



HAL
open science

NUCLEATION ET TRANSITIONS DE PHASES EN CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Laurent Lafferrere

► **To cite this version:**

Laurent Lafferrere. NUCLEATION ET TRANSITIONS DE PHASES EN CHIMIE PHARMACEUTIQUE. Génie des procédés. Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III, 2002. Français. NNT : 02AIX30054 . tel-00784677

HAL Id: tel-00784677

<https://theses.hal.science/tel-00784677>

Submitted on 4 Feb 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

pour obtenir le grade de :

**DOCTEUR EN PHYSICO-CHIMIE ET GENIE DES PROCÉDES
DE L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE III**

NUCLEATION ET TRANSITIONS DE PHASES EN CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Par

Laurent LAFFERRERE

Soutenue publiquement le 27 Septembre 2002 devant la commission d'examen :

Présidente : **Mme. E. NEAU**

Rapporteurs : **Mme. B. BISCANS**
M. G. COQUEREL

Examineurs : **MM. S. VEESLER** (Directeur de Thèse)
C. HOFF (Codirecteur de Thèse)
J.P. KLEIN

Remerciements

Cette thèse a été effectuée au Centre de Recherche sur les Mécanismes de la Croissance Cristalline (CRM2-CNRS) situé à Marseille. Je remercie Monsieur le Professeur Jacques Derrien, directeur du laboratoire de m'y avoir accueilli. Je tiens également à remercier la société Sanofi-Synthélabo pour le soutien financier qu'ils ont apporté à ce travail.

Je remercie vivement Madame Béatrice Biscans, Directeur de Recherche au CNRS et à l'École Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques Et Technologiques (ENSIACET) et Monsieur Gérard Coquerel, Professeur et directeur de l'unité de Sciences et Méthodes Séparatives (SMS) de l'université de Rouen qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail en tant que rapporteurs.

Je tiens également à remercier Madame Evelyne Neau, Professeur et responsable du laboratoire de Chimie-Physique de l'Université d'Aix-Marseille III, Monsieur Jean-Paul Klein, Professeur au Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP) à Lyon-Villeurbanne, et Monsieur Christian Hoff, responsable du laboratoire de Physico-Chimie des Procédés de Sanofi-Synthélabo à Aramon qui ont bien voulu s'investir dans la lecture du manuscrit et faire partie du jury.

Je suis très heureux de témoigner de ma profonde estime à mon directeur de thèse, Monsieur Stéphane Veessler, Chargé de Recherche au CNRS et responsable du groupe solution. Je lui suis reconnaissant de m'avoir fait bénéficier de ses compétences scientifiques et de m'avoir guidé au cours de ces trois années, ne ménageant ni son temps, ni ses conseils. Merci aussi Stéphane de m'avoir permis de découvrir des pays comme l'Allemagne, le Japon et l'Italie lors de congrès internationaux pour lesquels j'ai obtenu des communications orales.

Les calculs de modélisation de la démixtion de phase par traitement thermodynamique présentés dans ce mémoire ont été réalisés au laboratoire de Chimie-Physique de l'Université d'Aix-Marseille III. J'adresse mes plus vifs remerciements au Professeur Evelyne Neau qui m'a initié aux techniques de modélisation.

J'exprime toute ma reconnaissance à Monsieur Christian Hoff pour avoir suivi ce travail, pour le prêt de matériel scientifique, pour son soutien tout au long de ces trois années et pour l'accueil chaleureux que lui et son équipe ont réservé à mes nombreuses sollicitations.

Je souhaite de plus que Monsieur Eric Garcia, responsable du laboratoire de Cristallisation de Sanofi-Synthélabo à Porcheville, trouve ici la marque de mes sentiments amicaux et de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier Messieurs Jean-Paul Klein, Denis Mangin et Moussa Boukerche du LAGEP à Villeurbanne ainsi que Monsieur Olivier Monnier de Sanofi-Synthélabo à Montpellier pour leur collaboration et l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail notamment lors de nos réunions trimestrielles.

La réalisation des différents dispositifs expérimentaux a nécessité les bons soins de l'atelier du CRMC2, l'intervention de Michel Audiffren pour l'instrumentation, de Thirou Bactivelane pour les mesures. Je tiens donc à exprimer toute ma sympathie à Messieurs Jean-Noël Jullien, Jérôme Renaud, Gilles Arthaud, Michel Audiffren et Thirou Bactivelane. Merci aussi à Francis Quintric pour les photographies et Serge Nitsche pour m'avoir formé à la microscopie électronique à balayage.

Mon apprentissage des techniques de diffraction des Rayons X, Poudres et Précession, s'est fait au contact de Jean-Pierre Astier que je remercie pour sa sympathie et sa bonne humeur. Merci également à Marie-Claude Toselli pour son aide précieuse et sa gentillesse.

Je tiens à remercier tous les membres du CRMC2 ayant contribué par leur sympathie et leur compétence scientifique et technique à rendre mon séjour au sein de ce laboratoire à la fois fort agréable et instructif. Un sentiment plus particulier pour mes amis qui se reconnaitrons et pour l'équipe du Luminy-Carnoux.

Je voudrait faire maintenant une place toute particulière à mes parents. Je profite en cette occasion pour exprimer mon attachement profond et ma très sincère reconnaissance à mes parents qui m'ont soutenu au cours de ces longues années d'études. Enfin, je ne saurais oublier ma fiancée Karine qui par sa présence, son soutien moral et sa joie de vivre m'a permis de remettre toutes choses à leur juste valeur.

C'est à mes parents et à Karine que je dédie ce travail.

*Science et connaissance, art et anticipation – les deux couples
qui se cachent bien des choses, mais quand ils se comprennent
rien au monde ne les surpasse.*

*Vladimir Nabokov, écrivain américain d'origine russe
Extrait d'une lettre à Kirill Nabokov –1930*

SOMMAIRE

Chapitre I : INTRODUCTION

..... p 1

Chapitre II : NUCLEATION ET TRANSITIONS DE PHASES

..... p 5

I. GENERALITES p 7

I.1. Solubilité p 7

I.1.1. Définition p 7

I.1.2. Relations solubilité-température fonction de l'idéalité de la solution... p 8

I.2. Sursaturation..... p 11

**II. ASPECT FONDAMENTAL PUIS PRATIQUE
DE LA NUCLEATION** p 13

II.1. Introduction p 13

II.2. Nucléation primaire homogène p 14

II.2.1. Approche thermodynamique p 14

II.2.2. Approche cinétique p 17

II.3. Nucléation primaire hétérogène p 23

II.3.1. Approche thermodynamique p 23

II.3.2. Approche cinétique p 25

II.4. Nucléation Secondaire p 27

II.4.1. Nucléation secondaire apparente p 28

II.4.2. Nucléation secondaire vraie ou surfacique p 29

II.5. A chaque mécanisme son domaine de prédominance !	p 30
II.6. Cristallisation en présence d'impuretés ou d'additifs	p 31
III. LE POLYMORPHISME	p 33
III.1. Introduction	p 33
III.2. Conditions d'existence	p 35
III.2.1. Quelques rappels thermodynamique	p 35
III.2.2. Monotropie	p 36
III.2.3. Enantiotropie	p 37
III.2.4. Règles de Burger	p 38
III.3. Condition de formation des polymorphes	p 39
IV. LA DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE	p 45
IV.1. Définition : Démixtion liquide-liquide	p 45
IV.2. Approche thermodynamique	p 47
IV.3. Mécanismes de démixtion liquide-liquide	p 52
IV.4. Influence de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation.	p 55
IV.5. Caractérisation et modélisation de la démixtion liquide-liquide	p 59
IV.5.1. Techniques de caractérisation de la démixtion liquide-liquide	p 59
IV.5.2. Modèle empirique pouvant définir la démixtion liquide-liquide	p 60
IV.5.3. Approche de la modélisation de la démixtion liquide-liquide par traitement thermodynamique	p 60
V. CONCLUSION	p 62

Chapitre III : MATERIELS ET METHODES

.....	p 63
I. CARACTERISTIQUES GENERALES DES MOLECULES	p 64
I.1. Présentation des molécules étudiées	p 64
I.1.1. La molécule SR 28043	p 64
I.1.2. La molécule SR 142801	p 65
I.2. Caractérisations des molécules cristallisées	p 66
I.2.1. Présentation des techniques de caractérisation	p 66
I.2.2. Résultats des caractérisations	p 68
II. DETERMINATION DES DIAGRAMMES DE PHASES	p 73
II.1. Solubilité	p 73
II.1.1. Milieu Agité	p 73
II.1.2. Milieu Stagnant	p 74
II.2. Démixtion liquide-liquide	p 76
II.2.1. Visualisation optique	p 76
II.2.2. Diffusion de la lumière	p 76
II.2.3. Analyses par dosage	p 78
<i>II.2.3.1 Dosage par Chromatographie Liquide Haute Pression</i>	<i>p 79</i>
<i>II.2.3.2 Méthode Karl Fisher</i>	<i>p 80</i>
III. DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE L'ETUDE DE LA CRISTALLISATION ET DE LA DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE EN MILIEU AGITE	p 81
III.1. Montage expérimental	p 82

III.2. Le Réacteur	p 83
III.3. La conductimétrie	p 84
III.3.1. Généralités sur la mesure de conductivité	p 84
III.3.2. Dispositif de mesure	p 85
III.4. La diffusion de la lumière	p 85
III.4.1. La turbidimétrie	p 85
III.4.2. Mesure de turbidité en milieu agité par sonde Lasentec	p 87
III.5. Pilotage, acquisition des données	p 89
III.6. Techniques de visualisation in-situ en milieu agité	p 91

Chapitre IV :
APPROCHE FONDAMENTALE
DE LA NUCLEATION DE PRINCIPES ACTIFS
..... p 93

I. SOLUBILITE ET CONTROLE DE POLYMORPHES EN
SUSPENSION p 94

I.1. Solubilité du SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau
(54,2/45,8)_{massique} p 95

I.2. Caractérisation et contrôle du Polymorphisme en suspension p 98

I.3. Les résultats de mesures de solubilité et de DSC sont-ils corrélés ?
..... p 101

I.3.1. Applications des règles de Burger aux résultats de DSC p 101

I.3.2. Comparaison résultats DSC et solubilités de F_I et F_{II} dans le mélange
Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique} p 102

II. CARACTERISATION D'UNE DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE EN MILIEU STAGNANT DANS L'ETUDE DU SR 142801	p 103
II.1. Caractérisation visuelle de la démixtion liquide-liquide.....	p 103
II.2. Caractérisation de la limite de démixtion liquide-liquide par diffusion de la lumière	p 105
II.3. Dosage des phases obtenues après démixtion et modélisation du point critique	p 110
II.3.1. Principe des expériences	p 110
II.3.2. Dosage et comportement du principe actif lors de la démixtion	p 111
II.3.3. Dosage et comportement du solvant lors de la démixtion	p 112
II.3.4. Solubilité et sursaturation du SR 142801 dans les phases diluée et concentrée après démixtion	p 116
II.3.5. Détermination du point critique C dans l'étude du SR 142801 à partir d'un modèle empirique	p 119
II.3.6. Résultats préliminaires de l'approche de la modélisation de la démixtion liquide-liquide par traitement thermodynamique dans l'étude du SR 142801	p 122
III. CONCLUSION	p 123
Chapitre V :	
DE L'APPROCHE FONDAMENTALE VERS L'APPLICATION PROCEDE DE LA NUCLEATION DE PRINCIPES ACTIFS	p 125
I. DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE EN MILIEU AGITE	p 126

I.1. Caractérisation in-situ de la binode en milieu agité	p 127
I.2. Influence de la rampe de refroidissement sur l'apparition de la démixtion liquide-liquide	p 132
I.3. Comportement des gouttes lors de la démixtion liquide-liquide par comptage des particules en suspension (FBRM)	p 133
I.4. Comparaison des points de la binode obtenus par diffusion de la lumière en milieu stagnant et par turbidimétrie en milieu agité	p 135
II. INFLUENCE DE LA DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE SUR LA CRISTALLISATION PAR ENSEMENCEMENT DU SR 142801	p 137
II.1. Ensemencement à l'extérieur de la zone de démixtion liquide- liquide	p 138
II.2. Ensemencement à l'intérieur de la zone de démixtion liquide-liquide	p 141
II.3. Ensemencement à la limite de la zone de démixtion liquide-liquide	p 142
III. CONCLUSION	p 145
Chapitre VI : CONCLUSIONS GENERALES	p 147

BIBLIOGRAPHIE p 152

ANNEXES p 161

Annexe 2.1 p 162
Annexe 2.2 p 163
Annexe 2.3 p 166
Annexe 3.1 p 168
Annexe 3.2 p 169
Annexe 3.3 p 170
Annexe 4.1 p 175
Annexe 4.2 p 175
Annexe 4.3 p 176
Annexe 4.4 p 177
Annexe 4.5 p 178
Annexe 5.1 p 179

NOMENCLATURE p 181

Chapitre I

INTRODUCTION

*Chaque situation nouvelle, chaque problème à résoudre amène avec
lui l'opportunité rare d'apprendre quelque chose de nouveau.*

*Olivier Lockert, Psychologue et auteur français
Extrait de Hypnose*

Le génie des procédés depuis sa naissance à la fin du XIX^{ème} siècle, a profondément évolué. Au départ issue de la chimie, cette discipline scientifique décrivait les procédés industriels produit par produit. Chaque procédé étant par nature différent, les limites de cette démarche s'imposèrent rapidement. En 1915 Arthur D. Little proposa, en réponse à la demande croissante en produits de base bon marché, le concept d'opérations unitaires aussi diverses que la distillation, l'extraction, la filtration, le séchage ou la cristallisation.

La cristallisation est un procédé de purification et de mise en forme, très utilisé dans de nombreuses industries dont l'industrie pharmaceutique. La plupart des produits organiques de chimie fine, en particulier ceux destinés à être utilisés comme principes actifs en pharmacie, sont obtenus sous forme solide par cristallisation à partir de la solution. Lorsque l'on parle de cristallisation en solution, on sous-entend l'existence d'un soluté dissous dans un solvant qui passe à l'état cristallin. Il existe deux étapes essentielles dans l'apparition du solide : la nucléation, au cours de laquelle les cristaux naissent et la croissance au cours de laquelle ils se développent.

Dans le domaine pharmaceutique, la grosseur des molécules synthétisées et leur complexité structurale posent lors de leur cristallisation de nombreux problèmes à l'industriel. Un certain nombre de ces composés, en particulier les principes actifs sous forme d'amines, ont d'énormes difficultés à nucléer, on parle alors de molécules « paresseuses ». Dans ce cas, seule la cristallisation de leurs sels permet d'éviter le problème, mais elle entraîne alors une perte de temps considérable en recherche.

L'objectif de cette thèse est dans un premier temps de comprendre, d'un point de vue fondamental, d'où viennent les difficultés à nucléer des molécules « paresseuses », pour essayer de trouver ensuite des conditions favorables à la cristallisation de ce type de molécule directement par variation de température.

A la suite de ce chapitre d'introduction, nous présentons une synthèse bibliographique nécessaire à la bonne compréhension de ce travail.

Cette synthèse consacre une première partie aux rappels de quelques notions élémentaires sur le système cristal-solution et, en premier lieu, les notions de solubilité et de sursaturation. Nous présentons également dans cette partie l'influence que peut avoir l'idéalité d'une solution sur les relations existant entre la solubilité et la température, telle que la relation de Van't Hoff.

Le deuxième chapitre de cette synthèse est consacré à l'aspect fondamental et pratique de la nucléation primaire et secondaire développées avec les approches thermodynamique, cinétique et phénoménologique.

Nous proposons de traiter, dans les deux dernières parties de ce chapitre, les transitions de phases qu'elles soient solide-solide (polymorphes ou solvates) ou liquide-liquide (démixtion liquide-liquide).

Une revue des aspects théoriques et pratiques concernant le polymorphisme sera présentée. Nous proposerons ensuite une synthèse bibliographique concernant la démixtion liquide-liquide. La description de cette transition est abordée d'un point de vue thermodynamique, en expliquant notamment ses différents mécanismes ainsi que l'influence que la démixtion peut avoir sur la solubilité et la cristallisation. Cette partie s'achève en proposant des modèles empiriques et thermodynamiques permettant de modéliser l'équilibre liquide-liquide.

Le troisième chapitre concerne le matériel et les méthodes utilisés dans la partie expérimentale de cette thèse.

Il présente notamment une molécule, le SR 142801 qui a servi de molécule modèle dans la compréhension des molécules difficiles à cristalliser. Cette molécule fournie par Sanofi-Synthélabo, est utilisée dans le cadre d'une activité pharmacologique, comme principe actif pharmaceutique en développement prévu dans le traitement de la schizophrénie. Les résultats ainsi que les méthodes de caractérisations (Diffraction des rayons X, Analyse enthalpique différentielle, Microscope Electronique à Balayage) de ce principe actif sous forme de poudre sont alors présentés.

La deuxième partie de ce chapitre décrit les méthodologies à la fois différentes et complémentaires utilisées dans la détermination du diagramme de phases d'un principe actif, le SR 142801 principalement.

Enfin, la dernière partie est consacrée à la présentation du dispositif expérimental et des différentes techniques de caractérisation (Turbidimétrie, Conductimétrie, Rétrodiffusion par sonde Lasentec ou Focused Beam Reflectance Measurement, et analyses d'images) utilisées dans l'étude de la démixtion liquide-liquide et de la cristallisation en milieu agité.

Le chapitre quatre rassemble les résultats expérimentaux de cristallisation et de démixtion liquide-liquide obtenus en milieu stagnant, ainsi que leur interprétation lors de l'étude du SR 142801. Il se subdivise en deux parties.

La première met en évidence une méthodologie permettant la caractérisation et le contrôle du polymorphe en suspension.

La deuxième concerne la caractérisation de la limite de la zone de démixtion liquide-liquide par diverses techniques utilisées dans le domaine des macromolécules biologiques, et les conséquences de la présence de cette zone sur la cristallisation du principe actif. Cette étude fondamentale met à jour un diagramme de phases complexe avec la présence de deux polymorphes et d'une démixtion liquide-liquide dans le cadre de notre étude.

Le chapitre cinq concerne le passage de l'étude fondamentale à l'application procédé de la nucléation du principe actif SR 142801.

Une première partie est consacrée à la caractérisation de la démixtion liquide-liquide en milieu agité.

La seconde peut être considérée par le lecteur comme un travail d'orientation des futures recherches sur l'influence de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation par ensemencement.

Enfin, le chapitre six apporte une conclusion à l'ensemble de cette étude et, dégage les principales perspectives ouvertes par ces résultats.

Chapitre II

NUCLEATION

ET

TRANSITIONS DE PHASES

La connaissance, c'est partager le savoir qui nous fait grandir.

Olivier Lockert, Psychologue et auteur français

Extrait de Hypnose

L'apparition d'une nouvelle phase à partir d'une phase mère se produit dans un grand nombre de domaines de la science (chimie, biologie, physique,...) et d'une façon générale on appellera nucléation tout processus de transformation d'un état désordonné de la matière en un état plus ordonné. Lorsque le changement d'état conduit, à partir d'une phase gazeuse ou liquide, à un solide de structure régulière et organisée, le cristal, on parlera de cristallisation au sens large du terme. On peut considérer alors que la cristallisation en solution est une transition de phases définie par le passage d'une phase liquide à deux phases : une liquide et l'autre solide. Lorsque l'on passe d'une phase liquide à deux phases liquides, on parle de transition liquide-liquide ou démixtion liquide-liquide. Mais il existe en solution d'autres types de transition de phases tel que le polymorphisme, défini ultérieurement, qui correspond à la transformation d'une variété cristalline en suspension en une autre variété cristalline de même composition chimique que la précédente, via la solution.

L'objet de ce chapitre est donc de faire une revue des aspects théoriques et pratiques concernant ces différentes transitions de phases que sont la nucléation, le polymorphisme et la démixtion liquide-liquide.

Une première partie sera consacrée aux rappels de quelques notions élémentaires sur le système cristal-solution et, en premier lieu, les notions de solubilité et de sursaturation. On s'intéressera plus particulièrement à l'influence de l'idéalité d'une solution sur les relations existant entre la solubilité et la température.

La deuxième partie présentera l'aspect fondamental et pratique de la nucléation où l'on abordera, d'un point de vue thermodynamique et cinétique, les différents mécanismes existant et leur zone de prédominance. On s'intéressera aussi à la cristallisation en présence d'additifs. Nous poursuivrons par une synthèse bibliographique consacrée au polymorphisme où l'on développera les conditions d'existence et de formation des polymorphes.

Pour finir ce chapitre, nous présenterons la démixtion de phase qui est une transition de phase régulièrement présente et donc étudiée dans le domaine des macromolécules biologiques. A ce jour et, à notre connaissance, aucun article ne fait état d'une telle transition dans le diagramme de phases de molécules pharmaceutiques bien que ce phénomène soit régulièrement rencontré mais mal identifié industriellement, on parle alors de précipité. Le terme précipité est commode qualitativement, pour le bio cristallographe il s'agit de l'apparition d'un trouble ou d'un solide amorphe ou micro cristallin qui ne pourra pas servir à la résolution structurale.

Nous verrons que cette opacification peut s'interpréter également en terme d'apparition d'une nouvelle phase liquide par démixtion.

I. GENERALITES

Cette partie aborde quelques notions fondamentales utilisées pour décrire la théorie de la croissance cristalline en solution établie pour les petites molécules en se référant notamment à l'article de Boistelle (BOISTELLE 1985).

I.1. Solubilité

I.1.1. Définition

De façon générale, la solubilisation d'une substance consiste à dissoudre celle-ci dans un solvant donné. Cette solubilisation ou dissolution n'est possible que si les liaisons de type solvant-solvant et soluté-soluté peuvent être remplacées par des liaisons mixtes solvant-soluté. Ces dernières peuvent être de différentes natures : ion-dipôle, dipôle-dipôle, liaison hydrogène, liaison Van der Waals ou complexation. Quant à la solubilité c'est la concentration à laquelle la solution est en équilibre avec le solide que l'on a dissout. La solubilité se définit toujours par rapport à une solution de composition donnée, à température et pression fixées, en équilibre avec une phase cristalline de composition et structure données également. A l'équilibre, le potentiel chimique du cristal (μ_c) est égal à celui de la solution (μ_2). L'équation générale (II.1) de la courbe de solubilité (GUGGENHEIM 1959) en fonction de la température est:

$$\left(\frac{\partial C_2}{\partial T}\right)_{P,\text{sat}} = \left(\frac{S_2 - S_c}{\partial \mu_2 / \partial C_2}\right)_{T,P} \quad (\text{II.1})$$

où C_2 est la concentration en soluté, T la température absolue, P la pression, S_2 l'entropie du soluté, S_c l'entropie du cristal, la différence $S_2 - S_c$ étant l'entropie de dissolution qui est normalement positive. C'est le cas par exemple, des n-alcanes, molécules bien représentatives des substances organiques (MADSEN and BOISTELLE 1976). Pour une solution stable, le potentiel chimique augmente avec la température. Le terme de droite dans l'équation (II.1) est

alors positif, de sorte que la solubilité augmente avec la température. La solubilité est alors dite normale ou directe. Dans le cas contraire, la solubilité est dite inverse.

La courbe de solubilité représente l'évolution de la solubilité en fonction d'un paramètre donné, tous les autres restant constants. Cette courbe d'équilibre thermodynamique fait apparaître deux zones dans le diagramme de phases: une zone sous-saturée et une zone sursaturée. Dans la zone sous-saturée, au-dessous de la courbe de solubilité, aucun cristal ne peut croître. L'ensemencement d'une solution sous-saturée avec des germes cristallins conduit à leur dissolution. En revanche dans la zone sursaturée, la croissance peut avoir lieu.

I.1.2. Relations solubilité-température fonction de l'idéalité de la solution

Pour de nombreux usages pharmaceutiques et spécialement dans les études de formulation ou de cristallisation, il est primordial de mesurer la solubilité du principe actif dans un solvant donné à différentes températures et d'exprimer ces données par une courbe solubilité-température. D'un point de vue pratique, la linéarité des points de solubilité est souvent désirée pour permettre une interpolation et extrapolation de ces points de façon très précise, pour les traiter avec les régressions linéaires statistiques habituelles et pour fournir des grandeurs thermodynamiques.

D'un point de vue théorique (GRANT, MEHDIZADEH et al. 1984), la forme exacte à pression constante de l'isochore de Van't Hoff (II.2) peut s'exprimer de la façon suivante :

$$\frac{d \ln \alpha_2^{sat}}{dT} = \frac{\Delta H_2}{RT^2} \quad (\text{II.2})$$

avec α_2^{sat} : activité du soluté à saturation (solubilité) par rapport à son état standard,
T : Température absolue (K),
R : Constante des gaz (8,3143 J.K⁻¹.mol⁻¹),
 ΔH_2 : Enthalpie molaire partielle du soluté en solution.

En général :

$$\alpha_2^{solide} = \alpha_2^{sat} = \gamma_2^{sat} \cdot C_S \quad (\text{II.3})$$

Où α_2^{solide} est l'activité du soluté solide pur qui est en équilibre avec la solution saturée dans laquelle C_S est la concentration de soluté à l'équilibre (saturation) et γ_2^{sat} est le coefficient d'activité du soluté. On trouve souvent l'équation II.2 dans sa forme simplifiée suivante :

$$\frac{d \ln C_S}{dT} = \frac{\Delta H_2^*}{RT^2} \quad (II.4)$$

où ΔH_2^* est l'enthalpie molaire partielle apparente de la solution, elle est généralement égale à :

$$\Delta H_2^* = \Delta H_2 \cdot (\partial \ln C_S / \partial \ln \alpha_2)_T \quad (II.5)$$

dans le cas d'une solution idéale $(\partial \ln C_S / \partial \ln \alpha_2)_T = 1$ (HOLLENBECK 1980).

Au lieu de faire l'hypothèse habituelle que ΔH_2^* est indépendant de la température, GRANT a supposé que ΔH_2^* varie linéairement avec la température (II.6).

$$\Delta H_2^* = a + bT \quad (II.6)$$

avec T comme température absolue et a et b des constantes où $b = \Delta C_{p2}^*$ qui est la variation de la chaleur spécifique de soluté à pression constante.

Des équations (II.4) et (II.6) à température constante on obtient :

$$\frac{d \ln C_S}{dt} = \frac{a}{RT^2} + \frac{b}{RT} \quad (II.7)$$

qui devient après intégration

$$\ln C_S = -\frac{a}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{b}{R} \cdot \ln T + c \quad (II.8)$$

L'équation (II.8) est la forme générale non linéaire de la variation de la solubilité en fonction de la température absolue dans le cas de solution non idéale. Les analyses des régressions linéaires entre $\ln C_S$ et $1/T$ d'un côté et $\ln T$ de l'autre, permettent la quantification de la variation de la solubilité. Ces analyses donnent les valeurs des 3 inconnus a , b et c .

Ainsi, si b dans l'équation (II.6) est négligeable, cela signifie que ΔH_2^* est considéré comme indépendant de la température, l'équation (II.8) se simplifie pour donner l'isochore de Van't Hoff (VAN'T HOFF 1886):

$$\ln C_S = -\frac{a}{R} \cdot \frac{1}{T} + c \quad (\text{II.9})$$

De l'équation de Van't Hoff des grandeurs thermodynamiques peuvent être obtenues. Ainsi, l'évolution de la solubilité exprimée en fraction molaire X de la molécule en fonction de $1/T$ est en principe une droite (idéaliété des solutions diluées) dont la pente permet de calculer l'enthalpie de dissolution ΔH_2^* et l'ordonnée à l'origine l'entropie de dissolution ΔS_2^* , avec $a = \Delta H_2^*$ et $c = \Delta S_2^*/R$. Par commodité, on remplace souvent la fraction molaire par la concentration C_S (II.9). La valeur de ΔH_2^* en est en général peu affectée, mais l'ordonnée à l'origine ne correspond plus à l'entropie de dissolution.

Dans le cas où a est négligeable dans l'équation (II.6), cela implique que $\Delta H_2^* = T \cdot \Delta C_{p2}^*$ l'équation (II.8) se simplifie pour donner l'équation de Hildebrand (HILDEBRAND 1952):

$$\ln C_S = \frac{b}{R} \cdot \ln T + c \quad (\text{II.10})$$

où b représente ΔC_{p2}^* qui est approximativement égal à ΔS_2^* et c la constante d'intégration.

Les deux types de fonctions solubilité-température, (II.9) et (II.10), sont apparus comme fournissant une bonne linéarité des points dans de nombreux cas d'études. Le tracé du $\ln C_S$ en fonction de $1/T$, dans le cas de l'isochore de Van't Hoff, a incontestablement la faveur de la communauté scientifique. Hildebrand a montré théoriquement que le tracé du $\ln C_S$ en fonction de $\ln T$ peut fournir une meilleure régression linéaire. En revanche, Yalkowsky (YALKOWSKY 1981) a démontré expérimentalement que la corrélation de Van't Hoff est plus appropriée pour exprimer la solubilité en fonction de la température, dans le cas de système solide-liquide où la solution est idéale.

Dans le cas où les corrélations de Van't Hoff et Hildebrand fournissent un écart à la linéarité des données solubilité-température, on utilise l'équation générale (II.8). Cet écart à la linéarité correspond à un écart à l'idéalité de la solution. Des exemples décrits dans l'article de Grant montrent que l'équation (II.9) de Van't Hoff est clairement inappropriée (écart à l'idéalité) à l'ajustement des données solubilité-température de plusieurs molécules pharmaceutiques et d'autres molécules hydrophobes dans l'eau et dans des solvants très associés. Cet écart à l'idéalité est particulièrement significatif pour des températures supérieures à 50°C dans le cas de molécules pharmaceutiques.

Dans le domaine pharmaceutique, la non-linéarité de la courbe de solubilité est souvent traduite par la présence de polymorphes ou de solvates que l'on définira ultérieurement. Dans certains cas, cette interprétation peut induire en erreur lorsque le comportement non-linéaire de la solubilité est la conséquence de la non-idéalité de la solution.

I.2. Sursaturation

Lorsque nous abordons un problème concernant la cristallisation d'un produit, une des premières données que nous recherchons est une valeur caractérisant la tendance à cristalliser plus ou moins grande du produit considéré, ou si on préfère une valeur caractérisant la « force » qui pousse le produit à sortir de la solution dans laquelle il se trouve et à cristalliser. Cette force motrice est représentée d'un point de vue thermodynamique par la sursaturation.

Théoriquement, la force motrice $\Delta\mu$ de la cristallisation, par molécule, est la différence des potentiels chimiques d'une molécule en solution dans les phases mères sursaturées (μ_2) et saturées (μ_s) respectivement :

$$\Delta\mu = \mu_2 - \mu_s = kT \cdot \ln \frac{C}{C_s} \quad (\text{II.11})$$

avec C : Concentration de la solution,
 C_s : Concentration à saturation, solubilité,
 T : Température absolue (K),
 k : Constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$).

C'est en effet par sa différence de potentiel chimique que l'on caractérise la tendance d'un constituant à sortir d'une phase. Mais la sursaturation peut être définie de différentes manières, en utilisant notamment les quantités sans dimension β et σ :

$$\beta = \frac{C}{C_S} \quad \text{ou} \quad \beta - 1 = \sigma = \frac{C - C_S}{C_S} \quad (\text{II.12})$$

On peut noter qu'à faible sursaturation $\ln\beta \approx \sigma$, $\ln\beta = \Delta\mu/kT$. Ces deux grandeurs, β et σ , présentent l'intérêt d'être normées par rapport à la solubilité C_S afin de faciliter les comparaisons entre différents systèmes. Une même valeur β peut être obtenue dans les domaines de concentration très différents si la solubilité varie beaucoup avec la température. Notons aussi que les cinétiques seront toujours plus rapides dans les milieux plus concentrés toute chose égale par ailleurs.

La définition de la sursaturation la plus communément utilisée dans l'industrie est la différence : $C - C_S$. Cette dernière dépendant énormément des unités choisies, nous préférons utiliser β .

De façon pratique, l'établissement de la sursaturation dans une solution peut être obtenu de différentes manières.

Pour des systèmes où la variation de la solubilité avec la température est grande, la sursaturation s'obtient généralement par refroidissement de la solution pour des substances qui ont une courbe de solubilité directe, par réchauffement de la solution dans le cas d'une solubilité inverse.

Lorsque la variation en température de la solubilité est faible, la sursaturation s'établit en concentrant à température constante le soluté par évaporation du solvant.

La sursaturation peut également s'obtenir par précipitation, réaction chimique entre le soluté et une autre espèce où le produit formé est très faiblement soluble. Dans le cas de l'ajout d'un composant non réactif, on peut abaisser la solubilité par effet de sels ou par relargage.

Enfin, pour des systèmes où la variation de la solubilité avec le pH est grande (STRENG, HSI et al. 1984), la sursaturation s'obtient par variation du pH.

Lorsque la solution est sursaturée par rapport à une phase, celle-ci peut nucléer dans un délai plus ou moins grand en fonction des conditions du milieu de croissance : valeurs de la sursaturation et de la concentration, nature et concentration des impuretés, etc. Comme plusieurs types de nucléation sont possibles il est nécessaire de rappeler quelques aspects fondamentaux de la nucléation.

II. ASPECT FONDAMENTAL PUIS PRATIQUE DE LA NUCLEATION

II.1. Introduction

Dans une solution sursaturée par rapport à une phase, les molécules d'une espèce dissoute diffusent de façon aléatoire. Certaines molécules finissent par se rencontrer pour former des embryons de germes ou clusters (terminologie anglo-saxonne) thermodynamiquement stables seulement à partir d'une certaine taille et à partir desquels un cristal est susceptible de se développer.

Plusieurs types de nucléation, de germination, sont possibles en solution. On qualifie la nucléation de primaire lorsque les germes se forment dans un milieu dépourvu de cristaux ceci par opposition à la nucléation secondaire où les nouveaux germes proviennent des cristaux de la même phase préalablement introduits ou déjà formés en solution.

La nucléation primaire se divise en deux types. Ainsi, lorsque les germes apparaissent au sein de la solution sans contact particulier avec les parois du cristalliseur ou tout autre particule solide, la nucléation est homogène. Par contre, lorsque les germes se forment sur un support, un substrat (paroi, poussière, cristal d'une autre phase ou éventuellement de la même phase), la nucléation primaire devient hétérogène. D'un point de vue théorique, l'hypothèse d'une nucléation homogène facilite la modélisation du phénomène. Cependant le contexte industriel a pour conséquence la présence de nombreuses impuretés solides dans le milieu souvent invisibles à l'œil et éventuellement variables d'une opération à l'autre en quantité et en qualité (KLEIN 2000). Il en résulte une nucléation primaire hétérogène très difficile à prévoir, à maîtriser et à modéliser.

La nucléation secondaire est quasiment réservée aux milieux condensés et en particulier aux solutions (BOISTELLE 1990). De l'abondante littérature consacrée à ce sujet, on peut retenir que les sources des germes secondaires se trouvent essentiellement à la surface des cristaux préexistants dans le système.

Pour comprendre et caractériser les différents mécanismes de nucléation, une approche fondamentale de ces phénomènes s'avère indispensable.

II.2. Nucléation primaire homogène

II.2.1. Approche thermodynamique

Le processus de nucléation met en jeu une certaine énergie ΔG appelée énergie libre d'activation de germination. Cette énergie d'activation peut se décomposer en la somme de deux termes ΔG_{CL} et ΔG_{STAT} , issus respectivement de la thermodynamique classique et de la thermodynamique statistique.

Les concepts de la thermodynamique classique sont les fondements de la théorie dite "classique" de la nucléation. De nombreux ouvrages (CHERNOV 1984 ; MARKOV 1984 ; ZETTLEMOYER 1969) décrivent cette théorie en terme de variables macroscopiques comme la tension de surface et le potentiel chimique. Ces grandeurs n'ont de sens que pour des germes de grandes tailles dont on peut définir macroscopiquement la surface. Leur domaine d'application est celui de la nucléation à faible et moyenne sursaturation.

Dans les domaines de fortes sursaturations le germe critique n'est composé que de quelques molécules, il n'est donc pas raisonnable de parler de taille ou de surface du germe (paramètres macroscopiques). On contourne alors la difficulté en faisant appel à la thermodynamique statistique (JENS LOTHE 1969) pour corriger l'expression de l'énergie d'activation ΔG en introduisant le terme ΔG_{STAT} (FRENKEL J.I. 1946. Son calcul est très complexe, on retiendra seulement que ce terme est totalement indépendant du nombre de molécules n formant le germe critique (MUTAFTSCHIEV 1981).

Des ouvrages décrivant la théorie "classique" de la nucléation, on ne présentera que les grandes lignes. Ainsi, créer un germe ou cluster implique de créer un volume et une surface, ce qui met en jeu deux énergies antagonistes. La solution, par la sursaturation, apporte l'énergie de volume, mais, dans le même temps, le germe offre une certaine résistance, tendant à diminuer son énergie libre de surface. Si le germe contient n molécules l'énergie libre d'activation de germination s'écrit :

$$\Delta G_{CL} = -nkT (\ln\beta) + \sum_i S_i \gamma_i \quad (\text{II.13})$$

où la sommation est faite sur toutes les faces d'aires S_i , d'énergie libre de surface γ_i .

avec n : nombre de molécules constituant le germe

- k : constante de Boltzmann (J/K)
- T : température (K)
- β : sursaturation
- S_i : aire du germe (m^3)
- γ_i : énergie interfaciale cristal-solution pour chaque face i ($J.m^{-2}$)

Faire intervenir dans la relation (II.13) la notion de surface et d'énergie interfaciale montre que le germe est déjà considéré comme une phase différente de la solution mère sursaturée.

En supposant le germe sphérique, de rayon r composé de molécules de volume Ω (hypothèse de Gibbs) (WALTON 1969), on remplace donc les γ_i par une valeur γ globale, l'équation (II.13) s'écrit :

$$\Delta G_{CL} = -\frac{4\pi.r^3}{3\Omega} kT \ln \beta + 4\pi.r^2 \gamma \quad (II.14)$$

L'influence respective des termes de volume et de surface sur la fonction ΔG_{CL} est mise en évidence par l'évolution de ΔG_{CL} en fonction du rayon du germe (r). La fonction ΔG_{CL} passe par une valeur critique ΔG_{CL}^* lorsque le germe a une taille critique r^* . L'indépendance de ΔG_{STAT} vis à vis de n montre que le maximum de ΔG_{CL}^* atteint par la part "classique" ΔG_{CL} de l'énergie d'activation est également un maximum pour ΔG et pour le nombre n^* constituant le germe critique (fig.2.1).

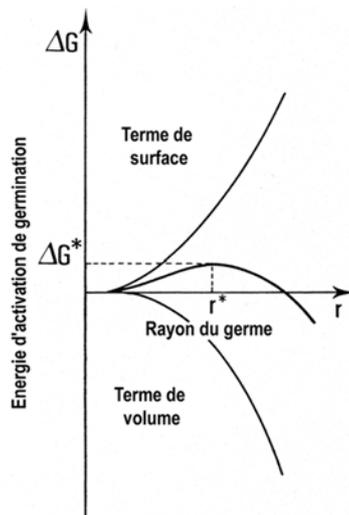


Figure 2.1 : Energie libre d'activation de nucléation homogène en fonction du rayon du germe (r).

Pour cette valeur critique qui représente un maximum à franchir, le germe est en équilibre instable avec la solution car le système va toujours chercher à minimiser son énergie à l'équilibre. Schématiquement, si le germe perd une molécule ($r < r^*$), il se dissout. Si on lui ajoute une molécule ($r > r^*$) il croit. Dans les deux cas le processus se fait avec gain d'énergie ($\Delta G_{CL} < \Delta G_{CL}^*$), il est donc spontané. Taille critique et énergie libre d'activation critique correspondant à cet équilibre instable à $\partial \Delta G_{CL} / \partial r = 0$ s'écrivent :

$$r^* = \frac{2\Omega\gamma}{kT \ln \beta} \quad \text{Gibbs-Thomson-Freundlich} \quad (\text{II.15})$$

$$\Delta G_{CL}^* = \frac{16\pi\Omega^2\gamma^3}{3(kT \ln \beta)^2} = \frac{1}{3}(4\pi.r^{*2}\gamma) \quad (\text{II.16})$$

D'un point de vue thermodynamique, l'étude de la relation (II.15) montre que la taille du germe critique r^* est d'autant plus petite que la température et la sursaturation sont plus grandes, et que l'énergie interfaciale cristal-solution est plus petite.

Il en est de même pour ΔG_{CL}^* (II.16) où l'on remarque que l'énergie nécessaire à la formation du germe est égale au tiers de l'énergie à fournir pour créer sa surface (GIBBS 1878) et que toutes choses égales par ailleurs, plus r^* est petit, plus ΔG_{CL}^* est petit.

Le terme $\frac{16\pi}{3}$ résulte de l'hypothèse d'un germe sphérique. Dans le cas d'un germe orthorhombique Walton (WALTON 1969) a montré que ce terme, appelé facteur de forme (f), vaut 32 et que dans ce cas l'utilisation de γ^3 dans l'expression (II.16) devait être remplacé par la multiplication des différentes énergies libres de surface soit $\gamma_1 \times \gamma_2 \times \gamma_3$.

Notons que le paramètre γ qui correspond à l'énergie interfaciale cristal-solution, dépend avant tout de l'affinité que possède le solvant pour le cristal. En d'autres termes, plus cette affinité est grande, plus la solubilité est grande donc plus la nucléation est facilitée, et plus γ est petit.

Le solvant agit sur le cristal par adsorption, donc l'énergie interfaciale γ ne peut que diminuer quand l'adsorption augmente, c'est-à-dire quand la solubilité augmente. Par ailleurs, cette énergie interfaciale γ diminue également lors de l'adsorption sur le cristal de particules étrangères (impuretés) présentes en solution.

Une fois les conditions thermodynamiques de la nucléation primaire définies, il reste maintenant à aborder l'aspect cinétique c'est à dire l'expression de la fréquence de nucléation.

II.2.2. Approche cinétique

Cette approche consiste à déterminer la vitesse à laquelle apparaissent les germes, c'est-à-dire la fréquence de nucléation. Cette dernière correspond au nombre de germes formés par unité de temps et de volume. L'approche théorique du problème de la fréquence de nucléation a été faite pour le cas de la nucléation de gouttelettes dans une vapeur considérée comme idéale voir (CHERNOV 1984 ; MARKOV 1995). Les premiers travaux sont ceux de Volmer et Weber (VOLMER and WEBER 1926) puis Farkas (FARKAS 1927). Les hypothèses simplificatrices suivantes ont été adoptées :

- 1) Le germe en croissance préserve une géométrie constante (sphérique dans ce cas).
- 2) La distribution des tailles de germes à l'état stationnaire est différente de celle à l'équilibre. On définira plus tard l'état stationnaire.
- 3) Dans la partie II.2.1, nous avons vu qu'un germe doit avoir, à une sursaturation donnée, un rayon critique r^* correspondant à un nombre critique n^* de molécules pour être stable. Comme il est peu probable que ces n^* molécules se rencontrent en même temps, on considère que la nucléation est le résultat d'une série de réactions bimoléculaires (FARKAS 1927).



.....

.....



Si l'on imagine maintenant qu'à partir d'une certaine taille (n^* molécules) le germe se dissocie en monomères, le système se trouve dans un état stationnaire. On peut imaginer aussi que les grandes tailles, donc les cristaux, sont éliminées du système et que celui-ci est constamment réapprovisionné en monomères.

Pour atteindre la fréquence de nucléation il faut connaître d'abord la distribution des tailles de germes à l'état stationnaire, distribution différente de celle à l'équilibre. Pour éviter toute confusion nous appellerons Z_n les concentrations stationnaires en $n_{\text{mères}}$ et N_n les concentrations d'équilibre.

Pour qu'il y ait stationnarité il faut que la vitesse de formation d'un $n_{\text{mères}}$ soit égale à sa vitesse de disparition. Si on néglige la rencontre entre polymères, pour ne garder que les réactions par addition ou soustraction d'un monomère, ce qui est classique en cinétique chimique, on a :

$$\alpha_{n-1} \cdot Z_{n-1} \cdot Z_1 + \beta_{n+1} \cdot Z_{n+1} = \alpha_n \cdot Z_n \cdot Z_1 + \beta_n \cdot Z_n \quad (\text{II.17})$$

Dans cette équation α et β sont des constantes cinétiques respectivement d'addition ou de soustraction d'un monomère aux $n_{\text{mères}}$. Le terme de gauche montre qu'un $n_{\text{mères}}$ peut se former par rencontre d'un $(n-1)_{\text{mères}}$ avec un monomère, mais aussi par départ d'un monomère d'un $(n+1)_{\text{mères}}$. De la même manière, le terme de droite montre qu'un $n_{\text{mères}}$ peut gagner ou perdre un monomère.

Si on réarrange l'équation (II.17) de façon un peu différente, on obtient la fréquence de nucléation :

$$J = \alpha_{n-1} \cdot Z_{n-1} \cdot Z_1 - \beta_n \cdot Z_n = \alpha_n \cdot Z_n \cdot Z_1 - \beta_{n+1} \cdot Z_{n+1} \quad (\text{II.18})$$

On observe alors que la différence est constante pour toutes les classes de tailles. J est le flux des germes passant d'une classe inférieure à une classe supérieure et peut donc bien être identifié comme la fréquence de nucléation.

Dans la partie II.2.1, on a vu que, dès que l'on ajoute un monomère à un germe critique n^* ($n^*_{\text{mère}}$) il croit spontanément pour devenir un cristal. La solution de ce système à (n^*-1) équations est :

$$J = \alpha_1 \cdot Z_1^2 - \beta_2 \cdot Z_2$$

$$J = \alpha_2 \cdot Z_2 \cdot Z_1 - \beta_3 \cdot Z_3$$

.....

$$J = \alpha_{n-1} \cdot Z_{n-1} \cdot Z_1 - \beta_n \cdot Z_n \tag{II.19}$$

$$J = \alpha_{n^*-1} \cdot Z_{n^*-1} \cdot Z_1$$

La dernière valeur de J ne contient qu'un terme car par définition, on élimine du système les germes de taille n*, donc $Z_{n^*}=0$.

Pour éliminer les constantes cinétiques β_n , on considère la réversibilité de la réaction à l'équilibre.



C'est-à-dire

$$\alpha_{n-1} \cdot N_{n-1} N_1 = \beta_n N_n \tag{II.20}$$

La manipulation des équations précédentes et l'approximation $Z_1 \approx N_1$ aboutit à :

$$J = \alpha_{n^*} \cdot N_{n^*} N_1 \tag{II.21}$$

La fréquence de nucléation (nombre de germes formés par unité de temps et de volume) est le produit de la concentration en germes critiques (N_{n^*}) et de la fréquence à laquelle ils croissent par addition d'une molécule ($\alpha_{n^*} \cdot N_1 = \omega^*$).

Où

$$N_{n^*} = N_1 \cdot \exp\left(\frac{-\Delta G_{CL}^*}{kT}\right) \tag{II.22}$$

De façon schématique et dans le cadre d'une germination homogène la fréquence de nucléation J s'écrit :

$$J = K \cdot \exp\left(\frac{-\Delta G_{CL}^*}{kT}\right) \quad (\text{II.23})$$

où K est le coefficient cinétique exprimé en $\text{m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$.

Ce coefficient cinétique regroupe la concentration en molécule dans la phase liquide, N_1 , la fréquence d'attachement des molécules au germe critique, ω^* et un terme Γ connu dans la littérature (ZETTLEMOYER 1969) comme le facteur de Zeldovich. Ce terme permet de prendre en compte que les espèces chimiques de taille $n \approx n^*$ participent également à la cinétique de nucléation.

En résumé l'équation (II.23) s'écrit :

$$J = \omega^* \cdot \Gamma \cdot N_1 \cdot \exp\left(\frac{\Delta G_{CL}^*}{kT}\right) \quad (\text{II.24})$$

où le facteur de Zeldovich voir (CHERNOV 1984), Γ vaut :

$$\Gamma = \left(\frac{\Delta G_{CL}^*}{3\pi \cdot kT \cdot (n^*)^2}\right)^{1/2} \quad (\text{II.25})$$

L'expression (II.24) reste néanmoins très formelle. Il est cependant possible de l'écrire en fonction de paramètres physico-chimiques (ω et γ) relatifs au couple solvant-soluté et de paramètres relatifs aux conditions expérimentales essentiellement la sursaturation et la température de la solution.

La fréquence d'attachement ω de monomères dans le volume d'une solution a été calculée par Kind et Mersmann (KIND and MERSMANN 1983) :

$$\omega = \frac{3}{4} D_{AB} (C_{\text{bulk}} \cdot N_A)^{4/3} \quad (\text{II.26})$$

Avec : D_{AB} : coefficient de diffusion volumique en $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$,

C_{bulk} : concentration molaire de monomères dans le volume, $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$.

D'une manière générale la mesure de l'énergie interfaciale γ est déterminée expérimentalement à partir de mesures de fréquence de nucléation primaire homogène (NIELSEN and SOHNEL 1971 ; SOHNEL 1983 ; AMATHIEU and BOISTELLE 1988). Cette méthode nécessite une solution dépourvue d'impuretés afin de ne pas provoquer une nucléation primaire hétérogène qui conduit à de larges erreurs. C'est pourquoi, Mersmann (MERSMANN 1990), en se basant principalement sur le concept de Guggenheim (GUGGENHEIM 1959) qui considère la zone interfaciale comme une phase volumique à part entière, a établi une loi phénoménologique. Il obtient pour un système binaire cristal-solution, une relation du type :

$$\gamma = a.k.T.(C_i^s.N_A)^{2/3} \cdot \ln\left(\frac{C_i^s}{C_i^L}\right) \quad (\text{II.27})$$

avec :

a : coefficient d'ajustement compris entre 0.1 et 0.6 selon les hypothèses,

$C_i^s = \frac{\rho_s}{M_s}$: concentration de la phase i dans le solide, en mol/m³

C_i^L : concentration de la phase i à l'équilibre, solubilité en mol/m³.

En tenant compte des deux précédentes relations, de la définition de la sursaturation β et de l'expression de l'énergie d'activation critique ΔG^*_{CL} , la fréquence de nucléation primaire homogène peut s'écrire :

$$J_{\text{hom}} = \frac{3}{2} \cdot D_{AB} \cdot (C_i^s \cdot N_A)^{5/3} \cdot \left(\frac{C_i^L}{C_i^s}\right)^{7/3} \cdot \sqrt{a \cdot \ln \frac{C_i^s}{C_i^L}} \cdot \beta^{7/3} \cdot \exp\left[-\frac{16\pi}{3} \cdot a^3 \cdot \frac{\left(\ln \frac{C_i^s}{C_i^L}\right)^3}{(\ln \beta)^2}\right] \quad (\text{II.28})$$

La fonction J_{hom} dépend drastiquement de β . En effet, dans un diagramme $J_{\text{hom}} = f(\beta)$, J_{hom} est quasiment nul dans un très large domaine de sursaturation puis augmente très rapidement de façon exponentielle. Il est donc justifié de parler de sursaturation critique ou de limite de zone métastable au dessous de laquelle l'apparition de germe est cinétiquement défavorisée et au dessus de laquelle la nucléation est spontanée. (fig.2.2).

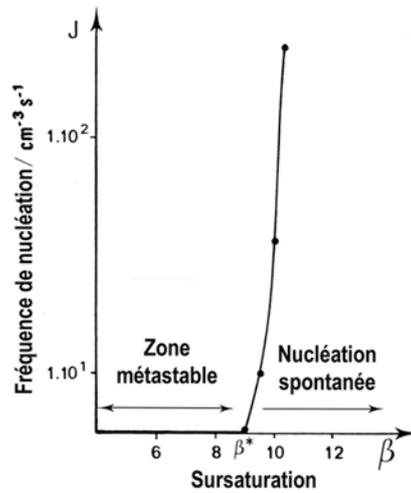


Figure 2.2 : Fréquence de nucléation primaire homogène en fonction de la sursaturation, donnée comme exemple dans l'article de Boistelle (BOISTELLE 1985).

La figure 2.3 montre schématiquement une solubilité directe. Lorsque la courbe de solubilité est franchie, il n'y a pas de nucléation pendant un certain temps tant que le point représentatif de la solution reste dans la zone métastable. Lorsque ce point atteint la limite de zone métastable, la nucléation primaire homogène est spontanée. Puisque la nucléation est plus facile dans le domaine des grandes concentrations, la largeur de la zone diminue. On reviendra plus tard sur les différentes limites de zones métastables existant en solution.

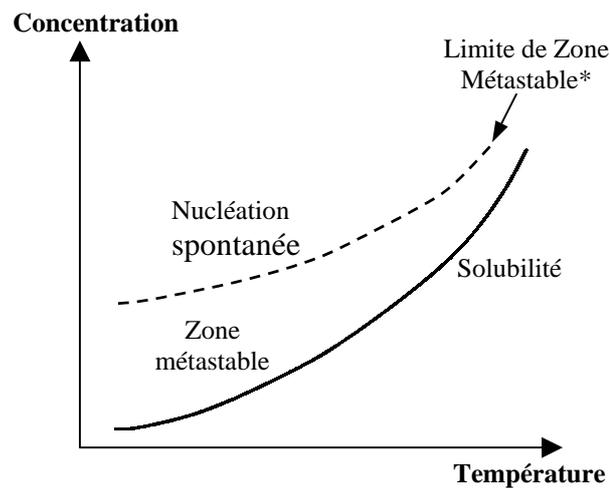


Figure 2.3 : Courbe solubilité directe et zone métastable (*) pour la nucléation primaire homogène.

Dans les premiers travaux concernant la mesure de fréquence de nucléation, les chercheurs détectaient la nucléation à l'œil nu puis au fil des progrès technologiques ces derniers ont mis au point de nouvelles techniques permettant une meilleure détection du premier germe critique. Selon les méthodes utilisées pour la mesure de J (œil nu, comptage de particules, mesure d'un paramètre physique secondaire tel que la turbidité ou l'indice optique, la conductivité, la pH-métrie, etc.), il faut soit attendre que les premiers germes aient grossi avant d'être détectés, ou bien que leur concentration soit suffisamment grande pour induire un changement significatif des propriétés physiques de la solution. Le temps d'induction, temps qui sépare le moment où la sursaturation a été établie de celui où la nucléation a lieu, est sensible aux différentes techniques de détection de la nucléation d'après une étude comparative appliquée à une solution aqueuse de KHT (potassium Tartrate Acid) et menée par Martin (MARTIN 1991).

Enfin, d'un point de vue expérimental, la nucléation est presque toujours hétérogène du fait du manque de contrôle de la pureté de la solution et de l'état de surface des parois du cristalliseur.

II.3. Nucléation primaire hétérogène

Le processus de nucléation est le même que celui de la nucléation homogène mais les germes naissent préférentiellement sur la surface d'un substrat (parois, poussières, particules étrangères,...) plutôt que dans la phase mère homogène, ce qui a pour effet de réduire le germe sphérique à une calotte sphérique (WALTON 1969 ; CHERNOV 1984 ; MARKOV 1995).

II.3.1. Approche thermodynamique

Pour exprimer l'énergie d'activation nécessaire à la formation d'un cluster critique sur un substrat, on peut considérer les hypothèses suivantes (VOLMER 1939) :

- Petite phase condensée isotrope : la forme du cluster est une portion de sphère.
- Taille du substrat très grande devant celle du cluster : la surface du substrat est considérée comme plane au niveau de l'interface cluster-substrat.
- Le substrat est indéformable.

A partir de ces hypothèses et sans entrer dans le détail des calculs présentés en annexe 2.1, l'énergie critique d'activation de germination hétérogène s'écrit en fonction de l'angle de mouillage α (II.29). Cet angle traduit dans notre cas l'affinité du substrat pour le support. Notons qu'un intérêt particulier est porté à l'angle de mouillage lors du choix des matériaux utilisés dans la conception des cristallisoirs industriels.

$$\Delta G_{CL,het}^* = \Delta G_{CL}^* \left(\frac{1}{2} - \frac{3}{4} \cos \alpha + \frac{1}{4} \cos^3 \alpha \right) = f(\alpha) \cdot \Delta G_{CL}^* \quad (\text{II.29})$$

où ΔG_{CL}^* est l'énergie critique d'activation de germination homogène (II.16). On notera également que le rayon du germe est le même que dans le cas de la nucléation homogène. La seule chose qui change est le nombre de molécules contenues dans le germe critique, en effet plus le germe mouille le substrat moins le germe a besoin de molécule pour atteindre la taille critique (fig.2.4), le rayon reste le même mais le volume à atteindre est plus faible.

La valeur de $\Delta G_{CL,het}^*$ (II.29) peut se discuter par rapport à celle de ΔG_{CL}^* à l'aide de trois valeurs particulières de α .

- Si $\alpha = 180^\circ$ (fig.2.4a), $f = 1$: on a $\Delta G_{CL,het}^* = \Delta G_{CL}^*$. Le germe est simplement posé sur le support, mais n'a aucune affinité particulière avec lui (absence de "mouillage"). Il faut que le système fournisse autant d'énergie pour former le germe qu'en absence de tout support, on retrouve le cas de la nucléation homogène.
- Si $\alpha = 90^\circ$ (fig.2.4b) tout se passe comme si le germe était coupé en son centre par le support: $\Delta G_{CL,het}^* = \frac{\Delta G_{CL}^*}{2}$.
- Enfin, on tend vers le mouillage parfait si α tend vers 0 (fig.2.4c), et $\Delta G_{CL,het}^*$ tend aussi vers 0. Ceci signifie que le support catalyse de plus en plus la nucléation en abaissant la barrière énergétique à franchir. D'un point de vue industriel, ce type de catalyse peut conduire à une cristallisation importante sur les parois du cristallisoir (blindage).

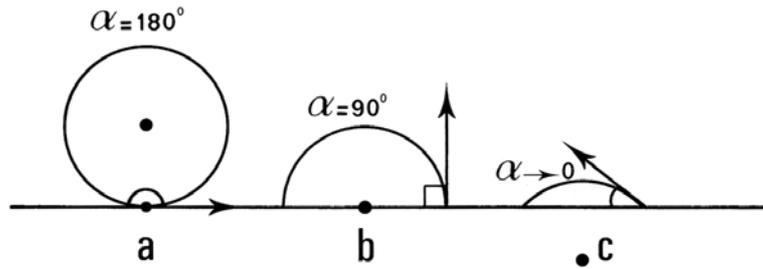


Figure 2.4 : Différentes calottes sphériques suivant l'angle α qu'elles réalisent avec le support.

D'un point de vue thermodynamique, la nucléation hétérogène nécessite donc beaucoup moins d'énergie que la nucléation homogène. Que se passe-t-il d'un point de vue cinétique ?

II.3.2. Approche cinétique

La fréquence de nucléation primaire hétérogène a été établie par Volmer (VOLMER 1939). On présente ci-après une relation assez rigoureuse (MERSMANN 1996) qui conserve une expression similaire (II.30) à celle de la fréquence de nucléation homogène (éq.II.28).

$$J_{\text{het}} = \frac{3}{2} \cdot \varphi_{\text{het}} \cdot D_{\text{AB}} \cdot (C_i^s \cdot N_A)^{5/3} \cdot \left(\frac{C_i^L}{C_i^s} \right)^{7/3} \cdot \sqrt{a \cdot \ln \frac{C_i^s}{C_i^L}} \cdot \beta^{7/3} \cdot \exp \left[-\frac{16\pi}{3} \cdot f(\alpha) \cdot a^3 \cdot \frac{\left(\ln \frac{C_i^s}{C_i^L} \right)^3}{(\ln \beta)^2} \right] \quad (\text{II.30})$$

On trouve deux termes $f(\alpha)$ et φ_{het} relatifs au caractère hétérogène de la nucléation. Le terme $f(\alpha)$ traduit l'affinité du germe pour le substrat et le facteur multiplicatif φ_{het} dans le terme pré-exponentiel traduit la dépendance de la fréquence de nucléation vis-à-vis de la surface constituée par des éléments étrangers à la phase mère (parois, poussières, particules étrangères, etc.). Ces raisonnements, effectués pour la nucléation d'une goutte sur un support à partir de la phase vapeur, ont été étendus à la nucléation d'un cristal sur un support, à partir d'une phase vapeur ou d'une phase liquide.

Si dans les cristallisoirs industriels, les deux mécanismes de nucléation sont simultanés, Klein et al., remarquent qu'en cristallisation discontinue, la nucléation primaire

hétérogène est le plus souvent prédominante (KLEIN, BOISTELLE et al. 1989). La sursaturation critique, caractérisant la limite de zone métastable, est dans le cas d'une nucléation primaire hétérogène inférieure à sa valeur dans le cas d'une nucléation primaire homogène (SCHUBERT and MERSMANN 1996).

D'un point de vue expérimental, le principal problème pour mesurer des cinétiques de nucléation est de séparer la nucléation de la croissance. En effet, à une sursaturation donnée pour la nucléation, les cristaux croissent extrêmement rapidement diminuant alors fortement la sursaturation ce qui a pour conséquence de réduire la fréquence de nucléation. Pour surmonter ce problème une approche originale a été proposée par Tammann (TAMMANN 1922) et appliquée dans le domaine des protéines récemment (GALKIN and VEKILOV 1999). Cette méthode consiste à mesurer des cinétiques de nucléation à température constante, la variable étant la sursaturation. Le protocole expérimental est illustré par la figure 2.5. Pour une sursaturation et à une température données, les auteurs sont dans des conditions où la nucléation de cristaux doit avoir lieu. Les auteurs restent à cette température pendant un certain temps Δt qui est le temps d'application de la sursaturation dans le système. Ensuite ils augmentent la température jusqu'à une valeur proche de la solubilité (afin d'être sûr d'être dans la zone métastable), puis ils comptent le nombre de cristaux visibles apparus à partir de la solution. Ils reproduisent la même expérience 400 fois et utilisent ensuite la loi de Poisson pour déterminer une valeur moyenne du nombre de cristaux. Ils reproduisent les expériences pour différents temps d'application de la sursaturation β . Le tracé du nombre moyen de cristaux en fonction de Δt donne une droite. La pente de cette droite fournit la fréquence de nucléation. La linéarité traduit un état stationnaire de la nucléation. Ce type d'expérience nécessite un matériel adéquat pour permettre de séparer correctement la nucléation de la croissance de cristaux. Pour une meilleure reproductibilité, les auteurs ont utilisé une platine thermostatée contenant 400 cellules identiques d'un volume de 2,5 μ l. Cette platine est placée sous un microscope optique (Leica MZ8) sur lequel une caméra vidéo (Sony DKC-5000) est fixée. Un ordinateur permet de contrôler la température des solutions et par conséquent la sursaturation.

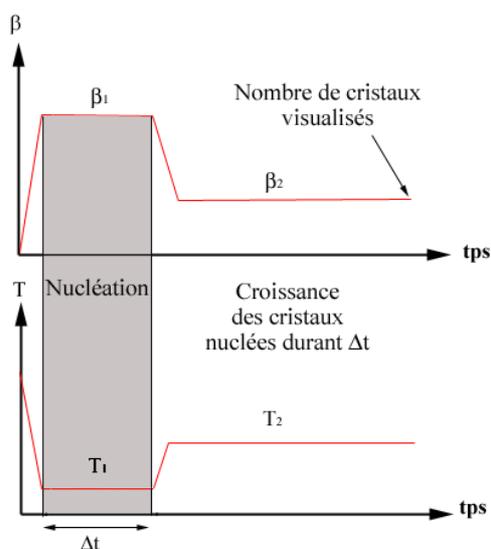


Figure 2.5 : Schématisation du protocole expérimental utilisé pour mesurer une fréquence de nucléation. Températures T_1 et T_2 de la solution en fonction du temps d'application, conditions auxquelles correspondent respectivement les sursaturations β_1 et β_2 dépendant elles aussi du temps d'application, d'après (GALKIN and VEKILOV 1999) ou (TAMMANN 1922).

II.4. Nucléation Secondaire

Contrairement à la nucléation primaire, la nucléation secondaire n'existe qu'en solution et peut se produire à très faible sursaturation, puisque ce sont les cristaux déjà formés qui en génèrent de nouveaux (KLEIN, BOISTELLE et al. 1989). Dans les suspensions à forte densité de cristaux, c'est de loin le mécanisme de nucléation le plus répandu mais dont la description est d'autant plus difficile que les germes formés peuvent provenir aussi bien de la solution que des cristaux déjà présents. Plusieurs causes en sont l'origine, on parle alors de nucléation secondaire apparente et de nucléation secondaire vraie que l'on décrit ultérieurement. Comme pour la nucléation primaire hétérogène et pour des raisons similaires, le germe critique aura besoin d'un nombre de molécules moins important que celui formé par nucléation primaire homogène.

Dans une première approche plusieurs auteurs (DE JONG 1984) expriment la cinétique de nucléation secondaire par l'équation :

$$J_s = K_s \cdot \varepsilon^h (\Delta C)^i \cdot (M_T)^j \quad (\text{II.31})$$

où la fréquence de nucléation secondaire J_s est exprimée en $\text{m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
 ε (en W/kg) est l'énergie transmise, par unité de masse de suspension, par l'agitateur
 M_T (en kg/m^3) est la concentration des cristaux en suspension dans la solution
et $\Delta C = C - C_s$ est la sursaturation, exprimée en kg/m^3 par exemple.

Les exposants i et j sont compris respectivement entre 0,5 et 3 d'une part et 0,5 et 2 d'autre part. L'exposant h est généralement compris entre 0 et 1. En fait les trois exposants dépendent énormément des matériaux cristallisés et surtout des conditions hydrodynamiques. Enfin K_s est une constante dépendant de la température mais aussi de la nature de l'agitation utilisée.

L'agitation joue un rôle primordial sur la cinétique de nucléation secondaire mais également sur la valeur de la sursaturation, la façon de l'obtenir, la concentration de la pulpe, la concentration et la nature des impuretés. A titre d'exemple, l'exposant h est de 1,66 pour NaCl obtenu par évaporation dans un cristalliseur de 50 litres et est proche de zéro pour $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ obtenu aussi par évaporation mais dans un cristalliseur de 30 litres. De même la constante K_s varie fortement selon le type d'agitateur, un facteur 4 étant rapporté dans la littérature (DE JONG 1984), toutes conditions égales par ailleurs.

L'équation (II.31) ne fait pas apparaître clairement la contribution de chaque mécanisme séparément. Nous présentons ci-après les différents mécanismes à l'origine de la nucléation secondaire ainsi que la fréquence de nucléation propre à chacun.

II.4.1. Nucléation secondaire apparente

Elle peut se produire :

- lorsqu'il y a ensemencement : les cristaux introduits peuvent avoir des microcristaux collés à leur surface,
- lorsqu'il y a brisure des cristaux au cours de l'agitation de la pulpe (*macroattrition*).

La fréquence de nucléation correspondant au mécanisme d'attrition dépend des propriétés physiques des matériaux paramétrées par le facteur MP (dureté, module de cisaillement et résistance de fracture), de la concentration volumique des cristaux en suspension φ ($\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-3}$), de la sursaturation relative σ_{eff} et de la puissance spécifique de l'agitateur ε_{eff} ($\text{W} \cdot \text{kg}^{-1}$) selon :

$$J_{\text{att}} \approx \text{MP} \cdot \varphi \cdot \varepsilon_{\text{eff}} \sigma_{\text{eff}}^2 \quad (\text{II.32})$$

II.4.2. Nucléation secondaire vraie ou surfacique

Les faces des cristaux présentent parfois une croissance dendritique ou une certaine rugosité, d'autant plus importante que la valeur de la sursaturation est plus élevée. Dans la couche de diffusion cristal-solution se trouvent des embryons ou agrégats de molécules ordonnées. Sous l'effet des forces de cisaillement du liquide et des heurts entre cristaux et parois, ou entre cristaux, les dendrites et agrégats de molécules se détachent pour donner naissance à de nouveaux cristaux. Ce mécanisme dépend cependant beaucoup de la sursaturation, qui entraîne la croissance ou la dissolution des agrégats détachés. Ce mécanisme appelé dans la littérature internationale "collision breeding", est très répandu dans les cristallisoirs industriels.

La fréquence de nucléation correspondant au mécanisme de nucléation surfacique est principalement fonction du coefficient de diffusion D_{AB} ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) et de la sursaturation β :

$$J_{\text{surf}} = \frac{E \cdot 6\varphi}{L_{32}} \frac{D_{AB}}{d_m^4} \exp \left[\frac{-\Pi \left(\ln \left(\frac{C_i^S}{C_i^L} \right) \right)^2}{9 \ln \beta} \right] \quad (\text{II.33})$$

avec E le facteur d'efficacité compris entre 0 et 1, L_{32} le diamètre de sauter moyen (m) et d_m le diamètre moléculaire (m).

II.5. A chaque mécanisme son domaine de prédominance !

Nous venons de voir, que la nucléation est contrôlée par des mécanismes différents. A chacun correspond une fréquence de nucléation et par conséquent une limite de zone métastable qui lui est propre suivant la sursaturation établie dans le système (MERSMANN 1995).

Mersmann décrit la nature et la fonction des quatre zones de nucléation (fig.2.6) délimitées par trois courbes A, B et C de la façon suivante :

- Dans la zone située sous la courbe A, les mécanismes de formation des clusters et la nucléation de surface sont faibles, la croissance est alors contrôlée par l'intégration. Les germes cristallins présents sont produits par attrition, ce domaine est donc contrôlé uniquement par l'attrition avec J_{att} comme fréquence de nucléation dominante. Il s'agit donc d'un domaine où la nucléation est non active, peu influencée par la sursaturation et où la croissance des cristaux est lente.

Au-dessus de la courbe A, c'est le commencement du domaine où la nucléation est active. Cela signifie que la fréquence de nucléation augmente fortement avec la sursaturation. Ainsi lors d'une cristallisation dans ce domaine, un nombre important de germes sont générés pour diminuer au plus vite la sursaturation jusqu'au retour à l'équilibre thermodynamique.

- Dans la zone située entre les courbes A et B, la probabilité de nucléation hétérogène est très faible même en présence de particules étrangères. Par conséquent, il paraît évident que la nucléation de surface accompagné de la formation de clusters et de la croissance dendritique est décisive, avec J_{surf} comme fréquence de nucléation dominante.

- Dans la zone comprise entre les courbes B et C, les germes sont générés par nucléation hétérogène et nucléation de surface définie précédemment. Dans le cas d'une solution pure, exempte de particules étrangères, où des cristaux sont déjà présents, la nucléation de surface avec J_{surf} est dominante. En revanche si une grande surface de petites particules étrangères est disponible, s'il n'y a pas de cristaux présents et que les unités de croissance ont une forte affinité (faible angle de mouillage α) pour la surface des particules étrangères, la fréquence J_{het} est alors dominante.

- Au-dessus de la courbe C, la fréquence de nucléation primaire homogène J_{hom} est clairement dominante mais aussi pour des sursaturations proches de la courbe C.

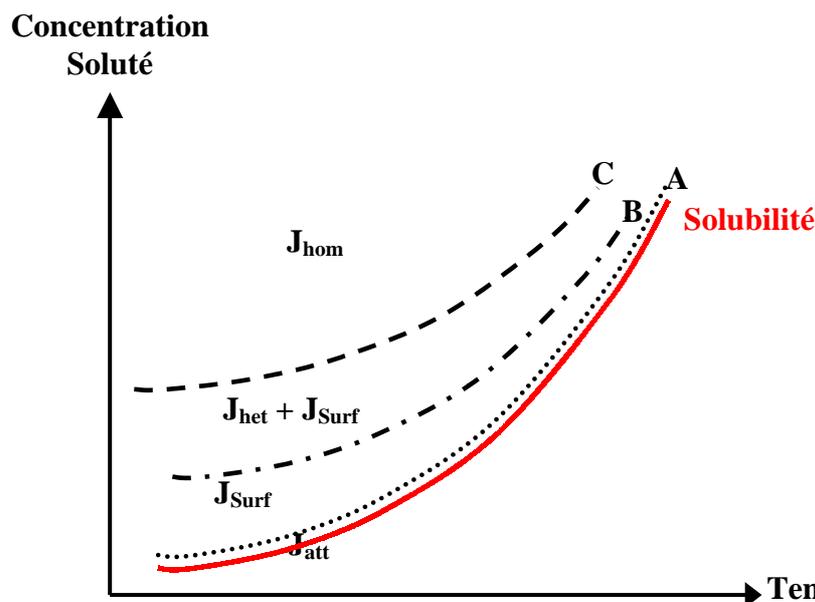


Figure 2.6 : Zones de prédominance des différents mécanismes de nucléation en fonction de la sursaturation dans un diagramme Concentration-Température.

II.6. Cristallisation en présence d'impuretés ou d'additifs

Dans le vocabulaire de la croissance cristalline en solution, les termes impuretés et additifs occupent une très grande place. Le premier concerne des substances étrangères qui se trouvent naturellement dans le système alors que le second s'applique plutôt à des substances étrangères que l'on ajoute volontairement à la solution (BOISTELLE 1985). Dans les deux cas, il s'agit de *compagnons de cristallisation* dont on doit subir l'influence ou dont on veut tirer profit.

L'utilisation d'additifs en cristallisation permet un meilleur contrôle des cinétiques de nucléation mais aussi de croissance. Contrôler la nucléation revient, en général à diminuer le nombre de cristaux afin d'avoir des cristaux plus gros ayant sensiblement la même taille. Il est également possible d'empêcher totalement la nucléation pour prévenir l'entartrage des tubes où circulent des fluides sursaturés, qu'ils s'agissent de voies naturelles ou de canalisations industrielles. Contrôler la croissance consiste également à la ralentir en général, et surtout à ralentir sélectivement l'avancement de certaines faces. Les cristaux auront des faciès différents donnant lieu à de meilleures densités apparentes, filtrant et séchant mieux.

De manière générale, les additifs ont donc surtout pour effet de ralentir aussi bien les cinétiques de nucléation que de croissance.

Pourtant, théoriquement, on pourrait s'attendre à ce que, dans certains cas, ces cinétiques augmentent puisque l'additif agit par adsorption et que toute adsorption résulte en une diminution des énergies interfaciales γ . Il s'agirait là d'un effet purement thermodynamique. On peut préciser encore que l'adsorption est, dans la plupart des cas, temporaire et réversible. En réalité, le blocage des germes est toujours suffisamment efficace pour que l'effet cinétique soit bien plus important que l'effet thermodynamique.

Par ailleurs, on sait que la croissance des cristaux, donc des germes, se fait seulement par l'intermédiaire de quelques sites dits de croissance (sites de pas répétables ou kinks dans la terminologie anglo-saxonne). Il suffit donc d'une quantité infime d'impuretés ou d'additifs pour bloquer tous ces sites et retarder voire empêcher la nucléation puis la croissance (BOISTELLE 1990). De plus, un bon additif qui retarde la croissance des cristaux, en retarde également la dissolution (BOISTELLE 1985). Les additifs affectent donc tous les stades de la cristallisation.

De manière très générale, il faut noter encore que les additifs perdent de leur efficacité lorsque la sursaturation augmente. Ceci se conçoit aisément, car, si le germe pousse très vite, l'additif n'a pas le temps de s'adsorber.

Lorsque la présence de particules étrangères (impuretés ou additifs) fait augmenter la cinétique de nucléation c'est par un autre mécanisme que celui de l'adsorption sur le cristal, qu'elles agissent. On comprend ainsi fort bien que l'additif ou l'impureté devra agir en favorisant la nucléation primaire hétérogène dont le mécanisme a été précédemment décrit. Dans les travaux de Schubert et Mersmann sur la nucléation hétérogène du sulfate de barium, les auteurs (SCHUBERT and MERSMANN 1996) ont montré que la fréquence de nucléation hétérogène est indépendante du nombre de particules étrangères ajoutées à la solution, en revanche elle dépend fortement de la surface et donc de la taille de ces particules.

Quant à la cinétique de croissance des cristaux, il est pratiquement impossible de l'augmenter par addition de particules étrangères en faible quantité. En revanche, on peut imaginer qu'un additif à concentration suffisamment grande parvient à diminuer la solubilité. Tout se passerait alors comme si on travaillait à sursaturation plus grande et il serait normal que la cinétique de croissance augmente, en particulier si l'additif s'adsorbe mal sur les cristaux.

On ne peut cependant pas considérer ce processus comme étant le résultat de la présence d'un additif ou d'une impureté au sens habituel puisque l'on agit sur la solubilité qui est un des paramètres affectant la cinétique de croissance.

En résumé, l'adsorption d'une substance étrangère sur un germe ou cristal peut théoriquement aboutir à une augmentation de la fréquence de nucléation et de la cinétique de croissance, en revanche, on ne l'observe quasiment jamais. En effet, il suffit d'une quantité infime d'impuretés ou d'additifs pour retarder voire empêcher la nucléation et la croissance. Lors de l'ajout d'une plus grande quantité d'impureté ou d'additif, la nucléation primaire hétérogène est favorisée et l'on observe alors une augmentation de la cinétique de nucléation.

Comme nous venons de le voir dans la deuxième partie de ce chapitre, le cristal peut naître de différentes façons. Il peut aussi apparaître sous différentes structures.

III. LE POLYMORPHISME

III.1. Introduction

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 suivant trois formes différentes : la vaterite (système hexagonale), l'aragonite (système orthorhombique) et la calcite (système rhomboédrique) cette dernière est la phase la plus stable. En 1809, Humphrey Davy suggère que le diamant est une autre forme du carbone au même titre que le graphite. C'est en 1822 qu'Eilhard Mitscherlich confirma par ses travaux sur le monophosphate de sodium l'existence de formes cristallines différentes. Dès lors la communauté scientifique accepta l'idée, jusqu'alors bizarre, selon laquelle un même composé chimique pouvait exister sous différentes formes solides.

Le polymorphisme cristallin traduit donc la possibilité qu'ont les atomes (dans ce cas on parle plutôt d'allotropie), les molécules minérales ou organiques (même composition chimique) d'exister à l'état solide sous différentes structures cristallines (arrangement interne des atomes ou molécules dans les réseaux cristallins). Cette possibilité confère aux différentes formes cristallines obtenues des propriétés physico-chimiques différentes, comme la

température et l'enthalpie de fusion, la densité, la dureté et le faciès des cristaux, mais aussi la solubilité et par conséquent la vitesse de dissolution.

Notons qu'une molécule sera dite comme présentant le phénomène de pseudo-polymorphisme si elle incorpore dans la maille cristalline des molécules de solvants (Solvates) ou d'eau (Hydrate) en quantité discrète (stœchiométrique).

L'isomérisie est relativement distincte du polymorphisme. En effet si variétés polymorphiques tout autant qu'isomères ont bien des propriétés physiques différentes à l'état solide, à l'état dissous, inversement, seuls les isomères se différencient encore.

Dans le domaine pharmaceutique, l'expérience montre que le polymorphisme concerne plus de 80% des molécules d'intérêt pharmaceutique. Leurs différences de propriétés physico-chimiques peuvent alors avoir des conséquences très importantes sur la stabilité, la processabilité galénique et sur la biodisponibilité (activité/toxicité) d'un principe actif. Un exemple révélateur de la non-maîtrise du polymorphisme est celui des laboratoires Abott qui furent obligé en 1998 de retirer du marché les livraisons de gélules de Norvir® contenant le principe actif ritonavir, inhibiteur de protéase de l'HIV pour cause de problème de qualité concernant les caractéristiques de dissolution (BAUER 1999). En fait le problème venait de la découverte d'une nouvelle forme plus stable du Norvir, rendant difficile ensuite par effet de contamination, d'ensemencement ou d'amorçage la cristallisation de la forme métastable obtenue jusqu'à présent (BAUER, SPANTON et al. 2001).

Fort heureusement, les cas où les divers polymorphes d'une même entité chimique présentent des biodisponibilités différentes ne sont pas majoritaires. C'est surtout dans le domaine de la processabilité et de la stabilité qu'on rencontre les conséquences les plus fréquentes.

Pour appréhender les problèmes du polymorphisme, il est nécessaire de faire appel à la thermodynamique et à la cinétique.

III.2. Conditions d'existence

III.2.1. Quelques rappels thermodynamique

Pour expliquer l'origine du polymorphisme (BOISTELLE, KLEIN et al. 1996), on peut considérer les variétés d'un système polymorphique comme des phases homogènes susceptibles d'intervenir dans un équilibre. L'état d'équilibre d'un système physico-chimique

ouvert ou fermé peut être décrit par les valeurs des paramètres intensifs que sont les fractions molaires des constituants, la température et la pression du milieu. L'expérience montre, cependant que tel ou tel de ces paramètres peut évoluer dans une gamme numérique plus ou moins large sans que le système en soit, pour autant nécessairement déséquilibré. La notion de variance, ν précise le nombre de facteurs qui, intervenant dans l'équilibre, peuvent varier sans le détruire. Cette grandeur ν est donnée par le théorème de Gibbs :

$$\nu = c + 2 - \phi \quad (\text{II.34})$$

Où c est le nombre de constituants dits indépendants c'est à dire les composants chimiques dénombrées, diminuées du nombre de relations qui les lient et où 2 représente les deux variables indépendantes Température et Pression. ϕ est le nombre de phases.

Si on prend l'exemple de l'équilibre entre deux variétés solides A et B *uniquement*, il y a bien deux espèces mais il y a aussi une relation qui les unit, c'est la relation d'équilibre $A \leftrightarrow B$. Dans ces conditions, la variance du système vaut 1, le système est monovariant. Cela signifie par exemple qu'à pression atmosphérique l'équilibre est réalisé à une certaine température, appelée température de transition de phase.

D'un point de vue thermodynamique, on rappelle que si plusieurs phases cristallisent simultanément ou successivement en solution et coexistent temporairement, la seule phase stable est celle qui a l'énergie libre G la plus faible. Cette dernière est reliée à l'enthalpie H de la phase par la relation (II.35):

$$G = H - TS \quad (\text{II.35})$$

Où T est la température considérée et S l'entropie de la phase.

On peut alors établir les relations suivantes (II.36 et II.37) pour des formes cristallines A et B mais aussi pour la phase fondue.

$$G_1 = H_1 - TS_1 \quad (\text{II.36})$$

et
$$G_A = H_A - TS_A \text{ et } G_B = H_B - TS_B \quad (\text{II.37})$$

Où G_A , G_B et G_l sont respectivement les énergies libres des phases cristallines A et B et de la phase fondue. Lorsque l'énergie libre de la phase cristalline est égale à l'énergie libre de la phase fondue, une transition de phase a lieu, il s'agit de la fusion. On définit alors en ce point une température T_f fixe du diagramme unaire.

Dans un système où il n'y a pas de phase vapeur et où la pression est constante, le positionnement relatif des courbes de l'énergie libre des phases cristallines en fonction de la température définit alors les deux systèmes polymorphiques suivants : Monotropie et Enantiotropie (GIRON 1995).

III.2.2. Monotropie

Le terme « monotropie » vient du grec *mono* « seul », « unique », et *tropos* « direction ». Dans le cas de la monotropie (fig.2.7(a)), la forme B est métastable par rapport à A, la transformation B vers A est irréversible pour chaque température inférieure à T_B^f dans le diagramme unaire. La courbe G_A ne coupe pas la courbe G_B avant la fusion, le système est dit monotropique.

Dans un diagramme de phases binaire, concentration de soluté en fonction de la température de la solution (soluté dissous dans solvant), un système est dit monotropique si les deux courbes de solubilité des deux polymorphes ne se croisent pas (fig.2.7(b)). Un seul polymorphe est stable dans le domaine de température, la transformation de la phase instable en phase stable est alors irréversible.

Lorsqu'on considère un système binaire, soluté-solvant par exemple, le solvant va agir sur la cinétique des transformations de phases des polymorphes, en revanche la nature monotropique du système est inchangé par rapport au diagramme unaire.

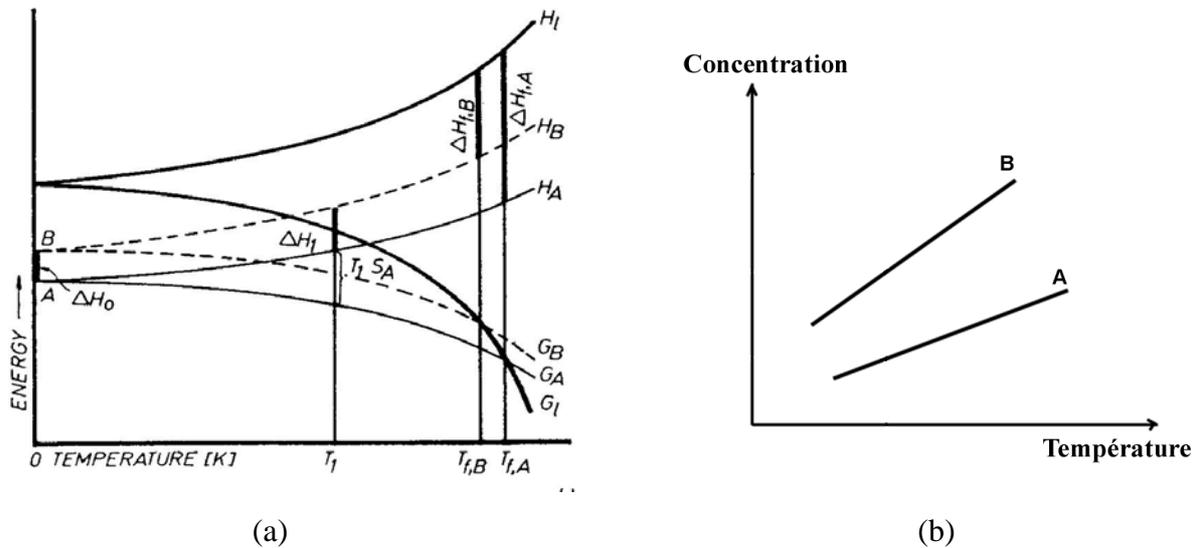


Figure 2.7 : (a) Diagramme Energie-Température dans le cas d'un système monotrope (forme cristalline A, T_{fA} température de fusion de la forme A, forme cristalline B, T_{fB} température de fusion de la forme B, ΔH_{fA} et ΔH_{fB} sont les enthalpies de fusion des formes A et B). (b) Représentation schématique des courbes de solubilité d'un système monotropique dans un diagramme binaire Concentration-Température.

III.2.3. Enantiotropie

Le terme « énantiotropie » vient du grec *enantios* « opposé » et *tropos* « direction ». Dans le cas de l'énantiotropie (fig.2.8(a)), A et B sont stables chacune dans un domaine de température et le passage de A vers B (et inversement) est possible avec l'existence de la température de transition T_p inférieure à la température de fusion dans le diagramme unaire. Dans un diagramme de phases binaire, concentration de soluté en fonction de la température de la solution, si les deux courbes de solubilité des deux polymorphes se croisent à une température de transition T_p' alors chaque polymorphe est stable dans un domaine de température, la transformation de l'une en l'autre est réversible (fig.2.8(b)). Tout comme le système monotropique, la présence de solvant n'agit que sur la cinétique des transformations de phases des polymorphes.

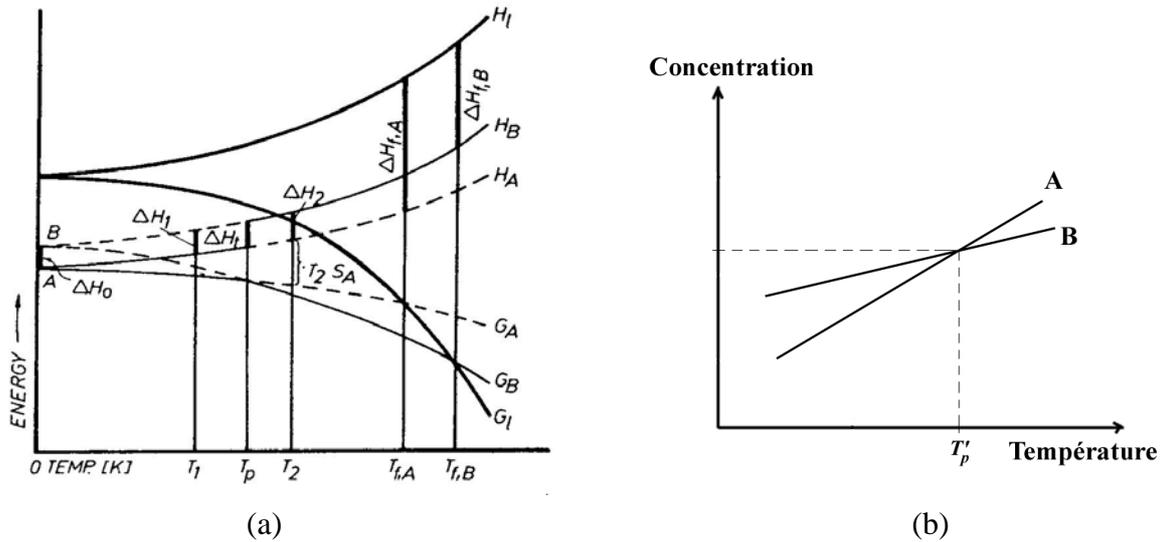


Figure 2.8 : (a) Diagramme Energie-Température dans le cas d'un système énantiotrope (même légende que la figure précédente avec T_p comme température de transition pour un diagramme unaire). (b) Représentation schématique des courbes de solubilité d'un système énantiotrope dans un diagramme Concentration-Température ou T'_p est la température de transition de phase pour un diagramme binaire.

Burger en 1979 a déduit des diagrammes $G = f(T)$ des règles intéressantes permettant de classifier un système polymorphique comme système monotrope ou énantiotrope. Il clarifiait ainsi les travaux de Tammann qui proposait déjà en 1913 des règles similaires basées uniquement sur des probabilités sans tenir compte de la nature des polymorphes.

III.2.4. Règles de Burger

La lecture des publications de Burger (BURGER and RAMBERGER 1979 ; BURGER and RAMBERGER 1979) met en évidence les règles et exceptions présentées en annexe 2.2. Le tableau II.1 est un résumé de ces règles thermodynamiques érigée dans le but d'aider à distinguer une transition monotropique d'énantiotrope lors de l'analyse thermique d'un polymorphe.

Tableau II.1 : Règles thermodynamiques des transitions polymorphiques d'après Burger où A est la forme ayant la plus grande température de fusion (GIRON 1995).

	Enantiotropie	Monotropie
Définitions du système	Transition (T_p) avant point de fusion de A	Transition (T_p) après point de fusion de A
	A Stable > Transition (T_p)	A est toujours le plus stable
	B Stable < Transition (T_p)	
	Transition réversible	Transition irréversible
	Solubilité de A > à B avant T_p	Solubilité de A toujours inférieure à B
Règles de Burger	Transition B→A endothermique	Transition B→A endothermique
	$\Delta H_{\text{fusion}} A < \Delta H_{\text{fusion}} B$	$\Delta H_{\text{fusion}} A > \Delta H_{\text{fusion}} B$
	Peak IR de A avant B	Peak IR de A après B
	Densité A < Densité B	Densité A > Densité B

D'un point de vue expérimental, l'utilisation de l'analyse enthalpique différentielle (DSC) décrit dans le chapitre III, est particulièrement intéressante pour mesurer en particulier les températures et enthalpies de fusion des différentes formes afin de caractériser les systèmes en appliquant les règles de Burger. Les différents profils DSC (GIRON 1995) associés à la monotropie et à l'énantiotropie (annexe 2.3) montrent la difficulté d'interpréter correctement ces courbes parce que la thermodynamique et la cinétique jouent un rôle important dans le tracé des courbes.

Il devient donc intéressant de comprendre les conditions de formation des polymorphes.

III.3. Condition de formation des polymorphes

En 1897 Ostwald (OSTWALD 1897) érigeait en règle qu'un système chimique ne tendait pas directement vers l'état le plus stable, mais tendait plutôt vers l'état métastable qui lui était le plus voisin. Il existe de nombreux exemples qui satisfont à cette règle mais il y a aussi de nombreuses exceptions.

Pour illustrer la cristallisation des phases instables, on considère le cas simple où une substance n'existe que sous deux formes cristallines A et B dont les courbes de solubilités sont schématisées sur la figure 2.9 (KLEIN, BOISTELLE et al. 1989). Avant toute cristallisation, la concentration de la solution est C_i . Si l'on amène cette solution à la température de cristallisation T_N , le système est dans des conditions où la solution est sursaturée par rapport aux polymorphes A et B. Les sursaturations respectives sont $\beta_A = C_i/C_A$ et $\beta_B = C_i/C_B$; puisque $\beta_A > \beta_B$ c'est le polymorphe A que l'on s'attend à voir cristalliser. Or la phase métastable B cristallise souvent la première.

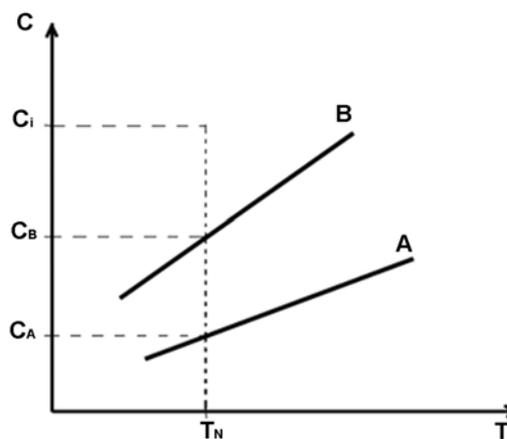


Figure 2.9 : Représentation schématique des courbes de solubilité de deux polymorphes A (stable) et B (métastable ou instable) formant un système monotrope.

Si on affecte aux fréquences de nucléation J (II.24) et aux paramètres dont elles dépendent les indices A et B. On a donc $J_B > J_A$ dans le cas de la formation de la phase métastable. On ne peut expliquer l'anomalie $J_B > J_A$ que de deux manières :

- la phase B a une énergie interfaciale γ_B inférieure à γ_A
- le facteur cinétique K_B est très supérieur à K_A .

Dans les deux cas, l'apparition de la phase B est facilitée au détriment de celle de la phase A. Klein et al. ont illustré l'influence de γ sur la nucléation des différents polymorphes par un calcul simple de fréquence de nucléation homogène (KLEIN, BOISTELLE et al. 1989). Ils montrent ainsi que si l'on a : $\beta_A = 1,78$, $\gamma_A = 0,01 \text{ J.m}^{-2}$ et $\beta_B = 1,60$, $\gamma_B = 0,008 \text{ J.m}^{-2}$ alors $J_A = 4\text{m}^{-3}$ et $J_B = 2,4.10^7\text{m}^{-3}$. La fréquence de nucléation augmente donc considérablement pour des diminutions très faibles de l'énergie interfaciale. Ceci explique bien pourquoi une phase métastable peut cristalliser avant la phase stable, en dépit du fait qu'elle croît à sursaturation

bien plus faible que cette dernière. Le polymorphe B métastable se forme donc pour des raisons cinétiques. Les facteurs cinétiques qui imposent la nucléation l'emportent sur les facteurs thermodynamiques qui imposent l'équilibre final.

La métastabilité du polymorphe B dure aussi longtemps qu'aucun germe du polymorphe A stable n'apparaît en solution. En effet, lorsque le polymorphe B croît, la concentration C du soluté diminue jusqu'à atteindre C_B , la solution est alors à l'équilibre avec la phase B mais reste sursaturée par rapport à A (fig.2.9). Dès qu'un germe de A se forme, alors la concentration C de soluté devient inférieure à C_B , et le polymorphe B est alors condamné à se dissoudre, le soluté ainsi libéré servant alors à la croissance des cristaux de la phase stable A. Dans la plupart des cas, la transformation de phase se fait par un processus de dissolution-recristallisation. La cinétique de la transformation peut être suivie par toute méthode détectant une quantité liée à la concentration comme dans les travaux de (GARCIA 2000) où le lecteur trouvera un bon exemple de suivi par conductimétrie de la transformation de phase de l'Irbesartan forme A (métastable) en forme B (stable) à 40°C.

Comme nous l'avons vu en introduction avec le cas rencontré par Abbott, la découverte fortuite d'une nouvelle forme cristalline plus stable peut avoir des conséquences importantes pour une société. La recherche du polymorphe le plus stable devient donc primordial. Actuellement, l'une des méthodes les plus utilisées pour la recherche de polymorphes est la recristallisation dans différents solvants (GUILLORY 1999). D'après la règle d'Ostwald (OSTWALD 1897), on obtient souvent la forme métastable en premier. Une méthode efficace pour découvrir le polymorphe le plus stable est la technique du « Solvent-mediated polymorphic transformation » constitué de trois parties : nucléation du polymorphe le plus stable, croissance de ce dernier et dissolution du polymorphe le moins stable (RODRIGUEZ-HORNEDO and MURPHY 1999) (fig.2.10). Chaque étape peut être cinétiquement limitée.



Figure 2.10: Schéma du procédé du Solvent-mediated polymorphic transformation.

En plus de la préparation du polymorphe le plus stable, cette technique est utile pour éliminer la forme métastable à partir d'un mélange de polymorphe afin de s'assurer de la pureté d'une phase. Pour cela il faut utiliser des solvants dans lesquels la transformation polymorphique est rapide. En revanche si l'on veut conserver la phase métastable on utilise des solvants dans lesquels la transformation polymorphique est lente. Actuellement le choix du solvant se fait par tâtonnements.

Les travaux récents de Gu et al. (GU, YOUNG JR et al. 2001) sur la cristallisation de la Sulfamerazine (SMZ), ont mis en évidence les facteurs régissant la vitesse de transformation polymorphique. Cet article fournit ainsi de précieux conseils dans le choix d'un solvant qui faciliterait ou retarderait la transformation polymorphique. La SMZ cristallise deux polymorphes I et II qu'il est possible d'isoler par une méthode décrite dans un article de Gu et Grant (GU and GRANT 2001). Le système est énantiotropique avec une température de transition T_p comprise entre 51 et 54°C. Notons qu'à 24°C le polymorphe I est métastable puis stable pour des températures supérieures à la température de transition de phase. Dans une solution sursaturée par rapport aux deux polymorphes avec une température inférieure à T_p , un premier résultat montre que la vitesse de transformation polymorphique de SMZ dans différents solvants est contrôlée par la fréquence de nucléation du polymorphe II, le plus stable dans ces conditions. Généralement la fréquence de nucléation est plus forte dans les solvants possédant une forte solubilité c'est à dire un γ plus faible. La solubilité joue donc un rôle important dans la fréquence de nucléation de la phase stable, mais cette solubilité n'est pas le seul facteur déterminant J (II.24), il faut également considérer les interactions solvant-soluté qui vont influencer la nucléation et la croissance cristalline pour au moins deux raisons :

Premièrement, les molécules de soluté dans le solvant sont associées avec les molécules de solvants, elles sont dites solvatées. Durant la nucléation et la croissance, la désolvatation des molécules solvatées doit précéder leur intégration dans le réseau.

Deuxièmement, les molécules de solvants sont adsorbées sur la surface du nucléi. L'arrivée des molécules de soluté doit remplacer les molécules de solvant pour intégrer le réseau. Dans ces conditions, le solvant a le même effet que peuvent avoir les additifs ou impuretés sur la nucléation, « le solvant est la première impureté du système » (BOISTELLE 1982).

Pour ces deux raisons, on peut dire que plus les interactions soluté-solvant sont fortes, plus le retard à la nucléation et à la croissance sera important et moins la transformation polymorphique sera rapide. Le facteur pré-exponentiel K de l'équation (II.24) est alors plus

faible dans les solvants donnant de fortes interactions solvant-soluté. Par conséquent lorsque le polymorphe métastable I possède de fortes interactions avec le solvant les auteurs observent alors un retard à la cristallisation de la forme stable II.

Les liaisons de Van der Waals (VDW) et les liaisons Hydrogène contribuent aux interactions soluté-solvant. Ces dernières sont présentes dans la relation empirique (II.38) donnant la solubilité (TAFT, ABRAHAM et al. 1985) :

$$\log S = a + b.\delta^2 + c.\sum \alpha + d.\sum \beta + e.\pi^* \quad (\text{II.38})$$

Avec S : solubilité molaire,
 δ : énergie de cohésion,
 $\Sigma\alpha$, $\Sigma\beta$: paramètres donnant le caractère des liaisons hydrogènes donneur (LHD) ou accepteur (LHA)
 π^* : Dipolarisation des liaison de VDW.
a, b, c, d et e : paramètres ajustables

Gu et al. montrent que dans le cas de la molécule SMZ, les solvants à caractères accepteurs de liaison hydrogène (LHA) jouent un rôle important à la fois pour la solubilité et pour la nucléation (GU, YOUNG JR et al. 2001). En effet, ils mettent en évidence que LHA augmente avec la solubilité du système, mais ils n'ont aucune relation claire avec les solvants à caractères donneurs de liaison hydrogène (LHD) et π^* . En revanche les LHA ne favorisent pas la nucléation.

En résumé, la fréquence de nucléation est fonction à la fois de la solubilité et des interactions soluté-solvant. Dans l'étude de la SMZ, la nucléation est plus facile dans un solvant où la solubilité est forte mais où les interactions soluté-solvant sont plus faibles. Dans les mêmes conditions, la vitesse de croissance des cristaux est plus rapide. Il en résulte donc, que pour faciliter la transformation polymorphique qui conduirait à la cristallisation de la forme la plus stable, la forme métastable devrait être en suspension dans un solvant où la solubilité est forte mais où les interactions solvant-soluté sont modérées. L'approche pour avoir les conditions d'obtention du polymorphe le plus stable pour la SMZ pourrait être appliquée à d'autres systèmes. En effet, la règle de base « qui se ressemble s'assemble et se dissous » pour le choix du solvant nécessite donc une approche semi qualitative basée sur le dosage des interactions

solvant-soluté. Le mélange de différents solvants permet de doser les caractères donneurs, accepteurs à volonté afin de modifier la solubilité et l'intensité des interactions solvant-soluté pour trouver les conditions favorables à la nucléation du polymorphe le plus stable.

La température et la vitesse d'agitation de la solution influence également la vitesse de transformation polymorphique. Ainsi plus la solution est agitée, plus on augmente le transfert de matière en solution et donc la fréquence d'attachement des molécules aux germes, plus la fréquence de nucléation est forte et plus la transformation polymorphique est rapide. La température affecte principalement la sursaturation, ainsi une diminution de la sursaturation abaissent la fréquence de nucléation, la croissance des cristaux et donc la transformation polymorphique.

De plus comme la transformation polymorphique se produit par un processus de dissolution et recristallisation via la solution, il n'est pas surprenant que la cinétique globale du phénomène soit aussi affectée par la présence d'additifs. Suivant la nature des additifs et l'état de surface des polymorphes, les additifs peuvent agir de plusieurs manières. En utilisant le concept « Tailor-made » (WEISSBUCH, LEISEROWITZ et al. 1995), Garcia et al., ont récemment montré (GARCIA, HOFF et al. 2002) qu'il est possible de contrôler la vitesse de transformation polymorphique d'une molécule pharmaceutique en utilisant des additifs. Dans leur cas, l'utilisation du Dodécyl Amine Chlorure a permis d'accélérer la dissolution de la phase métastable et de ralentir considérablement la croissance de la phase stable. En revanche, l'Acide Adipique utilisé, a eu uniquement l'effet de ralentir la dissolution de la phase métastable. Différents additifs peuvent donc agir de différentes manières sur la vitesse de transformation polymorphique d'une molécule.

En résumé, en solution le seul polymorphe stable est donc celui qui a la solubilité la plus faible. Les polymorphes instables cristallisent en premier selon la règle d'Ostwald pour des raisons cinétiques mais sont inéluctablement condamnés à disparaître au profit du polymorphe le plus stable pour des raisons thermodynamiques. Dans la plupart des cas, la transformation de phase se fait plus ou moins rapidement par un processus de dissolution-recristallisation via la solution. Le choix du solvant est donc très important pour obtenir le polymorphe le plus stable thermodynamiquement. Et il peut être intéressant de prendre en considération l'utilisation d'additifs pour contrôler la vitesse de transformation polymorphique d'une molécule.

Suivant le diagramme de phases des systèmes étudiés, on peut être amené à rencontrer différents polymorphes mais aussi une transition de phase d'un autre genre : la transition liquide-liquide ou démixtion liquide-liquide.

IV. LA DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE

Du travail bibliographique effectué sur la démixtion liquide-liquide dans les domaines des protéines, des colloïdes et des matériaux, on ne présente dans cette partie que les grandes lignes nécessaires à la bonne compréhension de ce manuscrit.

Après avoir défini d'un point de vue thermodynamique la démixtion liquide-liquide dans le cas d'un système binaire, nous décrivons les différents mécanismes à l'origine de la démixtion liquide-liquide. Un exemple de diagramme ternaire est également proposé au lecteur. Nous poursuivons par une discussion concernant l'influence de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation lorsque cette démixtion se situe dans la nappe de cristallisation. Enfin, cette partie s'achève par la présentation des techniques de caractérisation de la démixtion liquide-liquide et des modèles pouvant la définir.

IV.1. Définition : Démixtion liquide-liquide

Par opposition à l'émulsion (DAVEY 1986) où les deux composants sont insolubles (immiscible), la démixtion liquide-liquide correspond à une lacune de miscibilité dans un diagramme de phases. Suivant la position de cette dernière, plusieurs cas ont été décrits dans différents ouvrages, voir (LUPIS 1983 ; HILLERT 1998). Nous avons ainsi choisi de présenter ci-après (fig.2.11) deux diagrammes de phases solide-liquide (binaire) issus du domaine des colloïdes (ASHERIE, LOMAKIN et al. 1996 ; WOLDE and FRENKEL 1997 ; HAAS and DRENTH 1999) qu'il peut-être envisageable de rencontrer dans le domaine de la cristallisation en solution. Le diagramme de phase solide-liquide de la figure 2.11(a) présente un système binaire où la solubilité est directe (solubilité augmente avec la température) et montre que pour des températures élevées, l'agitation thermique à l'intérieur d'une solution favorise le mélange, la démixtion liquide-liquide devient alors peu probable. En revanche, la démixtion liquide-liquide se manifeste au-dessous d'une température appelée *température critique* T_c . Pour des températures inférieures à cette température critique, il existe donc une zone de démixtion liquide-liquide délimitée par une courbe d'équilibre thermodynamique

appelée *binode* ou *courbe binodale*. Notons que le point critique d'un mélange, caractérisé par une température critique et une composition critique, est le point pour lequel les propriétés des deux phases à l'équilibre deviennent identiques (fig.2.11(a)). Dans ce cas, la lacune de miscibilité est positionnée dans la zone sursaturée par rapport à la phase cristalline. Par ailleurs, un autre cas peut-être envisagé, il s'agit du diagramme de phase solide-liquide présenté sur la figure 2.11(b). Le lecteur peut observer sur ce dernier l'existence d'un domaine triphasé représenté sous forme de segment horizontal lors du concours de la binode et de la courbe de solubilité.

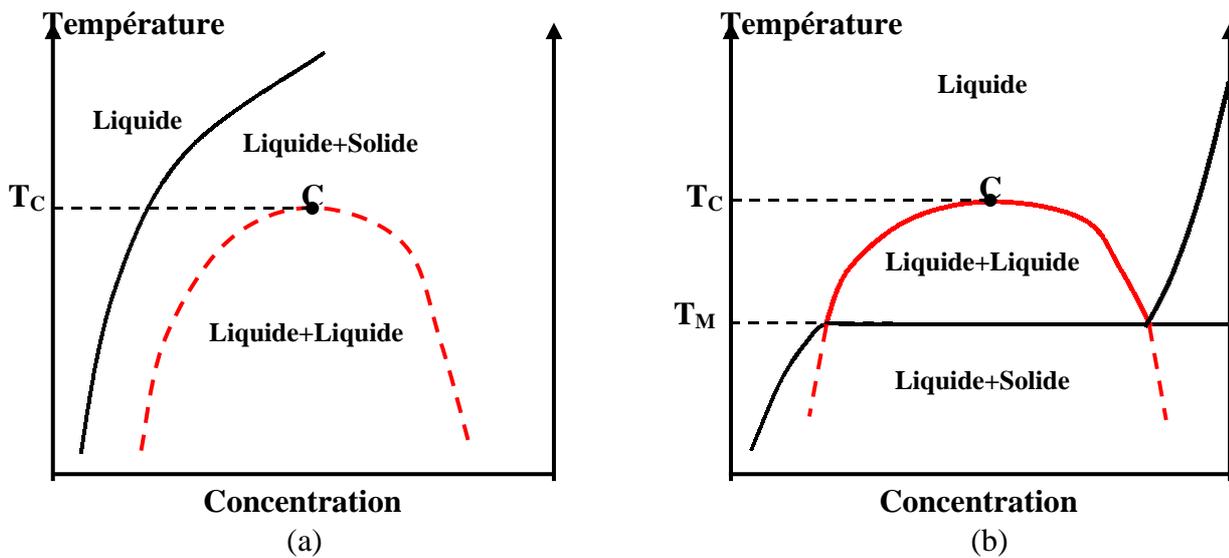


Figure 2.11: Diagramme de phases Température-Concentration où la lacune de miscibilité est (a) au-dessous de la courbe de solubilité ; (b) au-dessus de la courbe de solubilité formant avec cette dernière un domaine triphasé sous forme de segment horizontal.

Notons que dans le cas de système binaire, la règle de la variance (éq.II.34) interdit au système d'avoir une phase cristalline en équilibre avec deux phases liquides à T , P et C fixées, excepté dans le cas de la figure 2.11(b) à T_M . C'est pourquoi, on peut émettre deux hypothèses si on ensemence avec une phase cristalline (semence) dans la zone de démixtion d'un système binaire:

La première consiste à dire que si la phase liquide recevant la semence est sursaturée par rapport à la phase cristalline alors le système va tendre vers son équilibre le plus stable, la solubilité. La croissance du cristal ensemencé entraîne le système à sortir de la zone de démixtion liquide-liquide. Ce qui n'empêche en rien la coexistence de la phase métastable (liquide-liquide) avec la phase stable (cristal) (fig.2.12) pour des raisons cinétiques.

La seconde hypothèse consiste à dire que si la phase liquide recevant la semence est sousaturée par rapport à la phase cristalline alors le système va tendre vers son équilibre le plus stable, dans ce cas l'équilibre liquide-liquide. La dissolution du cristal ne fait qu'enrichir les deux phases liquides en molécules de soluté.

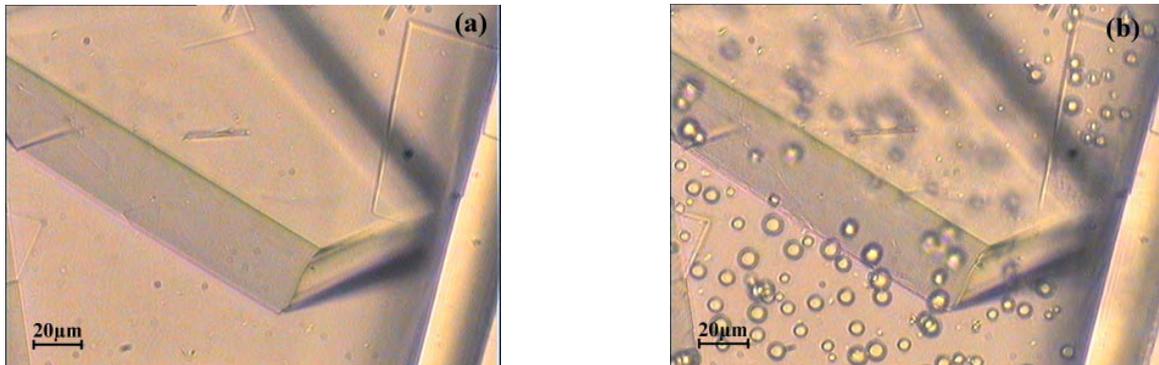


Figure 2.12 : Observation par microscopie optique (a) d'un cristal de protéine BPTI dans une solution sursaturée en BPTI ; (b) de la coexistence d'un cristal de BPTI (phase stable) et d'une démixtion de phase (gouttelettes riche en protéine : phase métastable) dans une solution sursaturée en BPTI. Photographies issues de l'article de Grouazel et al., (GROUAZEL, PEREZ et al. 2002) avec l'autorisation des auteurs.

IV.2. Approche thermodynamique

Pour traduire dans un système binaire, soluté-solvant par exemple, l'équilibre thermodynamique défini par la binode, on utilise l'enthalpie libre de mélange G comme *potentiel thermodynamique* d'un système assujéti aux contraintes T , P constantes. L'enthalpie libre intégrale de mélange est donnée par :

$$\Delta_{\text{mix}} G = \Delta_{\text{mix}} G^{\text{id}} + \Delta_{\text{mix}} G^{\text{XS}} \quad (\text{II.39})$$

avec $\Delta_{\text{mix}} G$: Enthalpie libre de mélange

$\Delta_{\text{mix}} G^{\text{id}}$: Enthalpie libre de mélange dans le cas d'une solution idéale

$\Delta_{\text{mix}} G^{\text{XS}}$: Enthalpie libre d'excès de mélange traduisant l'écart à l'idéalité

Dans le cas d'un système binaire soluté-solvant, où C est une variable susceptible de fluctuer, comme la concentration de soluté en solution, l'étude de la courbe $\Delta_{\text{mix}} G = f(C)$ pour

différentes températures permet d'identifier une température dite critique en dessous de laquelle le profil de la courbe $\Delta_{\text{mix}}G = f(C)$ change.

Condition $T_x > T_c$

Pour des températures supérieures à la température critique T_c , on observe que la variation isotherme de l'enthalpie libre de mélange dans le domaine de concentrations étudié présente un seul minimum (fig.2.13(a)). On n'observe aucune démixtion liquide-liquide au-dessus de la température critique dans le cas d'un système binaire à solubilité directe (fig.2.13(b)).

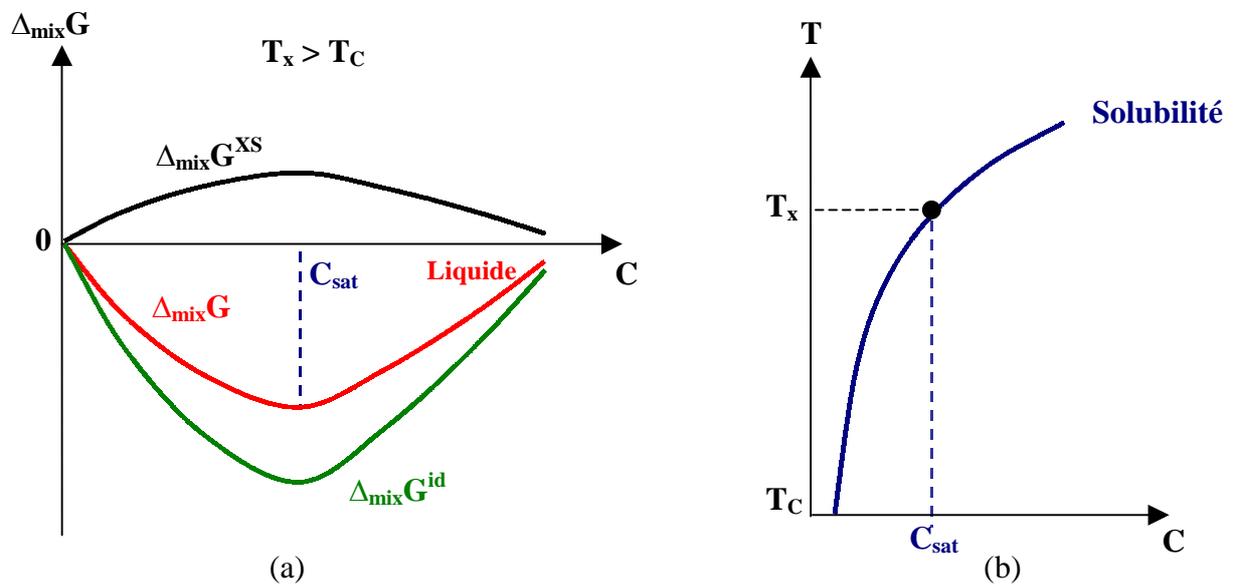


Figure 2.13: (a) Enthalpie libre d'un système binaire Solide-Liquide et (b) diagramme température-concentration, au-dessus de la température critique T_c .

Condition $T_x < T_c$

Lorsque la température du système diminue pour devenir inférieure à la température critique, le mélange s'écarte de l'idéalité, $\Delta_{\text{mix}}G^{\text{XS}}$ augmente et devient supérieure en valeur absolue à $\Delta_{\text{mix}}G^{\text{id}}$ d'une solution idéale. On observe alors que la courbe isotherme $\Delta_{\text{mix}}G = f(C)$ présente deux points d'inflexion (fig.2.14(a)). Autrement dit, chaque fois qu'il est possible de tracer une tangente commune à deux points de cette courbe, l'expérimentateur observe alors une démixtion liquide-liquide. Les compositions des deux solutions liquides, notées ici C_1 et C_2 , en équilibre thermodynamique correspondent aux abscisses des points de contacts de cette

tangente commune (fig.2.14(a)). Dans le diagramme température-concentration, les points C_1 et C_2 représentatifs de ces deux phases liquides se situent sur la **binode** (fig.2.14(b)). Ces points, sont reliés entre eux par une droite dite droite de conjugaison ou conode. Ces droites de conjugaisons forment un faisceau dont l'enveloppe définit la binode.

On appelle points spinodaux les points pour lesquels la dérivée seconde de l'enthalpie libre s'annule et où par conséquent la compressibilité est infinie. La compressibilité étant définie comme fonction de l'inverse de la dérivée seconde de l'enthalpie libre. Les points spinodaux, notées ici C_{sp1} et C_{sp2} , se situent à l'intérieur de la binode et forment une nouvelle courbe appelée **spinode** ou **courbe spinodale** (fig.2.14b). La binode et la spinode se rencontrent au point critique C .

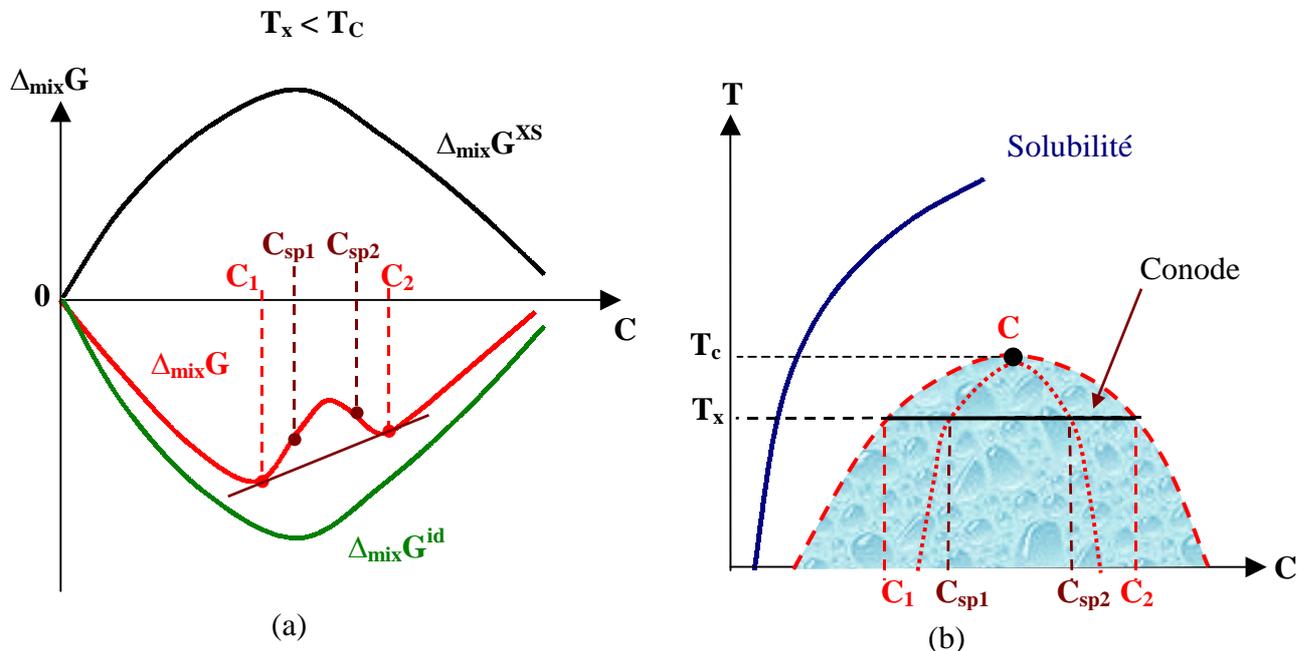


Figure 2.14 : (a) Enthalpie libre d'un système binaire Solide-Liquide, où ● représente les différents points d'inflexion et (b) diagramme température-concentration, au-dessous de la température critique T_c . (- - -) binode, (.....) spinode.

Les diagrammes de phases mettant en jeu trois composés, système ternaire, sont aussi importants puisqu'ils sont la source de nombreuses applications industrielles (procédé d'extraction liquide-liquide par exemple). La représentation utilisée pour un système binaire n'est plus adéquate dans le cas de système ternaire c'est pourquoi, on emploie une représentation triangulaire (triangle équilatéral ou rectangle) qui permet de définir tous les mélanges possibles entre trois composés. Qu'il s'agisse de la composition chimique d'une solution ou d'un minéral, tout point représenté dans un diagramme ternaire correspond à

100% de constituants ($A+B+C=100$). Nous allons traiter et utiliser comme diagramme triangulaire A-B-C (fig.2.15), un triangle équilatéral. Les propriétés géométriques de ce dernier font que chaque sommet du triangle correspond à un pôle pur. C'est à dire qu'au pôle A correspond 100% du constituant A (et par conséquent 0% de B et 0% de C). Idem au pôle B où on a 100% du constituant B, et au pôle C où on a 100% de C. Le long de la base du triangle (droite BC), on a 0% du constituant A. Le long du côté AC, 0% de B, et le long du côté AB, 0% de C.

En résumé, un sommet du triangle représente un composant pur, un point sur un côté représente un mélange binaire et un point sur la surface représente un mélange ternaire. Cette représentation oblige à établir le sens des graduations des pourcentages. La figure 2.15 a retenu le sens trigonométrique inverse (le sens des aiguilles d'une montre). On aurait très bien pu « polariser » le triangle en sens contraire.

La présence d'une lacune de miscibilité dans un diagramme ternaire à une température donnée implique que la représentation graphique du ternaire soit divisée en deux zones (fig.2.16(a)). L'une proche du sommet B (fig.2.16(a)) pour laquelle tous les points correspondent à une phase homogène, l'autre proche du côté AC pour laquelle tous les points correspondent à des mélanges se séparant en deux phases. Toutes deux contiennent du B, et elles sont saturées en tiers produit, (A par C et C par A (fig.2.16(a))). Les deux zones du diagramme ternaire sont séparées par une frontière, la binode. Ainsi, quand on place dans un contenant quelconque un mélange correspondant à un point à l'intérieur de la lacune de miscibilité, il se sépare en deux phases qui sont alors en équilibre mutuel. Quant la concentration en B s'accroît, les compositions des phases à l'équilibre tendent l'une vers l'autre et se rejoignent au point critique (fig.2.16(a)).

Pour pouvoir « visualiser » l'effet de la température, sur la démixtion liquide-liquide (ou lacune de miscibilité), il faut faire appel à une représentation spatiale (fig.2.16(b)). Dans ce cas, les points critiques définis pour chaque température forment une ligne de températures critiques au-dessous de laquelle le mélange se sépare en deux phases.

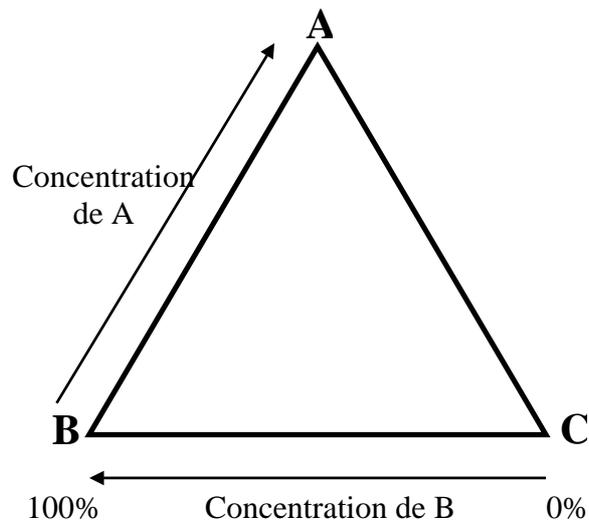


Figure 2.15 : Diagramme ternaire schématisé par un triangle équilatéral pour une température donnée.

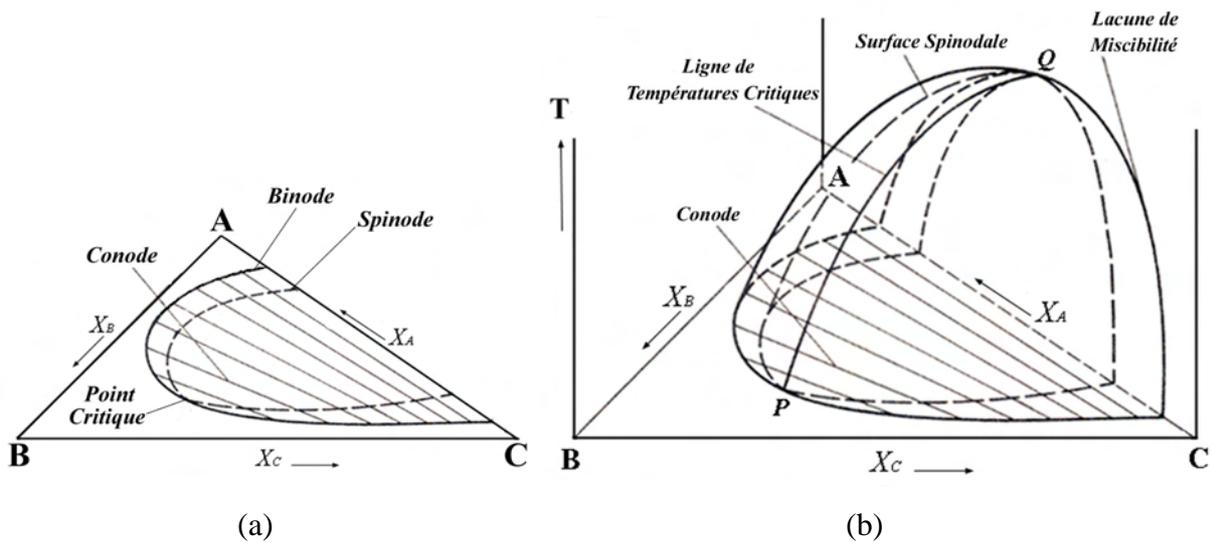


Figure 2.16 : (a) coupe isotherme d'un diagramme ternaire ; (b) Représentation en 3 dimensions d'un diagramme ternaire permettant la visualisation de l'effet de la température sur la lacune de miscibilité.

A partir des courbes isothermes d'enthalpie libre de mélange ($\Delta_{\text{mix}}G$) présentées précédemment, une discussion peut s'ouvrir sur le mécanisme de démixtion liquide-liquide que l'on décrit dans la partie suivante.

IV.3. Mécanismes de démixtion liquide-liquide

Pour la clarté du manuscrit, nous présentons uniquement les mécanismes de démixtion liquide-liquide dans le cas de système binaire. La discussion proposée ci-après repose sur une synthèse bibliographique large (LUPIS 1983 ; PERROT 1994 ; DRENTH and HAAS 1998 ; HILLERT 1998) et va porter sur les cas où la concentration moyenne (C_{moy}) de soluté en solution est dans un premier temps comprise entre la concentration (C_1) et la concentration au point spinodal (C_{sp1}) puis dans un deuxième temps comprise entre les points spinodaux C_{sp1} et C_{sp2} .

D'un point de vue géométrique les points spinodaux correspondent aux points d'inflexion de la courbe $\Delta_{mix}G(C)$, autrement dit ils séparent la courbe en deux parties, une partie concave et une partie convexe (fig.2.14(a)).

Premier Cas : $C_1 < C_{moy} < C_{sp1}$

Les conditions appliquées au système (fig.2.14(b)) sont telles que la solution est sursaturée par rapport à la phase cristalline et est dans une zone dite métastable qui correspond à la région concave de la figure 2.14(a).

Dans ce système thermodynamique tel qu'il a été décrit précédemment, il existe des fluctuations thermiques qui entraînent l'apparition locale de fluctuations de concentration. Ainsi, la concentration locale du système fluctue autour de C_{moy} comme une fonction sinusoïdale avec une amplitude plus ou moins importante, notée δC . Cette amplitude est déterminante pour l'apparition d'une démixtion liquide-liquide.

Dans le cas où les fluctuations de concentration seraient de faible amplitude dans la région concave de la courbe d'enthalpie libre, la figure 2.17(a) montre que ces fluctuations augmentent l'enthalpie libre du mélange de B à A, la solution ne se sépare pas en deux phases liquides puisque toute augmentation de $\Delta_{mix}G$ est défavorable. Les fluctuations apparaissent et disparaissent de façon continue sans provoquer la démixtion.

Lorsque les fluctuations de concentration sont assez importantes (fig.2.17(b)) pour amener la concentration $C_{moy} + \delta C$ à une concentration supérieure à C_{sp1} , ces fluctuations de grande amplitude vont abaisser localement l'enthalpie libre du système. Dans ces conditions, la séparation de phase liquide-liquide a lieu. Après démixtion liquide-liquide, lorsque l'équilibre thermodynamique est atteint, les deux phases liquides créées ont pour

concentrations C_1 et C_2 (fig.2.14(b)). Pour une température T et pour une concentration initiale en soluté, deux points appartenant à la binode viennent d'être définis.

En résumé, la région comprise entre la binode et la spinode est une zone où la solution est métastable par rapport à la démixtion liquide-liquide, cette démixtion procède par nucléation croissance.

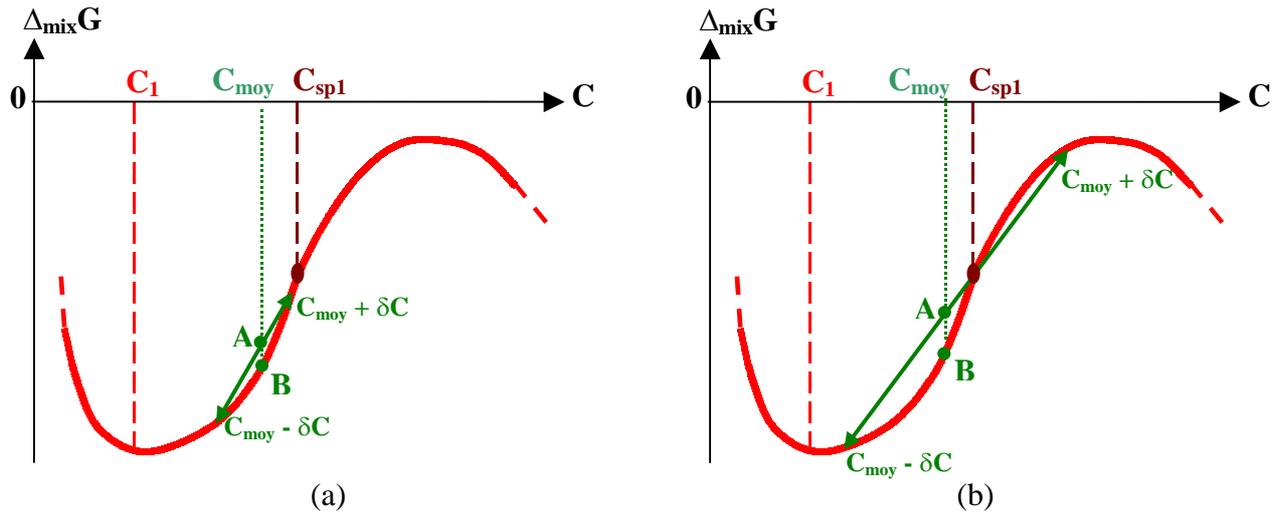


Figure 2.17 : (a) Représentation schématique de l'enthalpie libre de mélange pour un système point A avec fluctuations de concentration (δC) d'amplitude faible et point B sans fluctuation de concentration. (b) Enthalpie libre de mélange pour le même système où l'amplitude des fluctuations de concentration (δC) est grande.

- **Deuxième Cas :** $C_{sp1} < C_{moy} < C_{sp2}$

Dans ce cas (fig.2.18), la concentration moyenne de la solution est directement dans la partie convexe de la courbe isotherme d'enthalpie libre du mélange. Dans cette région, de faibles fluctuations de concentration abaissent l'énergie libre, la démixtion liquide-liquide est spontanée. On parle d'une zone de « démixtion spinodale » ou d'instabilité.

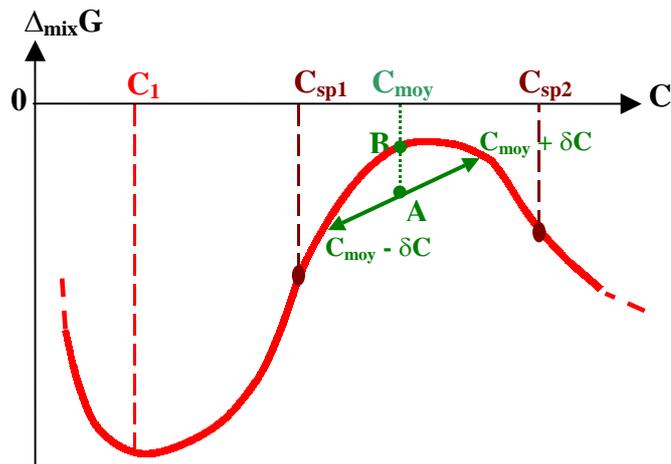


Figure 2.18 : Représentation schématique de la région convexe de l'enthalpie libre de mélange pour un système A avec fluctuations de faible amplitude et B sans fluctuation de concentration.

En résumé pour un système binaire, entre les points appartenant à la spinode (zone(2), fig.2.19), la thermodynamique définit une zone où la solution est instable par rapport à une petite fluctuation de concentration en soluté. La démixtion liquide-liquide s'effectue alors suivant un mécanisme dit de « démixtion spinodale ».

A l'extérieur des points spinodaux et à l'intérieur des points de la binode (zone(3), fig.2.19), la solution est stable par rapport à une petite fluctuation de concentration en soluté. Elle peut néanmoins être métastable, mais la démixtion liquide-liquide pour se développer nécessite alors la présence de germes créés localement par des fluctuations de concentration de grande amplitude. Le mécanisme est alors dit de « germination et de croissance ».

La probabilité de violer les conditions de stabilité et de former par conséquent une lacune de miscibilité dans un diagramme, augmente avec le nombre de composant du système (LUPIS 1983). Les mécanismes de démixtion liquide-liquide présentés ci-dessus dans le cas d'un système binaire, sont également valables dans le cas de système ternaire.

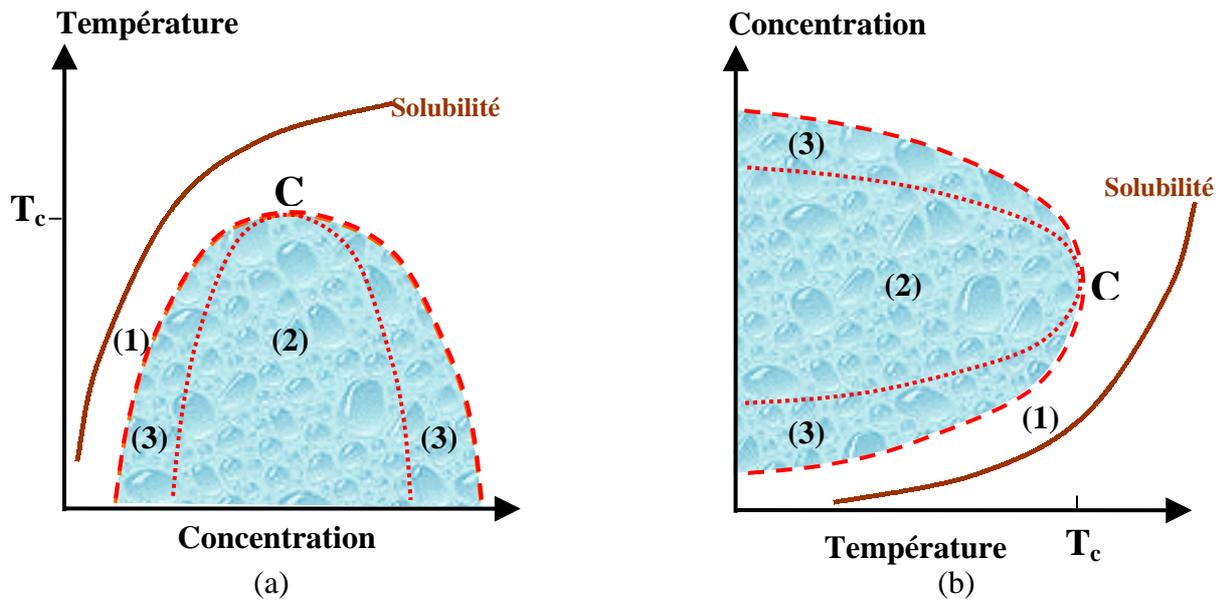


Figure 2.19 : Représentations d'une binode (- -) et d'une spinode (.....) dans un diagramme (a) température-concentration et (b) concentration-température. (1) *Solution Stable*, (2) *Décomposition Spinodale*, (3) *Germination et Croissance*.

IV.4. Influence de la démixtion de phase sur la cristallisation

Dans le cadre de systèmes colloïdaux, on rencontre dans la littérature des systèmes où la lacune de miscibilité est présente dans la zone métastable de la cristallisation (fig.2.20). Ce phénomène peut alors jouer un rôle important dans la cristallisation d'une phase.

Dans le cas d'un système à solubilité directe et sans lacune de miscibilité, la cristallisation de la solution de concentration connue n'a lieu que si la diminution de température de cette dernière permet de traverser la limite de zone métastable définie par la sursaturation critique du système où apparaissent les premiers germes de la phase à cristalliser.

Dans le cas où le système présente une lacune de miscibilité et que la température (T) de la solution est inférieure à la température critique (T_c), il apparaît une transition Liquide-Liquide. La solution de concentration C_x se sépare alors en deux solutions de concentration C_1 et C_2 définies sur la figure 2.20.

Lors de la transition Liquide-Liquide, dans le cas où $C_x < C_c$ (fig.2.20), ce sont des gouttes de la phase concentrée qui nucléent dans la phase diluée, la coalescence de ces dernières est facile (BROIDE, BERLAND et al. 1991). Dans le cas où $C_x = C_c$, deux domaines liés l'un à l'autre apparaissent. Enfin dans le cas où $C_x > C_c$, ce sont des gouttes de la phase diluée qui

nucléent dans la phase concentrée, la coalescence devient difficile à cause de la viscosité du milieu concentré (BROIDE, BERLAND et al. 1991).

Ainsi lors de la démixtion liquide-liquide, chaque phase liquide devient plus ou moins sursaturée par rapport à la phase à cristalliser et plus ou moins importante par rapport à la sursaturation critique, à la limite de la zone métastable.

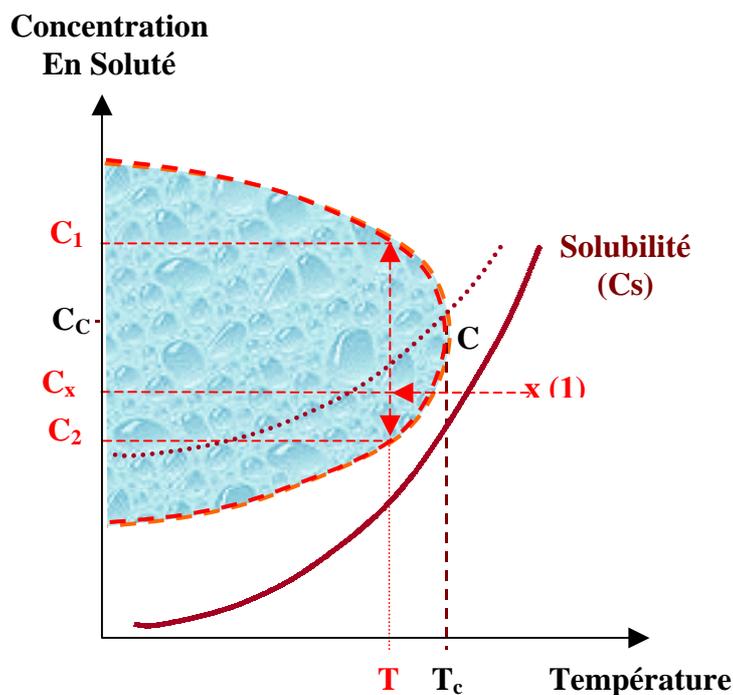


Figure 2.20 : Représentations générales d'une courbe de solubilité (—) avec la limite de zone métastable (.....) et la binode (- - -). Dans ce cas, on amène la solution (1) à $T < T_c$.

Wolde et Frenkel ont réalisé des simulations numériques (WOLDE and FRENKEL 1997 ; FRENKEL 1999) pour modéliser l'énergie libre d'activation ΔG^* de système binaire présentant une démixtion liquide-liquide. Leur modèle montre que l'énergie libre d'activation ΔG^* passe par un minimum pour $T=T_c$, les conditions de nucléation sont alors optimales. Ce résultat a permis de proposer une hypothèse selon laquelle pour améliorer la cristallisation d'une phase (protéine par exemple), la température de la solution devrait être proche de la température critique (T_c).

A l'extérieur de la zone de démixtion liquide-liquide, le mécanisme de cristallisation se déroule en une étape avec l'apparition du germe et la croissance de ce dernier. De nombreux chercheurs (HAAS and DRENTH 1999 ; ANDERSON and LEKKERKERKER 2002) proposent que la cristallisation dans la zone de démixtion liquide-liquide se déroule en deux

étapes. La première consiste à nucléer une goutte liquide métastable ensuite il y a germination d'un cristal dans la goutte puis croissance de ce dernier couvert par un film fin.

Haas et Drenth (HAAS and DRENTH 1998 ; HAAS and DRENTH 1999) décrivent avec un modèle à deux paramètres des diagrammes de phases de protéines dans l'eau possédant une zone de démixtion avec l'existence ou non d'un point triple qui correspond au point de concours de la binode et de la courbe de solubilité. L'existence de ce dernier dépend d'un rapport noté g_1/g_c définissant les interactions de la molécule de protéine dans le solvant sur celles dans le cristal.

Lorsque g_1/g_c est faible, il n'y a pas de point triple (fig.2.11(a)). En revanche au fur et à mesure que le rapport g_1/g_c augmente, la courbe de solubilité se rapproche de la binode jusqu'à former un point triple (fig.2.11(b)). La valeur de g_1 est relative au second coefficient de viriel qui traduit également la non-idéalité d'une solution.

De la même façon que pour un gaz, il existe dans le domaine des colloïdes et des protéines une faible correction de la relation de Van't Hoff relative à la pression osmotique (WOLDE and FRENKEL 1997. Cette correction (II.40) est définie par le second coefficient de viriel (BONNETE, MALFOIS et al. 1997) qui traduit les interactions en solution et par conséquent la non-idéalité de cette dernière.

$$\frac{\Pi}{cRT} = \frac{1}{M} + A_2c + A_3c^2 + \dots \quad (\text{II.40})$$

où Π est la pression osmotique, R est la constante des gaz d'une valeur de $8,31 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, c est la concentration en macromolécule (g/cm^3), M est sa masse molaire (Da), T est la température (K) et A_2 et A_3 sont respectivement le second et troisième coefficient de viriel. On trouve également dans la littérature le second coefficient de viriel défini par le terme B_2 qui est lié à A_2 par la relation suivante $A_2 = \frac{B_2 N_A}{M^2}$.

Le signe du second coefficient du viriel indique le type d'interactions en solution. Ainsi, si A_2 ou B_2 est négatif les interactions sont attractives et si A_2 est positif alors les interactions sont de type répulsif. En 1994, George et Wilson ont mis en évidence sur une vingtaine de solution de protéine une corrélation entre le second coefficient de viriel et le succès de la cristallisation (GEORGE and WILSON 1994). Ils ont ainsi remarqué que lors de la cristallisation le second

coefficient du viriel correspondait à un domaine restreint de valeurs négatives, qu'ils ont nommé le « crystallization slot ».

Cette corrélation est confirmée par les travaux de Malfois et al., ainsi que Rosenbaum et al., (MALFOIS, BONNETE et al. 1996 ; ROSENBAUM, ZAMORA et al. 1996) sur le comportement en solution de macromolécules biologiques. Les résultats obtenus montrent que si le coefficient de viriel est positif ($A_2 > 0$, les interactions sont de nature répulsives) la cristallisation est impossible. Dans le cas où ce coefficient est négatif ($A_2 < 0$, interactions en solution sont de nature attractives) les molécules ont alors tendance à former des germes, dans ces conditions la cristallisation est plus facile. En revanche, si le second coefficient de viriel est trop négatif, il peut conduire à la séparation de phase, la démixtion liquide-liquide (MALFOIS, BONNETE et al. 1996).

Guo et al., ont montré l'existence d'une corrélation (II.42) entre la solubilité et le second coefficient du viriel B_2 (GUO, KAO et al. 1999) dans l'étude de protéines

$$B_2 = \frac{-\Delta\mu_2}{RT} \cdot \frac{1}{2M_2S} - \frac{\ln S}{2M_2S} \quad (\text{II.41})$$

où M_2 est la masse molaire de la macromolécule (Da), S est sa solubilité, $\Delta\mu_2 = \mu_2^0(\text{soln}) - \mu_2(\text{xtal})$ est la différence entre le potentiel chimique standard de la solution et le potentiel chimique de la protéine dans le cristal, B_2 , R , et T ont précédemment été définis.

Ainsi le tracé de B_2 en fonction de S montre clairement une dépendance linéaire dans un domaine où la solubilité est modérée à forte. En revanche, il est évident que le tracé de B_2 en fonction de S est non linéaire dans le cas de solubilité faible. Ainsi, plus on se rapproche des faibles solubilités plus la valeur du coefficient de viriel devient négative et donc plus on se rapproche des conditions favorisant la démixtion liquide-liquide. Or, une solubilité qui diminue correspond à une solution de plus en plus diluée, la solution devrait théoriquement se rapprocher de l'idéalité, or, si on considère l'équation (II.41) c'est le phénomène inverse qui se produit. Par conséquent, une solution diluée peut être non idéale et présenter alors une démixtion liquide-liquide.

On peut alors faire un parallèle avec le partie I.1.2 de ce manuscrit et discuter de la validité de la relation de Van't Hoff définissant la courbe de solubilité dans une solution diluée où existerait une zone de démixtion liquide-liquide. La relation de Van't Hoff ne sera donc plus

linéaire dans ces conditions. Ainsi une rupture de pente lors du tracé de $\ln X = f(1/T)$ pourrait traduire la présence d'une zone de démixtion liquide-liquide dans le diagramme de phase.

D'un point de vue expérimental Muschol et Rosenberger (MUSCHOL and ROSENBERGER 1997) montrent que le fait de passer par une démixtion de phase puis de revenir dans un milieu monophasique, en augmentant la température, permet de réduire le temps de nucléation et donc d'améliorer la cristallisation. En effet, ils considèrent que dans la zone de démixtion, la nucléation est plus rapide parce que l'énergie libre ΔG est minimum ce qui est la conséquence d'une sursaturation élevée et d'une énergie interfaciale plus faible. Parfois les gouttes de phase concentrée peuvent se transformer avec le temps en un précipité amorphe (SERRANO, GALKIN et al. 2001).

Il existe en plus de la zone de démixtion liquide-liquide, une zone de gélification présente pour des concentrations élevées en soluté. La formation de gel y est irréversible empêchant alors la cristallisation (NORO, KERN et al. 1999).

Dans les travaux de Galkin et Vekilov (GALKIN and VEKILOV 2000), les auteurs ont observé que la fréquence de nucléation J en fonction de la température T passe par un maximum pour des températures supérieures à la température de transition Liquide-Liquide de 1 ou 2 °C. Les auteurs orientent la discussion de ce résultat (GALKIN and VEKILOV 2001) vers le concept de mouillage. En effet, autour de la binode le liquide mouille le germe cristallin, l'énergie de surface γ diminue et par conséquent ΔG diminue aussi mais il est difficile de comprendre pourquoi ce résultat n'est pas obtenu dans la zone de démixtion liquide-liquide.

IV.5. Caractérisation et modélisation de la démixtion liquide-liquide

IV.5.1. Techniques de caractérisation de la démixtion liquide-liquide

De nombreux auteurs (THOMSON, SCHURTENBERGER et al. 1987 ; GALKIN and VEKILOV 2000) dans le domaine des protéines ont utilisé la diffusion de la lumière comme technique de caractérisation de la démixtion liquide-liquide. En refroidissant une solution de protéine les auteurs observent à une concentration et température données un point trouble où l'intensité diffusée à 90° augmente fortement. Lorsque la température du point trouble (entrée dans la zone de démixtion) correspond à celle du point d'homogénéisation (sortie dans la

zone de démixtion) de la solution, les auteurs définissent cette température comme étant celle de la binode. L'estimation de la localisation de la spinode s'obtient par extrapolation du tracé de $I_{90^\circ}^{-1} = f(T)$ à $I_{90^\circ}^{-1} \rightarrow 0$, on définit alors la température de la spinode T_{spinode} .

Une autre méthode de caractérisation consiste à doser les phases liquides obtenues après démixtion liquide-liquide. Dans ce cas, le dosage permet d'obtenir les deux branches de la binode, à savoir les branches correspondantes à la phase diluée et concentrée.

IV.5.2. Modèle empirique pouvant définir la démixtion liquide-liquide

Une fois la binode caractérisée, il est possible de déterminer le point critique par modélisation. Pour cela, il suffit d'ajuster les points expérimentaux avec l'équation empirique suivante :

$$\left| \frac{C_c - C}{C_c} \right| = A \left(\frac{T_c - T}{T_c} \right)^\beta \quad (\text{II.42})$$

Où C_c = Concentration en soluté au point critique C (lieu de réunion de la binode et de la spinode) (fig.2.20)

C = Concentration en soluté

T_c = Température de la solution au point critique

T = Température de la solution

A = largeur de la binode

β = exposant issu du modèle Ising traduisant des interactions.

L'exposant issu du modèle Ising β peut prendre la valeur 0,5 (THOMSON, SCHURTENBERGER et al. 1987) ou 0,325 (BROIDE, BERLAND et al. 1991).

Il est à noter que ce modèle considère la binode avec une forme parabolique et symétrique (quand $\beta=0,5$) par rapport à la concentration critique C_c .

IV.5.3. Approche de la modélisation de la démixtion liquide-liquide par traitement thermodynamique

Considérons un système sous basses pressions composé de deux phases liquides notées, respectivement *I* et *II*. Comme les potentiels chimiques des deux espèces chimiques

sont écrits avec référence aux liquides purs, les conditions d'équilibre s'expriment simplement par l'égalité des activités :

$$\gamma_i^I \cdot x_i^I = \gamma_i^{II} \cdot x_i^{II} \quad (\text{II.43})$$

où γ est le coefficient d'activité et x est la composition en fraction molaire des composés i dans les phases I et II .

A l'équilibre thermodynamique, la somme des fractions molaires x_i est égale à l'unité dans chacune des phases. Si on connaît le nombre de moles totales de chacun des composés du système, il est alors possible de connaître la composition des divers composés dans chacune des phases, en utilisant un modèle pour calculer les coefficients d'activité en fonction de x_i à température et pressions données.

Le coefficient d'activité peut être calculé à partir de l'enthalpie libre d'excès de Gibbs, g^E , noté aussi dans la partie IV.2 $\Delta_{\text{mix}} G^{\text{XS}}$, par la relation :

$$RT \ln \gamma_i = g_i^E = \left(\frac{\partial n \cdot g^E}{\partial n_i} \right)_{T, P, n_i \neq n_j} \quad (\text{II.44})$$

On rappelle que l'enthalpie libre d'excès est définie comme la différence existant entre l'enthalpie libre de mélange de Gibbs et l'enthalpie libre de mélange de Gibbs dans le cas d'une solution idéale précédemment définie par la relation (II.39).

Il existe de nombreux modèles proposés pour évaluer g^E , mais les modèles les plus utilisés dans le calcul d'un équilibre liquide-liquide sont : le modèle NRTL pour Non Random Two Liquids (RENON and PRAUSNITZ 1968) et le modèle UNIFAC pour UNiversal Fonctional Activity Coefficient (FREDESLUND, GMEHLING et al. 1977).

Le modèle NRTL ne fait qu'ajuster des données binaires existantes et n'est pas utilisé pour prédire les coefficients d'activités. Ce modèle est particulièrement utilisé pour des systèmes contenant de l'eau. En revanche il est moins approprié aux mélanges avec de fortes différences de taille de molécule.

Le modèle UNIFAC est un modèle plus prédictif basé sur les contributions de groupes. Ce modèle calcule les coefficients d'activité à partir de la composition moléculaire des constituants dans le mélange. Les interactions entre molécules sont traitées comme la somme des interactions entre les groupes constituant les différentes molécules. La formule chimique

développée de chaque constituant doit être connue afin de décomposer ces derniers en différents groupements chimiques. Une fois la décomposition des molécules achevée, les coefficients d'activité peuvent être calculés.

V. CONCLUSION

L'objet de ce chapitre était donc de faire une revue des aspects théoriques et pratiques concernant la nucléation et les transitions de phases comme le polymorphisme ou la démixtion liquide-liquide.

Nous avons rappelé dans la première partie quelques notions élémentaires sur le système cristal-solution et, en premier lieu, les notions de solubilité et de sursaturation. Nous présentons également dans cette partie l'influence que peut avoir l'idéalité d'une solution sur les relations existantes entre la solubilité et la température, telle que la relation de Van't Hoff. La deuxième partie était consacrée à l'aspect fondamental et pratique de la nucléation avec deux approches distinctes mais néanmoins complémentaires que sont la thermodynamique et la cinétique.

La synthèse bibliographique de la troisième partie consacrée au polymorphisme, nous a permis de mettre en évidence la difficulté d'obtenir une phase cristalline la plus stable en suspension et les conséquences que cela pouvait entraîner notamment dans le domaine pharmaceutique.

Enfin, le lecteur a pu se rendre compte de la complexité des diagrammes de phases de certains systèmes avec l'apparition d'une démixtion liquide-liquide qui a une influence sur les cinétiques de cristallisation ainsi que sur la courbe de solubilité. La présentation de ce phénomène et des modèles empiriques et thermodynamiques existants pour traiter cet équilibre liquide-liquide demeurerait importante, nous retrouverons, en effet, cette transition de phase plus tard dans cette étude. A notre connaissance ce phénomène est nouveau et original dans l'étude de la cristallisation de molécules pharmaceutiques.

Chapitre III

MATERIELS ET METHODES

L'ignorance coûte plus cher que les matériels.

Alexandre Ribeau

Extrait de Revue EPI

La réalisation de ce travail a nécessité la manipulation de 2 molécules d'intérêt pharmaceutique. Ce chapitre débute donc par une présentation de ces molécules. Puis, le lecteur trouvera les méthodes utilisées dans cette étude pour caractériser les molécules cristallisées et les résultats obtenus. La deuxième partie de ce chapitre décrit les méthodologies à la fois différentes et complémentaires utilisées pour déterminer le diagramme de phases de chaque molécule. La dernière partie est consacrée à la présentation du dispositif expérimental permettant l'étude de la démixtion liquide-liquide et de la cristallisation en milieu agité.

I. CARACTERISTIQUES GENERALES DES MOLECULES

Dans un premier temps, la faible quantité de produit disponible au début de ce travail nous a conduit à utiliser de petits volumes de travail (20µl à 2ml). Le CRMC2 possédant une certaine expérience dans le domaine des protéines (molécules difficiles à cristalliser et disponibles en très faible quantité de l'ordre de la centaine de mg), nous souhaitons transposer les diverses techniques et méthodologies utilisées dans le domaine des protéines à l'étude des molécules pharmaceutiques. Nous nous sommes servis d'une première molécule, le SR 28043 pour se familiariser et mettre au point ces techniques. La deuxième molécule, le SR 142801 a servi de molécule modèle pour l'étude et la compréhension des molécules difficiles à cristalliser.

I.1. Présentation des molécules étudiées

I.1.1. La molécule SR 28043

La molécule SR 28043 (fig.3.1) est le *2-n-butyl-3-(4-hydroxybenzoyl)5-nitro benzofurane* de formule $C_{19}H_{17}NO_5$, elle est utilisée comme intermédiaire de synthèse dans le procédé de synthèse du principe actif la Dronedarone (SR 33589B), il s'agit d'une base. Cette molécule de masse molaire 339,4 g/mol se présente sous forme de poudre et cristallise dans un solvant organique, le monochlorobenzène.

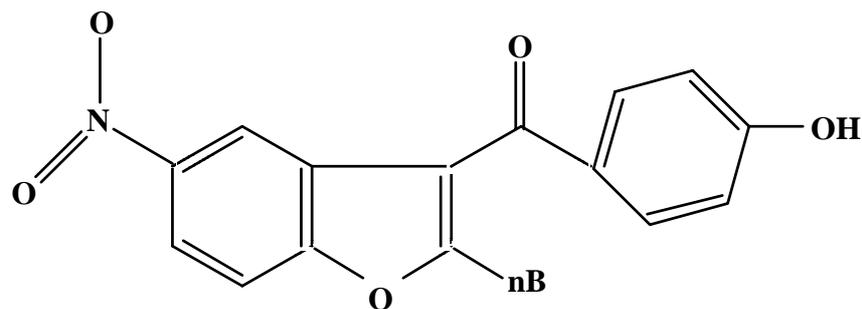


Figure 3.1 : Formule développée du 2-*n*-butyl-3-(4-hydroxybenzoyl)-5-nitro benzofurane, le SR 28043.

I.1.2. La molécule SR 142801

La molécule SR 142801 (fig.3.2) est utilisée dans le cadre d'une activité pharmacologique, comme produit pharmaceutique actif en développement en tant qu'antagoniste des récepteurs NK3 (récepteurs à la Neurokinine). L'utilisation de cette molécule est prévue dans le traitement de la schizophrénie. Ce principe actif est le (*R*)-(*N*)-[1-[3-[1-benzoyl-3-(3,4-dichlorophenyl) piperidin-3-yl] propyl]-4-phenylpiperidin-4-yl]-*N*-methylacetamide de formule brute $C_{35}H_{41}Cl_2N_3O_2$ et de masse molaire 606,6 g/mol. Cette molécule cristallise sous deux formes solides distinctes (deux polymorphes).

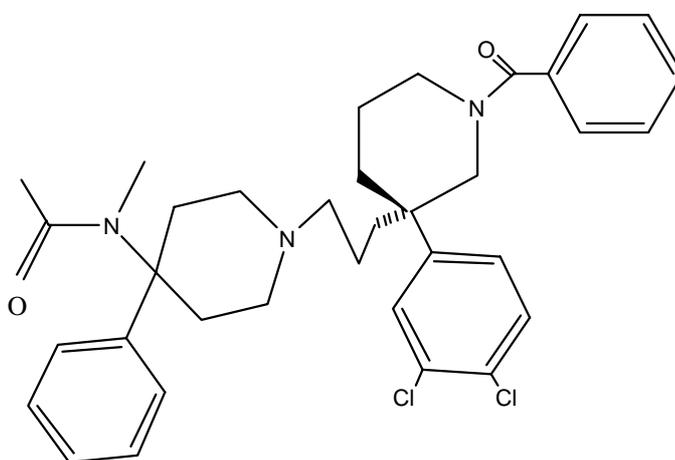


Figure 3.2 : Formule développée du SR 142801.

I.2. Caractérisations des molécules cristallisées

Ces molécules pharmaceutiques peuvent cristalliser une seule forme solide (cas du SR 28043) ou plusieurs formes solides (cas du SR 142801). Il est alors important de pouvoir les distinguer, les identifier. Pour cela nous utilisons trois techniques la diffraction des rayons X, la microscopie électronique à balayage (M.E.B), non destructives pour le solide et l'analyse thermique (DSC), méthode destructive.

I.2.1. Présentation des techniques de caractérisation

- *Diffraction des rayons X*

Les techniques de diffraction des rayons X s'appliquent soit aux poudres cristallines, soit aux monocristaux. La méthode des poudres fournit en quelque sorte la carte d'identité du cristal alors que la méthode nécessitant des monocristaux permet la résolution structurale : groupe d'espace, position et conformation de la molécule dans la maille.

Dans une poudre les cristaux sont en principe parfaitement désorientés, tous les plans réticulaires diffractent. Les faisceaux diffractés sont recueillis soit sur des films photographiques, soit à l'aide de compteurs électroniques linéaires ou courbes. Dans ce derniers cas, un calculateur analyse directement les données et fournit en quelques minutes soit les angles de diffraction, soit les distances inter-réticulaires entre plans équivalents. De façon pratique, le diffractogramme, ou cliché de poudre selon l'ancienne terminologie, se présente comme un enregistrement continu où, à partir d'une ligne de base, émergent un certain nombre de pics. Ces pics sont d'autant plus nombreux que la symétrie du cristal est plus faible. Chacun de ces pics a une intensité caractéristique, du moins pour les plus intenses, mais l'orientation préférentielle que peuvent prendre les cristaux à cause de leur morphologie, peut induire des variations d'intensité très importantes. Chaque phase ou polymorphe a son diffractogramme propre. Ces pics de diffraction sont caractéristiques de la variété cristalline analysée.

Durant cette étude nous avons utilisé un diffractomètre de type Debye Scherrer, comprenant un générateur de rayons X à anode de cuivre ($\lambda=1,54 \text{ \AA}$), un monochromateur de quartz courbe, un collimateur et un détecteur courbe Inel à ionisation de gaz. On rappelle que dans cette technique les cristaux sous forme de poudre fine sont introduits dans un capillaire en verre de Lindemann de 0,5 mm de diamètre. Toutes les réflexions sont enregistrées

simultanément et en continu durant 20 minutes. Les diffractogrammes sont ensuite traités par le logiciel WinInel qui rassemble sur un diagramme une suite de pics dont les positions et les intensités sont caractéristiques du cristal étudié.

- *Microscopie électronique à balayage*

La microscopie électronique à balayage (M.E.B) permet d'observer l'aspect extérieur ou faciès des cristaux ainsi que leur état de surface précis. Dans le cadre de ce travail, nous utilisons un microscope électronique à balayage à effet de champs (JEOL 6320F) pouvant grossir une image jusqu'à 650000 fois. Ce microscope, disponible au CRMC2, permet de travailler si nécessaire à basse tension, 1 à 4 kV au lieu de 15 kV habituellement afin d'éviter de charger la surface des cristaux et de les dégrader. Dans le cas de cristaux non conducteurs de l'électricité comme des cristaux organiques, l'observation peut être précédée d'une métallisation des surfaces afin d'évacuer les charges électroniques produites par le canon à électrons du microscope.

- *Analyse enthalpique différentielle*

L'analyse enthalpique différentielle est plus généralement connue par son sigle anglais DSC (Differential Scanning Calorimetry). Cette méthode permet d'observer les événements thermodynamiques qui surviennent au sein d'un échantillon soumis à un gradient de température ou à une période isotherme pendant un temps donné. Les mesures sont effectuées par rapport à une référence qui ne subit aucune transformation.

En pratique, l'échantillon à analyser (quelques milligrammes) est introduit dans une petite capsule d'aluminium (creuset) de quelques dizaines de micro litres sur laquelle on sertit ou non, suivant les cas, un petit couvercle, percé ou non. La référence est une capsule identique mais vide. Les deux capsules sont introduites dans un four dont l'élévation de température est programmée, selon la cinétique désirée, de 0,5 à 10°C/min le plus souvent. Chaque capsule, indépendamment du chauffage du four, a une source de chauffage distincte. Si l'une des deux capsules se refroidit, il y a compensation immédiate de la différence de température par apport de calories à la capsule la plus froide. On analyse alors la différence de température entre les deux capsules ainsi que l'échange énergétique en fonction de la température par unité de temps nécessaire à la compensation. Cet apport d'énergie calorifique est quantifiable.

S'il ne se passe rien, il n'y a pas de différence entre les deux capsules et l'enregistrement donne un tracé plat. Si le produit fond, il consomme de l'énergie. L'évènement étant

endothermique, on observe un pic endothermique sur l'enregistrement. Il en est de même lors de transitions polymorphiques ou lors de désolvatations. Une recristallisation qui, par contre, dégage de l'énergie, se manifestera par un exotherme. L'analyse enthalpique différentielle permet de repérer les températures auxquelles surviennent les différents évènements et de quantifier leur intensité énergétique. Dans la figure 3.3, on peut voir un thermogramme illustrant ces données il s'agit du lactose α -monohydraté qui se désolvate vers 40°C pour donner une forme α dite instable (BOISTELLE, KLEIN et al., 1996). Celle ci se transforme en forme α stable fondant vers 210°C.

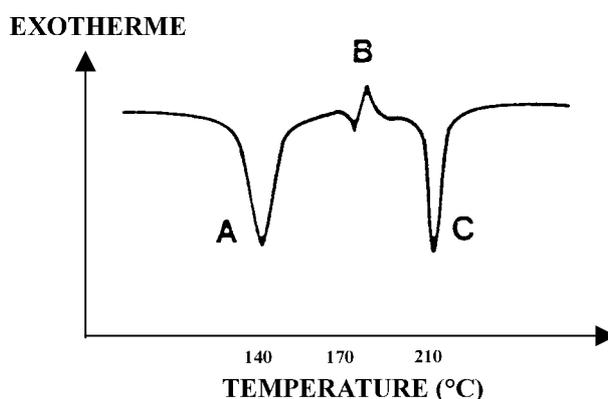


Figure 3.3 : Exemple de thermogramme obtenu en analyse thermique différentielle dans le cas du Lactose α -monohydraté avec endotherme de désolvatation (A), transition polymorphique de la forme α instable à la forme α stable (B), et endotherme de fusion de la forme α stable (C) d'après (BOISTELLE, KLEIN et al., 1996).

Cette méthode permet aussi de déterminer la pureté des produits puisque l'incertitude des mesures dépend de la pureté des échantillons. Cette incertitude est de l'ordre de 0,5°C sur les températures et d'environ 10 % sur les enthalpies.

I.2.2. Résultats des caractérisations

- *Diffraction des rayons X*

Le diffractogramme (fig.3.4) obtenu pour l'échantillon SR 28043, montre la présence d'une phase cristalline.

Au cours de la caractérisation aux rayons X de l'ensemble des lots de SR 142801 fournis par sanofi-synthélabo, on a pu identifier l'existence de deux diffractogrammes différents correspondant à deux formes polymorphiques du SR 142801. (fig.3.5)

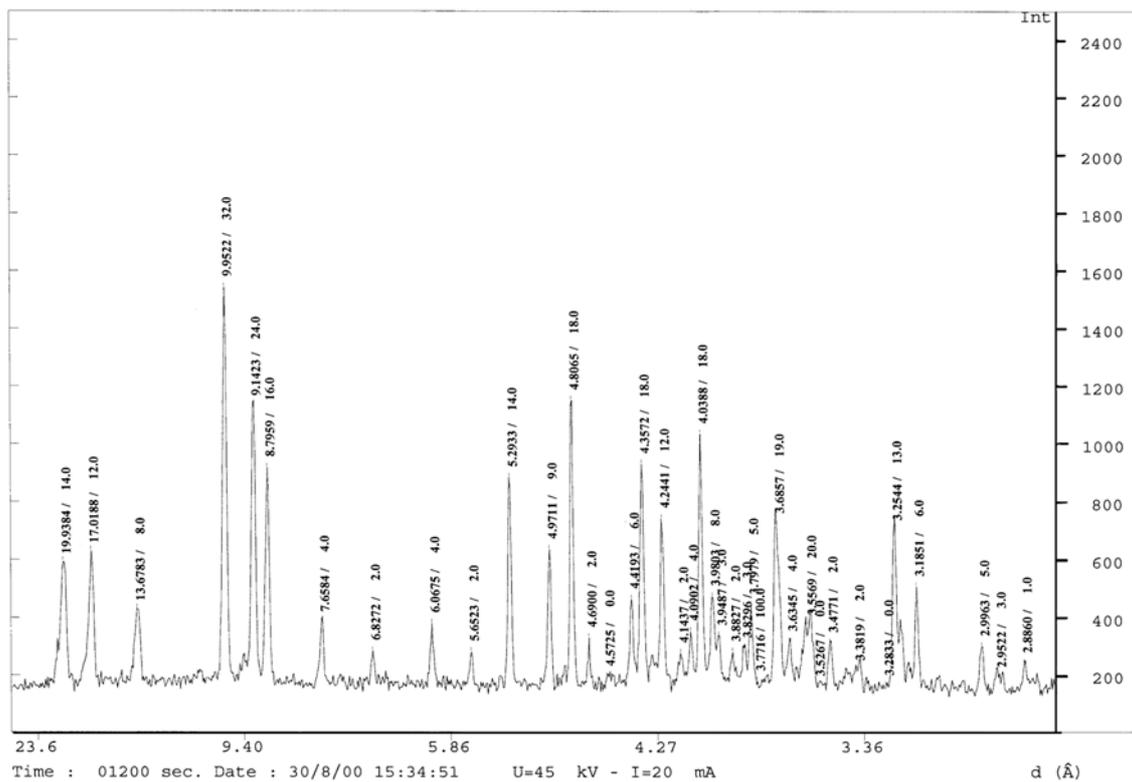


Figure 3.4 : Diffractogramme du SR 28043.

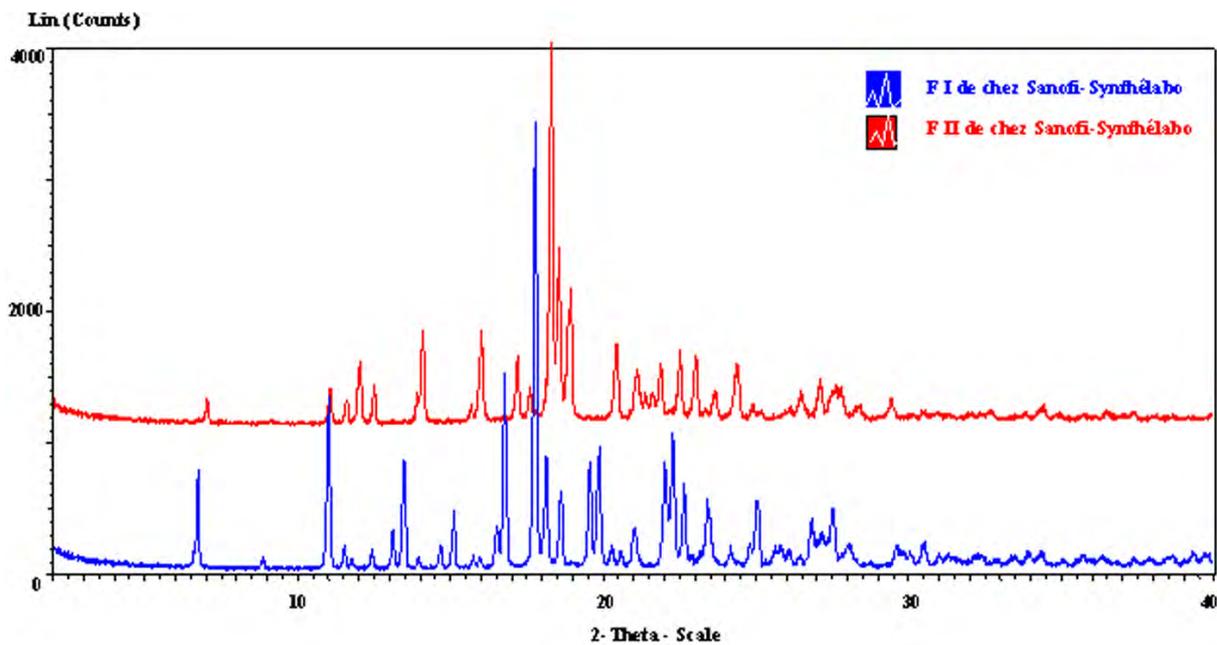


Figure 3.5 : Superposition des diffractogrammes des formes F_I et F_{II} du SR 142801.

- *Microscopie électronique à balayage*

Les photos (fig.3.6) et (fig.3.7) montrent respectivement le faciès des cristaux du SR 28043 et du SR 142801. Ces photos donnent également une première information sur la taille de ces derniers issus des lots fournis par Sanofi-Synthélabo.

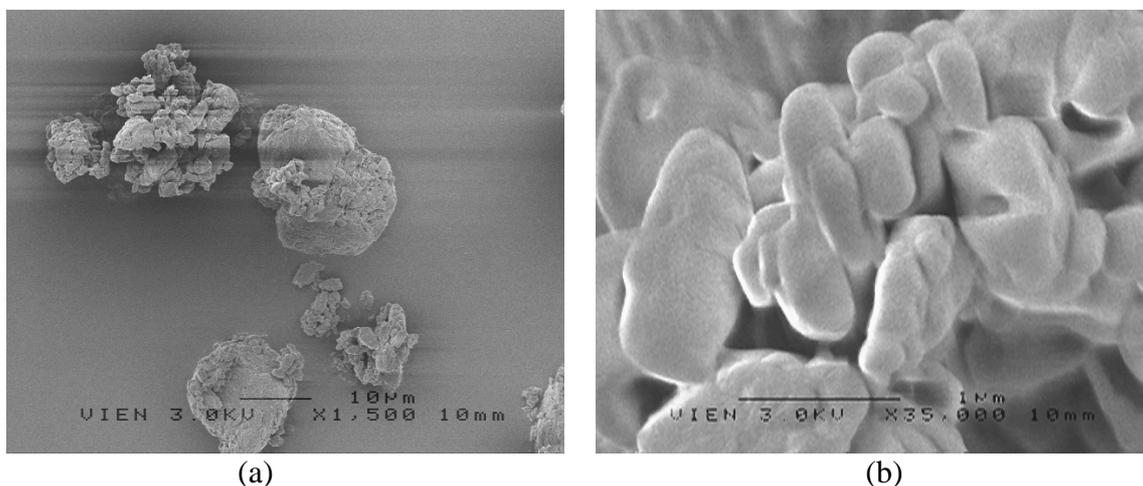


Figure 3.6 : Images MEB (Haute Résolution) du SR 28043. (a) grossissement x1500 et (b) grossissement x35000.

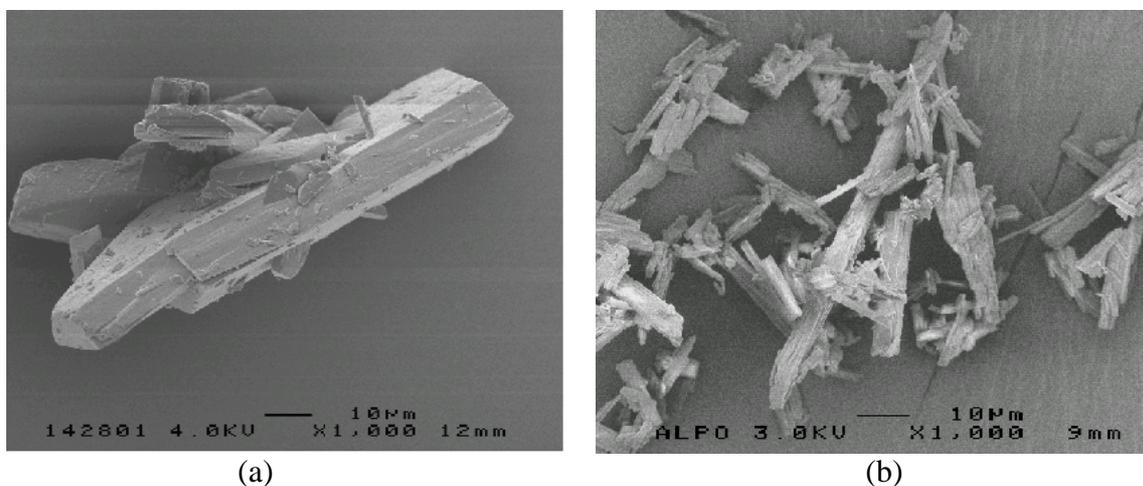


Figure 3.7 : Images MEB (Haute Résolution) des polymorphes I (a) et II (b) du SR 142801.

On observe lors de la caractérisation des cristaux du SR 28043, figure 3.6(a), des agglomérats d'environ 10 μm constitués de petits cristallites, figure 3.6(b), d'une taille d'environ 1μm.

Pour les deux polymorphes du SR 142801 les cristaux sont agglomérés mais présentent chacun un faciès différent ainsi que des tailles différentes. En effet, la forme I

(fig.3.7(a)) possède un faciès tabulaire (plaquette) avec des cristaux d'une taille d'environ 60 μm alors que la forme II (fig.3.7(b)) a un faciès aciculaire (aiguille) avec des cristaux beaucoup plus petits de l'ordre d'une dizaine de microns. La taille et faciès différents de ces deux polymorphes permettront une meilleure identification lorsqu'ils seront en suspension.

- *Analyse enthalpique différentielle*

Nous avons analysé séparément dans un premier temps les formes I et II du SR 142801 avec la DSC Mettler-Toledo 821^e au sein du laboratoire de physico-chimie des procédés de Sanofi-Synthélabo Aramon. Nous avons programmé une rampe de température lente, 0,5°C/min, de façon à être précis sur la valeur de la température de fusion et de l'enthalpie de fusion. Les valeurs présentées dans le tableau III.1 sont issues d'une lecture du thermogramme (fig.3.8). Les polymorphes I et II du SR 142801 ont donc des températures et des enthalpies de fusion proches, il n'y a respectivement que 1,5°C et 3,6 J/g de différence entre les deux formes.

Tableau III.1 : Température et enthalpie de fusion des deux polymorphes du SR 142801.

Molécule	Forme	Température de fusion,	Enthalpie de fusion,
		T_{fus} °C	$\Delta_{\text{fus}}H$ J/g
SR 142801	I	140,4	72,4
	II	138,9	68,8

Dans un deuxième temps nous avons regardé l'influence de la masse du creuset (de la poudre analysée) sur les températures de fusion des formes I et II ainsi que sur leur enthalpie de fusion. Les thermogrammes obtenus sont présentés en annexe 3.1. Ils montrent que la masse du creuset a une influence négligeable, de l'ordre de 0,1% sur les températures de fusion des deux formes mais aussi sur les enthalpies de fusion, avec environ 4% de différence.

Nous avons également essayé de recristalliser les formes I et II (fig.3.9) par refroidissement jusqu'à température ambiante mais la deuxième montée en température jusqu'à 160°C n'a révélé aucun pic endothermique. Il n'y a donc pas eu de fusion parce qu'il n'y a pas eu de recristallisation d'au moins une des deux formes. Ce premier résultat, nous montre au combien ce principe actif est difficile à cristalliser.

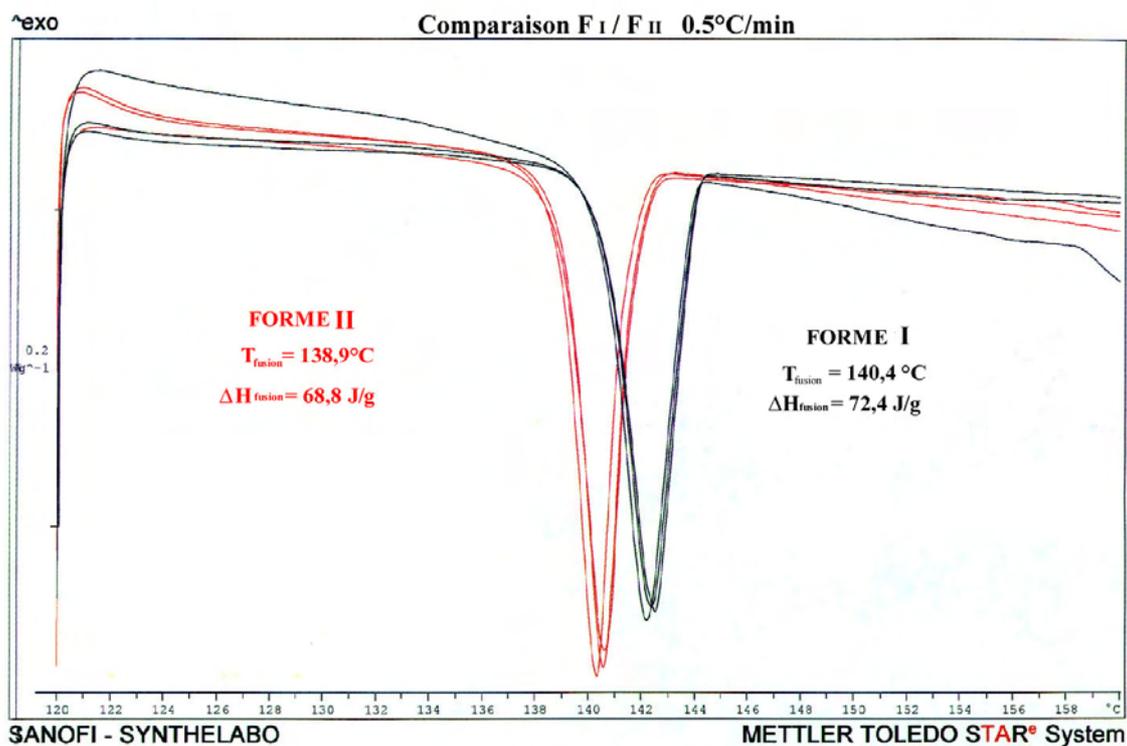


Figure 3.8 : Superposition des thermogrammes des formes I et II du SR 142801 obtenus avec une même rampe de température de 0,5°C/min.

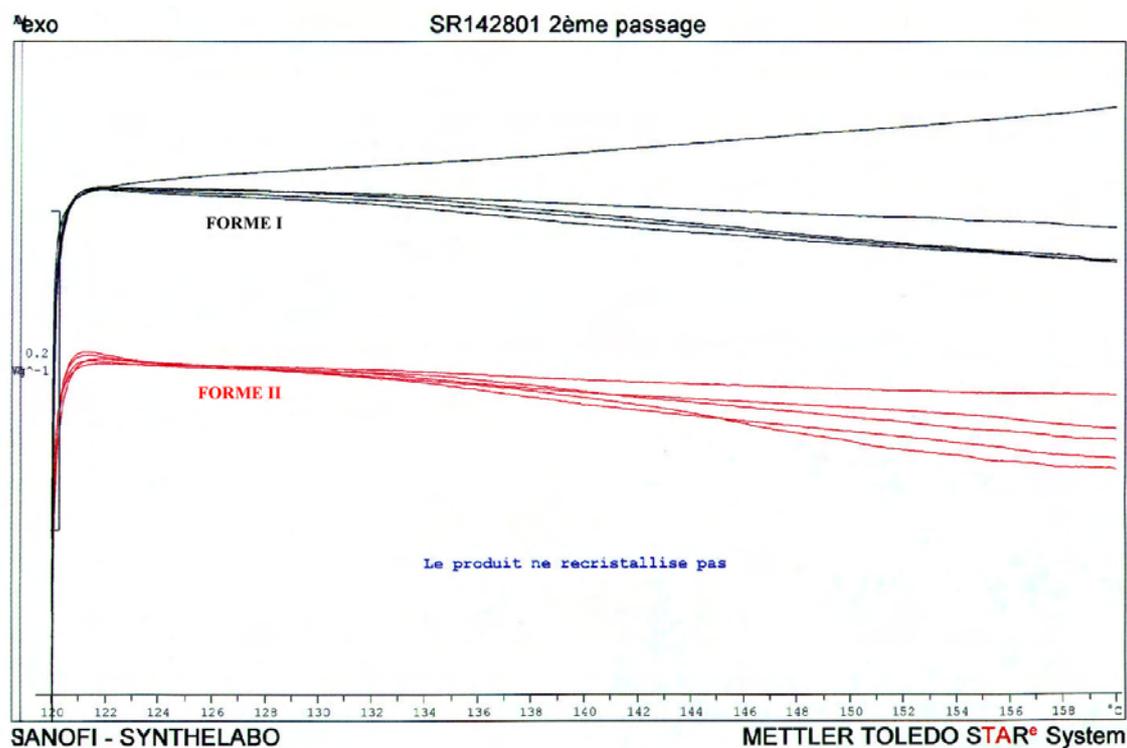


Figure 3.9 : Superposition des thermogrammes des formes I et II lors d'une deuxième montée en température et précédée d'un refroidissement à la température ambiante.

Conclusion partielle :

Les techniques de diffraction de rayons X et d'analyse enthalpique différentielle ont révélé et identifié la présence de deux polymorphes dans le cas du SR 142801. Les poudres de ces derniers ont été caractérisées par microscopie électronique à balayage, leur taille et faciès différents permettront une meilleure identification lorsqu'elles seront en suspension.

II. DETERMINATION DES DIAGRAMMES DE PHASES

La connaissance du diagramme de phases, et par conséquent celle de la courbe de solubilité, est primordiale dans l'étude de la cristallisation d'un composé à partir de sa solution. En effet, elle permet d'avoir accès à la sursaturation qui est un des paramètres important dans l'étude des cinétiques de nucléation et de croissance. Nous présenterons dans un premier temps, les deux méthodes que nous avons utilisées pour déterminer la solubilité des composés étudiés. Puis nous montrerons les techniques mises en oeuvre pour caractériser, lorsque cela est nécessaire, la zone de démixtion liquide-liquide définie dans le chapitre précédent.

II.1. Solubilité

La courbe de solubilité d'un principe actif sous forme solide peut être déterminée suivant plusieurs méthodes. Dans ce travail nous avons choisi deux méthodes de mesure nécessitant deux types d'appareillages différents. La première consiste à mesurer la solubilité par dissolution d'une poudre en suspension dans un milieu agité. La seconde méthode détermine de façon précise la température d'équilibre d'un monocristal au cours du temps par observation au microscope optique inverse de son comportement en solution.

II.1.1. Milieu Agité

Cette méthode consiste à déterminer une concentration d'équilibre à une température donnée par dissolution d'une poudre mise en suspension dans un milieu agité.

Pour cela, on met en suspension une masse connue de poudre dont on veut déterminer la solubilité dans une cellule thermostatée contenant 20 ml de solvant sous agitation: la pesée de la poudre est précise à 10^{-4} g. On ajoute cette dernière jusqu'à ce que ce qu'elle ne se dissolvent plus en solution, on a alors atteint pour une température donnée la solubilité du

produit. Pour vérifier que la température obtenue correspond réellement à l'équilibre et non à un équilibre apparent dû à la présence d'impuretés dans la solution, la température de la solution est augmentée de $0,1^{\circ}\text{C}$. Si le peu de cristaux restés en suspension se dissolvent, cela signifie donc que la solution précédente était réellement à l'équilibre.

On recommence ensuite la même opération sur une plage de température définie, les mesures obtenues permettent de tracer une courbe de solubilité dans un diagramme concentration en soluté en fonction de la température. Durant les différentes mesures de solubilité d'une forme cristalline, la cellule contenant la solution, est hermétiquement fermée afin d'éviter toute évaporation du solvant. La température de la solution est contrôlée à l'aide d'une sonde (Pt 100) et est régulée par un bain thermostaté (Julabo F25). L'agitation est assurée par un barreau magnétique (fig.3.10).

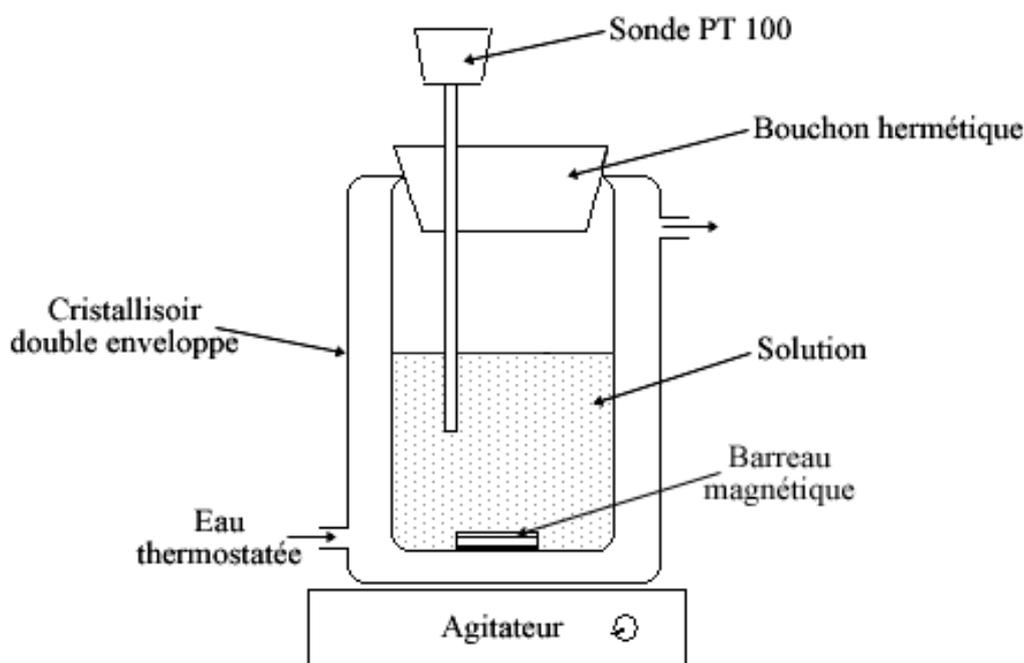


Figure 3.10 : Appareillage permettant la mesure de la solubilité en milieu agité.

II.1.2. Milieu Stagnant

Cette méthode consiste à rechercher la température d'équilibre d'un monocristal dans une solution de concentration donnée. On atteint cette température d'équilibre, lorsque le cristal introduit, n'est ni en croissance ni en dissolution.

Pour cela, on prépare une solution (soluté dissous dans solvant) de concentration connue dans une cellule hermétique de petit volume (2 ml). Cette dernière est ensuite placée

sur une platine à effet Peltier (fig.3.11(a)) permettant de réguler, via un boîtier de commande, la température de la solution à $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. L'introduction dans la solution d'un monocristal de la phase dont on veut déterminer la solubilité, permet de rechercher la température pour laquelle le cristal est ni en croissance (T_{croiss}) (fig.3.12(a)) ni en dissolution (T_{disso}) (fig.3.12(b)), il s'agit de la température d'équilibre ($T_e = \frac{T_{\text{croiss}} + T_{\text{disso}}}{2}$) obtenue par la méthode « Bracketing » (BECKMANN, BOISTELLE et al., 1984; BECKMANN, 2000). L'observation du comportement du cristal se fait à l'aide d'un microscope optique inverse (Nikon TE-300) (fig.3.11(b)) avec des grossissements de x4 et x10. Les images du comportement en solution des cristaux peuvent être enregistrées sur un ordinateur grâce au logiciel Microvision via une caméra CCD. Pour s'assurer que la température obtenue correspond réellement à l'équilibre et non à un équilibre apparent dû à un empoisonnement des faces du cristal par des impuretés, la solution est portée à une température plus haute. Si la dissolution du cristal « redémarre », cela signifie donc que les faces du cristal ne sont pas empoisonnées. Ainsi, connaissant la concentration de soluté en solution et la température d'équilibre, il est possible de tracer la courbe de solubilité de la forme cristalline étudiée. Cette méthode a été utilisée pour vérifier les points des courbes de solubilité obtenues par la méthode de pesée (cf.II.1.1).

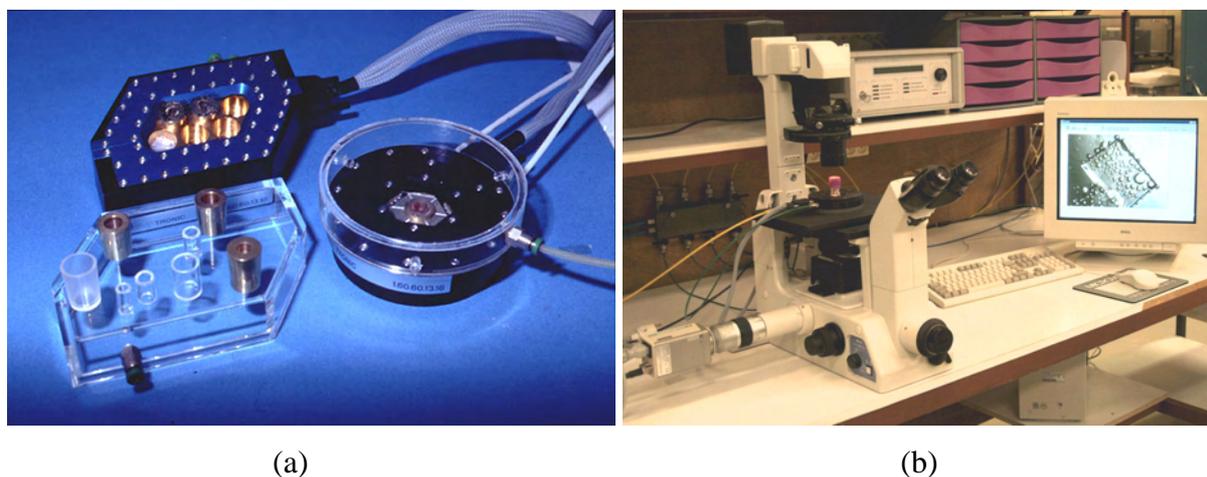


Figure 3.11: (a) Platine à effet Peltier ; (b) Microscope optique inverse avec une acquisition d'images gérée par informatique.

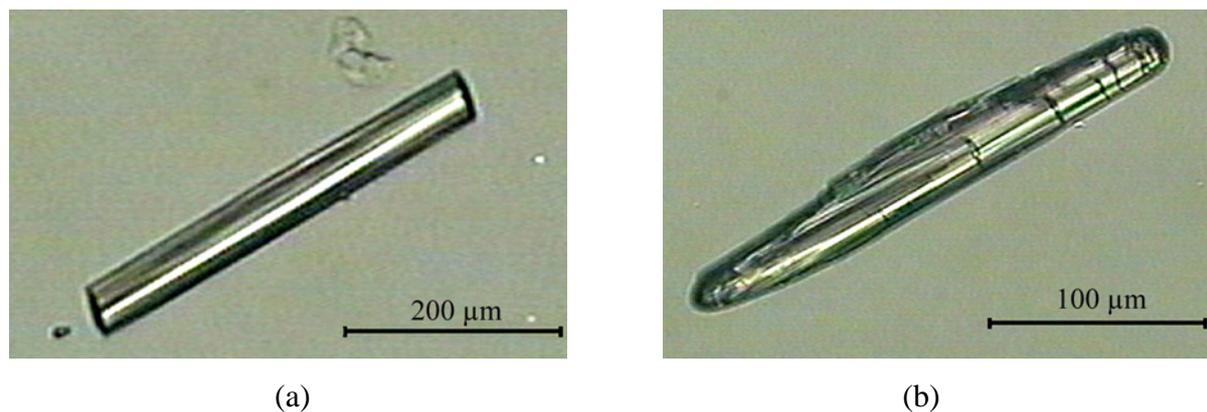


Figure 3.12 : Observation au microscope optique inverse du comportement d'un cristal de SR 28043 dans une solution d'éthanol, (a) cristal en croissance et (b) cristal en dissolution.

II.2. Démixtion liquide-liquide

Dans ce travail, la démixtion liquide-liquide a été caractérisée, observée par trois techniques décrites ci-dessous : visualisation optique, diffusion de la lumière et dosage (HPLC et Karl-Fisher).

II.2.1. Visualisation optique

Voir figure 3.11(b) et partie II.1.2.

II.2.2. Diffusion de la lumière

Lorsqu'un faisceau de lumière est envoyé au travers d'un liquide, la majeure partie de la lumière traverse directement ce milieu mais une faible partie se trouve diffusée. La lumière est diffusée par une molécule en solution si celle-ci a une polarisabilité différente de celle du solvant. Dans ce cas, le moment dipolaire oscillant induit par le champ électrique du faisceau de lumière incident est renvoyé dans toutes les directions de l'espace.

L'intensité de la lumière diffusée est fonction de la direction de polarisation de la lumière incidente, de l'angle de diffusion, et des paramètres de la solution (indice de réfraction, viscosité, concentration, température). Ainsi, l'opacification d'une solution créée par exemple par une démixtion liquide-liquide, peut être mise en évidence par l'augmentation de l'intensité diffusée. Le signal recueilli à 90° de la source permet ainsi de définir la binode.

Le dispositif expérimental de diffusion de la lumière utilisé est schématisé dans la figure 3.13 photographié dans la figure 3.14.

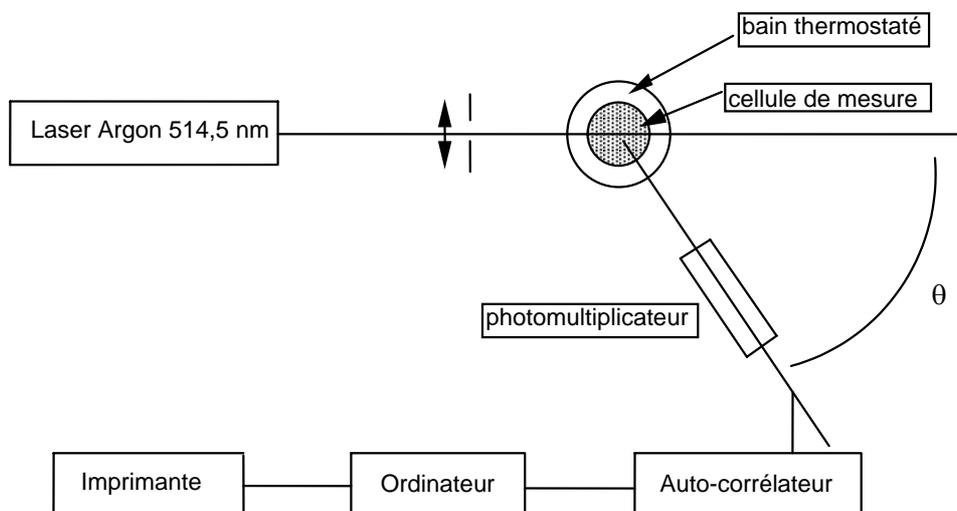


Figure 3.13 : Schéma du montage expérimental de la diffusion de la lumière.



Figure 3.14 : Photographie du montage expérimental de la diffusion de la lumière.

Le faisceau lumineux, d'une longueur d'onde de 514,5 nm, est produit par un laser à argon ionisé polarisé verticalement (modèle 2017 de Spectra Physics) dont la puissance peut varier entre 0 et 2W. Une lentille fait converger le faisceau sur l'axe de la cellule contenant la solution à étudier.

Cette cellule en verre (fig.3.15) de 12mm de diamètre, à fond plat, contenant au minimum 250 μ l de solution est elle-même placée dans une enceinte thermostatée contenant du méta-xylène, qui sert à la fois de liquide de thermalisation et de liquide adaptateur d'indice pour diminuer les réflexions parasites sur les parois de la cellule. Le méta-xylène a été choisi parce qu'il possède le même indice de réfraction que le verre, un point de fusion faible (-48°C) et un point d'ébullition élevé (138°C), ce qui permet de travailler sur une large plage de température. La régulation en température est assurée par un bain thermostaté.

La lumière diffusée est focalisée sur un photomultiplicateur amovible autour de l'axe de la cellule contenant la solution. L'information recueillie par le spectrogoniomètre (SEM 633 de Sematech) est transmise au système informatique.

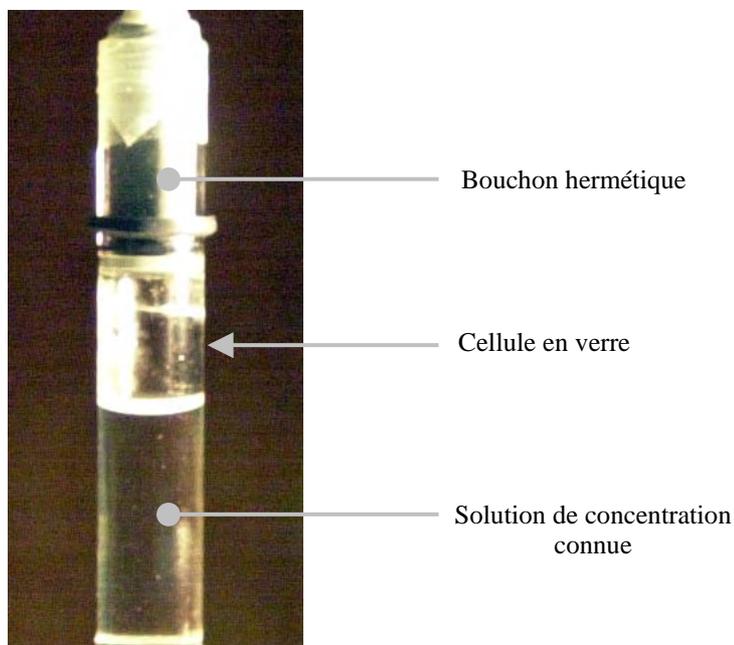


Figure 3.15 : Cellule en verre utilisée dans le cadre d'expériences de diffusion de la lumière.

Avant de commencer toute manipulation en diffusion de la lumière, il est important de s'assurer que le montage est bien aligné. Cette opération délicate consiste à vérifier que le faisceau laser traverse la cellule de mesure par son centre et que la rotation du détecteur autour de la cellule se fait autour d'un point fixe, le centre de la cellule.

II.2.3. Analyses par dosage

Une fois que les deux phases liquides se séparent, le milieu de cristallisation change. Ainsi pour un système binaire, le dosage du composé à cristalliser (principe actif) dans chaque

phase liquide obtenue après démixtion, permet de connaître la sursaturation établie dans les deux nouveaux milieux de cristallisation. Ce dosage permet également de construire la binode (courbe d'équilibre thermodynamique des deux phases liquides). L'obtention de la sursaturation est plus complexe dans le cas de système ternaire où le principe actif est dissout dans un mélange de solvants. Dans ce cas, il devient indispensable de doser le principe actif et un des deux solvants pour connaître la sursaturation du milieu. Les compositions en principe actif et en eau (lorsqu'il s'agit d'un des deux solvants) sont alors respectivement mesurées par HPLC et par la méthode Karl-Fischer, puis sont exprimées en pourcentage massique.

II.2.3.1 Dosage par Chromatographie Liquide Haute Performance

Dans ce travail, les dosages ont été réalisés avec une Chromatographie Liquide Haute Performance ou HPLC (annexe 3.2) de marque HEWLETT PACKARD (fig.3.16) au sein du laboratoire de physico-chimie des procédés de Sanofi-Synthélabo Aramon.

La méthodologie consiste à séparer et à doser le principe actif après démixtion du système dans les deux phases liquides en équilibre thermodynamique.

Pour cela, on prélève à différentes températures une masse de solution (Surnageant ou phase dense) que l'on dilue dans la phase mobile (annexe 3.2) puis que l'on introduit dans cette dernière (éluant). Dans notre étude, la phase mobile est constituée de KH_2PO_4 à 0,01M et à un $\text{pH}=3$ et d'acétonitrile.

La phase mobile est ensuite pompée à partir d'une bouteille et parcourt en permanence le chromatographe (fig.3.16) : l'injecteur, la colonne et le détecteur. Le signal du détecteur est amplifié et enregistré. Les conditions opératoires permettant de détecter la largeur du pic correspondant au principe actif étudié, ont été préalablement mises au point et optimisées par les analystes de Sanofi-Synthélabo.

Pour finir, l'aire sous le pic correspondant au principe actif permet de remonter à la concentration massique de ce dernier dans la phase dosée.

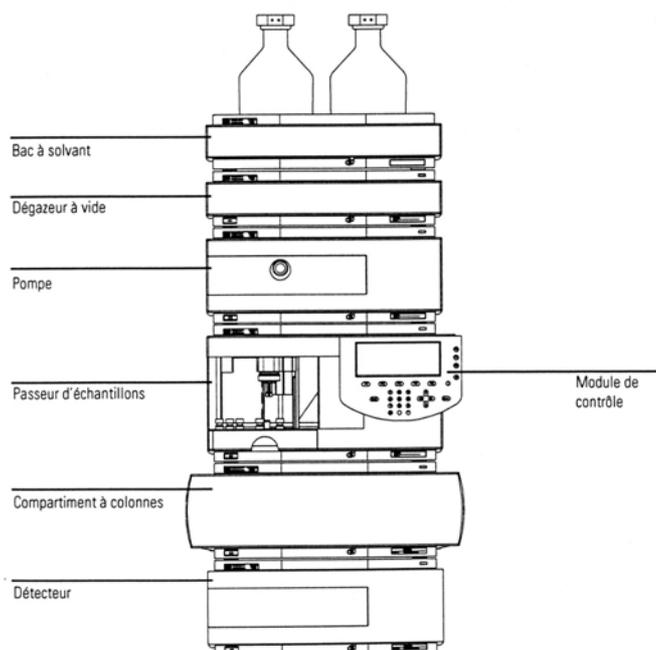


Figure 3.16 : Descriptif d'une HPLC configurée pour donner les meilleures performances.

II.2.3.2 Méthode Karl-Fisher

- Présentation

Cette méthode, publiée par Karl Fischer en 1935, permet la détermination par titrage de la teneur en eau des liquides et de des solides. L'eau contenue dans les liquides, les gaz ou les solides, peut être dosée d'une manière spécifique et sélective, du fait que *ce dosage se fait par réaction chimique*. Les avantages de cette méthode sont nombreux :

- . Dosage de l'eau dans n'importe quel échantillon correctement préparé,
- . Résultats fiables et reproductibles pour des teneurs en eau allant du ppm à 100% avec une reproductibilité supérieure à $\pm 0,15\%$,
- . Gain de temps car le titrage de Karl Fischer prend, en moyenne, seulement 2 à 5 minutes.

Tous ces avantages contribuent à faire du titrage de Karl Fischer la méthode par excellence pour la détermination de la teneur en eau, c'est pourquoi nous l'avons utilisé dans ce travail.

- *Principe et méthodologie appliquée*

La détermination du taux d'humidité se base sur le principe de l'oxydation du dioxyde de soufre (SO_2) par l'iode (I_2) en présence d'eau qu'a décrite BUNSEN. Pour le dosage de l'eau on utilise soit la méthode coulométrique, soit le titrage volumétrique. Ce dernier est celui utilisé dans notre étude. Le dosage volumétrique permet de titrer l'eau soit par une méthode dite « directe » soit par une méthode dite « en retour » comme nous l'utilisons dans notre étude.

Après titrage préalable du solvant, on introduit l'échantillon dans le récipient de titrage et on y ajoute un volume déterminé de solution de Karl Fischer (ici mélange d'Imidazole de Dioxyde de Soufre et d'Iode). On agite et la solution de Karl Fischer (KF) réagit durant un certain temps avec l'eau contenue dans l'échantillon. Après cette période d'attente, on titre en retour l'excès de solution de Karl Fischer au moyen d'une solution contenant de l'eau (ici du méthanol). Le point final se reconnaît à la disparition de l'excès d'iode et il est indiqué visuellement sur l'appareil qui donne le % massique d'eau dans l'échantillon. Pour cette étude l'appareillage utilisé est le METTLER DL18, Karl Fischer Titrator (fig.3.17).

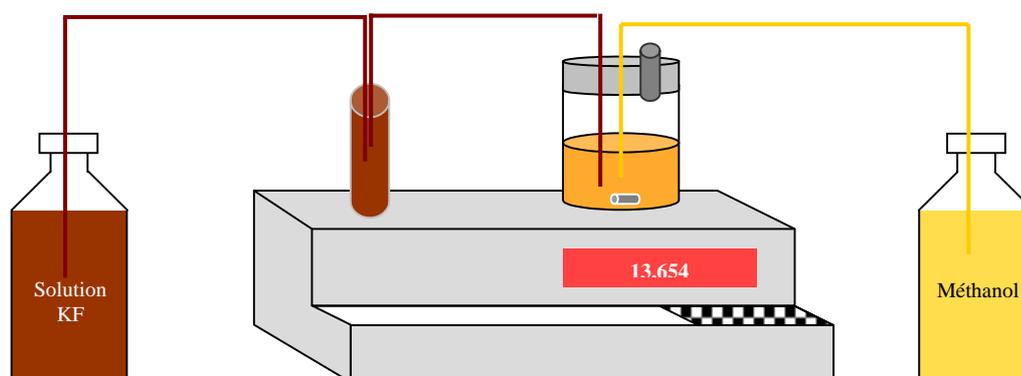


Figure 3.17 : Schéma descriptif de l'appareillage Mettler DL 18 utilisé pour doser l'eau par la méthode de Karl Fischer.

III. DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE L'ETUDE DE LA CRISTALLISATION ET DE LA DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE EN MILIEU AGITE

Pour étudier expérimentalement la cristallisation et la démixtion liquide-liquide en milieu agité, il est très important d'avoir accès à l'évolution du comportement de la solution au cours du temps.

Parmi les techniques expérimentales qui donnent accès à l'évolution du comportement de la solution, nous pouvons citer : la conductimétrie, la turbidimétrie, la pH-métrie, la granulométrie laser, l'analyse d'image, etc... Dans cette partie nous présentons tout d'abord le dispositif expérimental composé de l'ensemble réacteur-capteur. Par la suite, nous décrivons les deux techniques d'analyses principales de cette étude en milieu agité, la conductimétrie et la turbidimétrie. Le choix de ces deux techniques est motivé par le souci de perturber le moins possible le système en faisant des mesures in-situ. Nous décrivons ensuite le système de contrôle et d'acquisition développé au sein du CRMC2. Pour finir, nous présentons brièvement deux techniques de visualisation in-situ que nous avons expérimenté de façon succincte.

III.1. Montage expérimental

L'ensemble du dispositif expérimental que nous avons mis au point et utilisé, est présenté sur la figure 3.18. Il se compose de trois sous-ensembles ayant chacun une fonction précise : l'ensemble de mesure de turbidité (fig.3.18(a)(1)) et de conductivité (fig.3.18(a)(2)), l'ensemble formé par le réacteur et ses équipements divers, et l'ensemble d'acquisition et de traitement des données (fig.3.18(b)).

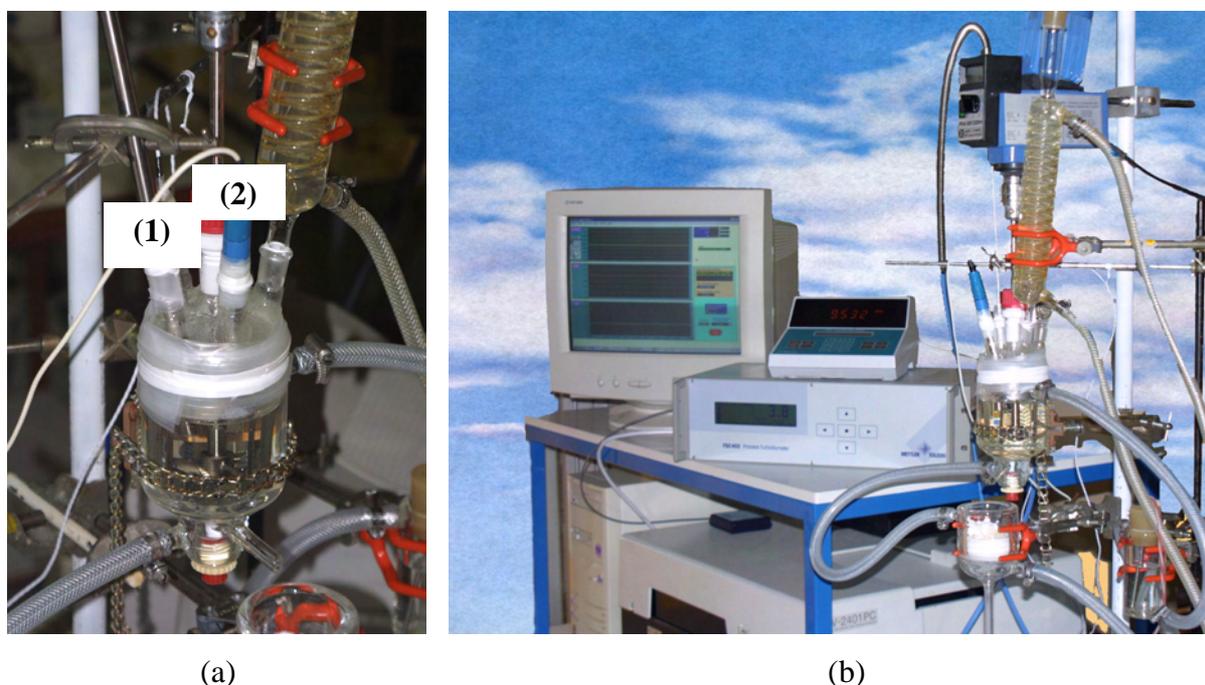


Figure 3.18 : (a) Photographie du cristalliseur double enveloppe où plongent les sondes de turbidité (1) et de conductivité (2) ; (b) ensemble du dispositif expérimental utilisé.

III.2. Le Réacteur

Considérons maintenant le cristalliseur, et notamment ses caractéristiques géométriques qui lui confèrent une hydrodynamique turbulente (annexe 3.3). Il s'agit d'un réacteur en verre de petit volume (200 ml), à double parois assurant une thermorégulation ($\pm 0,05^{\circ}\text{C}$) par circulation d'eau provenant d'un bain thermorégulé (Julabo F25). Le fond arrondi du réacteur et sa vanne de soutirage permettent d'évacuer plus facilement la solution qui est ensuite filtrée sur un fritté ($0,22\mu\text{m}$) lui aussi thermorégulé. Le cristalliseur est muni d'un mobile d'agitation et de contre-pales (ou chicanes). Ces dernières au nombre de quatre évitent que l'ensemble du mélange se mette à tourner dans le sens de rotation de l'agitateur (formation d'un vortex par création d'une force centrifuge qui fait remonter le niveau du mélange le long de la paroi). L'agitation du mélange est assurée par un moteur (Janke et Kunkel RW 20 DZM) à axe central qui entraîne à des vitesses variables (0 à 2000 tr/min) un agitateur constitué d'une hélice à trois pales profilées. Cette dernière est une Mixel TT (fig.3.19(a)) de diamètre 36 mm, elle génère dans le réacteur un écoulement axial (fig.3.19(b)) du mélange. Ce type d'hélice a l'avantage d'engendrer au sein du mélange une forte circulation pour une faible consommation énergétique et un faible cisaillement.

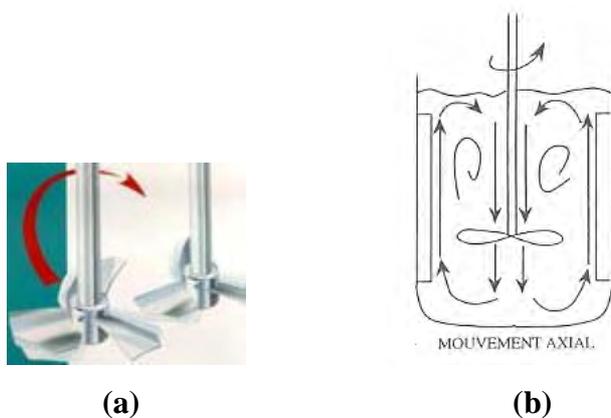


Figure 3.19 : (a) Une hélice Mixel TT engendre un écoulement axial décrit sur le schéma (b).

L'ensemble du réacteur et de ses accessoires, ainsi que leurs dimensions sont représentés sur la figure 3.20.

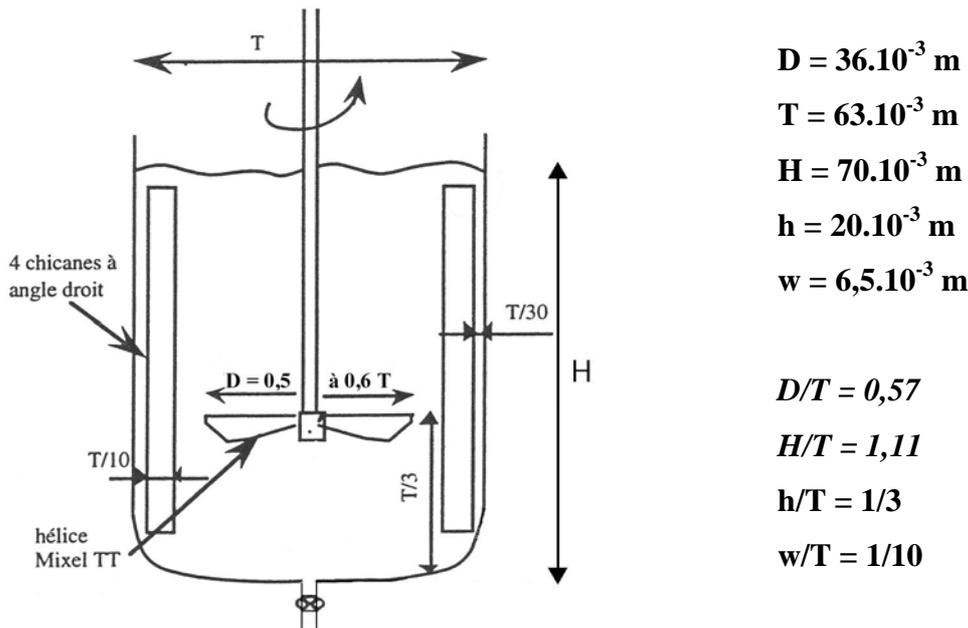


Figure 3.20 : Schéma et dimensions du réacteur.

III.3. La conductimétrie

III.3.1. Généralités sur la mesure de conductivité

La détermination de la conductivité électrique χ d'une solution (appelée également conductimétrie) s'effectue indirectement par la mesure de sa résistance R ou de l'inverse de la résistance, la susceptance G , et par la constante de cellule k qui dépend de la géométrie du dispositif de mesure (ATKINS, 1982).

$$\chi_{(S.cm^{-1})} = \frac{1}{R} \cdot \frac{l_{cell}}{A_{cell}} = \underbrace{G}_{(S)} \cdot \underbrace{k_{cell}}_{(cm)}$$

Connaissant la constante de la cellule k_{cell} , il est possible de calculer la conductivité χ d'une solution en mesurant sa conductance G . Pour déterminer ou vérifier la valeur de la constante de la cellule, on mesure la conductance d'un électrolyte étalon de conductivité χ connue tel qu'une solution de chlorure de potassium 10^{-1} M à $20^{\circ}C$ où $\chi_e = 11,67$ mS.cm $^{-1}$.

Notons aussi, que la conductivité électrique χ dépend étroitement de la température.

III.3.2. Dispositif de mesure

Les mesures de conductivité sont réalisées avec un conductimètre à lecture numérique type 712 de la société Métrohm. Une sortie analogique permet l'acquisition du signal par ordinateur.

Nous avons utilisé deux types de sondes de conductivité plongées directement dans la solution du réacteur ou cristalliseur:

- Une cellule de conductivité de type XE110 à géométrie fermée, à plaques platinées, et de constante de cellule égale à $2,00 \text{ cm}^{-1}$.
- Une cellule de conductivité de type CDC241-9 à géométrie ouverte, à plaques non platinées, de constante de cellule égale à $1,09 \text{ cm}^{-1}$.

III.4. La diffusion de la lumière

III.4.1. La turbidimétrie

Étudiant la diffusion de la lumière par un milieu contenant des particules en suspension, Rayleigh en vint à conclure en 1899 que les molécules de tout milieu matériel, même privé de poussières, produisent de la diffusion. Ainsi, la turbidité d'un milieu (CRAWLEY, 1994) est de façon générale causée par une différence d'indice de réfraction (Δn) entre le milieu et la particule ou goutte concentrée en suspension. Ces particules ou gouttes modifient donc les propriétés optiques du milieu. En effet, les propriétés de diffusion des particules en suspension, permettent la détection de turbidités très faibles. Le profil de diffusion d'une particule dépend en premier lieu de sa taille et de la longueur d'ondes de la source lumineuse utilisée (STRAZIELLE and WEILL):

- ✓ Ainsi, quand le diamètre de la particule (d) est plus petit ($< \lambda/20$) que la longueur d'onde λ de la lumière, il en résulte une pure diffusion de Rayleigh. Ce dernier a montré en 1899 que son intensité décroît selon la puissance quatrième de la longueur d'onde. Sa direction est préférentiellement orientée en avant et en arrière par rapport au sens de propagation du rayonnement lumineux incident (fig.3.21).

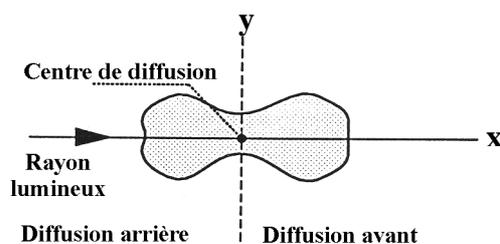


Figure 3.21: Diffusion d'une particule de taille inférieure à $\lambda/20$ dans la direction préférentielle avant et arrière par rapport au sens de propagation du rayonnement lumineux incident.

- ✓ Si le diamètre de la particule est du même ordre de grandeur que la longueur d'onde λ de la lumière, il en résulte une diffusion de Mie qui est inversement proportionnelle à la longueur d'onde. De plus, cette diffusion est préférentiellement orientée dans la direction du rayonnement lumineux, dans ce cas vers l'avant (CRAWLEY, 1994) (fig.3.22).

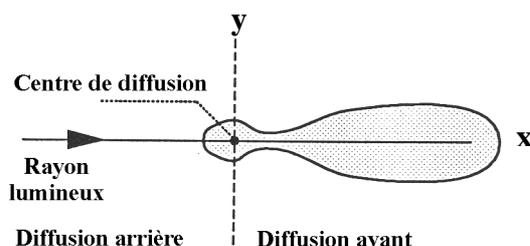


Figure 3.22 : Diffusion d'une particule de taille supérieure à $\lambda/20$ dans la direction préférentielle avant par rapport au sens de propagation du rayonnement lumineux incident.

Si le diamètre de la particule est plus grand que la longueur d'onde de la lumière, la diffusion vers l'avant devient pratiquement indépendante du diamètre, tandis que la diffusion arrière diminue d'autant plus fortement, selon l'accroissement du diamètre de la particule.

Les caractéristiques de diffusion de la lumière dépendent donc de sa longueur d'onde et de la taille des objets à étudier. Plus la longueur d'onde est petite, plus l'effet de diffusion est fort. Un phénomène de diffusion fort facilite la mesure. Mais comme l'absorption augmente pour les petites longueurs d'onde, on utilise dans la pratique, pour les sondes de mesure de la diffusion, des sources de lumière dont la longueur d'onde se rapproche du domaine infrarouge (env. $0,88 \mu\text{m}$).

La mesure de la turbidité donne une information quantitative sur la concentration des particules présentes dans un milieu. La mesure de la turbidité est une *mesure relative*. Le

Le système de mesure est calibré sur une valeur de référence. Par conséquent, toutes les valeurs mesurées sont fonction de la valeur de référence. Le turbidimètre utilisé dans cette étude est le Mettler-Toledo FSC 402 (fig.3.23).



Figure 3.23 : Turbidimètre Mettler-Toledo FSC 402.

Dans cette étude, nous utilisons le principe de mesure de la diffusion arrière, le turbidimètre est alors équipé d'une sonde rétro-diffusion (fig.3.24) afin de nous affranchir des erreurs de mesures causées par le phénomène de diffusion multiple (CRAWLEY, 1994). Ce type de sonde (OFS12H_407N Mettler-Toledo) présente une construction simple, puisque la source de lumière et le détecteur se trouvent l'un à côté de l'autre. Les distances de mesure sont extrêmement courtes, rendant l'effet d'absorption pratiquement inexistant. On ne peut cependant mesurer que des turbidités relativement fortes, car le signal émis de la diffusion arrière est beaucoup plus petit que celui de la diffusion avant.



Figure 3.24: Sonde de mesure de turbidité d'une solution par rétro-diffusion.

III.4.2. Mesure de turbidité en milieu agité par sonde Lasentec

La sonde utilisée dans cette étude est la FBRM 6B12 Lasentec DL600, cette sonde nous a été prêtée durant 3 jours par le laboratoire Sanofi-Synthélabo d'Aramon. La FBRM (Focused Beam Reflectance Measurement) mesure, en temps réel, la vitesse et le degré de changement à la fois du nombre et des « dimensions » des particules telles qu'elles existent naturellement dans le procédé. La sonde FBRM testée (fig.3.25(a)) est commercialisée pour

s'insérer dans des fluides en écoulement à toute concentration ou viscosité. Le faisceau laser (fig.3.25(b)), fortement focalisé, est projeté à travers la fenêtre optique de la sonde et balaye rapidement, à vitesse constante, les particules et structures de particules s'écoulant devant la fenêtre de la sonde.

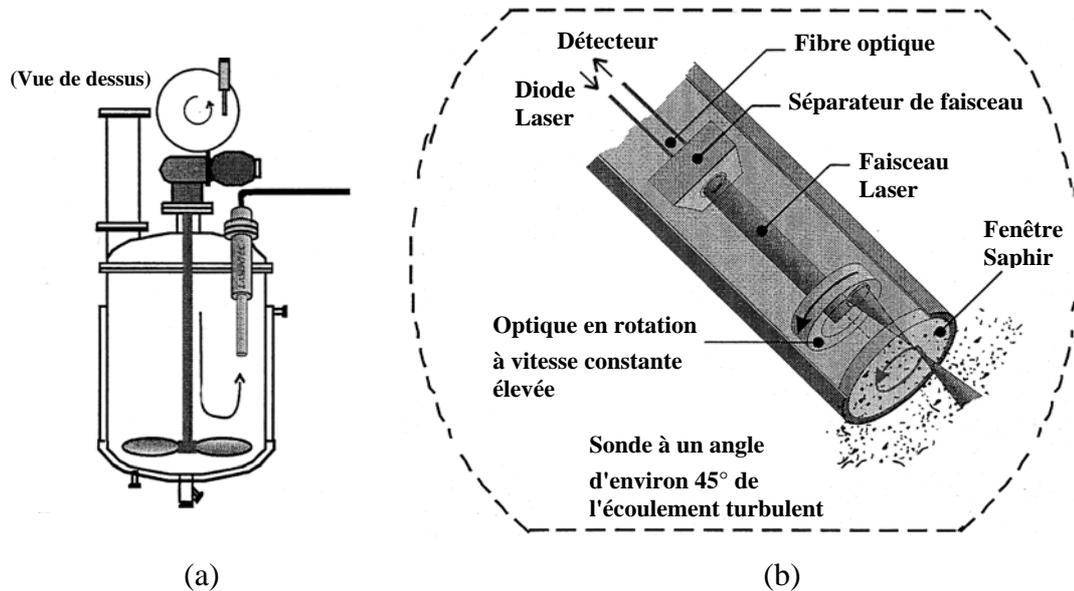


Figure 3.25 : (a) Sonde FBRM permettant la mesure « in-process » et (b) schéma de l'extrémité de sonde agrandie.

Lorsque le faisceau focalisé intercepte le bord d'une particule, la particule commence à rétrodiffuser la lumière. La particule continue à rétrodiffuser jusqu'à ce que le faisceau focalisé atteigne le bord opposé de la particule. Cette rétrodiffusion est collectée par l'optique FBRM puis convertie en signal électronique. Un circuit unique de discrimination est utilisé pour isoler le temps de rétrodiffusion d'un bord d'une particule individuelle à son bord opposé. Cette durée est multipliée par la vitesse de balayage, le résultat est une distance. La distance est une longueur de corde. Une longueur de corde est une ligne droite entre deux points quelconques situés sur le bord de la particule (fig.3.26) ou structure de particules (agglomérats). Des centaines de milliers de cordes peuvent être mesurées par seconde. Il en résulte une distribution en nombre de longueurs de cordes (nombre de comptes par seconde triés par longueur de corde dans 1000 canaux répartis sur une échelle linéaire).

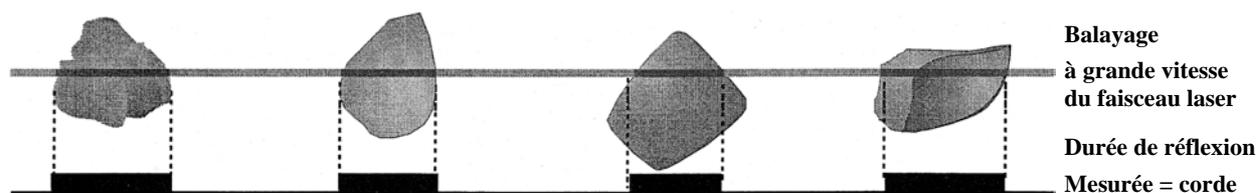


Figure 3.26 : Schématisation d'une mesure de longueur de corde par FBRM.

Aucune hypothèse de forme des particules n'est formulée. La Distribution des Longueurs de Cordes (DLC) caractérise de façon unique une distribution de particules de tailles et de formes données. Si en considérant plusieurs millions de particules, la forme moyenne des particules est constante, les modifications dans la distribution des longueurs de cordes ne sont fonction que des changements des dimensions et du nombre de particules. Lorsque la forme change également, cette information peut être atténuée ou amplifiée selon l'objectif de l'application.

III.5. Pilotage, acquisition des données

La durée importante des expériences nécessitait le développement d'un logiciel de pilotage du dispositif expérimental. Ce logiciel a été développé à l'aide de l'outil de programmation graphique LabVIEW[®] (*Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench*) pour piloter un bain thermorégulé, acquérir les signaux des instruments de mesure puis traiter, analyser et archiver sur disque automatiquement les mesures effectuées.

Dans un premier temps nous avons donc établi une communication entre l'ordinateur et le monde physique. Nous avons ainsi connecté à l'ordinateur le bain thermorégulé, le turbidimètre, le conductimètre et la sonde de température in-situ. Les signaux électriques issus de ces appareils pouvaient alors être convertis, mis en forme en une grandeur numérique (par cartes de conversion analogiques/numériques) et leurs valeurs stockées dans la mémoire de l'ordinateur.

Dans un deuxième temps, nous avons créé et développé au sein du laboratoire (CRMC2) deux programmes distincts sous LabVIEW :

Le premier programme permet de piloter un bain thermorégulé. On peut ainsi contrôler la température d'une solution mais aussi les vitesses de chauffage et de refroidissement de cette dernière. On rappelle que le contrôle de ces paramètres est important pour la nucléation, la

croissance et la dissolution de cristaux dont la solubilité est sensible aux variations de température de la solution.

Le deuxième programme permet de contrôler pendant l'expérience la fréquence d'acquisition des signaux de température, de conductivité et de turbidité dans la solution. La fréquence d'acquisition est d'une mesure toutes les secondes, ce qui permet de suivre la cinétique des phénomènes rapides.

Chaque programme génère pour chaque expérience un fichier (.dat) regroupant les données suivantes : temps, conductivité, turbidité et température. Ces données peuvent ensuite faire l'objet de traitement par des logiciels de calcul.

Chaque programme a donc permis de créer une interface avec l'utilisateur. Cette dernière est personnalisable à loisir, elle est composée d'objets graphiques comme des interrupteurs, des zones graphiques qui permettent à l'opérateur de suivre l'évolution en direct des signaux acquis (fig.3.27 et 3.28).

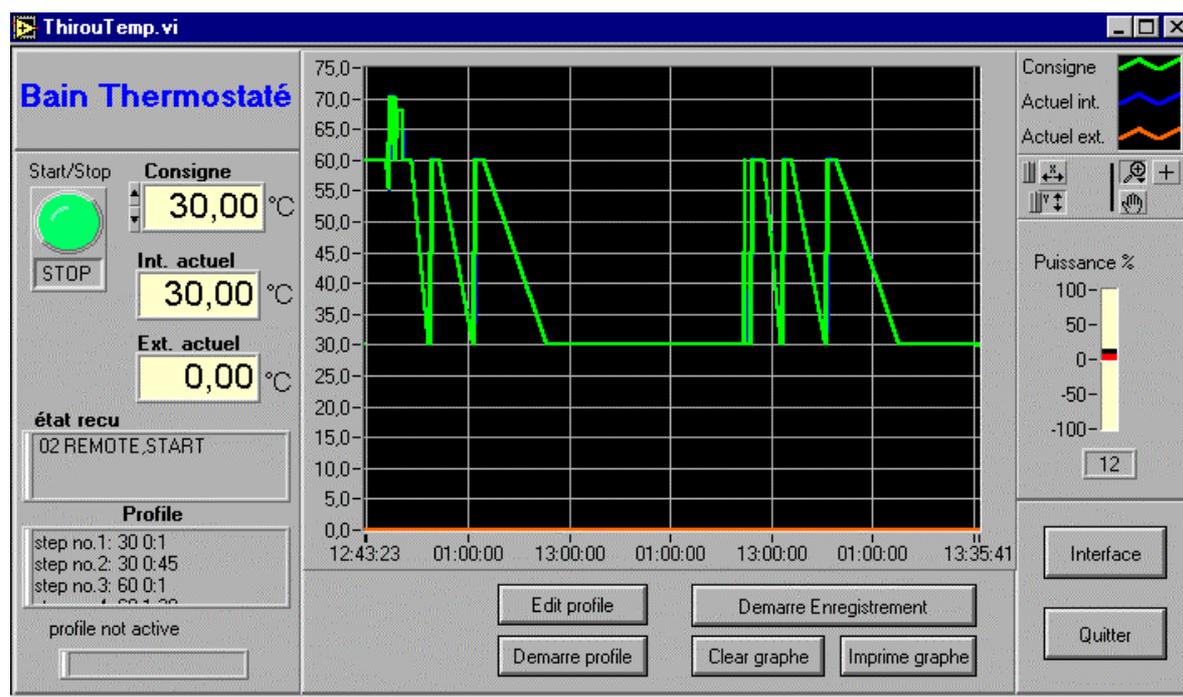


Figure 3.27 : Interface sous LabVIEW[®] permettant le contrôle du bain thermostaté.

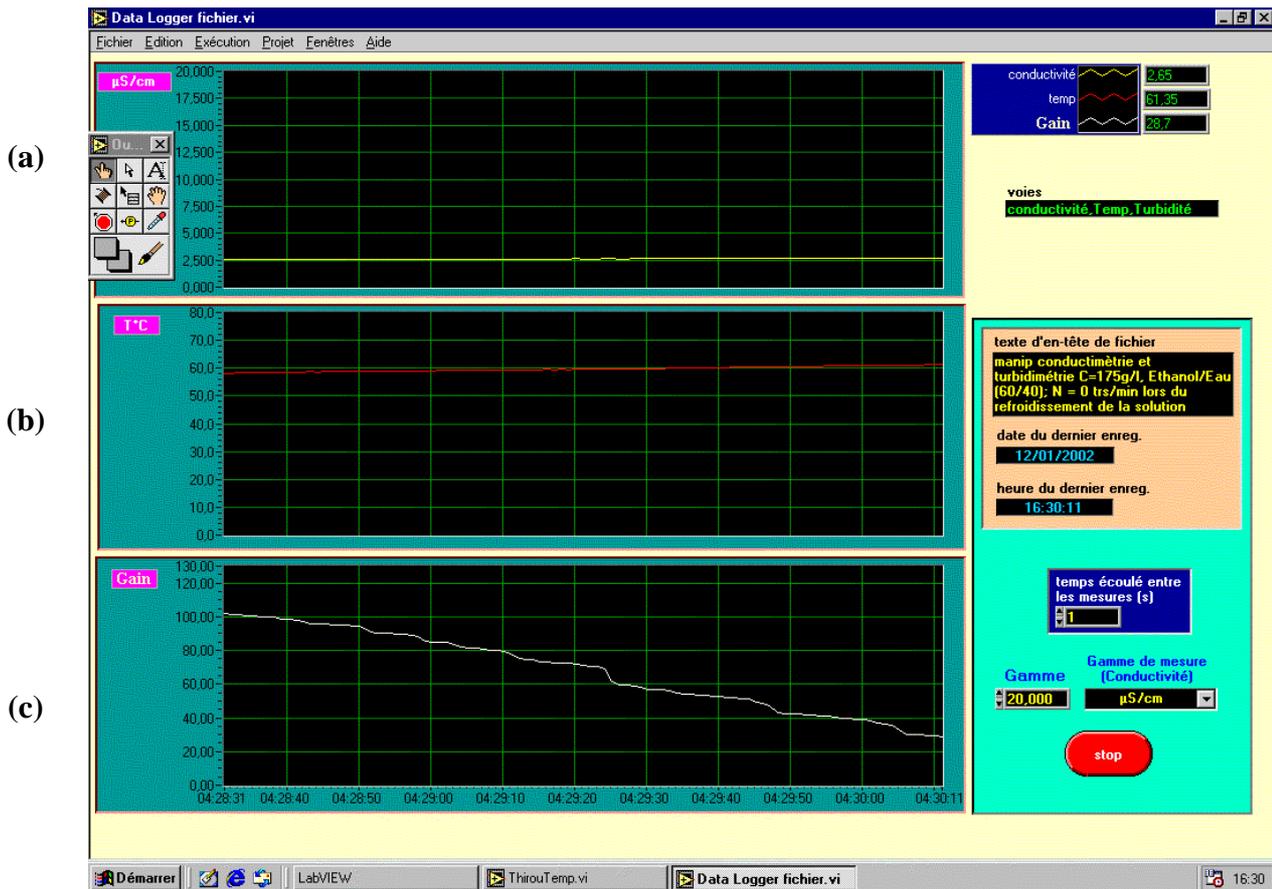


Figure 3.28 : Interface sous LabVIEW[®] permettant le contrôle, la visualisation et l'enregistrement des données de mesures de conductivité (a), de température (b) et de turbidité (c).

III.6. Techniques de visualisation in-situ en milieu agité

Durant cette étude nous avons testé deux types d'appareillage permettant la visualisation in-situ du comportement en temps réel d'une solution agitée.

Le premier appareillage est un pilote mis au point par Rivoire au sein du Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés de Lyon (RIVOIRE, 2000). Ce dispositif expérimental (fig.3.29) est constitué d'un réacteur de trois litres en verre équipé d'une double enveloppe permettant une thermorégulation par circulation d'eau à partir d'un bain thermorégulé. Le réacteur a été modifié pour faciliter l'insertion d'une cellule de prise de vue en acier inox. Une fibre optique reliée à une source lumineuse blanche dont on peut moduler l'intensité, éclaire la zone de prise de vue. Une caméra CCD avec zoom contrôlé par le logiciel LabVIEW fait l'acquisition d'images qui sont instantanément enregistrées par un ordinateur via une carte Matrox Meteor.

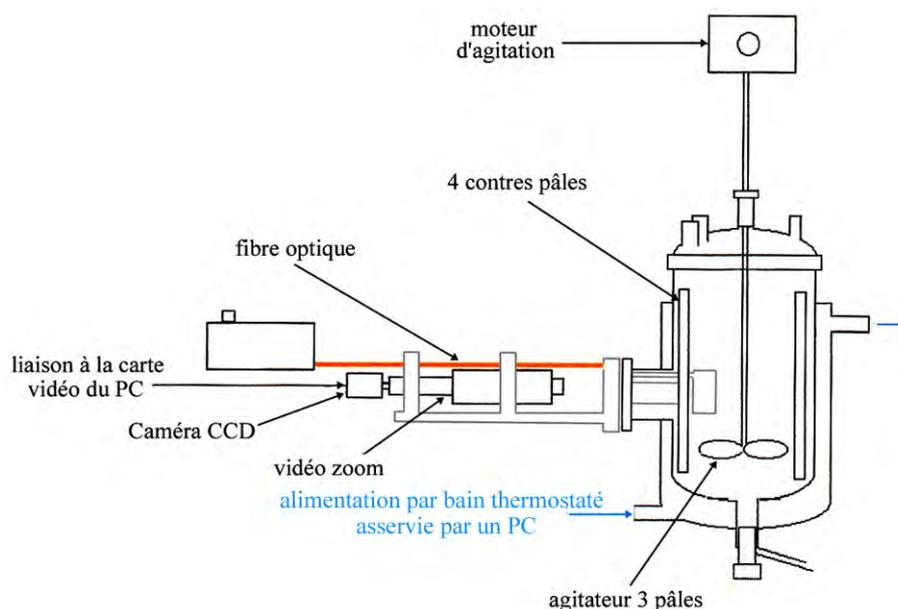


Figure 3.29 : Schéma du pilote mis au point au LAGEP par Rivoire (RIVOIRE, 2000).

Le second appareillage est commercialisé par la société Lasentec, il s'agit d'une sonde vidéo « Particle Vision and Measurement » (PVM) (fig.3.30(a)) que l'on adapte sur le chapeau d'un réacteur d'un litre en verre équipé d'une double enveloppe. Cette sonde nous a été prêtée durant 3 jours par la société Lasentec. Elle permet de visualiser des cristaux ou des gouttes en suspension. L'acquisition des images est assurée par un ordinateur (fig.3.30(b)).

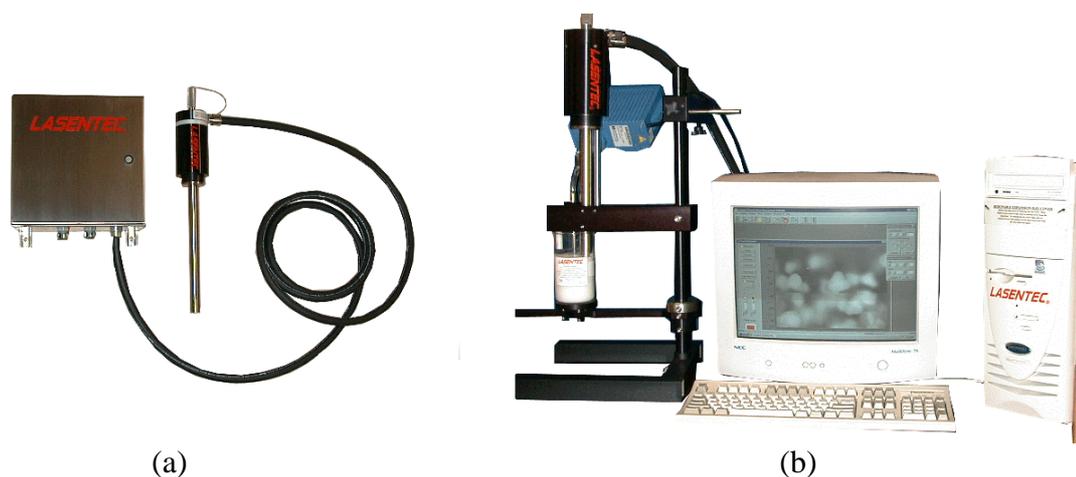


Figure 3.30: Appareillage de visualisation Lasentec (a) sonde et (b) dispositif expérimental.

L'ensemble des techniques et méthodologies présentées dans ce chapitre vont nous permettre d'étudier d'un point de vue fondamental la nucléation difficile de principes actifs pour les appliquer au procédé.

Chapitre IV

APPROCHE FONDAMENTALE DE LA NUCLEATION DE PRINCIPES ACTIFS

*La recherche fondamentale ne peut être pratiquée
que dans un climat de liberté intellectuelle.*

*Pierre Joliot
Extrait de *La recherche passionnément**

Dans ce chapitre nous abordons les problèmes de nucléation de principes actifs d'un point de vue fondamental. L'approche de ces problèmes nécessite la caractérisation du diagramme de phases des molécules pharmaceutiques étudiées. Nous nous intéresserons plus particulièrement à l'étude du SR 142801 qui possède un diagramme de phases relativement complexe avec la présence de deux polymorphes et d'une démixtion liquide-liquide. La caractérisation de ce diagramme nous permettra de mettre en évidence la non idéalité de la solution, de présenter une méthodologie pour caractériser et isoler le polymorphe le plus stable et d'approfondir nos connaissances sur un phénomène relativement nouveau et original dans le domaine pharmaceutique : la démixtion liquide-liquide. Cette dernière a pour effet de changer le milieu de cristallisation, passage d'un système monophasique à biphasique, ce qui va probablement modifier les cinétiques de cristallisation.

I. SOLUBILITE ET CONTROLE DE POLYMORPHES EN SUSPENSION

Certaines molécules pharmaceutiques comme le SR 28043 présentent un diagramme de phases relativement simple, avec à ce jour une seule forme cristalline identifiée dans les solvants et domaine de températures étudiés (annexe 4.1). L'étude de cette molécule a permis une certaine familiarisation avec les techniques de mesures de solubilité présentées dans le chapitre précédent. En revanche, le SR 28043 n'a pas posé de problème particulier durant son étude de cristallisation, c'est pourquoi nous avons choisi d'étudier une nouvelle molécule, le SR142801, qui est une molécule dite « paresseuse » car difficile à nucléer du fait de sa grande largeur de zone métastable. Nous l'utiliserons donc comme modèle pour l'étude et la compréhension des molécules difficiles à cristalliser. Il faut rappeler que le SR 142801 se présente sous la forme d'une poudre très soluble dans l'éthanol et quasiment insoluble dans l'eau. Cette molécule peut cristalliser sous deux formes polymorphiques. Le procédé de cristallisation industrielle impose le mélange de solvants suivants : Ethanol/Eau distillée avec un rapport volumique (60/40)_{volumique}. Fixer ce rapport revient à considérer le système comme un pseudo-binaire. Pour la clarté de ce manuscrit nous tenons à signaler que la concentration en principe actif et le rapport Ethanol/Eau seront désormais exprimés en pourcentage massique. Un tableau en annexe 4.2 de ce manuscrit fournit l'équivalence de la concentration en principe actif (SR 142801) exprimée en %_{massique} ou g/l dans un solvant Ethanol/Eau de rapport (60/40)_{volumique} ou (54,2/45,8)_{massique}.

I.1. Solubilité du SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}

L'une des premières conditions pour contrôler la nature du polymorphe en suspension est d'établir le diagramme de phases de la molécule dans son solvant d'étude. Le principe de mesure de la solubilité d'une forme cristalline a été décrit dans le chapitre précédent.

La figure 4.1 présente les points de mesures des solubilités des formes I et II du SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique} (tab.IV.1). On remarque que les deux polymorphes sont stables chacun dans un domaine de température et le passage de F_I en F_{II} (et inversement) est réversible, le système est alors énantiotrope. La température de transition est estimée (résolution graphique) (figs 4.1 et 4.2) à T_p = 52,5°C, qui correspond par définition au point d'intersection des deux courbes de solubilité. On observe alors que pour le domaine de températures inférieur à la température de transition (T_p) la phase stable est la forme I (faciès : plaquette) et la phase métastable est la forme II (faciès : aiguille) alors que pour des températures supérieures à T_p c'est l'inverse.

Tableau IV.1 : Valeurs des points de solubilité des formes I et II du SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique} sur un domaine de température 10-60°C.

Solubilité Forme I		Solubilité Forme II	
Température (°C)	Concentration	Température (°C)	Concentration
	% _{massique}		% _{massique}
10,0	0,91	20,5	2,24
19,0	1,36	33,0	4,38
30,0	2,24	38,9	6,43
32,6	3,00	44,9	8,40
38,5	4,38	48,0	10,26
40,8	4,90	56,5	16,69
45,0	6,93		
48,5	9,43		
50,5	11,05		
54,0	14,66		
56,0	17,87		
57,0	18,71		

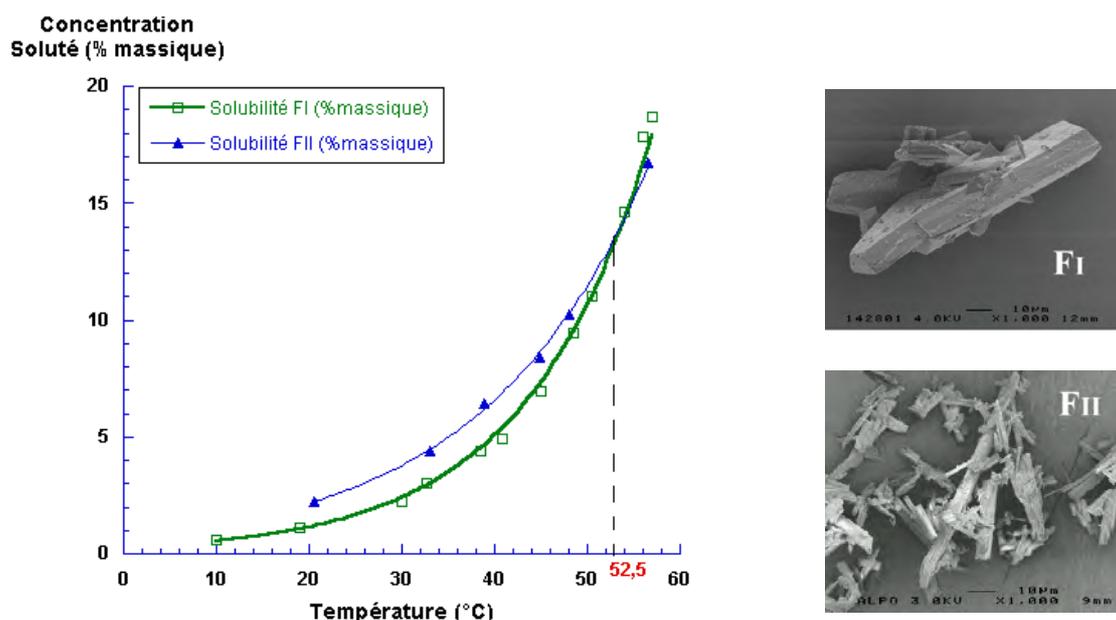


Figure 4.1 : Représentation dans un diagramme concentration-température des points de mesures des solubilités des formes I et II du SR 142801 dans le mélange de solvants Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}. Insertion des images MEB des faciès des cristaux FI et FII du SR 142801.

Pour des solutions idéales il est possible d'ajuster les points de solubilité avec l'équation de Van't Hoff (cf.éq.II.9). Des grandeurs thermodynamiques telles que l'enthalpie et l'entropie de dissolution peuvent alors être déterminées en traçant le logarithme de la fraction molaire de la molécule en fonction de $1/T$. Dans cette étude, ce tracé fait apparaître (fig.4.2) une rupture de pente pour les deux polymorphes. L'ajustement des points de FI et FII avec l'équation de Van't Hoff donne respectivement un coefficient de régression R de 0,963 et 0,994, ce résultat n'est donc pas satisfaisant. De plus la température de transition de phase calculée à partir de cet ajustement vaut $62,6^{\circ}\text{C}$ ce qui est en désaccord avec la valeur estimée par résolution graphique ($T_p=52,5^{\circ}\text{C}$). La rupture de pente observée (cf.Chap.II) peut être la conséquence de la présence d'un nouveau polymorphe mais aussi de la non-idéalité de la solution. L'analyse par diffraction de rayons X d'essais de nucléation dans le domaine autour de T_p (fig.4.2) n'a pas permis de détecter une autre forme polymorphique. On considère alors le cas où l'enthalpie de dissolution (ΔH_d) est une fonction linéaire de la température (T) de la solution (cf.éq.II.6). L'utilisation (fig.4.3) de l'équation générale (cf.éq.II.8) (cf.Chap.II) qui s'applique au cas de solution non-idéale, paraît être la solution la plus satisfaisante puisque

l'ajustement des points de solubilités fournit un coefficient de régression R de 0,999 pour les deux formes et une température de transition de phase de 54,75°C.

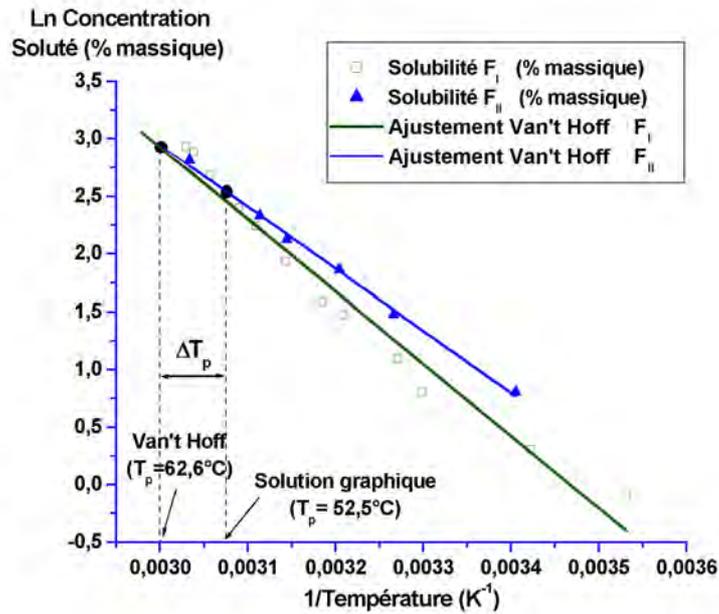


Figure 4.2 : Représentation dans un diagramme Ln Concentration Soluté en fonction de 1/T, des points de solubilités des formes I et II du SR 142801 mesurées dans Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}, et de leur ajustement avec l'équation de Van't Hoff.

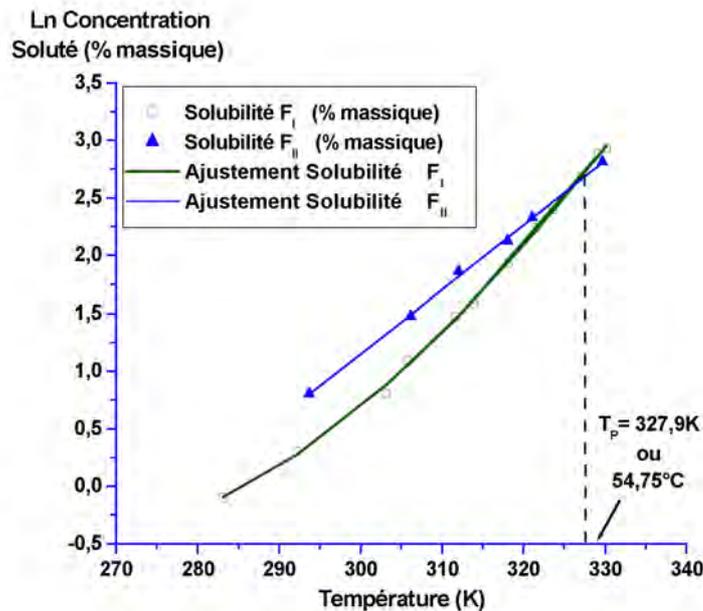


Figure 4.3 : Représentation des points de solubilités de F_I et F_{II} dans Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique} ajustés avec l'équation de non-idéalité ($\ln C_S = -\frac{a}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{b}{R} \cdot \ln T + c$) dans un diagramme Ln Concentration Soluté en fonction de T.

L'ajustement des points de solubilités avec l'équation de Van't Hoff (cf.tab.IV.2) fournit une température de transition de phase de 62,6°C qui est bien supérieure à 52,5°C obtenue graphiquement sur les figures 4.1 et 4.2. En revanche, l'équation de non-idéalité fournit une solution (cf.tab.IV.1) beaucoup plus proche de la solution graphique avec 54,75°C.

Tableau IV.2 : Température du point de transition de phase (T_p), enthalpie molaire partielle apparente (ΔH_2^*) de F_I et F_{II} et leur coefficient R de régression dans le cas de l'ajustement des valeurs de solubilité (tab.4.1) avec les équations de Van't Hoff et de non-idéalité d'une solution.

Ajustement	T_p en °C	$\Delta H_2^* F_I$ à T=25°C en kJ/mol	$\Delta H_2^* F_{II}$ à T=25°C en kJ/mol	R F_I	R F_{II}
Van't Hoff	62,6	55	48	0,963	0,994
Non-idéalité	54,75	42	41	0,999	0,999

La caractérisation des points de solubilités des formes I et II du SR 142801 dans le solvant Ethanol/Eau(54,2/45,8)_{massique}, nous a donc permis de définir le domaine de stabilité de chaque polymorphe. La rupture de pente observée lors de l'ajustement de ces points par l'équation de Van't Hoff traduit qu'une solution diluée peut être non-idéale. Cet écart à l'idéalité, pourrait être faussement interprété comme la présence d'une nouvelle phase déjà largement commentée dans la littérature (GRANT, MEHDIZADEH et al. 1984).

I.2. Caractérisation et contrôle du Polymorphisme en suspension

Dans cette partie nous proposons une méthodologie de caractérisation et de contrôle de la forme polymorphique en suspension lorsque le diagramme de phases du principe actif étudié est connu.

Le matériel utilisé pour réguler la température de la solution et pour visualiser le comportement des cristaux de F_I et F_{II} en suspension a été décrit dans la partie II.1 du chapitre III de ce manuscrit. Le principe de l'expérience consiste à préparer une solution de concentration connue en principe actif (SR 142801) dissous dans le solvant Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}. Chaque polymorphe est alors mis en suspension, et la visualisation de leur

comportement permet de caractériser le polymorphe le plus stable donnant ainsi la possibilité de l'isoler.

Dans un système énantiotrope, deux cas peuvent être envisagés lors de l'observation des différents comportements (croissance, dissolution, équilibre) des formes I et II en suspension :

Le premier cas concerne des concentrations de principe actif en solution inférieures à la concentration d'équilibre ($C_p \approx 13,81\%_{\text{massique}}$) de transition de phase ($T_p = 54,75^\circ\text{C}$) (fig.4.1). Pour une concentration de soluté $C = 4,38\%_{\text{massique}}$ et une température de 20°C (point (1) fig.4.4), la solution est sursaturée par rapport aux deux polymorphes. Les cristaux F_I et F_{II} mis en suspension dans ces conditions coexistent (fig.4.5(a)). L'augmentation de la température de 20°C à 35°C (point(2) fig.4.4) a pour conséquence la dissolution des cristaux de la forme II (aiguille) au profit d'une croissance du cristal (plaquette) F_I (fig.4.5(b)). Ce résultat illustre bien le diagramme de phase du SR 142801, puisque la dissolution de F_{II} correspond au passage d'une solution sursaturée par rapport aux deux polymorphes à une solution qui reste sursaturée par rapport au polymorphe stable (F_I) mais qui devient sousaturée par rapport au polymorphe métastable F_{II} . Cette expérience permet de confirmer les domaines de stabilité des polymorphes et d'isoler le polymorphe le plus stable à ce jour dans ce domaine.

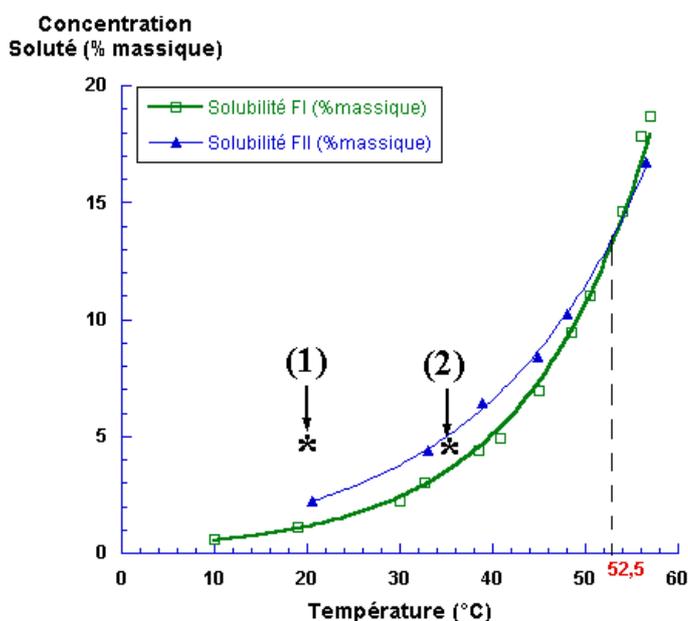


Figure 4.4 : Diagramme de phase du principe actif SR142801 dans le mélange de solvants Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}. (1) F_I et F_{II} en suspension.(2) F_I isolé.

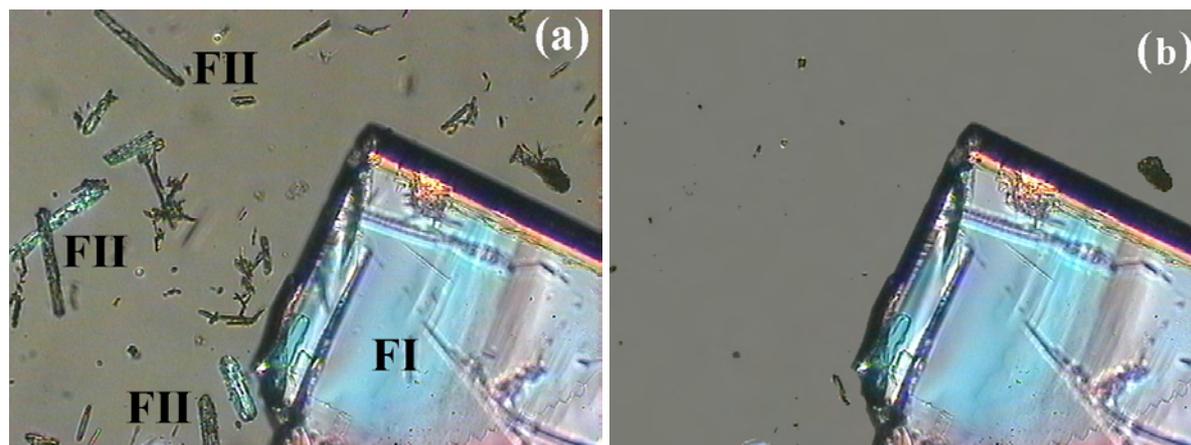


Figure 4.5 : Solution de SR 142801 à $C=40\text{g/l}$; (a) mise en suspension de F_I et F_{II} à $T^\circ=20^\circ\text{C}$, (b) dissolution de F_{II} et croissance de F_I en augmentant la température à 35°C .

Remarquons que dans la figure 4.5(b), la croissance de F_I n'est pas très importante ceci est probablement dû au fait que la température de la solution est proche de la température d'équilibre de F_I .

Dans un deuxième cas où la concentration en solution est supérieure à la concentration d'équilibre ($C_p \approx 13,81\%_{\text{massique}}$) de transition de phase ($T_p=54,75^\circ\text{C}$), nous devrions observer que les cristaux de F_I (plaquette) se dissolvent au profit d'une croissance du cristal (aiguille) de F_{II} . Malheureusement, pour visualiser cela il faut travailler à des températures élevées ($65-70^\circ\text{C}$) pour que la différence entre les courbes de solubilité des deux formes soit suffisamment significative. Or au-delà de 60°C , la régulation de la température de la solution par effet Peltier devient peu fiable dans le cas d'un cristalliseur non agité, les nombreux courants de convection posent alors des problèmes de fluctuation locale de concentration. Un problème également d'évaporation de solvant se pose, puisque la température d'ébullition du mélange Ethanol/Eau ($54,2/45,8$)_{massique} est d'environ 72°C . Par conséquent, les conditions expérimentales ne nous permettent pas d'observer la transition polymorphique F_I vers F_{II} via la solution.

La détermination des solubilités des deux polymorphes, la caractérisation de leur transition de phase et de leur domaine de stabilité ainsi que les résultats de l'analyse thermique (DSC) présentés dans le chapitre III vont nous permettre de discuter, pour cette étude, des prévisions du type de système polymorphique découlant des règles de Burger.

I.3. Les résultats de mesures de solubilité et de DSC sont-ils corrélés ?

Dans un premier temps, nous allons appliquer les différentes règles de Burger aux résultats de DSC. Une seconde partie sera consacrée à la comparaison des résultats de solubilité et de DSC.

I.3.1. Applications des règles de Burger aux résultats de DSC

✓ *Règles des chaleurs de transition solide-solide*

Lors de l'analyse thermique des deux polymorphes, aucun effet endothermique ou exothermique que l'on peut associer à une transformation solide-solide, n'a été observé, on ne peut donc pas conclure à l'existence ou non d'un point de transition.

✓ *Règles des chaleurs de fusion*

La forme I possède la température de fusion la plus haute (140,4°C ou 413,5K) et possède également l'enthalpie de fusion la plus grande (72,4 J/g), donc d'après les règles de Burger les deux formes sont normalement monotropes avec la forme F_I la plus stable.

✓ *Règle de la densité*

Dans le cas où une molécule cristalliserait sous deux formes polymorphiques possibles, ici F_I et F_{II} du SR 142801, celui qui est le plus stable à la température du zéro absolu est celui qui a la densité la plus élevée à température ambiante. Or d'après les informations fournies par Sanofi-Synthélabo (CONESA-MORATILLA and PATTOU 2000), la densité de la forme I ($\rho_{FI}=1,291\text{g/cm}^3$) est inférieure à celle de la forme II ($\rho_{FII}=1,340\text{g/cm}^3$) à température ambiante. D'après cette règle F_{II} devrait normalement être la forme la plus stable à 0K.

Mais que se passe-t-il lorsque les polymorphes sont en suspension dans le solvant ?

I.3.2. Comparaison résultats DSC et solubilités de F_I et F_{II} dans le mélange

Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}

On rappelle que les courbes de solubilité (fig.4.1) des formes I et II du SR 142801 se croisent en un point appelé, point de transition de phase qui définit alors un système énantiotropique. On observe également que la forme I est la phase la plus stable pour des températures inférieures à la température de transition de phase.

Ces résultats sont-ils en accord avec les analyses DSC ?

Les résultats de DSC et de solubilité sont relativement contradictoires si l'on se réfère aux règles de Burger citées précédemment.

Dans un premier temps, si l'on prend en compte la règle concernant la densité du cristal, la forme II devrait être la plus stable au point zéro ce qui n'est pas le cas en solution puisqu'on a montré dans la partie I.2 de ce chapitre que la forme II est métastable par rapport à la forme I qui est stable pour des températures inférieures au point de transition de phase. Il en résulte que le SR 142801 est une exception à la règle des densités. D'autres molécules pharmaceutiques comme le Ritonavir (BAUER, SPANTON et al. 2001) sont connues pour être des exceptions à cette règle.

L'application de la règle de Burger concernant les chaleurs de fusion nous amène à penser que le système est monotropique avec F_I comme forme la plus stable. Or, en solution nous venons de voir que les courbes de solubilité du principe actif se croisent autour d'une température de transition de phase estimée avec l'équation de non-idéalité à 54,75°C ou 327,9K. En suspension dans le solvant, les deux polymorphes se comportent comme un système énantiotropique.

Pour que le système devienne énantiotropique selon les règles de Burger, il faudrait que l'on fasse une erreur de $\pm 1,5\%$ sur la mesure des températures de fusion afin que la température de fusion de la forme I stable devienne inférieure à la température de fusion de la forme II métastable. Cette hypothèse est peu probable.

En revanche, l'hypothèse selon laquelle le système étudié pourrait être une exception aux règles de Burger peut être soumise, puisque l'on sait qu'il existe au moins deux exceptions l'Acétaminophen (C₈H₉NO₂) et le n-Butylbenzène (C₁₀H₁₄) qui ne respectent pas la règle des chaleurs de fusion. Cependant dans le cas de l'Acétaminophen, les enthalpies de fusion sont assez proches et si l'on fait la correction sur la différence d'enthalpie de fusion entre les deux

polymorphes l'auteur (BURGER and RAMBERGER 1979; BURGER and RAMBERGER 1979) est alors de nouveau en accord avec la règle proposée.

Dans notre cas, une inversion des enthalpies de fusion montrerait l'existence d'un système énantiotropique puisque dans cette hypothèse nous aurions $\Delta H_{fII} > \Delta H_{fI}$ et $T_{fI} > T_{fII}$, mais dans ce cas la forme II serait alors la plus stable pour des températures inférieures à celle de transition de phase. Cette dernière hypothèse n'est pas valide puisque l'on a clairement montré que la forme I est la plus stable pour des températures inférieures à la température de transition de phase.

On rappelle que ces dernières ont été érigées dans le but d'aider à distinguer une transition monotropique d'énantiotropique lors de l'analyse thermique d'un polymorphe. Très souvent, les règles de Burger appliquées aux résultats de l'analyse thermique définissent un système monotropique ou énantiotropique que l'on retrouve en solution lorsque les polymorphes sont en suspension. Mais dans cette étude, il semble que la molécule pharmaceutique, SR 142801 soit une exception aux règles de Burger.

II. CARACTERISATION D'UNE DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE EN MILIEU STAGNANT DANS L'ETUDE DU SR 142801

Durant les essais de cristallisation du principe actif SR 142801, nous avons mis en évidence l'existence d'une séparation liquide-liquide ou démixtion liquide-liquide qui apparaît avant la cristallisation d'une des formes polymorphiques. L'originalité de ce phénomène dans le domaine pharmaceutique nous a poussé à essayer de faire la lumière sur cette nouvelle transition de phase. Nous nous sommes alors intéressés à la caractériser visuellement, puis par diffusion de la lumière et enfin par dosages.

II.1. Caractérisation visuelle de la démixtion liquide-liquide

On prépare dans un premier temps une solution de SR 142801 de concentration connue et sous-saturée par rapport à ses deux formes polymorphiques. Ainsi, par exemple, pour une solution de concentration $C=14,66\%_{\text{massique}}$ à une température de $65,0^{\circ}\text{C}$, on observe une solution limpide constituée d'une seule phase liquide (fig.4.6(a)). Son refroidissement crée une certaine sursaturation par rapport aux deux polymorphes et à $T=36,5^{\circ}\text{C}$ la solution

devient trouble. Cette opacification n'est pas due à la cristallisation d'une des deux formes polymorphiques mais à l'apparition de nombreuses gouttes dans le milieu (fig.4.6(b)), conséquence d'une démixtion liquide-liquide. Cette dernière a lieu avant la cristallisation, par conséquent la zone de démixtion liquide-liquide se situe dans la zone métastable des formes I et II du SR 142801. Si on continue à refroidir la solution, on observe l'apparition de nouvelles gouttes puis la croissance et la coalescence des premières gouttes (fig.4.6(c)).

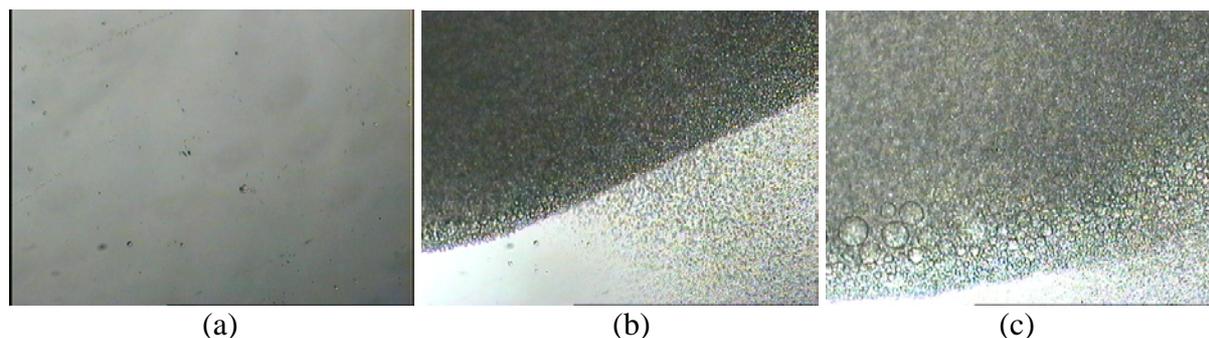


Figure 4.6 : Visualisation d'une solution de SR142801 à une concentration de 14,66%_{massique} placée à (a) T= 65,0°C, solution limpide, (b) T=36,5°C, apparition de gouttes = démixtion liquide-liquide (c) T=36,0°C, apparition de nouvelles gouttes et croissance puis coalescence des premières.

Il est intéressant de signaler que le phénomène de démixtion liquide-liquide est réversible puisque partant d'une solution démixée à T=35,0°C (fig.4.7(a)) on peut revenir à une solution homogène et limpide où une seule phase liquide existe. Pour cela il suffit d'augmenter la température au-delà de T=36,5°C pour voir disparaître progressivement les gouttes (fig.4.7(b)) jusqu'à l'obtention d'une solution limpide (fig.4.7(c)) à T=37,0°C.

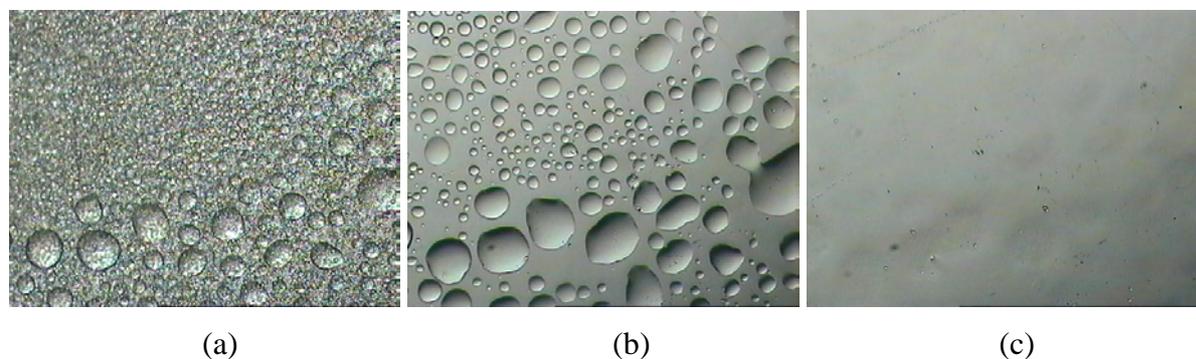


Figure 4.7 : Disparition de la démixtion liquide-liquide par augmentation de la température de la solution entre (a) T= 35,0°C et (b) T= 36,0°C, (c) solution limpide T= 37,0°C.

Nous venons de mettre en évidence dans cette partie l'apparition d'une démixtion liquide-liquide dans une certaine zone du diagramme de phases. Cette démixtion se traduit visuellement par l'apparition de fines gouttes que l'on voit croître puis coalescer. Nous avons également montré que cette démixtion liquide-liquide est un phénomène thermodynamiquement réversible. De plus il est important de signaler que la démixtion liquide-liquide apparaît avant la cristallisation ce qui pourra gêner cette dernière comme nous le verrons par la suite.

Le sujet de la prochaine partie concerne la caractérisation de la zone de démixtion liquide-liquide délimitée elle-même par une courbe d'équilibre thermodynamique appelée *binode*. Cette binode est macroscopiquement visible par l'apparition d'un point trouble c'est à dire l'opacification de la solution par apparition de gouttes.

II.2. Caractérisation de la limite de démixtion liquide-liquide par diffusion de la lumière

La détermination du point trouble par diffusion de la lumière a fait l'objet de nombreux articles dans les domaines des colloïdes et des protéines (THOMSON, SCHURTENBERGER et al. 1987; MUSCHOL and ROSENBERGER 1997; GALKIN and VEKILOV 2000; GROUAZEL, PEREZ et al. 2002). L'ensemble de ces travaux nous a alors incités à faire de même pour caractériser la binode dans le diagramme de phase de la molécule pharmaceutique étudiée. Théoriquement, la caractérisation d'une courbe d'équilibre, la solubilité par exemple, se fait par dissolution et par croissance des cristaux. On définit ensuite la température d'équilibre (T_e) correspondant à la valeur de solubilité comme $T_e = \frac{T_{croiss} + T_{disso}}{2}$ si $T_{croiss} \neq T_{disso}$. Dans notre cas la courbe d'équilibre est la binode qui correspond à l'apparition de gouttes lors du refroidissement de la solution et leur disparition dans le cas du chauffage. C'est pourquoi, nous la caractériserons par diffusion de la lumière en refroidissant et en chauffant la solution.

Les expériences de diffusion de la lumière sont réalisées au CRMC2 en diffusion statique à $\theta=90^\circ$. On mesure alors l'intensité diffusée et la température de la solution au cours du temps (fig.4.8) pour différentes concentrations en principe actif (SR 142801) dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}.

Considérons l'exemple d'une solution de SR 142801 de concentration connue ($C=14,66\%_{\text{massique}}$). La mesure de l'intensité diffusée en fonction de la température de la solution lors d'un refroidissement lent ($2^{\circ}\text{C}/\text{heure}$) (fig.4.9(a)) permet la caractérisation de la binode et de la spinode du système. En effet, si l'on détaille le graphique, on observe pour des températures comprises entre $65,0^{\circ}\text{C}$ et $39,0^{\circ}\text{C}$ une intensité diffusée faible qui correspond à une solution limpide (fig.4.10(a)). Lorsqu'on trace l'inverse de l'intensité diffusée à 90° en fonction de la température de la solution, on observe sur la figure 4.9(b) un signal linéaire entre $65,0$ et $37,3^{\circ}\text{C}$. A partir de $37,3^{\circ}\text{C}$ il y a une rupture de pente que l'on traduit dans la littérature (THOMSON, SCHURTENBERGER et al. 1987) par l'apparition de la démixtion liquide-liquide, on a alors atteint le point trouble (fig.4.10(b)). Comme nous l'avons vu dans la partie précédente ce résultat peut être confirmé à $0,5^{\circ}\text{C}$ près par microscopie optique. En effet, la diffusion de la lumière a l'avantage d'être beaucoup plus sensible (tailles faibles $\approx 10\text{nm}$) que la microscopie optique ($\approx 1\mu\text{m}$), ce qui lui permet de détecter le point trouble bien avant la méthode visuelle décrite précédemment.

Nous rappelons que la spinode (cf.Chap.II) correspond à une compressibilité infinie, or, l'intensité diffusée est proportionnelle à cette compressibilité, nous pouvons donc définir la température de la spinode par extrapolation de $\Gamma_{90^{\circ}}^{-1} \rightarrow 0$. Cette extrapolation (fig.4.9(b)) fournit une température de spinode de $33,2^{\circ}\text{C}$.

Si on continue à refroidir la solution, l'intensité diffusée augmente (fig.4.9(a)). Cette augmentation peut être la conséquence de trois phénomènes qui sont l'apparition de nouvelles gouttes au sein de la solution mais aussi la croissance et la coalescence des premières gouttes formées.

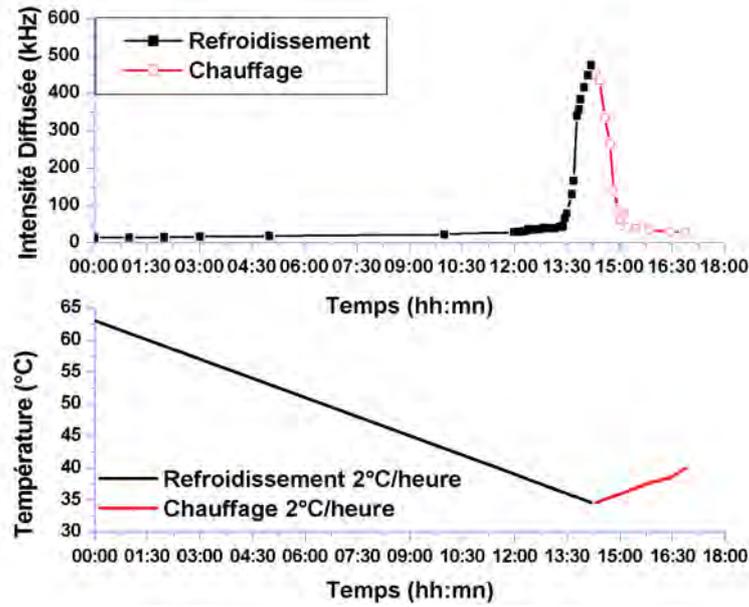


Figure 4.8 : Exemple de l'intensité diffusée d'une solution de concentration 14,66%_{massique} de SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique} et sa température au cours du temps.

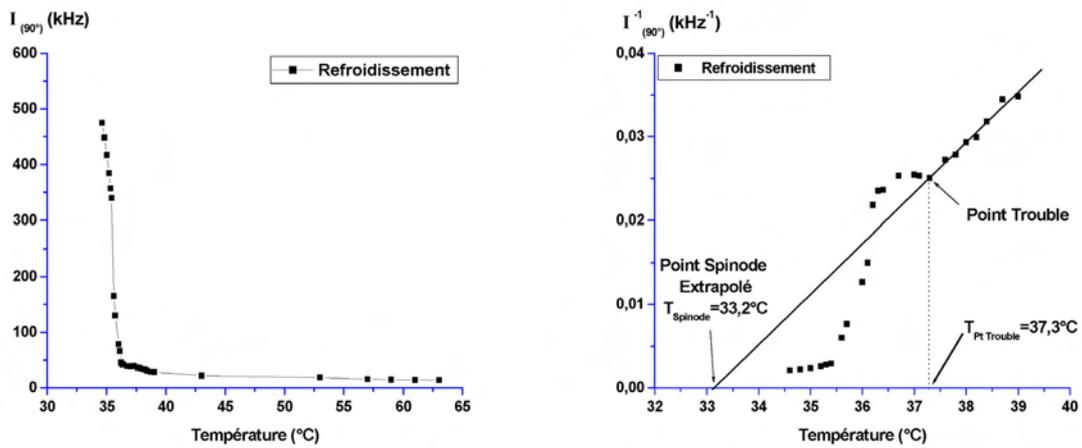


Figure 4.9 : (a) Intensité diffusée et (b) son Inverse en fonction de la température lors du refroidissement d'une solution de concentration 14,66%_{massique} de SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}.

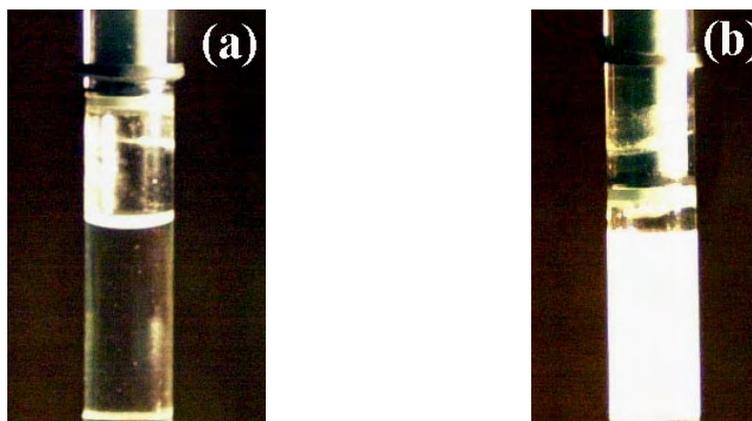


Figure 4.10 : Solution de concentration 14,66%_{massique} à différentes températures. (a) Températures de la solution comprises entre 65,0 et 39,0 °C ; (b) température de la solution à 36,5°C.

Afin de vérifier la réversibilité du phénomène de démixtion liquide-liquide, et d'obtenir la température d'équilibre des gouttes correspondant à la binode, nous avons suivi le chemin inverse en chauffant la solution avec la même rampe de température que pour le refroidissement. Les résultats présentés sur les figures 4.8 et 4.11(a) montrent que le signal de diffusion diminue avec l'augmentation de la température, le chemin suivi par le chauffage est quasi similaire à celui suivi par le refroidissement de la solution. L'homogénéisation de cette dernière a lieu à 37,1°C (fig.4.11(b)). L'écart en température entre le point trouble et celui d'homogénéisation est faible 0,2°C environ. On peut donc affirmer que pour une concentration de principe actif de 14,66%_{massique} la binode se situe à une température de 37,2°C ±0,1°C.

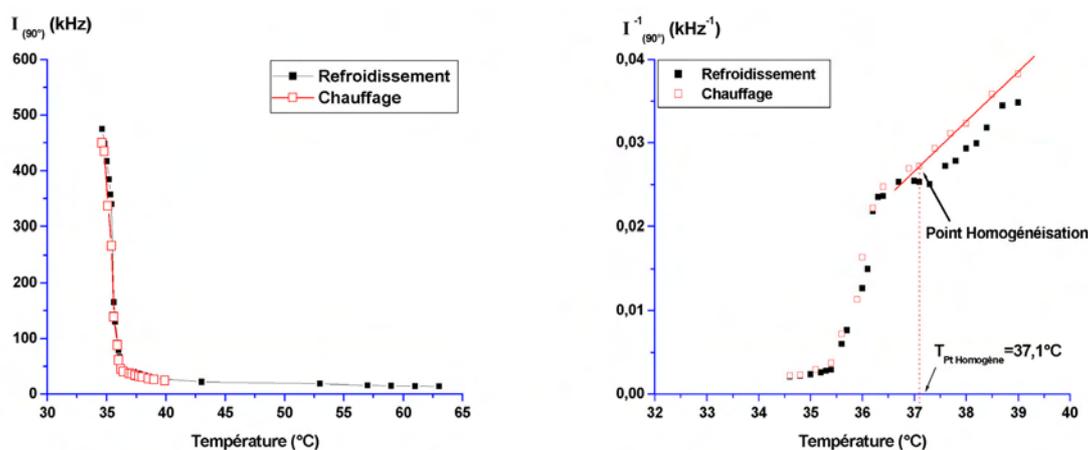


Figure 4.11 : (a) Intensité diffusée et (b) son Inverse en fonction de la température lors du refroidissement et du chauffage de la solution de SR 142801 à 14,66%_{massique} de mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}.

Les expériences de diffusion de la lumière réalisées pour différentes concentrations en principe actif (SR 142801) dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique} permettent de caractériser une partie de la binode et de la spinode dont les résultats sont reportés sur la figure 4.12. On observe sur cette dernière que l'écart entre les points de la spinode et de la binode se réduit au fur et à mesure que les deux courbes se rapprochent du point critique. La caractérisation de la binode reste incomplète puisque seule la branche correspondant à la phase diluée de la binode a pu être caractérisée par diffusion de la lumière pour des raisons techniques. La caractérisation de la branche concentrée de la binode nécessitait la préparation de solution fortement concentrée en principe actif (>36,41%_{massique}) difficile à réaliser. En effet, pour dissoudre une telle masse de principe actif il était nécessaire de chauffer la solution à des températures supérieures à 70°C causant des problèmes d'évaporation du solvant et donc de contrôle de la concentration en principe actif.

Nous avons vu dans le deuxième chapitre de ce manuscrit que la démixtion liquide-liquide traduit la non-idéalité d'une solution. Dans cette étude, la non-idéalité de la solution diluée est corrélée à la présence de la lacune de miscibilité. La non-linéarité des courbes de solubilités proches de cette lacune pourrait être interprétée comme la signature d'une nouvelle phase cristalline, c'est semble-t-il bien la signature d'une nouvelle phase mais liquide dans ce cas.

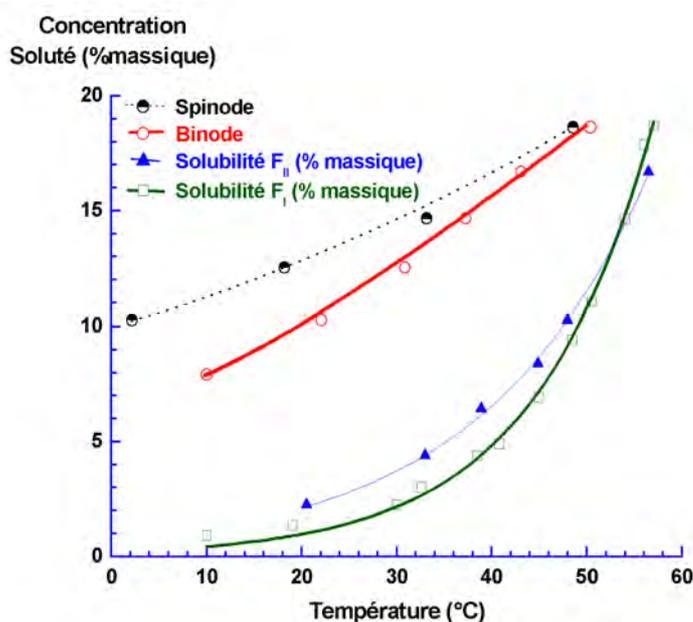


Figure 4.12 : Solubilités de F_I et F_{II} du SR 142801 et points définissant la binode et la spinode dans le mélange de solvants Ethanol/Eau(54,2/45,8)_{massique}.

Nous venons de mettre en évidence que la diffusion de la lumière est une technique de caractérisation bien plus précise que la méthode visuelle apportant aussi des informations supplémentaires comme la température de spinode définie par extrapolation. En revanche, il est difficile pour des raisons techniques de travailler à des concentrations en principe actif supérieures à 36,41%_{massique} dans notre cas. Par conséquent, la caractérisation de la branche correspondant à la phase concentrée de la binode n'a pas pu être réalisée. Pour caractériser au mieux la binode et trouver son point critique, nous nous sommes intéressés à des techniques de dosages du principe actif et du solvant dans chacune des phases obtenues après démixtion dont les résultats sont présentés dans la partie suivante.

II.3. Dosage des phases obtenues après démixtion et modélisation du point critique

On rappelle succinctement que la démixtion liquide-liquide sépare une phase liquide en deux phases liquides de concentrations différentes correspondant chacune à une branche de la binode.

Dans un premier temps, le dosage de chacune des phases liquides obtenues après démixtion a pour but de caractériser les deux branches de la binode, à savoir les branches correspondantes à la phase diluée et concentrée. Dans un deuxième temps les résultats de ce dosage nous permettent de comprendre quels peuvent-être les comportements à la fois du principe actif et du mélange de solvants Ethanol/Eau lors de la démixtion liquide-liquide.

II.3.1. Principe des expériences

Une solution contenant 22%_{massique} en principe actif (SR 142801) dans un solvant Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}, est répartie dans différentes fioles refroidies à différentes températures. Nous observons la démixtion de phase à une température d'environ 53,5°C. Après une attente d'environ 4 heures les gouttes apparues lors de la démixtion ont toutes coalescées et décantées pour former une phase liquide d'aspect huileux en équilibre (thermodynamique) avec une phase liquide plus limpide. On dose ensuite dans chaque phase liquide le principe actif et l'eau par les techniques HPLC et Karl-Fischer présentées dans le chapitre III. Notons qu'au bout de ces 4 heures aucun cristal en suspension n'a été visualisé par microscopie optique dans les deux phases liquides. On mesure donc la concentration réelle de principe actif en solution.

II.3.2. Dosage et comportement du principe actif lors de la démixtion

Le diagramme figure 4.13, représente le pourcentage massique de principe actif présent dans chacune des phases obtenues après démixtion en fonction de leur température d'équilibre. Comme on pouvait le prévoir dans ces conditions la phase continue est la phase pauvre en principe actif, on parle alors de phase diluée. En revanche, la phase formée par coalescence et décantation des gouttes est riche en principe actif, on parle donc de phase concentrée. On observe également que la concentration massique en principe actif dans la phase concentrée augmente au fur et à mesure que la température d'équilibre des deux phases liquides diminue.

Ces résultats d'analyses montrent que lors de cette démixtion liquide-liquide le principe actif se partage dans les deux phases liquides pour définir les deux branches de la binode.

Connaissant le comportement du principe actif lors de la démixtion liquide-liquide, nous allons maintenant déterminer comment les deux composés (Ethanol et Eau) du solvant se comportent lors de cette séparation de phase.

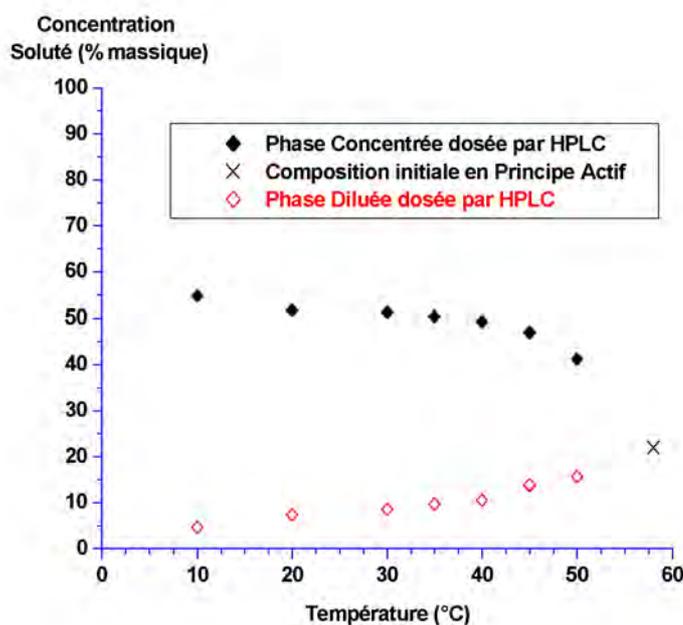


Figure 4.13 : Représentation du % massique de principe actif dans chacune des phases obtenues après démixtion liquide-liquide en fonction de leur température d'équilibre pour une concentration massique initiale (point x) en principe actif de 22%.

II.3.3. Dosage et comportement du solvant lors de la démixtion liquide-liquide

On rappelle qu'avant la démixtion, la solution est composée en masse de 22% de principe actif, 42,3% d'éthanol et 35,7% d'eau, où $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ vaut $(54,2/45,8)_{\text{massique}}$. Pour vérifier si la démixtion liquide-liquide change ou non le rapport massique des deux constituants du solvant, nous avons dosé l'eau dans chacune des phases obtenues après démixtion en utilisant la méthode de Karl-Fischer (cf. Chap.III).

Les résultats de ce dosage sont regroupés sur le graphique figure 4.14(a). On observe alors que le pourcentage massique d'eau du rapport $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ dans les deux phases, diluée et concentrée en principe actif, varie suivant la température d'équilibre de ces dernières. Ainsi, la phase diluée s'enrichit en eau au fur et à mesure que la température d'équilibre diminue. Pour la phase concentrée c'est le phénomène inverse qui se produit, le pourcentage massique en eau diminue avec la température.

Bien entendu, le comportement de l'éthanol (fig.4.14(b)) est opposé à celui de l'eau. En effet, le pourcentage massique d'éthanol dans la phase concentrée augmente avec la diminution de la température des deux phases liquides en équilibre. Le phénomène est inverse dans le cas de la phase diluée.

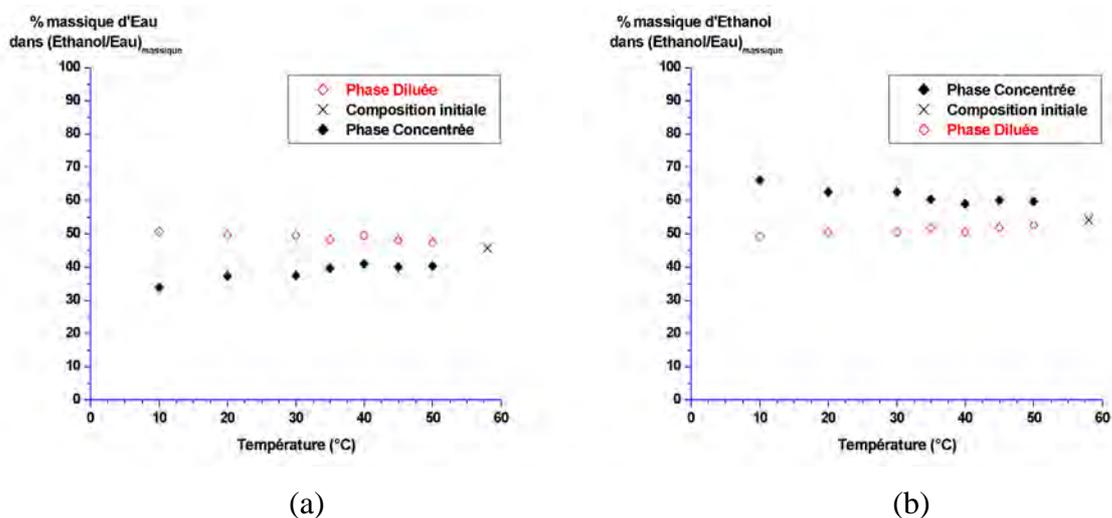


Figure 4.14 : (a) % massique d'eau et (b) d'éthanol du rapport $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ dans chacune des phases obtenues après démixtion en fonction de leur température d'équilibre.

Si on trace le rapport $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ en fonction de la température d'équilibre des phases démixées (fig.4.15), on observe pour la phase concentrée que le rapport massique

Ethanol/Eau augmente fortement lorsqu'on diminue la température. A $T=10^{\circ}\text{C}$, le rapport $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ augmente d'environ 65% de sa valeur initiale (hors démixtion). Ce qui signifie dans ce cas qu'au fur et à mesure que les phases démixées sont refroidies, les gouttes s'enrichissent en éthanol et en principe actif et s'appauvrissent en eau. Le principe actif devient alors de plus en plus soluble dans cette phase.

Si on considère la phase diluée c'est le phénomène inverse qui se produit et le rapport $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ à $T=10^{\circ}\text{C}$ diminue d'environ 18% de sa valeur initiale (hors démixtion). Le principe actif devient de moins en moins soluble dans cette phase.

Le rapport $(\text{Ethanol/Eau})_{\text{massique}}$ change avec la température de la solution. La démixtion liquide-liquide bouleverse donc le milieu de cristallisation du principe actif.

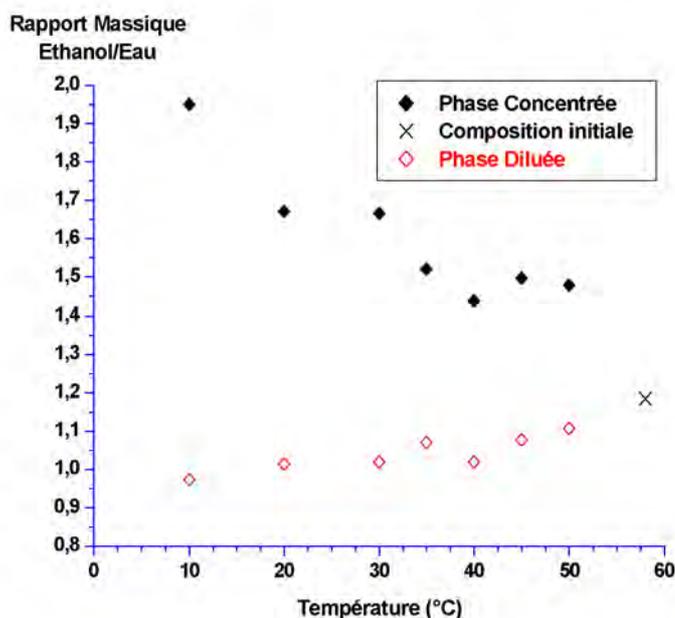


Figure 4.15 : Diagramme représentant le rapport massique Ethanol/Eau dans les différentes phases obtenues après démixtion en fonction de leur température d'équilibre.

En résumé, lorsque les deux phases obtenues après démixtion sont à l'équilibre thermodynamique, la phase la plus concentrée en principe actif, est également la phase la plus riche en éthanol alors que la phase diluée est la plus riche en eau.

L'affinité que possède le principe actif avec l'éthanol lors de la démixtion (fig.4.16) peut être corrélée avec les mesures de solubilité du principe actif dans l'eau et dans l'éthanol. En effet, la molécule de principe actif est très soluble dans l'éthanol et quasi insoluble dans l'eau. Autrement dit, cette molécule fuit les molécules d'eau mais possède en revanche une grande affinité pour le solvant éthanol.

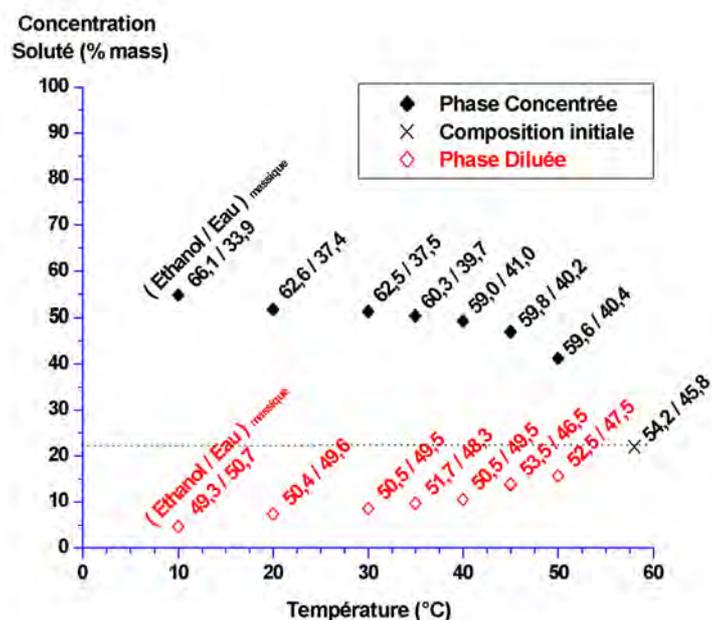


Figure 4.16 : Concentration en principe actif en fonction de la température, diagramme associé aux différents rapports (Ethanol/Eau)_{massique} dans chacune des phases liquides obtenues après démixtion.

Par ailleurs, dès que la démixtion liquide-liquide a lieu, le système étudié ne peut plus être considéré comme un pseudo-binaire mais comme un ternaire. On représente alors les compositions de chaque phase liquide, obtenue après démixtion pour une température donnée, par les diagrammes ternaires de la figure 4.17. Les points représentatifs des phases liquides obtenues après démixtion à différentes températures (fig.4.17(a)&(b)), se situent sur la binode et sont reliés par une droite dite conode qui passe également par le point correspondant à la composition initiale de la solution avant démixtion. La projection sur un même triangle équilatéral de l'ensemble des points représentatifs des phases liquides obtenues après démixtion à différentes températures, montre que tous ces points sont alignés (fig.4.18). Ces derniers forment ainsi, une partie de l'enveloppe de la lacune de miscibilité présente dans le diagramme comme le lecteur peut le visualiser sur la représentation spatiale du diagramme ternaire (fig.4.19).

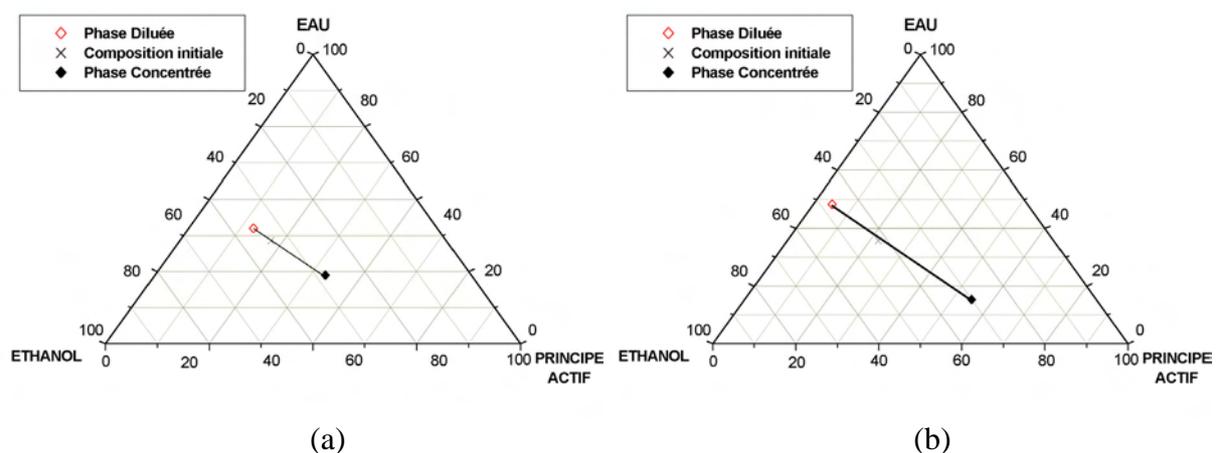


Figure 4.17 : Représentation de la composition des phases liquides (◇) Diluée et (◆) Concentrée obtenue après démixture (a) à $T=50^{\circ}\text{C}$ et (b) à $T=10^{\circ}\text{C}$. (—) Conode.

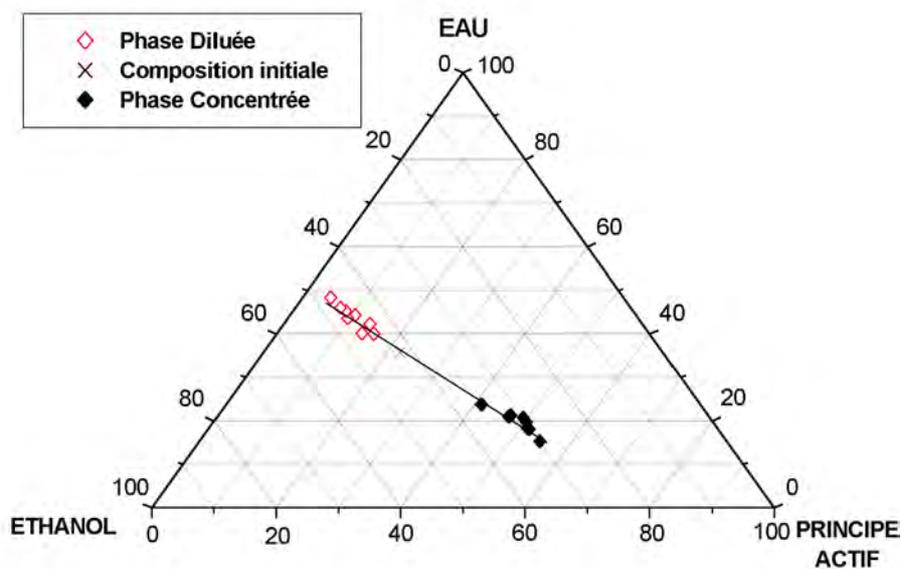


Figure 4.18 : Projection de la composition des phases liquides (◇) Diluée et (◆) Concentrée obtenue après démixture pour différentes températures ; (—) Conode.

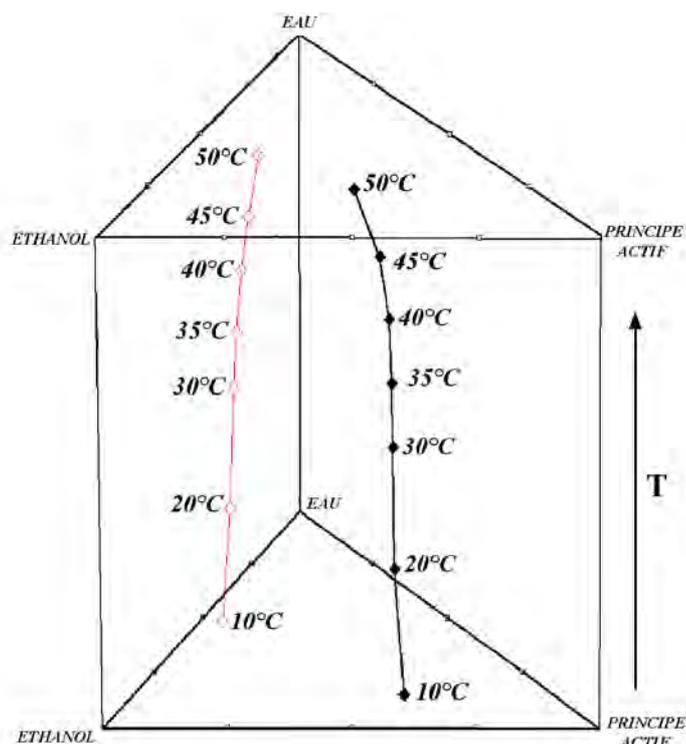


Figure 4.19 : Représentation spatiale de la composition des phases liquides (◇) Diluée et (◆) Concentrée obtenue après démixtion en fonction de la température.

La démixtion de phase changeant la concentration en principe actif et le rapport (Ethanol/Eau)_{massique}, il devenait donc primordial d'accéder aux valeurs de sursaturation établies par rapport aux formes du SR 142801 dans chacune des phases obtenues après démixtion.

II.3.4. Solubilité et sursaturation du SR 142801 dans la phase diluée et concentrée après démixtion

Pour accéder aux valeurs de sursaturation établies par rapport aux formes du SR 142801 dans chacune des phases obtenues après démixtion liquide-liquide, nous avons mesuré leur solubilité dans les différents mélanges (Ethanol/Eau)_{massique} fixés par la démixtion liquide-liquide. Les résultats de ces mesures sont présentés dans le tableau IV.3. Connaissant la concentration massique de principe actif et la solubilité de la forme I du SR 142801 dans chacune des phases liquides à l'équilibre thermodynamique, nous avons calculé la sursaturation par rapport à F_I (tab.IV.4). Pour chaque température d'étude la sursaturation

établie par rapport à F_I est plus importante dans la phase concentrée que dans celle diluée (fig.4.20).

On observe sur la figure 4.20, que la sursaturation établie par l'apparition de la démixtion, augmente de façon plus importante dans la phase concentrée que dans la phase diluée.

Si dans le milieu de cristallisation du SR 142801, Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}, on imagine qu'il n'existe pas de zone de démixtion liquide-liquide on obtient une sursaturation théorique (tab.IV.4) qui augmente au fur et à mesure que la température diminue (fig.4.20). Cela reste logique en soi, mais pour une température de 50°C cela nous permet de voir qu'il est théoriquement favorable pour la cristallisation de F_I d'être dans la zone de démixtion liquide-liquide, proche de la binode puisque la sursaturation par rapport à F_I est plus importante dans la phase concentrée et diluée que dans le système virtuellement non démixé. Cela est d'autant plus vrai que la solubilité est plus forte dans la phase concentrée. En effet, en théorie, la nucléation est plus facile dans un milieu où le produit est le plus soluble.

Dans le domaine de température compris entre 35 et 45°C environ, seule la phase concentrée de la démixtion est théoriquement plus favorable pour la cristallisation de F_I , la sursaturation établie dans cette phase étant plus importante que celle établie dans le milieu virtuellement non démixé et dans la phase diluée.

En revanche, pour des températures inférieures à 30°C environ, la sursaturation dans le système virtuellement non démixé devient beaucoup plus importante que celle établie dans les phases obtenues après démixtion. Dans ce domaine de température, la zone de démixtion devient théoriquement défavorable pour la cristallisation de la forme I du SR 142801.

Tableau IV.3 : Solubilités du SR 142801 F_I mesurées pour différents rapports (Ethanol/Eau)_{massique}.

Température (°C)	Phase Concentrée		Phase Diluée	
	(Ethanol/Eau) _{massique}	Solubilité F_I % massique	(Ethanol/Eau) _{massique}	Solubilité F_I % massique
50	59,6 / 40,4	16,27	52,5 / 47,5	5,65
45	59,8 / 40,2	11,35	53,5 / 46,5	4,90
40	59,0 / 41,0	8,04	50,5 / 49,5	2,50
35	60,3 / 39,7	--	51,7 / 48,3	1,86
30	62,5 / 37,5	5,69	50,5 / 49,5	1,49
20	62,6 / 37,4	4,09	50,4 / 49,6	1,03
10	66,1 / 33,9	3,46	49,3 / 50,3	0,40

Tableau IV.4 : Sursaturations calculées à différentes températures par rapport à F_I dans la phase diluée et concentrée, et dans un milieu hypothétique sans démixtion liquide-liquide à partir des valeurs de solubilité des tableaux IV.1 et IV.3.

Température (°C)	Phase Concentrée		Phase Diluée		Sans Démixtion liquide-liquide	
	% massique Principe Actif	β / F_I	% massique Principe Actif	β / F_I	% massique Principe Actif	β / F_I
50	41,19	2,5	15,7	2,8	22	2,1
45	47,16	4,2	13,92	2,8	22	3,1
40	46,87	5,8	10,56	4,2	22	4,7
35	50,41	--	9,71	5,2	22	7,1
30	51,25	9,0	8,59	5,8	22	10,7
20	51,66	12,6	7,34	7,1	22	24,5
10	54,74	15,8	4,59	11,5	22	55,9

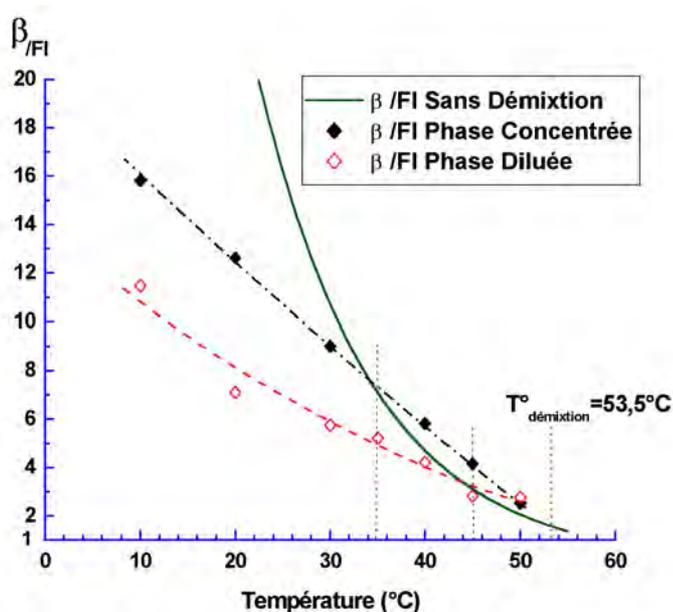


Figure 4.20 : Représentation de la température en fonction de la sursaturation par rapport à F_I , établie par l'apparition de la démixtion liquide-liquide, dans les différentes phases liquides, concentrée et diluée, puis dans un milieu hypothétique sans démixtion liquide-liquide.

En résumé, il semble que pour une concentration massique de 22% en principe actif, la zone de température 45-53,5°C serait une zone favorable pour la cristallisation. La cristallisation serait donc plus facile à la limite intérieure de la binode. De récents travaux

dans le domaine des protéines (GALKIN and VEKILOV 2001) ont montré que la fréquence de nucléation augmente près de la binode mais diminue lorsque le système rentre dans la zone de démixtion. Il semble qu'à l'approche de cette zone, le liquide le plus concentré mouille le germe cristallin. Le mouillage diminue l'énergie de surface du germe et par conséquent l'énergie libre d'activation de la nucléation augmentant ainsi la fréquence de nucléation (cf.Chap.II). Dans la zone de démixtion liquide-liquide, la phase liquide concentrée est la plus favorable à la cristallisation sur le plan de la sursaturation. Dans ce cas, la notion de mouillage n'intervient plus puisque les germes sont dans la phase concentrée. Si on compare leurs observations aux résultats de la sursaturation du SR 142801, la sursaturation calculée à la limite de la binode ($T \approx 50^\circ\text{C}$) sera d'autant plus favorable à la cristallisation si on ajoute le phénomène de mouillage du germe cristallin à la limite de la binode.

En dehors de la zone de démixtion liquide-liquide le volume du cristalliseur est de 2ml ($2 \cdot 10^{12} \mu\text{m}^3$), lorsque la démixtion liquide-liquide a lieu une multitude de petits cristalliseurs d'environ $500 \mu\text{m}^3$ (gouttes concentrées ; diamètre $\approx 20 \mu\text{m}$) va apparaître au sein du système. Or, on sait en génie des procédés que plus le cristalliseur est petit plus la nucléation est difficile (SKODA and VAN DEN TEMPEL 1963). La différence de volume du cristalliseur engendré par l'apparition de la démixtion liquide-liquide va donc générer des problèmes lors de l'extrapolation de la nucléation primaire.

La zone de démixtion de phase délimitée par la binode comporte un point critique noté C. Ce dernier définit alors une température critique T_{critique} au-dessous de laquelle le phénomène de démixtion liquide-liquide apparaît. Il est donc intéressant de modéliser les points de la figure 4.20 afin de trouver le point critique C dans le système étudié.

II.3.5. Détermination du point critique C dans l'étude du SR 142801 à partir d'un modèle empirique

Le modèle empirique proposé dans la bibliographie (éq.II.42) n'est valable que pour un domaine de températures de la solution inférieur ou égal à la température critique. On remarque aussi que pour une température inférieure à T_{critique} le modèle propose deux solutions possibles correspondantes aux valeurs des concentrations des deux phases en équilibre. Ce modèle paraît donc suffisamment robuste pour l'utiliser dans la détermination du point critique d'un système binaire en revanche, pour le système ternaire étudié ici ce modèle peut ne pas convenir du fait qu'il ne prend pas en considération le changement de rapport massique des solvants lors de la démixtion liquide-liquide.

Nous avons tout de même essayé d'ajuster les points expérimentaux (fig.4.21) de la binode du système étudié, en utilisant l'équation (IV.1) (GALKIN and VEKILOV 2000) issue du modèle (éq.II.42).

$$T_{L-L} = T_{critique} \times \left(1 - \left(\frac{1}{A} \times \left| \frac{C_{critique} - C}{C_{critique}} \right|^{\frac{1}{\beta}} \right) \right) \quad (IV.1)$$

Cette équation (IV.1) permet donc d'ajuster la binode (fig.4.21) de notre système avec un très bon coefficient de régression R de 0,98. Elle permet aussi la détermination des coordonnées du point critique dans un diagramme *concentration massique de principe actif* en fonction de la *température* de la solution. On obtient ainsi (tab.IV.5) une température critique de 327,4 Kelvin soit 54,2°C avec une erreur de $\pm 3,3$ °C et une concentration massique critique de principe actif de 29,80 % avec une erreur de $\pm 0,19\%$.

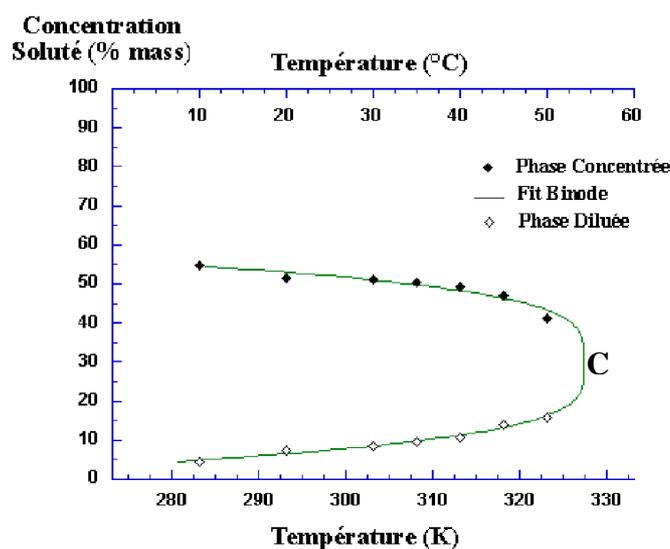


Figure 4.21 : Binode modélisée dans un diagramme pourcentage massique de principe actif en fonction de la température où C est le point critique.

Tableau IV.5: Paramètres du modèle utilisé (éq.IV.1) dans la détermination du point critique du système SR 142801 dans mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}.

	$T_{critique}$	$C_{critique}$	A	β	R
Valeur	327,4 K ou 54,2°C	29,8 %	1,405	0,260	0,98
Erreur	3,3 K ou °C	0,19 %	0,114	0,045	-

Connaissant maintenant la composition en principe actif au point critique (tab.IV.5), nous avons déterminé graphiquement la composition en Ethanol et en Eau au point critique. Pour cela, il nous a suffi de tracer sur la figure 4.22 une droite parallèle à la base correspondant au binaire Ethanol-Eau, passant par la composition 29,8%. L'intersection de cette droite avec la conode fournit graphiquement la composition en Ethanol soit 39,1%, et en Eau soit 31,1%, au point critique.

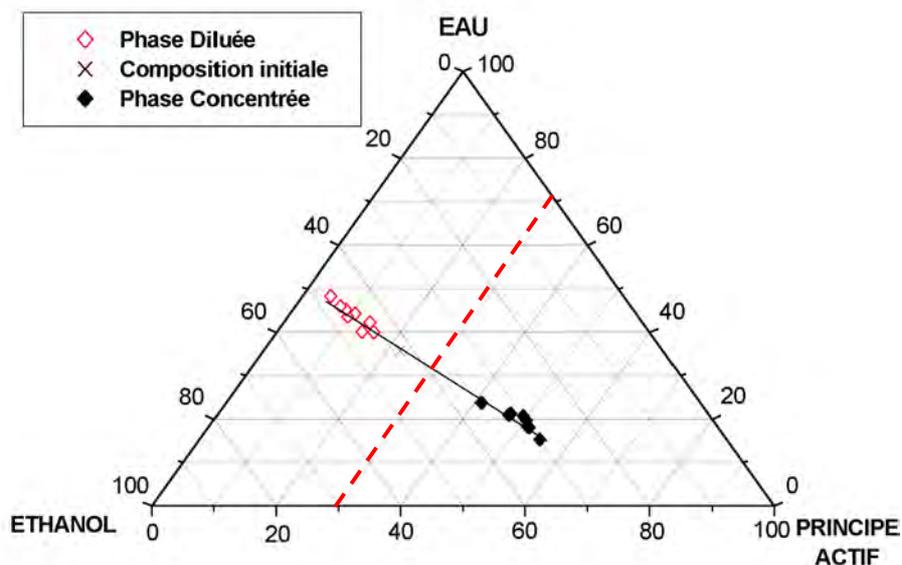


Figure 4.22 : Projection de la composition des phases liquides (\diamond) Diluée et (\blacklozenge) Concentrée obtenue après démixtion pour différentes températures ; (—) Conode ; (- - -) Composition en principe actif 29,8% en masse.

En résumé, le modèle empirique utilisé précédemment permet un bon ajustement des points de la binode dans le cas de système binaire. Dans le cas de système ternaire comme le SR 142801, l'ajustement des paramètres fournis les coordonnées du point critique avec une précision de $\pm 0,2\%$ sur la concentration critique et $\pm 3,3^\circ\text{C}$ sur la température critique. Ces coordonnées nous ont permis par la suite d'estimer par résolution graphique la composition en Ethanol et en Eau au point critique défini précédemment. Ce modèle empirique est limité aux systèmes binaires, c'est pourquoi nous nous sommes intéressés à des modèles thermodynamiques pour essayer d'ajuster ou prédire le diagramme ternaire que nous étudions.

II.3.6. Résultats préliminaires de l'approche de la modélisation de la démixtion liquide-liquide par traitement thermodynamique dans l'étude du SR 142801

Le système ternaire étudié est composé d'éthanol, de principe actif et d'eau, que l'on notera respectivement par la suite (1), (2) et (3). Les résultats que nous présentons dans la suite ne sont que des résultats préliminaires de modélisation de l'équilibre liquide-liquide présent dans ce diagramme ternaire.

Nous avons pour cela fait le choix de deux modèles l'un est purement prédictif c'est le modèle UNIFAC, l'autre est le modèle NRTL d'ajustement de paramètres à partir de données binaires.

Considérons maintenant le modèle NRTL. Pour l'utiliser nous avons besoin de paramètres binaires d'équilibre liquide-liquide ou liquide-vapeur entre chaque binaire (1)-(2), (1)-(3), et (2)-(3). Il existe de nombreuses données dans la littérature sur l'équilibre liquide-vapeur entre (1)-(3). En revanche nous n'avons aucune données disponibles pour les binaires (1)-(2) et (2)-(3). Sachant que le principe actif est quasi insoluble dans l'eau, nous avons fait deux hypothèses concernant le binaire (2)-(3). On lui attribue alors des données de miscibilité notées PM pour peu miscible et TPM pour Très Peu Miscible (annexe 4.3). Nous ne possédons également aucune valeur de paramètres pour le binaire (1)-(2) par conséquent nous faisons un ajustement de ces paramètres avec les données expérimentales obtenues par dosage du principe actif et de l'eau dans chaque phase lors de la démixtion à différentes températures d'une solution concentrée à 22%_{massique} en principe actif. Les premiers résultats présentés en annexe 4.4 montrent que le modèle NRTL semble ajuster convenablement les points expérimentaux mais il n'est pour l'instant pas possible d'obtenir le point critique comme ce fut le cas avec le modèle empirique proposé précédemment. Pour améliorer les résultats obtenus avec le modèle NRTL il faudrait obtenir de nouvelles données expérimentales sur le binaire (1)-(2) notamment.

Avec le modèle UNIFAC nous souhaitons prédire le diagramme ternaire. La représentation des propriétés de mélanges de plusieurs constituants ne peut être réalisée que si tous les paramètres d'interactions binaires entre groupes fonctionnels sont disponibles. Les trois molécules (1), (2) et (3) doivent être décomposées en différents groupes connus. Les paramètres d'interactions binaires entre groupes déterminés expérimentalement à partir d'équilibres liquide-liquide et liquide-vapeur sont donnés dans des tables (GMEHLING, RASMUSSEN et al. 1982). Cependant certains groupes n'existent pas dans ces tables, nous

sommes alors obligés d'estimer des valeurs d'interactions. Les premiers résultats présentés en annexe 4.5 montrent clairement que le modèle UNIFAC ne convient pas à la prédiction du ternaire, il surestime trop la phase concentrée et pas assez la phase diluée. Pour améliorer les résultats il faudrait semble-t-il mieux estimer les valeurs d'interactions entre groupes.

Le modèle d'ajustement de paramètres binaires (NRTL) paraît être le modèle sur lequel il faudrait s'orienter pour modéliser le diagramme ternaire de cette étude.

III. CONCLUSION

Nous avons abordé dans ce chapitre les problèmes de nucléation de principes actifs avec une approche relativement fondamentale qui nécessitait la caractérisation du diagramme de phases des molécules pharmaceutiques étudiées et plus particulièrement du SR 142801.

Ce principe actif possède en effet un diagramme de phases complexe avec la présence de deux polymorphes et d'une démixtion liquide-liquide. La caractérisation de ce diagramme nous a permis dans un premiers temps de présenter une méthodologie pour caractériser et isoler le polymorphe le plus stable puis d'approfondir dans un deuxième temps l'étude de la démixtion liquide-liquide d'une molécule d'intérêt pharmaceutique. On a ainsi observé qu'une solution diluée peut être non-idéale, cet écart à l'idéalité déjà largement commenté dans la littérature (GRANT, MEHDIZADEH et al. 1984) est dans le cas de cette étude corrélée à la présence d'une zone de démixtion liquide-liquide. Cette non-idéalité se traduit par la non-linéarité des courbes de solubilités proches de cette zone de démixtion liquide-liquide. Elle pourrait faussement être interprétée comme la signature d'une nouvelle phase cristalline alors qu'il semble que ce soit la signature d'une nouvelle phase mais liquide dans ce cas. Cette dernière apparaît dans les zones métastables des deux polymorphes, la démixtion liquide-liquide a donc lieu avant la cristallisation d'une des formes changeant ainsi le milieu de cristallisation. En effet, nous avons montré par des techniques de dosages que la concentration en principe actif et le rapport Ethanol/Eau étaient différents pour chaque température de démixtion liquide-liquide. Les résultats de modélisation de la binode à partir d'un modèle empirique sont satisfaisants et permettent d'estimer le point critique de notre système. Les premiers résultats de l'approche de la modélisation de la démixtion liquide-liquide par traitement thermodynamique montrent que le modèle d'ajustement de paramètres binaires (NRTL) paraît

être le modèle vers lequel il faudrait s'orienter pour modéliser le diagramme ternaire de cette étude.

Du point de vue de la cristallisation, les sursaturations calculées par rapport à F_1 montrent que les conditions dans les deux phases liquides obtenues après démixtion liquide-liquide, en fonction de leur température d'équilibre, sont réunies pour déclencher la nucléation du SR 142801.

Nous allons donc maintenant essayer de trouver et d'optimiser les conditions de déclenchement de la nucléation de la forme I, la plus stable, en se rapprochant des conditions du procédé en milieu agité. Pour cela nous utiliserons dans le prochain chapitre la connaissance du diagramme de phases du SR 142801 pour étudier notamment l'influence de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation par ensemencement en milieu agité.

Chapitre V

DE

L'APPROCHE FONDAMENTALE

VERS

L'APPLICATION PROCEDE

DE LA NUCLEATION DE

PRINCIPES ACTIFS

Vous savez ce que c'est que la recherche : on part sur une question et on trouve en cours de route des faits qui vous en posent une autre.

Philippe Meyer, Sociologue et journaliste français

Extrait de Les progrès du progrès

L'étude en milieu stagnant du SR 142801 a permis de mettre en évidence l'apparition d'une zone de démixtion liquide-liquide dans son diagramme de phases. Cette démixtion liquide-liquide bouleverse le milieu de cristallisation du principe actif, en changeant notamment la sursaturation de la solution. Nous avons également observé par microscopie optique que la démixtion liquide-liquide correspond à l'apparition de nombreuses gouttes qui croissent, coalescent et finissent par décanter formant deux phases distinctes en milieu stagnant. Or, si on se place dans un milieu agité comme c'est le cas dans le procédé de cristallisation, les gouttes vont former une émulsion qui risque d'influencer les propriétés rhéologiques du système. Ainsi, au cours du procédé de cristallisation du principe actif, le changement de viscosité du système induit par la démixtion liquide-liquide peut compliquer les différentes missions de l'agitation (SAURY 1991) comme la mise en suspension homogène de solides et/ou de liquides, les transferts de chaleur et de matière et enfin le régime d'écoulement. Ce changement de milieu de cristallisation pourrait alors influencer la reproductibilité, la nature et les propriétés du produit fini obtenu.

Ce dernier chapitre représentant les derniers mois de cette thèse peut être considéré par le lecteur comme un travail d'orientation des futures recherches sur le sujet. Ayant une bonne connaissance du diagramme de phases obtenu en milieu stagnant, nous avons décidé de nous rapprocher du procédé en étudiant en milieu agité la démixtion liquide-liquide et son influence sur la cristallisation par ensemencement.

I. DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE EN MILIEU AGITE

La solubilité est une propriété thermodynamique indépendante du volume d'étude et de l'agitation de la solution. Dans le domaine de la cristallisation, on sait que la cinétique (agitation et vitesse de refroidissement par exemple) joue un rôle important sur la fréquence de nucléation des cristaux, c'est à dire sur la largeur de zone métastable. Ainsi, il est désormais acquis que plus une solution sursaturée est agitée plus la zone métastable est réduite et donc plus vite les cristaux vont apparaître en solution. En revanche, pour la démixtion liquide-liquide nous ne possédons à ce jour aucune information sur l'influence que pourrait avoir l'agitation et la vitesse de refroidissement de la solution sur l'apparition des gouttes. Nous présentons dans cette partie les résultats concernant la caractérisation de la binode par des techniques de diffusion de la lumière (Turbidimétrie et FBRM) et de conductivité en milieu agité. Nous montrons ensuite que l'apparition de la démixtion liquide-

liquide est sensible à la vitesse de refroidissement de la solution. Puis, nous présentons les résultats concernant la caractérisation du comportement des gouttes en milieu agité. Enfin nous discutons les résultats des points de la binode obtenus par diffusion de la lumière en milieu stagnant et par turbidimétrie et FBRM en milieu agité.

I.1. Caractérisation in-situ de la binode en milieu agité

Théoriquement, la caractérisation d'une courbe d'équilibre, la solubilité par exemple, se fait par dissolution et par croissance des cristaux. On définit ensuite la température d'équilibre (T_e) correspondante à la valeur de solubilité comme $T_e = \frac{T_{croiss} + T_{disso}}{2}$ si $T_{croiss} \neq T_{disso}$. Dans notre cas la courbe d'équilibre est la binode qui correspond à l'apparition de gouttes lors du refroidissement de la solution et leur disparition dans le cas du chauffage. C'est pourquoi, nous la caractériserons en refroidissant et en chauffant une solution de concentration donnée en principe actif en mesurant en temps réel et simultanément la turbidité et la conductivité de cette dernière. La température de la solution est connue à chaque seconde, par conséquent il est possible de représenter la turbidité et la conductivité de la solution en fonction de la température afin de déterminer la température de point trouble (apparition ou nucléation des gouttes) ou d'homogénéisation (disparition ou dissolution des gouttes). Il est important de noter que pour l'ensemble des expériences de caractérisation de la binode, aucune cristallisation n'a été observée avant l'apparition de la démixtion.

La figure 5.1(a) présente le relevé de turbidité d'une solution refroidie dans les conditions opératoires suivantes :

- Concentration de la solution égale à 14.66%massique de SR142801,
- Solvant d'étude : Mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique},
- Volume de solution égale à 200 ml,
- Agitation : 500 rpm
- Vitesse de refroidissement : 1°C/h

Pour des températures supérieures à 36,5°C la solution est limpide et sert de valeur de référence. Notons cependant que le signal de base ou référence n'est pas nul car la sonde turbidimétrique proche de l'agitateur « voit » ce dernier qui y est donc sensible.

A 36,1°C, le signal de turbidité diminue avec la température de la solution qui commence à s'opacifier. Or, lors de l'apparition de gouttes, on s'attend à ce que ces dernières diffusent

plus la lumière augmentant ainsi le signal de turbidité. On rappelle que la mesure de la turbidité est une mesure relative. D'un point de vue physique, on explique la diminution du signal turbidimétrique par le fait que les gouttes « cachent » l'agitateur mécanique à l'origine du signal de base. Si on continue à refroidir la solution, le signal de turbidité augmente pour des températures inférieures à 35,5°C. Cette augmentation peut être la conséquence de trois phénomènes qui sont l'apparition de nouvelles gouttes au sein de la solution mais aussi la croissance et la coalescence des premières gouttes formées. En dessous de 32°C le plateau que l'on observe sur la figure 5.1(a) n'a aucun sens physique, il s'agit simplement de la saturation du signal de turbidité.

De la même façon que dans le chapitre précédent nous avons chauffé la solution démixée avec la même vitesse que pour le refroidissement soit 1°C/h. Le signal de turbidité (fig.5.1(b)) correspondant au chauffage de la solution se juxtapose parfaitement à celui du refroidissement. La température d'homogénéisation de la solution (disparition de la démixtion liquide-liquide) est assez proche de la température du point trouble. On peut donc affirmer que pour une concentration de principe actif de 14,66%_{massique} un point de la binode en milieu agité se situe à une température de 36,2°C ±0,1°C.

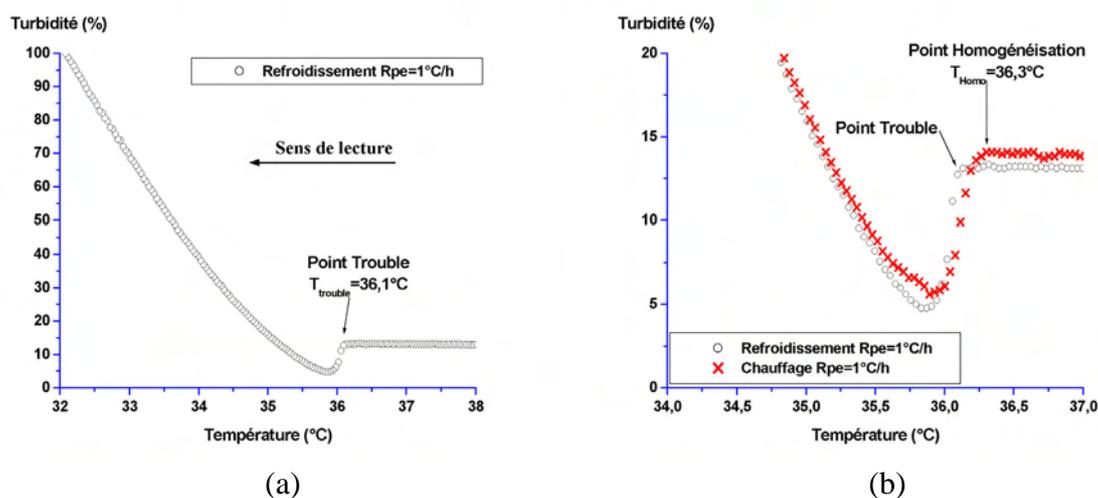


Figure 5.1 : Relevé de turbidité en fonction de la température d'une solution de SR142801 (a) refroidie puis (b)chauffée avec la même vitesse de 1°C /h.

Considérons dans les mêmes conditions opératoires le signal de conductivité. Ce dernier, varie avec la température avec une loi de type Arrhénius suivante ;

$$\chi = \chi_0 \cdot \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \text{ où } \chi \text{ est la conductivité électrique d'une solution (S.cm}^{-1}\text{), } E \text{ l'énergie d'activation (J.mol}^{-1}\text{), } R \text{ la constante des gaz parfait (J.mol}^{-1}\text{.K}^{-1}\text{) et } T \text{ la température (K). En}$$

représentant le logarithme du signal de conductivité en fonction de $1/T$, nous devrions obtenir une droite. Or, on observe sur la figure 5.2 une rupture de pente lors du refroidissement de la solution. On peut estimer à la lecture graphique que la rupture de pente se produit vers $37,3^{\circ}\text{C}$. Cette rupture de pente coïncide pratiquement avec l'augmentation de turbidité de la solution à $T=36,1^{\circ}\text{C}$ (fig.5.1(a)). On pourrait donc penser que la conductivité électrique de la solution refroidie est plus sensible à l'approche de la démixtion que ne l'est la turbidité. Mais cette détermination reste purement graphique, il est donc difficile de lui accorder beaucoup d'importance. De plus lors du chauffage de la solution la valeur de conductivité à la sortie de la zone de démixtion est différente de celle d'entrée, avec $T=38,6^{\circ}\text{C}$. On peut alors définir un point de la binode à une température de $38,0^{\circ}\text{C}\pm 0,6^{\circ}\text{C}$ pour une solution à $14,66\%$ massique en principe actif. La différence entre les points de la binode caractérisée par turbidimétrie et par conductimétrie est de $1,8^{\circ}\text{C}\pm 0,9^{\circ}\text{C}$. Cette différence peut être due à l'imprécision de la résolution graphique dans le cas de la conductivité mais aussi à des problèmes d'ordre techniques comme la pollution des électrodes de conductivité lors de la démixtion. Théoriquement à l'entrée comme à la sortie de la démixtion la solution possède la même concentration en principe actif dans le cas où aucune cristallisation n'aurait lieu à l'intérieur de la zone de démixtion et devrait donc donner la même valeur de conductivité. Or ceci n'est pas vérifié dans notre cas (fig.5.2), et aucun cristal n'est apparu. Le passage par la démixtion liquide-liquide perturbe donc considérablement le signal de conductivité qui reste donc difficilement interprétable.

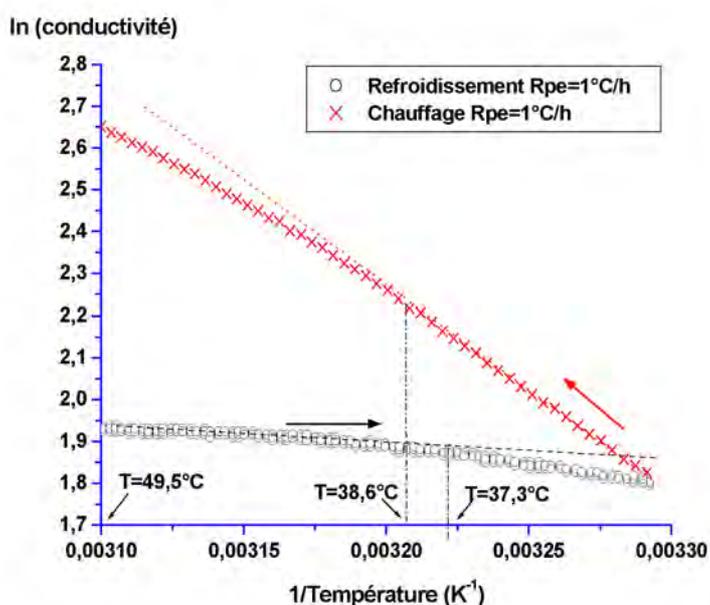


Figure 5.2 : Graphique représentant l'influence de la température sur la conductivité d'une solution de principe actif refroidie puis chauffée.

En résumé, la turbidimétrie semble être la technique appropriée à la caractérisation de la binode en milieu agité.

Des techniques de visualisation de la solution ont également été testées durant 3 jours dans les conditions opératoires décrites précédemment.

La première technique est un microscope de vision continue « in-process », la Particle Vision and Measurement (PVM) décrite dans le chapitre III. En plaçant cette sonde dans le milieu il est possible de voir jusqu'à 60% de particules en suspension avec une bonne qualité d'image et une résolution de 5 μ m. Nous avons ainsi pu suivre le comportement d'une solution de SR 142801 lors de son refroidissement à la vitesse de 1°C/h. Lorsque la solution est limpide, la sonde fournit une image noire (fig.5.3(a)). En revanche, pour une température de 36°C (fig.5.1) l'image commence à s'éclaircir pour laisser entrevoir quelques gouttes en suspension (fig.5.3(b)). Si on continue à refroidir la solution, on observe de plus en plus de gouttes qui semblent croître (fig.5.3(c)). Cette technique semble être moins sensible que la turbidimétrie dans la détection de la démixtion liquide-liquide, mais elle permet d'observer la nature et la forme des particules en suspension. La PVM peut donc être une technique complémentaire et de validation de la turbidimétrie.

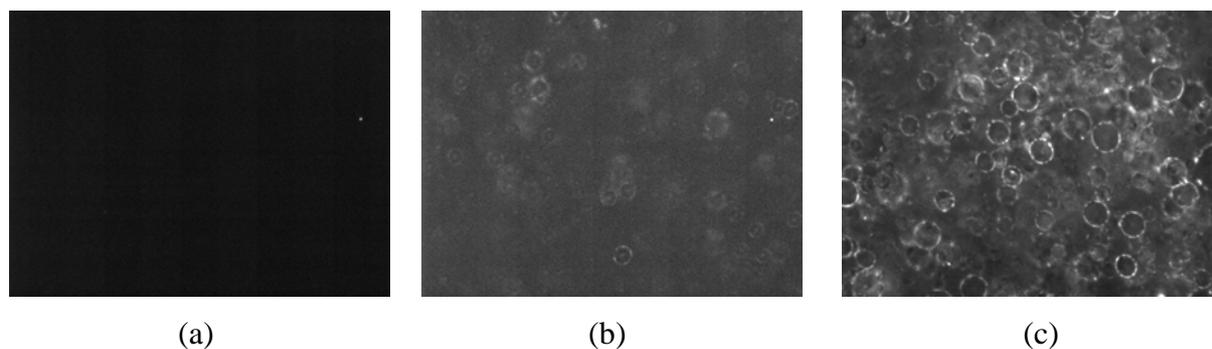


Figure 5.3: Images fournies par la PVM (a) solution limpide à T=40°C, (b) apparition de quelques gouttes en suspension à T=36°C, le système commence sa rentrée dans la zone de démixtion, (c) gouttes plus nombreuses et plus grosses, la solution démixée continue à être refroidie à T=35°C.

La seconde technique est un pilote mis au point par Rivoire au sein du laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés de Lyon. Le dispositif expérimental ainsi que le

principe ont été préalablement décrits dans le chapitre III de ce manuscrit. Nous avons réalisé la même expérience que précédemment afin de comparer les deux techniques de visualisation. Lors du refroidissement de la solution, nous avons observé la démixtion liquide-liquide à 36°C. Cette démixtion liquide-liquide s'est traduit par une opacification brutale de la solution, obscurcissant complètement l'image, dans ces conditions la visualisation de l'apparition des gouttes n'est pas possible. Cette technique tout comme la PVM est limitée par la densité de particules en suspension. Ainsi dans notre cas, l'observation des gouttes en suspension (fig.5.4) ne peut être réalisée que lors de l'arrêt du mobile d'agitation du système, ce qui pourrait être gênant dans le cas d'une étude de l'influence de l'agitation sur la nucléation ou les transitions de phases par exemple. En revanche, dans le cas où la densité de particules en suspension le permettrait, la technique de visualisation mis au point par Rivoire fournit de meilleures images que la PVM. Il est à noter d'un point de vue économique que le pilote Rivoire est bien meilleur marché que la PVM, pratiquement 5 fois moins coûteux.

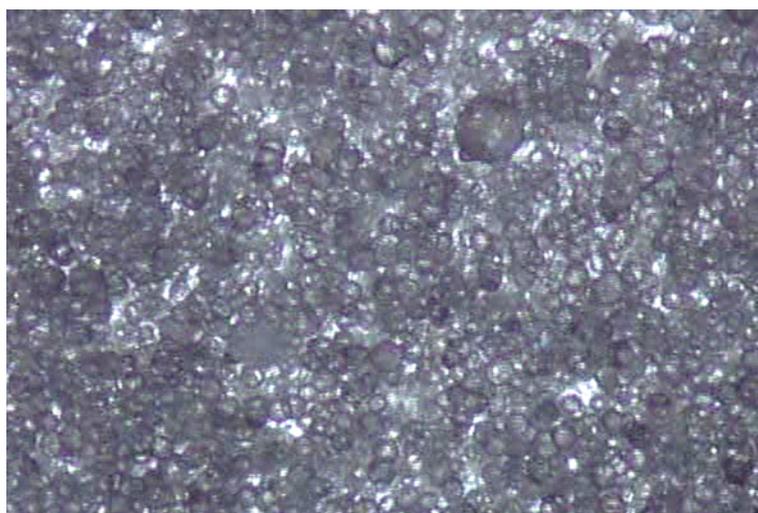


Figure 5.4 : Gouttes photographiées par la technique de visualisation mis au point par Rivoire, à T=35°C avec l'agitation arrêtée.

En résumé, la turbidimétrie couplée à une des sondes de visualisation « in-process » sont deux techniques complémentaires. Leur utilisation dans l'élaboration du procédé de cristallisation d'une molécule pharmaceutique pourrait s'avérer très intéressant pour la mesure de zone métastable, pour la visualisation de transitions de phases (Polymorphisme et démixtion) et pour la validation d'un procédé.

I.2. Influence de la rampe de refroidissement sur l'apparition de la démixtion liquide-liquide

La vitesse de refroidissement d'une solution peut-elle être un facteur influençant de façon importante l'apparition de la démixtion liquide-liquide ? Pour répondre à cela, nous avons refroidi la même solution que précédemment avec une vitesse plus rapide, 14°C/h au lieu de 1°C/h précédemment. On observe alors sur la figure 5.5(a) que l'apparition du point trouble dans la solution varie très légèrement avec la vitesse de refroidissement. On observe ainsi que le point trouble apparaît à 35,1°C pour une vitesse de 14°C/h, au lieu de 36,1°C pour une vitesse de 1°C/h. On peut ainsi voir que plus le refroidissement est rapide plus le point trouble apparaît tardivement. De façon plus imagée, plus on entre vite dans le domaine de démixtion plus on va profond !

Par ailleurs, en suivant le chemin inverse, avec la même vitesse que pour le refroidissement soit 14°C/h, on observe (fig.5.5(b)) l'homogénéisation de la solution à une température de 36,3°C. Notons que la disparition des gouttes a lieu à une même température, 36,3°C, quelque soit la rampe de chauffage. Ainsi, pour une vitesse de refroidissement et de chauffage de 14°C/h, on obtient un point de la binode en milieu agité à une température de 35,7°C \pm 0,6°C pour une concentration en principe actif de 14,66%_{massique}.

On remarque donc que le point de la binode obtenu pour une rampe de température de 1°C/h diffère de celui obtenu pour 14°C/h. Nous considérons que cette différence correspond au domaine d'imprécision des mesures. Par conséquent, pour une solution agitée et concentrée en principe actif à 14,66%_{massique}, nous définissons le point de la binode à T= 36,0°C \pm 0,8°C. Mais pour expliquer cette différence, on peut aussi avancer l'hypothèse que la cinétique de nucléation des gouttes est plus lente que celle de leur dissolution. Le comportement des gouttes serait alors différent du comportement que peut avoir une population de cristaux en suspension. En effet, dans le domaine de la cristallisation en solution, la cinétique de croissance et de dissolution de cristaux est équivalente.

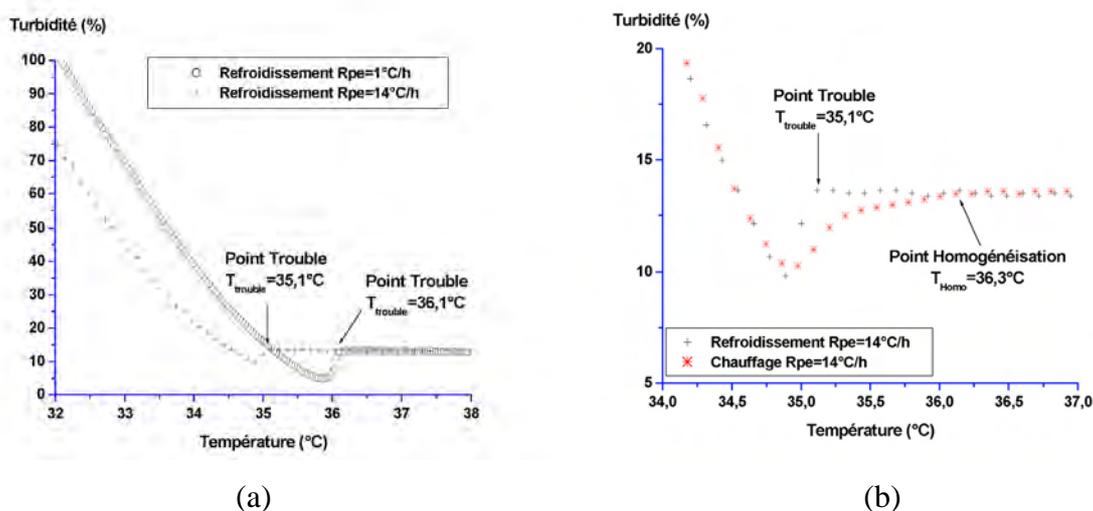


Figure 5.5 : Relevé de turbidité en fonction de la température d'une solution de SR142801 (a) refroidie avec deux vitesses différentes 1 et 14°C/h puis (b)chauffée à 14°C /h.

La turbidimétrie nous permet de mesurer la binode en revanche il est difficile d'avoir des informations précises sur le comportement des gouttes lors de la démixtion liquide-liquide.

I.3. Comportement des gouttes lors de la démixtion liquide-liquide par comptage des particules en suspension (FBRM)

Pour détecter l'apparition de gouttes en solution et comprendre leur comportement au fur et à mesure que la solution est refroidie nous avons placé une sonde FBRM dans le milieu. Cette dernière mesure des centaines de milliers de cordes par seconde. Il en résulte une distribution en nombre de longueurs de cordes (nombre de comptes par seconde triés par longueur de corde dans 1000 canaux répartis sur une échelle linéaire) (cf.Chap.III). La Distribution des Longueurs de Cordes ou DLC pour la clarté du manuscrit, caractérise de façon unique une distribution de particules de tailles et de formes données.

Nous avons choisi de suivre l'évolution de 3 DLC (1-20 μm ;20-50 μm ;50-100 μm) de particules en suspension pour une solution agitée à 500 rpm, concentrée à 14,66%_{massique} en principe actif, et refroidie avec une vitesse de 14°C/h.

Pour des températures supérieures à 35,2°C la sonde compte très peu de particules en suspension appartenant au 3 DLC (fig.5.6(a)), en revanche à $T=35,2^{\circ}\text{C}$ la sonde commence à

compter un nombre plus important de particules de longueur de corde compris entre 1 et 20 μm , c'est l'apparition des gouttes de la démixtion liquide-liquide. Si on continue à refroidir la solution, on observe deux phénomènes : l'apparition des gouttes continue, puisque au fur et à mesure que la température diminue la DLC 1-20 μm augmente. Dans un deuxième temps, on voit que les premières gouttes apparues augmentent leur taille puisque les DLC 20-50 μm et 50-100 μm augmentent à partir respectivement de 34°C et 31,5°C. Comme le système est continûment approvisionné par de nouvelles gouttes apparues lors du refroidissement de la solution, il est difficile de déterminer si l'augmentation de taille des gouttes est un phénomène de croissance ou de coalescence.

En suivant le chemin inverse et en considérant uniquement la DLC (1-20 μm) des gouttes qui sont les premières à apparaître et à disparaître, on observe sur la figure 5.6(b) que la température d'apparition des gouttes, 35,2°C ne correspond pas à celle de leur disparition, 36,3°C comme nous avons pu le montrer par turbidimétrie dans la partie I.2 de ce chapitre. Par conséquent pour une solution agitée et concentrée en principe actif à 14,66%_{massique}, nous définissons le point de la binode à $T = 35,7^\circ\text{C} \pm 0,6^\circ\text{C}$. Ce résultat est en total accord avec les résultats obtenus par turbidimétrie. On rappelle que les sondes FBRM et turbidimétrique ont le même principe de mesure par rétro diffusion, donnant ainsi des points troubles et d'homogénéisations avec la même précision.

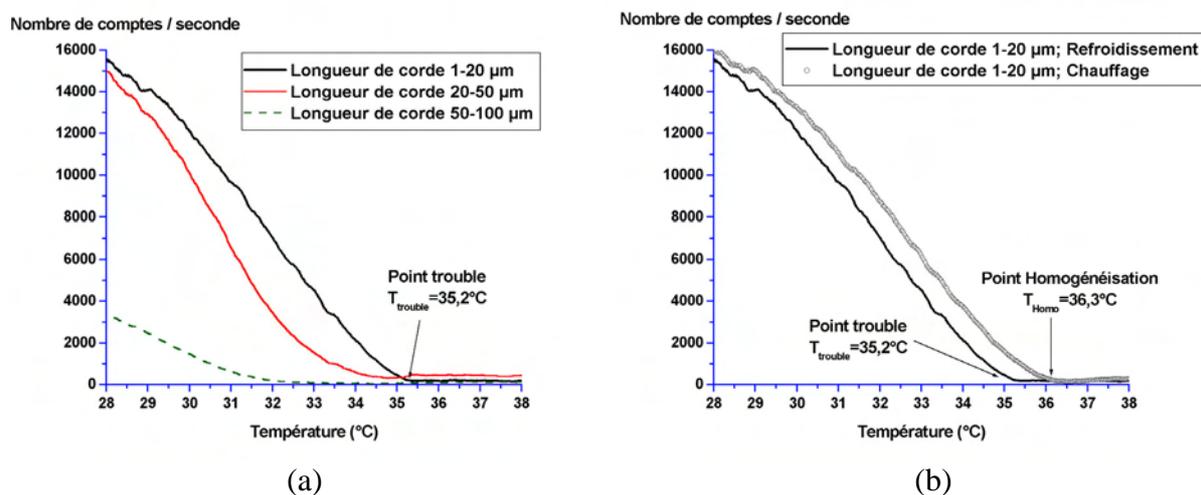


Figure 5.6 : Relevé du nombre de comptes par seconde en fonction de la température pour (a) 3 DLC lors du refroidissement ; (b) comparaison du comportement des gouttes compris entre 1-20 μm de longueur de corde lors du refroidissement puis du chauffage de la solution de principe actif.

I.4. Comparaison des points de la binode obtenus par diffusion de la lumière en milieu stagnant et par turbidimétrie en milieu agité

Rappelons que les mesures de diffusion de la lumière sont faites à partir d'échantillons de solution de faible volume (200 μ l) non agitée alors que les mesures de turbidité sont plus proches de ce qui peut se passer dans un procédé puisque les mesures sont faites dans un cristalliseur (200ml et 500ml) dimensionné sous agitation.

On observe (fig.5.7) que les points de la binode obtenus par turbidimétrie en milieu agité pour différentes concentrations en principe actif apparaissent pour des températures inférieures de 1°C à ceux mesurés par diffusion de la lumière en milieu stagnant. On explique cette différence par le fait que sous agitation la solution est plus homogène et les fluctuations de concentration à l'origine de la démixtion sont alors amorties. Cette différence peut également venir de la technique de caractérisation utilisée. En effet, dans le cas de la diffusion de la lumière en milieu stagnant l'angle entre le faisceau incident et le faisceau recueilli est de 90°, l'intensité diffusée est mesurée sous un angle où les molécules diffusent le plus, cette technique est donc très sensible à la moindre apparition de gouttes dans la zone de mesure. En revanche avec la turbidimétrie, le faisceau incident et le faisceau réfléchi forment un angle de 0° ou de 360° (rétro diffusion). Sous un tel angle les molécules diffusent une intensité beaucoup plus faible qu'à 90°. Cette propriété pourrait donc être à l'origine de l'écart de 1°C entre la binode caractérisée en milieu stagnant et celle en milieu agité.

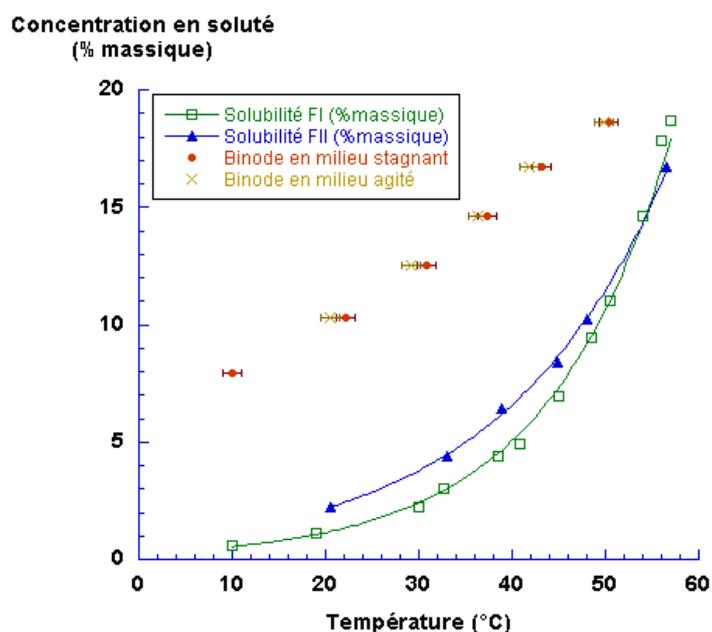


Figure 5.7 : Mesure de la binode par différentes techniques de diffusion de la lumière en milieu stagnant et agité.

L'approche en milieu stagnant de la caractérisation de la binode par diffusion de la lumière s'avère satisfaisante puisque les résultats sont proches de ceux fournis par turbidimétrie et FBRM en milieu agité. La FBRM nous a fournis une information supplémentaire concernant les mécanismes de démixtion puisque l'on peut voir la différence entre la nucléation et la croissance des gouttes. La turbidimétrie et la FBRM couplées à une des sondes de visualisation « in-process » sont des techniques permettant une bonne caractérisation de la limite de démixtion liquide-liquide et du comportement des gouttes en suspension dans un procédé.

Désormais, nous avons une bonne connaissance des phénomènes et du comportement de la solution de SR 142801 en milieu agité. Mais le SR 142801, on le rappelle, est une molécule difficile à cristalliser. Cette difficulté vient essentiellement de la présence de la démixtion liquide-liquide dans la zone métastable de la cristallisation. Ainsi, pour une solution concentrée en principe actif à 14,66%_{massique}, à T=30°C (solution démixée), nous observons la cristallisation de la forme I du SR 142801 qu'au bout de 36 heures environ. L'apparition de la démixtion liquide-liquide apparaît donc avant la cristallisation et empêche cette dernière d'avoir lieu dans des temps raisonnables à l'échelle industrielle. En effet, d'un point de vue du procédé ce temps de cristallisation est trop long, c'est pourquoi pour déclencher la cristallisation du SR 142801 les opérateurs utilisent la méthode d'ensemencement ou

d'amorçage qui consiste à introduire dans le cristalliseur une quantité connue de cristaux, appelée semence. Nous nous sommes alors interrogés sur l'influence que pourrait avoir la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation par ensemencement. N'ayant à ce jour rien trouvé à ce sujet dans la bibliographie, nous avons commencé quelques expériences d'orientations présentées dans la partie suivante.

II. INFLUENCE DE LA DEMIXTION LIQUIDE-LIQUIDE SUR LA CRISTALLISATION PAR ENSEMENCEMENT DU SR 142801

A la suite de la caractérisation de la zone de démixtion nous nous sommes donc intéressés à l'influence de cette zone sur la cristallisation par ensemencement du SR 142801. Nous présentons donc dans cette partie les premiers résultats concernant la cristallisation par ensemencement à l'extérieur, à la limite et à l'intérieur de la zone de démixtion liquide-liquide. Le principe des expériences réalisées est schématisé sur la figure 5.8 , leurs conditions opératoires sont présentées ci-après :

- Concentration de la solution égale à 14.6% massique de SR 142801,
- Solvant d'étude : Mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique},
- Volume de solution égale à 200 ml pour la caractérisation par turbidimétrie et 500 ml pour la FBRM,
- Agitation : 500 rpm
- Vitesse de refroidissement : 14°C/h jusqu'à la température où l'on décide d'ensemencer.
- Températures d'ensemencement : (1) 40°C ≡ extérieur de la zone de démixtion liquide-liquide ; (2) 35°C ≡ limite de la binode ; (3) 30°C ≡ intérieur de la zone de démixtion.

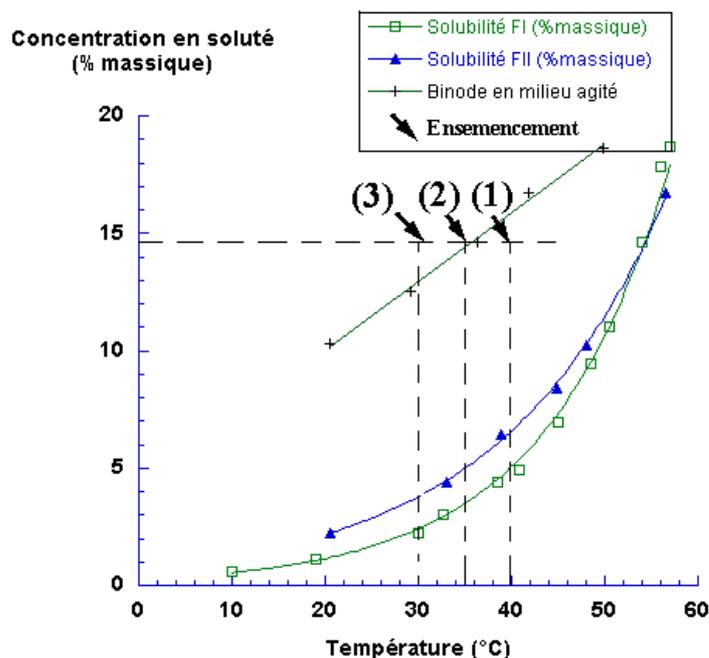


Figure 5.8 : Courbe de solubilité des formes I et II en fonction de la température et localisation des points d'ensemencement sur le diagramme.

Notons que dans cette étude nous ensemençons avec 1% de la masse totale de cristaux de la forme I et que la taille moyenne de la semence est supérieure à 50 μm . On utilise la forme I comme semence car c'est la forme stable et finale du procédé de cristallisation du SR 142801.

II.1. Ensemencement à l'extérieur de la zone de démixtion liquide-liquide

Nous avons suivi par turbidimétrie et comptage des particules (FBRM) l'ensemencement à $T=40^{\circ}\text{C}$ de la solution de principe actif non démixée. L'acquisition des signaux au cours du temps est présentée sur la figure 5.9. On y observe alors qu'avant d'ensemencer le signal de turbidité ($\cong 10\%$) et les DLC sont faibles. Ces résultats confirment que la solution est limpide.

Après l'ensemencement, le signal de turbidité augmente instantanément de 10% à 78% puis de façon plus progressive et linéaire jusqu'à saturation 2h30 environ après avoir ensemencé. Il est très probable que le comportement de ce signal traduit au départ une nucléation, très certainement de type hétérogène, puis la croissance des cristaux qui diffusent plus la lumière.

En ce qui concerne les 4 DLC sélectionnées, on observe leur forte augmentation après ensemencement. Cette augmentation correspond bien à la nucléation et la croissance des cristaux. Les cristaux en fin d'expériences sont des plaquettes agglomérées (annexe 5.1) de la forme I sur lesquelles on observe qu'il y a bien eu nucléation hétérogène lors de l'ensemencement.

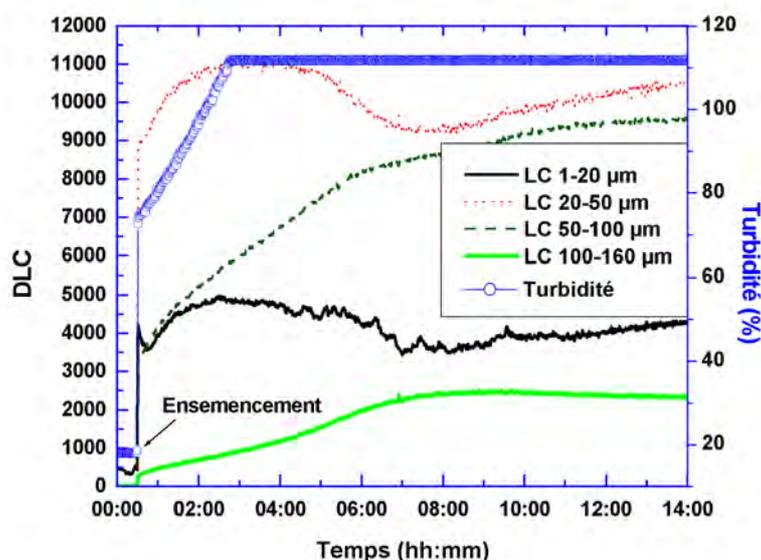


Figure 5.9 : Représentation de l'acquisition au cours du temps de la turbidité et des DLC (1-20µm), (20-50µm), (50-100µm) et (100-160µm), à T=40°C.

On rappelle que l'acquisition de la turbidité et de la conductivité de la solution se fait simultanément. Leur tracé au cours du temps (fig.5.10) montre qu'avant d'ensemencer le signal de turbidité est faible, 10% environ, le signal de conductivité est constant car le système est en isotherme à 40°C.

Après l'ensemencement (00:30), le signal de turbidité augmente instantanément de 10% à 78% puis de façon plus progressive et linéaire jusqu'à saturation. La conductivité lors de l'ensemencement augmente pendant 4 heures environ où on observe alors une diminution rapide pendant 30 minutes du signal puis un plateau pendant deux heures et enfin une nouvelle augmentation. Théoriquement, une augmentation de conductivité signifie une augmentation de la concentration d'espèces ioniques en solution qui se traduirait par une dissolution des cristaux, ce qui est contradictoire avec le signal de turbidité observé.

Au cours de nos expériences d'ensemencement nous avons observé l'encrassement des différentes sondes de conductivité utilisées (fig.5.11). Il est probable que cet encrassement par nucléation hétérogène de la sonde de conductivité modifie la surface des électrodes disponible

pour la mesure. On rappelle que la conductivité est inversement proportionnelle à cette surface. Il en résulte donc qu'une diminution de cette surface par encrassement de la sonde fait augmenter la conductivité comme nous pouvons le voir sur la figure 5.10. Le signal de conductivité reste donc difficilement interprétable c'est pourquoi par la suite nous ne présenterons plus les résultats de l'acquisition du signal de conductivité.

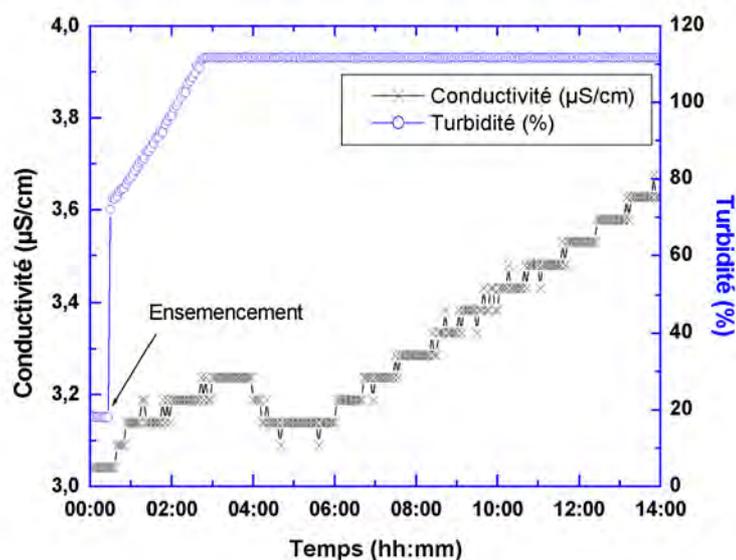


Figure 5.10 : Turbidité (%) et conductivité ($\mu\text{S/cm}$) de la solution au cours du temps après ensemencement à l'extérieur de la zone de démixtion ($T=40^\circ\text{C}$).

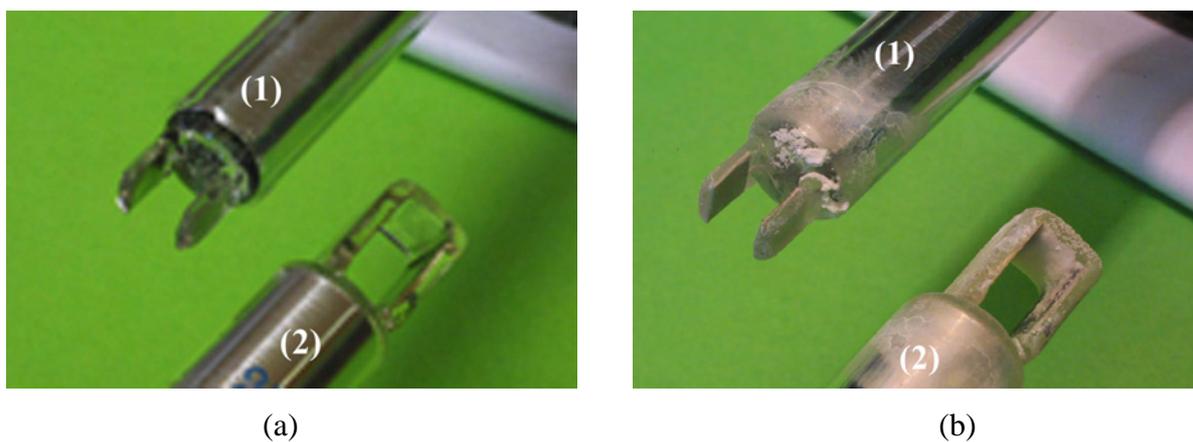


Figure 5.11 : Sondes de conductivité (a) à géométrie ouverte (1) et à géométrie fermée (2) avant utilisation et (b) sondes encrassées en fin d'expérience.

II.2. Ensemencement à l'intérieur de la zone de démixtion liquide-liquide

De la même façon que précédemment nous avons suivi par turbidimétrie et comptage des particules (FBRM) l'ensemencement à $T = 30^{\circ}\text{C}$ de la solution de principe actif démixée. L'acquisition des signaux au cours du temps est présentée sur la figure 5.12. On y observe un signal de turbidité ($\cong 10\%$) et des DLC faibles (1000 comptes/seconde environ). La solution est limpide sur la plage de temps 00:00 à 00:45.

Au bout de 45 minutes, la solution refroidit pour atteindre la température de démixtion liquide-liquide ($\cong 36^{\circ}\text{C}$). A cette température, les DLC inférieures à $50\ \mu\text{m}$ et $50\text{-}100\ \mu\text{m}$ augmentent respectivement jusqu'à 9000 et 2000 comptes par seconde. Cela signifie donc qu'il y a un nombre important de gouttes en suspension dont la longueur de corde est inférieure à $50\ \mu\text{m}$. La faible taille des gouttes ainsi que leur grand nombre font augmenter puis saturer très rapidement le signal de turbidité.

Environ 25 minutes après l'apparition du point trouble la solution atteint la température de 30°C , c'est le moment choisi pour l'ensemencer avec des cristaux de la forme I d'une taille moyenne supérieure à $50\ \mu\text{m}$. Dès l'amorçage, on observe sur la figure 5.12 que les DLC $1\text{-}20\ \mu\text{m}$ et $20\text{-}50\ \mu\text{m}$ diminuent ($9000 \rightarrow 1000$ et 2000 comptes/s) alors que les DLC $50\text{-}100\ \mu\text{m}$ et $100\text{-}160\ \mu\text{m}$ augmentent ($2000 \rightarrow 3000$ comptes/s).

De nombreuses voies de discussion s'ouvrent sur ce résultat. L'augmentation des DLC $50\text{-}100\ \mu\text{m}$ et $100\text{-}160\ \mu\text{m}$ traduirait la croissance de la semence. Les DLC $1\text{-}20\ \mu\text{m}$ et $20\text{-}50\ \mu\text{m}$ diminuent pour atteindre leur minimum à 03:30 qui correspond également à un minimum pour le signal de turbidité. Le comportement de ces signaux semble traduire une diminution du nombre de gouttes dans le système. De façon plus imagée, nous pourrions dire que les cristaux introduits dans la solution « mangent » les gouttes. Comment expliquer ce mécanisme ? Ce type de mécanisme serait identique à celui d'une transition liquide-liquide en solution avec les cristaux comme phase stable et les gouttes comme phase métastable. La croissance des cristaux faisant diminuer la concentration de la solution, aurait pour conséquence la dissolution des gouttes en suspension.

A partir de 03:45, les DLC $1\text{-}20\ \mu\text{m}$, $20\text{-}50\ \mu\text{m}$ $50\text{-}100\ \mu\text{m}$ augmente brusquement (respectivement $1000 \rightarrow 3000$, $2000 \rightarrow 8000$ et $3000 \rightarrow 7000$ comptes/s) ce qui semble traduire une nouvelle vague de nucléation. Cependant il est difficile de savoir si cette dernière correspond à l'apparition de nouvelles gouttes ou de cristaux. Pour confirmer les hypothèses

que l'on vient d'émettre sur le comportement des cristaux et des gouttes en suspension, il faudrait placer une des sondes de visualisation « in-process » dans le cristalliseur.

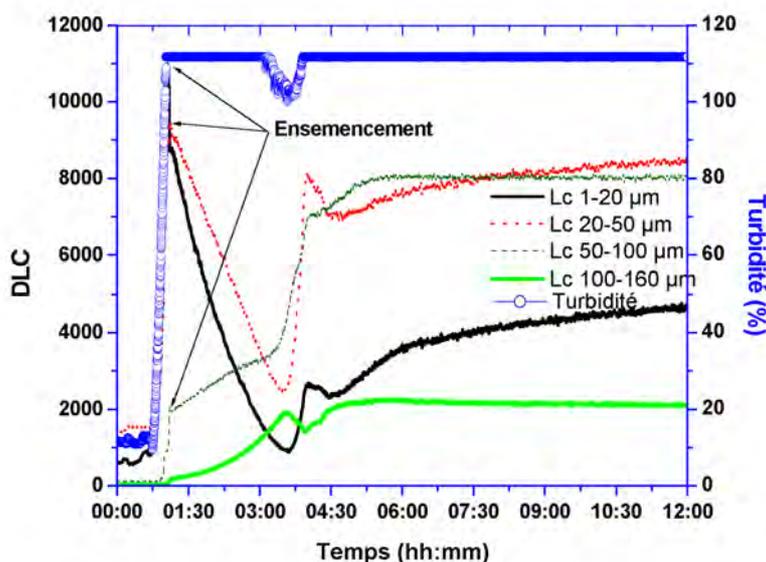


Figure 5.12 : Représentation de l'acquisition au cours du temps de la turbidité et des DLC (1-20µm), (20-50µm), (50-100µm) et (100-160µm), à T=30°C.

Les cristaux en fin d'expériences sont des plaquettes agglomérées (annexe 5.1) de la forme I. Malgré la présence de la zone de démixtion qui engendre des sursaturations différentes, le faciès des cristaux ne change pas de celui obtenu lors de la cristallisation à l'extérieur de la zone de démixtion.

II.3. Ensemencement à la limite de la zone de démixtion liquide-liquide

Le refroidissement de la solution de principe actif et l'ensemencement à la limite intérieure de la zone de démixtion à T= 35°C fournit au cours du temps les signaux présentés sur la figure 5.13. On observe alors une faible diminution du signal de turbidité (<10%) et une augmentation des DLC 1-20µm et 20-50µm (respectivement 2000→3500 et 1000→4500 comptes/s). Ce résultat peut être attribué à l'apparition de la démixtion liquide-liquide comme nous l'avons vu précédemment.

Nous avons ensuite ensencé la solution à 00:05, cela a eu pour conséquence d'augmenter brusquement la turbidité (<10→70%). Le signal turbidimétrique diminue ensuite progressivement de 70 à 60% en 40 minutes. Au bout de 45 minutes d'expérience, la turbidité

augmente avec une pente plus importante entre 00:45 et 1:30. Dans le même temps, les DLC 1-20 μm et 20-50 μm diminuent (respectivement 3500→500 et 4500→1000 comptes/s) alors que les DLC 50-100 μm et 100-160 μm augmentent (respectivement 1500→3500 et 0→1000 comptes/s) entre 00:05 et 01:00. Le comportement de ces signaux semble traduire entre 00:05 et 01:00 une croissance des cristaux avec simultanément une diminution du nombre de gouttes dans le système. On retrouve également à 01:00 une forte augmentation des DLC 1-20, 20-50 et 50-100 μm que l'on pense pouvoir traduire par une nouvelle nucléation. Cependant, il reste difficile de savoir si cette nucléation correspond à l'apparition de gouttes ou de cristaux.

Afin d'éclaircir la situation nous avons visualisé par microscopie optique le comportement d'une solutionensemencée et concentrée en principe actif à 14,66%_{massique} avec un rapport Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}. Nous présentons sur la figure 5.14 les photographies de l'évolution des cristaux et des gouttes au cours du temps à la température de 35°C. On observe que lors de l'ensemencement la taille des gouttes est inférieure à 50 μm (fig.5.14(a)), les cristauxensemencés mais non visualisés ont une taille supérieure à 50 μm .

Sur les figures 5.14(b)(c), on observe la croissance du cristal mais aussi la croissance des gouttes au cours du temps. Ces dernières ont une taille plus importante mais leur nombre à diminué, il y a donc eu coalescence. Les photos (d),(e) et (f) montrent que les cristaux croissent au cours du temps et on observe également l'apparition de nouvelles gouttes dans la solution. Par ailleurs, en milieu agité les phénomènes de croissance et de nucléation sont plus rapides (le transfert de matière augmente avec l'agitation), c'est pourquoi il est difficile de corrélér d'un point de vue quantitatif ces observations avec les mesures de DLC. Cependant d'un point de vue qualitatif, il semblerait que l'augmentation de la DLC à 03:45 et à 04:30 (fig.5.13) traduise l'apparition de nouvelles gouttes dans le système alors que l'on s'attend à sortir définitivement de la zone de démixtion. Mais l'hypothèse selon laquelle en ensemençant dans la zone de démixtion les gouttes (phase métastable) disparaissent au profit de la croissance des cristaux (phase stable), est valable dans le cas de système binaire à cause de la règle de la variance (cf.Chap.II) mais ce n'est pas le cas avec des ternaires.

Notons qu'en fin d'expérience les cristaux obtenus sont des plaquettes agglomérées (annexe 5.1) de la forme I.

Ces premiers résultats ne font pas apparaître d'influence notable de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation et le faciès des cristaux obtenus. En revanche, ils montrent la complexité et la diversité des phénomènes rencontrés avec la nucléation homogène (voir

hétérogène fig.5.14(d)(e)) de gouttes, leur croissance, coalescence et dissolution qui ont lieu parallèlement avec la croissance et la nucléation hétérogène des cristaux.

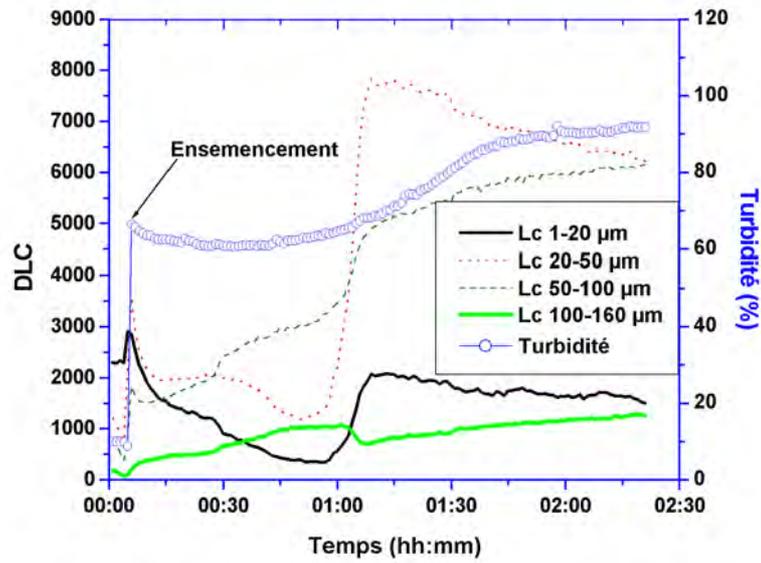
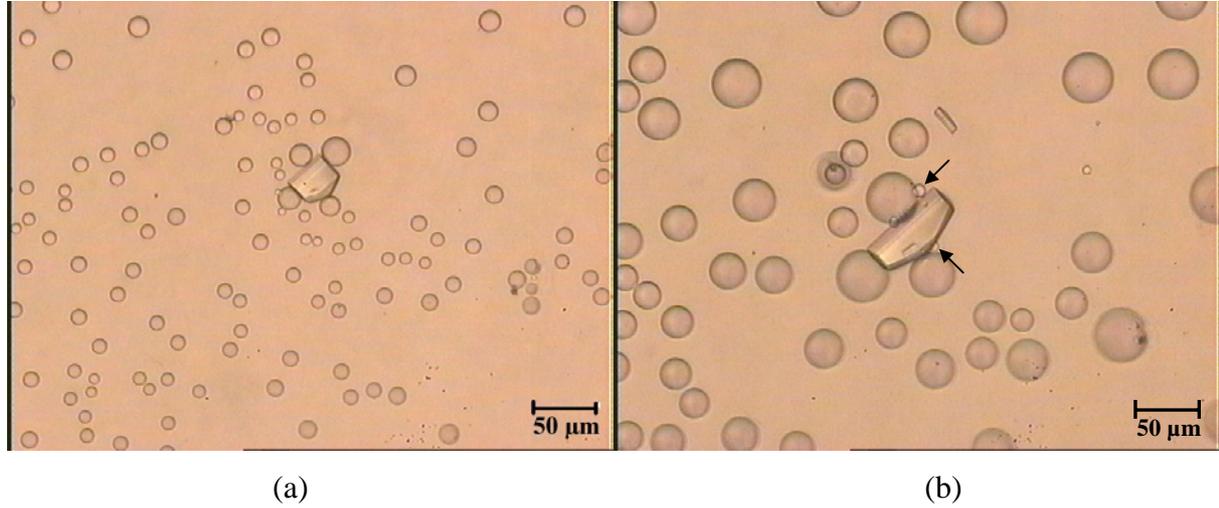


Figure 5.13 : Représentation de l'acquisition au cours du temps de la turbidité et des DLC (1-20µm), (20-50µm), (50-100µm) et (100-160µm), à T=35°C.



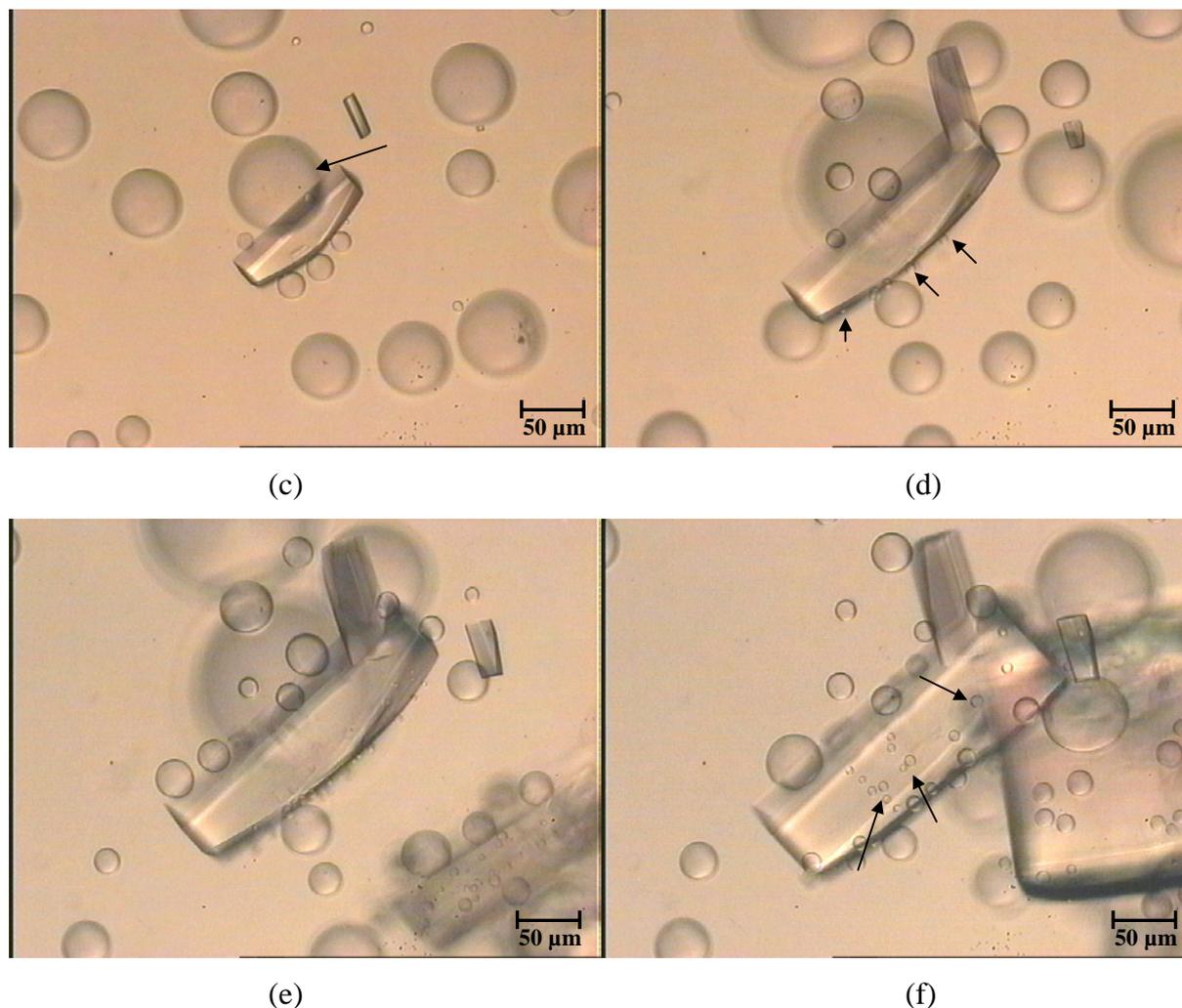


Figure 5.14 : Observation par microscopie optique d'une solution en milieu stagnant, ensemencée à la limite intérieure de la binode à $T=35^{\circ}\text{C}$. (a) cristaux +gouttes à $t=0$; (b) à $t=6\text{h}$; (c) à $t=12\text{h}$; (d) à $t=22\text{h}$; (e) à $t=30\text{h}$; (f) à $t=32\text{h}$. Les flèches indiquent la nucléation hétérogène de gouttes à la surface des cristaux.

III. CONCLUSION

L'utilisation de la turbidimétrie et de la FBRM nous ont permis de caractériser la démixtion liquide-liquide en milieu agité. On a ainsi montré que l'apparition de cette démixtion est influencée par la vitesse de refroidissement de la solution. En revanche, la binode obtenue pour les rampes de température de 1°C/h et 14°C/h correspond au domaine d'imprécision des mesures tout en gardant à l'esprit que la cinétique de nucléation des gouttes pourrait être différente de celle de leur dissolution. Nous nous sommes également intéressés à l'étude du comportement des gouttes dans une solution refroidie et agitée. Nous avons alors

montré que la démixtion liquide-liquide se traduit par l'apparition de gouttes qui croissent ou coalescent au cours du temps et au fur et à mesure que la solution est refroidie.

Les premiers résultats concernant l'ensemencement dans une solution démixée, montrent la complexité des phénomènes. En effet, l'hypothèse selon laquelle en ensemençant dans la zone de démixtion les gouttes (phase métastable) disparaissent au profit de la croissance des cristaux (phase stable), semble être valable dans le cas de système binaire mais moins dans le cas de ternaires comme dans cette étude. Ces premiers résultats ne font pas apparaître d'influence notable de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation et le faciès des cristaux dans les conditions opératoires de l'étude. Cependant, ils montrent la complexité et la diversité des phénomènes rencontrés.

Chapitre VI

CONCLUSIONS GENERALES

*Le danger qui menace les chercheurs aujourd'hui
serait de conclure qu'il n'y a plus rien à découvrir.*

Pierre Joliot

Extrait de La recherche passionnément

Dans le domaine pharmaceutique, la grosseur des molécules synthétisées et leur complexité structurale posent régulièrement lors de leur cristallisation de nombreux problèmes à l'industriel.

Au cours de l'étude d'une de ces molécules, nous avons abordé les raisons de la difficulté à la nucléer d'un point de vue fondamental pour finir par une approche procédée des problèmes rencontrés.

Tout d'abord, nous avons fourni au lecteur une revue des aspects théoriques et pratiques concernant les différentes transitions de phases que sont la nucléation, le polymorphisme et la démixtion liquide-liquide. Ainsi, après une première partie abordant les notions élémentaires de solubilité et de sursaturation dans le cas de solution idéale et non-idéale nous avons présenté dans une deuxième partie l'aspect fondamental et pratique de la nucléation avec deux approches distinctes mais néanmoins complémentaires que sont la thermodynamique et la cinétique. La synthèse bibliographique de la troisième partie était consacrée au polymorphisme. Elle nous a permis de mettre en évidence la difficulté d'obtenir une phase cristalline la plus stable en suspension et les conséquences que cela pouvait entraîner notamment dans le domaine pharmaceutique. Enfin, le lecteur a pu se rendre compte de la complexité des diagrammes de phases de certains systèmes avec l'apparition d'une démixtion liquide-liquide qui a une influence sur les cinétiques de cristallisation et aussi sur la courbe de solubilité. La présentation de ce phénomène demeurait important puisqu'il est présent dans notre étude.

Dans le troisième chapitre de ce manuscrit nous avons présenté l'ensemble des techniques et méthodologies utilisées dans l'étude fondamentale et procédée de la nucléation de principes actifs. Le troisième chapitre débutait par la présentation des molécules pharmaceutiques étudiées et plus particulièrement le SR 142801 qui a servi de molécule modèle pour l'étude et la compréhension des molécules difficiles à cristalliser. Les techniques de diffraction de rayons X et d'analyse enthalpique différentielle (DSC) ont révélé et identifié la présence de deux polymorphes dans le cas du SR 142801. Les poudres de ces derniers ont été caractérisées par microscopie électronique à balayage, leur taille et faciès différents ont permis une meilleure identification lorsqu'elles étaient en suspension. La faible quantité de produit fourni au départ de cette étude nécessitait de travailler dans de petits volumes (20µl à 2ml). Le laboratoire d'accueil (CRMC2) de cette thèse possède une certaine expérience dans le domaine des protéines qui sont des molécules disponibles en faible quantité (de l'ordre de

la centaine de mg) et qui ont la propriété de cristalliser difficilement. C'est pourquoi, dans une deuxième partie nous avons présenté les diverses techniques et méthodologies utilisées dans le domaine des protéines et transposées à l'étude de la cristallisation du SR 142801. Enfin, la dernière partie était consacrée à la présentation du dispositif expérimental et des différentes techniques de caractérisation (Turbidimétrie, Conductimétrie, FBRM, et analyses d'images) utilisées dans l'étude de la démixtion liquide-liquide et de la cristallisation en milieu agité.

Nous avons abordé dans le quatrième chapitre les problèmes de nucléation de principes actifs avec une approche relativement fondamentale qui a nécessité la caractérisation du diagramme de phases du SR 142801 dans le mélange Ethanol/Eau (54,2/45,8)_{massique}, fixé par le procédé industriel. Cette molécule cristallise sous deux formes polymorphiques dont la caractérisation des solubilités dans le solvant précédemment cité définit un système énantiotrope avec F_I comme forme stable pour des températures inférieures à la température de transition de phase. L'application des règles de Burger aux résultats d'analyse thermique (DSC) montre que le système est monotropique. La molécule étudiée paraît donc être une exception aux règles de Burger. Finalement, extrapoler la nature du système (énantiotrope ou monotrope) en solution à partir de l'application des règles de Burger aux résultats d'analyse thermique peut être une source d'erreur.

La caractérisation de ce diagramme de phases relativement complexe nous a permis de présenter une méthodologie pour caractériser et isoler le polymorphe le plus stable, en utilisant la microscopie optique et une cellule à effet peltier permettant de contrôler la température de la solution. On a aussi observé qu'une solution diluée peut être non-idéale, cet écart à l'idéalité est dans cette étude corrélée à la présence d'une zone de démixtion liquide-liquide. La non-idéalité se traduit par la non-linéarité des courbes de solubilité proches de cette zone de démixtion. On pourrait alors faussement interpréter cette non-linéarité comme la signature d'une nouvelle phase cristalline alors qu'il semble que ce soit la signature d'une nouvelle phase mais liquide dans ce cas, la démixtion.

Nous avons observé par microscopie optique lors du refroidissement de la solution que la démixtion apparaît dans les zones métastables des deux polymorphes, cette transition liquide-liquide a donc lieu avant la cristallisation d'une des formes polymorphiques la rendant ainsi difficile à cristalliser. Cette transition se traduit par l'apparition en solution de gouttes qui croissent, coalescent et décantent formant deux phases bien distinctes en milieu stagnant.

Nous nous sommes alors intéressés à la caractérisation par diffusion de la lumière de la limite de cette zone de démixtion appelée binode. Nous avons ensuite montré par des techniques de dosages (HPLC et Karl Fisher) des deux phases que la concentration en principe actif et le rapport Ethanol/Eau changeaient lorsque le système rentrait dans le domaine de démixtion, changeant par la même occasion le milieu de cristallisation.

Les sursaturations calculées par rapport à la forme I montrent que les conditions dans les deux phases liquides à chaque température sont réunies pour déclencher la nucléation du SR 142801. Mais malgré ces conditions il est difficile de cristalliser cette molécule. Les résultats de modélisation de la binode à partir d'un modèle empirique sont satisfaisants et permettent d'estimer le point critique de notre système. Les premiers résultats de l'approche de la modélisation de la démixtion liquide-liquide par traitement thermodynamique montrent que le modèle d'ajustement de paramètres binaires (NRTL) paraît être le modèle sur lequel il faudrait s'orienter pour modéliser le diagramme ternaire de cette étude.

Nous avons, dans le cinquième chapitre, recherché et essayé d'optimiser les conditions de déclenchement de la nucléation de la forme I, la plus stable, en se rapprochant des conditions du procédé en milieu agité.

L'utilisation de la turbidimétrie, de la conductimétrie, de la FBRM et de l'analyse d'images nous ont permis de caractériser la démixtion liquide-liquide en milieu agité. Le signal de conductivité étant difficilement interprétable du fait de l'encrassement des sondes utilisées, l'ensemble des résultats présentés correspondait à la caractérisation réalisée par turbidimétrie. En effet, les autres techniques n'ont été disponibles que durant trois jours elles ont en revanche permis de valider les résultats obtenus par turbidimétrie. Nous avons alors montré que l'apparition de la démixtion est influencée par la vitesse de refroidissement de la solution. En revanche, la binode obtenue pour les rampes de température de 1°C/h et 14°C/h correspond au domaine d'imprécision des mesures tout en gardant à l'esprit que la cinétique de nucléation des gouttes pourrait être différente de celle de leur dissolution. La comparaison entre les points de la binode obtenus en milieu stagnant par diffusion de la lumière et en milieu agité par turbidimétrie montre une différence de 1°C que l'on attribue à la précision des techniques d'analyses. L'approche en milieu stagnant de la caractérisation de la binode par diffusion de la lumière s'avère donc satisfaisante pour extrapoler ces résultats au milieu agité, plus proche du procédé.

L'étude du comportement des gouttes par FBRM dans une solution agitée lors de son refroidissement a montré que la démixtion liquide-liquide se traduit par l'apparition de

gouttes qui croissent ou coalescent au cours du temps et au fur et à mesure que la solution est refroidie.

Nous nous sommes ensuite interrogés sur l'influence que pourrait avoir la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation par ensemencement. N'ayant à ce jour rien trouvé à ce sujet dans la bibliographie, nous avons commencé quelques expériences d'orientations présentées dans la dernière partie de ce chapitre. Les premiers résultats concernant l'ensemencement dans une solution démixée, montrent la complexité des phénomènes. En effet, l'hypothèse selon laquelle en ensemençant dans la zone de démixtion les gouttes (phase métastable) disparaissent au profit de la croissance des cristaux (phase stable), est valable dans le cas de système binaire (règle de la variance) mais ce n'est pas le cas avec des ternaires comme dans cette étude. Ces premiers résultats ne font également pas apparaître d'influence notable de la démixtion liquide-liquide sur la cristallisation et le faciès des cristaux obtenus dans les conditions opératoires de l'étude. Il serait donc intéressant de poursuivre ces travaux par l'étude des cinétiques de nucléation du SR 142801 en fonction de son milieu de cristallisation défini par son diagramme de phases. Nous pourrions étudier notamment l'influence du point critique sur la fréquence de nucléation en utilisant l'approche originale de Tammann présentée dans la partie II.3.2 du chapitre II de ce manuscrit.

D'un point de vue génie des procédés, utiliser les avantages que procure la démixtion liquide-liquide pour pallier les inconvénients d'un procédé de cristallisation par émulsion, et inversement, pourrait être envisagé comme nouvel axe de recherche.

BIBLIOGRAPHIE

A

- AMATHIEU, L. and R. BOISTELLE** (1988). "Crystallization Kinetics of Gypsum from dense suspension of hemihydrate water." J. Crystal Growth 88: 183-192.
- ANDERSON, V. J. and H. N. LEKKERKERKER** (2002). "Insights into phase transition kinetics from colloid science." Nature 416(6883): 811-5.
- ASHERIE, N., A. LOMAKIN, et al.** (1996). "Phase Diagram of Colloidal Solutions." Physical Review Letters 77(23): 4832-4835.
- ATKINS, P. W.** (1982). Chimie physique.

B

- BAUER, J., S. SPANTON, et al.** (2001). "Ritonavir: An Extraordinary Example of Conformational Polymorphism." Pharmaceutical Research 18(6): 859-866.
- BAUER, M.** (1999). "Le polymorphisme, son origine, ses caractéristiques, ses conséquences dans le domaine pharmaceutique." STP Pharma Pratiques 9(5): 354-362.
- BECKMANN, W.** (2000). Organic Process Research & Development 4: 372-383.
- BECKMANN, W., R. BOISTELLE, et al.** (1984). Journal of Chemical Engineering Data 29: 211.
- BOISTELLE, R.** (1982). Impurity effects in crystal growth from solution. Interfacial Aspects of Phase Transformations. B. MUTAFTSCHIEV (Ed). Dordrecht, D.Reidel: 621-638.
- BOISTELLE, R.** (1985). Concepts de la cristallisation en solution. Paris, Flammarion Médecine-Science.
- BOISTELLE, R.** (1990). Nucléation. Cristallisation et Précipitation:Pratique industrielle. Nancy, Centre de Perfectionnement des Industries Chimiques: 78-108.
- BOISTELLE, R., J. P. KLEIN, et al.** (1996). "Eléments de cristallographie et de cristallogénèse à l'usage des industriels de la chimie et de la pharmacie." S.T.P.Pharma Pratiques 6(2): 111-140.
- BONNETE, F., M. MALFOIS, et al.** (1997). "Different Tools to Study Interaction Potentials in gamma-Crystallin Solutions:Relevance to Crystal Growth." Acta Cryst. D53: 438-447.
- BROIDE, M. L., C. R. BERLAND, et al.** (1991). "Binary-liquid phase separation of lens protein solutions." Proc. Natl. Acad.Sci. USA 88: 5660-5664.

BURGER, A. and R. RAMBERGER (1979). "On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. II. Applicability of thermodynamic rules." Mikrochim. Acta II: 273-316.

BURGER, A. and R. RAMBERGER (1979). "On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I. Theory of thermodynamic rules." Mikrochim. Acta, II: 259-271.

C

CHERNOV, A. A. (1984). Modern Crystallography III, Part I. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag.

CONESA-MORATILLA, C. and D. PATTOU (2000). Polymorphism Prediction by Crystal Packing Simulation. R. S. 13507.

CRAWLEY, G. M. (1994). Granulométrie des suspensions de particules fines par mesures turbidimétriques spectrales. Application à l'étude de la fragmentation des cristaux dans une cuve agitée., Institut National Polytechnique de Grenoble et de l'Ecole Nationale supérieure des Mines de Saint-Etienne: 228.

D

DAVEY, R. J. (1986). "The role of the solvent in crystal growth from solution." J. Crystal Growth 76: 637-644.

DE JONG, E. J. (1984). The One or the Other. Proceedings of 9th Symposium on Industrial Crystallization, The Hague, The Netherlands, Elsevier Science.

DRENTH, J. and C. HAAS (1998). "Nucleation in protein crystallization." Acta Cryst. D54: 867-872.

F

FARKAS, L. (1927). Z. Phys. Chem A 125: 236.

FREDESLUND, A., J. GMEHLING, et al. (1977). Vapor-liquid equilibria using UNIFAC a group-contribution method. Amsterdam, Elsevier Scientific Publishing company.

FRENKEL, D. (1999). "Entropy-driven phase transitions." Physica A 263: 26-38.

FRENKEL J.I. (1946). Kinetic Theory of Liquids. Oxford, Clarendon.

G

- GALKIN, O. and P. G. VEKILOV** (1999). "Direct determination of the nucleation rates of protein crystals." J. Phys. Chem. B 103: 10965-10971.
- GALKIN, O. and P. G. VEKILOV** (2000). "Control of protein crystal nucleation around the metastable liquid-liquid phase boundary." Proc. Natl. Acad.Sci.USA 97: 6277-6281.
- GALKIN, O. and P. G. VEKILOV** (2000). "Are nucleation kinetics of protein crystals similar to those of liquid droplets?." J. Amer. Chem. Soc. 122: 156-163.
- GALKIN, O. and P. G. VEKILOV** (2001). "Nucleation of protein crystals: critical nuclei, phase behavior, and control pathways." J. Crystal Growth 232: 63-76.
- GARCIA, E.** (2000). Etude de la Dissolution et de la Croissance de Principes Actifs. Marseille, Thèse de l'Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille III.
- GARCIA, E., C. HOFF, et al.** (2002). "Dissolution and phase transition of pharmaceutical compounds." Journal of Crystal Growth: 237-239.
- GEORGE, A. and W. W. WILSON** (1994). "Predicting protein crystallization from a dilute solution property." Acta Cryst. 361(5).
- GIBBS, J. W.** (1878). Am. J.Sci.Arts 16: 454.
- GIRON, D.** (1995). "Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates." Thermochimica Acta 248: 1-59.
- GMEHLING, J., P. RASMUSSEN, et al.** (1982). "Vapor liquid equilibria by UNIFAC group contribution revision and extension.2." Ind. Eng. Chem. Process. Des. 21: 118-127.
- GRANT, D. J. W., M. MEHDIZADEH, et al.** (1984). "Non-linear van't Hoff solubility-temperature plots and their pharmaceutical interpretation." International Journal of Pharmaceutics 18: 25-38.
- GROUAZEL, S., J. PEREZ, et al.** (2002). "BPTI liquid-liquid phase separation monitored by light and small angle X ray scattering." Acta Cryst.D.
- GU, C. H. and D. J. GRANT** (2001). "Estimating the relative stability of polymorphs and hydrates from heats of solution and solubility data." J Pharm Sci 90(9): 1277-87.
- GU, C.-H., V. YOUNG JR, et al.** (2001). "Polymorph Screening: Influence of Solvents on the Rate of Solvent-Mediated Polymorphic Transformation." J. Pharm. Sci. 90(11): 1878-1890.
- GUGGENHEIM, E. A.** (1959). Thermodynamics. An advanced treatment for chemists and physicists. Amsterdam.

GUILLORY, J. (1999). Generation of polymorphs, hydrates, solvates, and amorphous solids. Polymorphism in Pharmaceutical Solids. Brittain HG. New York, Marcel Dekker: 183-226.

GUO, B., S. KAO, et al. (1999). "Correlation of second virial coefficients and solubilities useful in protein crystal growth." Journal of Crystal Growth 196: 424-433.

H

HAAS, C. and J. DRENTH (1998). "The protein-water phase diagram and the growth of protein crystals from aqueous solution." J. Phys. Chem. B 102(21): 4226-4232.

HAAS, C. and J. DRENTH (1999). "Understanding protein crystallization of the basis of the phase diagram." J. Crystal Growth 196: 388-394.

HILDEBRAND, J. H. (1952). "The temperature dependance of the solubility of solid nonelectrolytes." Journal of Chemical Physics 20: 190-191.

HILLERT, M. (1998). "Phase Equilibria, Phase Diagrams and Phase Transformations." Cambridge University Press.

HOLLENBECK R.G. (1980). "Determination of differential heat of solution in real solutions from variation in solubility with temperature." Journal of Pharmaceutical Science 69: 1241-1242.

J

JENS LOTHE, P. G. M. (1969). Statistical Mechanics of Nucleation. NUCLEATION. ZETTLEMOYER A.C. New York, Marcel Dekker: 109-149.

K

KIND, M. and A. MERSMANN (1983). "Methoden zur Berechnung der homogenen Keimbildung aus wässrigen Lösungen." Chem. Ing. Tech 55: 720-721.

KLEIN, J. P. (2000). La cristallisation industrielle des composés organiques: de la structure du solide au procédé industriel. Colloque Annuel du GFCC, Marseille.

KLEIN, J. P., R. BOISTELLE, et al. (1989). "Cristallisation : Aspects Théoriques." Sciences Fondamentales des Techniques de l'Ingénieur, traité Génie et Procédés Chimiques J1500: 1-21.

L

LUPIS, C. H. P. (1983). Chemical Thermodynamics of Materials. New York, Elsevier Science.

M

MADSEN, L. H. E. and R. BOISTELLE (1976). "Solubility of long-chain n-paraffin in pentane and heptane." J. Chemical Society 72: 1078-1081.

MALFOIS, M., F. BONNETE, et al. (1996). "A model of attractive interactions to account for fluid-fluid phase separation of protein solutions." J. Chem. Phys. 105: 3290-3300.

MARKOV, I. V. (1995). Crystal Growth for Beginners: fundamentals of nucleation, crystal growth, and epitaxy. Singapore, World Scientific.

MARTIN, J. (1991). "The detection of salting-out. A comparative study." Cryst. Res. Technol. 26(1): 35-42.

MERSMANN, A. (1990). "Calculation of interfacial tensions." J. Crystal Growth 102: 841-847.

MERSMANN, A. (1995). Crystallization Technology Handbook. New York, Marcel Dekker.

MERSMANN, A. (1996). "Supersaturation and nucleation." Trans IChem E 74 A: 812-820.

MUSCHOL, M. and F. ROSENBERGER (1997). "Liquid-liquid phase separation in supersaturated lysozyme solutions : coupling to precipitate formation and crystallization." J. Chem. Phys. 107(6): 1953-1962.

MUTAFTSCHIEV, B. (1981). Surface Thermodynamics. Interfacial Aspects of Phase Transformations. MUTAFTSCHIEV B. Erice, Italy, NATO Advanced Study Institute: 63-103.

N

NIELSEN, A. E. and O. SOHNEL (1971). "Interfacial tensions electrolyte crystal-aqueous solution from nucleation data." J. Crystal Growth 11: 233-242.

NORO, M. G., N. KERN, et al. (1999). "The role of long-range forces in the phase behavior of colloids and proteins." Europhysics Letters 48(3): 332-338.

O

OSTWALD, W. (1897). "Studien Über Die Bildung Und Umwandlung Fester Körper." Z Physik Chem 22: 289-330.

P

PERROT, P. (1994). Dictionnaire de thermodynamique. De l'Absolu au Zéro absolu, InterEditions.

R

RENON, H. and J. M. PRAUSNITZ (1968). "Local compositions in thermodynamic excess functions for liquid mixtures." AIChE Journal 14: 135-144.

RIVOIRE, A. (2000). Acquisition in situ de données granulométriques en ligne dans un cristalliseur. Thèse de l'Université Claude Bernard Lyon I.

RODRIGUEZ-HORNEDO, N. and D. MURPHY (1999). "Significance of controlling crystallization mechanisms and kinetics in pharmaceutical systems." J Pharm Sci 88(7): 651-60.

ROSENBAUM, D., P. C. ZAMORA, et al. (1996). "Phase Behavior of Small Attractive Colloidal Particles." Physical Review Letters 76(1): 150-153.

S

SAURY, C. (1991). Cristallisation de l'Acétate de Calcium en matrice hydrocarbonnée., Thèse de l'Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille III.

SCHUBERT, H. and A. MERSMANN (1996). "Determination of Heterogeneous Nucleation Rates." Trans IChem E 74 A: 812-820.

SCHUBERT, H. and A. MERSMANN (1996). "Determination of Heterogeneous Nucleation Rates." Trans IChem E 74 A: 821-827.

SKODA, W. and M. VAN DEN TEMPEL (1963). Journal of Colloid Science 18: 568-584.

SERRANO, M. D., O. GALKIN, et al. (2001). "Are protein crystallization mechanisms relevant to understanding and control of polymerization of deoxyhemoglobin S?," J. Crystal Growth 232: 368-375.

SOHNEL, O. (1983). "Estimation of electrolyte crystal-aqueous solution interfacial tensions." J. Crystal Growth 63: 174-176.

STRAZIELLE C. and WEILL G. "Caractérisations : diffusion de la lumière." Technique de l'Ingénieur P1065: 1-22.

STRENG, W. H., S. K. HSI, et al. (1984). "General treatment of pH-solubility profiles of weak acids and bases and the effects of different acids on the solubility of a weak base." J. Pharmaceutical Science 732(12): 1679-1684.

T

TAFT, R., M. ABRAHAM, et al. (1985). "The molecular properties governing solubilities of organic nonelectrolytes in water." Nature 313: 384-386.

TAMMANN, D. (1922). Die Aggregatzustände, 2nd ed. Leipsig.

THOMSON, J. A., P. SCHURTENBERGER, et al. (1987). "Binary liquid phase separation and critical phenomena in a protein/water solution." Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 7079-7083.

V

VAN'T HOFF, J. H. (1886). "L'équilibre chimique dans les systèmes gazeux ou dissous à l'état dilué." Nature 20: 239-302.

VOLMER, M. (1939). Kinetik der Phasenbildung. Dresden.

VOLMER, M. and A. WEBER (1926). Z. Phys. Chem. 119: 277.

W

WALTON, A. G. (1969). Nucleation in liquids and solutions. Nucleation. ZETTLEMOYER A.C. New York, Marcel DEKKER, Inc: 225-307.

WEISSBUCH, I., L. LEISEROWITZ, et al. (1995). Tailor-made additives and impurities. Crystallization Technology Handbook. A. MERSMANN (Ed). New York, Marcel Dekker: 401-455.

WOLDE, P. R. and D. FRENKEL (1997). "Enhancement of protein crystal nucleation by critical density fluctuations." Science 277: 1975-1978.

Y

YALKOWSKY, S. H. (1981). "Solubility and partitioning V:dependence of solubility on melting point." Journal of Pharmaceutical Science 70: 971-973.

Z

ZETTLEMOYER, A. C., Ed. (1969). Nucleation. New York, Marcel DEKKER, Inc.

ANNEXES

ANNEXE 2.1

Lorsque le germe se forme sur un support, ou substrat, plusieurs énergies interfaciales sont mises en jeu.

- γ_1 entre cristal et solution
 - γ_0 entre substrat et solution
 - γ_a entre cristal et substrat
- et
- S_1 surface de la calotte sphérique
 - S_a surface de l'interface substrat-germe

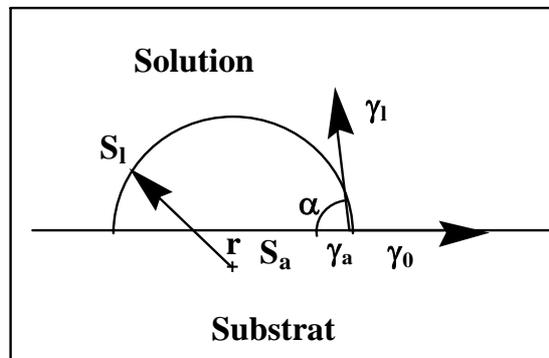


Figure 1: Aires S et énergies libres interfaciales γ mises en jeu dans le cas de la germination hétérogène d'un germe réalisant un angle de contact α avec le substrat.

L'énergie libre d'activation de nucléation hétérogène est donc le bilan du terme de volume et de tous les termes de surface :

$$\Delta G_{\text{het}} = -nkT \ln \beta + S_1 \gamma_1 + S_a (\gamma_a + \gamma_0)$$

Les énergies interfaciales étant liées par la relation de Young (1805) dont l'analogue est celle de Dupré (1869) dans le cas d'une goutte liquide sur la surface du solide.

$$\gamma_0 = \gamma_a + \gamma_1 \cdot \cos \alpha$$

On définit également pour la nucléation hétérogène une taille critique r^* se calculant comme celle de la nucléation homogène. La différence essentielle entre les deux types de nucléation vient du fait qu'un nombre moindre de molécules est nécessaire pour former la calotte sphérique par rapport à la sphère complète. De plus, la calotte sphérique est d'autant plus petite que le germe a plus d'affinité pour le support.

ANNEXE 2.2

✓ *Aspects thermodynamiques*

Si on considère deux polymorphes A et B, où A est la phase stable à 0 K et la relation $\Delta X = \Delta X_B - \Delta X_A$ valable pour toutes les grandeurs thermodynamiques. Au point de transition de phase de premier ordre (T_p), les conditions d'équilibre imposent que les énergies libres sont égales à T_p . La différence d'enthalpie est alors égale à:

$$\Delta H = \Delta G + T_p \Delta S = 0 + T_p \left(\frac{\partial \Delta G}{\partial T} \right) > 0$$

Comme T_p est positif, ΔH doit avoir le même signe que ΔS , or ΔS est positif à T_p , Burger conclut alors qu'à *proximité du point de transition de premier ordre, seules des transitions endothermiques des basses vers les hautes températures sont possibles et vice versa.*

Comme les températures T_1 et T_2 de la figure 2.8(a) du chapitre II précédente ne coïncident pas habituellement avec T_p , une question survient alors pour savoir si la règle peut être étendue à toutes les températures dans le cas d'un système énantiotrope et comment peut-on l'appliquer à un système monotrope ? Pour y répondre, Burger présente dans la règle suivante le comportement de ΔH et ΔS .

✓ *Règles des chaleurs de transition solide-solide*

Sachant que ΔH et ΔS sont d'ordinaire positives, nous pouvons supposer que les courbes H ne se coupent pas et que celles de G pourraient se couper au moins une fois.

Lors d'une analyse thermique d'un polymorphe, *si un effet endothermique que l'on peut associer à une transformation solide-solide, est observé à une certaine température, on peut admettre qu'il existe au-dessous de cette température un point de transition c'est à dire que la forme analysée A et la forme métastable B sont en relation énantiotrope.*

Si un effet exothermique est observé à une certaine température, on peut admettre qu'il n'existe pas de point de transition en dessous de cette température. La forme B analysée peut être soit en relation de monotropie avec la forme stable A, soit en relation d'énantiotropie dans le cas où le point de transition se situe au-delà de la température de l'événement thermique.

Cette règle est applicable dans 99% des cas, mais des exceptions ne sont pas exclues particulièrement dans le cas du polymorphisme conformationnel.

✓ *Règles des chaleurs de fusion*

Fréquemment la cinétique de transformation est trop faible pour que l'enthalpie de transition soit mesurée facilement en DSC. Au lieu de cela, on définit souvent que l'enthalpie de transition est égale à la différence entre l'enthalpie de fusion de la forme possédant une Tf faible et celle possédant une Tf élevée. Ainsi :

Si la forme ayant la température de fusion la plus haute possède l'enthalpie de fusion la plus faible, les deux formes sont normalement énantiotropes.

Et par conséquent, si la forme ayant la température de fusion la plus haute possède l'enthalpie de fusion la plus grande, les deux formes sont normalement monotropes.

La différence entre les enthalpies de fusion de chaque forme, $\Delta H_{f_B} - \Delta H_{f_A}$ par exemple, n'est pas rigoureusement égale à l'enthalpie de transition. Pour estimer l'erreur, on utilise la relation suivante :

$$\Delta H_{B \rightarrow A}(T = T_{f_A}) \cong \Delta H_{f_B} - \Delta H_{f_A} + \frac{\Delta H_{f_B} - \Delta H_{c_B}}{T_{f_B} - T_{c_B}} \times (T_{f_A} - T_{f_B})$$

Avec ΔH_{f_i} : Enthalpie de fusion de la forme i

ΔH_{c_i} : Enthalpie de cristallisation de la forme i

T_{f_i} : Température de fusion de la forme i

T_{c_i} : Température de cristallisation de la forme i

Maintenant avec cette correction sur l'enthalpie de transition, la règle des chaleurs de fusion peut être appliquée.

Cette règle sur les chaleurs de fusion est bien robuste dans le cas où les effets enthalpique sont assez grands, seules deux exceptions ont été trouvées avant 1979, il s'agit de l'Acetaminophen et du n-Butylbenzène.

✓ ***Règle de la densité***

Dans le cas où une molécule cristallise sous deux formes polymorphiques possibles, celui qui est le plus stable à la température du zéro absolu est celui qui a la densité la plus élevée à température ambiante.

Cette règle est correcte dans 90% des cas mais elle doit être utilisée avec précaution. En effet un certain nombre d'exceptions existent parce que la corrélation entre le « close-packing » et la densité ne peut pas toujours être supposée exacte, en particulier pour des stabilisations par liaisons orientées (comme la liaison hydrogène).

✓ ***Règle de l'infrarouge***

Si la première bande d'absorption du spectre infrarouge de la liaison hydrogène de la molécule dans le cristal est plus élevée pour une modification que pour une autre, cette forme pourrait être supposée avoir l'entropie la plus grande.

Cette règle n'est pas applicable pour des substances avec des groupements –CO-NH.

ANNEXE 2.3

En chauffant, il est possible d'obtenir différents thermogrammes, suivant l'histoire de l'échantillon, la vitesse de transformation cristal-cristal et la rampe de chauffage du calorimètre.

✓ *Cas du système monotrope*

Dans le paragraphe suivant, le lecteur trouvera les différents thermogrammes (fig.1) qu'il est possible d'enregistrer dans le cas d'un système monotrope :

- (a) Quand un cristal de A (forme stable) est chauffé, la seule chose observé est le point de fusion de cette forme T_{fA} .
- (b) Si un cristal de B est chauffé, alors avant d'arriver à T_{fB} , il peut se transformer en un cristal de forme A qui est plus stable pour fondre ensuite à T_{fA} .
- (c) Si la transformation de B en A ne se produit pas avant d'arriver à T_{fB} , B fond à T_{fB} pour ensuite cristalliser A qui fond à T_{fA} . On observe alors une fusion de B puis la cristallisation instantanée de A.

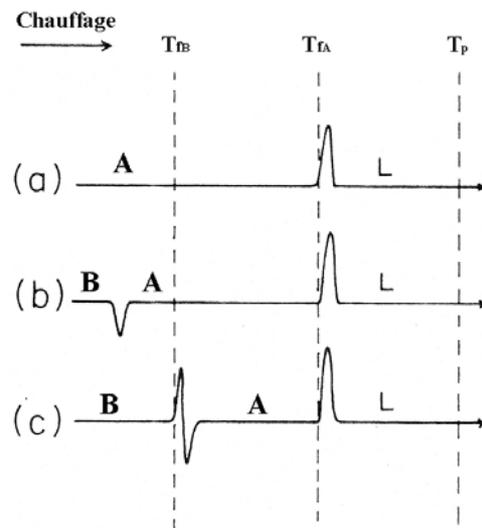


Figure 1 : Différents thermogrammes obtenus pour un système monotropique

✓ *Cas du système énantiotrope*

L'analyse de différents thermogrammes (fig.2) obtenus par DSC pour un système énantiotrope est décrite ci-après avec A stable pour $T < T_p$ et B stable pour $T > T_p$:

- A est chauffé, la transition A vers B est observée à T_p suivie par la fusion de B à T_{fB} . La transition de A vers B peut être endothermique (ligne pleine) ou exothermique (ligne pointillée).
- Si on chauffe rapidement un cristal de la forme A, le temps est insuffisant pour que la transition A vers B ait lieu. La fusion de A est observée à T_{fA} et est suivie par la recristallisation de B et sa fusion à T_{fB} (ligne pointillée).
- Un cristal de la forme B qui est métastable jusqu'à T_p , est chauffé. Avant d'atteindre T_p il se peut que cette forme B se transforme en forme A, plus stable mais cela est peu probable. La transition A vers B est ensuite observée au point T_p suivie par la fusion de B à T_{fB} .
- Et si aucun événement n'a lieu avant T_p , on a fusion de B à T_{fB} observé.

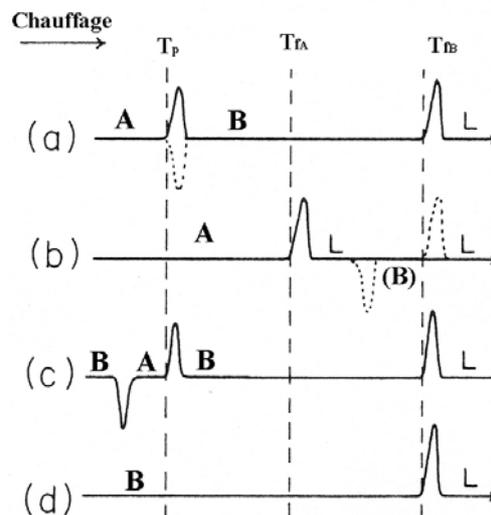


Figure 2 : Différents thermogrammes obtenus pour un système énantiotrope

ANNEXE 3.1

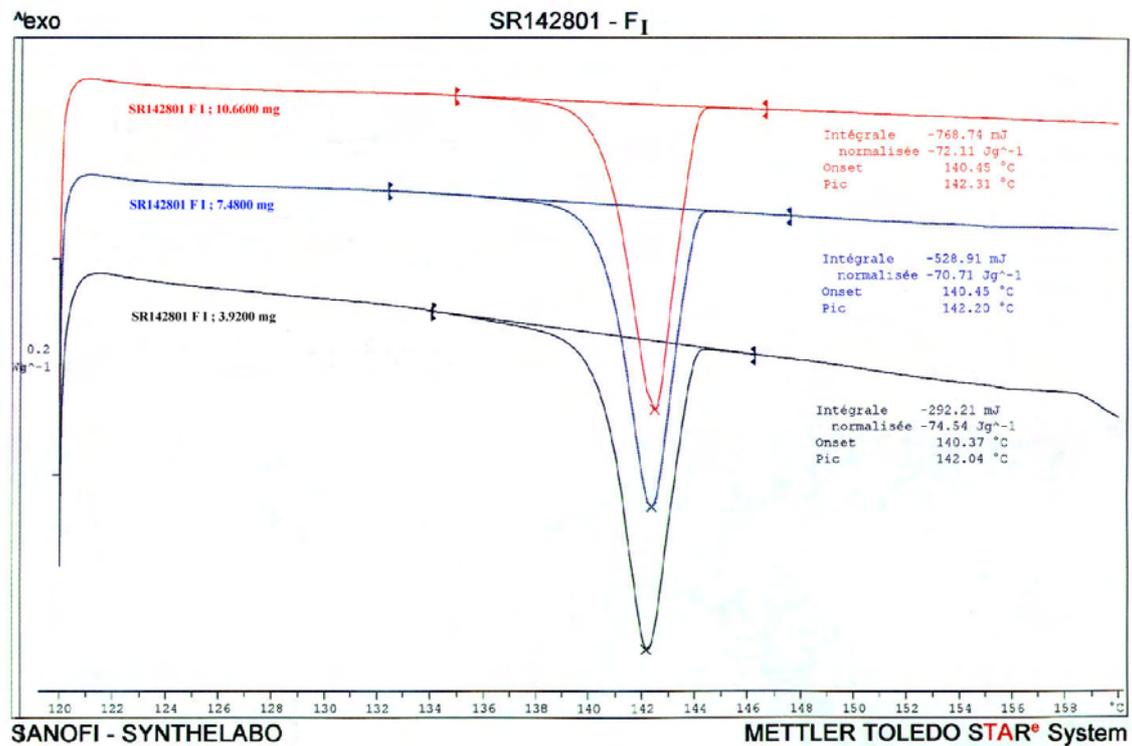


Figure1: Superposition de trois thermogrammes enregistrés pour la forme I en fonction de la masse de chaque creuset.

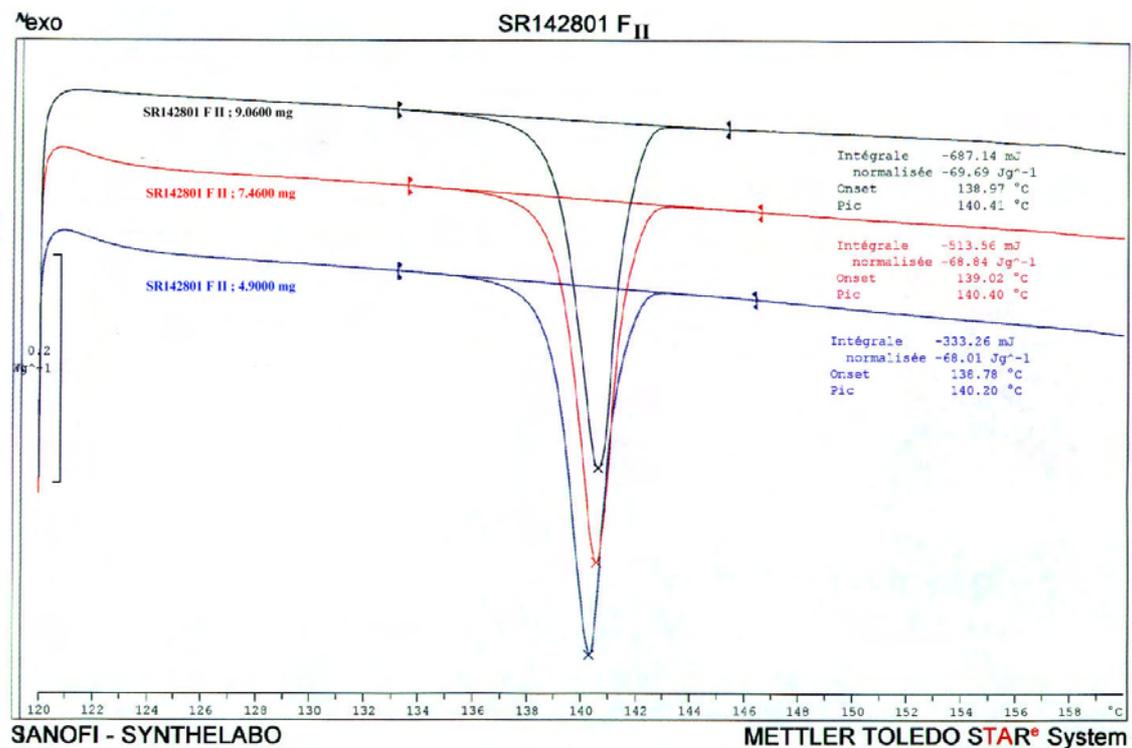


Figure2: Superposition de trois thermogrammes enregistrés pour la forme II en fonction de la masse de chaque creuset.

ANNEXE 3.2

Présentation de l'HPLC

La chromatographie est une technique analytique qui permet la séparation ou la purification d'un ou plusieurs composés d'un mélange pour leur identification et leur quantification. L'HPLC ou *Chromatographie Liquide Haute Pression* est Performante, car elle permet d'effectuer des séparations plus difficiles. Les quantités de soluté sont plus faibles. Les pics sont beaucoup plus fins et la résolution est nettement meilleure.

Définitions

Phase stationnaire

Il s'agit d'un support plus ou moins poreux (silice ou polymère) recouvert ou non d'un gel (liquide greffé) qui a des propriétés désirées pour retenir les molécules de soluté. Le diamètre des particules est généralement compris entre 3 et 10 μ m.

Eluant - Phase Eluante

Un éluant est une phase mobile. La notion de pouvoir éluant correspond au pouvoir d'entraîner les solutés à travers la colonne. Dans la pratique, chaque séparation nécessite une polarité de la phase mobile qui lui est propre. Chaque solvant ayant une polarité donnée, on ajuste la polarité globale de la phase mobile en mélangeant plusieurs solvants miscibles. A cette composition de phase mobile correspond une force éluante qui caractérise le pouvoir d'entraîner les solutés.

Pompe

Elle délivre en continu la phase mobile. Son électronique régule le débit.

Vanne d'injection

Elle possède 2 positions. La première permet le remplissage de la boucle d'injection de volume fixe (load), la seconde permet la mise en circulation de l'échantillon dans le système chromatographique (inject). Le remplissage de la boucle d'injection se fait à l'aide du module de contrôle qui gère également le passeur d'échantillons permettant ainsi l'automatisation de l'appareillage d'analyses.

Dans notre cas, le protocole expérimental mis au point par les analystes de chez Sanofi-Synthélabo préconise d'utiliser un gradient de concentration pour balayer en une injection la

plage de force éluante qu'il est possible d'obtenir avec une phase mobile. Le profil du gradient passe par des paliers durant lesquels la composition de la phase mobile reste constante quelques minutes.

Colonne

Au niveau de la colonne, les composés en solution se répartissent suivant leur affinité, entre la phase mobile et la phase stationnaire. Dans notre cas, la colonne chromatographique utilisée est de marque Waters Symmetry, elle mesure 250 mm de long et 4,6 mm de diamètre interne. La phase stationnaire est une silice greffée en C₁₈ dont le diamètre des particules est de 5µm. On travaille à 20°C.

Détecteurs

Le détecteur suit en continu l'apparition des solutés. Dans notre cas on mesure l'adsorption UV en sortie de colonne. Le détecteur installé sur l'HPLC utilisée est à longueur d'onde variable de Série HP 1100. Dans notre étude, le détecteur utilise une longueur d'onde de 230 nm.

Intégrateur

La chromatographie est une méthode de séparation utilisée en vue d'un dosage. Il faut donc avant tout chercher à séparer correctement les pics avant de les intégrer. Une intégration consiste à mesurer la surface sous un pic. Les conditions opératoires permettant de détecter la largeur du pic correspondant au principe actif étudié, ont été préalablement mises au point et optimisées par les analystes de Sanofi-Synthélabo.

Pour finir, l'aire sous le pic correspondant au PA permet de remonter à la concentration massique de ce dernier dans la phase dosée.

ANNEXE 3.3**Hydrodynamique d'un fluide**

Cette partie est une brève revue des principales notions hydrodynamiques nécessaires à la compréhension du dimensionnement du réacteur utilisé dans cette étude. Pour résoudre ainsi les problèmes pratiques d'agitation, on fait appel essentiellement à l'analyse dimensionnelle. Grâce à cette démarche, il est possible de calculer des grandeurs représentatives d'un agitateur. On caractérise alors ce dernier d'une part par la puissance qu'il transmet au fluide et qui est nécessaire pour faire tourner le mobile à la vitesse souhaitée (puissance d'agitation), d'autre part par les effets de cette rotation comme le débit de pompage et de circulation que l'on ne décrira pas.

Puissance d'agitation

L'application de l'analyse dimensionnelle de la puissance d'agitation reliée au système et au fluide révèle les nombres adimensionnels suivants :

Les nombres d'origine géométrique avec :

D/T : Diamètre de l'agitateur par rapport au diamètre de la cuve (cristalliseur)

H/T : Hauteur de fluide par rapport au diamètre de la cuve

h/T : distance entre l'agitateur et le fond de cuve par rapport au diamètre de la cuve

w/T : largeur des chicanes par rapport au diamètre de la cuve.

Le nombre de Reynolds caractérise la nature de l'écoulement d'un fluide dans une cuve. Ce nombre adimensionnel représente d'un point de vue physique le rapport des forces d'inertie aux forces de frottements dues à la viscosité.

$$\text{Re} = \frac{V.L}{\nu} = \rho \frac{ND^2}{\mu} \quad (\text{éq.1})$$

Où V est la vitesse d'écoulement du fluide (m.s^{-1}), L une distance caractéristique de la géométrie de l'écoulement (m) (diamètre d'un tube, d'un agitateur...), ν le coefficient de viscosité cinématique ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) du fluide, ρ est la masse volumique du fluide agité (kg.m^{-3}), N est la vitesse de rotation de l'agitateur (tours.s^{-1}), D représente le diamètre de l'agitateur (m) et enfin μ la viscosité dynamique du fluide (Pa.s ou décapoise).

On note alors que pour de faibles nombres de Reynolds, les forces de frottement, dont la tendance est de s'opposer à l'écoulement prennent le dessus sur les forces d'inertie. Les particules de fluide se déplacent alors parallèlement les unes aux autres sans s'entre mélanger (les lignes de courant de l'écoulement, sont les mêmes à chaque instant), le régime d'écoulement est dit laminaire.

Inversement, à nombres de Reynolds élevés, les forces d'inertie s'imposent aux forces de frottement. L'écoulement devient aléatoire et produit alors un maximum d'effets de mélange, c'est le régime turbulent.

Entre ces deux états, le passage progressif d'un régime à l'autre correspond au régime intermédiaire défini par des nombres de Reynolds intermédiaires. Les valeurs numériques des nombres de Reynolds correspondant aux transitions entre ces trois régimes dépendent du système considéré.

Dans notre étude nous avons calculé le nombre de Reynolds de notre système, $Re \cong 8000$, à partir des considérations suivantes : $\rho \cong 1300 \text{ kg/m}^3$; $N=500 \text{ rpm}$; $D=36.10^{-3} \text{ m}$ et $\mu_{\text{maxi}} \cong 0,1 \text{ Pa.s}$.

Le nombre de Froude caractérise l'influence des forces centrifuges par rapport aux forces de pesanteur.

$$Fr = \frac{V}{(g.L)^{1/2}} \quad (\text{éq.2})$$

Où L est une longueur caractéristique de l'écoulement (m), g l'accélération de la pesanteur (m.s^{-2}) et V la vitesse moyenne de l'écoulement (m.s^{-1}) (comparaison des forces d'inertie aux forces de pesanteur). En agitation, on utilise comme longueur caractéristique de l'écoulement le diamètre de l'agitateur D, et comme vitesse moyenne le produit ND, ici $ND \cong 18 \text{ m.s}^{-1}$.

L'absence de vortex dans une cuve est la conséquence physique de la présence de chicanes dans cette dernière. Dans ces conditions l'influence du nombre de Froude peut être négligée et les problèmes d'agitation peuvent alors être ramenés à une relation entre le nombre de Reynolds et le nombre adimensionnel de puissance noté N_p défini ci-après.

Le nombre de puissance

$$N_p = \frac{P}{\rho \cdot N^3 \cdot D^5} \quad (\text{éq.3})$$

Où P est la puissance transmise au fluide par le mobile, ou puissance hydraulique (W), ρ est la masse volumique du fluide agité (kg.m^{-3}), N est la vitesse de rotation de l'agitateur (tours.s^{-1}) et D représente le diamètre de l'agitateur (m).

Une représentation schématique de la relation entre le nombre de Reynolds et le nombre de puissance $N_p = f(\text{Re})$, est présentée sur la figure 3 en graphique log/log. Cette relation précise également les limites approximatives entre les différents régimes d'écoulement pour différents mobiles d'agitation.

On peut donner l'exemple de la turbine à pales droite dite de Rushton où la transition entre le régime laminaire (partie linéaire) et le régime intermédiaire s'établit pour $\text{Re}=3$ alors que le passage du régime intermédiaire au régime turbulent se produit pour un Re compris entre 10^3 et 10^4 . La propriété aléatoire et chaotique d'un écoulement turbulent conduit à un maximum d'effets de mélange, c'est pourquoi ce régime est souvent utilisé en agitation. Une loi générale pour tous les mobiles n'existe pas dans le domaine intermédiaire, le comportement devient dépendant de manière importante de la géométrie interne de l'appareillage qui pourra faire intervenir le régime turbulent plus ou moins rapidement. Et dans le cas d'une ancre tubulaire, on remarque que le régime turbulent ne sera jamais atteint, en raison de l'insuffisance du chicanage de la cuve.

Dans notre étude, le mobile d'agitation utilisé est une Mixell TT qui possède un nombre de puissance de 1. Pour $N_p=1$ et $\text{Re} \cong 8000$ le régime établi (fig.3) est turbulent et se distingue des autres régimes par son nombre de puissance constant.

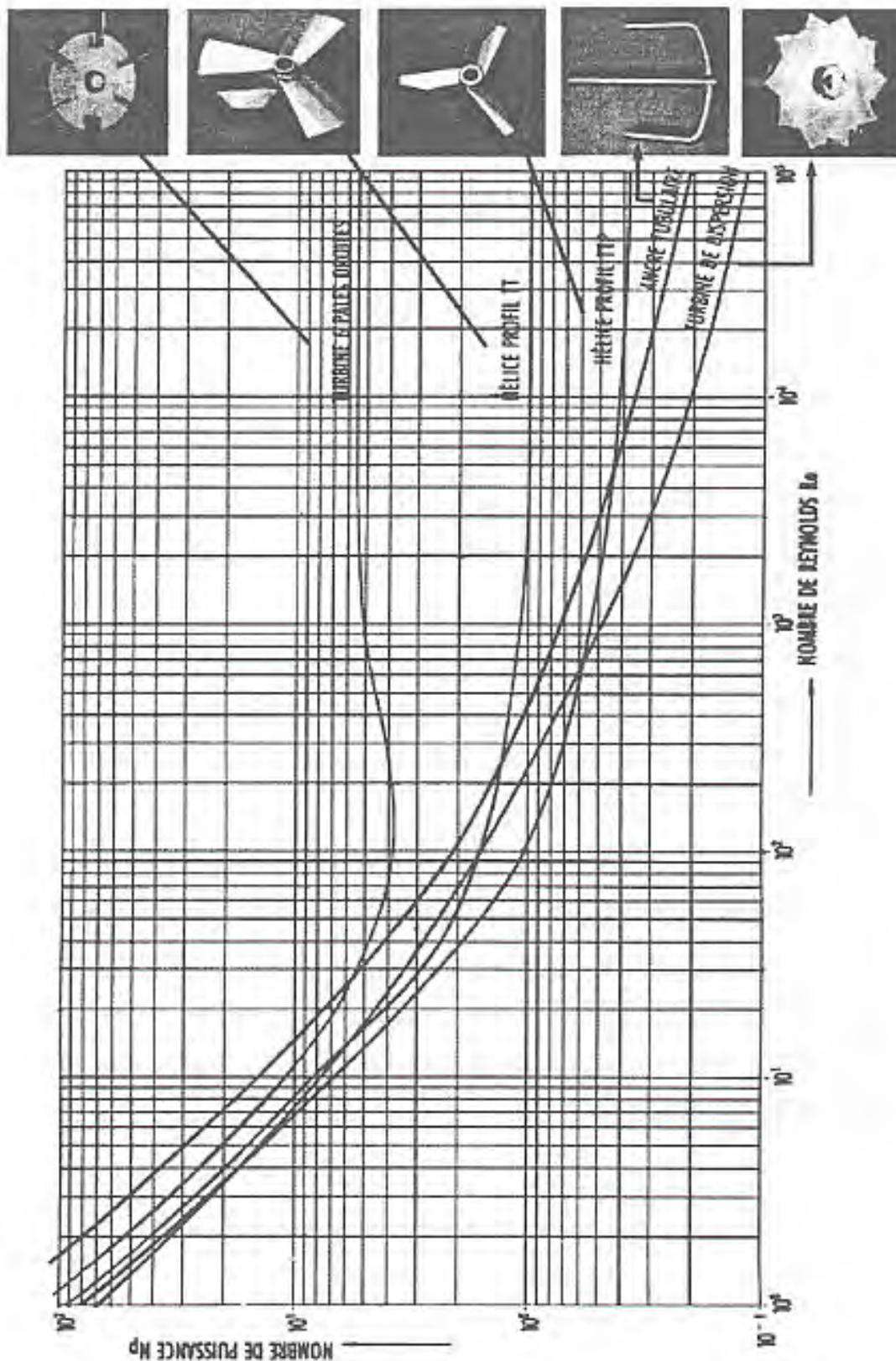


Figure: Corrélation N_p fonction de Reynolds en fonction du type de mobile d'agitation.

ANNEXE 4.1

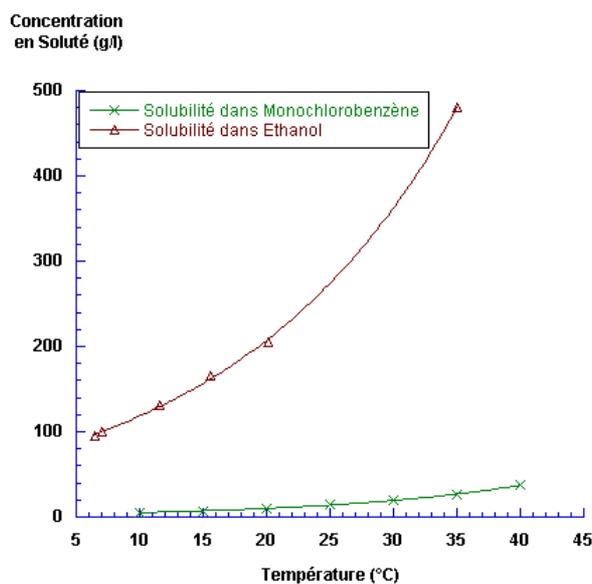


Figure 1: Représentation dans un diagramme concentration-température des points de mesure des solubilités du SR 28043 dans les solvants Ethanol puis Monochlorobenzène.

ANNEXE 4.2

Tableau d'équivalence de la concentration en principe actif (SR 142801) exprimée en % massique ou g/l dans un solvant Ethanol/Eau de rapport $(54,2/45,8)_{\text{massique}}$ ou $(60/40)_{\text{volumique}}$

Concentration en principe actif	
% massique	g/l
4,38	40
7,91	75
10,27	100
12,52	125
13,81	140
14,66	150
16,69	175
18,63	200
20,48	225
22,25	250
36,41	500

ANNEXE 4.3

Données nécessaires au modèle NRTL

Attribuées de façon arbitraire à partir des données du binaire Eau-Benzène

Données (2)-(3) : Peu Miscible

Phase Diluée en principe actif (fraction molaire)	Température (°C)	Phase Concentrée en principe actif (fraction molaire)
0,10E-02	10	0,99990
0,20E-02	20	0,99980
0,29E-02	30	0,99971
0,35E-02	35	0,99965
0,40E-02	40	0,99960
0,48E-02	45	0,99952
0,55E-02	50	0,99945

Données (2)-(3) : Très Peu Miscible

Phase Diluée en principe actif (fraction molaire)	Température (°C)	Phase Concentrée en principe actif (fraction molaire)
0,10E-04	10	0,9999990
0,20E-04	20	0,9999980
0,29E-04	30	0,9999971
0,32E-04	35	0,9999968
0,40E-04	40	0,9999960
0,45E-04	45	0,9999955
0,50E-04	50	0,9999950

ANNEXE 4.4

Résultats modélisation du ternaire avec NRTL

Peu Miscible						
Phase Diluée			Température (°C)	Phase Concentrée		
en principe actif				en principe actif		
(%massique)				(%massique)		
Expérimental	Calculé	Ecart		Expérimental	Calculé	Ecart
4,59	5,93	-1,34	10	54,71	51,46	3,25
7,33	7,87	-0,54	20	51,63	50,75	0,88
8,58	9,65	-1,07	30	51,22	50,81	0,41
9,71	10,63	-0,92	35	50,38	51,20	-0,82
10,54	10,63	-0,09	40	49,31	52,33	-3,02
13,71	14,74	-1,03	45	47,13	48,17	-1,04

Très Peu Miscible						
Phase Diluée			Température (°C)	Phase Concentrée		
en principe actif				en principe actif		
(%massique)				(%massique)		
Expérimental	Calculé	Ecart		Expérimental	Calculé	Ecart
4,59	6,84	-2,25	10	54,71	51,56	3,15
7,33	8,71	-1,38	20	51,63	51,09	0,54
8,58	10,22	-1,64	30	51,22	51,45	-0,23
9,71	10,99	-1,28	35	50,38	52,00	-1,62
10,54	10,77	-0,23	40	49,31	53,31	-4,00
13,71	14,41	-0,70	45	47,13	49,43	-2,30

ANNEXE 4.5

Résultats prédiction du ternaire avec UNIFAC

UNIFAC Gmehling						
Phase Diluée en principe actif (%massique)			Température (°C)	Phase Concentrée en principe actif (%massique)		
Expérimental	Calculé	Ecart		Expérimental	Calculé	Ecart
4,59	0,01	4,58	10	54,71	78,87	-24,16
7,33	0,00	7,33	20	51,63	80,06	-28,43
8,58	0,00	8,58	30	51,22	80,86	-29,64
9,71	0,00	9,71	35	50,38	81,47	-31,09
10,54	0,00	10,54	40	49,31	82,29	-32,98
13,71	0,00	13,71	45	47,13	81,98	-34,85

ANNEXE 5.1



Photo MEB du faciès des cristaux en fin d'expérience dans le cas d'un ensemencement à l'extérieur de la zone de démixtion

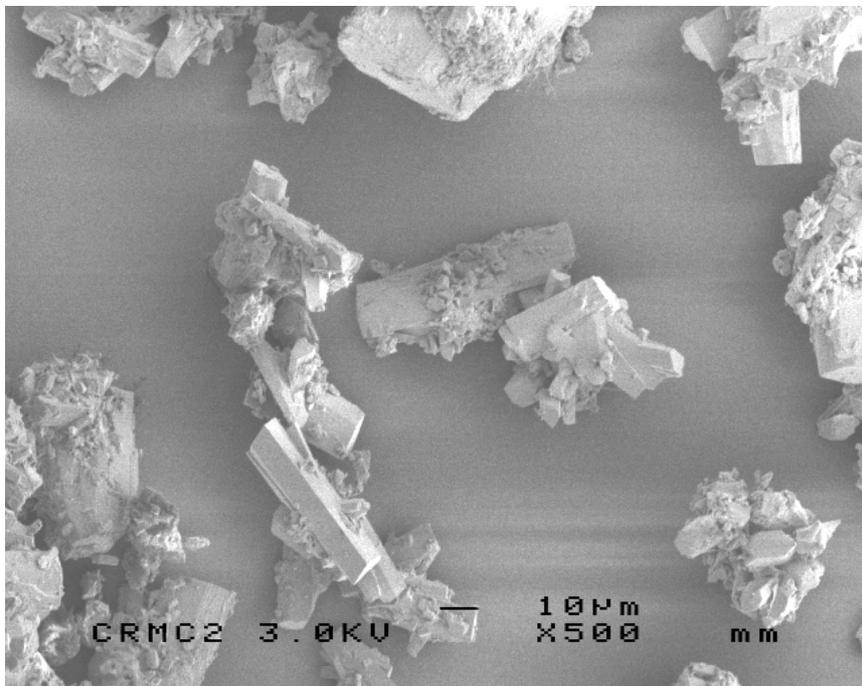


Photo MEB du faciès des cristaux en fin d'expérience dans le cas d'un ensemencement à la limite de la zone de démixtion

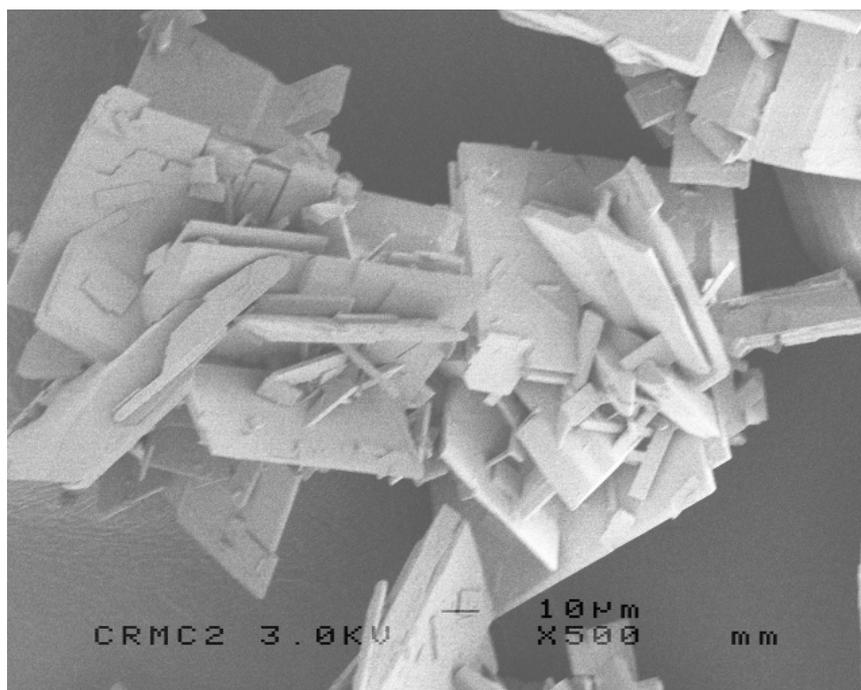


Photo MEB du faciès des cristaux en fin d'expérience dans le cas d'un ensemencement à l'intérieur de la zone de démixtion

NOMENCLATURE

Indices

croiss : croissance

disso: dissolution

het : Hétérogène

hom : Homogène

surf : surfacique

Abbréviations

DL : Diffusion de la Lumière

DLC: Distribution de Longueur de Corde

DRX : Diffraction de rayons X

DSC : Differential Scanning Calorimetry ou analyse enthalpique différentielle en français

FBRM : Focused Beam Reflectance Measurement

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Pression

LabVIEW[®] : Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench

LHA : Liaison Hydrogène Accepteur

LHD : Liaison Hydrogène Donneur

MEB : Microscope Electronique à Balayage

PVM : Particle Vision and Measurement

Résumé:

Dans l'industrie pharmaceutique, la cristallisation est une opération de purification et de mise en forme du solide très importante. Une bonne connaissance du processus de nucléation conduit à améliorer le produit final. Le principal objectif de cette thèse était de déterminer l'origine des difficultés rencontrées pour nucléer certains principes actifs pharmaceutiques. L'étude du diagramme de phases de l'un d'eux a mis en évidence les phénomènes de polymorphisme et de séparation liquide-liquide (démixtion L-L).

Dans un premier temps, la microscopie optique et le contrôle de la température par effet Peltier ont été utilisés pour caractériser et isoler le polymorphe le plus stable. Cet appareillage a ensuite permis de révéler en milieu stagnant que la difficulté pour cristalliser la molécule, provient de l'apparition d'une séparation L-L dans les zones métastables des polymorphes. Par ailleurs, les techniques de diffusion de la lumière et de dosages (HPLC et Karl Fisher) ont été utilisées pour caractériser la zone de démixtion L-L et montrer son influence considérable sur le milieu de cristallisation.

Enfin dans la dernière partie nous mettons en évidence le comportement de la démixtion L-L en milieu agité, en la caractérisant par turbidité, comptages de particules (FBRM) et analyses d'images afin d'étudier ensuite son influence sur la cristallisation par ensemencement.

Mots-clefs : Nucléation, polymorphisme, démixtion liquide-liquide, transitions de phases, turbidité, cristallisation, ensemencement, principes actifs.

Summary :

In the field of pharmaceutical compound crystallization, a better knowledge of the nucleation process is essential to control the nucleation rate, the growth and therefore the size and the quality of crystals. This work focuses on difficulty to crystallize some drugs. It becomes clear that, an important stage is the phase diagram investigation of the considered substance. In our case, polymorphism and liquid-liquid (L-L) phase separation or demixing were observed.

On the one hand, the temperature controlled by Peltier effect has allowed us to characterize and to keep the stable polymorph in suspension using optical microscopy.

On the other hand, the L-L phase separation has been characterized in stagnant medium by light scattering, optical microscopy and each coexistence liquid phases were titrated by HPLC and Karl Fischer. The L-L phase separation was observed in the metastable zone of polymorphs and consequently hindered the crystallization.

Finally, the demixing is characterized in stirred solution and its effect on the drug crystallization by seeding was studied by turbidity and in-line focused beam reflectance measurements (FBRM) techniques.

Key Words: Nucleation, polymorphism, liquid-liquid phase separation, demixing, phase transition, turbidity, crystallization, seeding, drug.