,0493	
R9	5	43,53	0,0226	

Dans ce tableau, les expériences 1(bis) et 3(bis) sont identiques respectivement aux expériences 1 et 3. Elles ont été réalisées afin de tester la répétabilité et la reproductibilité des expériences et des analyses rhéologiques.

L'échantillon de suspension à analyser est placé au centre du rhéomètre. La quantité est fixée de telle manière que la suspension puisse remplir exactement l'entrefer (ou écart entre les deux plans, $e=1200\mu\text{m}$). Le surplus est éliminé à la spatule pour avoir une interface nette et droite.

Avant de commencer la mesure, la température est stabilisée précisément à 20 ° C. Ensuite, afin d'assurer une bonne reproductibilité des mesures et d'éliminer toute thixotropie irréversible, l'échantillon est soumis à des précisaillements. Le but de ces pré-cisaillements est d'éliminer les structures faibles qui auraient pu se former lors du transport et du stockage. La figure V.9 représente les différents rhéogrammes des suspensions d'éflucimibe ($\phi = 0,0491$) obtenus avec et sans pré-cisaillement. Cette figure montre que d'une part, le

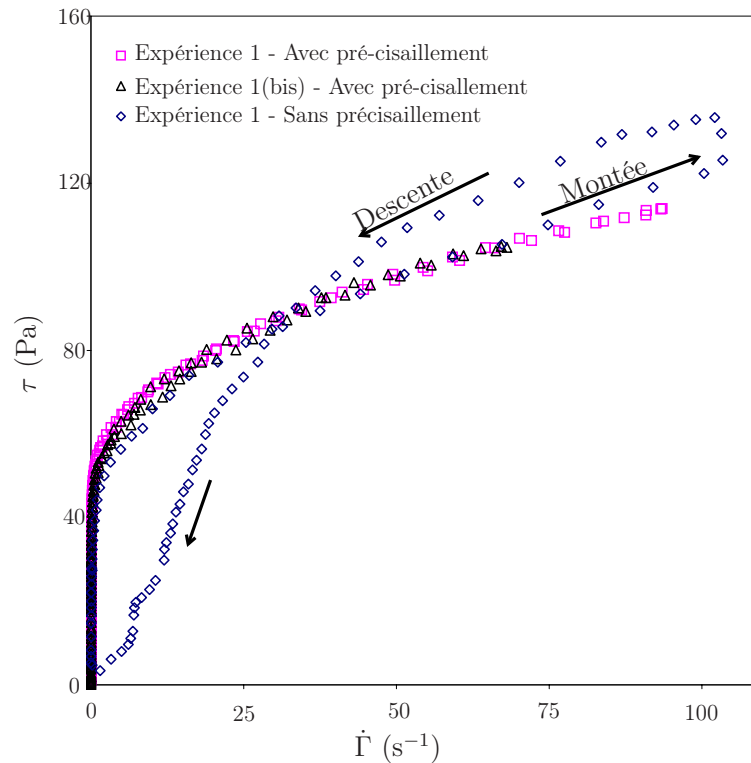


FIG. V.9: Influence du pré-cisaillement sur les rhéogrammes obtenus

pré-traitement n'affecte pas de manière significative les résultats obtenus et d'autre part, il permet de définir un état de référence pour l'échantillon qui assure une reproductibilité correcte des mesures (Ecart < 10%).

Après plusieurs essais, le cycle optimal retenu est un cisaillement de la suspension de $\dot{\gamma} = 60s^{-1}$ pendant 1 minute puis un repos de 10 secondes.

En outre, au cours de chaque mesure, l'aspect extérieur de l'échantillon cisailé est contrôlé visuellement. Les essais présentant le phénomène de creusement sont arrêtés immédiatement et la manipulation est recommencée avec une quantité d'échantillon un peu plus grande jusqu'à ce que le creusement disparaisse.

V.2.3 Protocole de mesure

La première série de mesures est réalisée en cisaillement simple. L'échantillon est soumis à une montée puis une descente en contrainte de 10^{-3} à 150 Pa en 400 s. Ce type de mesure permet de caractériser d'une part la famille de fluides à laquelle appartient la suspension et d'autre part de déterminer son seuil d'écoulement.

Dans la deuxième série d'expériences, l'échantillon est soumis à des contraintes de cisaillements oscillantes. L'enregistrement du déphasage entre la contrainte imposée et la réponse de l'échantillon permet de déterminer les propriétés élastiques (propres aux solides) et visqueuses (propres aux fluides) de la suspension. L'échantillon est soumis à une montée en contrainte de 0,001 à 100 Pa en 400s avec une fréquence de 1Hz.

A cause de l'évaporation du solvant, il n'a pas été possible d'étudier la variation temporelle des propriétés rhéologiques de la suspension, car elle nécessite des temps de mesure trop importants.

V.3 Résultats et discussion

V.3.1 Résultats des mesures en cisaillement simple

Afin de démontrer que les suspensions étudiées ont le comportement d'un fluide viscoélastique, différentes rampes de contraintes (équivalentes à des temps d'acquisition différents) ont été réalisées. La figure V.10 représente la variation de la contrainte en fonction de la vitesse de cisaillement pour différentes durées d'expériences.

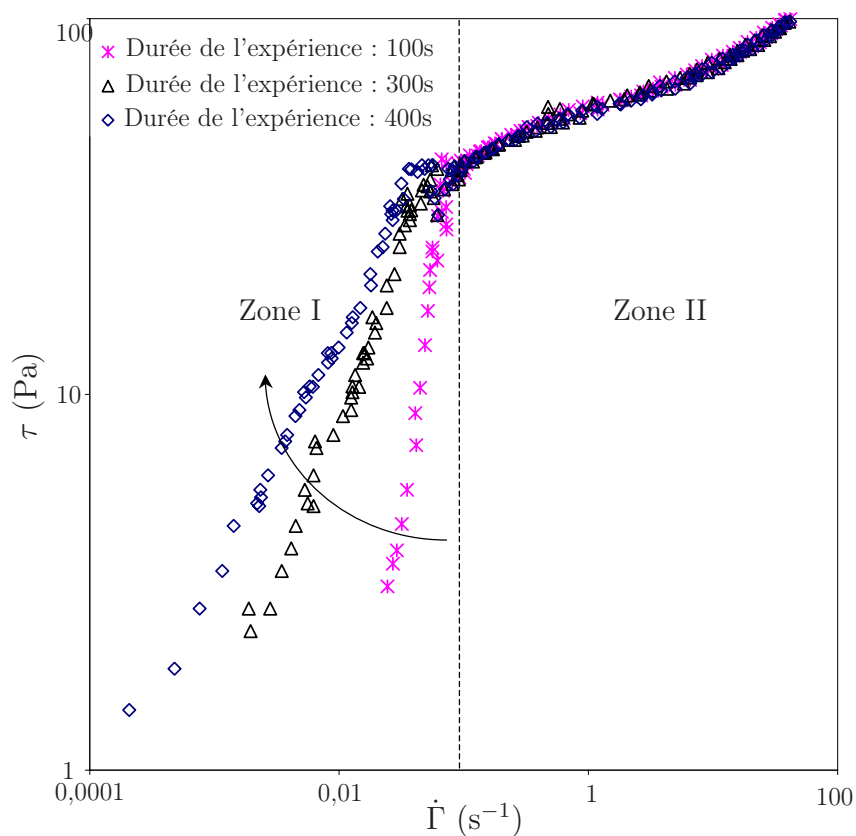


FIG. V.10: Influence de la rampe de montée en cisaillement (tracé log-log) sur le rhéogramme de l'échantillon R1. La zone I correspond au domaine élastique, la zone II au domaine visqueux

Cette figure fait clairement apparaître deux zones distinctes. La première zone, sensible à la rampe de montée en cisaillement et donc à la déformation du matériau, est caractéristique de l'élasticité de la suspension. La seconde partie de la courbe est indépendante de la rampe de cisaillement appliquée, et correspond à la composante visqueuse de l'échantillon. La suspension se comporte donc comme un matériau viscoélastique.

Comme les études en écoulement simple ne permettent d'étudier précisément que les composantes visqueuses des matériaux, seule la deuxième partie des rhéogrammes est ex-

ploitée. Les rhéogrammes obtenus pour les suspensions issues des cristallisations R1 à R9 (V.3) sont reportés sur la figure V.11. Sur ce diagramme log-log la variation de la contrainte de cisaillement en fonction du gradient de vitesse est tracée pour les différentes expériences réalisées.

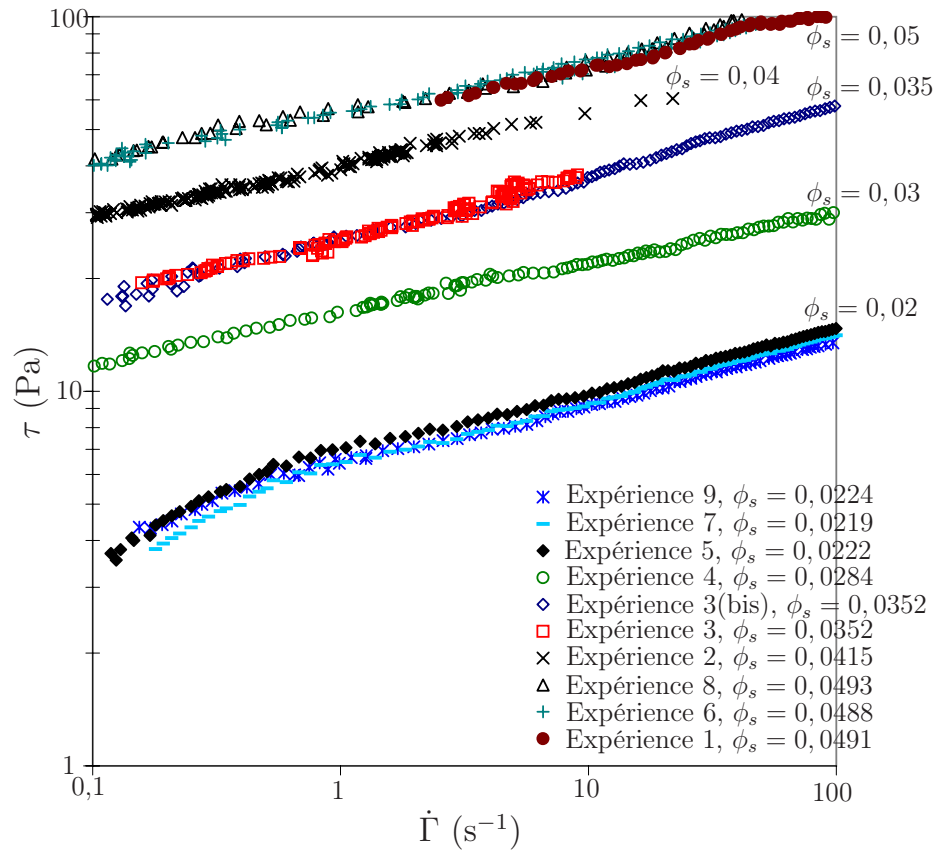


FIG. V.11: Représentation sur une échelle log-log de la variation de la contrainte de cisaillement en fonction du gradient de vitesse pour des suspensions correspondant aux expériences R1 à R9 (Zone visqueuse).

Cette figure montre que les analyses sont reproductibles d'une expérience de cristallisation à l'autre (expériences 1 - 1(bis) et 3 - 3(bis)). De plus, pour les cristallisations R1, R6, R7, R8 et R9 réalisées respectivement à des vitesses de refroidissement de 10, 20, 5 $^{\circ}C.h^{-1}$, les rhéogrammes obtenus sont identiques.

Le modèle qui paraît le mieux adapté pour décrire le comportement viscoélastique de ces suspensions est le modèle de Herschel-Buckley (Cf. tableau V.1). Ce modèle prédit qu'à partir d'une contrainte seuil, le matériau cesse d'être élastique et devient visqueux. La contrainte seuil τ_H est caractéristique de la structuration de la suspension. Les résultats de ce modèle pour les différentes expériences réalisées sont présentés dans le tableau V.4.

TAB. V.4: Paramètres du modèle de Herschel-Buckley (tableau V.1) pour les différentes suspensions d'éflucimibe issues des expériences R1 à R9

Référence	τ_H	n	K	ϕ_s
1	37,5	0,14	55,33	0,049
1(bis)	37,4	0,13	54,51	
2	27,3	0,14	40,12	0,0415
3	17,2	0,17	25,64	0,035
3(bis)	17,0	0,17	25,42	
4	9,1	0,13	16,26	0,284
5	7,0	0,18	6,63	0,0222
6	37,9	0,15	55,70	0,0488
7	10,0	0,17	6,27	0,0219
8	37,8	0,16	53,21	0,493
9	8,9	0,14	5,77	0,0225

Ce tableau montre que la contrainte seuil du matériau augmente fortement avec la fraction volumique en solide. En effet, plus les particules occupent un volume important au sein de la suspension, plus le nombre de connexions particules-particules augmente, ce qui provoque une augmentation du niveau du seuil. De plus, l'exposant n ne diffère pas de manière significative d'une expérience à l'autre. Cette tendance indique que, une fois la structure brisée, les particules s'écoulent de la même manière quelle que soit la concentration. En effet, comme la suspension se comporte comme un fluide rhéofluidifiant, il est possible que, pour minimiser l'effet de la traînée des particules, les aiguilles formant les particules, soient alignées dans le sens de l'écoulement lorsque la contrainte seuil est dépassée.

V.3.2 Résultats des mesures en mode dynamique

Les résultats obtenus lors des mesures réalisées en mode dynamique, sont traités en terme de module élastique et de module visqueux (cf paragraphe V.1.2.2). La figure V.12 montre (en échelle log-log) la variation des modules élastiques (G') et visqueux (G'') en fonction de la déformation appliquée pour une fréquence de 1Hz. Pour des raisons de lisibilité, seules les expériences 1 et 5 sont présentées sur cette figure. Sur ce graphe, deux zones peuvent être identifiées. Dans la première, la composante élastique de la suspension est supérieure à sa composante visqueuse ($G' > G''$), elle se comporte donc comme un solide (structure GEL). En revanche, à partir d'une certaine valeur de contrainte (correspondant à la destruction du réseau de particules), une chute importante de la valeur des deux modules est observée. Au delà de cette contrainte seuil, $G'' > G'$, le matériau se comporte comme un liquide (structure SOL).

Pour étudier correctement l'élasticité de la suspension, il est nécessaire de se placer dans la zone de viscoélasticité linéaire. Dans cette zone, les propriétés élastiques de la suspension sont constantes quelle que soit la contrainte appliquée (cf. figure V.12).

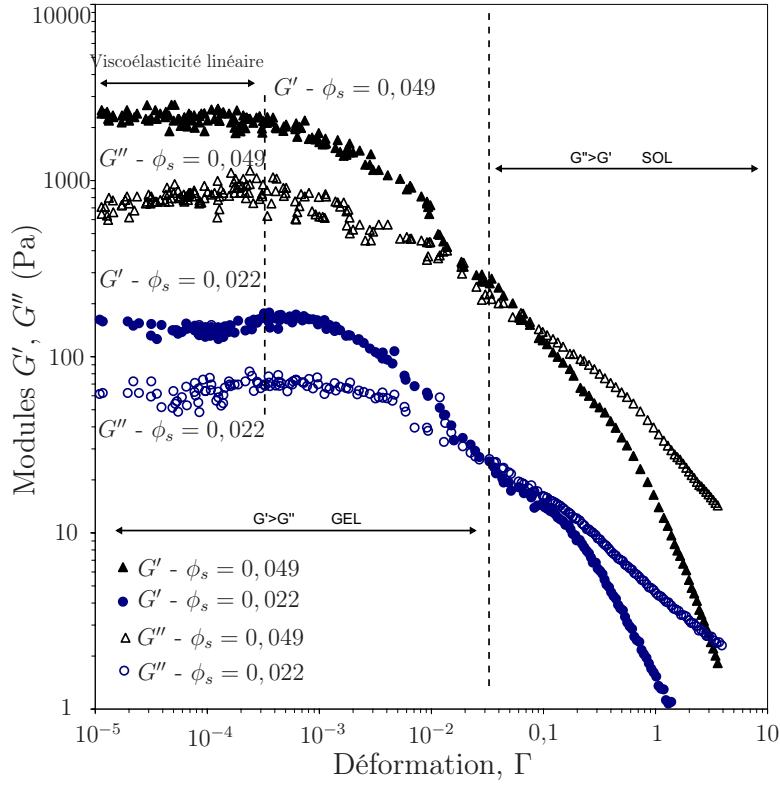


FIG. V.12: Variation (log-log) du module élastique (G') et visqueux (G'') en fonction de la déformation enregistrée à une fréquence de 1hz pour les expériences R1 et R5

Les modules élastiques des différents échantillons étudiés, obtenus dans la zone de viscoélasticité linéaire sont présentés sur la figure V.13.

Cette figure montre une augmentation significative de la valeur de G' en fonction de la concentration. En revanche, aucune influence de la vitesse de refroidissement n'est observée. Les valeurs du plateau du module élastique ainsi que la déformation maximale, caractérisant la limite de viscoélasticité linéaire, sont données dans le tableau V.5 en fonction de la fraction volumique en solide.

TAB. V.5: Module élastique G' et déformation maximale Γ_0 pour différentes fractions volumiques d'éflucimibe

ϕ_s	G'_0 (Pa)	Γ_0 (%)
0,049	2366,1	0,2
0,041	1384,4	0,369
0,035	744,8	0,567
0,028	420,5	0,857
0,022	164,2	1,58

Ce tableau montre que la déformation maximale admise par le réseau de particules avant écoulement, décroît lorsque la fraction volumique en particules augmente. Ce résultat serait en accord avec un régime rhéologique de liaisons fortes, valable pour des faibles

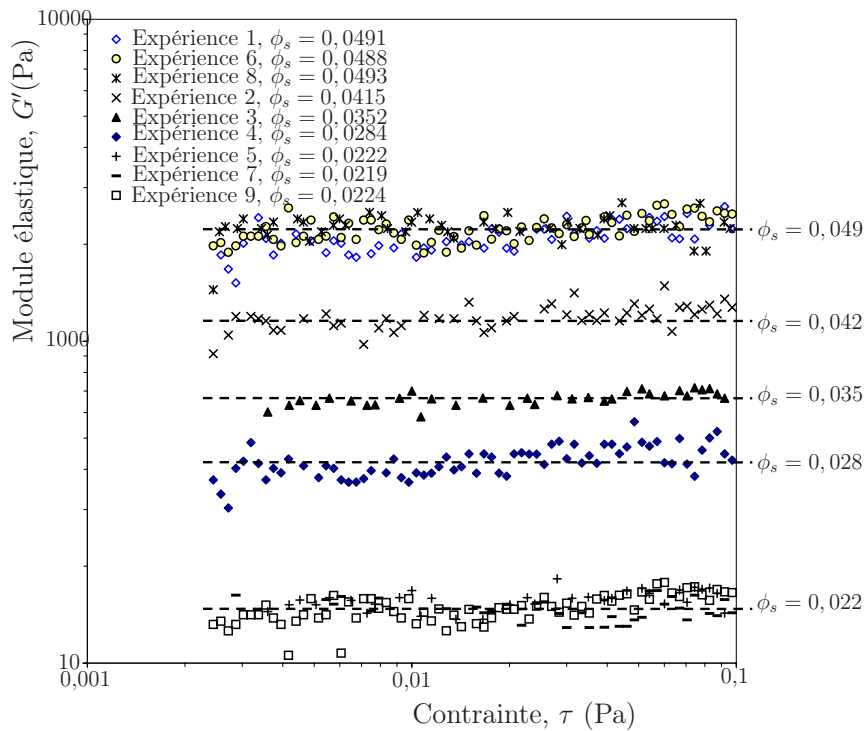


FIG. V.13: Variation (log-log) du module élastique (G') et visqueux (G'') en fonction de la contrainte de déformation enregistrée à une fréquence de 1Hz pour les différents échantillons étudiés

concentrations en solide. Le module élastique obtenu dans la zone de viscoélasticité linéaire varie de 160 à 2500 Pa pour des fractions volumiques, ϕ_s , variant de 0,02 à 0,05. Ainsi, il apparaît que globalement, l'ordre de grandeur du module obtenu est très inférieur (à concentration égale) à celui obtenu pour des gels colloïdaux classiques (par exemple, $G'_0 \approx 16000$ Pa pour $\phi_s = 0,065$ pour des suspensions de silice dans du polyol (Saint-Michel et coll., 2002)). Ce résultat indique que l'édifice formé par les particules d'éflucimibe est bien plus fragile que celui des gels colloïdaux.

V.3.3 Discussion - Structure du réseau de particules

La figure V.14 met en évidence l'influence de la concentration volumique des particules d'éflucimibe sur le seuil d'écoulement de la suspension et le module élastique. Les différentes valeurs du seuil d'écoulement sont obtenues à un gradient de cisaillement de 10^{-2}s^{-1} . Les différentes variations du module élastique G' sont obtenues à 0,01% de déformation et une fréquence de 1Hz.

L'évolution de ces paramètres suit une loi puissance. Pour le seuil d'écoulement, la courbe suit une loi d'échelle : $\tau_h \approx \phi_p^{2,2}$, et pour le module élastique la loi est de la forme : $G' \approx \phi_p^{3,3}$.

Les résultats obtenus pour la variation du module élastique en fonction de la fraction volumique des particules suggèrent un mécanisme d'agrégation DLCA (cf. paragraphe V.1.3). Il semblerait que le régime rhéologique soit un régime de liaisons fortes.

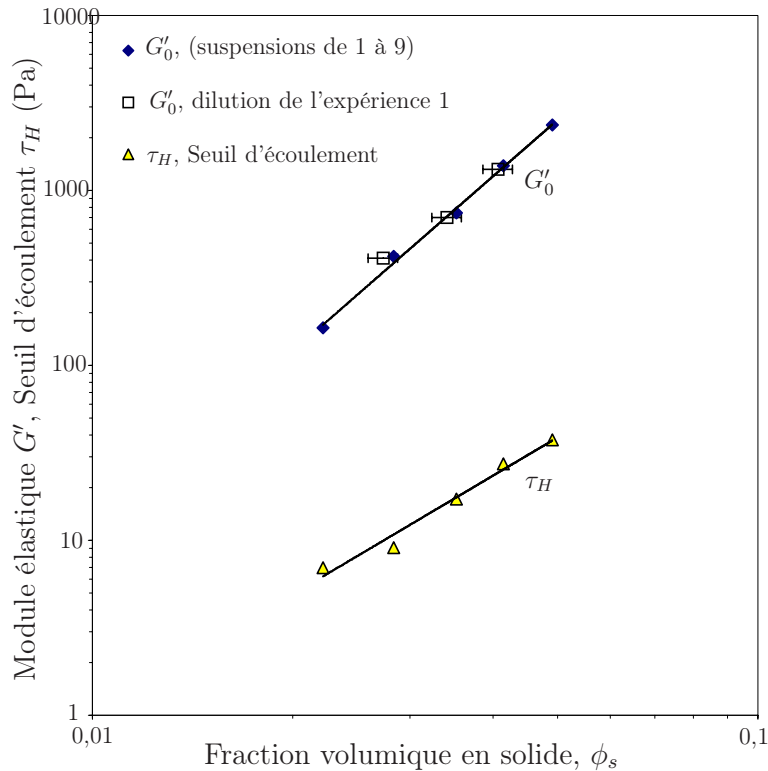


FIG. V.14: Variation (log-log) du module élastique (G') et du seuil d'écoulement (τ_H) en fonction de la fraction volumique en solide. Les carrés représentent les résultats obtenus après dilution de l'échantillon 1 (les barres d'erreurs correspondent à une incertitude de 5% sur les dilutions)

Par conséquent, l'équation V.19 est applicable directement et donne une dimension fractale de l'ordre de 1,7.

Les résultats obtenus pour le seuil d'écoulement, donnent, à partir de l'équation V.20 une dimension fractale de l'agrégat infini de l'ordre 1,7–1,8.

De plus, les résultats obtenus mettent en évidence que les propriétés mécaniques des suspensions éflucimibe – éthanol – n-heptane, sont principalement gouvernées par l'agencement fractal des particules.

Compte tenu de la forme des particules primaires, il est probable que la structure interne de la suspension soit proche de celle des suspensions eau - argile (non-smectite). Les particules solides non flexibles et soumises à des interactions colloïdales faibles à longues distances s'enchevêtrent plus ou moins pour former un réseau granulaire au sein duquel elles interagissent fortement à très courtes distances. De plus, étant donnée les faibles valeurs de fraction volumique et du module élastique, il est probable que les aiguilles soient organisées dans un réseau sous forme d'oursins. Pour ce type d'arrangement, le pourcentage de solide admissible dans la suspension avant la prise en masse peu atteindre des valeurs très faibles de l'ordre de 1 à 3%.

Cependant, étant donné la complexité du système (particules anisotropes polydispersées), il paraît difficile de prédire avec exactitude le type d'arrangement du réseau particulaire. Il est donc vraisemblable que les particules s'entassent localement les unes contres

les autres. La structure globale réseau ressemblerait à celle présentée sur les photographies de la figure V.15 obtenues par microscopie optique pour des suspension diluées.

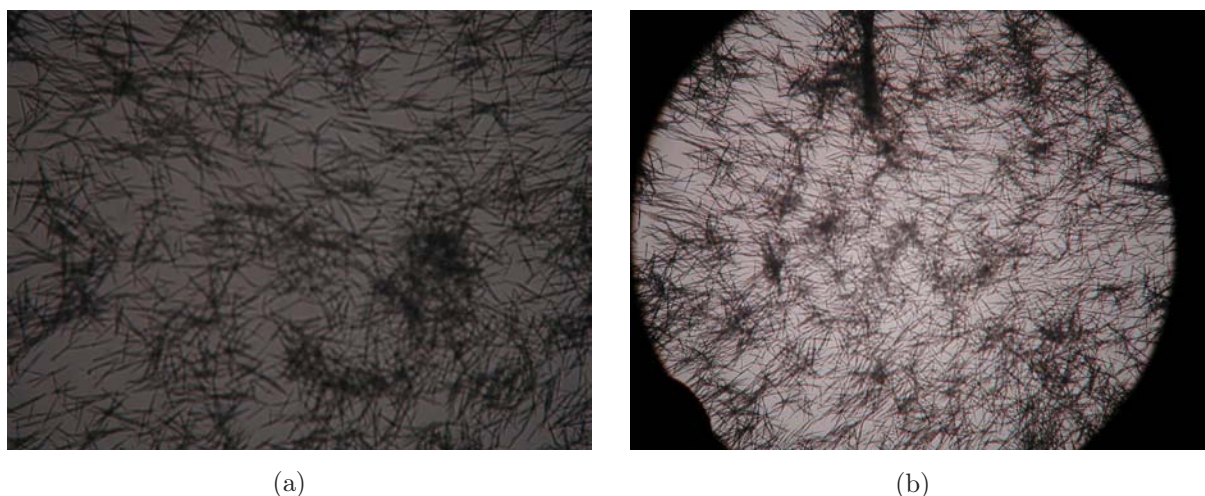


FIG. V.15: Photographies du réseau de particules obtenues par microscopie optique pour des suspension diluées. Représentation de l'enchevêtrement des particules en réseaux d'oursins

V.4 Conclusion

Les mesures de rhéologie effectuées sur les suspensions de cristaux d'éflucimibe permettent de comprendre leur comportement au cours de la cristallisation. A partir d'une concentration volumique en particules supérieure à 1%, la suspension se structure dans un réseau caractérisé par une dimension fractale de l'ordre de 1,7. Pour des cisaillements de 1 à 100 s⁻¹, cette structure est conservée et ressemblerait à un empilement de type « château de cartes ».

Les mesures rhéologiques montrent qu'au delà d'une contrainte seuil, l'organisation de la suspension disparaît. Le réseau est détruit, les aiguilles, ou les agrégats d'aiguilles, sembleraient alignés dans le sens de l'écoulement, la suspension se comporte comme un fluide rhéofluidifiant.

D'un point de vue du procédé, ces résultats suggèrent qu'avec la technologie utilisée (cristallisation en solution par refroidissement et agitation mécanique avec un mobile type impeller) et quelles que soient les conditions opératoires, la cristallisation entraîne toujours la prise en masse du système pour une concentration volumique supérieure à 1%. Une des solutions, en accord avec la maîtrise du polymorphisme, consisterait donc à opérer à une concentration initiale faible : $C^0 \leq 35 \text{ mg.g}^{-1}$. Pour palier au problème de productivité et de rendement, plusieurs cristallisations peuvent être menées en parallèle.

Conclusion générale

La maîtrise du polymorphisme lors d'un procédé de cristallisation constitue un enjeu essentiel pour l'industrie pharmaceutique. En effet, selon la forme polymorphe sélectionnée, les propriétés du futur médicament peuvent être totalement différentes. Il s'agit donc d'identifier la forme polymorphe active, et de la produire à l'échelle industrielle par cristallisation, tout en contrôlant les étapes ultérieures de mise en forme et de stockage. La difficulté réside lors de la mise en œuvre de toutes ces étapes, dans la possibilité d'évolution des cristaux d'une forme polymorphe vers une autre non souhaitée.

En tant qu'étape de génération de la forme polymorphe, la cristallisation reste un procédé difficile à maîtriser car toute modification soit d'un paramètre physico-chimique du système tel que la nature du solvant ou la présence d'impuretés, soit d'un paramètre du procédé tel que la vitesse de refroidissement ou l'intensité d'agitation, est susceptible de modifier le polymorphisme.

Cette étude a été initiée par un problème de polymorphisme lors de la production de cristaux d'éflucimibe. L'étude des polymorphes de l'éflucimibe et des propriétés des suspensions obtenues lors du procédé de cristallisation, a permis de mettre au point les outils méthodologiques nécessaires à la description des lois thermodynamiques et cinétiques régissant le système.

Un certain nombre d'études d'identification et de caractérisation avait déjà été réalisées par les Laboratoires Pierre Fabre. Deux polymorphes notés A et B, avaient été identifiés et isolés à température ambiante. Pour cela, des techniques performantes et complémentaires (rayons X, DSC, spectroscopie...) avaient été mis en œuvre. Bien que le monocristal ne soit pas disponible, ces études ont permis de mettre en évidence un polymorphisme de conformation du groupe phénol impliqué dans les liaisons hydrogène inter-moléculaires.

Le premier objectif de ce travail était donc de pouvoir transposer ces méthodes de caractérisation aux cristaux produits dans une installation de laboratoire, afin de pouvoir suivre l'évolution du polymorphisme lors d'une cristallisation. L'analyse par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) appuyée par des vérifications aux rayons X, a été retenue comme méthode semi quantitative de caractérisation des formes A et B de l'éflucimibe.

Dans un deuxième temps, des études de solubilité des formes A et B pures, ont été menées, dans les solvants sélectionnés pour effectuer la cristallisation : éthanol et n-heptane. Ces études ont permis de mettre en évidence la stabilité de la forme A pour des températures supérieures à environ 0°C. Les courbes de solubilité obtenues expérimentalement dans les mélanges de solvants présentent un maximum proche du point azéotropique du mélange. Les valeurs des solubilités des formes A et B sont très proches. La mise au point

d'une méthode de calcul de prédiction des solubilités basée sur un modèle UNIQUAC a permis d'avoir accès aux courbes de solubilité des polymorphes A et B de l'éflucimibe à toutes températures et compositions du solvant. A l'issue de cette phase de l'étude, un mélange d'éthanol et de n-heptane dans des proportions correspondant approximativement au maximum de solubilité a été retenu pour effectuer la cristallisation de l'éflucimibe.

La principale conclusion de cette partie de l'étude est que la faible différence de propriété physico-chimiques et thermodynamiques entre les deux polymorphes A et B rend la séparation des deux formes délicates. Le procédé de cristallisation est donc contrôlé par la cinétique du système.

Pour étudier la cinétique de ce système de cristallisation (éflucimibe, éthanol, n-heptane), des mesures spécifiques ont été réalisées. La détermination de zones métastables, de temps d'induction et de maturation a montré que les cinétiques de nucléation des deux formes jouent un rôle majeur dans la cristallisation de l'éflucimibe. En effet, dans une large gamme de conditions opératoires, une cristallisation concomitante des polymorphes est obtenue. Un diagramme de prédominance des polymorphes en fonction de la concentration et de la température initiale de la solution a été établi. Bien que les courbes de solubilité ne se croisent pas dans le domaine de température / concentration considéré, ce diagramme montre que la forme A ne peut pas être obtenue pour des concentrations initiales élevées. Ces études suggèrent donc que la cristallisation de l'éflucimibe doit être réalisée pour des concentrations initiales en soluté modérées etensemencées avec des cristaux de forme A pure.

L'analyse de l'influence des paramètres opératoires du procédé a été faite en considérant deux aspects. D'abord, du point de vue du polymorphisme, lors du changement d'échelle, des essais préliminaires ont montré que le diagramme de prédominance des formes est préservé. L'extrapolation du procédé a donc pu être envisagée. La forme A, polymorphe recherché, est obtenue en procédant à une cristallisationensemencée avec des cristaux micronisés de forme A pure, et pour une concentration initiale de la solution inférieure à 45mg.g^{-1} . Cependant, du point de vue hydrodynamique, la suspension évolue au cours du refroidissement vers un ensemble très structuré qui prend en masse. Cet état de structuration de la suspension, rend l'extrapolation du procédé délicate. Même si le polymorphisme peut être maîtrisé en fixant des conditions opératoires spécifiques, le problème de structuration ne sera pas résolu.

Pour mieux comprendre le comportement de la suspension au cours de la cristallisation, et pour pouvoir proposer des alternatives au mode de cristallisation, des études de rhéologie ont été réalisées. La rhéologie de ces suspensions fait apparaître qu'à partir d'une concentration volumique seuil en particules (environ 1%) et quelles que soient les conditions opératoires, la suspension se structure comme un gel. Le réseau particulaire a été caractérisé par une dimension fractale de l'ordre de 1,7. La faible valeur des composantes élastiques mesurées, suggère que le mode d'empilement des particules est relativement fragile et ressemblerait à celui d'un château de cartes désordonné. D'un point de vue du procédé, les résultats obtenus montrent qu'avec la technique de cristallisation utilisée et quelles que soient les conditions opératoires, le système prend en masse si la concentration

en particules excède $18\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Une des solutions, permettant de conserver la forme souhaitée (A), consisterait à mener plusieurs cristallisations en parallèle dont la concentration finale en particules ne dépasserait pas cette limite.

Les perspectives de ce travail peuvent être abordées sur deux niveaux. Sur le plan fondamental, la cristallisation des molécules flexibles, qui entraîne souvent des polymorphes de conformations, est très délicate et peu d'études, sur la cristallisation proprement dite, sont disponibles dans la littérature. Pour traiter ce problème, des études de solubilité ont été réalisées, et une modélisation à l'aide d'une méthode UNIQUAC des courbes de solubilité a été réalisée. Il serait intéressant d'élargir l'étude à d'autres systèmes binaires ou ternaire soluté – solvant(s). Si cette approche peut s'appliquer à d'autres cas, elle pourrait constituer une méthode de screening de solvants qui évaluerait non seulement la solubilité dans les solvants binaires à partir des données des solvants purs, mais aussi prédirait la stabilité relative des polymorphes dans divers systèmes de cristallisation.

D'un point de vue du procédé et de sa cinétique, il semble évident qu'il manque un capteur de sursaturation fiable et efficace pour les systèmes organiques, dans lesquels les notions de pH et de conductivité n'ont pas de sens. Dans ce cas, un tel capteur permettrait de réaliser des bilans massiques au cours de la cristallisation, pour contrôler le polymorphisme d'une part et la prise en masse d'autre part. Actuellement, les sondes FTIR et Raman semblent répondre à ces exigences. Cependant, pour ce système, on peut se demander si les différences des spectres IR et Raman entre les deux polymorphes diffèrent de manière assez significative pour qu'une telle technique puisse être mise en œuvre.

Sur le plan de l'extrapolation du procédé, la forme aciculaire et les propriétés de surface des cristaux sont des freins importants car elles provoquent une structuration de la suspension. Une possibilité serait de trouver un additif capable de modifier la morphologie des cristaux et de faire évoluer les particules vers un faciès plus isotrope. Toutefois, les paramètres de mailles des monocristaux sont aujourd'hui encore inconnus, il est donc difficile de modifier le faciès des cristaux par ajout d'additif pour éviter la formation d'aiguille et donc de contrôler la prise en masse du système. Une autre possibilité serait d'agglomérer les particules pour obtenir des grains sphériques. Celle-ci peut être réalisée par ajout d'un liant. Cependant, l'ajout d'une telle substance peut entraîner des interactions complexes avec le mélange de solvants et pose des problèmes d'élimination. Une autre méthode consisterait à mettre au point une technique de cristallisation sphérique qui consiste à cristalliser l'éflucimibe dans les gouttelettes d'une émulsion, afin de fabriquer un grain sphérique. Par exemple, on pourrait verser le mélange solvants – soluté chaud dans de l'eau froide (non solvant de l'éflucimibe) pour former une émulsion. Ainsi en choisissant les tensioactifs adéquats, il serait possible de miniaturiser le cristalliseur à l'échelle d'une goutte. Cependant, cette approche revient à redéfinir l'ensemble du procédé en recherchant un ensemble solvant – non solvant – tensioactif optimal et en étudiant en détail l'hydrodynamique, non triviale, d'un tel système (mise en suspension et coalescence des gouttes et la circulation à l'intérieur des gouttes).

Sur un plan pratique, l'évolution de la structure de la suspension, a permis toutefois de montrer que la rhéologie peut être un outil très précis pour caractériser des produits

pharmaceutiques formant des structures gélifiées. Cependant, pour que son utilisation soit optimale, il faut pouvoir la relier au procédé. Ainsi, il serait intéressant de réaliser des cristallisations dans des conditions hydrodynamiques contrôlées, afin de pouvoir dissocier l'influence des conditions physico-chimiques et hydrodynamiques, sur la structuration de la suspension. Par exemple, on pourrait concevoir une géométrie de type cylindre de Couette muni d'un capteur optique (diffusion multiple de la lumière par exemple), afin de pouvoir caractériser l'état d'agrégation de la suspension en cours de refroidissement.

Toutefois, en conservant une géométrie de réacteur polyvalent (cuve agitée), généralement utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour réaliser la cristallisation, l'extrapolation du procédé de cristallisation reste possible. Il suffit d'opérer à faible concentration pour pouvoir maîtriser la température et l'hydrodynamique du réacteur. Des cristallisations opérant en parallèle pourraient être alors envisagées pour augmenter le rendement.

Références bibliographiques

- Achard, C. (1992). *Modélisation des propriétés d'équilibre de milieux biologiques et alimentaires à l'aide de modèles prédictifs. contribution à la mise en place d'un logiciel de simulation de procédés biotechnologiques*. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
- Agafonov, V., Legendre, B., Rodier, N. & Wouessidjewe, D. (1991). Polymorphism of spironolactone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(2), 181-185.
- Anwar, J., Tarling, S. & Barnes, P. (1989). The polymorphism of sulphathiazole. *Journal of Pharmaceutics Science*, 78(1), 337-642.
- Ashwell, G., Bahra, G., Brown, C., Hamilton, D., Kennard, C. & Lynch, D. (1999). 2,4-bis-[4(n,n-dibutylamino)phenyl]squaraine : X-ray crystal structure of a centrosymmetric dye and the second-order non-linear optical properties of its non-centrosymmetric langmuir-blodgett films. *Journal of Material Chemistry*, 6(1), 23-26.
- Barra, J. (1999). *Intérêt des paramètres de solubilité et des énergies de surface dans la formulation des formes pharmaceutiques solides*. Thèse de doctorat, Faculté des sciences de l'université de Genève.
- Barton, A. (1991). *Handbook of solubility parameters and other cohesion parameters, 2nd edition*. Amsterdam, Pays-bas : CRC Press.
- Beckman, W., Boistelle, R. & Sato, K. (1984). Solubility of the a, b, c polymorphs of stearic acid in decane, methanol, and butanone. *Journal of Chemical engineering and data*, 29, 211-214.
- Beckmann, W. (2000a). Nucleation phenomena during the crystallization and precipitation of abecarnil. *Journal of Crystal Growth*, 198(2), 1307-1314.
- Beckmann, W. (2000b). Seeding the desired polymorph : Background, possibilities, limitations and case studies. *Organic Process Research and Development*, 4(1), 372-383.
- Beckmann, W. & Otto, W. (1996). Occurrence, stability, kinetics of crystallization and polymorphic transition of the a,b and c modification of abecarnil. *Trans IChemE*, 74, 750-758.
- Bellows, J., Chem, F. & Prasad, P. (1977). Determination of durg polymorphs by laser raman spectroscopy.1.ampicilin and griseofulmin. *Drug Dev. Indust. Pharm.*, 3(1), 451-458.
- Berstein, J. (2002). *Polymorphism in molecular cristal*. New York, USA : Oxford University Press.
- Berstein, J. & Goldstein, E. (1988). The polymorphic structures of a squarylium dye. the monoclinic (green) and triclinic (violet) forms of 2,4-bis(2-hydroxy-4-

- diethylaminophenyl)-1,3-cyclobutadienediylum 1,3-diolate. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 164(1), 213–229.
- Black, D. & Lovering, E. (1977). Estimation of degree of crystallinity of dioxigin by x-ray and infra-red methods. *J. Pharm. Pharmacol.*, 29(1), 684–687.
- Blagden, N. (2001). Cristal engineering and solvent mediated transformation of taltireline polymorphs. *Powder Technology*, 121, 46–52.
- Blagden, N., Davey, R., Rowe, R. & Roberts, R. (1998a). Disappearing polymorphs and the role of reaction by-products : the case of sulphathiazole. *International journal of pharmaceutics*, 172, 169–177.
- Blagden, N., Davey, R., Rowe, R. & Roberts, R. (1998b). Disappearing polymorphs and the role of reaction by-products : the case of sulphathiazole. *International journal of pharmaceutics*, 172, 169–177.
- Bolton, B. & Prasad, P. (1981). Laser raman investigation of pharmaceutical solids : griseofulvin and its solvates. *J. Pharm. Sci.*, 70(7), 789–793.
- Bondi, A. (1964). Van der waals volumes and radii. *Journal of Physical Chemistry*, 68, 441–451.
- Britain, H. G. (1997). Spectral methods for the characterization of polymorphs and solvates. *Journal of Pharmaceuticals Science*, 86, 405–412.
- Brittain, H., Morris, K., Bugay, D., Thakur, A. & Serajuddin, A. (1993). Solid state nmr and ir for the analysis of pharmaceutical solids : polymorphs of fosinopril sodium. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 11, 1063–1070.
- Brown, W. & Ball, R. (1987). *non publiée*. Thèse de doctorat, University of Cambridge.
- Bugay, D. (1993). Solid state nmr spectroscopy : theory and pharmaceutical applications. *Pharmaceutics Research*, 10, 317–327.
- Bugay, D. (1995). Physical characterization of pharmaceutical solids (chp4). dans (pp. 93–125). New York.
- Burger, A. & Ramberger, R. (1979a). On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystal, ii. applicability of thermodynamics rules. *Mikrochemica Acta [Wein]*, II, 259–271.
- Burger, A. & Ramberger, R. (1979b). On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystal, i. theory of thermodynamics rules. *Mikrochemica Acta [Wein]*, II, 259–271.
- Burger, A. & Ratz, A. (1990). Polymorphism and dissolution behavior of midodrine hydrochloride. *Pharm. Ind.*, 50(2), 1186–1189.
- Buscall, R., Mills, P., Goodwin, J. & Lawson, D. (1988). Scalling behavior of the rheology of aggregate network formed from colloidal particules. *Journal of The Chemical Society, Faraday trans.1*, 84, 4249–4260.
- Bustamante, P., Romero, S., Pena, A., Escalera, B. & Peillo, A. (1998). Enthalpy entropy compensation for the solubility of drugs in solvent mixtures : paracetamol, acetanilide and naidixic acid in dioxane-water. *Journal of Pharmaceuticals Sciences*, 87(12), 1590–1596.

- Byrn, S., Curtin, D. & Paul, I. (1972). X-ray crystal structures of the yellow and white forms of dimethyl 3,6-dichloro-2,5-dihydroxyterephthalate and a study of the conversion of the yellow form to the white form in the solid state. *Journal of the American Chemical Society*, *94*(1), 890-898.
- Byrn, S., Pfeiffer, R., Ganey, M., Hoiberg, C. & Poochikian, G. (1995). Pharmaceutical solids : A strategic approach to regulatory considerations. *Pharm. Res*, *12*, 945-954.
- Byrn, S., Sutton, P., Tobias, B., Frye, J. & Main, P. (1988). The crystal structure solid state nmr spectra and oxygen reactivity of five crystal form of prednisolone ter-butylacetate. *Journal of the American Chemical Society*, *110*, 1609-1614.
- Cardew, P. & Davey, R. (1982). Tailoring of a crystal growth. dans *Symposium paper* (pp. 1-8).
- Cardew, P., Davey, R. & Ruddic, A. (1984). Kinetics of polymorphic solid-state transformations. *Journal of the Chemical Society, Faraday Trans.*, *80*(1), 659-668.
- Channel, G. & Zukoski, F. (1997). Shear and compressive rheology of aggregated alumina suspensions. *AIChE Journal*, *43*, 1700-1708.
- Chen, B., Brecevic, L. & Garside, J. (1993). Nucleation of tetracosane in hydrocarbon solvents. dans *Twelfth symposium on industrial crystallization, warsaw*.
- Christensen, C., Gmehling, J., Rasmussen, P., Weidlich, U. & Holderbaum, T. (1984). *Heats of mixing data collection*. Frankfurt , D : Dechema.
- Corradini, P. (1973). X-ray studies of conformation : observation of different geometries of same molecule. *Chemical industries*, *55*(11), 122-129.
- Coussot, P. & Ancey, C. (1999). *Rhéophysique des pâtes et des suspensions*. Les Ulis, France : EDP sciences.
- Danner, R. & Daubert, T. (1983). *Manual for predicting process design data. cata prediction manual*. New York, USA : American Institute of Chemical Engineering.
- Davey, R. (2000). Crystal polymorphism. dans *Crystallization, lecture 9*.
- Davey, R., Blagden, N., Plotts, G. & Docherty, R. (1997a). Polymorphism in molecular crystals : Stabilization of a metastable form by conformational mimicry. *Journal of the Chemical Society*, *119*, 1767-1772.
- Davey, R., Blagden, N., Plotts, G. & Docherty, R. (1997b). Polymorphism in molecular crystals : Stabilization of a metastable form by conformational mimicry. *J. Am. Chem. Soc.*, *119*, 1767-1772.
- De Gennes, P. (1980). *Scaling concepts of polymer physics*. New York, France : Cornell University Press.
- Doekler, E. (1989). *Abstr.* Paris.
- Domańska, U. (1990). Solubility of acetyl-substitued naphthols in binary solvent mixtures. *Fluid Phase Equilibria*, *55*(1), 125-145.
- Dunitz, J. & Berstein, J. (1995a). Disappearing polymorphs. *Accounts of Chemical Research*, *28*(1), 193-200.
- Dunitz, J. & Berstein, J. (1995b). Disappearing polymorphs. *Accounts of Chemical Research*, *28*(1), 193-200.

- Espitalier, F. (1994). *Procédé discontinu de cristallisation d'un principe actif pharmaceutique par le mécanisme de quasi-émulsion*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, ENSIGCT.
- Févotte, G. (2002). New perspectives for the on-line monitoring of pharmaceutical crystallization processes using in situ infrared spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics*, 241, 263–278.
- Frank, T., Downey, J. & Gupa, S. (1999). Quickly screen solvents for organic solids. *Chemical Engineering Progress*, 95(12), 41–61.
- Fu, J.-H., Rose, J., Tam, M. & Wang, B. (1994). New crystal form of $\alpha\mu$ – *classglutathione5 – transferase* from rat liver. *Acta Crystallographica*, 50, 219–222.
- Garcia, E. & coll., C. Hoff et. (2002). Dissolution and phase transition of pharmaceutical compounds. *Journal of Crystal Growth*, 210, 237–239.
- Gerber, J., Cairra, M. & Lötter, A. (1993). Structures of the conformational polymorphs of the cholesterol-lowering drug probucol. *J. Crystallogr. Spectrosc. Res.*, 23, 863–872.
- Giron, D. (1979). Angewandte chemische thermodynamik und thermoanalytik. dans E. Marti, H. Oswald & H. Wiedemann (Eds.), (p. 227). Basel : Birhäuser verlag.
- Giron, D. (1990). Le polymorphisme des excipients. *S.T.P. Pharma.*, 6(87).
- Giron, D. (1994). Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates. *Thermochimica Acta*, 248, 1-59.
- Gmehling, J. (1995). From unifac to modified unifac to psrk with the help of ddb. *Fluid Phase Equilibria*, 107, 1–29.
- Gordon, P. (1968). *Principles of phase diagrams in materials science*. New York, USA : McGraw-Hill Boopk Co.
- Gracin, S., Brinck, T. & Rasmuson, A. (2001). On the prediction of solubility by unifac. dans *Proceedings of isic 15, sorrento*.
- Granberg, R., Ducreux, C., Garcin, S. & Rasmuson, A. C. (2001). Primary nucleation of paracetamol in acetone–water mixtures. *Chemical Engineering Science*, 57(9), 4267–4275.
- Grassely, J., Snavely, M. & Bulkin, B. (1981). *Chemical applications of raman spectroscopy*. New York.
- Gu, W. (1993). Factor analysis of phase transitions and conformational changes in pentaerythritol tetrastearate. *Anal. Chem.*, 65, 827-827.
- Hancock, B., York, P. & Rowe, R. C. (1997). The use of solubility parameters in pharmaceutical dosage form design. *International Journal of Pharmaceutics*, 148, 1–21.
- Hansen, C. (1999). *Hansen solubility parameters : A user's handbook*. New York, USA : CRC Press.
- Harris, R. (1985). Quantitative aspect of high-resolution solid-state nmr spectroscopy. *The analyst*, 110, 649–655.
- Hiramatsu, Y., Suzuki, H., Kuchiki, A., Nakagawa, H. & Fuji, S. (1996). X-ray structural studies of lomeridine dihydrochloride polymorphs. *Journal of Pharmaceutical*

- Sciences*, 85, 761–766.
- Höhne, G., Hemminger, W. & Flammersheim, H.-J. (1996). *Differential scanning calorimetry : an introduction for practitioners* (Springer, Ed.). Springer.
- Hoy, K. (1970). New values of the solubility parameters from vapor pressure data. *Journal of Paint Technology*, 42, 76.
- Jaques, J., Collet, A. & Wilen, S. (1991). *Enantiomers, racemates and resolutions*. Malabar, USA : Krieger publishing compaby.
- Jasti, B., Du, J. & Vasavada, R. (1995). Characterization of thermal behavior of etoposide. *International Journal of Pharmaceutics*, 118(2), 161–167.
- Jeffrey, G. & Kim, H. (1970). Conformations of the alditols. *Carbohydrate Reseach*, 14(2), 207–216.
- Kantor, Y. & Webman, I. (1984). Elastic properties of random percolating systems. *Physical Review Letters*, 52, 1891–1894.
- Kashchiev, D. (2000). *Nucleation*. Grande Bretagne : Butterworth-Heinemann.
- Kelly, P., Slawin, A. & Waring, K. (1997). Preparation and crystal structure of two forms of trans- $cucl_2[n(h) sph_2]_2$, an unusual example of square planar pseudo-tetrahedral isomerism in a neutral copper(ii) complex. *Journal of the Chemical Society, Dalton Trans.*, 2853–2854.
- Kelly, P., Slawin, A., Waring, K. & Wilson, S. (2001). Further investigation into the isomerism of cu(ii) complexes of diphenylsulfimide : the preparation and x-ray crystal structure of $[cu(ph_2snh)_4][cubr_2(ph_2snh)_4]br_2$, the first example of a $[cul_4][cux_2l_2]x_2$ structure. *Inorganic chimica Acta*, 312(1), 201–204.
- Kitamura, M. (1989). Polymorphism in the crystallization of l-glutamic acid. *Journal of Cristal Growth*, 96, 541–546.
- Kitamura, M. (2002). Controlling factor of polymorphism in crystallization process. *Journal of Crystal Growth*, 237, 2205–2214.
- Kitamura, M. & Nakamura, K. (2002). Effect of solvent composition and temperature on polymorphism and crystallization behavior of thiazole-derivative. *Journal of Crystal Growth*, 236, 676–686.
- Klein, J., Boistelle, R. & Duga, J. (1989a). Cristallisation : Aspects théoriques. dans *Traité de génie des procédés* (Vol. J1500, pp. 1–21). France : Sciences Fondamentales et Techniques de l'ingénieur.
- Klein, J., Boistelle, R. & Duga, J. (1989b). Cristallisation industrielle : Aspects pratiques. dans *Traité de génie des procédés* (Vol. J2788, pp. 1–21). France : Sciences Fondamentales et Techniques de l'ingénieur.
- Lafferrere, L. (2002). *Nucléation et transitions de phases*. Thèse de doctorat, Faculté des sciences et techniques de Saint Jérôme.
- Lin, S.-Y. (1992). Isolation and solid-state characteristics of a new crystal form of indomethacin. *Journal of Pharmaceutics Science*, 81, 572–576.
- Lowes, M., Cairra, M., Lötter, A. & Watt, J. van der. (1987). *Journal of Pharmaceutical Science*, 76(744).

- McCauley, J. (1991). Particle design via crystallization. *AIChE Symposium series*, 87, 58–65.
- McCrone, W. (1965). Physics and chemistry of the organic solid state. dans (p. 725-767). New York.
- McCrone, W. (1993). The particle atlas. *Scanning Microscopy*, 7(1).
- McMahon, L., Timmins, P., Williams, A. & York, P. (1996). Characterization of dihydrates prepared from carbamazepine polymorphs. *Journal of Pharmaceutical Science*, 85(10), 1064-1069.
- Mersmann, A., Braun, B. & Löffelmann, M. (2002). Prediction of crystallization coefficients of the population balance. *Chemical Engineering Science*, 57(9), 4267–4275.
- Midoux, N. (1993). *Mécanique et rhéologie des fluides en génie chimique*. Paris, France : Tec et Doc.
- Millet, J., Sebaoun, A. & Thomas, G. (1985). A new analytical method for solid state investigations : Differential x-ray diffraction. *Thermochem. Acta*, 85, 135–138.
- Mullin, J. (2001). *Crystallization*. Oxford, GB : Butterworth-Heinemann.
- Myerson, A. (2002). *Handbook of industrial crystallization*. Butterworth Heinemann.
- Nass, K. (1991). Process implication of polymorphism in organic compounds. *AIChE symposium series*, 87(284), 676-686.
- Neumann, W. & Spelt, J. (1996). *Applied surface thermodynamics*. New York, USA : Marcel Dekker.
- Ostwald, W. (1897). Studies on formation and transformation of solid materials. *Z. Physik. Chem*, 22, 289-330.
- Ostwald, W. (1899). *Grundriss der allgemeinen chemie*. Leipzig, Germany : W. Engelmann.
- Panagiotopoulos, N., Jeffrey, G., LaPlaca, S. & Hamilton, W. (1974). The a and b forms of potassium d-gluconate monohydrate. *Acta Crystallography B*, 30(1), 1421–1430.
- Peterson, M., Strnad, J., Markotan, T., Morales, C., Scaltrito, D. & Staley, S. (1999). Structural effects of c6 substitution in 6 – (–4 – dimethylaminophenyl)fulvenes. *Journal of Organic chemistry*, 64, 9067.
- Pienaar, E., Caira, M. & Lötter, A. (1993a). *J. Cryst. Spect. Res.*, 23, 785 –792.
- Pienaar, E., Caira, M. & Lötter, A. (1993b). *J. Cryst. Spect. Res.*, 23, 739 –746.
- Pignon, F., Magin, A., Piau, J., Cabane, B., Lindner, P. & Diat, O. (1997). Yield stress thixotropic clay suspension : Investigations of structure by light, neutron, and x-ray scattering. *Physical Review E*, 56, 3281–3289.
- Prausnitz, J. (1981). Calculation of phase equilibria for separation operations. *Trans. I. Chem. E.*, 59, 3–16.
- Prausnitz, J., Lichtenthaler, R. & Azevedo, G. de. (1986). *Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria*. New Jersey, USA : Prentice Hall.
- Prausnitz, J., Lichtenthaler, R. & Azevedo, E. de. (1998). *Molecular thermodynamics of fluide-phase equilibria*. NJ, USA : Prentice Hall PTR.
- Randall, C., DiNenno, B., Shultz, R., Dayter, L., Konieczny, M. & Wunder, S. (1995). Solid-state transformation of a leukotriene antagonist. *International Journal of Phar-*

- maceutics*, 120(2), 235–245.
- Reid, R., Prausnitz, J. & Poling, B. (1987). *The properties of gaz and liquids*, 4th edition. New York, USA : Mc Graw Hill.
- Ribet, J., Pena, R., Chauvet, A., Patoiseau, J., Autin, J., Segonds, R. et coll. (2002). Séance thématique : Polymorphisme cristallin de l'éflucimibe. *Ann. Pharm FR*, 60, 177-186.
- Saint-Michel, F., Pignon, F. & Magnin, A. (2002). Rheometry and structure of nano-sized silica in polyol. *Rhéologie*, 2, 31–38.
- Shih, W., Shih, W., Kim, S., Liu, J. & Aksay, I. (1990). Scalling behavior of the elastic properties of colloidal gel. *Physical review A*, 42, 4772–4779.
- Sichina, W. J. (2001). Characterization of pharmaceuticals using thermal analysis. *American Laboratory*, 1, 16–25.
- Stephenson, G., Forbes, R. & Reutzl-Edens, S. (2001). Characterization of the solid state : quantitative issue. *Adv. Drug Deliv. Revs*, 48, 67–90.
- Stephenson, G., Forbes, R. & Reuztel-Edens, S. (2001). Characterization of the solid state : quantitative issues. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48, 67–90.
- Stoltz, M., Oliver, D., Wessels, P. & Chamlers, A. (1991). High resolution solid state¹³C nmr spectra of mofebutazone, phenylbutazone and oxyphenbutazone in relation to x-ray crystallographic data. *Journal of Pharmaceuticals Science*, 80, 357–362.
- Suryanarayanan, R. & Mitchell, A. (1985). Evaluation of two concepts of crystallinity using calcium gluceptate as a model compound. *International Journal of Pharmaceutics*, 24, 1–17.
- Tempel, M. van den. (1979). Rheology of concentrated suspensions. *Journal of colloid and intreface science*, 71, 18–20.
- Uchida, T., Yomnemochi, E., Oguchi, T., Tereda, K., Yamamoto, K. & Nakai, Y. (1993). Polymorphism of tegafur : Physico-chemical properties of four polymorphs. *Chem. Pharm. Bul.*, 41, 1632–1635.
- Van Krevelen, D. (1990). *Properties of polymers*, 3rd ed. Amsterdam, Pays-bas : Elsevier.
- Verheyen, S., Augustijns, P., Kinget, R. & Mooter, G. Van der. (2001). Determination of partial solubility parameters of five benzodiazepines in individual solvents. *International Journal of Pharmaceutics*, 228, 199–207.
- Verma, A. & Krishna, P. (1966). Polymorphism and polytypism in crystals. dans (p. 15-30). New York.
- Vreeker, E., Hoekstra, L., Boer, D. den & Agterof, W. (1992). The fractal nature of cristal networks. *Colloids and surfaces*, 65, 185–189.
- Wojtyk, J., McKerrow, A., Kazmaier, P. & Buncel, E. (1999). Quantitative investigations of the aggregation behavior of hydrophobic anilino squaraine dyes through uv/vis spectroscopy and dynamic light scattering. *Canadian Journal of Chemistry*, 77(2), 903–912.
- Yu, L. (1995). Inferring thermodynamic stability relationship of polymorphs from melting data. *Journal of Pharmaceuticals Science*, 84(2), 966–974.

- Yu, L. (1998). Physical characterization of polymorphic drugs : an intergrated characterization. *PSTT*, 118, 65-72.
- Yu, L., Stephenson, G., Mitchell, C., Bunnell, C., Snorek, S., Bowyer, J. et coll. (2000). Thermochemistry and conformational polymorphism of a hexamorphic crystal system. *Journal of the American Chemical Society*, 122(2), 585–591.
- Zettlemoyer, A. (1969). *Nucleation*. New York, USA : Marcel Dekker.

Liste des tableaux

I.1	<i>Règles thermodynamiques de Burger et Ramberger</i>	14
II.1	<i>Caractérisation de mélange physiques de poudres de A et B pur par DSC</i>	51
II.2	<i>Solubilité de l'éflucimibe dans divers solvants</i>	55
II.3	<i>Résultats des mesure de solubilités des formes A et B de l'éflucimibe dans les solvants purs</i>	57
II.4	<i>Résultats des mesures de solubilités des formes A et B dans les mélanges de solvants éthanol – n-heptane pour différentes températures.</i>	60
II.5	<i>Paramètres de solubilité de l'eflucimibe, l'éthanol et le n-heptane</i>	62
II.6	<i>Décomposition UNIQUAC de l'éflucimibe, l'éthanol et le n-heptane</i>	65
II.7	<i>Paramètres d'interaction binaire du modèle UNIQUAC pour les systèmes éflucimibe – éthanol, élucimibe – n-heptane et éthanol – n-heptane</i>	66
II.8	<i>Coefficient de régression et erreur relative du modèle UNIQUAC pour la prédiction des équilibres liquide–solide des formes A et B de l'éflucimibe</i>	68
III.1	<i>Largeur des zones métastables (exprimées en différence de température ΔT) obtenue sans ensemencement pour différentes concentrations et vitesses de refroidissement</i>	74
III.2	<i>Fraction massique de la forme A dans les poudres obtenues peu après la nucléation et en fin de cristallisation</i>	76
III.3	<i>Largeurs des zones métastables (exprimées en terme de différence de température ΔT) obtenues avec ensemencement (forme A) pour différentes concentrations et vitesses de refroidissement</i>	76
III.4	<i>Fractions massiques de la forme A dans les poudres obtenues peu après la nucléation lorsque des semences de la forme A sont introduites</i>	77
III.5	<i>Température de nucléation et fractions massiques de la forme A dans les poudres obtenues peu après la nucléation lorsque des semences de la forme B sont introduites (Vitesse de refroidissement fixée à 5°C.h^{-1}).</i>	77
III.6	<i>Conditions opératoires, fraction massique de forme A et temps d'induction mesurés à différents niveaux de sursaturation</i>	78
III.7	<i>Compositions initiales des mélanges physiques de poudres utilisés lors des expériences de maturation</i>	79
III.8	<i>Tensions interfaciales cristal–solution des formes A et B obtenues à partir des temps d'induction</i>	82

III.9	<i>Résultats de la mesure de l'angle de contact et les tensions superficielles des liquides de référence utilisés en $mJ.m^2$</i>	83
III.10	<i>Tensions superficielles et ses composantes déterminées par la méthode de la goutte posée pour les poudres d'éflucimibe en $mJ.m^2$</i>	83
III.11	<i>Coefficients de diffusion de l'éflucimibe dans dans les solvants purs et dans le mélange éthanol – n-heptane ($T = 298,15 K$)</i>	86
III.12	<i>Cinétiques de nucléation des polymorphes A et B pour les différentes conditions opératoires étudiées lors des mesures de zones métastables sans ensemencement</i>	87
IV.1	<i>Caractéristiques du mobile d'agitation A310 (Lightnin)</i>	93
IV.2	<i>Avantages et inconvénients du système Labmax</i>	96
IV.3	<i>Caractéristiques des produits utilisés</i>	96
IV.4	<i>Influence de la matière première</i>	100
IV.5	<i>Influence de la maturation</i>	100
IV.6	<i>Influence de la «qualité» des semences sur la fraction massique de forme A</i>	104
IV.7	<i>Influence du mode d'introduction des semences (sec ou humide) sur la fraction massique de forme A</i>	104
IV.8	<i>Fraction massique de forme A (W_A) obtenue dans le cristalliseur de 750mL pour différentes vitesses de refroidissement et différentes concentrations initiales</i>	105
IV.9	<i>Résultats des prélèvements réalisés pour les expériences de cristallisations effectués avec ensemencement en forme A à $10^\circ C.h^{-1}$</i>	106
IV.10	<i>Reproductibilité de l'expérience de référence, R01</i>	108
IV.11	<i>Paramètres opératoires du procédé étudiés</i>	111
IV.12	<i>Influence de la concentration initiale</i>	112
IV.13	<i>Influence de la vitesse de refroidissement</i>	114
IV.14	<i>Influence de la vitesse de refroidissement à différentes concentrations</i>	115
IV.15	<i>Influence de la vitesse d'agitation ($N \geq 200 tr.min^{-1}$)</i>	116
IV.16	<i>Influence de la vitesse d'agitation ($N \leq 100 tr.min^{-1}$)</i>	117
V.1	<i>Modèles rhéologiques décrivant l'écoulement des fluides à contrainte critique</i>	126
V.2	<i>Modèles rhéologiques pour les fluides ne présentant pas de contrainte critique</i>	128
V.3	<i>Caractéristiques des suspensions d'éflucimibe obtenues après cristallisation étudiées par rhéologie</i>	133
V.4	<i>Paramètres du modèle de Herschel-Buckley (tableau V.1) pour les différentes suspensions d'éflucimibe issues des expériences R1 à R9</i>	137
V.5	<i>Module élastique G' et déformation maximale Γ_0 pour différentes fractions volumiques d'éflucimibe</i>	138

Liste des figures

I.1	<i>Diagramme concentration – température pour un système soluté – solvant donné</i>	7
I.2	<i>Exemple de variation du temps d'induction en fonction du niveau de sursaturation</i>	9
I.3	<i>Différentes formes des solides cristallins</i>	11
I.4	<i>Évolution de l'enthalpie libre et de l'enthalpie en fonction de la température pour des systèmes polymorphiques</i>	12
I.5	<i>Solubilités des systèmes polymorphes</i>	13
I.6	<i>Illustration schématique de la loi d'Ostwald</i>	17
I.7	<i>Processus de croissance–dissolution</i>	18
I.8	<i>Modes de transformations entre polymorphes</i>	18
I.9	<i>Étapes cinétiques de la transformation à l'état solide</i>	19
I.10	<i>Exemple de courbes de solubilité de deux polymorphes monotrotes</i>	20
I.11	<i>Courbes cinétiques des transformations en présence de solvant</i>	21
I.12	<i>Schéma des différents polymorphes de conformation</i>	24
I.13	<i>Les deux technologies d'appareil de DSC</i>	32
I.14	<i>Courbes DSC du tolbutamide</i>	34
I.15	<i>Transition énantiotropique observée par DSC</i>	34
I.16	<i>Influence des paramètres opératoires sur les courbes DSC</i>	35
I.17	<i>Facteurs influençant la cristallisation des polymorphes</i>	37
I.18	<i>Représentation schématique des différentes procédures d'ensemencement</i>	38
II.1	<i>Formule développée de l'éflucimibe (la numérotation est utilisée pour faciliter l'attribution des spectres RMN-CPMAS.)</i>	41
II.2	<i>Clichés RX sur poudre obtenus pour la forme A pure de l'éflucimibe.</i>	43
II.3	<i>Clichés RX sur poudre obtenus pour la forme B pure de l'éflucimibe.</i>	44
II.4	<i>Représentation schématique de la maille cristalline des cristaux d'éflucimibe.</i>	45
II.5	<i>Clichés RX sur poudre en fonction de la température pour la forme A pure de l'éflucimibe.</i>	46
II.6	<i>Évolution du pic de diffraction obtenue à $2,58^\circ 2\theta$ (pic 003) pour la forme A pure en fonction de la température</i>	46
II.7	<i>Clichés RX sur poudre en fonction de la température pour la forme B pure de l'éflucimibe.</i>	47

II.8	<i>Profils thermiques de la forme polymorphe A obtenus par DSC. 1-Première montée en température (pas de fusion), 2-Refroidissement, 3-Deuxième montée en température jusqu'à la fusion</i>	49
II.9	<i>Profils thermiques de la forme polymorphe B obtenus par DSC. 1-Première montée en température (pas de fusion), 2-Refroidissement, 3-Deuxième montée en température jusqu'à la fusion</i>	50
II.10	<i>Spectres infrarouges obtenus en réflexion diffuse pour les formes A et B de l'éflucimibe</i>	52
II.11	<i>Spectres RMN ¹³C en phase solide pour les formes A et B de l'éflucimibe, obtenus à 125,72 MHz.</i>	53
II.12	<i>Photographie réalisées au microscope électronique à balayage des formes A et B de l'éflucimibe.</i>	54
II.13	<i>Variation du logarithme de la solubilité en fonction de l'inverse de la température pour les polymorphes A et B dans l'éthanol pur.</i>	58
II.14	<i>Diagramme ternaire de solubilité des formes A (a) et B (b) dans les mélanges de solvants éthanol – n-heptane.</i>	59
II.15	<i>Diagramme d'enthalpie libre pour le mélange éthanol – n-heptane à 25°C en fonction de la fraction molaire d'éthanol.</i>	61
II.16	<i>Représentation des équilibres liquide – solide : éflucimibe – éthanol – n-heptane par le modèle UNIQUAC. Les symboles correspondent aux points expérimentaux et la ligne continue au modèle</i>	67
III.1	<i>Schéma de l'installation expérimentale</i>	72
III.2	<i>Photographie du dispositif expérimental</i>	72
III.3	<i>Représentation des largeurs des zones métastables obtenues sans ensemencement</i>	75
III.4	<i>Évolution de la composition des mélange 1 et 2 en solution saturée au cours du temps à température ambiante</i>	79
III.5	<i>Évolution du temps d'induction en fonction du niveau de sursaturation des formes A et B. Zone I : Nucléation primaire homogène, Zone II : nucléation primaire hétérogène</i>	81
III.6	<i>Variation de la vitesse de refroidissement en fonction de la largeur de la zone métastable</i>	85
III.7	<i>Diagramme de prédominance des formes polymorphes</i>	88
IV.1	<i>Photographie de l'ensemble du dispositif expérimental</i>	92
IV.2	<i>Photographie du cristalliseur de 750 mL</i>	92
IV.3	<i>Mobile d'agitation A310</i>	93
IV.4	<i>Représentation schématique du système de régulation de température du Lab-Max</i>	94
IV.5	<i>Sonde de mesure de turbidité d'une solution par rétrodiffusion.</i>	95
IV.6	<i>Incertitude absolue de mesure de R_t</i>	95
IV.7	<i>Exemple de répartition granulométrique des cristaux</i>	98

IV.8	<i>Allure des courbes de turbidité de température du réacteur et de la double enveloppe au cours de la maturation</i>	101
IV.9	<i>Allure des courbes de turbidité</i>	102
IV.10	<i>Influence de la quantité de semence sur la fraction massique de A</i>	103
IV.11	<i>Évolution du couple de l'agitateur pour les trois expériences de référence au cours du refroidissement</i>	109
IV.12	<i>Exemple d'évolution de la température (double enveloppe, réacteur, consigne) pendant la prise en masse (Essai 3)</i>	109
IV.13	<i>Évolution de la valeur moyenne de la turbidité pour l'expérience de référence</i>	110
IV.14	<i>Influence de la concentration initiale sur la courbe de turbidité</i>	113
IV.15	<i>Influence de la vitesse de refroidissement sur l'évolution de la turbidité</i>	114
IV.16	<i>Influence de la vitesse d'agitation ($N \geq 200 \text{ tr.min}^{-1}$) sur les courbes de turbidité</i>	116
IV.17	<i>Photographie de l'expérience réalisée à 50 tr.min^{-1}</i>	117
IV.18	<i>Photographie MEB des agglomérats obtenus pour les expériences à 50 et 80 tr.min^{-1}</i>	118
IV.19	<i>Influence de la vitesse d'agitation ($N \leq 100 \text{ tr.min}^{-1}$) sur les courbes de turbidité</i>	118
V.1	<i>Représentation schématique du cisaillement d'un fluide entre deux plans parallèles en mouvement relatif.</i>	123
V.2	<i>Représentation schématique d'un rhéomètre plan-plan rotatif</i>	123
V.3	<i>Représentation du glissement</i>	125
V.4	<i>Représentation de la fracturation</i>	125
V.5	<i>Aspect extérieur du creusement</i>	126
V.6	<i>Rhéogrammes caractéristiques des fluides présentant un seuil d'écoulement</i>	127
V.7	<i>Rhéogrammes caractéristique des fluides ne présentant pas de seuil d'écoulement</i>	127
V.8	<i>Photographie du rhéomètre Bohlin CVOR 200</i>	132
V.9	<i>Influence du pré-cisaillement sur les rhéogrammes obtenus</i>	134
V.10	<i>Influence de la rampe de montée en cisaillement (tracé log-log) sur le rhéogramme de l'échantillon R1. La zone I correspond au domaine élastique, la zone II au domaine visqueux</i>	135
V.11	<i>Représentation sur une échelle log-log de la variation de la contrainte de cisaillement en fonction du gradient de vitesse pour des suspensions correspondant aux expériences R1 à R9 (Zone visqueuse).</i>	136
V.12	<i>Variation (log-log) du module élastique (G') et visqueux (G'') en fonction de la déformation enregistrée à une fréquence de 1hz pour les expériences R1 et R5</i>	138
V.13	<i>Variation (log-log) du module élastique (G') et visqueux (G'') en fonction de la contrainte de déformation enregistré à une fréquence de 1hz pour les différents échantillons étudiés</i>	139

V.14	<i>Variation (log-log) du module élastique (G') et du seuil d'écoulement (τ_H) en fonction de la fraction volumique en solide. Les carrés représentent les résultats obtenus après dilution de l'échantillon 1 (les barres d'erreurs correspondent à une incertitude de 5% sur les dilutions)</i>	140
V.15	<i>Photographies du réseau de particules obtenues par microscopie optique.</i> . .	141

