



HAL
open science

Transitions de phases solides induites par un procédé de compression directe : application à la caféine et à la carbamazépine

Sébastien Hubert

► To cite this version:

Sébastien Hubert. Transitions de phases solides induites par un procédé de compression directe : application à la caféine et à la carbamazépine. Alimentation et Nutrition. Université Claude Bernard - Lyon I, 2012. Français. NNT : 2012LYO10210 . tel-00903563

HAL Id: tel-00903563

<https://theses.hal.science/tel-00903563>

Submitted on 12 Nov 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 DE L'UNIVERSITE DE LYON

présentée
devant L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Ecole Doctorale de Chimie de Lyon

Pour l'obtention du
DIPLOME DE DOCTORAT
(arrêté du 7 août 2006)
Spécialité Génie des Procédés

Soutenue publiquement le 12 novembre 2012

par
Sébastien HUBERT

**Transitions de phases solides induites par un procédé de
compression directe : application à la caféine et à la
carbamazépine**

Directeur de thèse : Monsieur François PUEL

Jury : Madame Stéphanie BRIANCON
Monsieur Dominique DE LIGNY
Monsieur Alain HEDOUX
Monsieur Thierry HOC
Monsieur Jean-Paul KLEIN
Monsieur Samuel PETIT
Monsieur François PUEL
Monsieur Juergen SIEPMANN

Co-directeur de thèse

Rapporteur
Directeur de thèse
Rapporteur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Secrétaire Général

M. François-Noël GILLY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Administrateur provisoire : M. le Professeur G. KIRKORIAN

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA.

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : M. le Professeur P. FARGE

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

Département Sciences de la Terre

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. le Professeur F. De MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme le Professeur H. PARROT

Directeur : M. N. SIAUVE

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : Mme S. FLECK

Directeur : Mme la Professeure I. DANIEL

Directeur : M. C. COLLIGNON

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. C. VITON

Directeur : M. R. BERNARD

Directeur : Mme la Professeure V. MAUME-DESCHAMPS

Remerciements

Cette thèse a été effectuée au Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés de Lyon (LAGEP). Je remercie son directeur, Hatem FESSI ainsi que sa responsable administrative Nadia CHAPEL pour m'y avoir accueilli.

J'exprime toute ma gratitude à François PUEL et Stéphanie BRIANCON, mes directeurs de thèse, pour leur encadrement tout au long de ces trois années de thèse. J'ai grandement apprécié toute la confiance dont ils m'ont fait part et tous leurs conseils qui m'ont permis de me former au métier de la recherche. Leur soutien et leur disponibilité ont également été d'une très grande aide.

Je remercie M. Juergen SIEPMANN et M. Samuel PETIT, pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail.

J'exprime toute ma reconnaissance à M. Bernard CHAMPAGNON, M. Dominique DE LIGNY, M. Yannick GUINET, M. Alain HEDOUX, M. Thierry HOC, Mme. Cécile NOUGUIER et M. Ruben VERRA pour leurs différentes collaborations au cours de cette thèse, pour leurs précieux conseils et leur sympathie.

Mes pensées vont également à tous les membres du LAGEP et plus particulièrement à Jean-Pierre, Pierre, Emile, Sami, Audrey, Rachid, Faiza, Zouaoui, Gé, Basile, Stéphanie, Abir, l'équipe de foot du LAGEP et tous ceux qui se reconnaîtront. Votre convivialité, et votre aide dans les bons moments comme dans les autres ont été d'un grand soutien.

Je pense également à l'équipe « procédés » de CPE, Nathalie, Dominique, Murielle, Pierre, Clémence, Wafa, Rafik, et les autres. J'ai beaucoup appris à vos côtés et je n'oublie pas que CPE était ma maison avant mon arrivée au LAGEP.

Je tiens à remercier profondément mes parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé au cours de ces longues années d'études. Cette thèse est également la leur.

Je tiens à dédier ce manuscrit à Delphine pour tout ce qu'elle a dû endurer pendant cette dernière année et pour tout ce qu'elle m'apporte au quotidien. Les mots ne sont pas assez forts pour te dire à quel point cette thèse est aussi la tienne.

Résumé

Ce travail porte sur l'étude des transformations induites par les procédés industriels (TIPI) dans le domaine de l'industrie pharmaceutique. Il se focalise sur le procédé de compression directe et sur deux principes actifs modèles qui sont la caféine et la carbamazépine.

Des méthodes de caractérisations expérimentales des transitions de phases dans les comprimés ont été développées. La densité des comprimés a été mesurée par tomographie à rayons X et évaluée en surface par micro-indentation. Des méthodes thermiques telles que l'ACD et l'ATG ont été utilisées pour estimer les transformations dans tout le volume des comprimés. La spectroscopie Raman à basses fréquences a été appliquée pour la première fois pour cartographier la surface des comprimés. La spectroscopie Raman à hautes fréquences a été développée dans le but d'augmenter le nombre de données et d'automatiser le traitement des spectres.

La transformation de la caféine forme I (métastable) en forme II (stable) nécessite plusieurs années dans les conditions ambiantes. Les investigations menées sur la caféine I ont révélé que la transition est induite par la compression directe car une transformation partielle en forme II est mesurée dans tout le volume du comprimé. La transformation continue au sein du comprimé lors de son stockage et le taux de transformation reste supérieur à celui de la poudre de caféine forme I non comprimée. Les quantifications mises en place par ACD et spectroscopie Raman à basses fréquences ont montré des transformations de la forme I dans tout le volume des comprimés et leur valeur est indépendante de l'intensité de la pression de compression. De plus, les deux formes de la caféine coexistent à l'échelle micrométrique, ce qui tend à prouver que des cristallites de forme II apparaissent dans tous les grains de caféine.

La caféine formulée avec de la cellulose microcristalline présente un comportement plastique lors de la compression. La tomographie à rayons X révèle l'existence d'une zone locale de densité plus élevée au niveau des parois latérales, sans que ceci influe localement sur le taux de transition de la caféine. L'emploi d'une caféine calibrée entraîne un comportement plus fragmentaire, qui semble réduire le taux de transformation mesuré.

Aucune transformation de phase solide de la carbamazépine dihydrate n'a été décelée par ATG et spectroscopie Raman dans les comprimés fabriqués. Il semble que ce principe actif soit stable en compression directe.

Mots-Clés

TIPI, compression, polymorphisme, transition de phase, caféine, carbamazépine, spectroscopie Raman, analyse thermique, tomographie à rayons X

Disciplines

Génie des procédés, Galénique

Laboratoire

Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés, LAGEP

UMR 5007, 43 boulevard du 11/11/1918, bâtiment CPE 308G, 69622 Villeurbanne Cedex

Title

Solid phase transitions induced by direct compression: the case of caffeine and carbamazepine

Abstract

The purpose of this study was to improve the understanding of process induced transformations (PITs) in the field of the pharmaceutical industry. This present study is focused on the direct compression process applied to two model active molecules named caffeine and carbamazepine.

Experimental characterization methods of phase transitions in the tablets were developed. Densities inside the tablets were measured by X-ray computed micro-tomography and by micro-indentation at the surface. Thermal methods for DSC and TGA were applied in order to estimate transformation degrees of tablet parts. Low frequencies micro-Raman Spectroscopy (MRS) was used for the first time as a way for polymorphs mapping. Raman spectroscopy was also developed in the high frequencies range to increase the analyzed part area and to computerize the spectra treatment.

Caffeine form I is transformed naturally toward caffeine form II but this transition can take many years at room temperature. Our investigations have shown that the direct compression process induced a partial transition of caffeine I toward caffeine II. Phase transition degree stayed higher in the tablet than in the non-compressed powder during two years. Quantification process was set up for DSC and low frequencies MRS. It was found that the pressure level did not influenced the transition degree. Moreover, both polymorphs coexist at the micrometer scale in all caffeine particles.

Caffeine formulated with micro-crystalline cellulose exhibits a plastic behavior under compaction. X-ray tomography revealed higher densities zones next to the tablet slides but any impact on the transition degree was detected. The use of calibrated caffeine particles led to a more brittle behavior and seemed to decrease the transition degree.

The investigations on carbamazepine dihydrate did not show any phase transformation of this active molecule induced by direct compression.

Sommaire :

INTRODUCTION GÉNÉRALE	17
CHAPITRE I : ETAT DE L'ART	23
A/ TRANSFORMATIONS INDUITES PAR LES PROCÉDÉS D'INDUSTRIALISATION (TIPI).....	23
A.1/ NOTION DE POLYMORPHISME	23
A.1.1/ <i>Historique et définition</i>	23
A.1.2/ <i>Cas particulier du pseudo-polymorphisme</i>	24
A.1.3 <i>Aspect thermodynamique</i>	25
A.1.3.1 Règle des phases et critère de stabilité de Gibbs Duhem	25
A.1.3.2/ Notions d'énantiotropie et de monotropie	28
A.1.3.3/ Diagrammes de phases	29
A.1.3.4/ Règles de stabilité thermodynamique	30
A.2/ LES TRANSITIONS POLYMORPHIQUES (ASPECT CINÉTIQUE).....	32
A.2.1/ <i>La germination homogène</i>	32
A.2.2/ <i>Croissance de la nouvelle phase</i>	33
A.3/ APPROCHE THÉORIQUE DES TRANSFORMATIONS INDUITES PAR LES PROCÉDES D'INDUSTRIALISATION	36
A.3.1/ <i>Notions de contrainte, de piégeage et de relaxation</i>	36
A.3.2/ <i>Bases de l'approche théorique des TIPI</i>	37
A.3.3/ <i>Les TIPI en compression</i>	38
A.4/ LES CONSÉQUENCES DES TIPI DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE	41
B/ LE PROCÉDÉ DE COMPRESSION.....	45
B.1/ LES ÉTAPES DU PROCÉDE DE COMPRESSION	45
B.1.1/ <i>Compression</i>	45
B.1.2/ <i>Décompression</i>	45
B.1.3/ <i>Ejection</i>	45
B.1.4/ <i>Expulsion</i>	46
B.2/ LES OUTILS DE COMPRESSION :	46
B.2.1/ <i>Les presses alternatives excentriques</i>	46
B.2.2/ <i>Les presses rotatives</i>	48
B.2.3/ <i>Les simulateurs de compression</i>	49
B.3/ LES ÉQUATIONS DE DENSIFICATION	50
B.3.1/ <i>Domaine d'application des équations porosité / pression</i>	50
B.3.2/ <i>Détermination de la pression de compression</i>	51
B.3.3/ <i>Détermination de la porosité des comprimés</i>	51
B.3.4/ <i>L'équation de Heckel</i>	52
B.3.4.1/ <i>Présentation du modèle de Heckel</i>	52
B.3.4.2 <i>Intérêt pour l'étude de la densification</i>	54
B.3.4.3/ <i>Limites du modèle</i>	54

Sommaire

C/ LES TECHNIQUES ANALYTIQUES APPLIQUÉES À LA CARACTÉRISATION DES COMPRIMÉS	56
C.1/ ANALYSE CALORIMETRIQUE DIFFERENTIELLE	56
C.1.1/ Principe	56
C.1.2/ Utilisation de l'ACD pour caractériser les transitions de phases solides	57
C.2/ TOMOGRAPHIE A RAYONS X	59
C.2.1/ Principe de la tomographie à Rayons X	59
C.2.2/ Composition d'un micro-scanner à rayons X	60
C.2.3/ Application à l'analyse des comprimés	61
C.2.3.1/ Principe et intérêts	61
C.2.3.2/ Etude de la répartition de la densité dans des comprimés	62
C.3/ SPECTROSCOPIE RAMAN	66
C.3.1/ Principe de la spectroscopie Raman	66
C.3.2/ Caractérisation de l'état solide par spectroscopie Raman	67
C.3.3/ Comparaison de la spectroscopie Raman à d'autres techniques analytiques pour la caractérisation des solides	67
C.3.4/ Etat de l'art sur la cartographie Raman des produits pharmaceutiques	69
C.3.5/ Limites de la technique	71
CONCLUSION DU CHAPITRE I	72
CHAPITRE II : PRODUITS, MATÉRIELS ET MÉTHODES DE CARACTÉRISATION ET QUANTIFICATION DE LA CAFÉINE	75
A/ PRODUITS :	75
A.1/ RECHERCHE D'UN PRODUIT MODELE : LA CAFEINE	75
A.1.1/ Pourquoi un produit modèle ?	75
A.1.2/ Caractéristiques cristallographiques des polymorphes de la caféine	76
A.1.2.1/ Phases anhydres	77
A.1.2.2/ Phase hydrate	77
A.1.2.3/ Diffractogrammes RX sur poudre de la caféine	79
A.1.3/ Caractéristiques thermodynamiques de la caféine :	79
A.1.4/ Préparation de la caféine :	82
A.1.4.1/ Obtention de la forme II :	82
A.1.4.2/ Obtention de la forme I :	82
A.1.5/ Transitions de phases solide-solide de la caféine forme I :	84
A.1.5.1/ Transitions en compression de la caféine forme I	84
A.1.5.2/ Transformation de la caféine forme I en forme II en température	85
A.2/ L'EXEMPLE DE LA CARBAMAZEPINE	86
A.2.1/ Un peu d'histoire	86
A.2.2/ Caractéristiques chimiques de la Carbamazépine	86
A.2.3/ Polymorphisme de la Carbamazépine	86

Sommaire

<i>A.2.4/ Pseudo-polymorphisme de la Carbamazépine</i>	92
<i>A.2.5/ Transitions de phases solides de la Carbamazépine</i>	93
<i>A.2.6/ Biodisponibilité de la Carbamazépine</i>	95
<i>A.2.7/ Préparation de la carbamazépine dihydrate (CBZH)</i>	96
A.2.7.1/ Choix du solvant.....	96
A.2.7.2/ Matériels.....	98
A.2.7.3/ Protocole expérimental et analyses.....	98
A.2.7.4/ Conclusion.....	102
A.3/ LES EXCIPIENTS	103
<i>A.3.1/ La cellulose micro-cristalline (CMC)</i>	103
<i>A.3.2/ Le stéarate de magnésium</i>	103
<i>A.3.3/ Le phosphate de calcium anhydre</i>	104
<i>A.3.4/ La silice colloïdale</i>	104
A.4/ FORMULATIONS SOLIDES POUR LA COMPRESSION	105
<i>A.4.1/ Formulation principale à base de caféine forme I</i>	105
<i>A.4.2 / Formulations secondaires à base de caféine forme I</i>	106
<i>A.4.3/ Formulation à base de CBZH</i>	106
B/ MATÉRIELS :	107
B.1/ MICROSCOPIE OPTIQUE.....	107
B.2/ MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB).....	107
B.3/ PYCNOMETRIE A HELIUM.....	107
B.4/ ANALYSE CALORIMETRIQUE DIFFERENTIELLE (ACD).....	108
B.5/ ANALYSE THERMOGRAVIMETRIQUE (ATG).....	109
B.6/ DIFFRACTION A RAYONS X (DRX) SUR POUDRE.....	110
B.7/ MICRO-TOMOGRAPHIE A RAYONS X.....	111
B.8/ MICRO-INDENTATION.....	112
B.9/ SPECTROSCOPIE RAMAN.....	115
<i>B.9.1/ Spectroscopie Raman à basses fréquences</i>	115
<i>B.9.2/ Spectroscopie Raman à hautes fréquences</i>	117
C/ MÉTHODES DÉVELOPPÉES POUR LA CARACTÉRISATION ET LA QUANTIFICATION DE LA CAFÉINE :	119
C.1/ QUANTIFICATION DES FORMES DE CAFEINE PAR ACD.....	119
<i>C.1.1/ Présentation de la méthode</i>	119
<i>C.1.2/ Vérification expérimentale de la méthode</i>	119
C.2/ CARACTERISATION DU PROCEDE DE COMPRESSION.....	124
<i>C.2.1/ Fabrication et caractérisation des comprimés</i>	124
<i>C.2.2/ Traitement des données de compression</i>	125
C.3/ METHODES DE TRAITEMENT DES SPECTRES RAMAN ET CARTOGRAPHIES.....	127
<i>C.3.1/ Traitement des spectres à basses fréquences</i>	127

Sommaire

<i>C.3.2/ Cartographies Raman à basses fréquences</i>	129
<i>C.3.3/ Observations à hautes fréquences</i>	129
<i>C.3.4/ Impact du laser sur la transition de phases</i>	130
<i>C.3.5/ Cartographies Raman à hautes fréquences</i>	132
C.3.5.1/ Traitement des spectres de caféine.....	132
C.3.5.2/ Critères de différenciation des polymorphes	134
C.3.5.3/Identification en présence des excipients	142
C.3.5.4/ Construction des cartographies	144
C.3.5.5/ Choix de l'incrément spatial des cartographies.....	146
C.4/ TRAITEMENT DES DONNEES DE MICRO-TOMOGRAPHIE A RAYONS X	149
<i>C.4.1/ Relation entre densité et niveau de gris</i>	149
<i>C.4.2/ Densité des comprimés de caféine et de cellulose</i>	152
CONCLUSION DU CHAPITRE II.....	153
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION	157
A/ LE CAS DE LA CAFÉINE	157
A.1/ ETUDE DE LA DENSITE ET DU COMPORTEMENT MECANIQUE	157
<i>A.1.1 Analyse des comprimés par micro-tomographie à rayons X.....</i>	<i>158</i>
<i>A.1.2 Application des équations de porosité/pression.....</i>	<i>163</i>
A.1.2.1 Cycles de compression et Energies de déformation.....	163
A.1.2.2 Modèle de Heckel.....	165
<i>A.1.3 Evaluation de la densité par micro-indentation à la surface des comprimés</i>	<i>167</i>
<i>A.1.4 Conclusion</i>	<i>170</i>
A.2/ ESTIMATION DES TRANSITIONS DE PHASES PAR ACD.....	171
<i>A.2.1/ Effet de la pression de compression.....</i>	<i>171</i>
<i>A.2.2/ Effet du comportement mécanique de la poudre en compression</i>	<i>173</i>
A.2.2.1/ Modification de la taille des particules de caféine forme I	173
A.2.2.2/ Modification de la taille des particules d'excipient	175
A.2.2.3/ Modification de la nature de l'excipient	176
A.2.2.4/ Discussion de l'influence du comportement mécanique de la poudre	177
<i>A.2.4/ Effet d'amorçage.....</i>	<i>178</i>
<i>A.2.5/ Etude de la cinétique de la transformation de la caféine I.....</i>	<i>179</i>
A.3/ ESTIMATION DES TRANSITIONS DE PHASE PAR SPECTROMETRIE RAMAN	182
<i>A.3.1/ Imagerie Raman à basses fréquences</i>	<i>182</i>
<i>A.3.2/ Imagerie Raman à hautes fréquences</i>	<i>184</i>
A.3.2.1/ Evaluation des transitions de phases de la caféine I en compression.....	184
A.3.2.2/ Effet de la cinétique de transformation.....	187
A.4/ DISCUSSION.....	190
<i>A.4.1/ Influence des paramètres mécaniques sur les transitions de phases.....</i>	<i>190</i>
<i>A.4.2/ Comparaison des résultats obtenus par analyse thermique et micro-spectroscopie Raman</i>	<i>191</i>
<i>A.4.3/ Confrontation des résultats aux études issues de la littérature.....</i>	<i>192</i>

Sommaire

B/ LE CAS DE LA CARBAMAZÉPINE.....	195
B.1/ COMPRESSION DE LA CARBAMAZÉPINE DIHYDRATE	195
<i>B.1.1/ Masses et duretés</i>	<i>195</i>
<i>B.1.2/ Modélisation de Heckel.....</i>	<i>195</i>
B.2/ EVALUATION DES TRANSITIONS DE PHASES SOLIDES PAR SPECTROSCOPIE RAMAN	196
B.3/ EVALUATION DES TRANSITIONS DE PHASES SOLIDES PAR ATG	198
B.4/ EVALUATION DES TRANSITIONS DE PHASES SOLIDES PAR DRX	200
B.5/ DISCUSSION ET CONCLUSION	201
CONCLUSION GÉNÉRALE	205
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	209
ANNEXES	225

Introduction générale

Dans le domaine de la formulation par voie sèche en pharmacie, de nombreux rapports font état de transformations physiques des principes actifs induites par les étapes de mises en forme au stade des procédés industriels. Ces transformations sont regroupées sous l'acronyme TIPI signifiant Transformations Induites par les Procédés Industriels (Morris et *al.*, 2001). Il regroupe l'ensemble des transformations physiques ou chimiques des cristaux moléculaires engendrées par une ou plusieurs étapes des procédés de préparation et de mise en forme utilisés au niveau industriel. Les TIPI ont un impact à la fois économique et sanitaire pour l'industrie pharmaceutique. Ces transformations peuvent modifier la qualité des produits fabriqués et il est fréquent que des lots non conformes ne soient pas libérés sur le marché pour cette raison.

Le comprimé est la forme d'administration pharmaceutique la plus répandue dans le monde. L'existence du comprimé pharmaceutique ou plutôt l'emploi du mot comprimé (*compressed tablet*) remonterait à l'inventeur britannique William Brockedon. Cette invention encore très rudimentaire est décrite dans le British Patent N° 9977 du 8 décembre 1843. L'originalité de la découverte consiste à simplifier la préparation des pilules en utilisant la compression à sec. Le dispositif est constitué d'une matrice reposant sur un poinçon inférieur à position fixe. Un poinçon supérieur est enfoncé après remplissage de la matrice par un maillet. Alors que les pilules, pastilles et tablettes sont mentionnées dès la première édition de la Pharmacopée française en 1818, les comprimés ne seront introduits qu'à partir de la sixième Edition de 1937 (Wehrlé, 2009). Ils présentent de nombreux avantages comme la précision du dosage, la facilité d'administration, la stabilité physique et chimique, et les faibles coûts de fabrication.

Les principes actifs (PA) et les excipients qui constituent les comprimés peuvent exister sous différentes formes cristallines ou à l'état d'amorphe. Lorsqu'une forme solide prédéfinie d'une substance donnée est soumise à une grande variété de traitements mécaniques en vue de fabriquer un comprimé, des TIPI peuvent survenir. Elles peuvent prendre la forme de transitions polymorphiques, d'amorphisation, d'hydratation ou encore de désolvation / déshydratation.

Des différences de formes cristallines peuvent influencer la qualité physico-chimique ainsi que les propriétés mécaniques d'une substance (Grant, 1999). Cela se traduit généralement par un changement de la biodisponibilité du produit fini. Par conséquent, il est primordial, pour un industriel, de maîtriser les formes solides pendant toute la durée du processus d'industrialisation, de l'étape de cristallisation jusqu'au comprimé fini (Zhang et *al.*, 2004).

A ce jour, les industriels n'ont pas la maîtrise complète de ces phénomènes. L'approche théorique des TIPI (Morris et *al.*, 2001 ; Petit et Coquerel, 2004) est récente et elle propose une considération à la fois cinétique et thermodynamique de ces transformations. Cette théorie part du principe que chaque étape d'un procédé peut générer une contrainte de nature thermique, mécanique, ou encore chimique, pour le produit. Une fois appliquée, elle peut entraîner un déplacement de l'équilibre thermodynamique du système.

Les études de TIPI sur des produits modèles sont parfois peu représentatives des transformations observées par les industriels mais nécessaires pour la compréhension des mécanismes impliqués. C'est pour cette raison que les différences entre des lots sont parfois inexplicables. De plus, les études présentées sur ces modèles (Brittain, 2002) utilisent souvent des paramètres de fabrication et des techniques analytiques différents. Cela ne permet pas de définir une stratégie précise pour examiner les TIPI en compression.

L'objectif principal de cette étude est par conséquent d'apporter des éléments de compréhension des transformations induites par le procédé de compression directe. Ceci est une étape préliminaire indispensable afin de pouvoir dans un proche futur développer une méthodologie pour détecter et/ou prévenir ces TIPI dès les premiers stades de formulation au laboratoire. En effet la survenue d'un tel événement non anticipé lors de la fabrication des premiers lots au stade pilote (pour les essais cliniques) voire même au stade industriel (lors du lancement du produit) est un désagrément important, qui peut « tourner » à l'accident industriel. Pour cela, nous proposons l'étude de principes actifs modèles, la caféine et la carbamazépine, dont la littérature fait état de transitions de phases solides en compression directe (Chan et Doelker, 1985 ; Lefebvre et *al.*, 1986). Premièrement, cette réévaluation est mise en place pour cibler les paramètres pouvant influencer les transformations des PA. Deuxièmement, nous souhaitons utiliser des techniques analytiques novatrices permettant de localiser et de quantifier le plus précisément possible les transformations dans les comprimés.

Cette étape est primordiale pour découvrir l'origine des transformations, et pouvoir identifier les paramètres de procédé et de formulation qui les favorisent.

Le premier principe actif modèle auquel nous nous intéressons est un composé très important de l'agrochimie et de la pharmacie : la caféine. La forme I métastable est connue pour se transformer en forme II (stable à température ambiante) lorsqu'elle est broyée ou comprimée (Chan et Doelker, 1985 ; Pirtimäkki et *al.*, 1993 ; Manduva et *al.*, 2008 ; Decroix, 2009 ; Mazel et *al.*, 2011). Cette transformation se produit naturellement également mais avec une cinétique lente qui peut atteindre plusieurs années dans les conditions ambiantes (Lehto et Laine, 1998). La majorité des travaux a été effectuée avec la caféine. Ce manuscrit sera donc principalement orienté sur la transformation induite par la compression directe de comprimés contenant de la caféine.

Le second principe actif, la carbamazépine, est employé dans plusieurs formulations pharmaceutiques pour sa fonction d'antiépileptique. Dans cette étude nous souhaitons vérifier que la forme dihydrate de la carbamazépine (CBZH) subit une déshydratation au cours du procédé de compression (Lefebvre et *al.*, 1986).

Le **chapitre I** reprend les bases théoriques sur les transitions de phases solides dans les cristaux moléculaires. Dans un premier temps, les aspects thermodynamiques et cinétiques sont présentés. Puis, nous donnons une description du procédé de compression qui peut se décomposer en quatre étapes. Il est modélisé par l'équation de Heckel qui représente la variation de porosité en fonction de la pression appliquée sur la poudre. Les informations provenant de ce modèle permettent ainsi de caractériser le processus de compression. Un résumé de l'état de l'art est réalisé dans les domaines de l'analyse thermique, de la tomographie à rayons X, et de la cartographie par spectroscopie Raman. Nous présentons les possibilités d'application de ces techniques pour la caractérisation des comprimés.

Le **chapitre II** regroupe la présentation des produits, les matériels utilisés au cours de cette étude et les méthodes développées au laboratoire afin de caractériser et quantifier les polymorphes de la caféine. La méthode de cristallisation de la carbamazépine dihydrate est également décrite. Une étude bibliographique sur les transitions de phases des principes actifs modèles est également proposée. Ces résumés des études antérieures à la nôtre permettent de

dresser un premier bilan sur les TIPI en compression directe et d'apporter des éléments de discussion dans le but de les confronter à nos résultats.

La **chapitre III** montre les résultats obtenus sur la compression directe de la caféine I et de la carbamazépine dihydrate. Un bilan combinant toutes les techniques analytiques utilisées (Tomographie à rayons X, analyse thermique, spectroscopie Raman) est effectué et celui-ci est discuté. Le cas de carbamazépine dihydrate est traité séparément. Les transformations de ce principe actif sont recherchées par analyse thermique, DRX sur poudre, et spectroscopie Raman.

Des conclusions et des perspectives sont proposées à la fin de ce manuscrit.

CHAPITRE I :

Etat de l'Art

Chapitre I : Etat de l’Art

L’objectif de la première partie de ce chapitre consacré à l’état de l’art est de définir le terme de Transformations Induites par les Procédés d’Industrialisation (TIPI). Les différents types de transformations solides que l’on peut rencontrer dans le domaine des cristaux moléculaires et plus particulièrement des produits pharmaceutiques y sont présentés. Un état des lieux des procédés galéniques concernés par les TIPI y est également réalisé. Nous verrons par la suite quelles sont les conséquences des transformations pour la qualité des produits et pour l’industrie pharmaceutique. La dernière partie présente un bilan de la méthodologie d’étude des TIPI mise en place jusqu’à présent. Nous insisterons sur les techniques d’analyse calorimétrique, de micro-tomographie à rayons X et de micro-spectroscopie Raman qui sont majoritairement utilisées dans la suite de ce manuscrit.

A/ Transformations Induites par les Procédés d’Industrialisation (TIPI)

A.1/ Notion de polymorphisme

A.1.1/ Historique et définition

On définit le polymorphisme comme l’aptitude d’une substance à cristalliser dans plusieurs structures cristallines (**Figure I- 1**). Chaque variété ou forme polymorphique a ainsi une même composition chimique, mais présente des variations dans l’arrangement interne des atomes, ions ou molécules qui constituent le réseau cristallin (Veesler et *al.*, 2005).

Historiquement, la notion de polymorphisme cristallin date de 1788, lorsque le chimiste Klaproth observe deux formes cristallines différentes du carbonate de calcium : la calcite et l’aragonite. Une seconde observation est révélée par Humphry Davy (Steed et Atwood, 2000) qui suggère que le diamant et le graphite correspondent à deux phases solides du carbone. Mais, ce n’est qu’en 1822 que la première publication faisant intervenir le terme de « polymorphisme » est proposée par Mitscherlich (Mitscherlich, 1822).

Par la suite, de nombreuses découvertes de polymorphes ont été rapportées mais il faudra attendre les années 1950 pour voir des équipes s’attaquer au criblage systématique sur des

molécules actives (Kuhnert-Brandstätter, 1965). Puis, plus récemment, des rapports ont été publiés regroupant un grand nombre de références à propos du polymorphisme des produits pharmaceutiques (Giron, 1995 ; Brittain, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012).

Les études concernant la prospection de nouveaux polymorphes sont en constante croissance. En 2012, le nombre de structures polymorphiques connues dans la *Cambridge Structural Database* (CSD, 2012) atteint 18 486 pour un total de 596 810 structures, soit environ 3%. A titre de comparaison, le nombre de polymorphes référencés en 1989 était de 2293. La forte croissance du nombre de polymorphes enregistrés ces 20 dernières années prouve bien l’intérêt grandissant du polymorphisme tant au niveau scientifique qu’au niveau industriel. C’est également un paramètre important pour la mise sur le marché de nouveaux principes actifs. La législation en vigueur impose une recherche de potentiels polymorphes pour la molécule considérée (EMA, 2012).

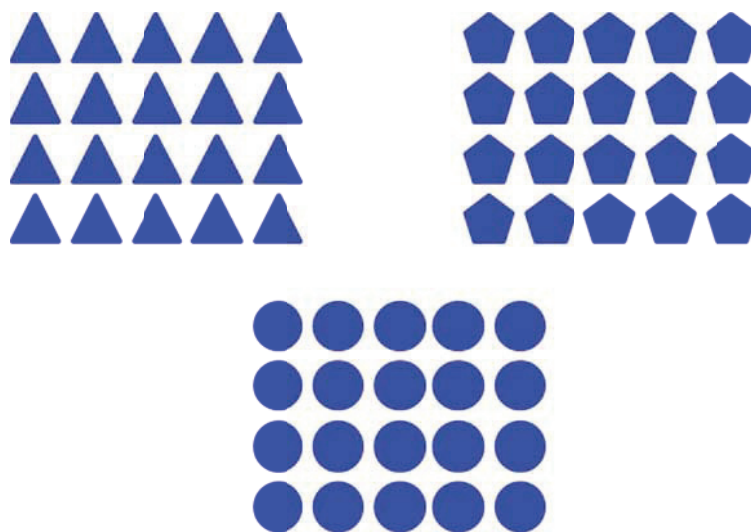


Figure I-1 : Représentation schématique de trois structures polymorphiques d’un même composé moléculaire (d’après Decroix, 2009)

A.1.2/ Cas particulier du pseudo-polymorphisme

La définition du pseudo-polymorphisme a été soumise à la controverse car ce terme porte souvent à confusion (Bernstein, 2002). Dans son utilisation la plus courante, on parle de « pseudo-polymorphisme » pour une molécule dont certaines phases cristallines contiennent une quantité stœchiométrique de solvant (Byrn, 1982). Cependant, il arrive aussi que la quantité de solvant ne soit pas parfaitement quantifiée pour certaines raisons structurales.

Ces formes sont susceptibles de libérer leur solvant lors d'un traitement mécanique ou thermique au cours d'un procédé de mise en forme ou lors du séchage d'un produit pharmaceutique. Dans ce cas, le solvant peut être libéré sans modification de la structure cristalline, le solide obtenu est alors un solvate désolvaté (Threfall, 1995).

Une transition polymorphique peut également se produire et le solide obtenu devient soit un pseudo-polymorphe différent de la forme d'origine ou bien une forme anhydre. Malgré la transition solide-solide, ces formes ne peuvent pas être considérées comme des polymorphes mais bien comme des pseudo-polymorphes.

Lorsque le solvant contenu dans le solide est de l'eau on parlera plutôt d'hydrate et dans les autres cas de solvate.

A.1.3 Aspect thermodynamique

L'approche thermodynamique présentée dans cette partie permet d'apprécier et d'expliquer le comportement des polymorphes et de définir leurs domaines de stabilité les uns par rapport aux autres ainsi qu'avec les autres états de la matière en utilisant des règles connues de thermodynamique. Cependant d'autres études, plus complexes, font intervenir la physique statistique pour décrire les interactions entre les particules et les transitions de phases.

A.1.3.1 Règle des phases et critère de stabilité de Gibbs Duhem

La stabilité thermodynamique d'une phase est représentée par des variables intensives (p , T , H , etc.) qui caractérisent son état. Lorsque cet état devient instable, une transition de phase devient possible. La variable couramment utilisée pour comparer la stabilité des phases est l'énergie libre de Gibbs G :

$$G = H - TS \quad (\text{I. 1})$$

où H est l'enthalpie, S l'entropie du système et T la température.

L'expression de H est :

$$H = U + pV \quad (\text{I. 2})$$

avec U , l'énergie interne du système, p la pression et V le volume.

Le critère de stabilité de Gibbs-Duhem consiste à dire qu'un système tend vers la stabilité si le potentiel G atteint un minimum pour p et T constantes.

On peut également le représenter sous la forme d'un différentiel à partir de l'état initial :

$$\Delta G \geq 0 \quad (\text{I. 3})$$

ou encore

$$\Delta U + p\Delta V - T\Delta S \geq 0 \quad (\text{I. 4})$$

La stabilité peut également être caractérisée par un minimum de l'énergie interne U ou encore un maximum d'entropie S . Une manière conventionnelle et pratique d'étudier le polymorphisme d'un composé cristallin consiste donc à représenter les courbes d'énergie libre des états et des phases dans un diagramme $G(T, p)$ à p constante comme dans la **Figure I- 2**.

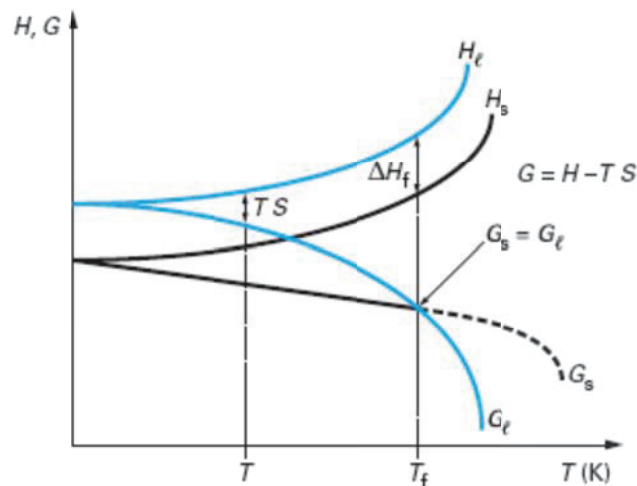


Figure I- 2 : Diagramme Energie/Température pour une forme cristalline à une pression donnée. (Bauer et al., 2002)

Sur ce diagramme, les courbes de $G(T, p)$ et de $H(T, p)$ pour les états liquides et solides ont été tracées. En dessous de T_f qui est la température de fusion du composé, l'état solide est

stable, $G_s < G_l$. L'équilibre entre ces deux phases est atteint au moment de la fusion T_f . On peut alors écrire que :

$$G_s = G_l \quad (\text{I. 5})$$

et

$$\Delta H_f = H_l(T_f) - H_s(T_f) \quad (\text{I. 6})$$

Pour $T > T_f$, c'est la phase liquide qui est thermodynamiquement stable. Le principe expliqué dans cet exemple est le même pour deux polymorphes cristallins. Au croisement des deux courbes $G(T, p)$ on obtient la température de transition T_t ainsi que l'enthalpie de transition correspondante ΔH_t . Ce résultat est valable lorsque la température de transition est placée avant la température de fusion. Sinon, seule une des phases est stable et l'autre ne l'est jamais.

Le critère de Gibbs-Duhem ne permet pas seulement de délimiter la stabilité et l'instabilité thermodynamique des systèmes. En effet, si on considère l'exemple de l'eau, la température de transition entre la phase liquide et la phase solide est de 0°C à pression atmosphérique mais elle peut être abaissée et on obtient alors de l'eau à l'état surfondue, c'est l'état métastable. Cette eau en surfusion cristallise instantanément si on ajoute une impureté au milieu ou une autre perturbation consistant à créer un déséquilibre. Cet état supplémentaire, métastable, s'ajoute aux états stable et instable. Il est possible de les différencier en utilisant le critère de Gibbs-Duhem pour l'entropie.

L'équilibre thermodynamique correspond à un maximum de l'entropie S . Si une variation infinitésimale est appliquée au système en équilibre, le système peut évoluer selon trois situations :

- Si $\delta S = 0$ et $\Delta S < 0$ avec $\delta^2 S, \delta^3 S, \delta^4 S \dots < 0$ alors l'équilibre est dit stable.
- Si $\delta S = 0$ et $\delta^2 S < 0$ mais $\delta^3 S, \delta^4 S \dots > 0$ alors l'équilibre est dit métastable.
- Si $\delta^2 S > 0$ alors l'équilibre est instable et une transition de phase se produit.

Les deux dernières conditions montrent qu'il existe une frontière entre métastabilité et instabilité caractérisée par $\delta^2 S = 0$. La courbe représentant cette condition limite de métastabilité est appelée spinodale. Les transitions de ce type sont décrites dans la partie *A.1.3.2*.

A.1.3.2/ Notions d'énantiotropie et de monotropie

La stabilité thermodynamique des polymorphes est une notion essentielle lorsque l'on évoque les transitions de phases solides. On classe les relations de stabilité entre polymorphes selon deux catégories en fonction de l'évolution de leur enthalpie libre G .

Lorsqu'un polymorphe dispose de la courbe d'enthalpie libre la plus basse sur toute la gamme de température (à p donnée) correspondant à l'état solide du composé alors le système est dit monotrope (**Figure I- 3.b**). Dans le cas où les courbes des polymorphes se croisent avant le point de fusion, on parle d'énantiotropie (**Figure I- 3.a**). A l'équilibre entre les phases, les courbes se croisent et le point de transition est défini. A cette température de transition est associée l'enthalpie de transition ΔH_{trans} . Nous verrons qu'il est également possible de prédire le type de relation entre les polymorphes à partir des règles thermodynamiques de Burger (§ *A.1.5*).

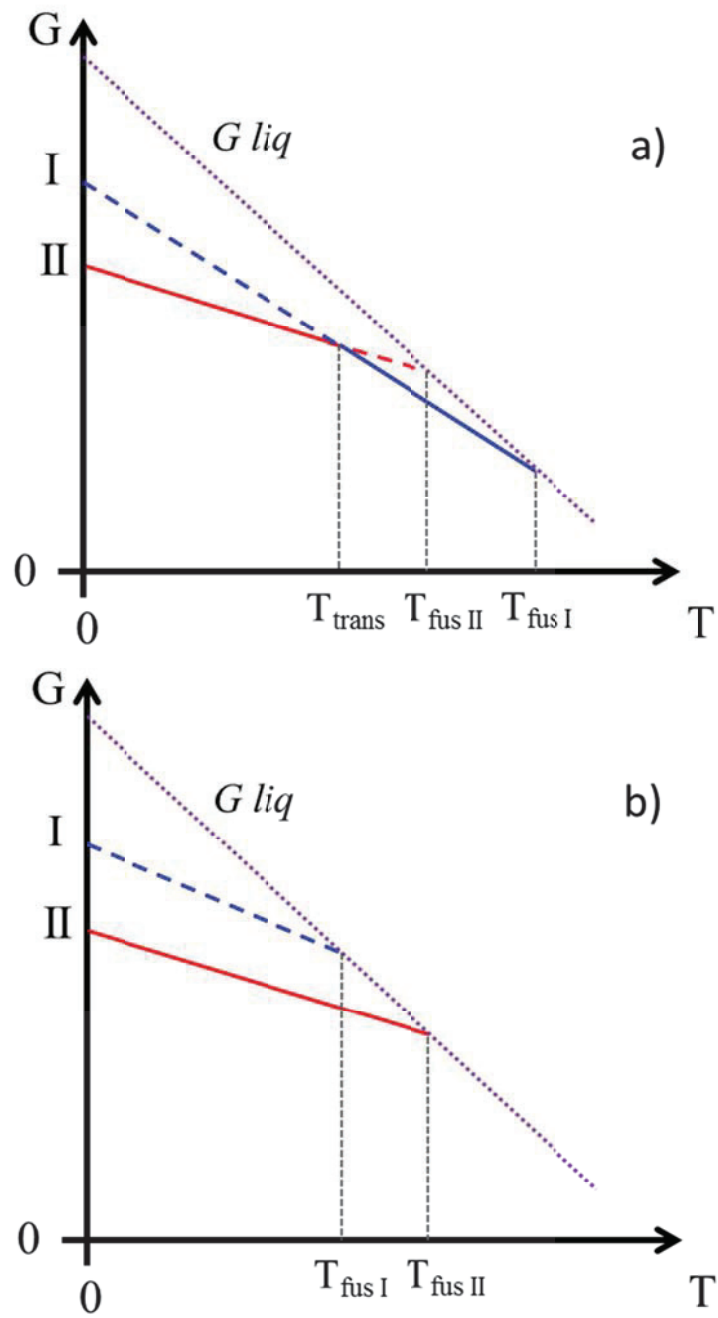


Figure I- 3 : Diagrammes d'énergie libre G d'un système énantiotrope (a) et d'un système monotrope (b)

A.1.3.3/ Diagrammes de phases

La représentation graphique des domaines de stabilité des phases peut également être mise sous la forme de diagrammes (p, T) (**Figure I- 4**) où chaque point du plan correspond à un équilibre thermodynamique pour p et T fixées. D'après la règle des phases de Gibbs, la variance ν d'un système définit le nombre de variables thermodynamiques sur lesquelles il est possible d'agir pour modifier l'équilibre. L'expression de la variance est :

$$\nu = c + N - \varphi \quad (\text{I. 7})$$

où c est le nombre de constituants, N le nombre de variables thermiques autres que les potentiels chimiques (pression, température, champs magnétique et électrique, etc.) dont dépend le système et φ le nombre de phases stables.

Ainsi, si le système contient un corps pur pouvant exister sous deux formes cristallines, une phase liquide et une phase vapeur alors le calcul de la variance indique qu'il n'existe pas de point où les 4 phases sont en équilibre. En effet, $c=1$ et $N=2$ (p et T) donc φ ne peut excéder 3 car la variance n'est jamais négative.

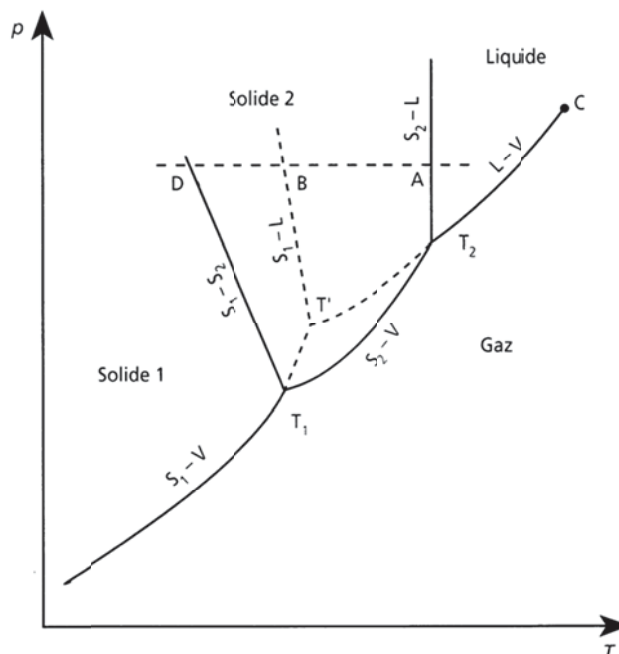


Figure I- 4 : Diagramme de phases (p, T) d'un système polymorphique énantiotrope (Papon et al., 2002)

A.1.3.4/ Règles de stabilité thermodynamique

Plusieurs règles permettant de caractériser les relations entre les polymorphes à partir de données thermodynamiques ont été proposées. Nous devons la majorité de ces règles aux

travaux de Tammann (1926) puis de Burger et Ramberger (1979a, 1979b) et enfin de Grunenberger et *al.* (1996).

➤ Règle de l'enthalpie de transition :

Lorsqu'une transition de phase endothermique est observée pour une température donnée alors il existe une relation d'énantiotropie entre les polymorphes et la température de transition est inférieure à ce point. Si la transition est exothermique, alors soit les polymorphes sont monotropes, soit ils sont énantiotropes et le point de transition de phase se situe à une température plus élevée.

D'après Ramberger, cette règle est vérifiée dans 99% des cas rencontrés.

➤ Règle de l'enthalpie de fusion :

Pour un système énantiotropique, le polymorphe qui possède la température de fusion la plus faible a l'enthalpie de fusion la plus grande. Pour un système monotropique, le polymorphe qui a la température de fusion la plus faible a également l'enthalpie de fusion la plus faible. Cette relation se déduit des diagrammes (G, T, p).

➤ Règle de l'entropie de fusion :

Elle découle de la règle précédente. En effet, au point de fusion l'équilibre entre liquide et solide implique que l'énergie libre des deux phases soit la même. D'où :

$$\Delta S_f = \frac{\Delta H_f}{T_f} \quad (\text{I. 8})$$

Par conséquent, il existe une relation d'énantiotropie si le polymorphe avec la plus grande température de fusion a l'entropie de fusion la plus basse. Si le polymorphe avec la température de fusion la plus basse a également l'entropie de fusion la plus basse alors la relation entre les deux polymorphes est monotropique.

➤ Règle de la capacité calorifique :

Si le polymorphe qui a la température de fusion la plus grande et la capacité calorifique la plus grande à une température donnée alors la relation entre les deux polymorphes est énantiotropique. Dans le cas contraire le système est monotropique.

A.2/ Les transitions polymorphiques (Aspect cinétique)

L'approche thermodynamique de Gibbs-Duhem des transitions de phases permet de définir des zones de stabilité entre les différentes phases liquides, solides et gazeuses des composés étudiés. Cependant, elle ne révèle pas d'information sur la cinétique des transitions observées. Pour cela il faut combiner l'étude thermodynamique à une approche dynamique des systèmes. Celle-ci peut se faire de différentes façons. Plusieurs théories ont été élaborées afin d'expliquer au mieux les résultats des cinétiques de transitions, en particulier en métallurgie.

On distingue dans un premier temps, la théorie de la germination suivie de la croissance de la nouvelle phase. La seconde théorie est définie par le phénomène de décomposition spinodale mettant en jeu des fluctuations de concentrations provoquant la transition de phase. Les transitions structurales, amorcées par des déplacements locaux d'atomes, jouent également un rôle dans les transitions de phases et en particulier pour les transitions solide-solide où les mouvements des cristaux sont limités. Cette dernière partie ne sera pas traitée dans le rapport car les transitions observées dans cette étude ne sont pas concernées par ce phénomène.

A.2.1/ La germination homogène

La germination homogène est la germination d'une phase pure (un seul constituant chimique) dans une autre phase de ce même constituant. Ce phénomène est contrôlé par l'auto diffusion qui consiste au déplacement de particules (atomes ou molécules) toutes identiques. Dans un solide cristallin cette diffusion se fait par mouvements des particules dans les lacunes du réseau (Papon et *al.*, 2002).

La germination homogène d'une nouvelle phase à partir d'une autre est régie par la probabilité qu'ont les particules à passer au-delà d'une barrière énergétique. Elle correspond à l'énergie nécessaire pour se déplacer dans la phase et induit une probabilité de franchissement P_0 applicable à toutes les particules de même nature.

$$P_0 = C^{te} \exp\left(\frac{\Delta G_0}{kT}\right) \quad (\text{I. 9})$$

ΔG_0 est la variation d'énergie libre associée à la barrière de potentiel que doit franchir la lacune pour se déplacer.

Le processus de germination intervient lorsque cette probabilité est suffisamment grande. Cette dernière est favorisée par la présence de lacunes dans les réseaux mais également par des joints de grains qui sont des zones naturellement plus propices à la diffusion.

A.2.2/ Croissance de la nouvelle phase

La formation des germes est suivie d'une croissance qui se caractérise par une vitesse traduisant l'agrégation des molécules en transition sur les noyaux déjà formés. Le nombre de noyaux et leur fréquence de collision avec les molécules ont un impact sur cette vitesse.

Le modèle d'Avrami (Avrami, 1939) décrit la cinétique d'évolution de la transition de phase solide, de l'apparition des germes jusqu'à leur croissance. Ce modèle tient compte du fait que la croissance n'est pas toujours uniforme dans l'espace et qu'elle peut être gênée par d'autres particules en croissance elles aussi ou par les limites géométriques du système. Le modèle d'Avrami considère que lorsque la nouvelle phase croît autour d'un germe, elle peut rencontrer un autre germe en croissance. Dans ce cas, il est nécessaire de différencier les fractions volumiques « étendue » Φ_x et réelle Φ (**Figure I- 5**).

$$\Phi = \frac{V^{II}}{V_0} \quad (\text{I. 10})$$

Et

$$\Phi_x = \frac{V_e^{II}}{V_0} \quad (\text{I. 11})$$

où V^{II} et V_e^{II} sont les volumes réels et étendus de la nouvelle phase II et V_0 le volume des deux phases (I+II).

A partir de ces définitions l'expression du modèle d'Avrami devient:

$$\Phi = 1 - \exp(-\Phi_x) \quad (\text{I. 12})$$

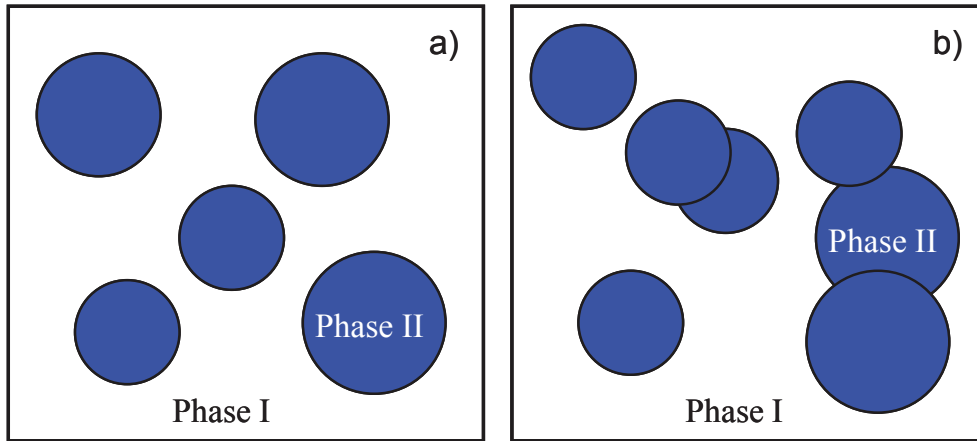


Figure I- 5 : Croissance de la phase II dans la phase I. a) Le volume réel et le volume étendu sont les mêmes, b) le volume réel est inférieur au volume étendu (d'après Decroix, 2009).

On note Z le taux de croissance linéaire du rayon d'un germe de phase II par rapport au temps, alors :

$$\frac{dr}{dt} = Z \quad (\text{I. 13})$$

En considérant que la germination a commencé à un temps noté τ et que le rayon du germe est le rayon critique r^* alors :

$$r - r^* = Z \cdot (t - \tau) \quad (\text{I. 14})$$

Pour $r \gg r^*$, le volume des noyaux sera donc :

$$V_e^{II} = \frac{4\pi}{3} G^3 (t - \tau)^3 = K_3 (t - \tau)^3 \quad (\text{I. 15})$$

où K_3 est une constante dépendante de la géométrie du système.

En notant $I(\tau)$ le taux de germination entre 0 et t , la fraction volumique réelle peut s'écrire :

$$\Phi_x = \frac{N_n V_e^{II}}{V_0} = \frac{1}{V_0} \int_0^t (t - \tau)^3 I(\tau) d\tau \quad (\text{I. 16})$$

avec N_n le nombre de germes formés avant t .

Si I est constant au cours du temps et $\tau = 0$, l’expression devient :

$$\Phi_x = K_3 \frac{It^4}{4V_0} \quad (\text{I. 17})$$

et

$$\Phi = 1 - \exp\left(-K_3 \frac{It^4}{4V_0}\right) \quad (\text{I. 18})$$

L’expression du modèle d’Avrami devient :

$$\boxed{\Phi = 1 - \exp(K.t^n)} \quad (\text{I. 19})$$

L’exposant n est appelé exposant d’Avrami. La relation d’Avrami traduit le caractère exponentiel de l’étape de nucléation et l’exposant n représente le type de croissance et la géométrie de celle –ci.

Les types de croissances sont répertoriés dans le **Tableau I- 1** suivant :

Géométries	Type de germination	n
Plan	Rapidement épuisée	1
Cylindre	Rapidement épuisée	2
Sphère	Rapidement épuisée	3
Sphère	Taux croissant	4

Tableau I- 1: Types de germination et croissance suivant l’exposant d’Avrami (d’après Avrami, 1939)

Pour $n=4$, cas d’une germination et croissance isotrope dans les trois directions de l’espace, l’avancement de la transformation est sigmoïdale. L’existence d’un plateau initial, assimilé à une durée de vie d’un état métastable, est une caractéristique des transitions du premier ordre (Decroix, 2009).

Dans la pratique, d’autres situations peuvent être envisagées :

- Croissance sur des noyaux préexistants, n=3.
- Croissance anisotrope, n=2,3.
- Plus rarement, germination sans croissance, n=1.

Aux temps longs la cinétique est fortement ralentie pour deux raisons évidentes :

- Les grains ne croissent plus quand ils entrent en contact.
- Le volume disponible à la nucléation diminue.

A.3/ Approche théorique des transformations induites par les procédés d'industrialisation

A.3.1/ Notions de contrainte, de piégeage et de relaxation

Les transformations induites par les procédés d'industrialisation (TIPI) sont bien connues comme en atteste la littérature dans le domaine pharmaceutique (Morris *et al.*, 2001 ; Brittain, 2002 ; Petit et Coquerel, 2004 ; Zhang *et al.*, 2004)). La principale difficulté liée à ces transformations est le caractère imprévisible et souvent incontrôlable qu'elles représentent. Des transformations associées aux procédés peuvent être observées dans des cas variés tels que le broyage, la micronisation, le séchage, la lyophilisation, la granulation, la compression, etc.

Depuis le début des années 2000, des théories évoquant l'approche des TIPI sont régulièrement publiées (Brittain, 2002 ; Zhang *et al.*, 2004). Le but de ces auteurs est d'apporter une réflexion plus globale sur les TIPI en traitant différents cas afin de les généraliser sous forme de théorie.

L'approche théorique de Morris *et al.* (2001) est la première synthèse dans ce domaine. Elle considère autant les aspects thermodynamiques que cinétiques des transitions que nous avons décrits dans les parties précédentes de ce chapitre. Son principe est que chaque étape du procédé est la cause d'un stress ou d'une contrainte pour les composés. La nature de ce stress peut être thermique, mécanique ou encore résulter d'interactions chimiques avec le milieu ambiant.

Au cours de cette étape de stress, une nouvelle phase thermodynamiquement stable peut apparaître due au changement de conditions. Lors du relâchement de la contrainte, la nouvelle

phase piégée se retrouve alors dans des conditions où elle est métastable. On peut alors observer une nouvelle transformation vers la phase d'origine ou bien un maintien de la phase métastable dû à une cinétique lente de retour vers la phase d'origine. Ce cas peut être observé à la fois dans les systèmes énantiotropiques et monotropiques.

A.3.2/ Bases de l'approche théorique des TIPI

(D'après (Morris et *al.*, 2001) et (Petit et Coquerel, 2004))

L'observation des transitions de phases a mis en évidence deux catégories thermodynamiques de ces transformations. On distingue les transitions avec chaleur latente d'une part et les transitions sans chaleur latente d'autre part. Ce phénomène a conduit Ehrenfest (1933) à proposer une classification des transitions de phases à partir des potentiels thermodynamiques.

On distingue tout d'abord les transitions du premier ordre pour lesquelles le potentiel chimique qui est toujours continu présente une différentielle $\partial\mu/\partial T$ discontinue. Le processus associé à ce type de transformation est dit coopératif, ce qui signifie que l'énergie absorbée lors de cette transformation se fait sur une gamme de température étroite et que la transformation conduit à un brusque changement de volume. En opposition à celles du premier ordre, les transitions du second ordre se caractérisent par une absorption d'énergie graduelle sur une large gamme de température. Ce phénomène est faiblement coopératif et les changements de volume associés sont également faibles. Les transitions du second ordre se traduisent par la discontinuité de la dérivée seconde du potentiel chimique qui correspond à la chaleur spécifique $\partial^2\mu/\partial T^2$. Ce type de transition est en général plus facile à suivre du fait qu'elles ne présentent pas de changements brusques.

➤ Cas des solides cristallins

Si l'on se place dans la situation d'une transition induite par chauffage, l'énergie apportée au système doit être absorbée. Or, seuls des déplacements translationnels et faiblement rotationnels autour de leur centre de gravité peuvent se produire. L'amplitude de ces modes de vibrations, aussi appelés phonons, dépend de l'intensité des forces intermoléculaires dans le réseau cristallin.

Lorsque l'énergie thermique à absorber devient trop grande, un de ces modes de vibration peut présenter des déplacements plus importants que les autres, et les mouvements

moléculaires violents qui y sont associés peuvent induire l'apparition d'une nouvelle géométrie d'équilibre, ce qui atténue fortement le phonon en cause. Ainsi, la formation d'un nouveau réseau cristallin stable à haute température permet d'utiliser l'énergie apportée au système sous forme d'énergie potentielle de réseau sans destruction de l'édifice.

On peut appliquer ce type de raisonnement à toutes les perturbations apportant de l'énergie au système, qu'elles soient thermique, mécanique, électrique, magnétique, etc. Dans le cas où les différences structurales et énergétiques sont très différentes entre l'ancienne et la nouvelle structure, la transition s'accompagne d'un éclatement des particules en des particules plus petites. Ce phénomène induit une libération d'énergie et correspond à une transition du premier ordre. Dans la mesure où les interactions moléculaires dans les cristaux organiques sont hautement directionnelles et anisotropes, la propagation des phonons est directement liée à l'élasticité du cristal selon les différentes directions. Cependant, le traitement mécanique induit par les procédés industriels génère des défauts dans les grains. Ces défauts créent des barrières pour la propagation des phonons dans le réseau et génèrent des zones localisées où se concentrent les vibrations. On comprend mieux alors que l'énergie apportée au système se concentre dans ces zones isolées par les défauts dans le cristal. Ces sites sont donc des lieux privilégiés pour observer des transitions de phases.

De plus, l'élasticité du réseau cristallin permet aussi de comprendre la potentialité d'un système à se transformer. En effet, l'élasticité du réseau permet d'absorber de l'énergie et de la restituer sans conduire à une transition et elle limite l'apparition de défauts dans la structure.

A.3.3/ Les TIPI en compression

Les transformations induites par le procédé de compression présentent un intérêt particulier du fait de la complexité de ce procédé. En effet, les paramètres de température, de pression et mécanique doivent être considérés pour modéliser les transitions de phases en compression. La difficulté majeure revient à identifier l'apport de chacun de ces paramètres sur les transformations.

➤ Aspect mécanique

Des études de broyage ont montré certaines similitudes en termes de résultats par rapport au procédé de compression (Chan et Doelker, 1985). Cependant les transformations induites par broyage dépendent fortement de la température de l'expérience et de la température de transition vitreuse du produit (Descamps et *al.*, 2007). Le broyage des composés organiques cristallins (lactose (Willart et *al.*, 2004), trehalose (Willart et *al.*, 2001) et budesonide (Dudognon et *al.*, 2006)) en dessous de leur température de transition vitreuse provoque une amorphisation dont le mécanisme est différent de l'amorphisation par trempe du liquide en fusion. L'intérêt de cette méthode est de conserver une distribution de taille contrôlée des grains par le procédé de broyage. Au-dessus de la température de transition vitreuse, le broyage peut conduire à des transformations polymorphiques qui conduisent le système vers un état métastable (sorbitol (Willart et *al.*, 2005), mannitol (Willart et *al.*, 2006), et sulfamerazine (Zhang et *al.*, 2002)). Ces études démontrent l'importance des conditions expérimentales sur le comportement des phases cristallines et leurs transformations. Ces considérations sont de fait importantes pour la compression même si la durée et l'intensité du phénomène de contact entre les particules sont plus faibles dans ce cas.

➤ Diagrammes de phases

Certaines transformations polymorphiques solide-solide induites par le procédé de compression peuvent trouver leur explication par observation du diagramme $p-T$ du composé. En considérant l'exemple d'un système énantiotrope de deux polymorphes (**Figure I- 6**), on constate qu'il existe deux possibilités de transitions polymorphiques sous l'effet de la pression. La première transformation, de II vers I (**a**) nécessite une augmentation de la pression et de la température. Ce cas correspond au passage de la forme stable dans les conditions de départ à la forme métastable. La transformation inverse est la seule transformation induite uniquement par la pression (**b**). Elle correspond au passage de la forme I à la forme II avec pour point de départ une température où la forme I est stable.

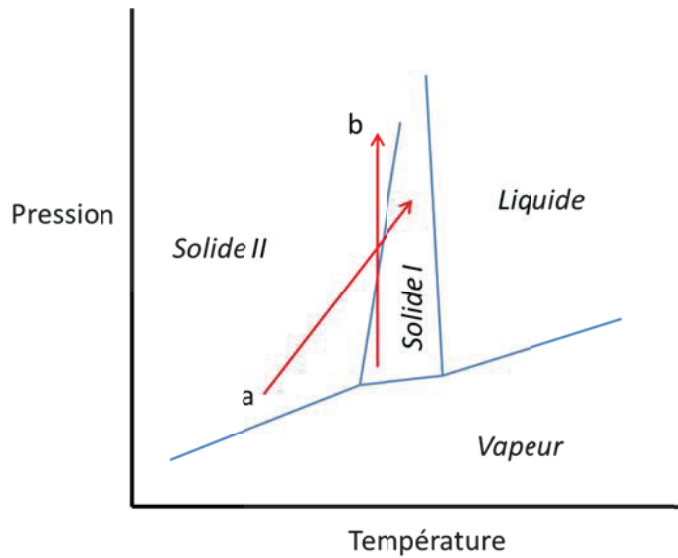


Figure I- 6 : Diagramme de phases ($p-T$) pour un système polymorphique énantiotrope (D'après Morris et al., 2001)

Dans des études faisant intervenir le procédé de compression pour former le polymorphe I à partir du polymorphe II à une température constante, la phase amorphe a toujours été formée dans des proportions importantes. Le cas de la chlorpropamide (Otsuka et al., 1991 ; Boldyreva et al., 2006) montre que la forme A stable conduit à l'énantiotrope C métastable et à une quantité identique d'amorphe sous pression. La transformation inverse est également observée avec une aussi grande quantité d'amorphe. La conclusion de cette étude est que la transformation solide-solide passe par un état intermédiaire amorphe. Ce phénomène semble être une clé pour la compréhension des transformations en compression.

On remarque également que lorsque la forme II est maintenue sous pression sans augmenter les contraintes mécaniques alors la quantité d'amorphe n'augmente pas (Takahashi et al., 1985). Ce cas de figure ressemble plutôt au comportement imposé par le diagramme de phases.

En conclusion les transformations induites par le procédé de compression dépendent de plusieurs paramètres et des propriétés mécaniques des cristaux. En outre du diagramme de phases du composé, la présence d'amorphe et sa cinétique de recristallisation (dépendante de la température) sont des éléments déterminants pour comprendre ces transformations.

A.4/ Les conséquences des TIPI dans le domaine pharmaceutique

Cette partie du chapitre a pour but de démontrer, à l'aide de plusieurs exemples, les implications du polymorphisme et des transitions de phases en général pour l'industrie pharmaceutique. Cette dernière a toujours été confrontée au polymorphisme. Et malgré une littérature toujours plus riche dans le domaine (Giron, 1995 ; Brittain, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010), les conséquences économiques de ce phénomène montrent qu'il se situe au centre de la problématique de stabilité des poudres sous toutes leurs formes (**Figure I- 7**).

La situation actuelle pour l'industrie pharmaceutique lorsqu'elle commence à développer un nouveau produit est la suivante. De nombreux investissements sont engagés afin de qualifier le nouveau principe actif ou la nouvelle forme galénique sans garantie absolue de résultat. Le choix du procédé de mise en forme ainsi que le choix des excipients sont aussi déterminants car ils peuvent participer à l'obtention d'une forme polymorphique non-désirée. Tous ces efforts qui se traduisent par des études expérimentales, parfois très longues dans le temps, peuvent créer des conditions favorables à l'apparition de nouvelles formes du produit étudié. Cependant, les connaissances actuelles ne permettent pas de prédire, avec un quelconque degré de confiance, la stabilité de ces produits (Beyer et *al.*, 2001).

L'état actuel des connaissances sur le polymorphisme montre bien l'incertitude autour de ce phénomène. Griesser et Burger (1999) ont reporté une liste non exhaustive de 559 polymorphes issus de la littérature. Ils ont également compilé les statistiques d'ouvrages comme le Merck Index et la base de données *Cambridge Structure Database* (CSD). Il ressort de cette étude un grand nombre d'imprécisions concernant les polymorphes, hydrates et solvates. Ces statistiques ne représentent pas la totalité des formes polymorphiques pouvant exister pour une molécule donnée. De plus, le terme polymorphisme est employé à partir du moment où plusieurs formes sont identifiées. Or, certains auteurs ne communiquent parfois qu'une forme dont la structure est parfaitement déterminée alors que des polymorphes ont été révélés également au cours de leurs études (Bernstein, 2002). Il semble donc que les statistiques d'occurrence des polymorphes sont sous-estimées par rapport à leur nombre réel.

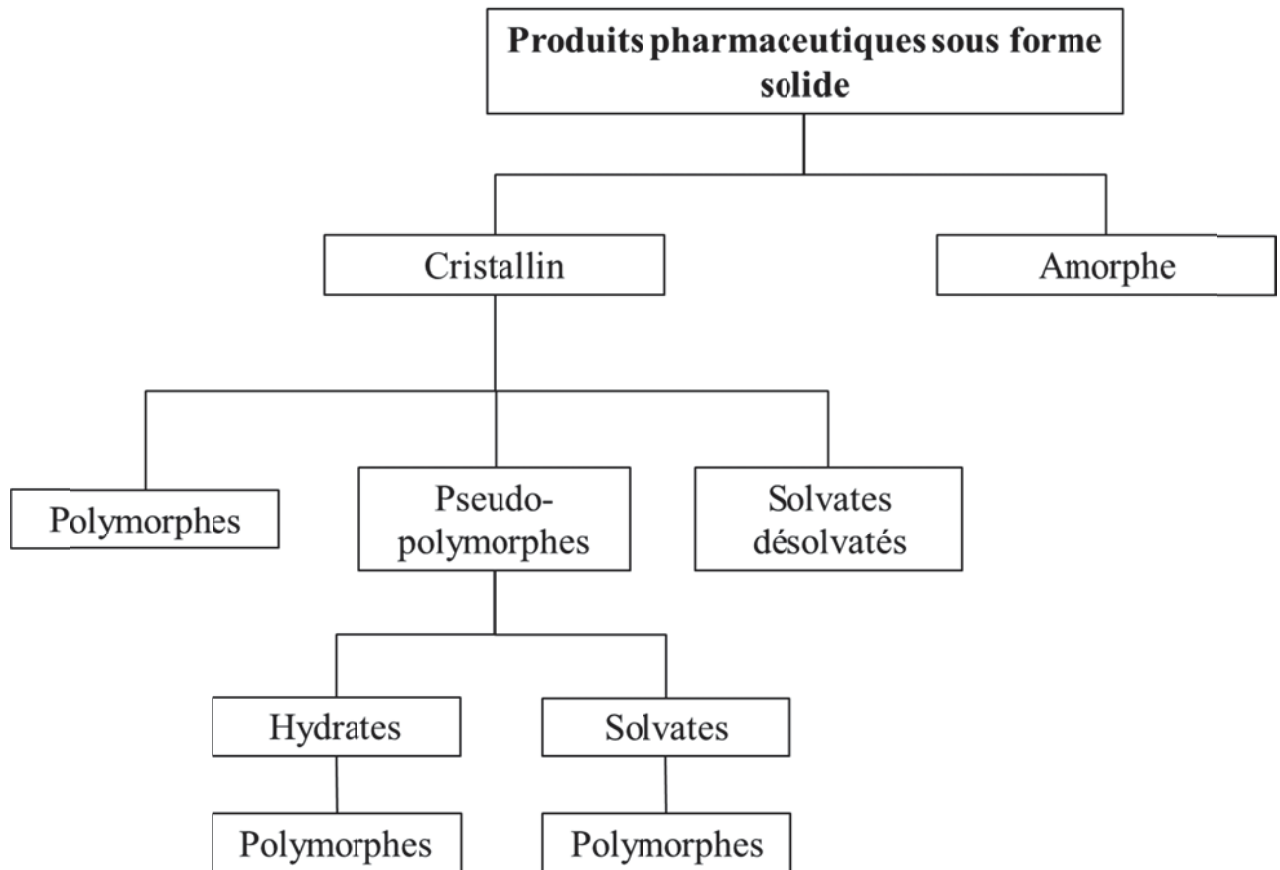


Figure I- 7 : Etats solides des composés pharmaceutiques (D'après Shakhtschneider et Boldyrev, 1999)

L'utilisation d'excipients dans les formulations induit une possibilité supplémentaire d'observer des transformations au sein de la forme galénique. Elles peuvent se traduire par une modification polymorphique de l'excipient. Or, la nature physique de l'excipient peut influencer les propriétés finales de la forme galénique (Byrn et *al.*, 2001), comme une tendance à coller (Schmid et *al.*, 2000) ou déclencher une transition polymorphique du principe actif par interactions chimiques (Kitamura et *al.*, 1994). Ce point révèle l'importance de l'étude de la compatibilité entre les excipients et le principe actif pour un procédé donné.

Les modifications des structures cristallines des principes actifs et des excipients ont des conséquences pour l'efficacité du produit pharmaceutique. La littérature dans ce domaine évoque des modifications de vitesse de dissolution et de solubilité (Brittain et Grant, 1999). La vitesse de dissolution et la solubilité sont des paramètres cruciaux en ce qui concerne le choix des formes cristallines utilisées pour une formulation. Ce choix a ensuite une forte influence sur la quantité et la vitesse de diffusion du principe actif dans l'organisme, autrement dit la biodisponibilité.

➤ L'importance des phases métastables :

Lorsque l'on se reporte au diagramme d'énergie libre des formes polymorphiques, on constate que la forme la plus stable à une température donnée est celle qui a l'énergie libre la plus basse. Par conséquent, cette forme est également la moins soluble à cette même température (Byrn *et al.*, 1999). Toutes les autres formes sont métastables avec une énergie plus haute que la forme stable. La cinétique de transformation de ces formes dans la forme stable peut fluctuer en fonction des cas. Parfois, cette transformation est très lente et elle peut nécessiter un facteur déclenchant extérieur. La faible solubilité de la forme stable peut limiter son utilité et son utilisation pharmaceutique (Bauer *et al.*, 2001). Il peut donc être avantageux d'utiliser une forme métastable d'un principe actif dans une formulation solide afin d'en augmenter la solubilité (Shah *et al.*, 1999).

L'exemple du Ritonavir[®] (Chemburkar *et al.*, 2000 ; Bauer *et al.*, 2001) confirme l'importance de connaître un nombre maximal de polymorphes d'un principe actif afin de choisir la forme la plus favorable pour sa commercialisation. Cela fait intervenir des stratégies expérimentales afin de cristalliser le maximum de formes différentes dans des conditions variées de cristallisation. Il nécessite ensuite de déterminer la stabilité de chaque forme commercialisable en fonction des conditions de stockage et des traitements mécaniques subits au cours de la mise en forme galénique. Dans cette optique d'étude, une connaissance accrue du risque de transformation de la forme métastable est primordiale pour un contrôle du procédé de fabrication.

➤ L'importance de la phase amorphe :

De la même façon que les formes métastables, les amorphes ont généralement des stabilités encore plus faibles que les formes cristallines dues à leur haute énergie libre. Les amorphes ont souvent des solubilités et des vitesses de dissolution plus grandes que les matériaux cristallins. Cette propriété leur confère un intérêt tout particulier pour des applications pharmaceutiques (Yu, 2001). Cependant, il est possible qu'une forme cristalline puisse cristalliser à partir de la forme amorphe conduisant à une modification des propriétés pharmacologiques de l'actif. On trouve tout de même un certain nombre de molécules utilisées sous leur forme amorphes dans des matrices polymériques afin de les stabiliser (Giron, 1997 ; Threfall, 1995).

Comme nous venons de le voir dans cette partie, les principes actifs et les excipients peuvent exister sous différentes formes cristallines. Dans le domaine pharmaceutique, l'importance d'utiliser une forme cristalline définie n'est plus à prouver. L'occurrence d'une transition de phase peut avoir de lourdes conséquences pour la biodisponibilité d'un médicament. Les éléments bibliographiques concernant la stabilité thermodynamique des polymorphes ont montré qu'un traitement thermique ou mécanique peut engendrer des transitions de phases. Et les cinétiques de transition de celles-ci sont très variables en fonction des conditions expérimentales. Il est par conséquent difficile de contrôler ou d'anticiper ces transitions car leur intensité peut varier grandement en fonction des traitements subis et cela même lorsque d'infimes variations sont appliquées aux procédés.

B/ Le procédé de compression

Dans cette partie, nous allons présenter les bases théoriques du procédé de compression et définir l'équation de Heckel qui relie la porosité et la pression au cours du processus. Nous verrons dans quel but cette équation peut être appliquée et quelles en sont les limites.

B.1/ Les étapes du procédé de compression

Le procédé de fabrication des comprimés est divisé en quatre étapes principales : compression, décompression, éjection et expulsion. Selon la technologie mise en jeu, les forces et dynamiques de ces étapes changent (Celik, 2011).

1.1/ Compression

La compression correspond à la réduction du volume du lit de poudre et l'acquisition de cohésion par la pression exercée par le(s) poinçon(s) supérieur et/ou inférieur.

La première étape consistant à tasser la poudre pour en extraire l'air est la moins coûteuse en énergie, elle correspond à de faibles pressions. La densification qui suit est la zone de pression où la poudre acquiert de la cohésion par le biais de liaisons inter-particulaires et d'enchevêtrements mécaniques. La déformation qui accompagne ce phénomène est plastique ou élastique.

1.2/ Décompression

La décompression est l'étape qui suit la compression, le comprimé ne subit plus de contrainte de la part du (des) poinçons. La relaxation du comprimé est due à l'élasticité du comprimé après compression. Si celle-ci est forte, le comprimé risque le laminage ou le décalottage.

1.3/ Éjection

Le comprimé est éjecté de la matrice par le poinçon inférieur. La force qu'il transmet au comprimé doit être suffisante pour vaincre les forces de liaison entre la matrice et le comprimé. Ces liaisons, résultantes d'une force radiale, apparaissent au moment de

l'application de la force de compression axiale par le poinçon supérieur. Elles peuvent être réduites par l'utilisation d'un lubrifiant dans la formulation ou au niveau du procédé.

1.1.3/ Expulsion

L'expulsion est la dernière étape du procédé, elle intervient après l'éjection. Elle est réalisée par un sabot. Les comprimés ne doivent pas coller au poinçon inférieur pour que l'expulsion se déroule correctement.

B.2/ Les outils de compression :

1.1.3/ Les presses alternatives excentriques

Les presses alternatives excentriques sont très souvent utilisées pour des phases de recherche et de développement. Leurs cadences sont relativement faibles (500-3000 comprimés par heure). Elles sont également employées en production pour la fabrication de comprimés nécessitant des grandes forces de compressions, hors industrie pharmaceutique.

La fabrication d'un comprimé avec ce type de presse se divise en quatre étapes (**Figure I-8**) :

- L'alimentation : Etape de remplissage de la matrice par la poudre. Le sabot se place au-dessus de la matrice laissant la poudre y pénétrer par gravité.
- L'arasage : Le sabot se retire horizontalement et limite la quantité de poudre au niveau supérieur de la matrice.
- La compression : Le poinçon supérieur se déplace verticalement pour réaliser la compression. Le poinçon inférieur est fixe pendant toute cette phase.
- L'éjection : Elle est réalisée par le poinçon inférieur comme décrit précédemment (§ B.1.3).

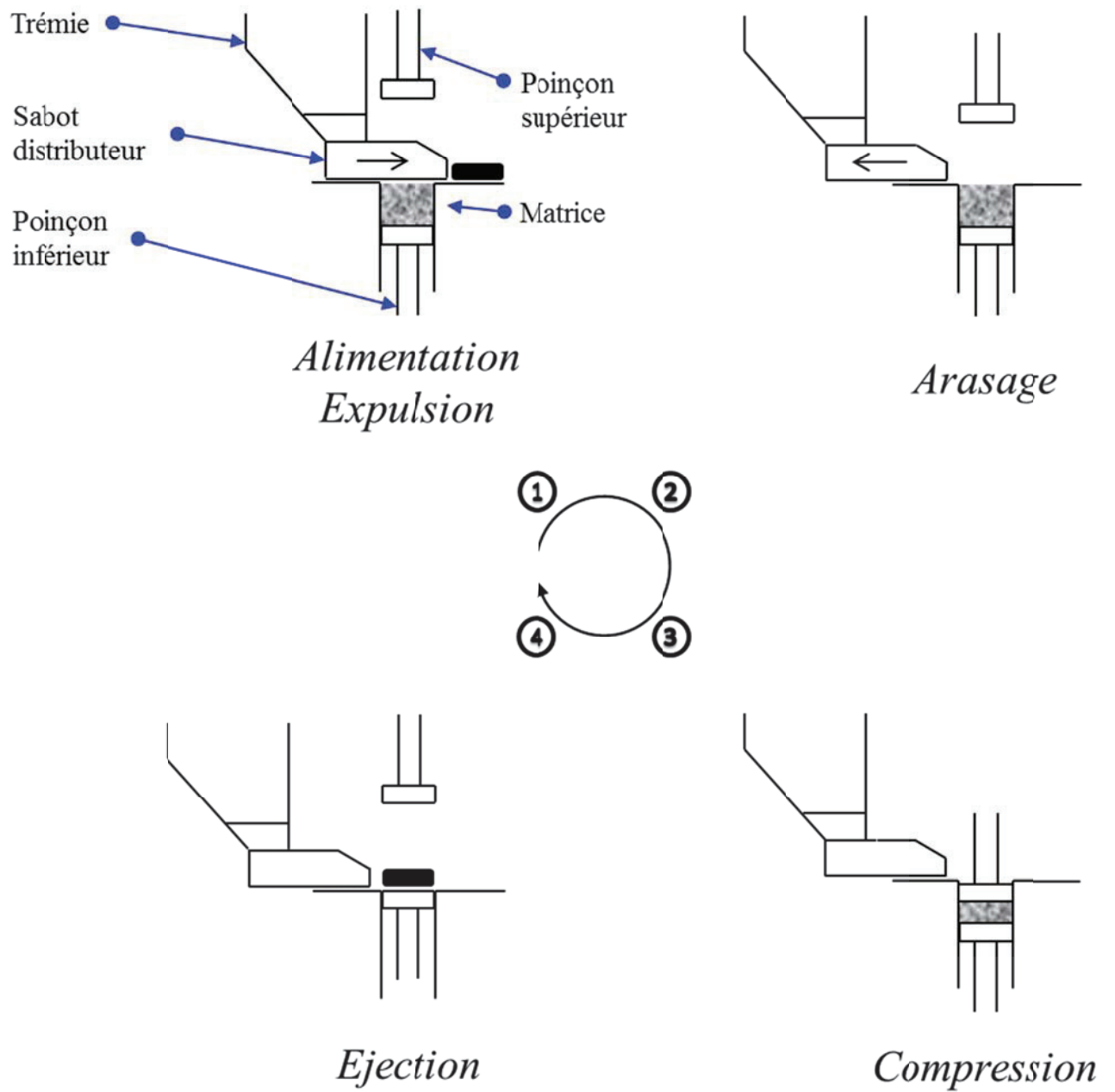


Figure I- 8 : Cycle de compression d'une machine alternative excentrique uniaxiale

Ces appareils ont une dynamique de compression (vitesse du poinçon et force) différente des presses rotatives utilisées en production. Les étapes de mise à l'échelle industrielle peuvent faire apparaître des problèmes inconnus pendant la phase de développement. La principale différence entre ces deux procédés est la mobilité du poinçon inférieur pendant la phase de compression.

1.1.1 Les presses rotatives

Les presses rotatives fonctionnent à des cadences plus élevées que les presses alternatives, elles sont donc plus courantes dans les phases de production dans l'industrie pharmaceutique (jusqu'à 2.000.000 de comprimés par heure).

Leur mode de fonctionnement est légèrement différent des presses alternative car le sabot de remplissage est fixe. On note également que les deux poinçons participent à la compression (**Figure I- 9**). La poudre arasée peut également être récupérée par aspiration et recyclée dans la trémie d'alimentation. Il est possible d'ajouter une roue de pré-compression afin de tasser la poudre dans un premier temps et éviter le phénomène de décalottage par la suite.

Certaines presses rotatives sont capables de fabriquer des comprimés multicouches. Les couches sont compressées les unes après les autres. La presse est alors divisée en plusieurs zones afin d'éviter les mélanges de poudre. On trouve ces presses pour des applications industrielles ou pharmaceutiques lorsque des constituants sont incompatibles ou lorsque le profil de dissolution l'impose.

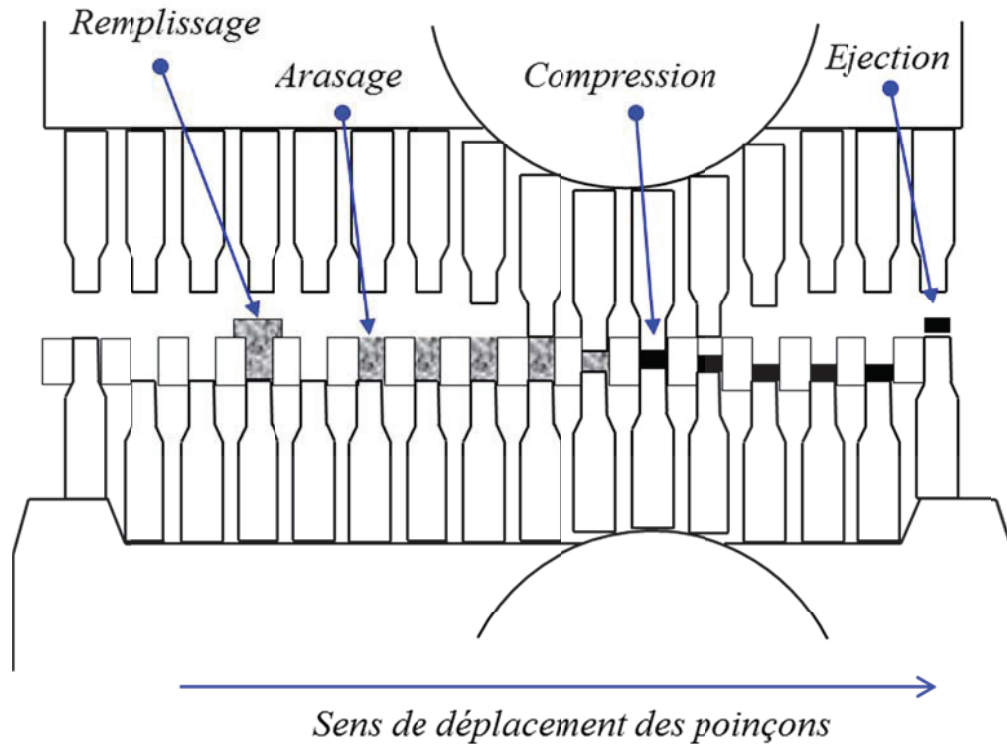


Figure I- 9 : Cycle de compression d'une machine rotative

1.3/ Les simulateurs de compression

Les simulateurs de compression à came sont une alternative pour le développement de nouvelles formulations ou dans les étapes de mise à l'échelle industrielle (Melik, 2011). Ils sont capables de simuler des cadences de presses rotatives pouvant atteindre 300.000 comprimés par heure.

L'avantage du procédé est qu'il ne requiert que peu de poudre car le chargement de la matrice peut être effectué manuellement et qu'un seul comprimé suffit par configuration. C'est un avantage indéniable lors d'étapes de recherche où les quantités de poudre disponibles sont faibles.

B.3/ Les équations de densification

1.3.1/ L'application des équations porosités/pression

La cohésion et la résistance à la rupture des comprimés n'informent pas sur le comportement de la poudre pendant la compression. On utilise, dans ce cas, des modèles de compression représentant la variation de porosité du lit de poudre pendant l'application d'une contrainte normale au lit. Différentes représentations sont utilisées et régulièrement réévaluées (Walker, 1923; Gurnham, 1946 ; Heckel, 1961 ; Kawakita et Tsutsumi, 1965). Nous avons choisi d'utiliser l'équation de Heckel qui est la plus répandue de notre domaine d'application pharmaceutique. Ainsi, nous pourrions comparer plus aisément les valeurs obtenues à celles de la littérature.

Les mélanges de poudres constituent des systèmes hétérogènes de particules solides et poreuses en suspension dans l'air. La nature physique d'une poudre est différente de celle d'un solide car elle peut s'écouler de la même manière qu'un fluide. Elle possède donc des propriétés rhéologiques. Les poudres présentent également des similitudes avec les solides massifs car des déformations de types plastiques, élastiques et fragmentaires sont observables pendant la compression par exemple. On comprend alors la complexité des mécanismes qui régissent la dynamique des poudres.

L'air emprisonné dans la poudre peut être situé entre les particules, on parle alors de porosité inter-particulaire, ou bien il se trouve à l'intérieur des particules, et on parle de porosité intra-particulaire. Lorsqu'une poudre est soumise à une charge au cours de la compression, la réponse observée est une diminution du volume total par l'évacuation de l'air inter et intra-particulaire. Les étapes de ce procédé sont le réarrangement des particules par enchevêtrement permettant l'évacuation de l'air inter-particulaire, ainsi que les déformations plastiques, élastiques ou fragmentaires qui conduisent à la diminution de l'air intra-particulaire.

L'étude de la variation de la porosité d'un lit de poudre en fonction de la pression est largement utilisée dans le domaine pharmaceutique. Toutes les étapes de la compression résultent d'une réduction de volume mais la poudre n'a pas le même comportement dans

chacune d’elles. Ces modèles permettent de distinguer avec plus ou moins de facilité les changements d’organisations au sein de la poudre.

Plusieurs modèles, pour la plupart provenant de l’industrie céramique et métallurgique, ont été développés dans ce sens. Ils nécessitent au préalable de connaître la densité apparente ou porosité du ou des matériaux ainsi que leur densité particulière.

1.3.1/ 1.3.2 *Terminologie et pression de compression*

Cette mesure s’effectue pour le biais de l’instrumentation de la machine à comprimer. Le capteur de force situé sur le poinçon supérieur indique la réponse du lit de poudre à la pression exercée pendant la compression. La valeur donnée par le capteur de force peut ensuite être traduite en pression à partir de la surface S du poinçon :

$$P = \frac{F}{S} \quad (I. 20)$$

Avec : P : la pression exercée (Pa)

F : la force exercée sur le poinçon supérieur (N)

S : la surface du poinçon supérieur (m²)

1.3.3/ 1.3.4 *Terminologie et porosités comprimés*

Lorsque l’on souhaite étudier la variation de porosité en fonction de la pression, il est nécessaire de connaître avec précision la densité vraie de chaque constituant de la poudre. En pratique, on se contente de la densité particulière ou pycnométrique qui est la plus proche de la densité vraie. Pour cela, on peut se référer aux données fournies par le fabricant en cas de produits commerciaux ou bien mesurer cette densité par des techniques analytiques comme la pycnométrie et la porosimétrie. Ces valeurs vont renseigner sur le volume réel de solide dans la chambre de compression.

L'expression de la porosité ε est la suivante :

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_A}{\rho_D} = 1 - X \quad (\text{I.21})$$

Avec :

- ρ_A : la densité apparente de la colonne de poudre
- ρ_D : la densité des particules dans le volume comprimé
- X : la fraction de solide dans le volume poreux

Le suivi de la porosité peut être réalisé à l'aide de capteurs de déplacement des poinçons supérieurs et inférieurs dans la chambre de compression. Il suffit ensuite de connaître les dimensions de la chambre de compression et la masse de poudre introduite dans celle-ci.

Le calcul de la porosité en continu est la méthode dite « in die » (*dans la matrice*). Lorsque l'appareillage n'est pas équipé par de tels capteurs, la porosité finale est déterminée après éjection du comprimé. Elle est reliée à la pression maximale appliquée pendant la compression. Un inconvénient est qu'il est nécessaire d'effectuer plusieurs mesures à des pressions différentes pour tracer les courbes des modèles et celles-ci contiennent moins de points expérimentaux. De plus, il est important de tenir compte de l'élasticité du comprimé qui peut modifier la mesure finale de la hauteur du comprimé et par conséquent son volume. Les mesures doivent donc être effectuées dans un délai très court après la sortie du comprimé de la matrice.

B.3.4.1/ Présentation du modèle de Heckel

B.3.4.1/ Présentation du modèle de Heckel

Le modèle de Heckel est couramment employé dans le domaine pharmaceutique. Il se base sur le principe que la diminution de la porosité pendant la compression obéit à une loi cinétique d'ordre 1 (Heckel, 1961). Le profil présenté sur la **Figure I- 10** est un exemple de représentation graphique du modèle de Heckel.

L'expression du modèle de Heckel est de la forme :

$$\ln\left(\frac{1}{1-X}\right) = A - KP \quad (I. 22)$$

- Avec :
- X : la fraction de solide dans le volume poreux
 - P : la pression mesurée au poinçon supérieur (MPa)
 - A : constante représentant la densité initiale de la poudre si les déformations étaient uniquement de type plastique
 - K : une constante caractérisant le type de déformation (MPa^{-1})

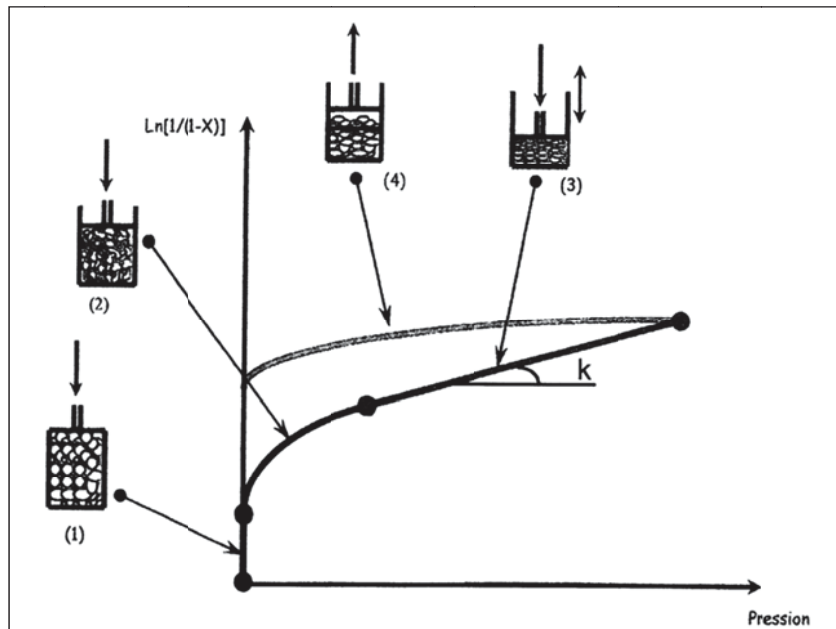


Figure I- 10 : Représentation graphique du modèle de Heckel en compression (D'après Heckel, 1961)

La première partie (1) correspond au tassement de la poudre à faible pression, le lit de poudre ne présente aucune résistance durant cette étape. La seconde partie (2) montre le réarrangement des particules. La partie linéaire (3) est liée à la déformation plastique et élastique du lit de poudre. La dernière zone (4) correspond à la décompression. Elle permet d'obtenir des informations sur l'élasticité du comprimé. Si le volume ne change pas lors de la décompression, alors l'expression de la porosité non plus et la courbe de Heckel dans cette

phase est horizontale. Plus le comprimé est élastique et plus la courbe de décompression se rapproche de celle de la compression.

B.3.4.2 Intérêt pour l'étude de la densification

L'utilisation du modèle de Heckel permet d'estimer numériquement le comportement de la poudre pendant la compression. La valeur de la pente K de la partie linéaire de la courbe représente la capacité du lit de poudre à se déformer. Plus la pente est importante et plus le comportement est assimilable à une déformation plastique. L'inverse de la pente K a été défini par la suite (Hersey et Rees, 1971) comme le seuil d'écoulement plastique P_y de la poudre.

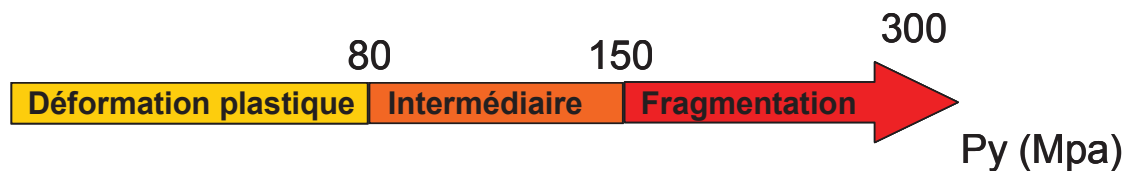


Figure I- 11 : Types de déformation selon le seuil d'écoulement plastique P_y d'après le modèle de Heckel.

Lorsque les valeurs de P_y sont inférieures à 80 MPa (**Figure I- 11**) la poudre se déforme de manière plastique sous l'effet de la pression. Entre 80 MPa et 150 MPa le comportement est dit intermédiaire car des déformations de différentes sortes, plastiques, fragmentaires et élastiques se produisent. Après 150 MPa la poudre est essentiellement fragmentaire, les particules se cassent lorsqu'elles sont en contact.

B.3.4.3/ Limites du modèle

Le modèle de Heckel a été développé dans un premier temps pour l'étude des déformations des céramiques et des métaux. Par la suite, il a été introduit dans le milieu pharmaceutique. Cependant, les pressions de compression mises en jeu dans les procédés pharmaceutiques sont majoritairement plus faibles que pour les métaux et l'analogie du modèle entre les deux types d'utilisation est discutable.

Des rapports font référence à des résultats différents lorsque la taille des particules varie. Des comportements évoluant de plastiques à fragmentaires ont été décrits par le passé (Rue et

Rees, 1978 ; Roberts et Rowe, 1987). La cinétique de compression serait également un paramètre influençant le mode de déformation (Roberts et *al.*, 1989). Par exemple, lors de la compression de cellulose microcristalline, une variation du volume a été observée lorsque le temps de compression était allongé. La conséquence directe de ce phénomène est une augmentation de la plasticité dans le comprimé.

Le P_y estimé dépend fortement des conditions opératoires de la compression. On constate par exemple que pour l'AVICEL[®] PH-101 des auteurs ont publiés des résultats très différents : 47,6 MPa (Roberts et Rowe, 1987), 84,4 MPa (Yu et *al.*, 1988), et 104 MPa (Paronen, 1986). Des paramètres comme la cadence de la machine, la forme des poinçons et la méthode de détermination des forces peuvent largement changer le comportement de la poudre. On comprend donc que l'utilisation de ce modèle dépend de la machine à comprimer utilisée. Ce paramètre doit être considéré pour toute étude de compression. L'outil de Heckel nécessite donc une comparaison des propriétés mécaniques des poudres à étudier avec des références connues et largement publiées.

Cette partie nous a permis de mettre en place certaines bases théoriques et sur un moyen de caractériser le processus de compression. L'équation de porosité / pression de Heckel

C/ Les techniques analytiques appliquées à la caractérisation des comprimés

Nous présentons ici les trois techniques analytiques principales qui ont été utilisées dans ce travail afin d'étudier les transformations de la caféine forme I. L'analyse thermique est considérée comme une référence pour la détection de transitions polymorphiques. La tomographie à rayons X permet de cartographier la densité à l'intérieur des comprimés. Finalement, nous avons étudié une technique émergente dans le domaine pharmaceutique, la cartographie par micro-spectroscopie Raman.

C.1/ Analyse calorimétrique différentielle

C.1.1/ Principe

L'analyse calorimétrique différentielle, ACD, ou *Differential Scanning Calorimetry*, DSC, est une méthode d'analyse thermique ayant pour principe la mesure du flux thermique en fonction de la température ou du temps alors que la température de l'échantillon est programmée. Pour mesurer ce flux, on utilise une méthode comparative faisant intervenir une référence.

Il existe trois types d'ACD, l'ACD à compensation de puissance, l'ACD fluxmétrique à capteur plan et l'ACD fluxmétrique à capteur enveloppant.

L'appareil utilisé dans notre laboratoire est un calorimètre ACD fluxmétrique à capteur plan dont le fonctionnement se rapproche d'un système ATD (Analyse Thermique Différentielle) conventionnel. Le calcul du flux de chaleur s'effectue par l'intermédiaire de la mesure de la différence de température entre l'échantillon et la référence. La température est celle du disque situé sous les creusets et elle est mesurée par des thermocouples.

A la différence de la méthode par capteur plan, la mesure par compensation de puissance est directement reliée au flux thermique. L'échantillon et la référence sont placés dans deux fours et soumis au même programme de température. L'appareil doit ensuite s'arranger pour conserver un écart de température nul entre les deux fours. La compensation de puissance ainsi fournie constitue le flux de chaleur.

L'ACD fluxmétrique à capteur enveloppant utilise le principe Calvet. Il est constitué d'un capteur composé de couronnes de thermocouples qui enveloppent le creuset. On peut ainsi mesurer le flux de chaleur dans toutes les directions autour de l'échantillon (3D).

L'exemple suivant (**Figure I- 12**) représente le thermogramme de plusieurs formes de la bicalutamide : I, II et l'amorphe. Il permet de distinguer un premier évènement thermique à 60°C pour l'amorphe (rouge), caractéristique d'une transition vitreuse. L'évènement exothermique qui suit est la cristallisation de la phase amorphe dont la viscosité a fortement diminué. On distingue finalement la fusion endothermique de la phase cristalline autour de 190°C. Dans les autres cas (verts et bleus), seules les fusions sont observables.

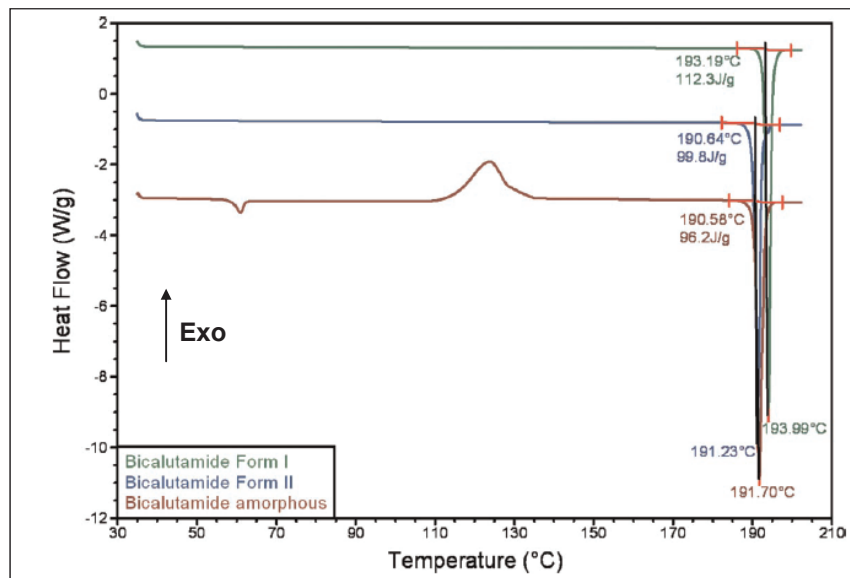


Figure I- 12 : Thermogrammes ACD de la Bicalutamide formes I, II et l'amorphe à 10K/min. (Nemet et al., 2008)

C.1. Étude du polymorphisme cristallin par ACD pour caractériser les réactions

L'étude du polymorphisme cristallin par ACD est très répandue (Manduva et al., 2008) et a conduit les auteurs à utiliser différentes techniques ACD permettant plus de précision dans les mesures. La micro-calorimétrie et l'ACD modulée permettent de s'affranchir des paramètres cinétiques dus aux rampes de température. On peut ainsi mesurer la capacité calorifique d'un échantillon et distinguer des phénomènes dits « réversibles » (thermodynamiques) et « non

réversibles » (cinétiques). Les flux réversibles sont liés à la capacité calorifique alors que les flux non réversibles sont en rapport avec les événements cinétiques.

Les transitions de phases solides sont observables par ACD car elles sont accompagnées d'un événement thermodynamique exothermique ou endothermique. Cette technique est toute indiquée pour la recherche de transitions polymorphiques liées à la température. De plus, elle permet d'obtenir une mesure de la température de transition ainsi que son enthalpie associée.

La plus grande partie des études thermiques sur le polymorphisme effectuées avant 1995 sont référencées par Giron (1995). Par la suite, d'autres contributions ont complété cette base de données (Threfall, 1995 ; Vippagunta *et al.*, 2001 ; Chieng *et al.*, 2011). Il est intéressant de remarquer que la quasi-totalité des polymorphes référencés ont été caractérisés par ACD. Cependant il n'existe pas de banque de données rassemblant tous ces thermogrammes.

Nous allons, par l'intermédiaire de l'exemple de la théophylline, montrer l'utilité de l'analyse ACD pour détecter et quantifier des transitions de phases solides. La théophylline est une molécule de la famille des méthylxanthines, dont est également issue la caféine. A ce jour, quatre polymorphes anhydres de la théophylline sont connus (Legendre et Randzio, 2007 ; Seton *et al.*, 2010 ; Khamar *et al.*, 2011 ; Khamar *et al.*, 2012). Lorsque la forme II, cinétiquement stable dans les conditions ambiantes, est chauffée à faible vitesse (**Figure I-13**), une transition endothermique II \rightarrow I, caractéristique d'un système énantiotrope, d'après les lois de Burger, se produit vers 540 K. Cette transition est suivie par la fusion endothermique de la forme I autour de 550 K.

La mesure de l'enthalpie de transition permet d'obtenir une information supplémentaire sur la quantité de produit mis en jeu dans la transformation. Par exemple, l'enthalpie de transition de la forme II en forme I d'un échantillon inconnu permettra de déterminer la quantité de forme II initialement présente dans celui-ci par comparaison avec l'analyse de référence qui est la forme II seule. Cependant, la mise en place d'une telle méthode nécessite cependant une vérification expérimentale préalablement.

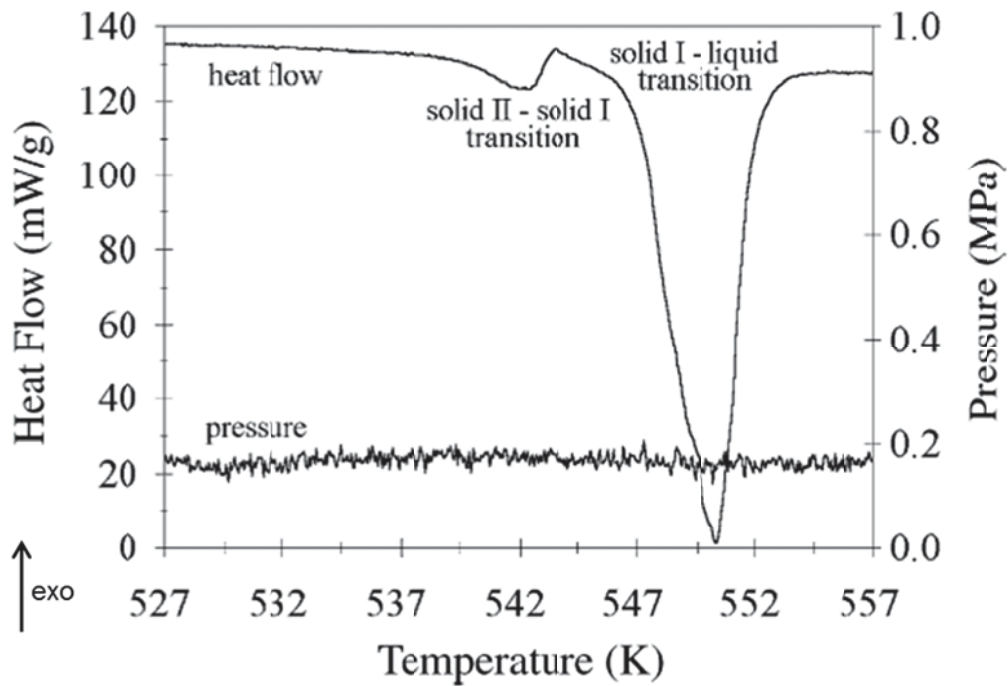


Figure I- 13 : Thermogramme ACD de la théophylline à 0.15K/min (Legendre et Randzio, 2007)

C.2/ Tomographie à rayons X

C.2.1/ Principe et application

La tomographie par absorption de rayons X est une technique non destructive qui permet la reconstruction d'images d'un objet à trois dimensions sous la forme de coupes. Son principe repose sur l'analyse multidirectionnelle de l'interaction d'un faisceau de rayons X avec la matière par enregistrement du rayon transmis à travers l'objet. Les données acquises lors de la prise de mesures, sont collectées suivant des orientations multiples dont le nombre et le pas sont fonctions de la méthode et du type d'appareil utilisé.

A l'aide de ces données, une image est reconstruite mathématiquement en niveaux de gris ou en couleurs, où chaque niveau correspond à un coefficient d'atténuation local du faisceau incident. Celui-ci après calibration peut être traduit en échelle de densité (Sinka et *al.*, 2004 ; Busignies et *al.*, 2006 ; Otsuka et *al.*, 2009).

La tomographie à rayons X permet donc d'accéder au cœur de la matière pour en apprécier les variations de composition et de densité avec une résolution d'un à une dizaine de microns. Des logiciels de traitement d'image permettent la reconstruction en trois dimensions des

objets analysés à partir des plans des coupes. La résolution joue donc un rôle important dans la qualité de la reconstruction ainsi que le logiciel et la puissance de calcul des ordinateurs.

Cette technique est née dans le domaine médical et est maintenant adaptée au milieu industriel, en particulier pour les matériaux. La tomographie peut être utilisée en production comme contrôle de la qualité des produits, ou en phase de développement. Elle permet par exemple, de localiser avec précision toute irrégularité ou vide dans un matériau, ou encore de vérifier un assemblage mécanique.

C.2.1.1.1. Principes de fonctionnement

Un tomographe est composé (**Figure I- 14**) d'une source à rayons X. Elle peut générer de 40 à 100 keV pour les applications médicales, et jusqu'à 350 keV pour les applications industrielles. Le faisceau émis est polychromatique et donc constitué de raies caractéristiques. La source est posée sur un axe qui lui permet de translater pour effectuer des mesures sur plusieurs couches.

L'échantillon se situe entre l'émetteur et le récepteur. Il est traversé par le faisceau de photons X, dont une partie est absorbée par la matière. Pour les applications médicales, l'émetteur et le récepteur tournent autour de la zone à analyser. Il est également possible de rencontrer des systèmes industriels où l'échantillon tourne avec le reste de l'installation fixe.

L'ensemble de détection est en général en forme d'éventail et est composé d'un réseau de détecteurs. La résolution maximale de l'appareil dépend ainsi du nombre de ses détecteurs. L'ensemble peut également se déplacer verticalement afin d'analyser un grand nombre de couches de l'échantillon.

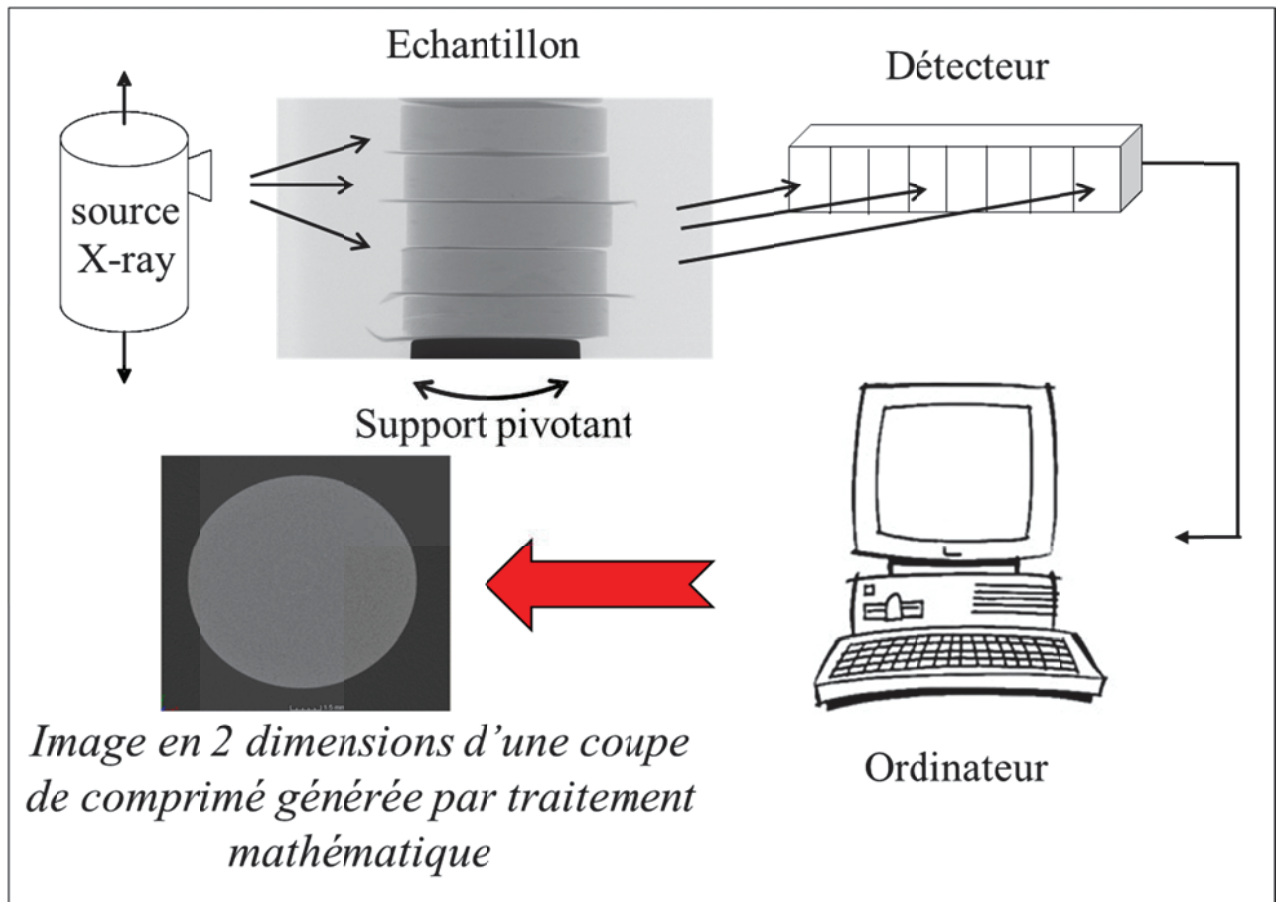


Figure I- 14 : Principaux éléments d'un micro-scanner de tomographie à rayons X

Un ordinateur est connecté au tomographe afin de piloter, d'enregistrer et de traiter les données provenant des détecteurs. Le résultat obtenu après ce traitement informatique est une série d'images en deux dimensions qui représentent les niveaux d'absorption de l'échantillon pour chaque voxel (pixel à trois dimensions) analysé.

C.2.3/ Application pharmaceutique

C.2.3.1/ Principe et intérêts

L'analyse de comprimés a fait l'objet de plusieurs études ces dernières années avec l'utilisation de la tomographie à rayons X dans d'autres domaines que la médecine et la pharmacie. Les principaux atouts de cette technique sont la mesure précise de la densité dans tout le volume du comprimé sans détruire ce dernier et la visualisation en trois dimensions de

l’échantillon. De plus, en combinant la tomographie avec d’autres techniques d’analyses il est également possible de cartographier plusieurs espèces chimiques dans le comprimé.

Le principe de l’analyse est le même que celui décrit précédemment (§ I.C.2.2). Le comprimé est placé sur un support mobile (**Figure I- 15**). Il est possible d’analyser plusieurs comprimés à la fois en les superposant (Busignies et *al.*, 2006).



Figure I- 15 : Photographie d’un comprimé dans un tomographe (SH-09kN)

C.3.2.2/ Etude de la répartition de la densité dans des comprimés

➤ Cas 1 :

La géométrie des comprimés a un rôle important pour la répartition de la densité. C’est ce que nous allons montrer dans cette partie.

La première étude concerne des comprimés de géométrie standard, c'est-à-dire un cylindre dont les extrémités sont plates (Busignies et *al.*, 2006). Ces comprimés sont composés de cellulose microcristalline (Vivapur 12[®]) et leurs densités moyennes sont différentes. Ce résultat vient de l’application de pressions de compression croissantes qui ont pour effet d’augmenter la densité tout en réduisant l’épaisseur des comprimés.

Les images obtenues par tomographie ont été traitées informatiquement afin de représenter la densité suivant une échelle de couleurs prédéfinie (**Figure I- 16**).

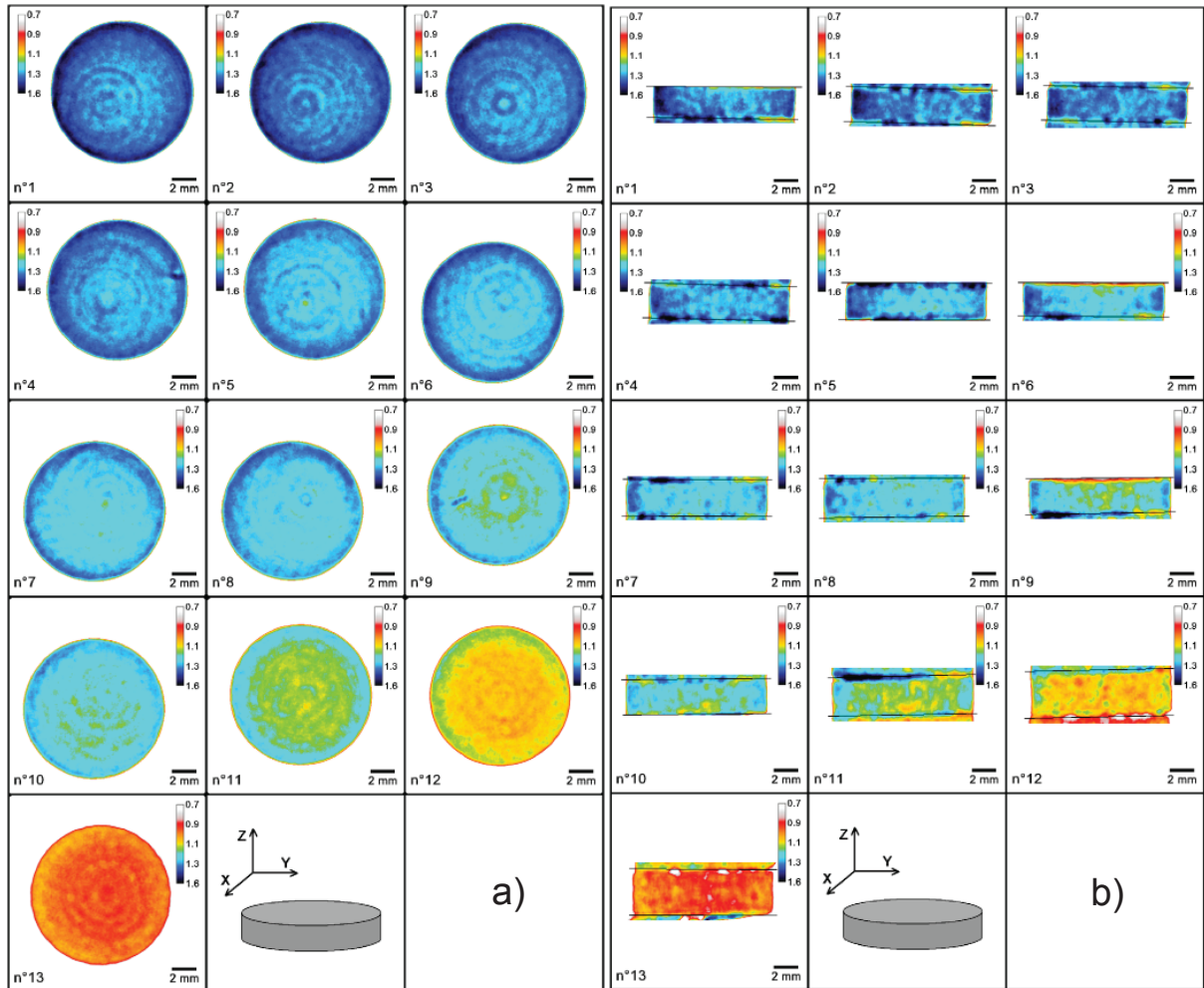


Figure I- 16 : Répartition de la densité dans des coupes de comprimés de cellulose microcristalline à des pressions de compression décroissantes, n°1 à 282 MPa, n°13 à 40 MPa, a) coupe X-Y centrée au milieu de l'axe Z b) coupe Y-Z centrée au milieu de l'axe X. (Busignies et al., 2006)

Les zones colorées en bleu correspondent aux plus fortes densités et les rouges aux plus faibles. Les résultats de cette étude montrent que la densité est hétérogène dans les comprimés. Les deux vues, X-Y et Y-Z, confirment que les plus hautes densités se situent en périphérie des comprimés. Cela se caractérise par un anneau plus foncé au niveau de leur bordure. Cet effet est accentué par la pression de compression.

Les images des coupes Y-Z montrent également que la densité est plus grande à la surface supérieure. Ce résultat est caractéristique d'une presse alternative, dont le poinçon supérieur est le seul en mouvement au moment de la compression. Il est amplifié par le fait que la poudre n'est pas lubrifiée, ce qui limite le déplacement des particules au moment de la compression.

Ces résultats sont importants pour la suite de ce rapport. Ils permettent d'avoir une base de comparaison pour l'analyse ultérieure des comprimés.

➤ Cas 2 :

L'étude présentée ici (Sinka *et al.*, 2004 ; Sinka *et al.*, 2009) montre l'effet de la géométrie des poinçons et des paramètres de compression sur la densité locale dans le comprimé. L'auteur évalue deux types de géométries (**Figure I- 17**). Les faces supérieures des deux types de comprimés sont composées d'une barre de sécabilité en leur centre (profils A et B) et les faces inférieures sont gravées par une inscription.

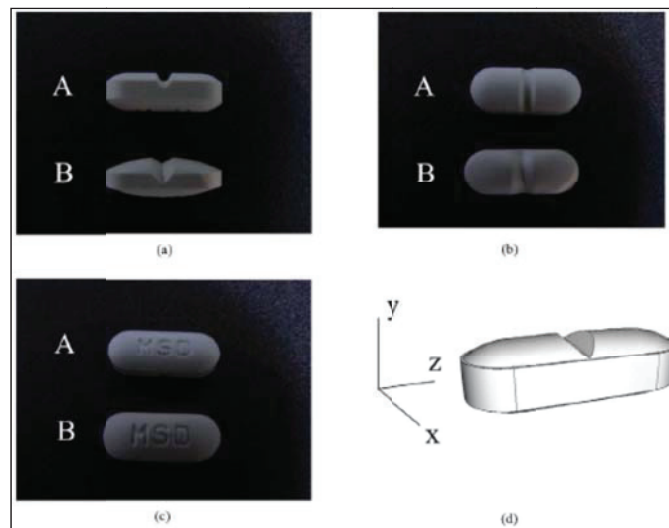


Figure I- 17 : Géométries des comprimés analysés par tomographie X (Sinka et *al.*, 2004)

L'analyse des comprimés est réalisée par micro-tomographie à rayons X et les images ont été traitées numériquement afin d'appliquer une échelle de couleur pour différentes densités. Les résultats sont exposés par coupes, X-Y (**Figure I- 18**), Y-Z (**Figure I- 19**), X-Z (**Figure I- 20**).

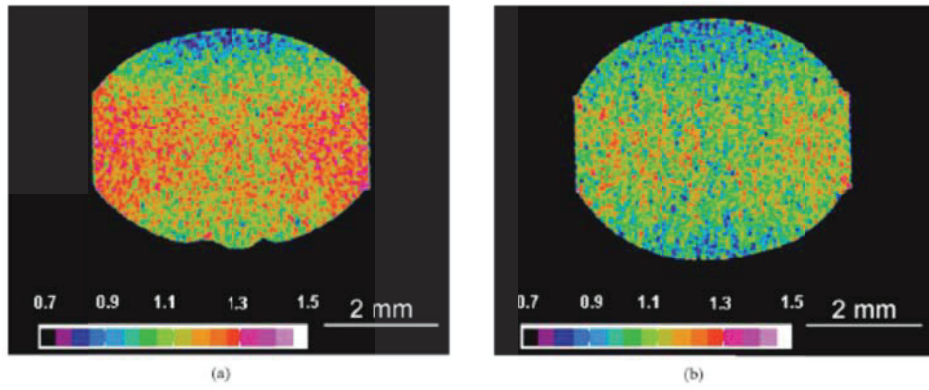


Figure I- 18 : Distribution de la densité pour la coupe X-Y adjacente à la ligne de sécabilité (Sinka et al., 2004)

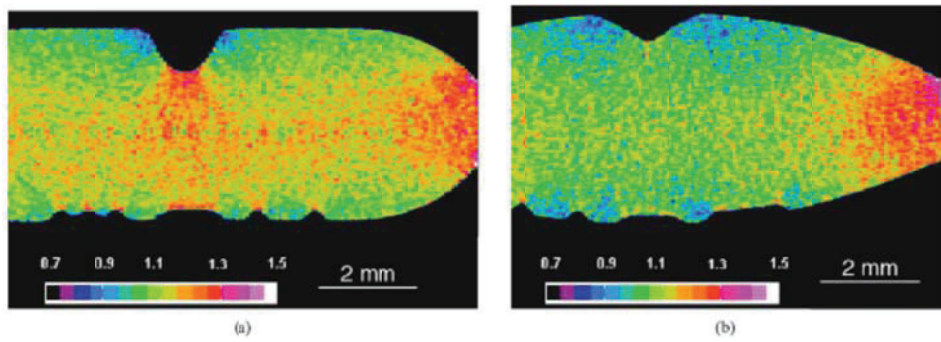


Figure I- 19 : Distribution de la densité pour la coupe Y-Z (Sinka et al., 2004)

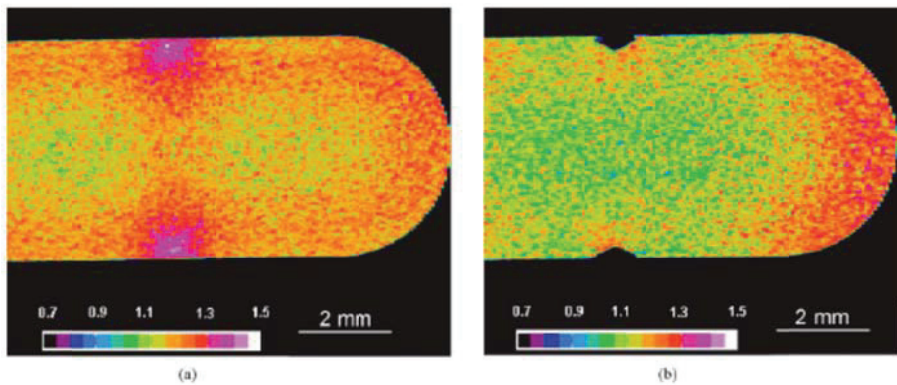


Figure I- 20 : Distribution de la densité pour la coupe X-Z (Sinka et al., 2004)

Les résultats de cette analyse montrent une hétérogénéité de la densité dans chaque coupe. Les zones de hautes densités sont représentées en violet et rouge et les zones de basses densités en bleu.

Ces résultats sont en accord avec le cas 1, on retrouve une distribution de fortes densités sur les contours des comprimés. On observe peu de différences entre le haut et le bas du comprimé alors qu'ils sont également fabriqués avec une presse alternative.

La formulation n'est pas lubrifiée dans ce cas de figure. Cela explique les fortes disparités dans le comprimé. Les angles liés à la géométrie des poinçons créent des zones de tensions importantes (**Figure I- 20**).

L'intérêt de la micro-tomographie, en plus de cartographier la densité dans le comprimé, est de pouvoir comparer plusieurs géométries ou d'autres paramètres de compression. Par exemple, nous constatons que la forme de la barre de sécabilité a un effet sur la transmission des forces dans le lit de poudre. Dans le cas **a**) (image de gauche) l'hétérogénéité est plus forte et en particulier au niveau de la barre de sécabilité qui est plus petite que dans le cas **b**) (image de droite).

C.3/ Spectroscopie Raman

Dans cette partie nous allons décrire les bases théoriques et techniques de la spectroscopie Raman. Le principe de cette technique d'analyse ainsi que ses applications dans le domaine de la cartographie des produits pharmaceutiques seront explorés. L'intérêt de cette partie est aussi de présenter les limites actuelles de la spectrométrie Raman, en particulier en termes de méthodes quantitatives et de cartographies.

C.3.1/ Principe de la spectroscopie Raman

L'effet Raman fut découvert en 1928 par Sir Chandrasekhra Venkata Raman lors de travaux sur l'étude de la diffusion de la lumière par des liquides (Raman, 1928). Cet effet est caractérisé par la diffusion d'un spectre décalé en fréquence de la lumière réfléchi par un échantillon soumis à une illumination monochromatique. Plus précisément, l'échantillon est éclairé par un faisceau de fréquence ν_0 . Une partie de cette lumière est absorbée ou réfléchi. Et une faible partie de ce faisceau (environ 1/1000) est diffusé dans toutes les directions. La

plupart des photons diffusés par le matériau sont à la même fréquence ν_0 que le faisceau incident. Cependant, une infime fraction de la lumière diffusée présente une modification de fréquence ν_d aussi appelée effet Raman (Barbillat et *al.*, 1986). Deux effets sont à distinguer. On parlera de diffusion Raman Stokes lorsque la fréquence diffusée sera inférieure à la fréquence excitatrice et d'effet Raman anti-Stokes dans le cas contraire. La majorité des spectres Raman est issue de l'effet Stokes qui est généralement plus intense que l'effet anti-Stokes.

Chaque spectre est constitué d'une série de raies ou bandes qui contiennent plusieurs informations caractéristiques. La fréquence de vibration ou position de la raie qui indique le mode de vibration de la molécule, et l'intensité qui est liée à la quantité de molécules ainsi qu'au mode de vibration.

C.1.1/ Crystallin et amorphisme par spectroscopie Raman

L'utilisation de la spectroscopie Raman pour l'analyse des solides et en particulier des polymorphes s'est démocratisée au début des années 1990 (Anwar et *al.*, 1989 ; Neville et *al.*, 1992 ; Deeley et *al.*, 1991 ; Tudor et *al.*, 1991), puis s'est multipliée dernièrement avec les avancées technologiques en terme de laser et de systèmes de détection (Strachan et *al.*, 2004 ; Strachan et *al.*, 2007 ; Hédoux et *al.*, 1998, 2001, 2008) permettant d'observer de faibles variations de fréquence ($< 1 \text{ cm}^{-1}$).

C.1.2/ Comparaison de la spectroscopie Raman et de la spectroscopie IR

D'autres techniques analytiques sont également connues et très employées pour l'analyse de l'état solide. On cite très fréquemment la spectroscopie IR (Threlfall, 1995) qui est indissociable de la spectroscopie Raman car très proche en terme de principe. Cette technique a été largement démocratisée pour l'analyse des solides (Schulz et *al.*, 2007) dans le secteur de la recherche, ainsi que dans l'industrie comme outil de contrôle qualité. Cependant, étant donné le fort moment dipolaire présent dans les molécules d'eau ou de certains solvants organiques, la spectroscopie IR est utilisée principalement pour des résidus secs ou non aqueux. Or, il est très fréquent que des échantillons de poudre contiennent des traces d'eau ou même des hydrates. De plus, la spectroscopie IR nécessite une préparation quasi obligatoire

des échantillons à analyser. Dans le cas des formes solides, celles-ci sont d'abord mélangées à du KBr pour adapter la concentration de l'échantillon à analyser puis l'ensemble est pastillé afin de le rendre homogène pour l'analyse. Toutes ces manipulations de poudres peuvent engendrer des transformations de phases bien connues dans le domaine pharmaceutique (Byrn *et al.*, 1995). L'utilisation de sondes en proche infrarouge peut également être envisagée. Dans ce cas, aucune préparation d'échantillon n'est nécessaire. Ces sondes sont beaucoup employées dans les étapes de manipulations et de mélanges des poudres (Fontange et Chauchard, 2009). Cela permet d'analyser l'homogénéité d'un mélange sans échantillonnage. Cette alternative est donc intéressante mais tous les polymorphes ne sont pas forcément identifiable par IR. De plus la sonde ne permet pas d'analyser localement des grains. Elle est plutôt destinée au contrôle qualité sur des chaînes de production (Ito *et al.*, 2008). De plus, aucune preuve de l'identification des polymorphes de la caféine par la technique IR n'a été révélée à ce jour alors qu'un exemple a été publié pour la caféine (Hédoux *et al.*, 2011b). Tout comme l'IR, la spectroscopie Raman permet également de mesurer de faibles quantités d'actif (< 1%) (Taylor et Langkilde, 2000) dans les formes galéniques intactes. On cite par exemple l'utilisation d'une sonde Raman pour effectuer le dosage de principes actifs dans des comprimés sur une chaîne de production, ou encore in-situ lors d'une étape de séchage (Kogermann *et al.*, 2008). La solution qui s'impose est donc d'analyser les produits in-situ, ce que la spectroscopie Raman permet de réaliser avec une bonne précision spatiale de l'ordre du micromètre.

Des techniques analytiques alternatives comme la RMN du solide, l'analyse calorimétrique (*cf §I.C.1*) et la DRX sont également utilisées pour caractériser les états solides des produits pharmaceutiques. Ces techniques sont complémentaires de la spectroscopie Raman mais n'apportent pas autant de précision que celle-ci.

Même si la RMN du solide a prouvé son efficacité dans de nombreux cas (Ripmeester *et al.*, 1980 ; Barbosa et Doherty, 1988), le manque de références littéraires sur le sujet, le manque de résolution spatiale sur les formes galéniques, et l'incapacité de distinguer certains polymorphes aux structures similaires démontrent toutefois les limites de la méthode (Threlfall, 1995).

La DRX sur poudre est la méthode de référence permettant de déterminer les structures cristallographiques, car chaque forme cristalline conduit à un unique diffractogramme (Threlfall, 1995). Elle peut donc être un moyen efficace de comparaison mais sa mise en application nécessite également de manipuler l'échantillon. Le réel point faible de cette méthode est le broyage du produit afin d'améliorer la qualité du signal. Cependant, il reste possible d'analyser par DRX sur poudre des échantillons sans les manipuler, mais la résolution spatiale n'égale pas celle des microscopies IR et Raman.

C.3.4/ Etat de l'art sur la cartographie Raman des produits pharmaceutiques

Comme nous venons de le voir, les produits pharmaceutiques solides peuvent être caractérisés précisément et de différentes manières. Cependant ces techniques n'ont pas toutes la même résolution spatiale. Or ce paramètre devient essentiel, en plus de la confrontation des techniques, lorsque l'on souhaite déterminer les transformations de molécules organiques dans des formes galéniques (Gordon et McGoverin, 2011).

La combinaison de la spectroscopie Raman et de la microscopie optique offre une approche locale de l'analyse des solides. Il est ainsi possible de diminuer la zone analysée, ou spot, à 1 μ m. Cette dernière dépend du grossissement de l'objectif, de l'ouverture du trou confocal, et de la longueur d'onde d'excitation. La profondeur d'analyse dépend également de ces paramètres, et de l'indice de réfraction du matériau traversé. En règle générale, la résolution en profondeur équivaut à la largeur à mi-hauteur du pic caractéristique de la silice à 520 cm^{-1} . En réalité cette profondeur est moindre (Everall, 2000a, b ; Everall et *al.*, 2007) et elle est fortement dépendante du matériau.

La cartographie Raman implique de collecter des spectres à des positions spatiales définies dans un volume donné. En utilisant les propriétés de la microscopie confocale, ces positions peuvent être choisies selon les trois axes principaux (x,y,z).

L'acquisition de données Raman, afin de cartographier les espèces chimiques dans un volume défini, peut être réalisée de trois façons différentes en fonction du type d'appareillage et du type d'utilisation que l'on souhaite en faire.

La première méthode (**Figure I- 21.a**) est une extrapolation de la microscopie Raman point par point. Elle nécessite de préprogrammer l'acquisition de spectres à des positions spatiales définies. Les paramètres d'acquisition sont généralement les mêmes pour tous les points.

L'ensemble des données est enregistrée informatiquement et les spectres peuvent être traités dans leur totalité ou bien séparément. Cette méthode est assez robuste et ne nécessite pas de changer d'équipement car tous les microscopes Raman ont la possibilité de fonctionner dans ce mode d'acquisition. L'inconvénient majeur de cette technique est la durée d'acquisition qui peut être très longue en fonction des produits et du nombre de points à réaliser. La qualité des spectres est la même que pour un fonctionnement standard sans cartographie. Cela permet d'obtenir une résolution et une intensité de bonne qualité en fonction des réglages du spectromètre.

La seconde possibilité de cartographie Raman fait intervenir un système permettant l'acquisition simultanée de plusieurs spectres sur une même ligne (**Figure I- 21.b**). Le gain de temps est l'avantage principal de ce type de technologie qui optimise l'utilisation du capteur CCD. Etant donné les progrès technologiques actuels cette technique semble la plus favorable pour un développement de l'imagerie par spectrométrie Raman.

Une dernière possibilité d'acquisition est envisageable, elle consiste à utiliser le capteur CCD comme une surface et non comme un détecteur de multiples longueurs d'ondes (**Figure I- 21.c**). Dans cette configuration, chaque pixel correspond à une zone définie sur l'objet à analyser. Un filtre placé avant le capteur CCD permet d'isoler une unique longueur d'onde et d'enregistrer son intensité pour chaque position spatiale sur le capteur. On obtient donc une analyse rapide et en temps réel de toute la zone à analyser. Cette analyse semble appropriée pour réaliser des cartographies en intensité avec peu de composés différents. Cette méthode est appelée la méthode d'image globale et elle a pour principal intérêt de ne pas déplacer l'échantillon à analyser. Elle peut être appliquée sur des chaînes de fabrications industrielles par exemple.

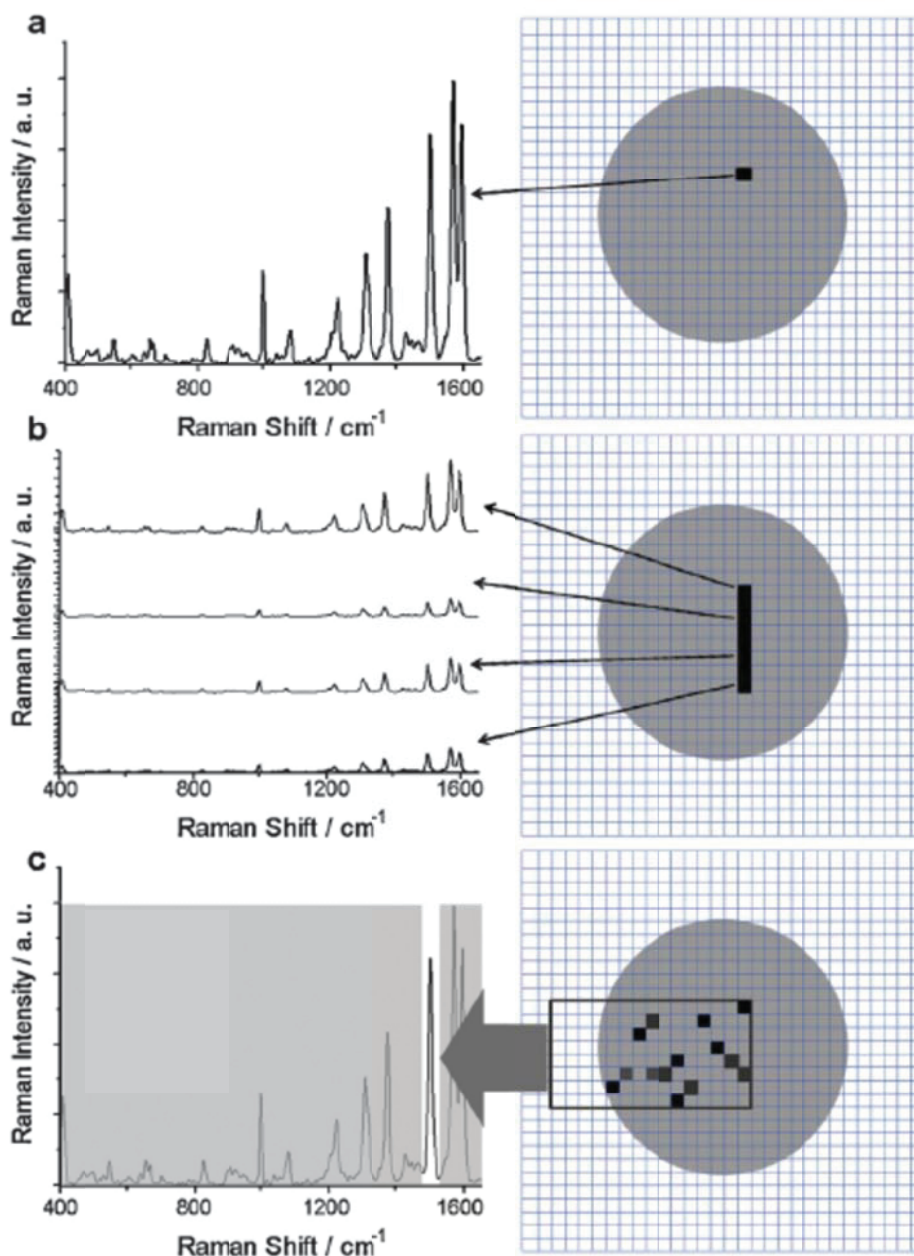


Figure I- 21 : Représentations schématiques de cartographies Raman. (a) méthode point par point. (b) méthode d'acquisition simultanée sur une ligne. (c) acquisition de l'intensité d'un pic sur une région (Gordon et McGoverin, 2011).

C.3. \square \square limites de la technique

Comme nous venons de le voir, la micro-spectroscopie Raman combine un grand nombre d'avantages concernant la caractérisation et la cartographie des molécules organiques, et plus particulièrement des produits pharmaceutiques. Cependant, un facteur limitant majeur s'oppose encore à la généralisation de cette technique dans l'industrie pharmaceutique, c'est

la durée d'acquisition (Gowen et *al.*, 2008). En fonction de la taille de la zone à analyser, de la résolution spectrale requise, de la résolution spatiale et de la technologie employée, la durée d'acquisition peut varier de quelques minutes à une journée. L'enregistrement des données et leur traitement dépendent essentiellement du logiciel et de la puissance de l'ordinateur utilisé. Mais l'évolution rapide et croissante des nouveaux développements dans le domaine informatique, et des nouvelles technologies, laisse penser que ces limites seront repoussées et que le temps d'acquisition sera réduit et permettra des analyses complexes en temps réel. C'est également ce qui fait tout l'intérêt de la spectroscopie Raman tant dans le milieu industriel que dans le milieu de la recherche académique.

Conclusion du chapitre I

Au terme de ce chapitre, nous avons établi les bases théoriques de l'étude des TIPI en compression. En résumé de cette partie, nous avons pu constater dans la littérature que les transitions de phases en compression dépendent de plusieurs paramètres : thermodynamiques avec la pression et la température, et mécanique avec le processus de compression. Des similarités ont été montrées entre broyage et compression car ces deux procédés infligent un traitement mécanique conduisant généralement à une réduction de la taille des particules. La caractérisation du procédé de compression est donc un élément pouvant apporter des éléments de compréhension des transitions de phases. Nous proposons donc d'évaluer différentes conditions de fabrications sur les principes actifs étudiés dans ce travail. Nous insistons également sur l'importance de caractériser les transitions de phases dans les comprimés. Pour cela, nous proposons l'emploi de la tomographie à rayons X pour caractériser les profils de densité dans les comprimés. L'analyse thermique sera la technique analytique de référence permettant de quantifier les transitions dans le volume des comprimés. L'innovation principale est l'utilisation de la spectroscopie Raman pour cartographier les polymorphes à la surface des comprimés.

CHAPITRE II :
Produits, Matériels et Méthodes de
caractérisation et quantification de
la caféine

Chapitre II : Produits, Matériels et Méthodes de caractérisation et quantification de la caféine

Ce chapitre est divisé en trois parties. Premièrement nous présentons et justifions le choix des produits modèles de ce travail : la caféine et la carbamazépine. Deuxièmement, les différents équipements analytiques sont détaillés. Finalement, les méthodes de caractérisation et de quantification de la caféine nécessaires pour ce travail sont expliquées et validées.

A/ Produits :

A.1/ Recherche d'un produit modèle : La Caféine

1.1/ Pourquoi un produit modèle

La caféine est une substance importante à cause des diverses applications agrochimiques et pharmaceutiques qui lui sont associées. Elle a été isolée pour la première fois en 1820 par Friedrich Ferdinand Runge. Sous sa forme pure, elle se présente comme une poudre blanche d'un goût extrêmement amer et inodore. C'est une méthylxanthine (**Figure II- 1**) qui est présente dans de nombreux aliments comme les grains de café, le thé, le cacao (chocolat), la noix de kola ou la graine de guarana.

La caféine est un principe actif (PA) de large diffusion utilisé comme stimulant nerveux. On la trouve dans plusieurs médicaments sous forme de comprimés comme: l'Alepsal[®], l'Antigrippine[®], le Guronzan[®], le Prontalgine[®]. On la trouve également dans d'autres formes galéniques telles que les gélules, Migralgine[®], les suppositoires, Lamalin[®], en solution buvable, Theinol[®], ou en gel, Percutafeine[®]. Elle y est associée à des principes actifs tels que le phénobarbital, l'aspirine et le paracétamol. Le but de son intégration à ces formulations est de contrer l'effet de somnolence provoqué par ces principes actifs.

La caféine est une substance utilisée à plusieurs reprises pour l'étude du polymorphisme cristallin (De Matas et *al.*, 1998 ; Manduva et *al.*, 2008). De plus, elle a fait l'objet d'articles concernant les transitions polymorphiques sous compression et broyage (Chan et Doelker, 1985 ; Pirttimaki et *al.*, 1993 ; Mazel et *al.*, 2011).

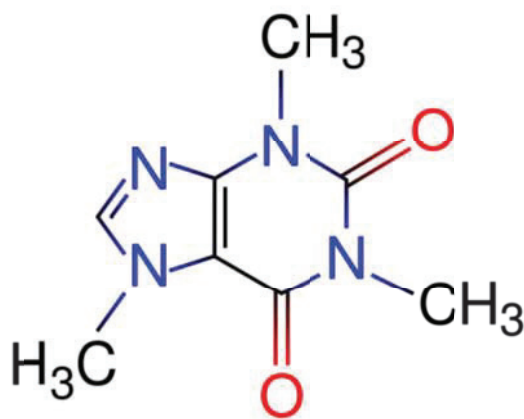


Figure II- 1 : Formule semi-développée de la caféine

Outre les études déjà réalisées, la caféine présente des propriétés intéressantes pour les transitions polymorphiques en compression. A ce jour, deux formes polymorphiques de la caféine sont connues et elles sont liées par une relation d'énantiotropie dont la température de transition de la forme II vers forme I avoisine 143°C à pression atmosphérique (Lehto et Laine, 1998). Une forme pseudo-polymorphique sous la forme d'un monohydrate contenant 0,8 mole d'eau par mole de caféine a également été observée (Pirttimaki et Laine, 1994).

L'emploi de caféine pour une étude préliminaire du polymorphisme en compression est intéressant car ce produit, facile d'obtention, est également de faible coût.

Quelques chiffres :

- Un tasse de café contient environ 100 mg de caféine.
- Une tasse de thé contient environ 50 mg de caféine.
- Un verre de soda peut contenir jusqu'à 80 mg de caféine.
- Une barre de chocolat noir contient environ 30 mg de caféine.

1.1.1/ Caractéristiques cristallographiques des polymorphes de la caféine

Cette partie décrit les propriétés des deux phases anhydres connues de la caféine ainsi que la phase hydrate. Les méthodes de caractérisations expérimentales permettant de les distinguer sont également présentées.

A.1.2.1/ Phases anhydres

✓ Forme I :

La forme I de la caféine est une phase solide stable à haute température à pression atmosphérique. C'est la première phase qui cristallise lorsque la caféine en fusion est refroidie lentement. Cette forme n'est pas la forme commerciale de la caféine anhydre car elle est métastable à température ambiante. Elle se transforme en forme II après plusieurs mois de stockage (Lehto et Laine, 1998).

La forme I a fait l'objet de plusieurs études afin de déterminer sa structure cristallographique (Derollez et *al.*, 2005 ; Enright et *al.*, 2007). La maille est hexagonale et les données associées sont résumées dans le **Tableau II- 1**. Cependant la structure détaillée de cette forme n'a toujours pas été complètement résolue.

✓ Forme II :

La forme commerciale de la caféine anhydre ou encore forme II est stable à basse température (< 145°C). La structure cristallographie de la caféine forme II (**Tableau II- 1**) a fait l'objet d'un certain nombre d'études également (Lehmann et Stowasser, 2007 ; Enright et *al.*, 2007).

A.1.2.2/ Phase hydrate

La forme hydratée de la caféine est stable à température ambiante et ce jusqu'à 51,5°C (Epple et *al.*, 1995). La stoechiométrie de cette forme est d'environ 0,8 mole d'eau par mole de caféine. La stabilité de l'hydrate de caféine est faible car elle se déshydrate facilement ce qui complique les études à son sujet.

Caractéristiques	Forme I	Forme II
Formule chimique	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂ ,	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂ ,
Masse molaire (g/mol)	194,22	194,22
Système cristallin	Hexagonale	Monoclinique
Groupe d'espace	R3c	C2c
Paramètres de maille		
a.....(Å)	14,831	42,521
b.....(Å)	14,831	14,948
c.....(Å)	6,7648	6,7923
α.....°	90	90
β.....°	90	97,825
γ.....°	120	90
Z : nombre de molécules dans l'unité asymétrique	6	20
Masse volumique (g/cm ³)	1,502	1,508

Tableau II- 1 : Données cristallographiques des formes anhydres de la caféine (D'après Enright et *al.*, 2007)

A.1.2.3/ Diffractogrammes RX sur poudre de la caféine

Les diffractogrammes RX des trois formes connues (**Figure II- 2**) de la caféine ont été donnés par Edwards et *al.* (2005) lors d'une étude sur les transitions de phases.

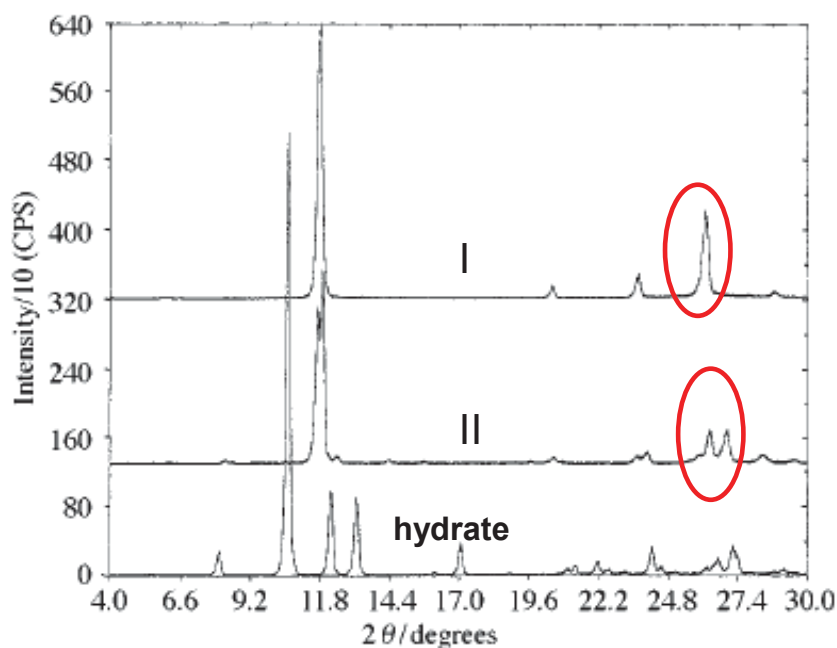


Figure II- 2 : Diffractogramme RX de la caféine forme I (en haut), forme II (au milieu) et de l'hydrate (en bas).
(Edwards et *al.*, 1995)

On remarque une différence entre les deux spectres des formes I et II pour un angle 2θ d'environ 27° . C'est la partie des spectres utilisée pour la quantification de chacune des formes en mélange. En comparant l'aire sous les deux pics pour la forme II à l'aire sous le pic de la forme I, le ratio entre chaque structure est déterminé (Pirtimakki et *al.*, 1994).

□.□.3/ *Caractéristiques thermodynamiques de la caféine* □

L'analyse calorimétrique différentielle (ACD) et ses variantes comme l'analyse calorimétrique isotherme ou modulée sont les plus employées pour déterminer les transitions de phases de la caféine ainsi que les enthalpies de transitions accompagnées de leur température (Defossefont et *al.*, 2004 ; Pinto et Diogo, 2006). L'analyse ACD ne permet de déterminer qu'une transition de phase II->I. La transition contraire de la forme I vers la forme

II est trop lente cinétiquement pour être observable par cette méthode. Cette transformation a été observée en microcalorimétrie qui permet des mesures d'une précision plus grande qu'en ACD (Lehto et *al.*, 1998).

Le thermogramme ACD en **Figure II- 3** est celui de la caféine forme II obtenue par ACD avec une rampe de température de 10°C/min. On remarque un premier pic endothermique vers 420 K (142°C) représentant la transition de II vers I dont l'enthalpie de transition est déterminée par l'aire sous le pic. Ce phénomène endothermique traduit le caractère énantiotrope du système dimorphique forme I et forme II (Burger et Ramburger, 1979a et 1979b). Le second pic endothermique vers 510 K est celui de la fusion de la forme I.

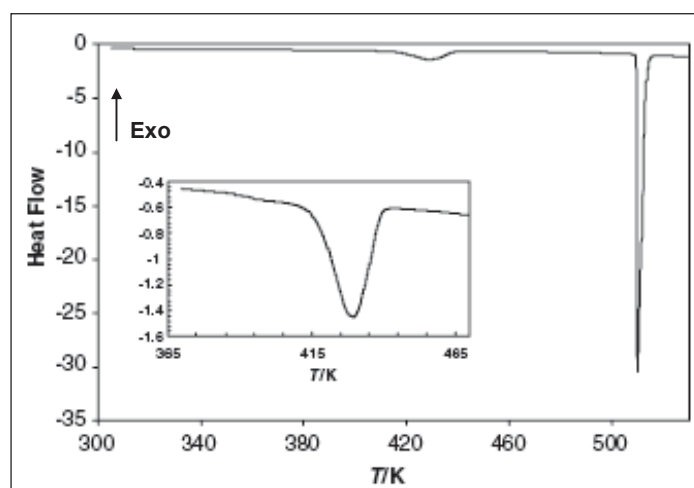


Figure II- 3 : Thermogramme ACD de la caféine forme II pour une rampe de 10°C/min. (Pinto et Diogo, 2006)

Si on compare ce thermogramme à celui de la caféine forme I (**Figure II- 4.a**) à la même vitesse de balayage en température, on constate qu'il n'y a pas de pic de transition II→I comme escompté.

L'ACD permet également de réaliser des études cinétiques des transitions de phases. Manduva et *al.* (2008) ont appliqué différentes vitesses de balayage en température sur des échantillons de caféine de forme II (**Figure II- 5**). Les résultats montrent que la température de transition mesurée dépend de la vitesse de balayage en température mais la valeur globale de l'énergie liée au phénomène reste constante. Un tableau récapitulatif des données thermodynamiques obtenues par ACD disponibles dans la littérature est présenté ci-après (**Tableau II- 2**).

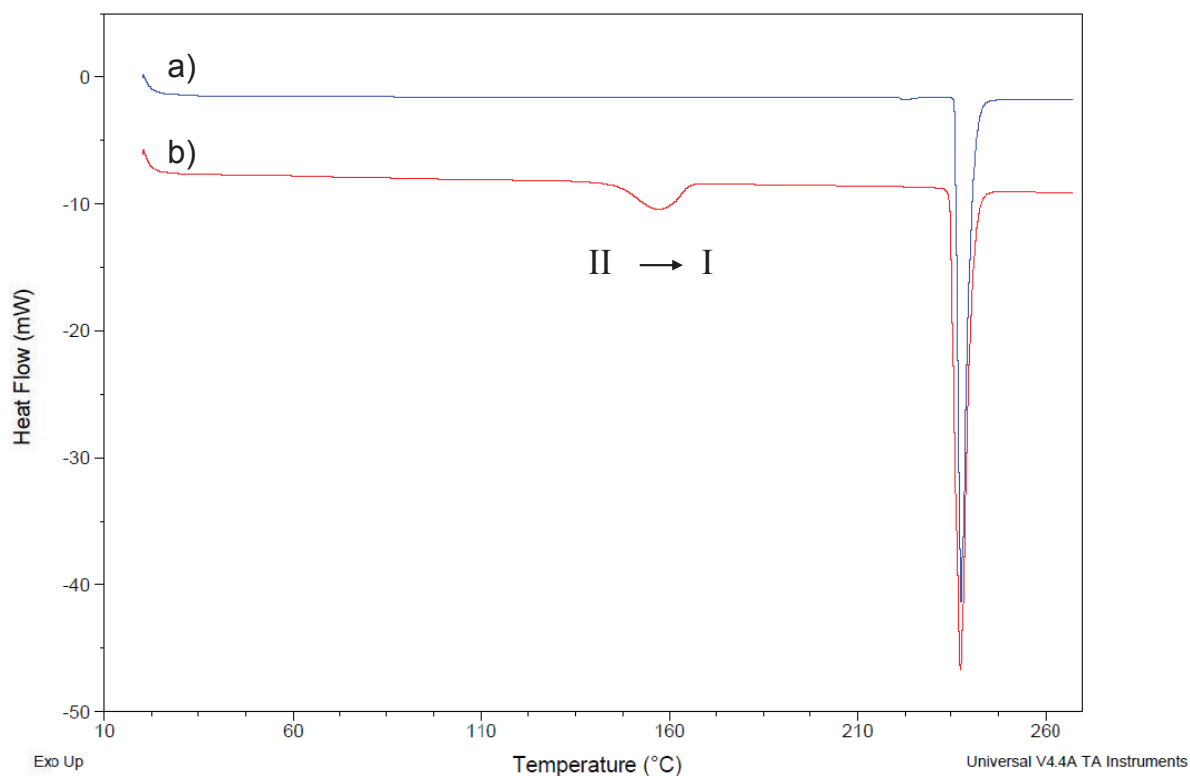


Figure II- 4 : Thermogrammes ACD des polymorphes anhydres de la caféine pour une rampe de 10°C/min. a) de la forme I, b) de la forme II (Cette étude)

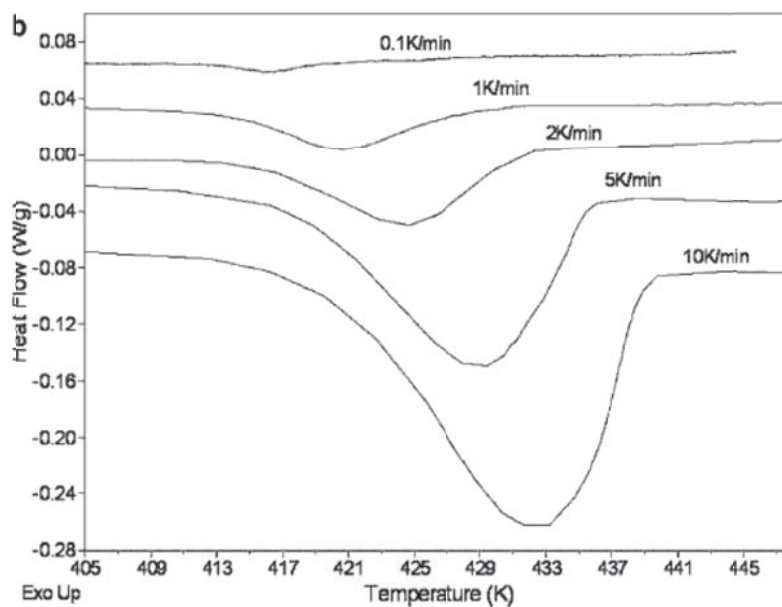


Figure II- 5 : Thermogrammes ACD de la caféine II à différentes rampes de température de 0,1. K/min à 10 K/min. (Manduva et al., 2008)

Référence	Transition II→I, T _{trans} (K)	$\Delta_{\text{trans}}H_m$ (J/g)	$\Delta_{\text{trans}}H_m$ (kJ/mol)	Fusion, T _{fus} (K)	ΔH_{fus} (J/g)	ΔH_{fus} (kJ/mol)
Bothe et Cammenga, 1979	414,2	20,7	4	-	-	-
Cesaro et Starec, 1980	426	20,1	3,9	511,9	120,5	23,4
Defossefont et <i>al.</i> , 2004	411,4	20,1	3,9	507,1	93,7	18,2
Dong et <i>al.</i> , 2007	413,4	17,5	3,4	508,9	102,5	19,9
Edwards et <i>al.</i> , 1997	428,5	18,5	3,6	-	-	-
Manduva et <i>al.</i> , 2008	420,4	13,2	2,6	507,9	70,4	13,7
Pinto et Diogo, 2006	428,2	20,6	4	509,6	112,8	21,9
Sabon et <i>al.</i> , 1979	435,2	18,4	3,6	-	-	-
Cette étude	419	19,8	3,8	507,9	109	21,2

Tableau II- 2 : Compilation des données thermodynamiques concernant la transition de phase de la caféine forme II et la fusion de la forme I dans la littérature et pour cette étude.

A.1.4/ Préparation de la caféine :

A.1.4.1/ Obtention de la forme II :

Les préparations commerciales contiennent en général une majorité de forme II qui est la forme stable de la caféine à température ambiante. Cependant il est nécessaire de la caractériser pour estimer sa pureté polymorphique. Plusieurs articles font référence à la recristallisation de la forme II dans le but d'obtenir un produit polymorphiquement pur (**Tableau II- 3**).

Au laboratoire nous avons décidé d'utiliser la caféine commerciale (Cooper, lot : 08100052/B) dont la pureté est satisfaisante. Dans cette étude la forme II est principalement utilisée comme base pour la préparation de la forme I.

Un diffractogramme RX sur poudre a été réalisé pour contrôler la pureté du lot avant son utilisation (donnée non présentée).

A.1.4.2/ Obtention de la forme I :

La forme I a également plusieurs modes d'obtention (**Tableau II- 3**). Leur principe est de chauffer la caféine commerciale à une température supérieure à la température de transition et

de refroidir le produit plus ou moins rapidement. La méthode que nous utilisons au laboratoire consiste à chauffer la caféine à 160°C pendant 24h puis de la refroidir dans de l'azote liquide. L'intérêt est de pouvoir manier des quantités plus importantes que par sublimation et pour un temps assez court de préparation. De plus, la forme I métastable obtenue peut se conserver pendant un à deux jours en conservant une pureté polymorphique supérieure à 99% (cf. chapitre III §A.2.5).

Forme II	Forme I	Référence
Commerciale sans traitement supplémentaire	Chauffage et refroidissement de la forme II pure (commerce) à 450K	(Derollez et <i>al.</i> , 2005)
Recristallisation deux fois de la caféine (commerce) avec de l'eau distillée. Les cristaux sont séchés pendant 8 jours à 30°C et pendant 4 h à 80°C en employant du gel de silice	Chauffage de la forme II à 180°C pendant 10h.	(Pirttimaki et <i>al.</i> , 1993)
Recristallisation de caféine commerciale dans l'eau puis chauffage à 90°C pour avoir la forme II	chauffage de la forme II à une température entre 160 et 200°C pendant 24h.	(Griesser et <i>al.</i> , 1999)
Evaporation sous vide avec l'eau ou le propanol comme solvant	Fusion et refroidissement de la forme II dans l'azote liquide	(Chan et Doelker, 1985)
Cristallisation en fluide supercritique (anti-solvant supercritique). Atomisation du solvant dans du CO ₂ supercritique.	Cristallisation en fluide supercritique (anti-solvant supercritique)	(Brun et <i>al.</i> , 2012)

Tableau II- 3 : Méthodes de préparation de la caféine forme I et forme II présentées dans la littérature

A.1.5/ Transitions de phases solide-solide de la caféine forme I :

A.1.5.1/ Transitions en compression de la caféine forme I

La caféine forme I a fait l'objet de quatre études concernant la transformation I→II induite par la compression (Chan et Doelker, 1985 ; Pirttimäki et *al.*, 1993 ; Manduva et *al.*, 2008 ; Mazel et *al.*, 2011). Dans chacune de ces publications, des transitions de phases en compression sont observées. Cependant, elles se distinguent par les méthodes analytiques employées et des résultats sont parfois différents. Nous allons donc résumer les principales informations issues de ces études.

L'étude de Chan et Doelker (1985) est la première qui évoque les transitions de phases de la caféine. Parmi 32 molécules, la caféine est repérée comme une molécule susceptible de se transformer par application de contraintes mécaniques. Ses deux polymorphes sont caractérisés par ACD mais aucune méthode n'est décrite. Les auteurs montrent dans un premier temps que la caféine forme I peut se transformer lorsqu'elle est broyée (par trituration dans un mortier) pendant quelques minutes. Puis, ils observent des transformations de la forme I dans des comprimés. Elles sont comprises entre 15% et 25% majoritairement. Les auteurs estiment que les transformations ont lieu préférentiellement à la surface supérieure des comprimés et au cœur des comprimés.

Pirttimäki et *al.* (1993) réalise une étude ciblée sur la caféine. Des comprimés formulés de caféine forme I (avec de la maltodextrine) sont fabriqués et analysés par DRX sur poudre. Les auteurs estiment que les transformations sont de l'ordre de 70% à 80% en surface et de 50% à 60% au cœur des comprimés. La méthode de quantification par DRX n'a pas été validée au préalable.

L'étude de Manduva et *al.* (2008) concerne les transformations à la surface de comprimés fabriqués à l'aide d'une presse pour système Infrarouge et sous pression pendant 5h. La technique analytique utilisée est la micro-calorimétrie. Les transformations estimées sont de l'ordre de 50% mais les conditions de compression sont très différentes d'une machine à comprimer.

Finalement, Mazel et *al.* (2011) proposent une réévaluation des transformations de la caféine forme I en compression et en broyage en considérant les études précédentes. Les auteurs confirment que des transitions sont obtenues rapidement en broyage (après 2 minutes). Néanmoins, ils ne distinguent pas des transitions sitôt la compression appliquée mais

seulement après 5 jours. Ce résultat est obtenu par DRX à la surface des comprimés. Ces auteurs supposent l'existence d'une forme cristalline intermédiaire entre la forme I et la forme II, monotrope avec la forme II énantiotrope avec la forme I.

Ces différentes études seront utilisées par la suite afin de discuter les résultats que nous présentons dans ce manuscrit.

A.1.5.2/ Transformation de la caféine forme I en forme II en température

La transformation en température de la forme I en forme II ne peut pas être décrite par une loi d'Avrami. Le mécanisme de transformation proposé par Decroix (2009) (Hédoux et *al.*, 2011b) suppose une cinétique de cristallisation de la forme II contrôlée par la germination, la vitesse de croissance étant instantanée. Dès qu'un germe critique apparaît dans un cristallite, ce cristallite est immédiatement transformé par croissance.

A.2/ L'exemple de la Carbamazépine

A.2.1/ Un peu d'histoire

La carbamazépine (CBZ) a été synthétisée pour la première fois en 1953. D'abord connue pour son pouvoir antiépileptique, elle est commercialisée dès 1963 en Suisse sous le nom de Tegretol[®] (comprimé). En France elle est mise sur le marché l'année suivante sous le même nom. Ce médicament était indiqué dans le cas d'épilepsie et pour des troubles caractériels. C'est à des médecins japonais que revient le mérite d'avoir, dès 1965, remarqué l'action de la carbamazépine sur l'humeur des patients atteints de comitialité. Cette molécule induisait une amélioration importante des troubles de l'humeur. Son indication s'est donc élargie du domaine de la neurologie au domaine de la psychiatrie.

A.2.2/ Caractéristiques chimiques de la Carbamazépine

De formule brute $C_{15}H_{12}N_2O$, la 5 carbamoyl-5H-dibenzo (b,f) azepine ou carbamazépine (**Figure II- 6**) est une poudre blanche à blanc jaunâtre sans odeur et saveur de départ pouvant laisser sur la langue une légère amertume. Elle est aisément soluble dans le chloroforme et le diméthylformamide. Elle est peu soluble dans l'éthanol et pratiquement insoluble dans l'eau.

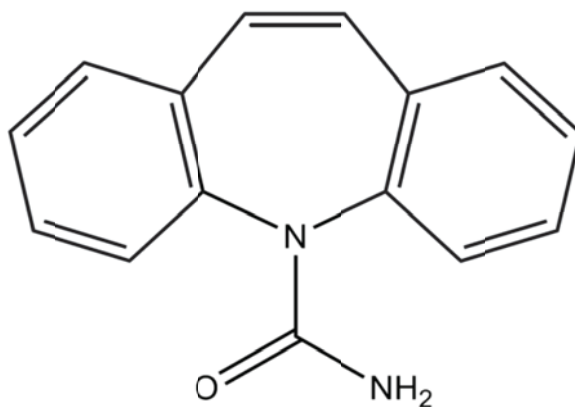


Figure II- 6 : Formule semi-développée de la carbamazépine

A.2.3/ Polymorphisme de la Carbamazépine

La carbamazépine possède quatre polymorphes anhydres connus (Krahn et Mielck, 1987 ; Grzesiak et *al.*, 2003 ; Harris et *al.*, 2005) que l'on nomme couramment formes I, II, III et IV.

Les données cristallographiques ont été déterminées (**Tableau II- 4**). Les structures cristallines sont utilisées pour différencier les formes (**Figure II- 7**).

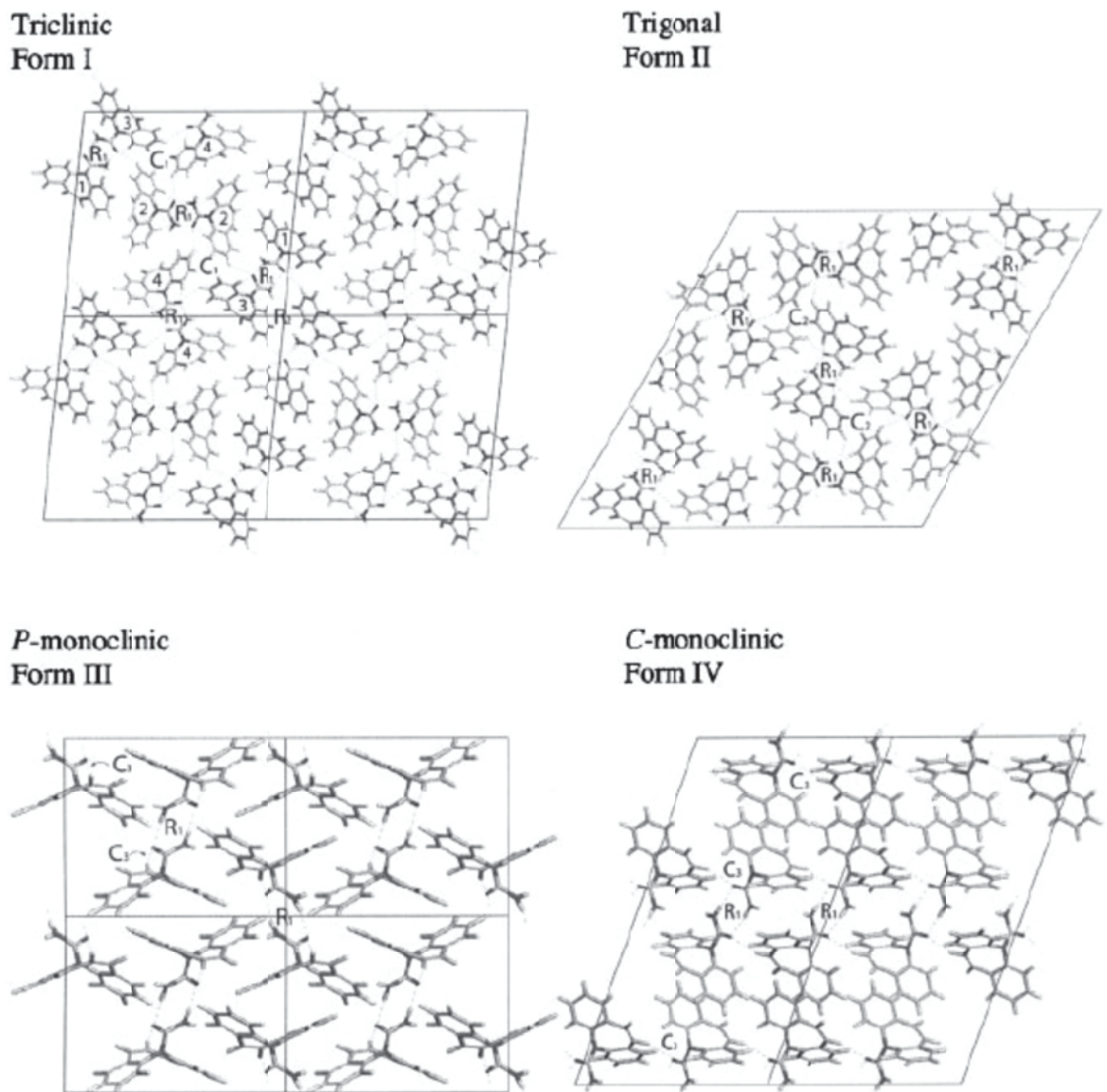


Figure II- 7 : Diagramme représentant les différents systèmes cristallins des polymorphes anhydres connus de la CBZ.
D'après (Grzeziak et al., 2003)

Les propriétés de ces polymorphes ainsi que la façon de les obtenir sont résumées ci-après.

- Forme I : La CBZ_(I) est triclinique. C'est la forme stable de la CBZ à haute température (> 170°C). Cette forme peut être obtenue par chauffage des autres formes anhydres de la CBZ entre 160°C et 187°C pendant plusieurs minutes (Rustichelli et al. 2000 ; Grzesiak et al., 2003).
- Forme II : La CBZ_(II) est trigonale. Cette forme est métastable sur tout le domaine de température. Elle est obtenue par cristallisation dans de l'éthanol saturé à 5°C (Grzesiak et al., 2003).
- Forme III : La CBZ_(III) est P-Monoclinique. La CBZ_(III) est la forme commerciale et c'est la forme stable à basse température (< 170°C). Elle est reliée à la forme CBZ_(I) par une relation d'énantiotropie et dont la température de transition avoisine 170°C. Il est possible de l'obtenir par cristallisation dans une solution d'éthanol à 25°C (Grzesiak et al., 2003) afin d'éliminer certaines impuretés et polymorphes.
- Forme IV : La CBZ_(IV) est C-monoclinique. La structure de la CBZ_(IV) a été proposée récemment (Lang et al., 2002 ; Grzesiak et al., 2003) par DRX sur monocristal obtenu par évaporation d'une solution de méthanol en présence d'hydroxypropylcellulose.

Des données cristallographiques et thermodynamiques des polymorphes de la CBZ et de sa forme dihydratée (CBZH) sont données dans le tableau (**Tableau II- 4**) et les figures suivants (**Figure II- 8 et Figure II- 9**) :

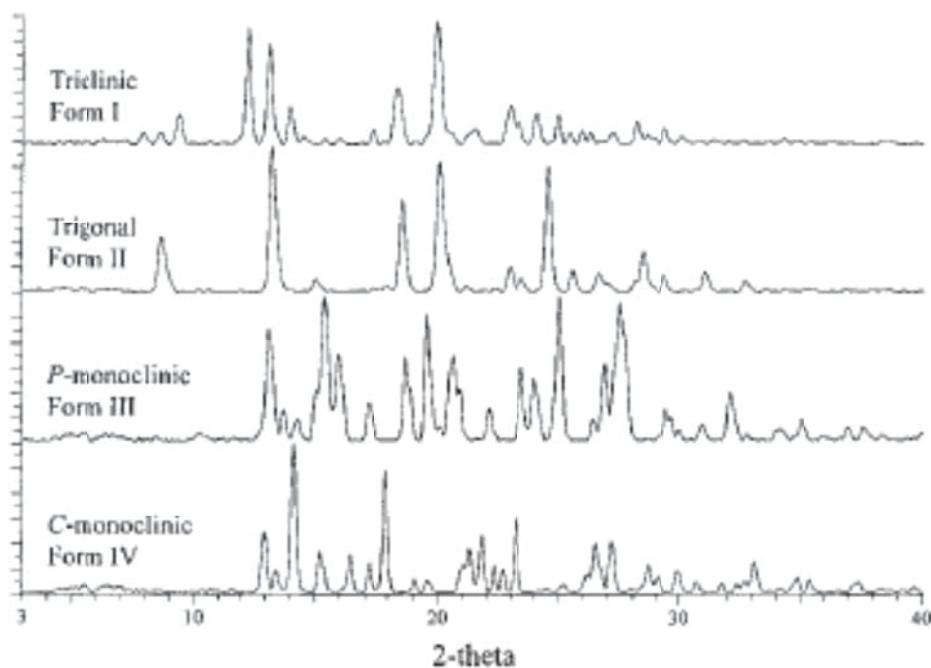


Figure II- 8 : Diffractogrammes RX des polymorphes anhydres de la CBZ. D'après (Grzesiak et al., 2003)

- Analyse thermique

Plusieurs informations concernant les différentes formes de la CBZ sont déduites des thermogrammes ACD (**Figure II- 9**).

- La température de fusion de la forme I est comprise entre 189°C et 193°C.
- La forme II montre une transition solide-solide entre 135°C et 170°C, et la nouvelle phase fond entre 188 et 192°C. La transition solide-solide correspond à une transformation de la forme II en forme I.
- La forme III fond et cristallise dans une nouvelle forme entre 162°C et 180°C. Puis la nouvelle forme fond entre 189°C et 193°C. Là encore, la transition solide-solide correspond à une transformation de la forme III en I.
- La forme IV fond et cristallise partiellement en forme I entre 178°C et 187°C.

	CBZ_(I)	CBZ_(II)	CBZ_(III)	CBZ_(IV)	CBZH
T_{fusion} (°C)	189-193	189-193	174-176	178-187	-
T_{trans} (°C)	-	<140 en CBZ _(I)	166 en CBZ _(I)	-	-
T_{désolv} (°C)	-	-	-	-	80-100
Densité (g/cm³)	1,26-1,27	1,26-1,27	1,34	1,296	1,28
Système cristallin	triclinique	trigonal	P-monoclinique	C-monoclinique	orthorhombique
a (Å)	20,55	35,45	7,54	26,61	19 ,78
b (Å)	5,26	35,45	11,16	6,93	4,94
c (Å)	22,31	5,25	13,91	13,96	28,76
α (°)	87,78	90	90	90	90
β (°)	84,35	90	92 ,86	109 ,70	90
γ (°)	85,17	120	90	90	90

Tableau II- 4 : Données cristallographiques et thermodynamiques de la CBZ et de la CBZH.

D'après (Grzesiak et al., 2003)

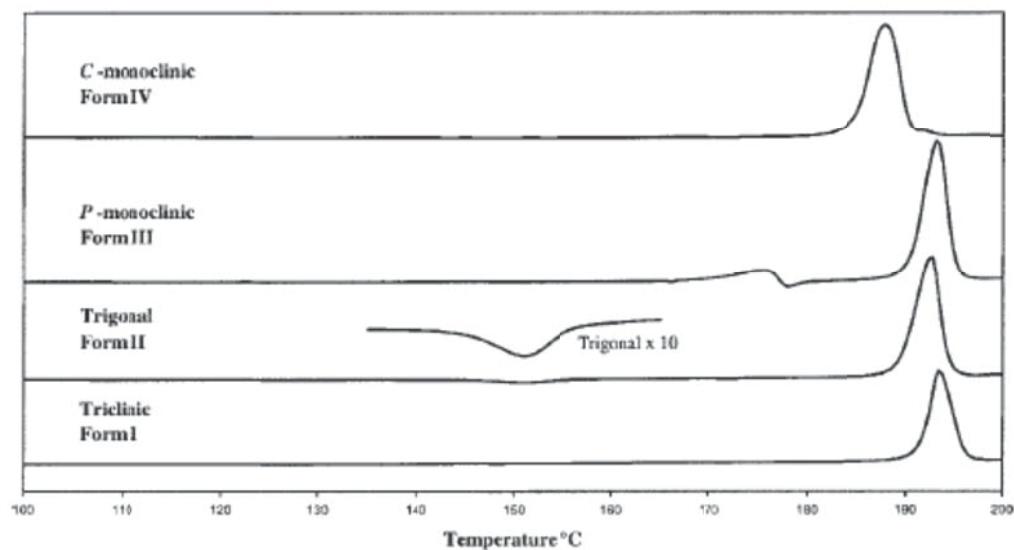


Figure II- 9 : Thermogrammes ACD des polymorphes anhydres de la CBZ à 20°C/min. D'après (Grzesiak et al., 2003)

- Spectroscopie Raman

Le polymorphisme de la carbamazépine peut aussi être étudié via la spectroscopie Raman (Auer et al., 2003, Strachan et al., 2004) de façon qualitative et quantitative. La position des pics renseigne sur le type de structure et l'intensité des pics permet leur quantification. L'exemple donné par Auer (Auer et al., 2003) est la caractérisation de la CBZ dans des comprimés commerciaux (**Figure II- 10**) puis le dosage par intégration des pics. Il apparaît que les pics caractéristiques (1042 cm^{-1} et 723 cm^{-1}) des différentes formes de la CBZ sont légèrement décalés. Cela permet une authentification fiable des polymorphes. Les auteurs ont ainsi montré que le Neurotrop[®] et le Tegretol[®] sont composés de la forme commerciale CBZ_(III) à hauteur de 70% (massique) dans les formulations.

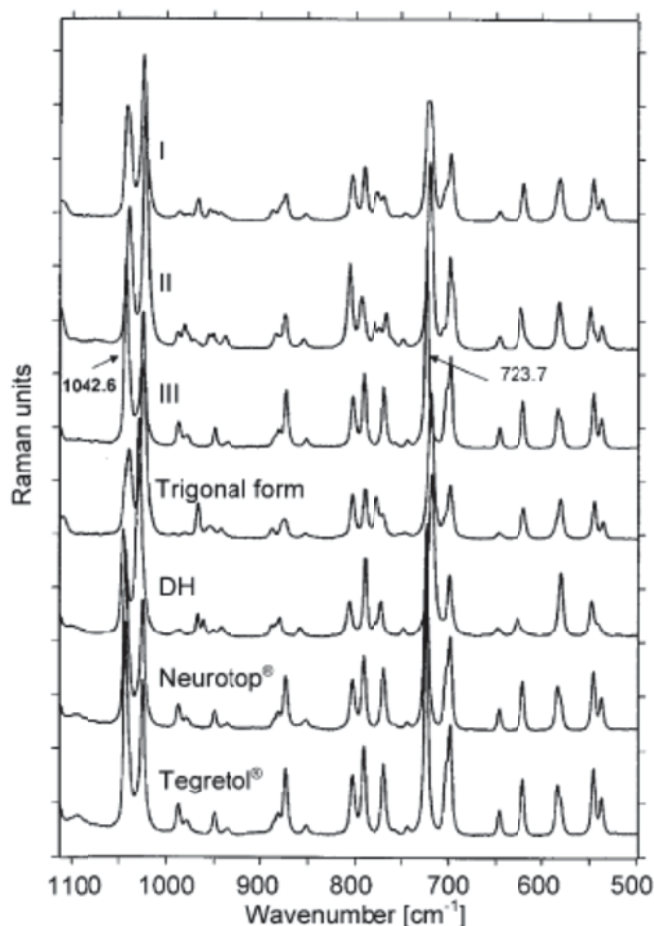


Figure II- 10 : Spectres Raman des polymorphes de la carbamazépine, du Neurotop® et du Tegretol®.

D'après (Auer et *al.*, 2003)

A.2. □ Pseudo polymorphisme de la Carbamazépine

Aux polymorphes anhydres de la CBZ s'ajoutent une forme hydratée et des formes solvatées connues.

- CBZH : la CBZH est la forme hydratée de la carbamazépine. La stœchiométrie associée à cette molécule est de deux molécules d'eau par molécule de CBZ. Cela représente une fraction massique d'eau de 13,2%. La CBZH peut être obtenue par cristallisation dans un mélange eau/éthanol (Qu et *al.*, 2006) ou par suspension dans de l'eau pendant 24h à température ambiante (Kobayashi et *al.*, 2000). Harris et *al.* (2005) discutent le fait que cette forme hydratée représente un système cristallin monoclinique plutôt qu'orthorhombique (Reck et Dietz, 1986). Mais le système cristallin admis à ce jour dans la littérature est ce dernier.

- Deux solvates de la CBZ ont été obtenus par cristallisation dans le dioxane et dans l'acétone (Harris et *al.*, 2005) et caractérisés par RMN du carbone. Cette expérience montre qu'une multitude de dérivés peuvent être trouvés par criblage dans différents solvants.

☐☐☐☐☐☐ *ransitions de phases solides de la Carbamazépine*

- *Transition de la CBZH en broyage et en compression. (D'après Lefebvre et al., 1986)*

Une étude dans la littérature fait état de transition solide-solide de la CBZH en une forme anhydre au cours du processus de compression directe (Lefebvre et *al.*, 1986). Les comprimés ont été fabriqués avec une presse alternative uni-axiale à des pressions comprises en 50 MPa et 100MPa. Au-delà, les comprimés étaient cassants. Les auteurs ne précisent pas si une formulation a été réalisée pour faciliter la fabrication des comprimés.

Paradoxalement, les auteurs n'ont pas observé de transition de la même CBZH après une heure de broyage. Ce résultat est quelque peu contradictoire avec d'autres études (Chan et Doelker, 1985 ; Brittain, 2002 ; Zhang et *al.*, 2004) plus récentes sur d'autres produits. Le retour d'expérience fait apparaître qu'une molécule restant stable après broyage ne se transforme pas pendant le processus de compression. Les résultats de cette étude sont présentés sur les figures suivantes (**Figure II- 11 et Figure II- 12**). Les analyses effectuées par DRX sur les comprimés montrent qu'un pic caractéristique de la forme commerciale CBZ_(III) est présent. Cela est confirmé par une analyse ACD qui prouve que la quantité d'eau liée aux molécules de CBZ dans le comprimé a nettement diminué après compression.

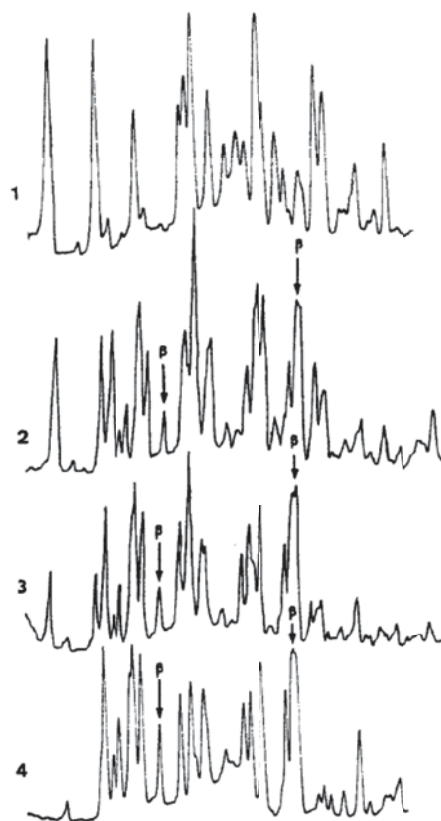


Figure II- 11 : Diffractogrammes RX 1) de la CBZH, 2) de la surface d'un comprimé, 3) du cœur d'un comprimé, 4) de la CBZ_(III). (Lefebvre et *al.*, 1986)

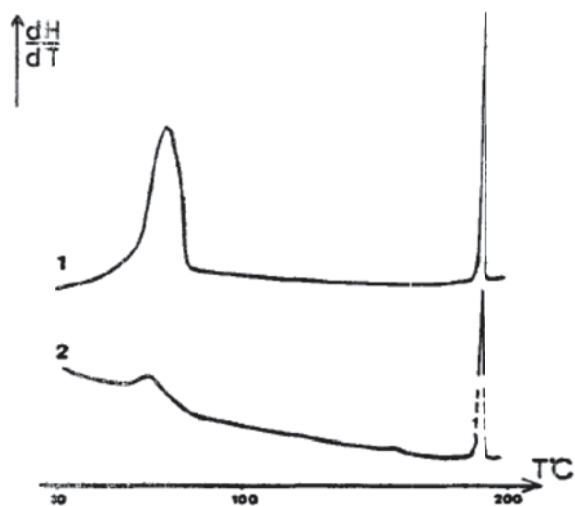


Figure II- 12 : Thermogrammes ACD 1) de la CBZH et 2) d'un morceau de comprimé. (Lefebvre et *al.*, 1986)

✓ *Transition de la CBZ pendant les procédés de granulation. (D'après Otsuka et al., 1999).*

Cette étude met tout d'abord en évidence des transitions des formes anhydres en forme dihydratée pendant le procédé de granulation avec une solution aqueuse. Cette transition croît en fonction de la surface spécifique des particules. L'étape de séchage provoque des transitions de phases de l'hydrate vers les formes anhydres. Ce processus a pour conséquence de modifier la taille des particules et d'influencer la résistance des comprimés fabriqués par la suite. Le résultat du test de dissolution des comprimés obtenus via les différentes formes anhydres montre que la cinétique de dissolution suit l'ordre $IV < I < III < II$. Cette expérience montre l'importance de la forme de départ mais surtout de la surface spécifique des poudres sur les caractéristiques d'usage des produits pharmaceutiques.

✓ *Transition de la $CBZ_{(III)}$ en solution (D'après Murphy et al., 2002)*

La $CBZ_{(III)}$ P-monoclinique se transforme en CBZH en milieu humide. Cela s'est produit dans des comprimés de $CBZ_{(III)}$ stockés à 97% d'humidité relative. Cette transition est également déclenchée en créant une suspension de $CBZ_{(III)}$ dans une solution sursaturée de CBZH à une température pour laquelle la CBZH est la phase stable. On remarque que la vitesse et le contrôle de cette cristallisation dépendent fortement du traitement de la $CBZ_{(III)}$ avant son ajout à la solution. Le broyage de la $CBZ_{(III)}$ en plus petites particules provoque une transition en solution plus rapide en CBZH et modifie l'étape cinétiquement limitante qui est la croissance de la CBZH relativement à la dissolution de la phase anhydre. Le broyage qui provoque également une amorphisation partielle améliore la vitesse de croissance de la CBZH. La raison principale de ces changements est l'augmentation de la surface de contact provoquée par le broyage.

□□□□□ Biodisponibilité de la Carbamazépine

La biodisponibilité de la carbamazépine a fait l'objet d'études concernant ses polymorphes et solvates (Kobayashi et al., 2000). Il apparaît que la vitesse de dissolution et la solubilité de la $CBZ_{(III)}$ sont respectivement plus élevées que celles de la $CBZ_{(I)}$ et de la CBZH à 37°C. La biodisponibilité de ces formes est équivalente pour 40 mg/corps (test effectué sur des chiens). Pour 200 mg/corps, l'aire sous la courbe de dissolution montre que la biodisponibilité est

respectivement la suivante $CBZ_{(I)} > CBZ_{(III)} > CBZH$. Ce résultat est en contradiction avec les solubilités et vitesses de dissolution. Les auteurs l'expliquent par une transformation possible de la $CBZ_{(III)}$ en CBZH avant dissolution.

□□□□□ **réparation de la carbamazépine dihydrate** □C□□□□

A.2.7.1/ Choix du solvant

Pour les applications de compression, il est nécessaire d'obtenir une quantité d'environ 100 g de carbamazépine dihydrate (CBZH). Il est possible de préparer la CBZH par mise en suspension de la $CBZ_{(III)}$ dans une solution aqueuse (Murphy et al., 2002) mais le rendement n'est pas suffisant pour la quantité envisagée.

La CBZH peut également être obtenue par recristallisation dans un mélange eau/éthanol (Qu et al., 2006). La température de transition entre la $CBZ_{(III)}$ et la CBZH dans la solution varie en fonction du ratio entre les deux solvants utilisés (**Tableau II- 5**). La CBZH est plus stable à $T < T_{transition}$, inversement pour la $CBZ_{(III)}$.

Fraction éthanol		Fraction eau		T transition
% molaire	% massique	% molaire	% massique	°C
68,9%	85,0%	31,1%	15,0%	14,3
61,0%	80,0%	39,0%	20,0%	24,7
54,0%	75,0%	46,0%	25,0%	33,1
47,7%	70,0%	52,3%	30,0%	41
35,1%	58,0%	64,9%	42,0%	46,6

Tableau II- 5 : Température de transition $CBZ_{(III)} \rightarrow CBZH$ en fonction de la composition du solvant.

D'après (Qu et al., 2006)

Le choix du ratio eau/éthanol dépend donc de la température de transition à laquelle s'ajoute le critère de solubilité de la $CBZ_{(III)}$ et de la CBZH. La **Figure II- 13** représente la solubilité de la $CBZ_{(III)}$ et de la CBZH par rapport à la fraction d'éthanol et à une température comprise entre 14.9°C et 34.9°C.

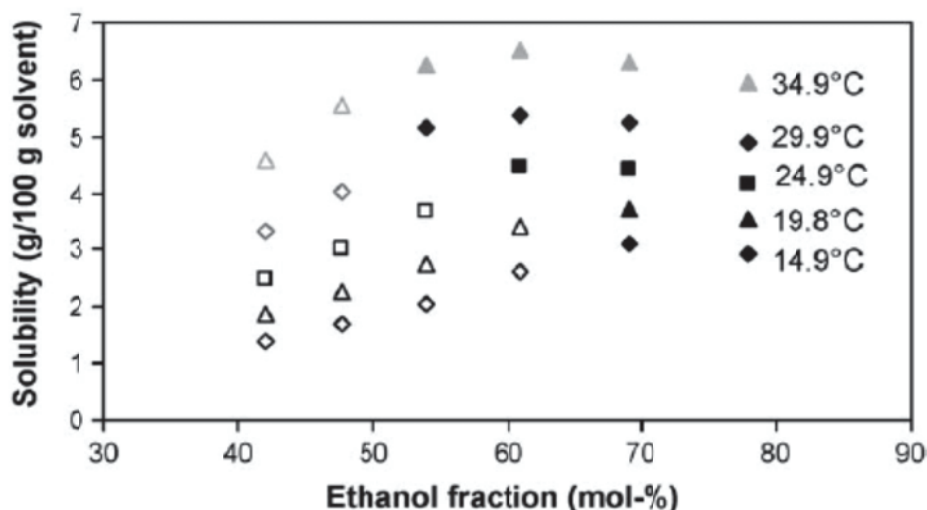


Figure II- 13 : Solubilité de la CBZ anhydre (symboles pleins) et la CBZH (symboles vides) dans des mélanges eau/éthanol à différentes températures. D’après (Qu et *al.*, 2006)

On remarque que la solubilité de la CBZ_(III) passe par un maximum autour de 60% (mol) d’éthanol. A basse température la variation de la solubilité en fonction du solvant est réduite. Le ratio 40% eau / 60% éthanol (mol) semble donc le plus approprié dans notre cas de figure car il optimise la quantité de CBZH cristallisable pour chaque lot (cf. bilan matière en **annexe A-1**).

La concentration de CBZ utilisée dans la solution doit être choisie selon certains critères. La transition de phases s’effectue via la solution au moyen de trois mécanismes qui sont la dissolution de la CBZ, la germination et la croissance de la CBZH. Les molécules de CBZ passent d’un cristal de CBZ à un cristal de CBZH par diffusion dans la solution. La concentration de la CBZ dans la solution doit donc être choisie de façon à ce que la CBZH soit en sursaturation en dessous de la température de transition ($T_{transition}$). Ainsi, la CBZ_(III) cristallisée au-dessus de la $T_{transition}$ change de forme cristalline lorsque la température passe en dessous de $T_{transition}$.

A.2.7.2/ Matériels

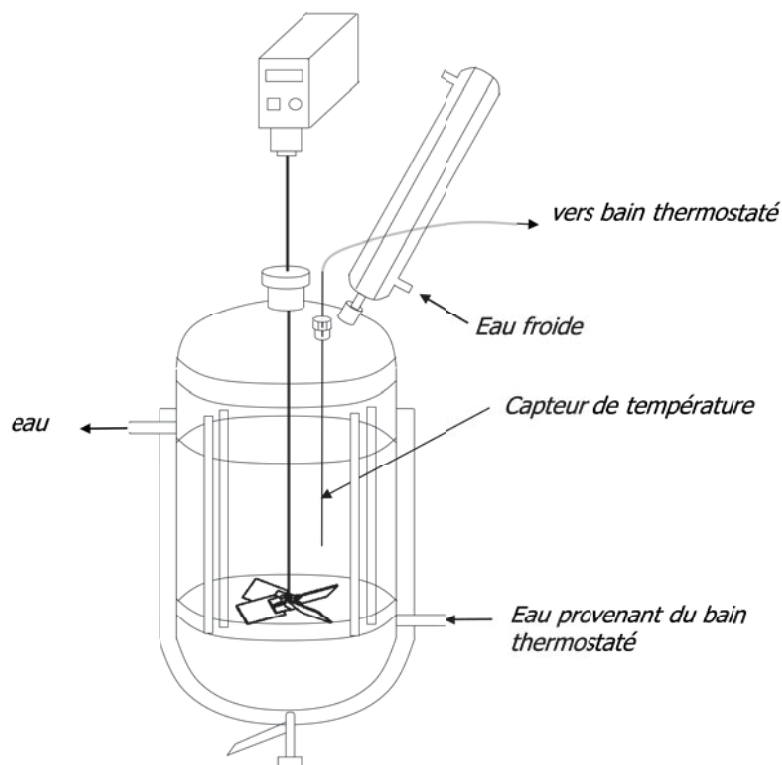


Figure II- 14 : Schéma de principe du montage de cristallisation de la CBZH

La carbamazépine commerciale identifiée comme de la CBZ_(III) par DRX et ACD a été fournie par la société Quimdis (numéro de lot : 0703B/0041).

Le montage expérimental (**Figure II- 14**) est composé d'un réacteur de 2 L à double enveloppe, d'un thermostat à circulation, d'un réfrigérant à eau et d'un système d'agitation comprenant un moteur, un axe et un mobile d'agitation de type turbine à 4 pales inclinées à 45°.

Le système de filtration est un fritté relié à une trompe à eau.

A.2.7.3/ Protocole expérimental et analyses

La CBZ_(III) a été dissoute complètement dans le solvant à 70°C. La température a été maintenue à 70°C pendant 30 minutes après que le dernier cristal de CBZ ait disparu. Le contenu du réacteur a été refroidi à 5°C en 2h. Le milieu a été soutiré après 3h à 5°C et préservé à cette température avec de la glace avant d'être filtré. Le milieu a été filtré sur fritté à température ambiante (20°C). Le gâteau humide a été pesé puis laissé sous une hotte aspirante jusqu'à ce que le produit soit sec (contrôle ATG toutes les 12h jusqu'à stabilisation

de la perte de masse). Le gâteau a ensuite été placé dans une enceinte dont l'humidité relative était de 100% et à température ambiante. La masse de poudre était contrôlée régulièrement et des prélèvements ont été réalisés afin de pratiquer des analyses ATG et DRX du produit. La masse finale de solide sec de CBZH récupérée est d'environ 160 g pour chacun des lots.

✓ Analyses thermiques :

Les thermogrammes de la CBZH ont permis de suivre l'étape de séchage. La CBZH contient environ 13,2% (massique), il est donc possible de la comparer à la teneur en eau de notre produit.

Les profils des thermogrammes ATG se décomposent en trois parties (**Figure II- 15**). Dans un premier temps, on assiste au séchage de la poudre par l'évaporation de solvant résiduel. Ce phénomène se produit pour une température inférieure à 40°C. Il est favorisé par le balayage d'azote dans le four de l'appareil. L'allure du thermogramme pendant cette phase est une droite décroissante.

La déshydratation de la CBZH intervient à la suite du séchage. Le profil du thermogramme est arrondi montrant une cinétique qui s'accélère lorsque la température augmente. La fin de la déshydratation se produit pour tous les thermogrammes à 60°C. Cette température est caractéristique de la vitesse de chauffe que nous avons choisie. Au-dessus 60°C aucun phénomène notable ne se produit avant la dégradation du produit.

Les lots cristallisés étaient considérés comme satisfaisants lorsque la perte de masse due à la déshydratation était comprise entre 13 et 13,2 % et sans perte de masse due au séchage comme dans l'exemple suivant (**Figure II- 16**).

Les thermogrammes de la CBZH utilisée pour la compression sont présentés en **annexe A-2**.

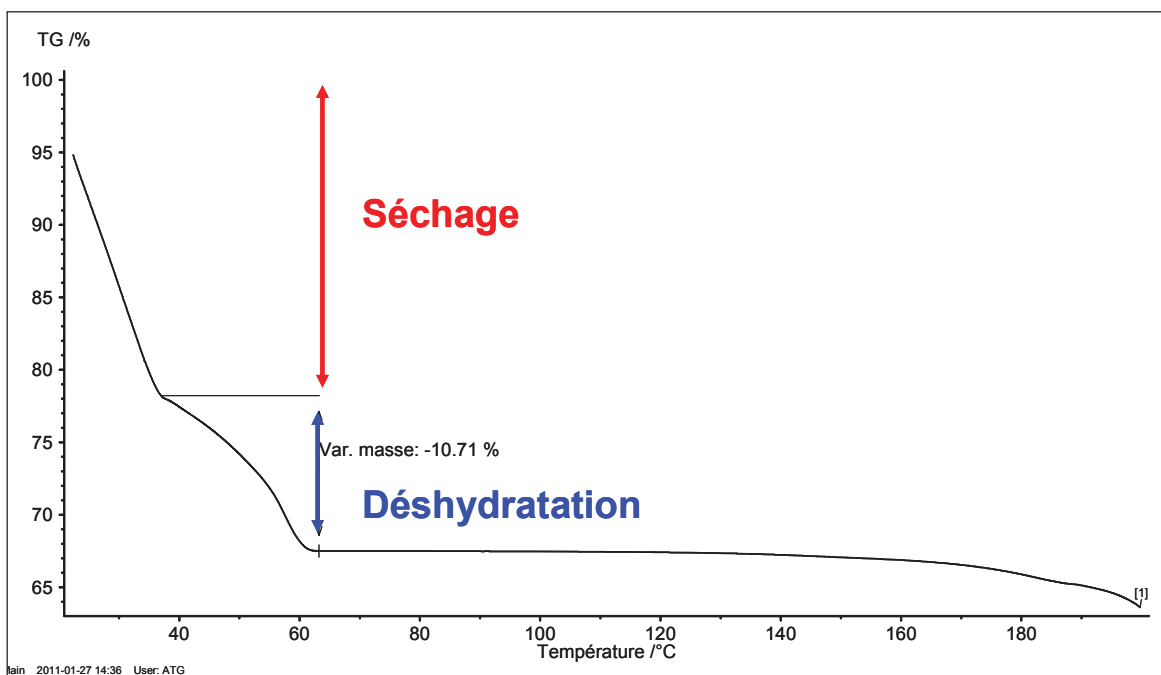


Figure II- 15 : Décomposition d'un thermogramme ATG à 1°C/min de CBZH en cours de séchage

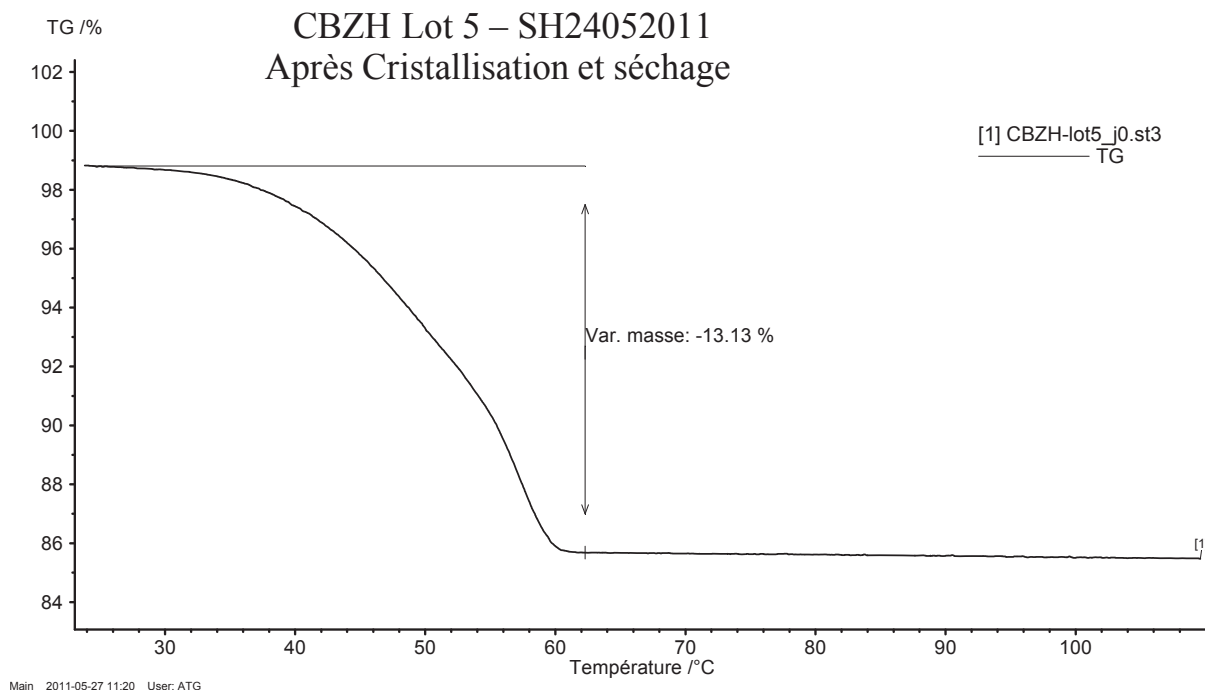


Figure II- 16 : Thermogrammes ATG à 1°C/min d'un échantillon de CBZH sec

✓ Diffraction à rayons X (DRX) sur poudre

L'analyse thermique ne suffit pas à confirmer que le produit cristallisé est de la CBZH. Nous l'avons couplé à la diffraction à rayons X (DRX) sur poudre afin de confirmer la qualité des lots. L'exemple suivant (**Figure II- 17**) représente le diffractogramme RX de la CBZH cristallisée par refroidissement dans le solvant éthanol/eau (courbe rouge). Elle est comparée au diffractogramme de la CBZH obtenue par cristallisation par évaporation dans le même solvant (courbe bleue) et qui a conduit à de longues et fines aiguilles qui est un faciès caractéristique de la CBZH. Le diffractogramme de la CBZ_(III) commerciale (courbe noire) est également représenté.

On remarque que les deux CBZH ont des diffractogrammes similaires avec des intensités différentes. Ce phénomène est dû à la différence de taille entre les monocristaux et les cristaux obtenus sous agitation. On peut en conclure que notre produit est bien de la CBZH. De plus, on ne retrouve pas les pics caractéristiques de la CBZ_(III) ni des autres formes anhydres.

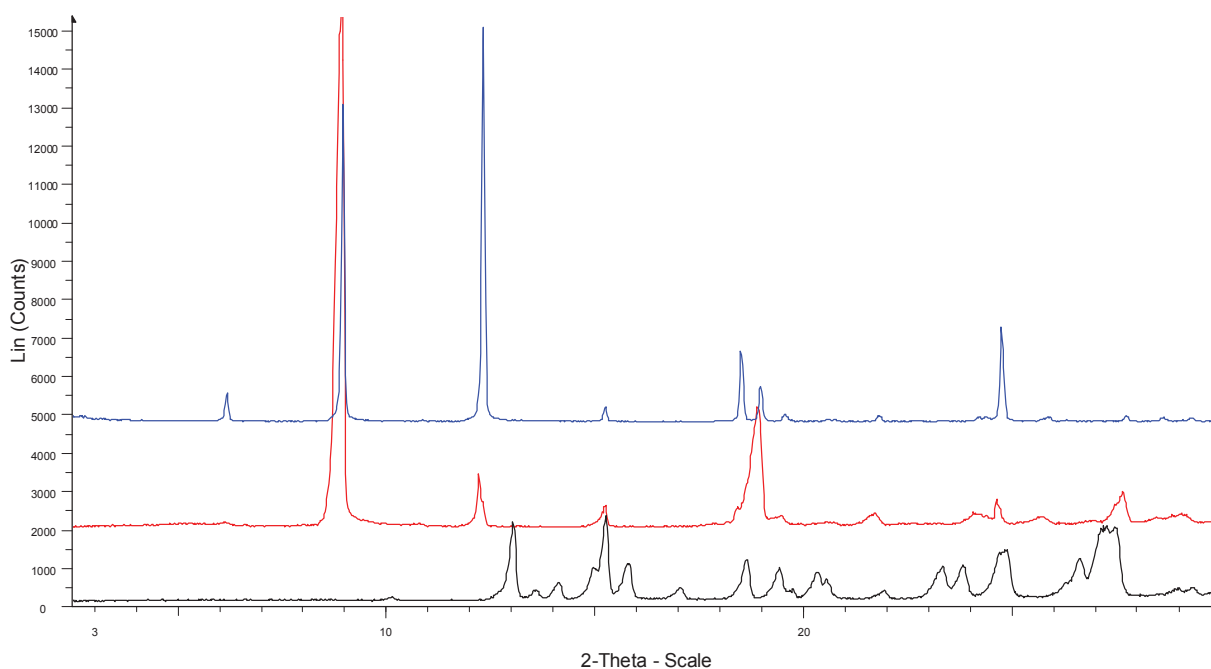


Figure II- 17: Diffractogrammes RX de la CBZH cristallisée dans le mélange eau/éthanol (bleu), de la CBZH cristallisée dans le mélange eau/éthanol (rouge), de la CBZ_(III) commerciale (noir)

A.2.7.4/ Conclusion

Les analyses effectuées identifient le produit fabriqué comme de la CBZH. La méthode choisie pour cristalliser la CBZH est satisfaisante en termes de qualité chimique et physique et de quantité produite. Nous avons conservé ce protocole pour la totalité des expériences menées sur la CBZH.

La CBZH étant métastable dans les conditions atmosphériques, il est nécessaire de prendre des précautions pour la conserver. En règle générale, elle est placée dans une enceinte hermétique où l'humidité relative est portée à 100% à température ambiante. Par conséquent, un nouveau lot a été produit pour chaque essai de compression afin d'éviter d'utiliser une CBZH conservée plus de deux semaines.

A.3/ Les excipients

Dans cette partie, nous présentons les excipients pharmaceutiques qui ont été utilisés au cours du projet de compression. Par conséquent, nous insisterons sur leurs propriétés pour les applications de compression.

A.3.1/ La cellulose micro-cristalline (CMC)

La cellulose micro-cristalline (*Microcrystalline cellulose*) est un excipient pharmaceutique largement utilisé dans le domaine pharmaceutique comme diluant ou liant pour la fabrication de comprimés. Dans ce rôle, sa concentration varie entre 20% et 90% (m) de la formulation totale. Elle peut être utilisée pour la granulation humide ou bien en compression directe en fonction du grade sélectionné. On trouve également la cellulose microcristalline dans les formulations cosmétiques et agroalimentaires.

Au cours de cette étude nous avons utilisé les grades Avicel[®] PH-200 (lot 00075 BO) et Avicel[®] PH-102 (lot 00072 BO) fournis par la société FMC Biopolymer. Ces deux grades sont particulièrement recommandés pour la compression directe qui est le procédé considéré dans notre étude. La principale différence entre ces deux grades est la taille moyenne des particules qui est de 180 µm pour l'Avicel[®] PH-200 et de 100µm pour l'Avicel[®] PH-102.

Les propriétés physico-chimiques de la CMC issues du *Handbook of pharmaceutical excipients* (5th edition) sont répertoriées dans l'**annexe B**.

A.3.2/ Le stéarate de magnésium

Le stéarate de magnésium (Cooper, lot : 02020247/A) est décrit par la pharmacopée européenne comme un mélange de différents acides gras dont principalement l'acide stéarique et l'acide palmitique. Il est largement utilisé dans les formulations de cosmétiques, agro-alimentaires et pharmaceutiques. Commercialement, on le trouve sous forme d'une fine poudre blanche légèrement grasse au touché. On l'emploie comme lubrifiant des comprimés à hauteur de 0,25% à 1% (m) dans les formulations.

Les propriétés physico-chimiques du stéarate de magnésium issues du *Handbook of pharmaceutical excipients* (5th edition) sont répertoriées dans l'**annexe B**.

A.3.3/ Le phosphate de calcium anhydre

Le produit que nous avons utilisé est l'Encompress[®] anhydre (JRS Pharma, N° : 3011) qui est une poudre blanche sans odeur ni goût caractéristique dont l'état final est obtenu par atomisation ou broyage. Cet excipient est très répandu dans les domaines pharmaceutique et agro-alimentaire comme source de calcium et pour ses bonnes propriétés en compression directe et ses propriétés d'écoulement. La forme anhydre est plus sensible au décalottage des comprimés sous forte pression par rapport à la version hydratée mais il offre une alternative pour de mélange pour des produits sensibles à l'humidité. Le phosphate de calcium est abrasif et il risque d'endommager les parties métalliques d'une presse à comprimer. Pour limiter ce phénomène, il est recommandé d'utiliser un lubrifiant comme le stéarate de magnésium à hauteur de 1% (m) dans la formulation.

Les propriétés physico-chimiques du phosphate de calcium anhydre sont répertoriées dans l'**annexe B**.

A.3.4/ La silice colloïdale

La silice colloïdale utilisée dans cette étude est l'Aerosil[®] 200 (Evonik, lot : 00068 BO). Elle a un rôle d'agent d'écoulement dans les formulations de poudres pour compression. Il est recommandé de l'utiliser à hauteur de 0.5% à 1% (m) pour cet usage.

Les propriétés physico-chimiques du stéarate de magnésium sont répertoriées dans l'**annexe B**.

A.4/ Formulations solides pour la compression

A.4.1/ Formulation principale base de caféine forme I

La formulation principale utilisée pour l'étude des transformations de la caféine forme I induites par le procédé de compression est la suivante :

- ✓ Caféine forme I : 60 % (m)
- ✓ CMC Avicel[®] PH-102 : 38 % (m)
- ✓ Stéarate de magnésium : 1 % (m)
- ✓ Silice Aerosil[®] 200 : 1 % (m)

La nécessité d'une formulation s'est avérée dès les premiers essais de compression de la caféine forme I seule. L'écoulement dans la trémie était irrégulier conduisant à de fortes variations de la masse des comprimés.

Les proportions impliquées dans cette formulation sont le résultat de plusieurs considérations. Dans un premier temps, la quantité de caféine forme I devait être suffisante pour garantir une caractérisation précise des transitions de phases. Par conséquent, nous avons opté pour une quantité supérieure à 40 % dans la formulation. Le choix de l'excipient majoritaire (diluant) a été fait en fonction des caractéristiques mécaniques et de la compatibilité du mélange avec la caféine forme I. Le dernier critère était la possibilité de produire des comprimés industriellement sur une large gamme de pressions de compression de 30 MPa à 200 MPa.

Une étude antérieure menée au LAGEP (Bekhouche, 2009) sur différents ratios entre la caféine forme I et l'Avicel[®] PH-102 a montré que la formule que nous avons sélectionnée est la plus adaptée car elle permet d'utiliser une quantité importante de caféine (60%) sur toute la gamme de pression considérée. L'ajout de 1% de stéarate de magnésium permet une bonne lubrification des poinçons. L'emploi de silice colloïdale a été considéré dans la première partie de ce manuscrit mais il a été abandonné par la suite car son efficacité sur la répartition des masses des comprimés s'est avérée limitée. La compatibilité entre la CMC et la caféine forme I du point de vue analytique sera discutée dans le chapitre III.

A.2 / Formulations secondaires Case de caféine forme I

Différents paramètres ont été étudiés au cours de cette thèse. Certains font intervenir des modifications de la formulation principale comme le remplacement de la CMC par un grade différent (Avicel[®] PH-200) ou un autre excipient (lactose, phosphate de calcium). Nous avons également modifié la formulation de caféine en y ajoutant de la forme II. Toutes ces modifications seront précisées dans la chapitre III qui concerne les résultats de l'étude.

A.3/ Formulation Case de C

L'étude des transitions de phase de la CBZH induites par le procédé de compression a conduit au développement d'une formulation pour ce produit. La CBZH est un produit peu dense lorsqu'elle n'est pas tassée à cause de la forme en aiguilles de ses cristaux (densité vrac : 0,265 g.cm⁻³ et densité tassée : 0,34 g.cm⁻³). L'écoulement de la poudre dans la trémie d'alimentation ne s'effectue pas régulièrement et la masse des comprimés serait très inégale si elle était utilisée seule.

Les premiers essais de compression manuelle sur une fraction de carbamazépine dihydrate (CBZH) inférieure à 250 µm montrent qu'elle a acquis une faible cohésion (dureté de 10-15 N). Dans ce cas, il est préférable d'augmenter la profondeur de la matrice pour mettre obtenir une plus grande quantité de produit (i.e., la masse du comprimé est plus grande) et une course allongée du poinçon supérieur pour densifier le lit de poudre.

Le choix s'est porté sur une formulation utilisant 50% (m) de CBZH, 49% (m) d'Encompress[®] anhydre et 1% (m) de stéarate de magnésium. Les essais préalables ont été concluants dans le sens où les comprimés avaient une dureté suffisante (> 30 N) pour qu'ils soient manipulés avec les mains sans les casser et avec des masses répétables (*cf. section III.B.1.2*). Des séries de 20 comprimés à différentes forces de compression ont été fabriquées. Pour chacune d'elles, les masses moyennes et duretés moyennes ont été mesurées selon les méthodes de la pharmacopée européenne §2.09.05 et §2.09.08 (Pharmacopée Européenne, 2011).

B/ Matériels :

Cette partie du chapitre II a pour but de présenter les différentes techniques analytiques et l'instrumentation utilisées dans notre étude. Les méthodes développées au cours de cette thèse seront présentées ensuite dans la **partie C**.

B.1/ Microscopie optique

Les images de microscopie optique publiées dans ce rapport ont été réalisées via un microscope Leica *LDLM* équipé d'objectifs de 5x, 10x, 20x, 50x et 100x.

B.2/ Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Les images de microscopie électronique à balayage ont été réalisées sur un MEB JEOL[®] JCM-5000 Neoscope. Il ne nécessite pas de préparation spécifique des échantillons. Son grossissement peut varier entre 40x et 40 000x.

B.3/ Pycnométrie à Hélium

La pycnométrie à Hélium est une technique analytique permettant de déterminer la masse volumique particulière des poudres. Elle fonctionne sur le principe de la loi de Mariotte pour les gaz parfaits. Un gaz, l'hélium, est introduit dans une cellule de volume connu et contenant une masse donnée d'échantillon (**Figure II- 18**). L'intérêt de l'Hélium est qu'il présente un diamètre moléculaire très fin, il peut ainsi pénétrer dans des pores de très petits diamètres. La pression P_1 est alors mesurée à l'équilibre. La seconde mesure de pression P_2 est effectuée lorsque la vanne d'entrée de la cellule d'expansion (de volume connu) est ouverte.

L'expression du volume de l'échantillon est alors :

$$V_{\text{échantillon}} = V_{\text{chambre}} - \frac{V_{\text{expansion}}}{\left(\frac{P_1}{P_2} - 1\right)} \quad (\text{II. 23})$$

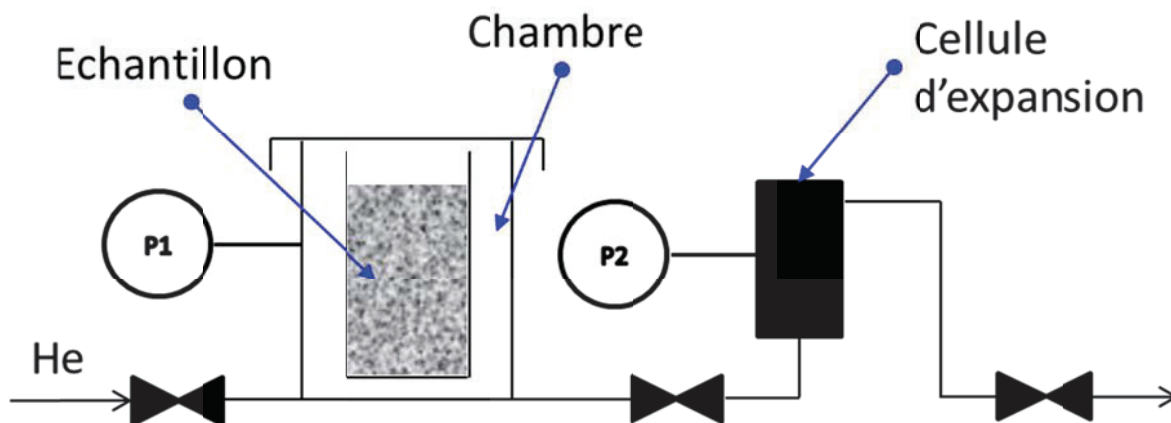


Figure II- 18 : Schéma de principe de fonctionnement d'un pycnomètre à Hélium

Les mesures de pycnométrie effectuées au cours de cette étude ont été réalisées dans les locaux de la société Gattefossée (St-Priest, France).

B.4/ Analyse calorimétrique différentielle (ACD)

L'appareil ACD utilisé pour les mesures calorimétriques était un Q200 de TA instrument (**Figure II- 19**). L'appareil a été calibré en température avec le point de fusion de l'indium (429,78 K) avec un balayage en température de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. La calibration en énergie a été réalisée avec l'enthalpie de fusion de l'indium ($28,45 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$).



Figure II- 19 : DSC TA instrument Q200

Pour l'étude de la caféine, les échantillons étaient balayés par une circulation permanente d'azote à un débit de $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. La vitesse de chauffe était de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pour toutes les analyses et l'intervalle de température était $20^\circ\text{C} - 270^\circ\text{C}$. Des creusets hermétiques en aluminium ont été utilisés pour les mesures sur la caféine seule car elle ne libère pratiquement pas d'eau lors de la chauffe ($< 2\%$ (m)). Pour les analyses faisant intervenir des excipients hygroscopiques comme la cellulose microcristalline, des creusets en aluminium équipés de bouchons percés ont été employés. Cette méthode permet une évaporation de l'eau avant 130°C qui est le début du phénomène de transition II \rightarrow I de la caféine. De plus, il n'y a pas d'augmentation de la pression dans le creuset. Le phénomène de sublimation de la caféine à partir de 90°C ne semble pas non plus perturber nos mesures. L'enthalpie de fusion de la caféine ne varie pas entre un creuset ouvert ou fermé.

Pour l'étude la CBZH, les conditions d'analyses étaient identiques à celles de la caféine avec une rampe de température de 20°C à 230°C à $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Les creusets ont été ouverts car la CBZH libère son eau liée pendant la chauffe.

B.5/ Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'appareil de thermo-gravimétrie utilisée était un ATG TG 209 F1 de NETZSCH (**Figure II- 20**). Cette thermo-balance était équipée d'un passeur d'échantillons piloté informatiquement. Les échantillons ont été placés dans des creusets réutilisables en alumine. Au cours de chaque acquisition, le four était balayé par à un flux continu d'azote de $40 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Tous les thermogrammes représentent la variation relative de masse de l'échantillon en fonction de la température dans le four.



Figure II- 20 : Balance thermo-gravimétrique TG 209 F1 de NETZSCH

Le principe de fonctionnement de cette technique d'analyse est décrit précisément par Broido (1969).

B.6/ Diffraction à rayons X (DRX) sur poudre

Les diffractogrammes sur poudre ont été effectués au centre de diffractométrie Henri Longchambon (Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne). L'appareil utilisé était un diffractomètre BRUCKER D8 ADVANCE® équipé d'un goniomètre à géométrie Bragg-Brentano utilisant le rayonnement $K\alpha$ d'une anticathode de cuivre (de longueur d'onde 1,54 Å) ; l'alimentation du tube est la suivante : 33 kV et 45 mA. Les intensités sont mesurées pour des valeurs de 2θ de 4,5° à 30° avec une vitesse de balayage de 10°.min⁻¹ avec une ouverture de 3° sur PSD (*Position Sensitive Detector*).

Les échantillons ont été étalés sur des supports neutres pour poudre à fond plat. Les diffractogrammes obtenus ont été dépouillés grâce au logiciel DIFFRAC – PLUS®. En outre, ils peuvent être comparés à ceux répertoriés dans la *Cambridge Structural Database* (CSD).

Les comprimés ont été analysés sur des supports neutres dans lesquels les comprimés ont été positionnés de telle façon que la surface du comprimé soit plane par rapport aux bords du support.

B.7/ Micro-tomographie à rayons X

Les expériences menées en micro-tomographie X (appellation utilisée dans la suite du manuscrit) sont le résultat d'une collaboration avec le laboratoire LTDS (UMR 5513) de l'Ecole Centrale de Lyon.

L'analyse des comprimés par micro-tomographie X a été réalisée en une seule acquisition afin d'éviter toute variation d'énergie de la source entre chaque échantillon. Par conséquent, tous les comprimés ont été empilés et séparés par une fine épaisseur d'adhésif (**Figure II- 21**). L'acquisition des données a été réalisée avec un micro-scanner à rayons X Nanotom[®] (*General Electric*, Lyon, France) avec une résolution spatiale (taille des voxels) de 25,96 μm . Les données correspondant à chaque tranche spatiale ont été stockées sur des fichiers images *.tiff*. Les images projetées sur le capteur CCD ont été obtenues pour une source de 80 kV et 130 μA sans filtre. Le pas de rotation utilisé était de 0,2° entre chaque position correspondant à un total de 900 images pour 180°.

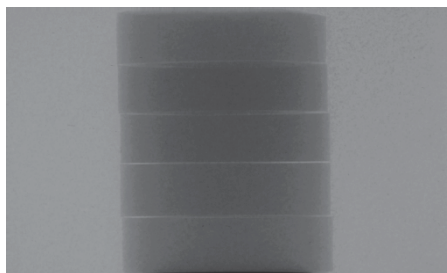


Figure II- 21 : Photographie du montage expérimental de micro-tomographie X

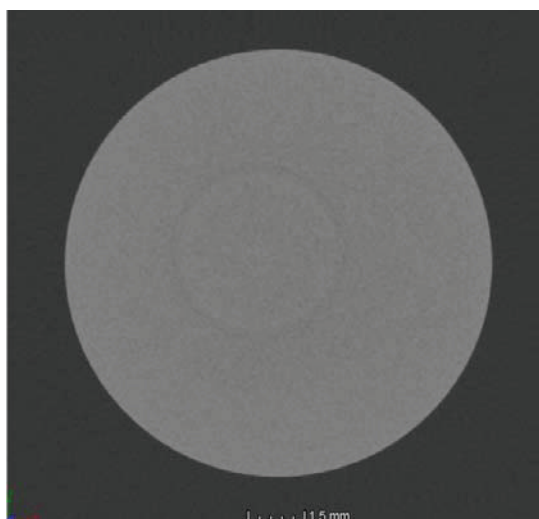


Figure II- 22 : Image en deux dimensions et en niveaux de gris d'une coupe de comprimé obtenues par micro-tomographie X

A partir de cette acquisition, nous avons obtenu une succession d'images en deux dimensions (**Figure II- 22**) correspondant chacune à une tranche de comprimé. Les images étaient composées de pixels exprimés en niveaux de gris allant de 0 (noir) à 255 (blanc). Les plus grandes densités sont exprimées avec les plus grands niveaux de gris.

B.8/ Micro-indentation

Des expérimentations de micro-indentation ont été réalisées au LTDS. Les mesures ont été effectuées à la surface de comprimés. Le principe de cette technique analytique est de mesurer la dureté de Vickers d'un matériau par application d'une pointe ou indenteur sur la surface à analyser à une force donnée. La dureté du matériau est inversement proportionnelle à la trace laissée par l'indenteur sur la surface (**Figure II- 23**).

L'expression de la dureté de Vickers est la suivante :

$$HV = 1.854 \times \frac{m}{d^2} \quad (\text{II. 24})$$

Avec HV : dureté de Vickers (MPa)

m : masse appliquée (kg)

d : taille moyenne des diagonales de la trace d'indentation (mm)

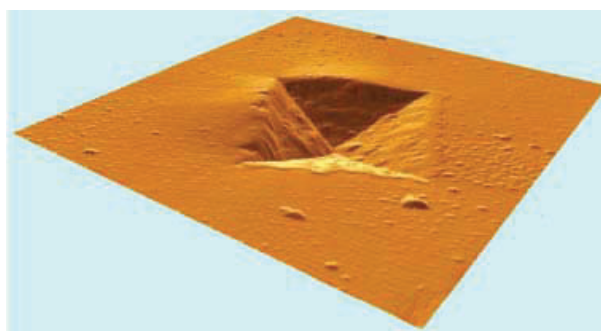


Figure II- 23 : Trace d'indentation sur une surface plane

Dans le cas des comprimés de cette étude, les micro-indentations ont été réalisées avec un appareil BUEHLER *Hardness Testing Machine*. La masse appliquée était de 100 g pendant une durée de 15 secondes qui correspond à une procédure standard. Plusieurs masses ont cependant été testées. Pour des valeurs supérieures à 100 g nous avons constaté une perte de sensibilité sur les mesures effectuées. Le principal objectif était de pouvoir distinguer de petites variations de densité à divers positions de la surface. En dessous de 100 g, les traces d'indentations étaient peu visibles.

Les traces d'indentations ont été mesurées via une analyse de la surface des comprimés par microscopie optique en mode réflexion. Etant donné la forte réflexion des cristaux moléculaires dans les comprimés, la surface devient très brillante et la mesure impossible. Afin d'éviter ce phénomène et pour augmenter le contraste entre la zone indentée et le reste de la surface (**Figure II- 25**), la surface des comprimés a été métallisée par un dispositif de métallisation utilisé pour la microscopie électronique. L'appareil de métallisation était un Baltec MED01 qui dépose une couche Au-Pd par évaporation au canon à électron. Le temps de dépôt pour les échantillons était de 3min. Ces expérimentations ont été réalisées au Centre Technologique des Microstructures de l'Université Lyon 1. Les images observées par microscopie ont été traitée par un opérateur sur le logiciel Image J[®]. L'incertitude relative due à l'opérateur est estimée à environ 5% (mesure répétée 10 fois sur la même image par le même opérateur) de la taille de l'empreinte.

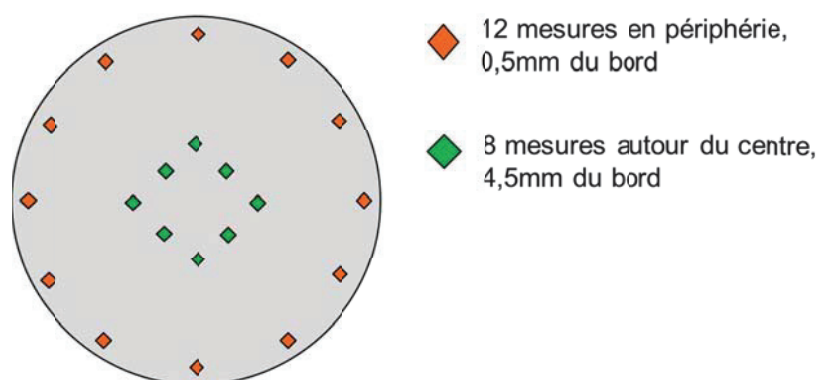


Figure II- 24 : Positions des mesures d'indentation réalisées à la surface des comprimés

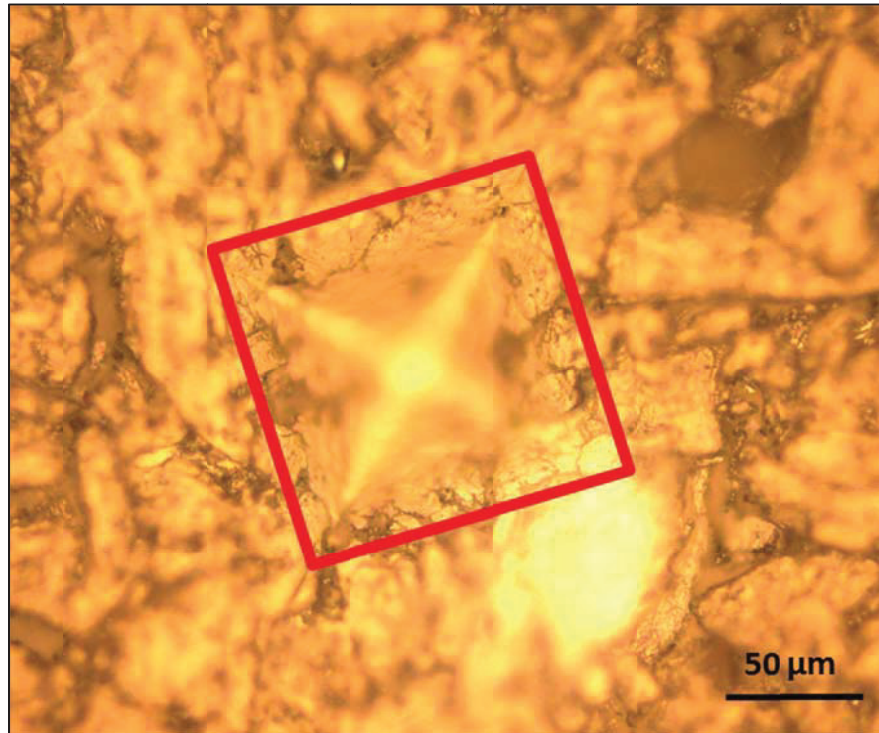


Figure II- 25 : Trace d'indentation sur un comprimé dont la surface a été métallisée post-indentation. Image de microscopie optique, objectif x20.

La procédure d'analyse de la surface d'un comprimé par micro-indentation est représentée sur la **Figure II- 24**. Elle consiste à réaliser deux séries de points d'indentation. La première série se compose de 12 points au niveau de la périphérie de la surface du comprimé. La seconde série de huit points est située autour du centre de la surface. Cette méthode permet d'obtenir une estimation de la dureté en périphérie et au niveau du centre de la surface en moyennant les valeurs obtenues dans chaque série. La précision est ainsi accrue.

B.9/ Spectroscopie Raman

B.9.1/ Spectroscopie Raman à basses fréquences

Ces expériences ont été menées en collaboration avec le laboratoire UMET (UMR 8207) de l'Université Lille 1. Les spectres Raman à basses fréquences présentés dans ce manuscrit ont été enregistrés sur un spectromètre XY DILOR (**Figure II- 26**). Il est constitué d'un système de trois réseaux de $1800 \text{ traits.mm}^{-1}$ qui apporte une bonne dispersion de la lumière et d'une distance focale de 800 mm (**Figure II- 27**). Le triple monochromateur, la distance focale et le choix du réglage des fentes permettent une analyse du domaine des basses fréquences avec une résolution évaluée, dans notre gamme de fréquences, à 2 cm^{-1} , ce qui est nécessaire dans le cadre de notre étude. La source d'excitation utilisée était un laser Argon-Krypton d'une longueur d'onde de 514,5 nm concentré à travers un objectif de microscope $\times 100$.

Un spectre peut être réalisé de deux manières différentes :

En mode additif, on obtient des spectres à haute résolution expérimentale ($0,5 \text{ cm}^{-1}$). Cependant, il présente plusieurs inconvénients :

- L'intensité diffusée est plus faible.
- L'intervalle spectral est réduit à cause de la grande dispersion de la lumière diffusée.
- Et surtout la réjection de la lumière est mauvaise (fente S3 ouverte), ce qui interdit toute expérience à basses fréquences.

En mode soustractif, la fente S1 contrôle principalement la résolution expérimentale (**Figure II- 27**). A la sortie de cette fente, le faisceau diffusé est renvoyé sur le prémonochromateur (constitué d'un système de réseaux G1+G2) par l'intermédiaire du miroir M1, puis sur le spectromètre constitué du réseau G3 et de la fente S3 après avoir traversé la fente S2.



Figure II- 26 : Spectromètre Raman XY Dilor® (UMET, UMR 8207)

Dans le cadre de notre étude, l'accès aux basses fréquences a été une nécessité, ce qui a motivé notre choix du mode soustractif en permanence. De manière à approcher le plus près possible l'excitatrice, en évitant une saturation du signal, les positions du spectromètre et celle du prémonochromateur sont décalées. Ainsi, lors de nos expériences, la gamme spectrale couverte « instantanément » s'étend de 5 cm^{-1} à 600 cm^{-1} . Les réglages effectués pour cette expérience autorisent une résolution spatiale de $5 \mu\text{m}^3$ pour chaque point analysé.

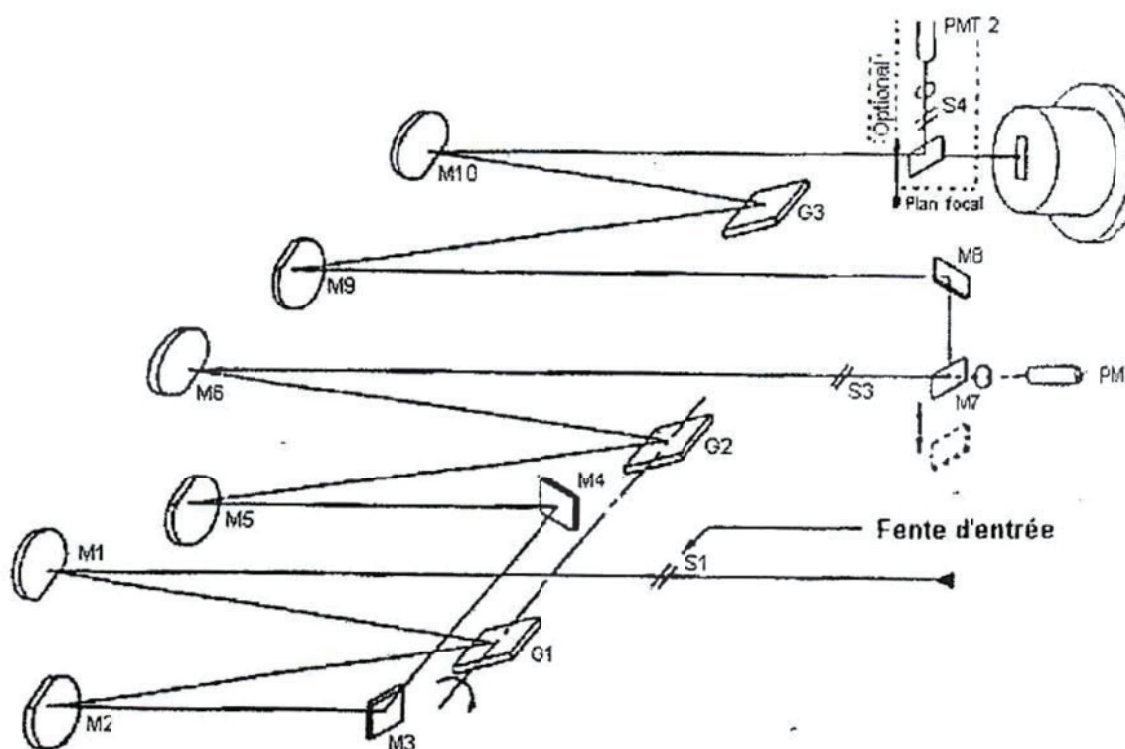


Figure II- 27 : Schéma de principe du spectromètre Raman XY Dilor à triple réseau fonctionnant en mode soustractif. D'après (Hédoux, UMET, UMR 8207)

2/ Spectroscopie Raman à hautes fréquences

Ces expériences ont été menées en collaboration avec le laboratoire LPCML (UMR 5620) de l'Université Lyon 1. Dans cette étude, on utilise le spectromètre représentée par la **Figure II- 28** et une source laser (de type lumière rouge dans la région visible du spectre) HeNe (Hélium/Néon), source continue d'une puissance de 50mW, dont la longueur d'onde est à 632,8 nm. L'objectif du microscope utilisé est un Olympus® ×50 LMP (avec la taille du spot estimée à 1,5 μm). La taille du trou confocal choisie est de 100 μm et le centre de la fenêtre d'analyse est 1327 cm⁻¹. Le réseau utilisé comporte 1800 traits.mm⁻¹. Un capteur CCD placé après le réseau de diffraction permet l'enregistrement des données qui sont envoyées vers l'ordinateur central. D'autre part, la source de lumière est disjointe et reliée au microscope par une fibre optique. Le logiciel permettant de traiter les données est LabSpec®.

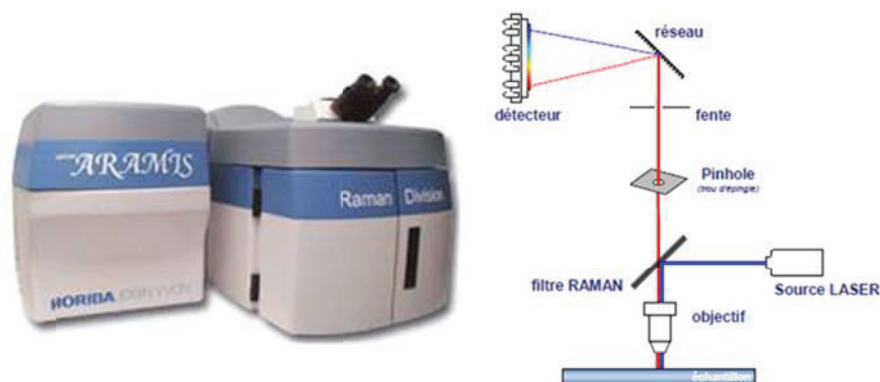


Figure II- 28 : Spectromètre Raman (Horiba Jobin Yvon® – LabRAM ARAMIS) et son schéma de principe

Il est très important d'étalonner l'appareil avant d'analyser les échantillons. Le spectre du Silicium est enregistré afin de trouver son pic caractéristique autour à 521 cm^{-1} . Si la position de ce pic n'est pas celle attendue alors l'appareil est étalonné jusqu'à ce que la position soit exacte.

La préparation de la mesure avant l'analyse de l'échantillon se déroule de la façon suivante. L'échantillon est placé sur une lame et déposé sur une plateforme mobile dans les trois directions (x,y,z). La plateforme est pilotable par un joystick à déplacement micrométrique. La zone de mesure est sélectionnée manuellement par un déplacement selon x et y. La mise au point est réalisée selon l'axe z sous une lumière blanche avec l'objectif de grossissement désiré.

Plusieurs paramètres opératoires doivent être fixés avant l'acquisition des données de l'échantillon. La durée d'acquisition et le nombre de répétitions sont décidés en fonction du signal. L'objectif est de maximiser le rapport signal/bruit sans dépasser la saturation du capteur CCD qui est de 64000 coups. Le temps d'acquisition est augmenté lorsque le rapport signal sur bruit est insuffisant. Si cette opération n'est pas suffisante alors on augmente également le nombre de répétitions. Dans ce cas, le logiciel calcule un spectre moyen.

C/ Méthodes développées pour la caractérisation et la quantification de la caféine :

C.1/ Quantification des formes de caféine par ACD

C.1.1/ Présentation de la méthode

L'analyse calorimétrique permet de mesurer l'énergie impliquée pour les transitions de phases solides. Dans le cas de la caféine, la transition endothermique de la forme I en forme II est mesurable par ACD car elle présente une cinétique rapide (quelques minutes) lorsque la température dépasse la température de transition. Afin de vérifier si une quantification des deux formes est possible par ACD, il convient donc de mesurer l'enthalpie de transition d'échantillons composés des deux formes de la caféine. Nous pourrions ainsi conclure sur le type de relation qui relie la proportion des polymorphes de la caféine et l'enthalpie de la transition associée.

C.1.2/ Vérification expérimentale de la méthode

✓ Enthalpie et température de transition

Dans un premier temps, la méthode consiste à déterminer l'enthalpie de transition de la forme II en forme I $\Delta_{trans}H_m$ à partir d'un échantillon de forme II commerciale préalablement chauffé à 90°C pendant 1h. La mesure et le calcul sont effectués via le logiciel *TA analysis* qui détermine l'énergie mise en jeu (flux thermique) lors de la transition et qui l'intègre en fonction du temps.

L'enthalpie de transition $\Delta_{trans}H_m$ est de 19,78 J.g⁻¹ (**Figure II- 29**) soit 3,85 kJ.mol⁻¹ et la température de transition de 145°C environ. Ces données sont en accord avec celles trouvées dans la littérature (**Tableau II- 2**). La qualité du lot utilisé de forme I pour cette expérience a également été vérifiée par ACD (**Figure II- 4**). Aucun pic n'est observable autour de 145°C, cela prouve qu'il n'y a pas de transition de phase entre forme II et forme I.

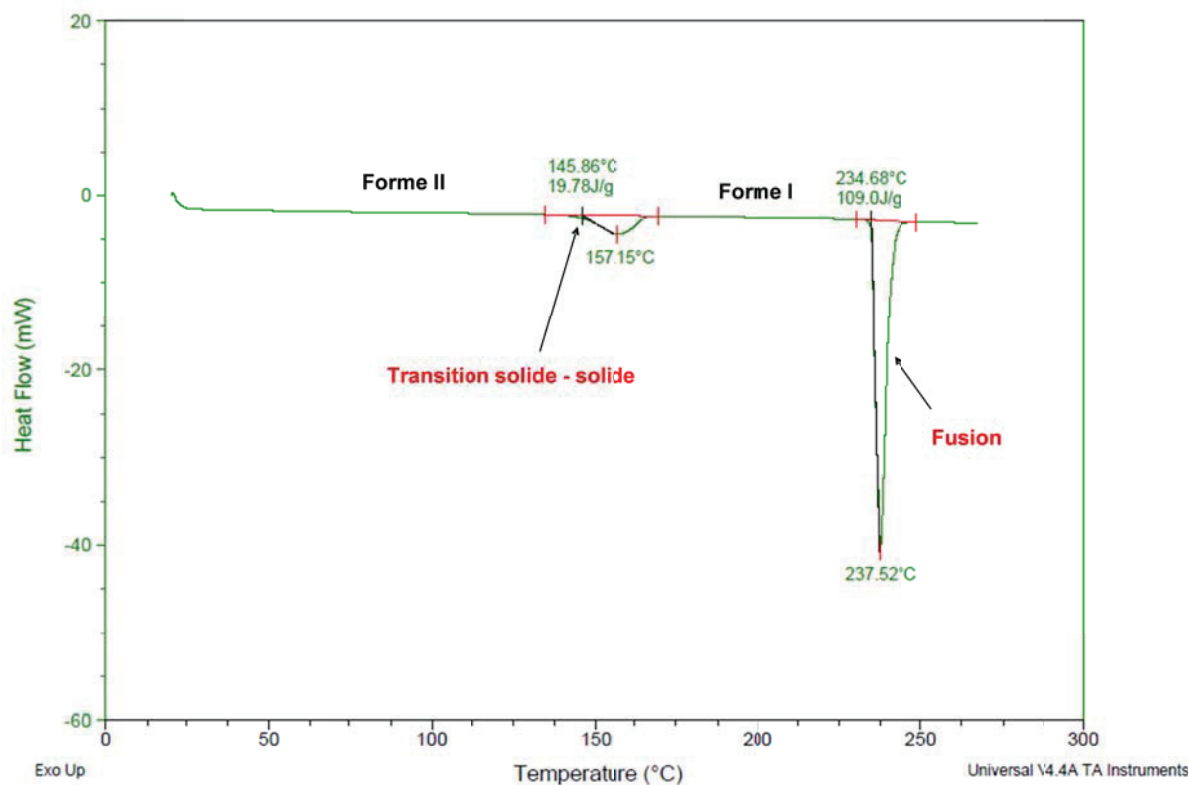


Figure II- 29 : Thermogramme ACD de la caféine forme II en poudre. Rampe de 10°C.min⁻¹ entre 20°C et 270°C

✓ *Présentation de la méthode de quantification des formes de caféine sans excipient*

Muller et Griesser (2003) ont établi une corrélation entre la quantité de caféine forme II dans un échantillon et l'enthalpie de transition de la forme II en forme I.

$$\% \text{ de caféine II} = \frac{\Delta_{trans}H_m (II \rightarrow I)}{\Delta_{trans}H_m (II \rightarrow I) \text{ de forme II pure}} \cdot 100 \quad (II.25)$$

où $\Delta_{trans}H_m$ est l'enthalpie de transition de l'échantillon.

La validation de cette méthode de quantification a été effectuée sur des échantillons de poudre contenant des masses connues des formes I et II de caféine. Les ratios forme I / forme II étaient de 0 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 % et 100 %. Un échantillon a été passé pour chaque ratio dans les mêmes conditions opératoires. Chaque mélange contenait un total de 2,5 g de caféine et les masses des échantillons pour l'analyse ACD étaient d'environ 8 mg. Les poudres ont été préalablement mélangées dans les flacons.

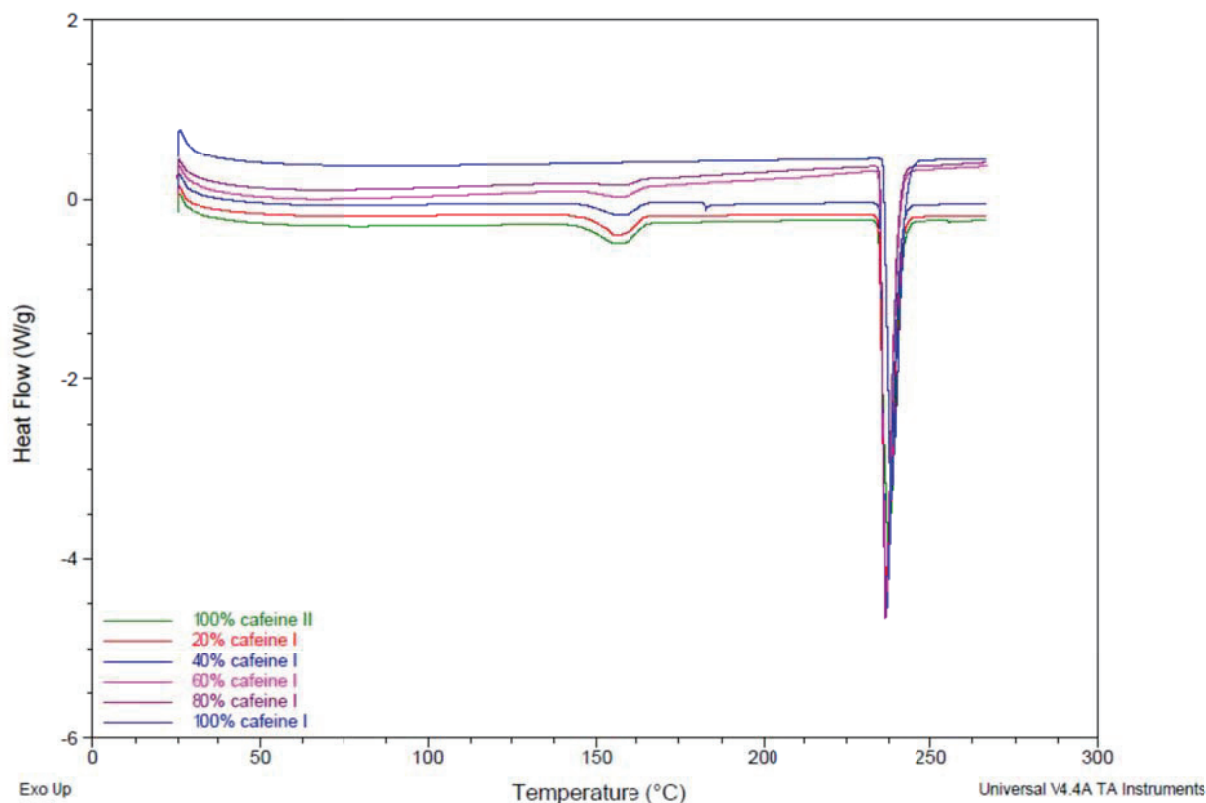


Figure II- 30 : Thermogrammes ACD à 10°C/min des échantillons contenant 0%, 20%, 40%, 60%, 80% et 100% de Forme I de caféine

La superposition des thermogrammes (**Figure II- 30**) montre une augmentation de la taille du pic de transition à 145°C correspondant à une fraction de plus en plus importante de forme II.

Les ratios calculés entre les deux formes (**Tableau II- 6**) pour chaque mesure sont très proches de ceux des échantillons préparés. La différence qui réside entre les valeurs théoriques et expérimentales s'explique principalement par l'incertitude sur le mélange des poudres avant de les passer en ACD. De plus, aucune répétition n'a été effectuée pour cette série car cette expérience étudiait seulement la faisabilité de la quantification de la caféine.

Les températures de transition et de fusion sont sensiblement identiques pour chaque échantillon et de l'ordre de 146°C pour la température de transition et de 234°C pour la température de fusion.

Echantillon	masse échantillon (mg)	Intégrale du pic de transition (J/g)	T transition (°C)	Intégrale du pic de fusion (J/g)	T fusion (°C)	% forme I calculé
Forme II pure	7,9	16,92	145,3	93,28	234,4	0,0%
20% forme I	7,66	13,99	145,2	98,2	234,3	17,3%
40% forme I	8,37	10	146	97,8	234,8	40,9%
60% forme I	8,88	6,97	147,2	97,8	234,9	58,8%
80% forme I	7,62	3,72	145,7	98,2	234,9	78,0%
forme I pure	7,9	-	-	91,4	234,8	100,0%

Tableau II- 6: Validation de la méthode quantification des polymorphes I et II de la caféine par ACD

✓ Validation de la méthode de quantification de la caféine dans des comprimés

La méthode décrite semble effectivement applicable pour une poudre ne contenant que ces deux formes polymorphiques. Les comprimés sont généralement formulés et ils contiennent des excipients de différentes natures en plus du principe actif. Pour la valider intégralement, la méthode de quantification par ACD doit donc être appliquée avec les excipients de la formule et dans les mêmes proportions.

Les comprimés sont fabriqués avec 60 %m de caféine forme I et le complément est constitué d'excipients. La dilution provoquée par l'ajout d'excipients doit être prise en compte dans le calcul du taux de transition de la forme I. Dans un premier temps, la quantité totale de caféine dans l'échantillon a été déterminée d'après l'intensité du pic de fusion de la forme I, $\Delta H_{fus} (507,9K) = 109 \text{ J.g}^{-1}$. La fraction exacte de caféine dans l'échantillon est donnée par :

$$\% \text{ de caféine anhydre} = \frac{\Delta_{fus} H_{(I)} \text{ de l'échantillon}}{\Delta_{fus} H_{(I)} \text{ de la forme I pure}} \cdot 100 \quad (\text{II.26})$$

où $\Delta_{fus} H_{(I)} \text{ de l'échantillon}$ est l'intégrale du pic de fusion de l'échantillon.

La quantité relative de forme II dans l'échantillon correspond au taux de transition de la caféine forme I en forme II. L'expression du taux de transition τ après compression est définie comme il suit :

$$\tau = \frac{m_{\text{caféine II}}}{m_{\text{caféine totale}}} = \frac{m_{\text{caféine II}}}{m_{\text{caféine I}} + m_{\text{caféine II}}} \quad (\text{II.27})$$

Où m est la masse des formes correspondantes à l'indice dans l'échantillon.

En combinant les relations (4) et (5) on en déduit l'expression finale du taux de transition :

$$\tau = \frac{\Delta_{\text{trans}} H_m (II \rightarrow I)}{\Delta_{\text{trans}} H_m (II \rightarrow I) \text{ de la forme II pure}} \cdot \frac{\Delta_{\text{fus}} H_{(I)} \text{ de la forme I pure}}{\Delta_{\text{fus}} H_{(I)} \text{ de l'échantillon}} \quad (\text{II.28})$$

Afin de valider expérimentalement l'expression (II.6), un test a été mis au point. Des mélanges de poudre de 1g correspondant aux proportions entre caféine et excipients ont été préparés. Chacun de ces mélanges contenait un ratio connu de caféine forme I et forme II de telle sorte que l'on puisse retrouver ces ratios par ACD. Les ratios choisis étaient, 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% de forme II par rapport à la forme I. La quantité d'excipient n'a pas variée pendant le test (40 % (m)). Deux échantillons ont été prélevés pour chaque mélange correspondant à un ratio et analysés par ACD (**Figure II- 31**). Les résultats présentés correspondent aux quantités pesées à l'incertitude près sur la préparation des échantillons. La correspondance entre le ratio pesé et mesuré par ACD est satisfaisante avec un écart relatif moyen de 1,5%. Cette méthode est validée pour la suite des expériences sur la caféine.

Remarque : On note que l'étalonnage n'a pas été réalisé avec des comprimés mais de la poudre non comprimée. La raison de ce choix est que la quantité des formes I et II de la caféine ne peut pas être maîtrisée dans les comprimés. La forme I risque de se transformer et de fausser les estimations.

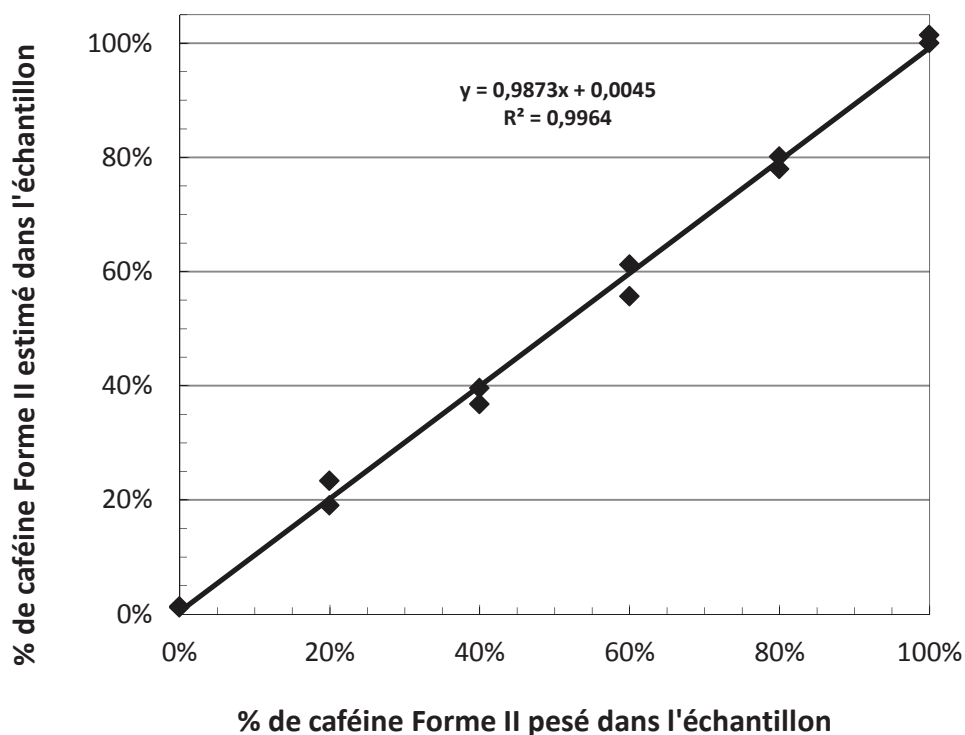


Figure II- 31 : Droite de validation de la méthode de quantification par ACD de la caféine formes I et II dans la formulation

C.2/ Caractérisation du procédé de compression

C.2.1/ Fabrication et caractérisation des comprimés

Tous les comprimés utilisés dans cette étude ont été fabriqués selon la même méthode. Dans un premier temps les excipients et le principe actif ont été mélangés et homogénéisés manuellement dans un mortier ou à l'aide d'un mélangeur Turbula[®]. Le volume de la matrice de compression a été réglé manuellement en fonction de la masse désirée du comprimé. Les comprimés ont été fabriqués par une presse alternative uni-axiale instrumentée Korsch[®] équipée de poinçons plats (**Figure II- 32**). L'instrumentation comprend les mesures des forces au niveau des deux poinçons et le déplacement du poinçon supérieur. Le poinçon inférieur n'est pas équipé d'un capteur de déplacement. Afin d'effectuer une modélisation de Heckel sur la compression du mélange, nous considérons que le mouvement du poinçon inférieur est mineur devant celui du poinçon supérieur pour une presse alternative uni-axiale.



Figure II- 32 : Presse alternative uni-axiale instrumentée Korsch®

Les différentes pressions de compression ont été obtenues en modifiant la course du poinçon supérieur. Des séries d'environ 20 comprimés ont été fabriquées pour chaque lot. Les masses, forces à la rupture, épaisseurs et diamètres des comprimés ont été mesurés juste après la compression dans chaque cas selon les méthodes de la Pharmacopée Européenne §2.09.05 (Pharmacopée Européenne, 2011).

C.2.2/ Traitement des données de compression

En couplant la mesure de la force exercée par le poinçon supérieur et le déplacement de celui-ci, on obtient le cycle de compression de la poudre (**Figure II- 33**).

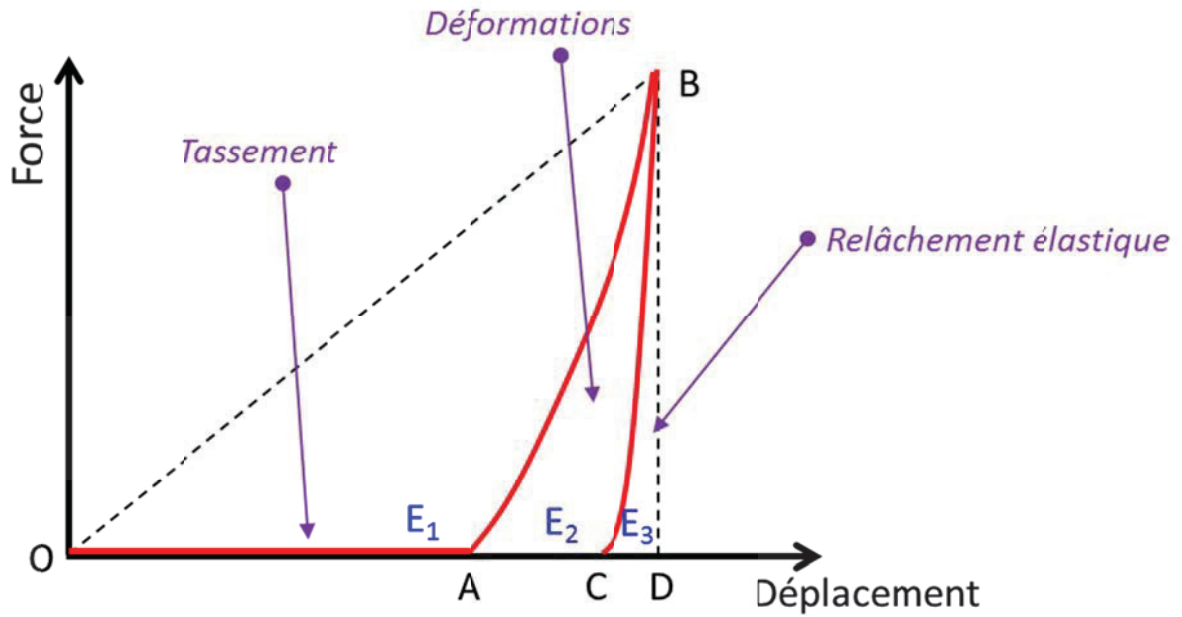


Figure II- 33 : Exemple de cycle de compression

Le cycle de compression permet d'étudier la fabrication du comprimé et les énergies mises en jeu pour chaque étape.

- La première zone OA est relative au tassement du lit. L'énergie E_1 impliquée dans cette étape est faible mais une mauvaise évacuation de l'air peut causer des problèmes de décalottage par la suite.

- La seconde zone AB représente les déformations plastiques, élastiques et fragmentaires du lit pendant la compression. C'est pendant cette phase que la poudre acquiert sa cohésion. L'intégration de l'aire sous la courbe indique l'énergie de déformation E_2 transmise à la poudre. L'idéal serait une concavité nulle, équivalent à une droite. L'écart avec la droite théorique AB représente les pertes énergétiques dues aux frottements entre particules, aux frictions avec la matrice et aux réarrangements.

- La compression se termine au point B. La courbe BC qui suit correspond au relâchement élastique du comprimé lors de la décompression. L'énergie E_3 impliquée dans cette phase doit être minimale pour éviter un décalottage ou une fragilisation du comprimé. La droite BD représente le cas où aucun relâchement élastique ne se produit.

Dans ce travail, nous nous attardons sur la caractérisation de la compression pour plusieurs raisons. Premièrement, les transformations qui se produisent en compression sont souvent imprédictibles car de nombreux paramètres sont inconnus. Nous proposons donc de relier l'étude des transformations à celle de la compression. En effet, ces deux phénomènes sont liés

(Morris et *al.*, 2001) mais nous ignorons encore comment. De plus, les études réalisées précédemment sur différents principes actifs n'apportent que peu de précisions quant aux conditions de fabrication des comprimés. Il en résulte des différences de taux de transformations non expliqués et pouvant être liés à la compression (Chan et Doelker, 1985 ; Manduva et *al.*, 2008).

C.3/ Méthodes de traitement des spectres Raman et cartographies

L'objectif de cette partie est de mettre en place les bases du traitement mathématique des spectres Raman des polymorphes de la caféine dans le domaine des basses et hautes fréquences. Dans ces domaines de fréquences, la problématique posée est d'exploiter les spectres obtenus afin de quantifier les polymorphes de la caféine. Nous avons examiné dans un premier temps le domaine des basses fréquences car les différences spectrales entre les deux formes de la caféine permettent une quantification (Hédoux et *al.*, 2011a). En comparaison avec cette méthode et dans un souci d'automatisation des cartographies sur des appareils plus conventionnels, nous avons développé une seconde méthodologie de cartographie Raman dans le domaine des hautes fréquences. Cependant, ces deux méthodes ont un point commun, elles sont basées sur des rapports d'aires des pics.

C.3.1/ Traitement des spectres basses fréquences

Les polymorphes anhydres forme I et forme II de la caféine ont été étudiés précédemment dans le domaine des basses et hautes fréquences (de 10 cm^{-1} à 1800 cm^{-1}) (Hédoux et *al.*, 2011a). Au-delà de 100 cm^{-1} les spectres des formes I et II sont très similaires (**Figure II- 36**) car les deux formes cristallines présentent le même type de désordre orientationnel (Hédoux et *al.*, 2011b ; Moura Ramos et *al.*, 2006). C'est dans le domaine des basses fréquences ($< 100\text{ cm}^{-1}$) qu'il est possible de différencier avec plus de certitude les formes I et II de la caféine. La forme II se distingue par un double pic qui apparaît comme la séparation du pic principal de la forme I (**Figure II- 34**). Un spectre issu de l'analyse d'un comprimé fabriqué à 70 MPa a également été représenté sur la même figure. On remarque qu'il est constitué des composantes des formes I et II. Cette allure de spectre est caractéristique de tous les spectres obtenus sur les comprimés. Par conséquent, nous avons défini un taux de transition ρ de la caféine forme I induit par la compression.

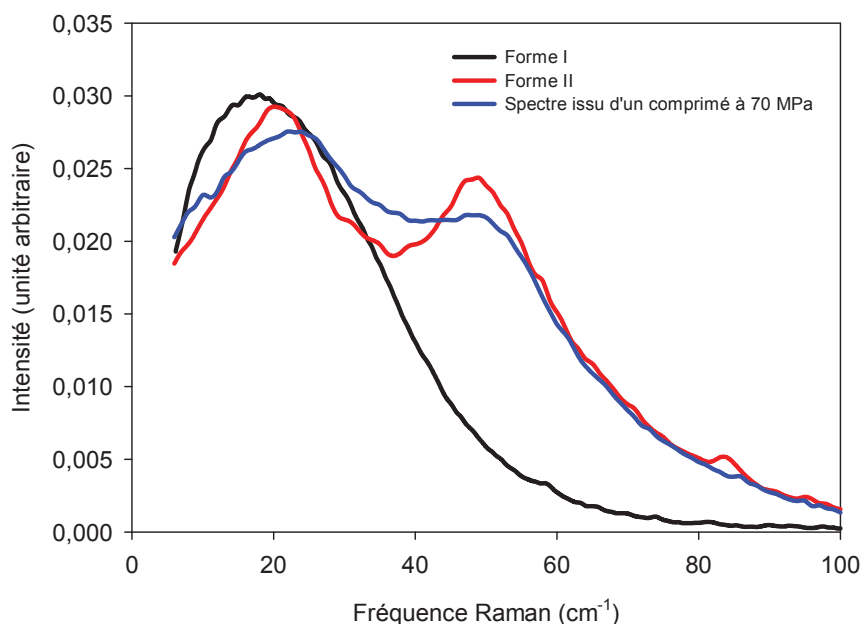


Figure II- 34 : Spectres Raman à basses fréquences des cafèines forme I et forme II et d'une zone d'un comprimé fabriqué à 70 MPa.

Chaque spectre enregistré au cours de la procédure de cartographie a été analysé séparément des autres. Cette méthodologie est longue car l'appareil n'est pas pourvu d'un logiciel de traitement automatique des spectres.

Le traitement des spectres s'est effectué selon une méthode décrite dans des travaux précédents issus du laboratoire UMET, en collaboration avec cette étude, (Hédoux et *al.* 2001, 2009, 2011b) et qui consiste à déterminer la fraction volumique transformée par intégration des spectres. Il a été montré pour la caféine que l'intensité normalisée de la forme II en croissance provoque une augmentation de l'épaulement situé entre 30 et 75cm⁻¹. L'intensité relative du spectre a ensuite été corrélée au degré de transition ρ de la caféine. Le degré de transition ρ de la forme I en forme II a été déterminé par intégration entre 32 et 76cm⁻¹ de l'épaulement caractéristique de la forme II selon la relation suivante :

$$\rho(i) = \frac{\int_{32\text{cm}^{-1}}^{76\text{cm}^{-1}} I_r(i) - I_r(I)}{\int_{32\text{cm}^{-1}}^{76\text{cm}^{-1}} I_r(II) - I_r(I)} \quad (\text{II.29})$$

avec $I_r(i)$, $I_r(I)$ and $I_r(II)$ les intensités respectives du spectre i , de la forme I et de la forme II.

C.2/ Cartographies à basses fréquences

Les données Raman utilisées pour la cartographie des comprimés ont été acquises sur des surfaces de 60 μm (Axe-X) x 165 μm (Axe-Y) avec des pas de 10 μm en X et de 15 μm en Y (**Figure II- 35**). Le choix de cette zone a été guidé par la présence de caféine à cet endroit. Des zones riches en caféine ont par conséquent été analysées systématiquement. Chaque cartographie Raman en deux dimensions est donc composée de 66 spectres analysés séparément par traitement manuel. La soustraction de la ligne de base et la normalisation des spectres ont été accomplies sur le logiciel Peakfit[®]. Les cartographies en deux dimensions ont ensuite été dessinées sur le logiciel SigmaPlot[®].

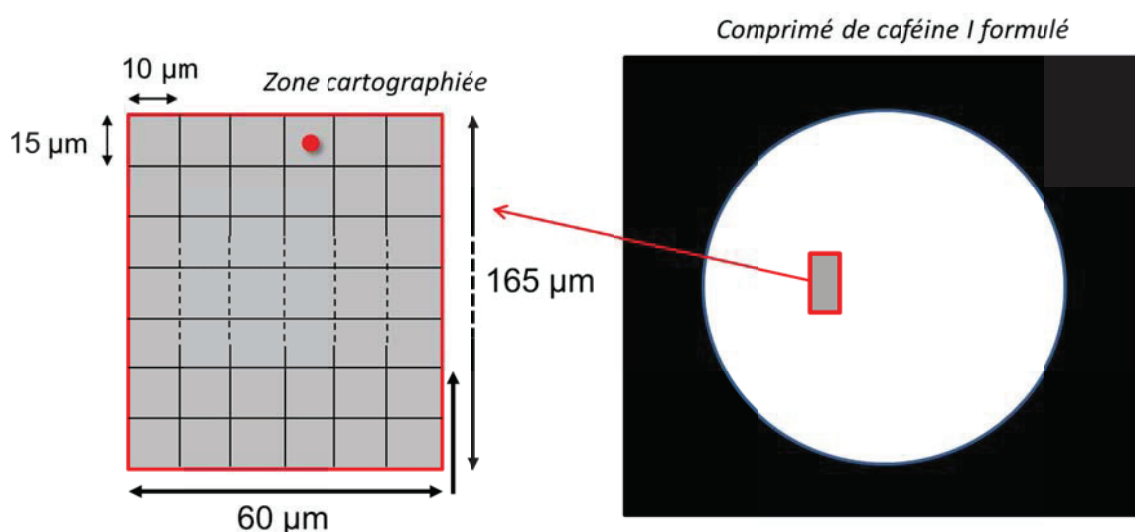


Figure II- 35 : Schéma de principe de la cartographie Raman à basses fréquences

C.3/ Observations à hautes fréquences

L'observation des spectres Raman hautes fréquences de la caféine forme I et de la caféine forme II montre une forte similarité entre les deux formes (**Figure II- 36**). Deux pics de hautes intensités l'un vers 555 cm^{-1} et l'autre vers 1328 cm^{-1} sont identifiables. Ils sont respectivement caractéristiques de la déformation de la liaison OCN et de l'étirement de la liaison CN.

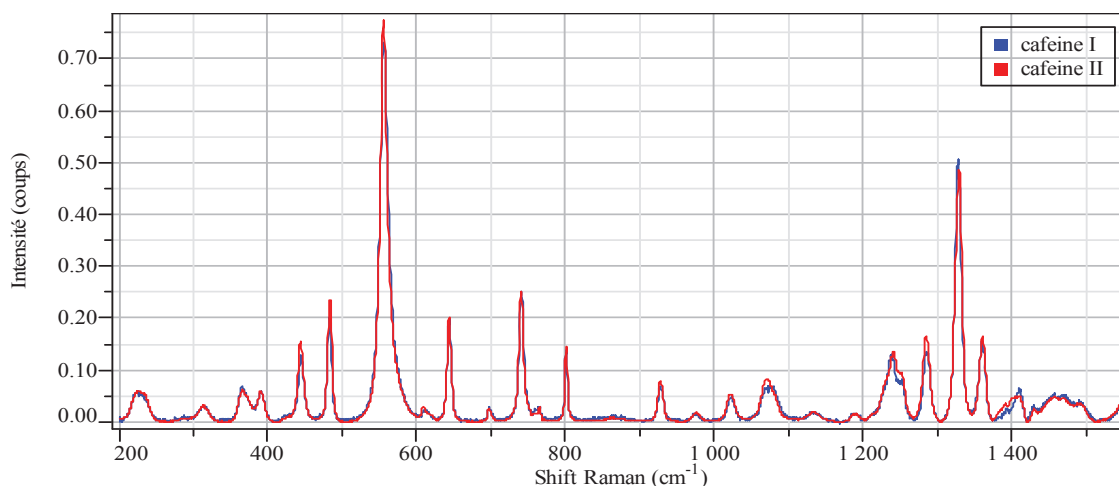


Figure II- 36 Spectres Raman de la caféine forme I (bleu) et forme II (rouge) entre 200cm⁻¹ à 1550 cm⁻¹

Après correction de la ligne de base et normalisation des spectres, on constate que le pic situé vers 1328 cm⁻¹ (Figure II- 37) se décale en fonction de la forme polymorphique présente. Ce décalage est d'environ 1,5 cm⁻¹, ce qui offre une possibilité de distinguer ces deux polymorphes.

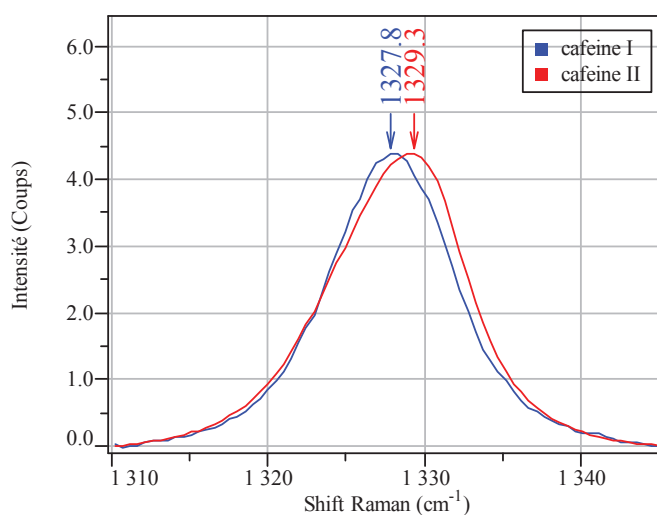


Figure II- 37: Spectres Raman de la caféine forme I (bleu) et forme II (rouge) entre 1310cm⁻¹ à 1345 cm⁻¹

C. Impact du laser sur la transition de phases

Il faut en premier lieu vérifier que l'exposition au laser n'a pas d'impact significatif sur la transition de phases.

Premièrement, nous avons vérifié que les spectres d'absorption dans le domaine du visible des poudres de caféine, de cellulose et d'un comprimé de caféine forme I sont de faible intensité (Figure II- 38).

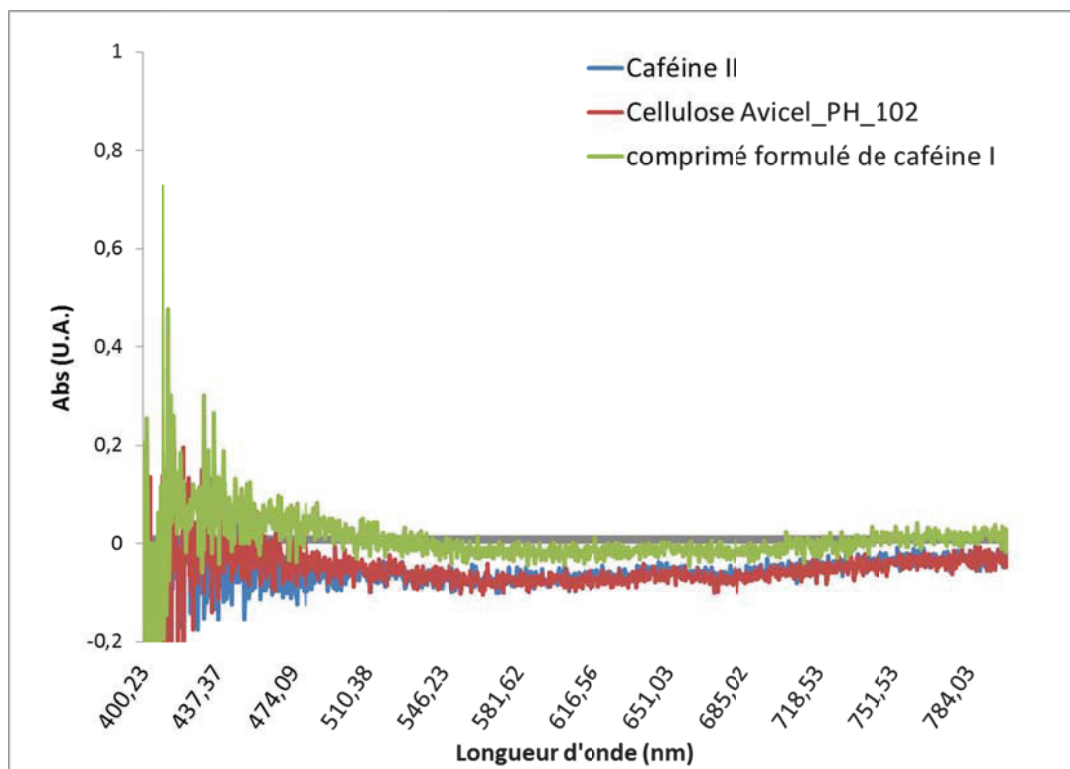


Figure II- 38 : Spectres d’absorption dans le visible de la caféine forme II, de la cellulose microcristalline et d’un comprimé de caféine forme I.

La caféine absorbe peu à 632,8 nm, le comprimé ne devrait donc pas s’échauffer durant le temps d’acquisition d’un spectre qui est de 2 minutes. Pour valider cette hypothèse, une étude d’impact à une durée d’exposition prolongée a été réalisée (**Figure II- 39**).

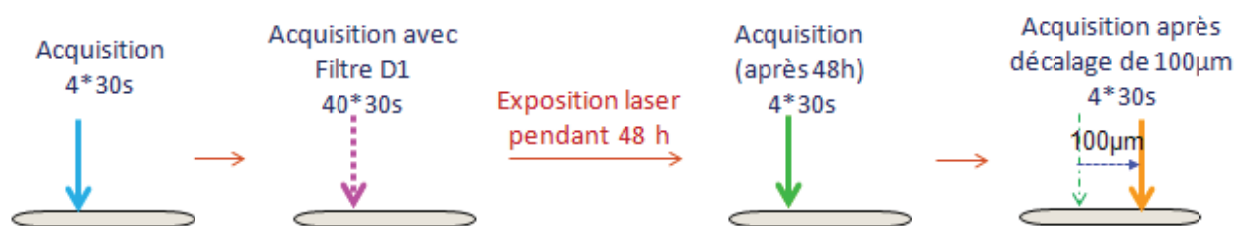


Figure II- 39 : Schéma d’opération de l’étude cinétique de la caféine forme I sous forme d’aiguilles

Afin de limiter l’échauffement, deux spectres ont été réalisés 5 heures après la fin de la préparation de la caféine : l’un avec la puissance totale du laser durant 4x30s et l’autre avec un filtre optique D1 qui ne laisse passer que 10% de la puissance du laser durant 40x30 sec. Dans ce cas les spectres auront le même rapport signal sur bruit, ayant reçu le même nombre

de photons. Les spectres collectés, représentés sur la **Figure II- 40**, ne présentent pas de différence malgré un échauffement supposé différent.

L'étude après exposition au laser pendant 48 heures de la caféine forme I montre un léger décalage vers la caféine forme II. De plus, une exposition au laser a été réalisée dans une zone décalée de 100 μm n'ayant pas été exposée. Les spectres sur les deux zones sont identiques (**Figure II- 40**). Les écarts observés d'environ $0,4 \text{ cm}^{-1}$ après 48 heures ne sont donc pas dû à l'effet des photons mais à la lente cinétique de transformation de la forme I en forme II. Rappelons que l'écart du nombre d'onde entre les deux formes polymorphiques est d'environ $1,5 \text{ cm}^{-1}$. En comparaison avec la caféine forme II, les deux derniers spectres montrent une très légère transformation de la forme I.

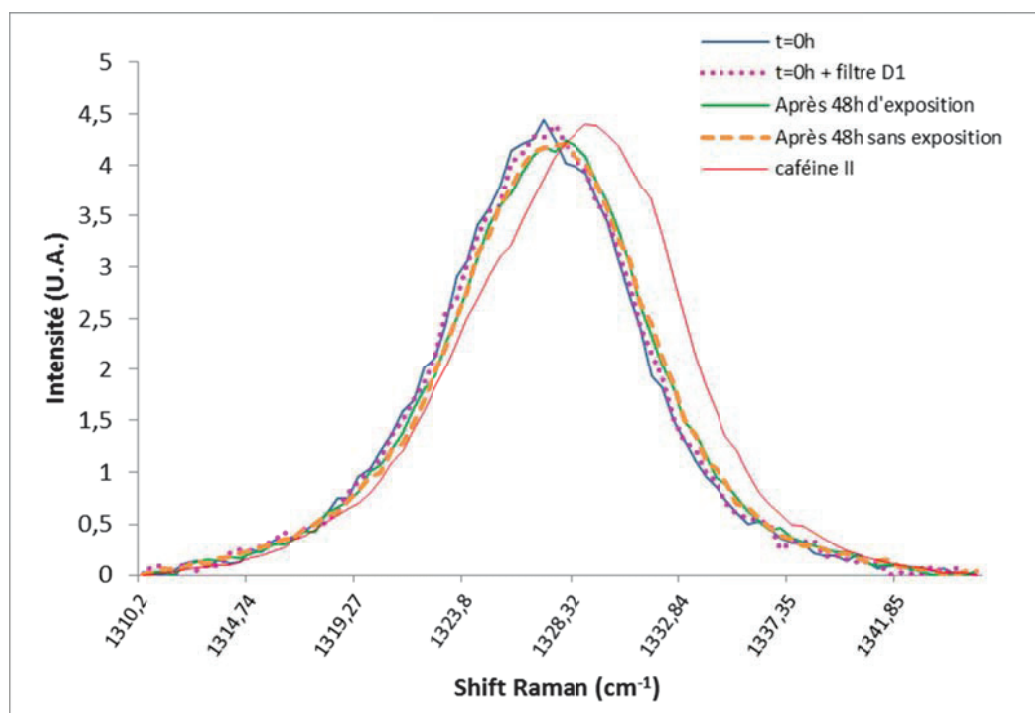


Figure II- 40 : Spectres Raman de la caféine forme I après différentes expositions à la source laser et de la caféine forme II comme référence

C.3.5/ Cartographies Raman à hautes fréquences

C.3.5.1/ Traitement des spectres de caféine

Différencier et, si possible, quantifier les deux formes anhydres de la caféine nécessite de choisir une méthode de traitement mathématique des spectres.

La forme dissymétrique du pic que nous considérons pour la caféine donne l'impression qu'il contient deux composantes car aucune fonction symétrique ne peut le représenter correctement. Par conséquent, le pic a été décomposé après chaque acquisition en deux composantes que nous nommerons $p1$ et $p2$ dans la suite du manuscrit. Les fonctions utilisées dans ce processus peuvent être gaussienne, lorentzienne ou gauss-lorentzienne. Ceci est le point de départ de notre étude.

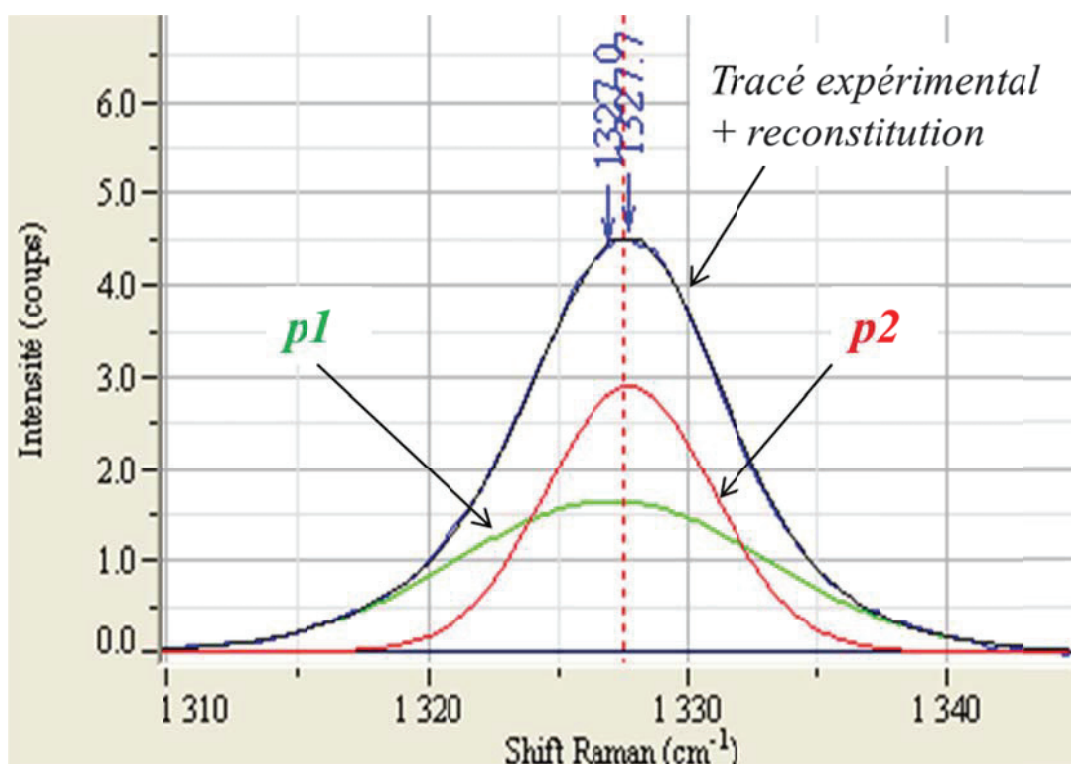


Figure II- 41 : Spectre Raman d'un échantillon de caféine forme I (bleu), des deux composantes gaussiennes $p1$ (vert) et $p2$ (rouge) et de la somme des composantes (noir).

La déconvolution des spectres de la caféine réalisée avec chaque fonction montre qu'il est possible de reconstituer le tracé expérimental par la somme de deux composantes (cf. superposition des tracés en **Figure II- 41**). L'emploi des fonctions lorentziennes n'est pas satisfaisant. Seules les fonctions gaussiennes et gauss-lorentziennes sont conservées par la suite.

Il est à noter que les composantes $p1$ et $p2$ ne représentent pas respectivement la forme I et la forme II. On les retrouve toutes les deux lorsque les spectres des formes pures sont décomposées. Cependant, leurs intensités et leurs positions changent avec le ratio forme I / II.

Pour ces raisons, des cartographies ont été réalisées avec ces deux fonctions afin d'évaluer leur résolution.

C.3.5.2/ Critères de différenciation des polymorphes

Deux critères ont été analysés pour juger de la qualité de la différenciation des deux formes à partir des composantes $p1$ et $p2$: La position de $p2$ et le rapport d'aires entre $p1$ et $p2$. L'évaluation des critères a été réalisée en deux étapes. Il a été choisi de ne présenter que les situations les plus pertinentes.

✓ Préparation des comprimés de référence

Deux comprimés nommés respectivement $Cp1$ et $Cp2$ ont été fabriqués et analysés. Ils ne contiennent que de la caféine. Ils servent de référence à l'étude car leur composition est connue à la différence des comprimés fabriqués à l'aide de la machine à comprimer.

Ces comprimés ont été fabriqués manuellement à l'aide d'une pastilleuse pour système infra-rouge (**Figure II- 42**). L'objectif est d'appliquer une force suffisante pour obtenir un comprimé mais avec un processus très lent qui permet de ne pas engendrer de transformation de la caféine forme I. La force appliquée par la presse est de 1,5 tonne US correspondant à une pression de 101 MPa.



Figure II- 42 : (a) Matrice de compression « Evacuable Pellet Press » , (b) Presse hydraulique « Crush IR »

La **Figure II- 43** représente un schéma de fabrication d'un comprimé $Cp1$ contenant deux parties distinctes. La matrice est compartimentée, ce qui permet d'avoir une seule forme polymorphique dans chaque partie. Ce type de comprimé permet d'étudier la répartition spatiale de la caféine en comparant les cartographies de chaque partie.

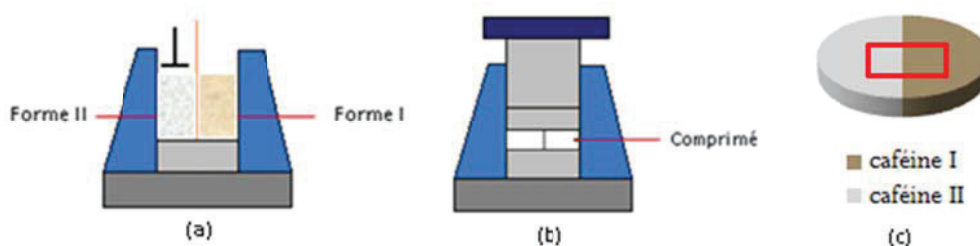


Figure II- 43 : Processus de fabrication d'un comprimé à deux parties distinctes : (a) Remplissage de la matrice compartimentée, (b) compression des poudres séparées, (c) comprimé comprenant deux zones distinctes. La zone cartographiée est représentée par le rectangle.

Le second comprimé $Cp2$ utilisé est constitué d'un mélange caféine forme I et forme II (ratio 50/50) dont les poudres ont été préalablement mélangées avant la compression. Le processus de compression est identique à celui du comprimé précédent sans compartiment de séparation dans la matrice. La zone cartographiée pour les comprimés $Cp1$ et $Cp2$ est représentée en **Figure II- 43.c**.

- *Position de la composante $p2$*

Pour les deux fonctions de déconvolution retenues, on constate que les deux composantes ont un comportement similaire mais non identique en termes de position (i.e. shift Raman) entre les deux formes polymorphiques (**Figure II- 44**). On remarque que, pour la forme I et la forme II de la caféine, la position de la composante $p1$ est stable. En revanche la composante $p2$ varie de plusieurs cm^{-1} entre les deux formes pures. La position de cette composante $p2$ a ainsi été évaluée pour l'application de cartographie.

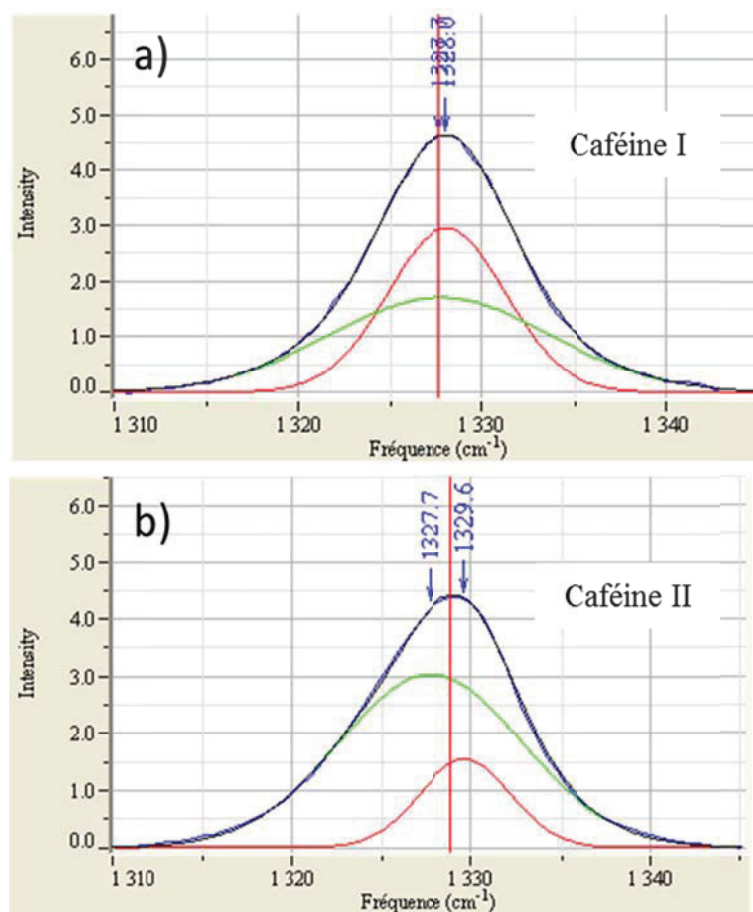


Figure II- 44 : Déconvolution du pic principal (a) de la caféine forme I et (b) de la caféine forme II par des fonctions gaussiennes. (bleu : mesure ; noir : reconstitution ; vert : p_1 ; rouge : p_2)

Sur les comprimés $Cp1$ et $Cp2$, la valeur de la position de composante p_2 en cm^{-1} a été représentée suite au traitement des spectres des cartographies réalisées (Figure II- 48). La position de p_2 est donc affichée selon un code couleur pour chaque couple de coordonnées spatiales (x,y).

Pour le comprimé $Cp1$, on constate que la frontière entre les deux formes est nettement visible. La qualité de l'image semble meilleure en utilisant des fonctions gaussiennes pour déconvoluer le pic.

L'analyse du $Cp2$ montre une similarité entre les deux images (gaussiennes et gauss-lorentziennes). Cependant les ratios entre caféine forme I et caféine forme II sont différents ; le ratio est de 42/58 pour la fonction gaussienne et 38/62 pour la fonction gauss-lorentzienne.

Les valeurs de positions de p_2 ont été également représentées sous forme d'histogrammes de répartition en nombre. Ainsi pour chaque position spectrale le nombre de spectres

correspondant à cette valeur est comptabilisé et exprimé pourcentage. On s'affranchit ainsi du nombre total de spectres.

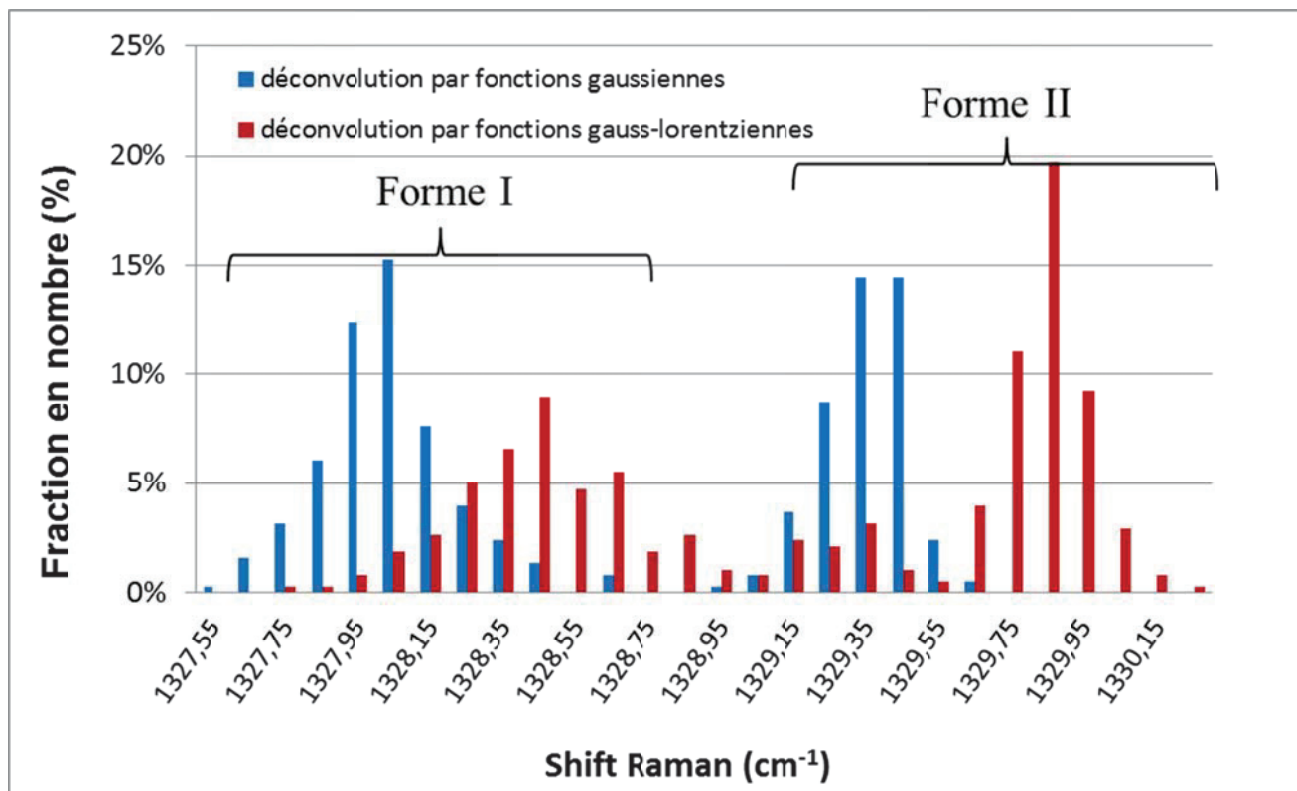


Figure II- 45 : Histogrammes de répartition des positions de la composante p pour les spectres des cartographies de Cp

Dans le $Cp1$ (Figure II- 45), on remarque deux distributions séparées dans le cas des fonctions gaussiennes (bleu). Chaque distribution est caractéristique d'une des formes de la caféine. Ainsi, la forme I correspond à la distribution centrée à 1328 cm^{-1} et la forme II est centrée à $1329,4\text{ cm}^{-1}$. Pour les fonctions gauss-lorentziennes, il existe deux distributions qui sont décalées en position par rapport à la fonction gaussienne mais leurs allures sont similaires. Cependant, une troisième distribution intermédiaire est distinguée entre les deux formes.

Dans le $Cp2$ (Figure II- 46), les distributions sont similaires à celles du $Cp1$. Cependant la position de la forme I entre les deux cartographies de $Cp1$ et $Cp2$ n'est pas constante. On observe une variation de $0,5\text{ cm}^{-1}$ qui a pour conséquence de diminuer le pouvoir de résolution lorsque le critère de position de la composante $p2$ est utilisé (Tableau II- 7). Ce

phénomène de décalage de position semble être dû à l'étalonnage du laser. En effet, avant chaque acquisition ou cartographie, le nombre d'onde du laser doit être vérifié en se basant sur la réponse d'un échantillon de silicium. Malgré cette vérification, le risque d'observer des variations de moins de 1 cm^{-1} reste élevé.

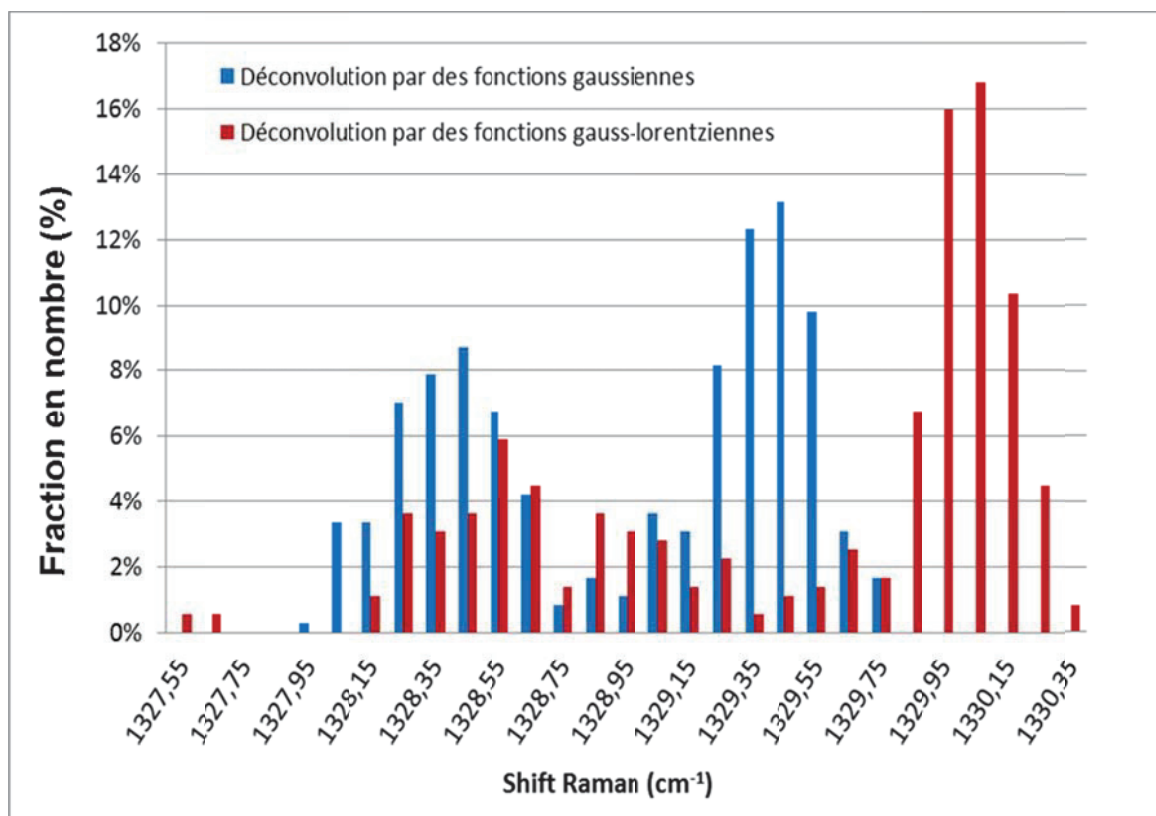


Figure II- 46 : Histogrammes de répartition des positions de la composante p_2 pour les spectres des cartographies de Cp

En conclusion, la méthode basée sur la position de la composante p_2 est applicable mais l'incertitude sur la position du pic ne permet pas d'envisager une quantification des composants. De plus, cette étape a permis de mettre en évidence que la fonction gaussienne est la plus appropriée pour différencier les deux polymorphes de la caféine. Cette fonction a donc été choisie pour le reste de l'étude, l'emploi de la fonction gauss-lorentzienne est abandonné.

Echantillon	Fonctions de déconvolution	Position de p_1 (cm ⁻¹)	Position de p_2 (cm ⁻¹)	Facteur de résolution R
Comprimé <i>Cp1</i>	Gaussiennes	1328,15	1329,45	2,2
	Gauss-lorentziennes	1328,15	1329,25	1,5
Comprimé <i>Cp2</i>	Gaussiennes	1328,65	1329,55	1,2
	Gauss-lorentziennes	1328,45	1329,25	1,4

Tableau II- 7 : Facteurs de résolution estimés pour les distributions des positions de la composante p_1

- *Rapport d'aires p_1/p_2*

La cartographie par rapport d'aires est réalisée en divisant les aires des courbes des composantes p_1 et p_2 obtenues par déconvolution selon des fonctions gaussiennes. Les valeurs de rapports d'aires sont représentées pour les cartographies des comprimés *Cp1* et *Cp2* au moyen d'histogrammes de répartition en nombre (**Figure II- 47**).

Les deux répartitions sont superposées et il est possible de distinguer clairement les deux formes de la caféine. La forme I correspond à la distribution centrée sur un rapport d'aires de 1, la forme II a un rapport d'aires d'environ 4. Le facteur de résolution calculé pour ces deux distributions est compris entre 1,3 et 1,6. Ces valeurs sont supérieures à 1, ce qui prouve que les deux pics obtenus sur les histogrammes sont suffisamment résolus. Ces valeurs sont sensiblement inférieures à certains cas de cartographies par position mais l'ordre de grandeur reste le même (**Tableau II- 8**). De plus, on observe une bonne répétabilité des résultats car les valeurs des rapports d'aires sont identiques pour les deux comprimés.

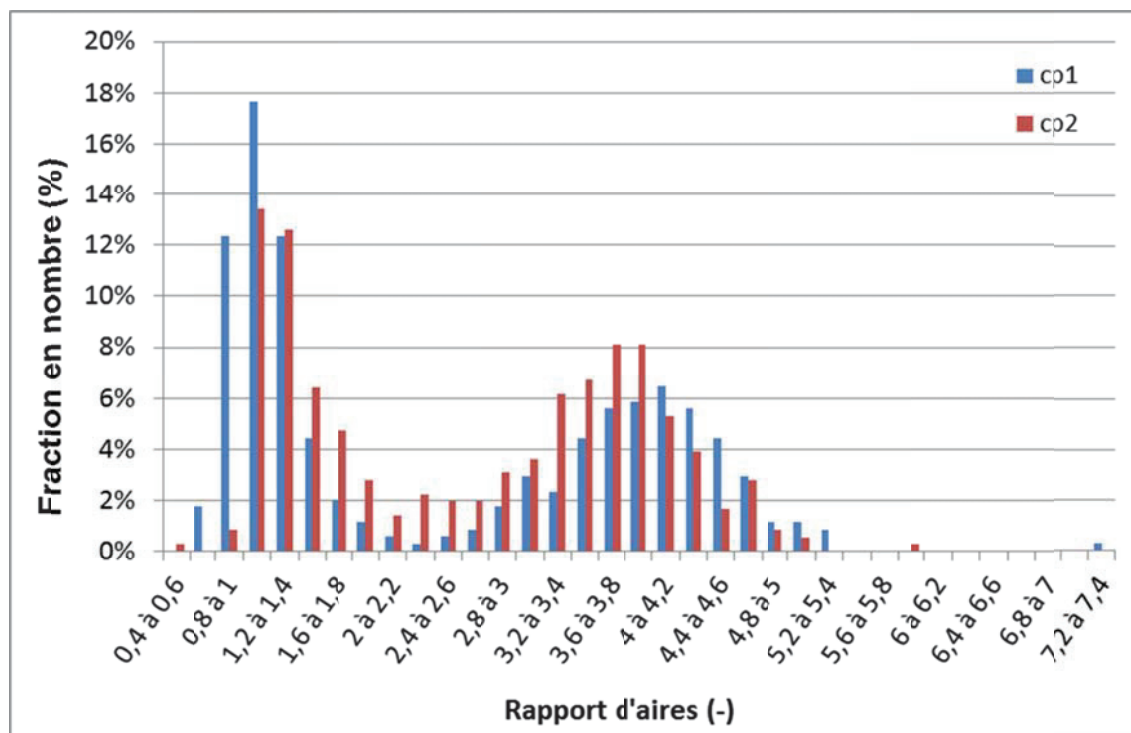


Figure II- 47 : Histogrammes de répartition des rapports d’aires entre p_1 et p_2 pour les spectres des cartographies de Cp_1 et Cp_2

Toutes ces observations sont confirmées par les tracés des cartographies des deux comprimés par la méthode du rapport d’aires (Figure II- 48). On note également la cohérence entre les résultats obtenus par position et par rapport d’aires. Seul le contraste semble plus prononcé sur les cartographies par position signifiant que la résolution y est meilleure.

Echantillon	Fonctions de déconvolution	Position de p_1 (cm ⁻¹)	Position de p_2 (cm ⁻¹)	Facteur de résolution R
Comprimé Cp_1	Gaussiennes	1328,15	1329,45	1,604
Comprimé Cp_2	Gaussiennes	1328,65	1329,55	1,384

Tableau II- 8 : Facteurs de résolution estimés pour les distributions des rapports d’aires des composantes p_1 et p_2

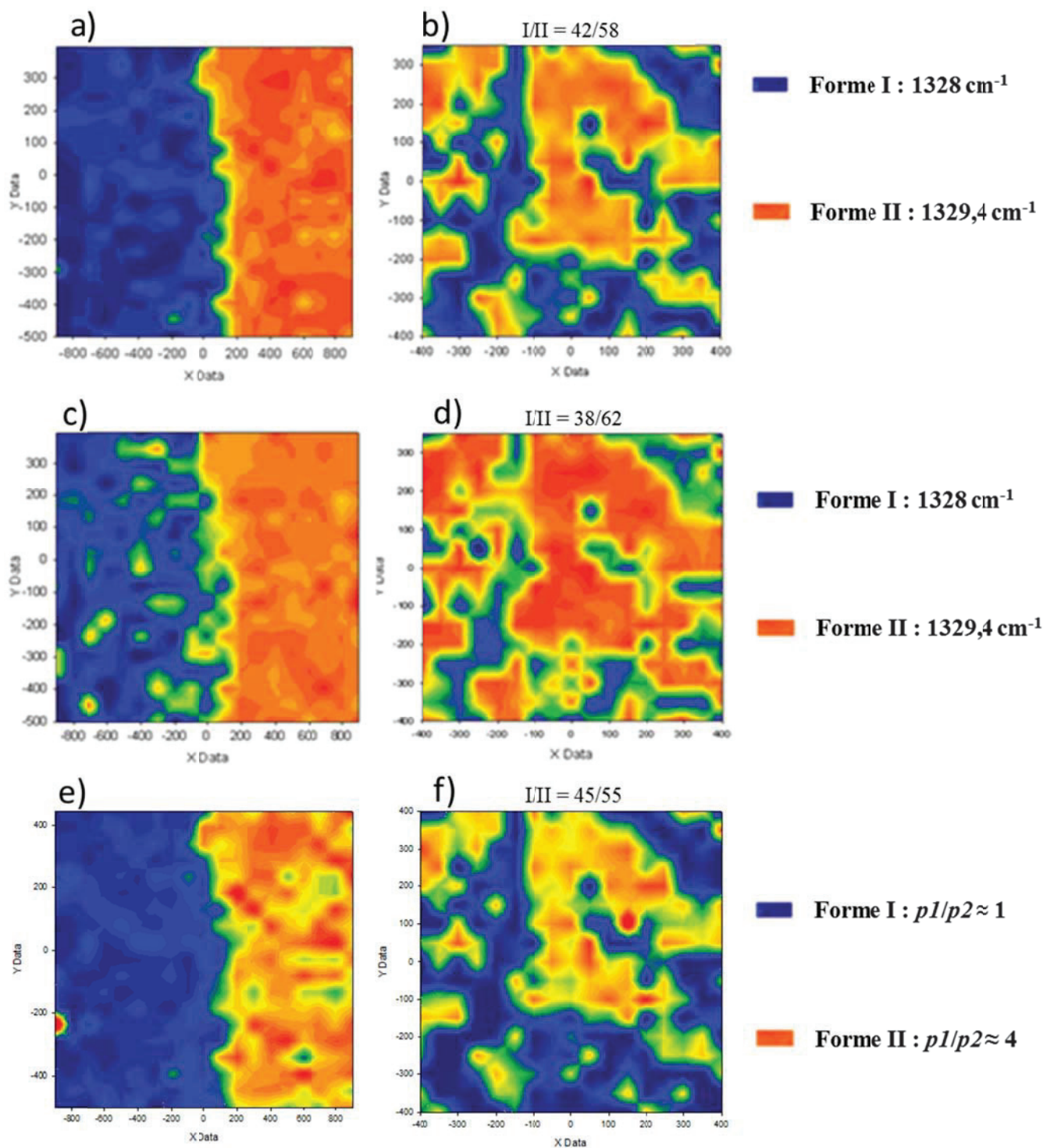


Figure II- 48 : Cartographies des comprimés C_p (colonne de gauche) et C_p (colonne de droite). Méthode de traitement basée sur la position de la composante p : par déconvolution par des fonctions gaussiennes (a,b) et des fonctions gauss-lorentziennes (c,d). Emploi des rapports d'aires des composantes déconvoluées par des fonctions gaussiennes (e,f)

En conclusion de cette partie, la méthodologie basée sur le rapport d'aires semble la plus robuste des deux. Elle ne se base pas sur la position des pics, ce qui la rend indépendante de l'étalonnage du spectromètre. Elle nécessite cependant d'appliquer la même procédure de correction de la ligne de base et de normalisation de l'intensité. Ce critère a été retenu à l'issue de cette étude préliminaire. Dans la suite du manuscrit, tous les spectres analysés à hautes fréquences seront traités de cette manière.

Remarques :

- Les effets de l'orientation d'un monocristal de caféine forme I ont été étudiés afin de vérifier qu'elle n'engendre pas de déformations du pic principal (**annexe C**). Les résultats montrent que le rapport d'aires moyen se situe toujours autour de 1,0, ce qui est compatible avec la valeur trouvée pour la forme I. La position du pic principal mesuré ne change pas non plus.

- Une étude chimiométrique aurait également pu être réalisée pour différencier les deux polymorphes de la caféine. Cependant, nous avons jugé qu'il était préférable de travailler sur un seul pic de la caféine. Premièrement, cette technique de traitement est répandue pour le traitement des spectres Raman (Taylor et Langkilde, 2000). Deuxièmement, les spectres Raman des polymorphes de la caféine sont très similaires et ne se différencient que par la petite variation d'un seul pic. Nous avons pu observer qu'il est nécessaire de déconvoluer ce pic pour en extraire une différence exploitable entre les deux formes. Il n'est donc pas garanti que les techniques chimiométriques puissent assurer une quantification. En revanche, la séparation entre caféine et CMC est possible aisément par chimiométrie car leurs composantes spectrales se différencient en de nombreux points.

C.3.5.3/Identification en présence des excipients

L'utilisation d'excipients dans la formulation impose d'examiner leur compatibilité avec le principe actif au niveau des spectres Raman. De plus, nous souhaitons développer une méthodologie complète de cartographie dans laquelle apparaissent les excipients et les polymorphes de la caféine.

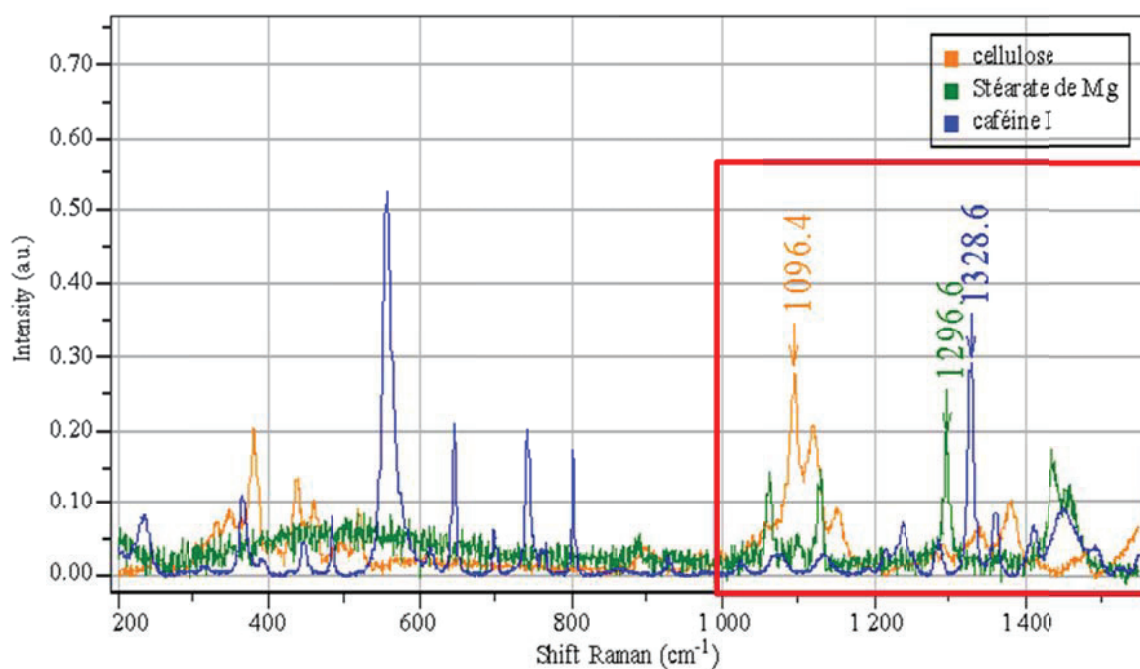


Figure II- 49 : Spectres Raman des excipients utilisés dans la formulation en comparant avec la caféine forme I (200 – 1550 cm^{-1})

La superposition des spectres des trois composés (Caféine forme I, CMC, Stéarate de Magnésium) montre que chacun d'eux présente un pic caractéristique (**Figure II- 49**) dans la même fenêtre opératoire entre 1000cm^{-1} et 1500cm^{-1} : la cellulose à $1096,4\text{cm}^{-1}$, le stéarate de magnésium à $1296,6\text{cm}^{-1}$ et la caféine à 1328cm^{-1} .

On note également la présence d'un pic de faible intensité caractéristique de la CMC qui interfère avec celui de la caféine à 1328cm^{-1} . Afin de vérifier l'influence de la CMC sur le traitement du pic de caféine, un comprimé nommé *Cp3* et contenant un mélange caféine forme I / caféine forme II / CMC (30/30/40) a été fabriqué. Le protocole de fabrication de *Cp3* est le même que pour *Cp2*. Un histogramme représentant les rapports d'aires des composantes de la caféine pour le comprimé *Cp3* est représenté en **Figure II- 50**.

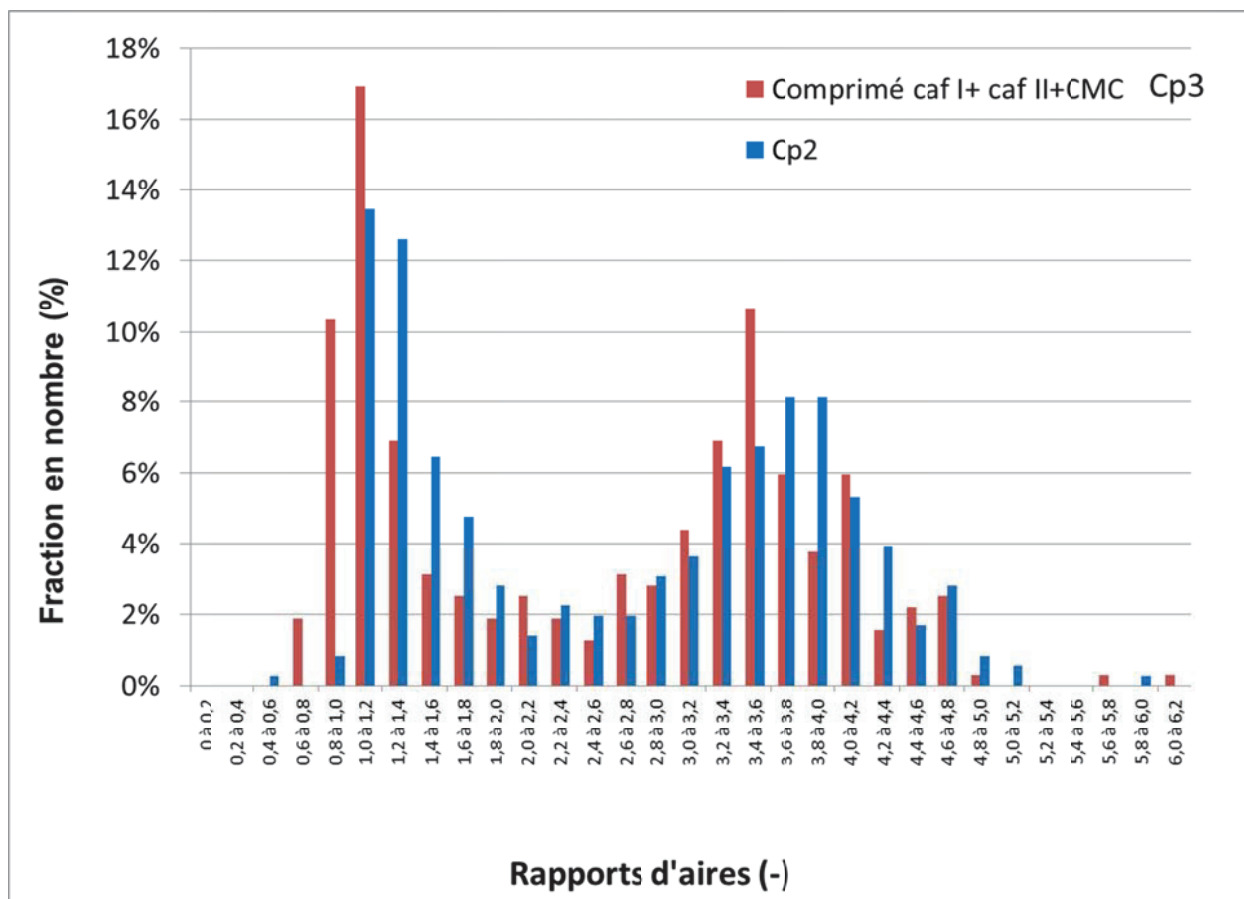


Figure II- 50 : Histogrammes de répartition des rapports d’aires entre $p1$ et $p2$ pour les spectres des cartographies des comprimés Cp2 et Cp3

Les deux histogrammes présentés sont pratiquement superposables et on ne distingue pas d’artefact dû à la présence de CMC. Les valeurs des rapports d’aires ne sont donc pas influencées par cet ajout.

C.3.5.4/ Construction des cartographies

Lors d’une cartographie de comprimé de caféine formulée avec la CMC et le stéarate de magnésium, chaque spectre peut contenir la signature des trois produits avec des intensités différentes en fonction du grain situé sous l’objectif. Cependant, il est rare d’obtenir la signature d’une espèce pure. Il faut donc déterminer qu’elle est l’espèce majoritaire pour chaque spectre enregistré.

Après le traitement de la ligne de base et la normalisation de l’intensité entre 1000 cm^{-1} et 1550 cm^{-1} , les intensités normalisées des trois pics caractéristiques des trois composés chimiques sont enregistrées. La **Figure II- 51** montre un exemple d’histogramme de

répartition des intensités du pic de caféine et du pic de la CMC pour une cartographie complète. Les plus fortes intensités correspondent à une plus forte réponse du composé. Un seuil d'intensité est ensuite déterminé en fonction de la forme de la distribution. On constate que sur chaque figure apparaît une distribution pour les hautes intensités. C'est cette zone qui est isolée et qui correspond au composé étudié.

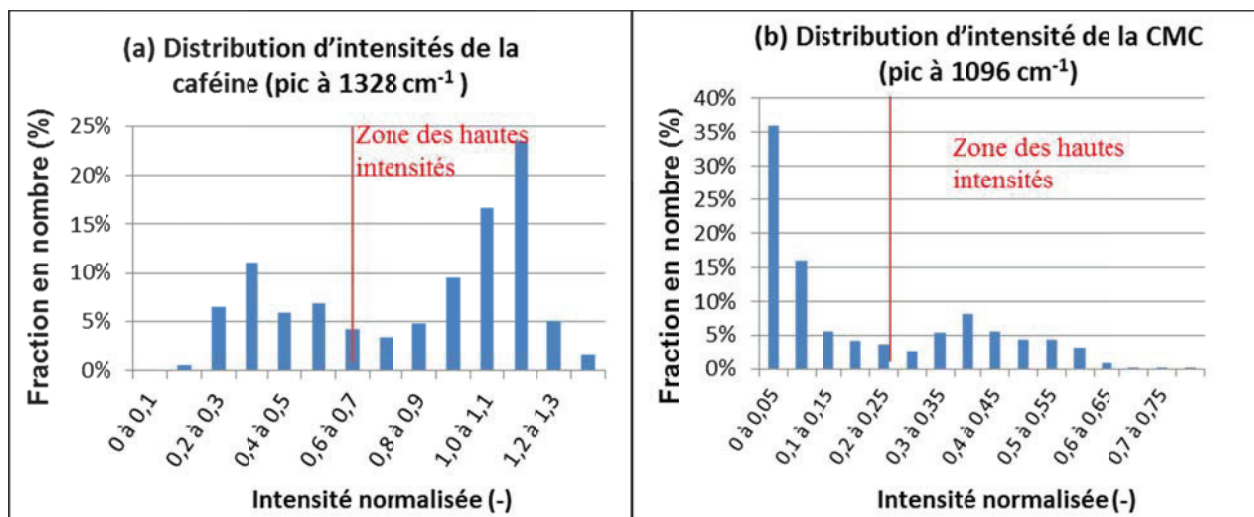


Figure II- 51 : Distributions par classes des intensités des spectres à différentes positions Raman caractéristiques de (a) la caféine et (b) de la CMC

Chaque composé ayant été identifié, une cartographie est ensuite réalisée sur le *Cp3* (Figure II- 52). Sur notre exemple, la caféine apparaît en rouge tandis que la CMC apparaît en bleu. Les ratios estimés correspondent bien à ceux pesés pour fabriquer les comprimés, soit 60% de caféine et 40% de CMC.

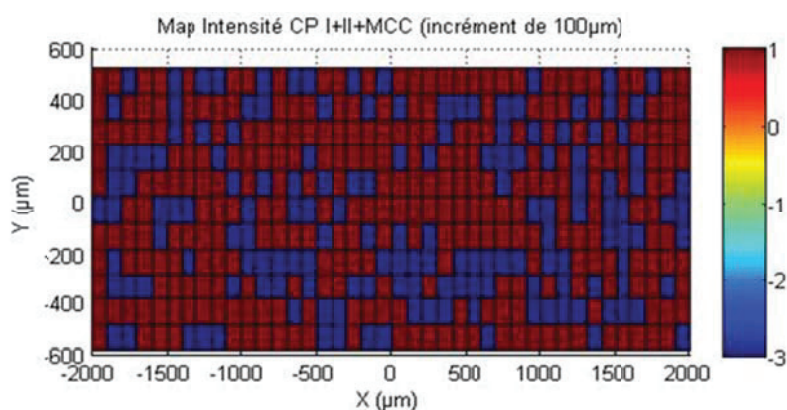


Figure II- 52 : Cartographie en intensité de la caféine (rouge = 1) et de la CMC (bleu = -3)

La dernière étape consiste à remplacer les points identifiés comme étant de la caféine par la valeur du rapport d'aires obtenue. On obtient ainsi une cartographie complète contenant

l'excipient principal (CMC) les deux polymorphes de la caféine (**Figure II- 53**). L'échelle de couleur appliquée correspond à : -3 pour la CMC et la zone [0 – 5] pour les valeurs des rapports d'aires des composantes de la caféine.

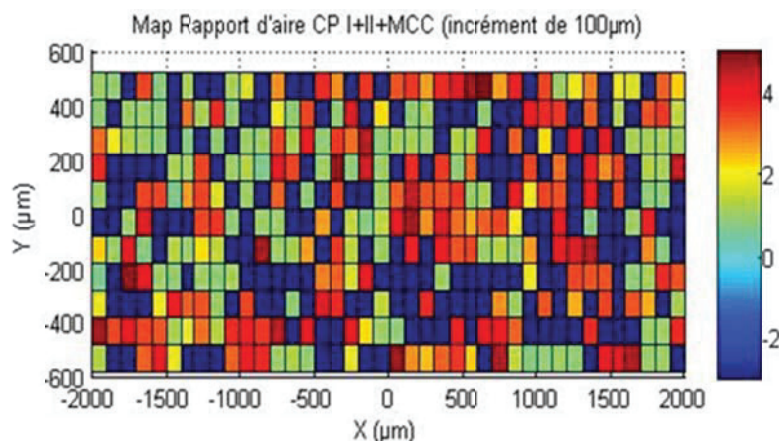


Figure II- 53 : Cartographie des polymorphes de la caféine [0 - 5] et de la CMC (-3)

Remarque : La quantité de stéarate de magnésium est très faible (1%) par rapport aux autres composés. Elle a par conséquent été négligée car elle n'est pas l'objet principal de cette étude. Cependant le stéarate de magnésium a bien été identifié sur les spectres mais toujours en présence d'un autre composé.

C.3.5.5/ Choix de l'incrément spatial des cartographies

L'incrément spatial est un paramètre déterminant lors d'une cartographie. Il définit la distance entre deux spots Raman successifs selon les axes X et Y. Ce choix est dicté principalement par deux critères. Le premier est le temps d'acquisition d'un spectre et la sensibilité recherchée par rapport à la taille de l'échantillon.

Dans cette étude, chaque spectre nécessite deux minutes de temps d'acquisition et, par raison de sécurité expérimentale au laboratoire, le temps total d'une cartographie ne peut dépasser douze heures. Le nombre total de spectres enregistrables par cartographie s'élève donc à environ quatre cents unités.

Des cartographies ont donc été réalisées à la surface d'un comprimé avec des incréments spatiaux différents afin d'observer leur influence sur la distribution des composés. Pour cela, les incréments utilisés sont de 500, 100, 50 et 20 µm. Les zones obtenues sont par conséquent de tailles différentes allant du comprimé entier à une zone de moins de 1 mm de côté.

Certaines zones sont communes à toutes les cartographies permettant de comparer les résolutions et la reproductibilité du traitement des spectres.

Les cartographies réalisées sont répertoriées sur la **Figure II- 54** ; elles ont été réalisées sur un comprimé de caféine forme I / CMC / stéarate de magnésium avec un ratio 60 / 39 / 1. Le comprimé a été fabriqué à l'aide de la machine à comprimer instrumentée. Pour chaque cas, les taux de caféine et de CMC ont été calculés à partir de la méthode de traitement des spectres (**Tableau II- 9**).

Dans un premier temps, on remarque que toutes les cartographies aboutissent à un mélange de caféine et de CMC. Le schéma central de la **Figure II- 54** détaille les positions de zones cartographiées. On constate que la zone représentée en rose est commune avec toutes les cartographies. Cette image est très résolue (20 μm de résolution) et il semble évident qu'un grand nombre de spectres correspondent à un même grain. Néanmoins, peu de grains sont analysés sur cette image et la répartition entre caféine et CMC n'est pas représentative de tout le comprimé. A partir d'un incrément de 50 μm et au-delà, la résolution diminue et il semble que la forme des grains disparaisse après 100 μm .

L'objectif de l'étude étant d'analyser de larges zones tout en analysant le maximum de grains, notre choix s'est porté sur l'incrément de 100 μm . La zone ainsi couverte est de plusieurs millimètres et elle est représentative de l'ensemble du comprimé (**Tableau II- 9**).

On notera également que les contours de grains qui apparaissent dans la cartographie de 20 μm se retrouvent dans les cartographies suivantes de 50 μm et de 100 μm (encadrés en rose sur la figure).

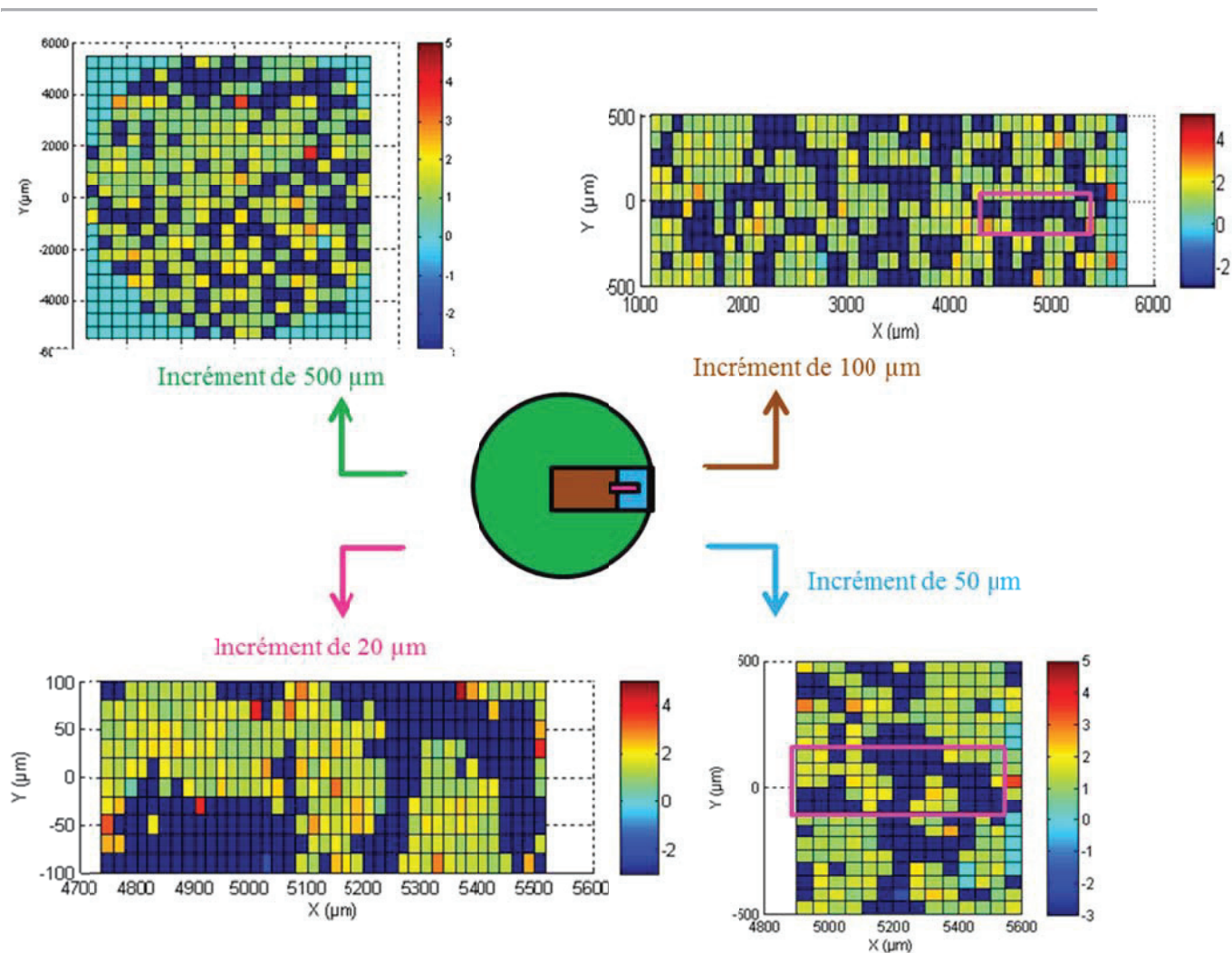


Figure II- 54 : Influence de l'incrément spatial des cartographies sur la résolution des grains et sur la taille de la zone analysée

Echantillon	Incrément (μm)	%Caféine	%Cellulose	%Stéarate de magnésium
Comprimé caféine I + excipients	500	61,4	38,6	0
	100	60,1	39,9	0
	50	60,5	38,8	0,7
	20	55,3	44,2	0,5

Tableau II- 9 : Répartition des composés dans les zones cartographiques en fonction de l'incrément spatial

C.4/ Traitement des données de micro-tomographie à Rayons X

C 

L'acquisition des données de tomographie X a été réalisée pour deux séries de comprimés. La formulation principale composée de caféine forme I et de cellulose (60/39) a été caractérisée pour cinq pressions de compression différentes. Un comprimé par pression a été analysé. Des comprimés composés seulement de cellulose ont été ajoutés à cette étude. Ils ont également été produits à différentes pressions de compression. Cinq comprimés de cellulose ont été utilisés pour l'analyse tomographique. L'ensemble des comprimés, soit dix unités, a été empilés afin de réaliser une seule acquisition. Cette technique a pour but de réaliser l'analyse avec des conditions expérimentales identiques pour chaque comprimé.

L'absorption aux rayons X est spécifique à chaque matériau, donc à chaque formulation. Une augmentation de la densité (relative à une pression plus élevée de compression) se traduit par un accroissement de l'absorption volumique, donc du niveau de gris (*cf. II.B.5*). La correspondance entre la densité réelle du comprimé et le niveau de gris moyen est en théorie linéaire. Ceci a déjà été vérifié expérimentalement mais cette correspondance peut être non linéaire pour des faibles pression de compression (Busignies et *al.*, 2006a).

Deux formulations (avec et sans caféine) ont été étudiées par micro-tomographie X. Il convient d'établir en premier lieu cette relation densité de comprimé / niveaux de gris pour chaque formulation.

Le niveau de gris moyen de chaque comprimé a été calculé de la façon suivante. Les images correspondant à un comprimé ont été isolées. Sur chaque image, une zone d'intérêt circulaire a été définie afin de différencier les pixels correspondant à de la matière et ceux de l'espace vide autour des comprimés (**Figure II- 55.a**). Une moyenne a ensuite été réalisée sur l'ensemble des distributions récoltées (**Figure II- 55.b**).

La densité des comprimés correspond à la densité réelle mesurée sur les comprimés (masse et dimensions) trois jours après leur fabrication. Ce délai est nécessaire car la taille d'un comprimé peut évoluer après compression par le phénomène de recouvrement élastique (Busignies et *al.*, 2006b).

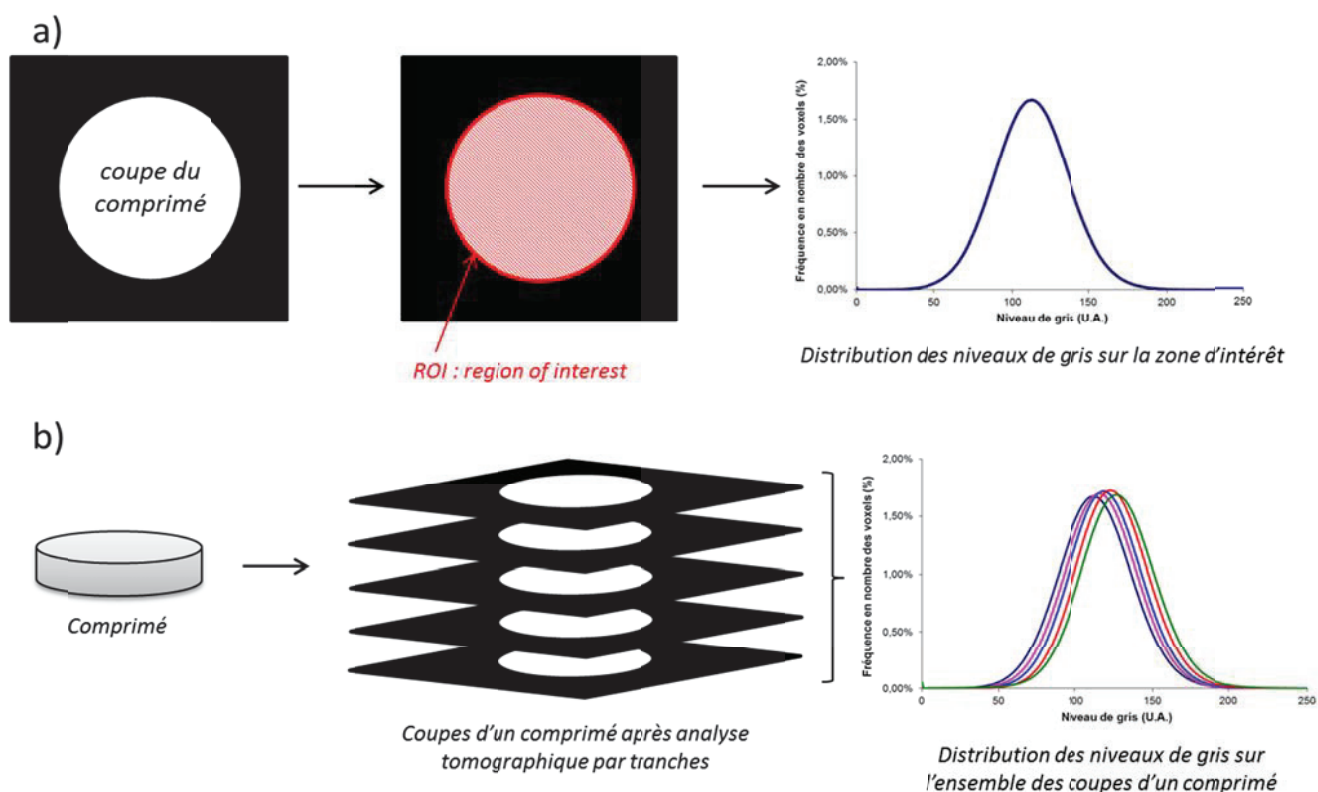


Figure II- 55 : Schéma d'obtention du niveau de gris moyen d'une coupe d'un comprimé (a) et sur l'ensemble du comprimé (b)

L'évolution de la densité des comprimés a été représentée en fonction de la moyenne des niveaux de gris de chaque comprimé pour la formulation de caféine forme I et pour la cellulose (**Figure II- 56**). Seuls quatre points ont été représentés pour la formulation de caféine forme I. Les comprimés fabriqués pour la dernière pression de compression à 350 MPa présentaient de larges fractures traversant le comprimé dans le plan horizontal. Le comprimé étant disloqué, il n'était plus possible de déterminer sa densité précisément.

On constate que la relation entre densité et niveau de gris est linéaire pour les deux cas étudiés. Ce résultat montre qu'il n'y a pas de déviation en fonction de la porosité de la poudre. L'absorption aux rayons X est donc constante pour tous les matériaux utilisés sur les gammes de pression et aucune correction particulière n'a été appliquée.

Les deux droites ne se superposent pas, ce qui montre que la caféine et la cellulose n'ont pas le même taux d'absorption des rayons X. On remarque également que la gamme de densité est plus restreinte pour la formulation de caféine forme I par rapport à la cellulose

seule pour un écart de pression identique entre 50 MPa et 200 MPa. On note aussi qu'à partir de 150 MPa, la densité des comprimés de caféine forme I n'évolue plus significativement et la densité maximale des comprimés est atteinte. Elle reste cependant inférieure à la densité particulaire de la formulation qui est de $1,51 \text{ g.cm}^{-3}$. Le même résultat est observé pour la cellulose qui atteint la pression maximale à 200 MPa pour une densité inférieure à la densité particulaire de $1,56 \text{ g.cm}^{-3}$.

Cette analyse permet donc d'utiliser la micro-tomographie X pour quantifier la densité dans des comprimés de la formulation de caféine forme I et de cellulose seule. Nous avons également vérifié que la corrélation qui lie la densité au niveau de gris est bien linéaire. Aucun phénomène d'atténuation liée à l'épaisseur des matériaux n'a été observé. De plus, les images obtenues ne sont pas contaminées par la présence d'anneaux brillants (« *ring artefact* »). C'est un artefact qui apparait lors de la reconstruction des images et qui est dû à la rotation de l'échantillon (Miguélez-Morán *et al.*, 2009).

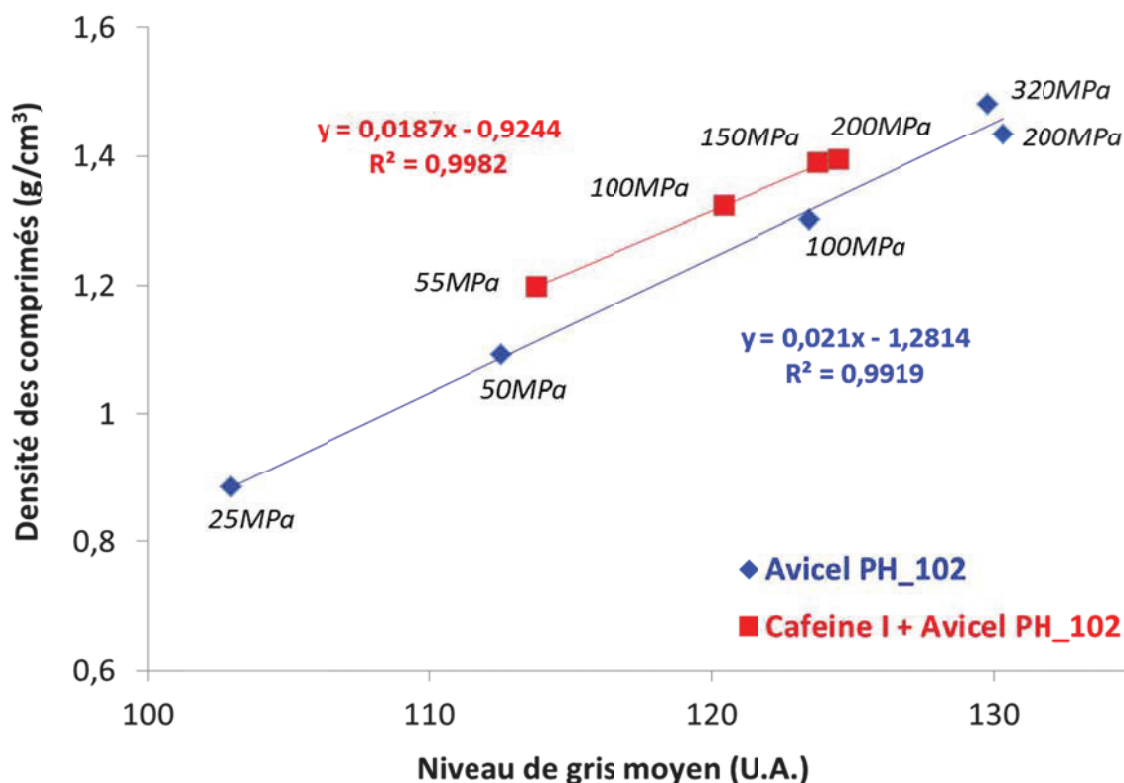


Figure II- 56 : Evolution de la densité des comprimés avec le niveau de gris mesuré par micro-tomographie X sur deux séries de comprimés : formulation de caféine forme I et cellulose seule (Avicel PH_102).

$$C = 2 \frac{\rho - \rho_{min}}{\rho_{max} - \rho_{min}} p$$

- Images brutes :

L'observation des images en deux dimensions et en niveaux de gris donne de premières informations à propos de la répartition de la densité dans nos comprimés. Un seuillage des niveaux de gris a été appliqué à certaines images issues des deux cas étudiés (**Figure II- 57**). En rouge sont représentés les voxels dont le niveau de gris est supérieur au seuil fixé. On peut ainsi observer les zones de plus fortes densités. Le comprimé de cellulose montre clairement une zone plus dense en bordure du comprimé. Cette image est issue du milieu d'un comprimé de 100 MPa. Le comprimé contenant la caféine forme I (320 MPa) présente également un effet de bord mais l'hétérogénéité avec le centre de l'image est moins marquée. On peut également distinguer des formes assimilables à des particules sur la surface entière. En se rapportant aux courbes d'étalonnage (**Figure II- 56**), on remarque que la caféine apparaît avec un niveau de gris inférieur à la cellulose à densité égale. En d'autres termes, la caféine forme I est plus sombre sur les images tomographiques. Un autre aspect de l'utilisation des rayons X est ici mis en valeur car elle permet de différencier des matériaux dont les absorptions aux rayons X sont distinctes l'une de l'autre.

- Traitement des images :

Les images en deux dimensions acquises au cours de l'analyse tomographique ont fait l'objet d'un traitement supplémentaire afin d'améliorer la détection et la quantification des hétérogénéités dans les comprimés. Ce traitement consiste en quatre étapes et a été réalisé sur le logiciel Matlab[®] équipé du module de traitement d'images.

Dans un premier temps, les niveaux de gris des images correspondant à un comprimé ont été enregistrés dans une même matrice afin de faciliter leur traitement. Une procédure de lissage a ensuite été mise en place. Des carrés de 4x4 voxels ont été remplacés par un nouveau voxel contenant la moyenne des niveaux de gris de cette zone. Aucune moyenne n'a été réalisée sur la hauteur du comprimé. Sur la nouvelle matrice obtenue, les niveaux de gris ont été convertis en densité d'après les équations obtenues précédemment (**Figure II- 56**).

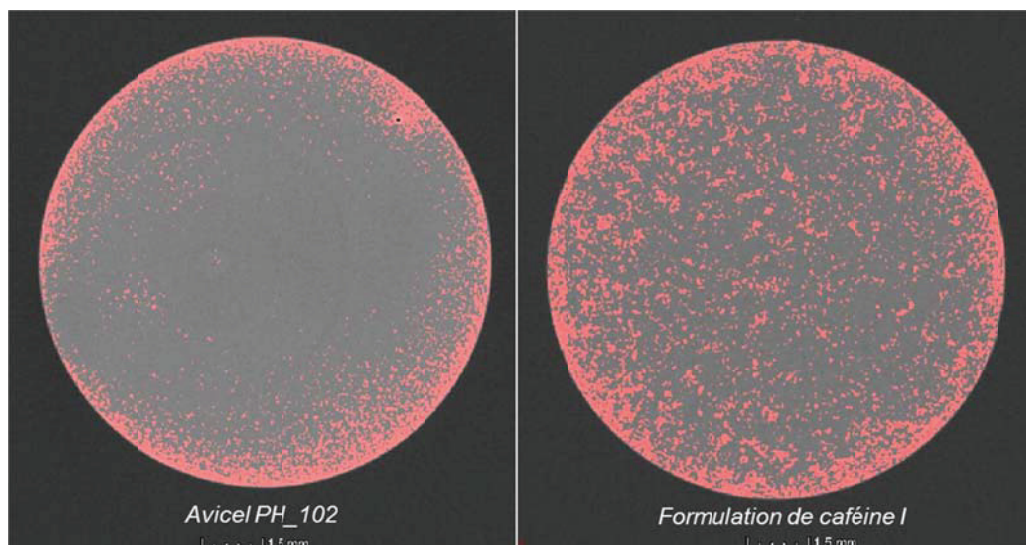


Figure II- 57 : Images tomographiques d'une tranche de comprimé formulé sans caféine à 100MPa (à gauche) et de comprimé formulé avec caféine forme I à 300MPa après l'application d'un seuillage en niveau de gris.

Les programmes mis en œuvre pour le traitement des données de micro-tomographie X sont communiqués en **annexe D**.

Conclusion du chapitre II

Au cours de ce chapitre, les deux produits modèles choisis pour ce travail ont été présentés. Nous constatons que la caféine forme I a fait l'objet de plusieurs études concernant les transformations en compression. Cependant, Les conditions expérimentales de celles-ci ainsi que les méthodes de caractérisation diffèrent. Nous proposons donc de réévaluer les transformations de la caféine forme I en compression en insistant sur la caractérisation mécanique du procédé et en intégrant plusieurs techniques analytiques. L'analyse thermique ACD sera utilisée comme technique de référence pour quantifier les transitions de phases car elle a été validée pour cette application. La spectroscopie Raman nous permettra de cartographier les polymorphes et excipients à la surface des comprimés. Finalement, la micro-tomographie X et la micro-indentation seront utilisées pour obtenir les répartitions de densité des poudres comprimées afin d'étudier la relation transitions de phases / densité.

CHAPITRE III :
Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les deux chapitres précédents ont permis de mettre en place les bases théoriques et méthodologiques destinées à l'étude des transformations de la caféine forme I et de la carbamazépine dihydrate par compression. Dans cette partie, nous présentons les résultats des transformations physiques à l'état solide de ces deux principes actifs. Plusieurs techniques analytiques comme l'ACD, la DRX, la spectroscopie Raman, l'ATG, la micro-tomographie X et la micro-indentation ont été utilisées et confrontées pour discuter des effets de la pression et du temps sur ces transformations.

A/ Le cas de la caféine

L'étude des transformations solide-solide de la caféine forme I en compression directe est un sujet vaste en termes de possibilités d'orientation des recherches. Nous avons décidé d'étudier plusieurs paramètres clés du procédé de compression directe en fonction de la faisabilité technique liée au procédé et à la technologie utilisée (machine à comprimer). Les effets de la pression de compression, de la taille des particules, de la formulation et de la contamination polymorphique ont été évalués et discutés. Dans cette partie, nous présenterons les propriétés mécaniques des comprimés pour chaque cas étudié en plus de l'évaluation des transitions de phases par analyse thermique ACD qui a été validée dans le chapitre précédent. Une étude complémentaire de la densité des comprimés par micro-tomographie X a été réalisée sur la formulation principale afin de révéler de possibles hétérogénéités à l'intérieur du volume de poudre compacté et pouvant apporter des éléments d'explication des transformations. L'application de la spectroscopie Raman à un cas aussi particulier que celui de la caféine a été étudiée en détails. Deux méthodes d'imagerie Raman sont proposées et discutées dans le manuscrit. Elles permettront d'obtenir plus d'éléments de caractérisation des transitions dans les comprimés.

A.1/ Etude de la densité et du comportement mécanique

Dans un premier temps, nous allons nous intéresser à l'étude de la densité des comprimés. Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent (*cf. I.C.2.3*), le procédé de compression peut engendrer des hétérogénéités de densité dans la masse compactée. Ces différences

apparaissent généralement (Train, 1956) au niveau des parois de la matrice de compression et au niveau du contact entre la poudre et les poinçons. Ce phénomène est également dépendant du type de déformation du mélange de poudre.

A.1.1 Analyse des comprimés par micro-tomographie à rayons X

L'objectif de cette partie est d'obtenir une cartographie complète de la densité des comprimés. Des hétérogénéités sont recherchées afin d'éventuellement les corrélérer avec les transformations de la caféine. Nous cherchons également à évaluer l'effet de la formulation sur l'importance des hétérogénéités.

Les images représentant la densité des coupes X-Y des comprimés formulés de caféine I sont regroupées sur la **Figure III- 1**. Une échelle de couleur a été mise en place afin de cartographier la densité dans les comprimés. Cette méthode de traitement permet ensuite de représenter graphiquement n'importe quelle tranche du comprimé avec la même échelle de couleur. L'échelle de densité est commune aux quatre images. Ces images sont le résultat de la moyenne selon l'axe Z de toutes les coupes X-Y de chaque comprimé. On obtient ainsi une résultante plus représentative des hétérogénéités.

Pression de compression	Densité au centre	Densité au bord	Ecart entre le bord et le centre
(MPa)	(g.cm⁻³)	(g.cm⁻³)	(g.cm⁻³)
55	1,175	1,25	0,075
100	1,31	1,36	0,05
150	1,36	1,45	0,09
200	1,38	1,46	0,08

Tableau III- 1 : Estimation des densités dans les comprimés de caféine I + CMC pour différentes pressions de compression

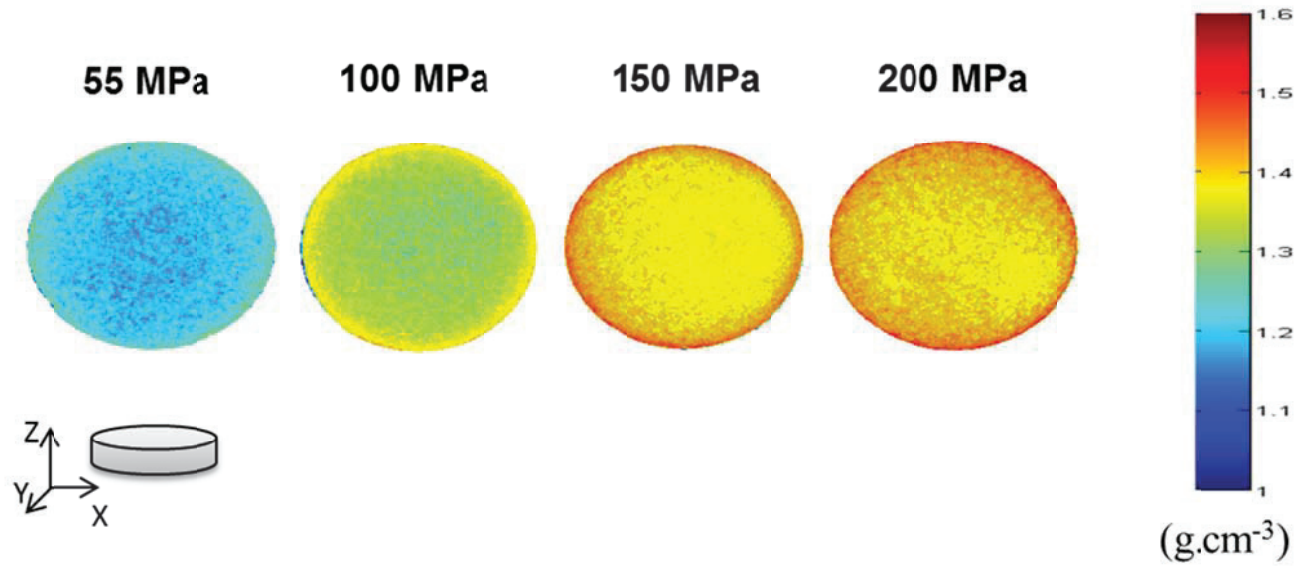


Figure III- 1 : Densité moyenne de comprimés de caféine I + CMC dans des coupes X-Y pour différentes pressions de compression. Surface des comprimés : 1 cm².

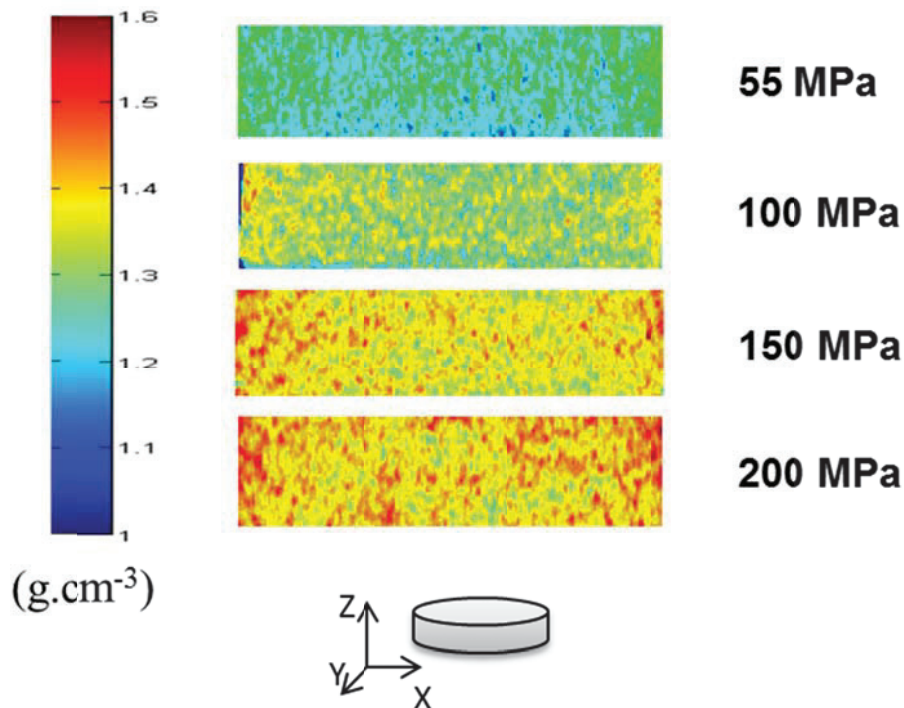


Figure III- 2 : Densité des comprimés de caféine I + CMC dans des coupes Y-Z pour différentes pressions de compression. . Hauteurs des comprimés : entre 2et 2,5 mm.

Pour les quatre images, nous pouvons observer un anneau plus dense au niveau du bord des comprimés. Cet anneau a une épaisseur radiale estimée à environ 1 mm pour toutes les forces de compression. Cette observation est confirmée par les écarts de densité bord / centre

mesurés et indiqués dans le **Tableau III- 1**. Les écarts sont compris entre $0,05 \text{ g.cm}^{-3}$ et $0,1 \text{ g.cm}^{-3}$ mais sont indépendant de la pression de compression appliquée dans cette étude.

Pour cette formulation, l'accroissement de la densité avec la pression (de 50 MPa à 200 MPa) au bord et au centre du comprimé est similaire et est de l'ordre de $0,2 \text{ g.cm}^{-3}$. Les densités moyennes mesurées ne dépassent pas $1,46 \text{ g.cm}^{-3}$. Cela reste inférieur à la densité particulière moyenne de la formulation qui est $1,50 \text{ g.cm}^{-3}$. La porosité maximale atteinte est donc de 3%.

Des coupes Y-Z selon des diamètres des comprimés ont également été réalisées et représentées avec la même échelle de couleur que les coupes X-Y (**Figure III- 2**). Le haut de chaque image représente la face supérieure et le bas la face inférieure des comprimés. Nous remarquons des bandes de densité plus élevées au niveau des bords latéraux. Ces zones sont plus marquées au niveau supérieur des comprimés. Ce résultat est en accord avec les conclusions de nombreuses études dans le domaine (Train, 1956 ; Macleod et Marshall, 1977 ; Charlton et Newton, 1984). En effet, les comprimés fabriqués avec des machines alternatives uni-axiales présentes souvent de plus fortes densités au niveau où la poudre est en contact avec le seul poinçon mobile pendant l'étape de compression (poinçon supérieur).

Le même traitement des données a été réalisé pour les comprimés de cellulose seule (**Figure III- 3 et Figure III- 4**). L'échelle colorée des densités est la même pour tous les comprimés de ces figures. Des hétérogénéités apparaissent entre le bord et le centre des comprimés avec l'accroissement de la pression. En comparant les écarts entre le bord et le centre (**Tableau III- 2**), on constate que ces derniers évoluent avec la pression de compression de $0,05 \text{ g.cm}^{-3}$ à $0,17 \text{ g.cm}^{-3}$. Cependant l'anneau de plus grande densité est plus fin que pour la formulation avec une épaisseur estimée à 0,5 mm. Nous notons également que peu de différences apparaissent entre le haut et le bas des comprimés. La CMC semble transmettre uniformément les forces appliquées par le poinçon supérieur dans toute la profondeur de la matrice. Les densités moyennes sont inférieures à la densité particulière de la CMC ($1,56 \text{ g.cm}^{-3}$) et la porosité maximale dans les comprimés est de 6,5%.

L'hétérogénéité dans le plan X-Y dans les comprimés est donc plus forte pour cette poudre par rapport à la formulation de caféine I.

Cette technique permet donc d’obtenir des informations pertinentes lors des étapes de développement d’une formulation pour compression. Elle peut montrer des zones de fragilités liées à des géométries de poinçons particulières comme une gravure ou une barre de sécabilité. Elle peut également montrer des zones plus consolidées (i.e. denses) que d’autres, ce qui aurait des conséquences au niveau de la libération du principe actif et donc sur la biodisponibilité.

Les variations de densité entre le bord et le centre dans les comprimés de caféine I montrent que la poudre n’est pas soumise aux mêmes contraintes mécaniques dans l’ensemble de la matrice (cœur / paroi). Ainsi il est justifiable que l’évaluation des transitions de phases de la caféine I doit être effectuée à différents endroits du comprimé qui sont principalement les parties hautes et basses et les bords du comprimé.

Pression de compression	Densité au centre	Densité au bord	Ecart entre le bord et le centre
(MPa)	(g.cm⁻³)	(g.cm⁻³)	(g.cm⁻³)
25	0,85	0,9	0,05
50	1,05	1,15	0,1
100	1,27	1,4	0,13
200	1,38	1,55	0,17
320	1,4	1,57	0,17

Tableau III- 2 : Estimations des densités dans les comprimés de CMC pour différentes pressions de compressions

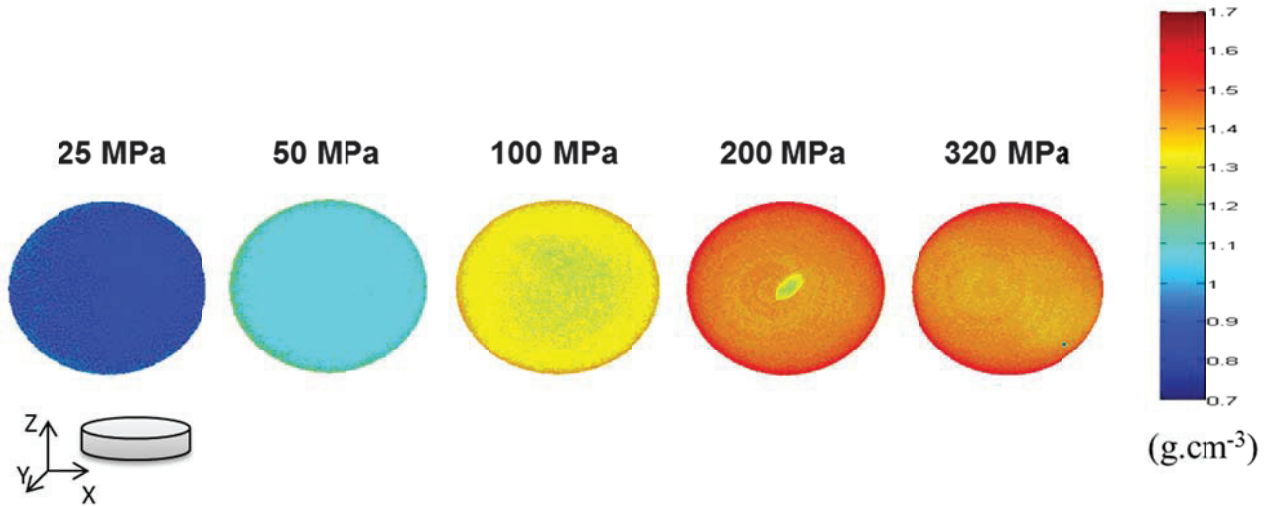


Figure III- 3 : Densités moyennes de comprimés de CMC dans des coupes X-Y pour différentes pressions de compression. Surface des comprimés : 1 cm².

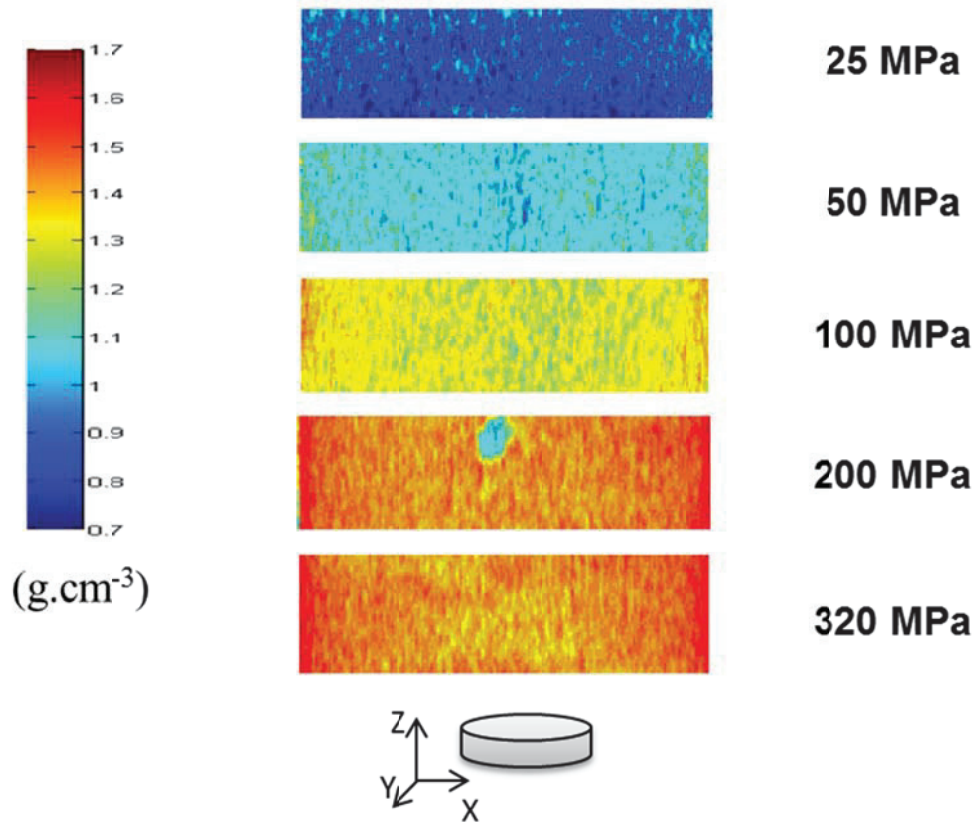


Figure III- 4 : Densité des comprimés de CMC dans des coupes Y-Z pour différentes pressions de compression. Hauteurs des comprimés : entre 1,7 et 2,3 mm.

A.1. Application des équations de porosité pression

A.1.2.1 Cycles de compression et Energies de déformation

L'obtention des cycles de compression par enregistrement des données de compression a été réalisée pour toutes les formulations étudiées. Ces cycles permettent de voir si les déformations sont du même type lorsque les pressions maximales de compression augmentent. Ils permettent également d'estimer l'élasticité des comprimés lors de la décompression.

L'étude de la compression de la formulation de caféine I (**Figure III- 5**) montre des profils de cycles identiques à partir de 50 MPa jusqu'à une pression maximale de 290 MPa. L'allure montre une première phase où la force de compression ne dépasse pas 100 N jusqu'à 2,5mm de déplacement du poinçon supérieur. Cette phase correspond au tassement de la poudre dans la matrice. On assiste ensuite à une phase d'augmentation de la force avec le déplacement jusqu'à atteindre la force de compression maximale. L'allure de cette portion de courbe est exponentielle et elle est la même pour toutes les courbes représentée. La dernière phase correspondant à la décompression montre un relâchement élastique du comprimé avec une allure oblique de la courbe.

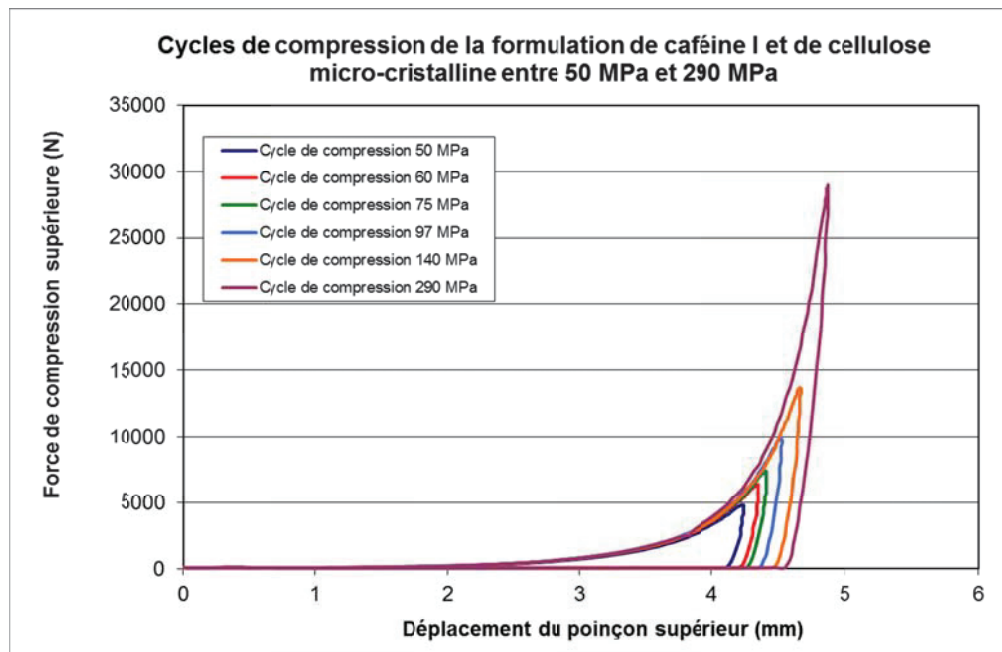


Figure III- 5 : Cycles de compression de la formulation caféine I +CMC pour différentes pressions de compression

La fonction exponentielle traduisant la phase de déformation plastique et de fragmentation permet de constater que l'énergie transmise est proportionnelle à la pression exercée. En effet, l'intégration de la courbe exponentielle pour différentes coordonnées de déplacement est une fonction linéaire de la pression maximale (**Figure III- 6**). Cela est le cas que lorsque la fonction intégrée est exponentielle car le déplacement est une fonction logarithmique de la pression. C'est cette propriété qui est montrée dans le modèle de Heckel par l'intermédiaire de la porosité. En conséquence, lorsque toutes les courbes de compression ont la même allure pour des pressions maximales différentes, alors le travail fourni par le poinçon à la poudre est directement proportionnel à la pression.

Dans notre étude, cette particularité montre que la formulation se comporte de la même façon quelle que soit la pression appliquée. De plus, nous montrons que l'énergie de déformation apportée au système augmente avec la pression.

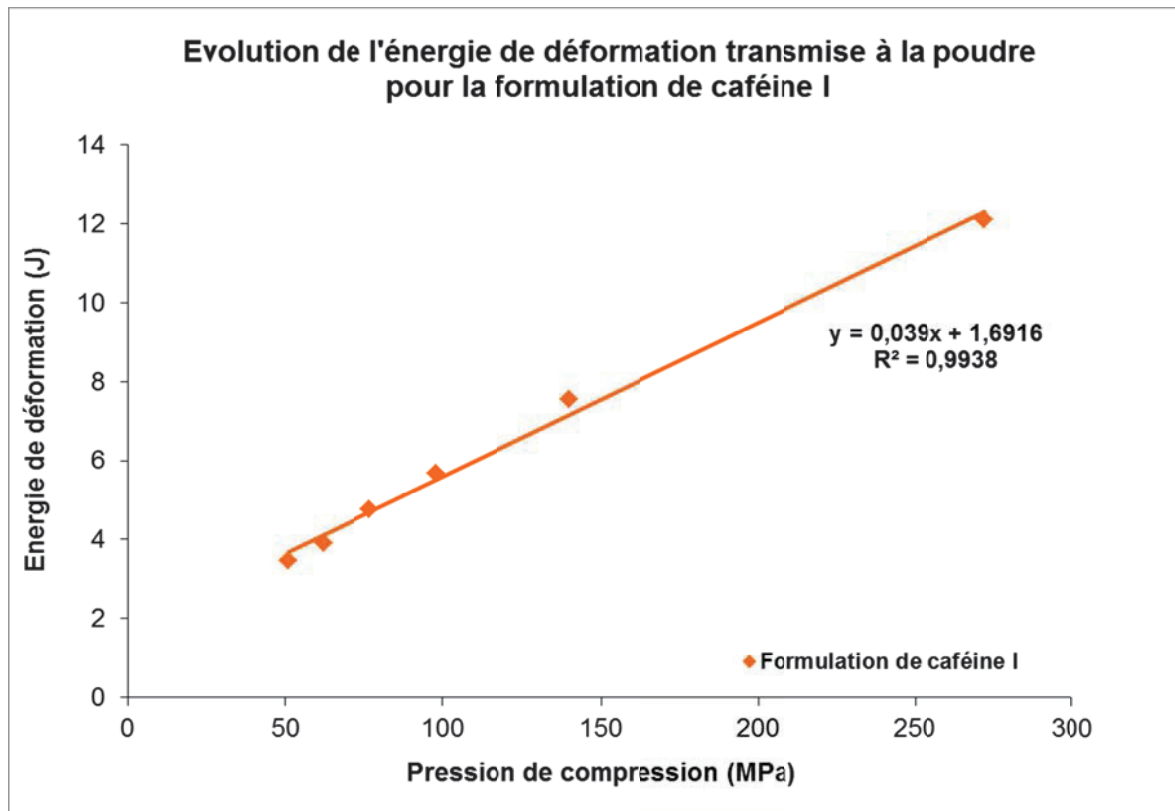


Figure III- 6 : Valeurs des énergies de déformations plastiques et fragmentaires lors de la compression de la formulation de caféine I + CMC

A.1.2.2 Modèle de Heckel

A l'aide du modèle de Heckel nous avons étudié le comportement de diverses formules comprenant de la caféine forme I (vrac ou calibrée) ou forme II (vrac) avec de la cellulose microcristalline (CMC) ou du phosphate de calcium.

Les courbes de porosité/pression des différentes formulations examinées sont tracées sur la **Figure III- 7**. Toutes les courbes contiennent une partie linéaire dont les pentes sont parfois différentes. Les fortes pentes de la partie linéaire, caféine I + Avicel[®] PH-102 et Avicel[®] PH-102, ont des comportements plus plastiques que celles à faibles pentes comme la caféine I + Encompress[®] anhydre.

Les valeurs du seuil d'écoulement plastique P_y confirment ce qui a été observé sur les courbes du modèle de Heckel (**Tableau III- 3**). Parmi les formulations de caféine I, celles utilisant la CMC ont des valeurs moyennes de P_y de 81 MPa. Dans cette gamme de valeurs, le comportement de la poudre est plastique. On notera que la cellulose seule est moins plastique que son mélange avec la caféine I dans les proportions de la formulation. On obtient un mélange très fragmentaire avec le phosphate de calcium avec un P_y de 225 MPa.

La taille des particules de caféine I joue un rôle en compression. La variation de la taille des particules de caféine est assez grande avec une répartition entre 10 μm et 400 μm . Lorsque la caféine I est divisée en deux fractions de tailles homogènes en masse (< 160 μm et > 160 μm), les mélanges montrent un comportement intermédiaire et des P_y de 125 MPa et 144 MPa. Cette augmentation de 40 MPa à 60 MPa peut s'expliquer par un agencement différent des particules entre elles et avec la cellulose.

Enfin, des mesures ont été réalisées sur la formulation de référence utilisant la cellulose avec de la caféine II. Elles montrent que le mélange se comporte différemment que la formulation de caféine I. Le mélange de caféine II est plus plastique que celui de caféine I. Cet exemple montre que deux polymorphes n'ont pas forcément les mêmes propriétés mécaniques. Cette particularité peut être envisagée lors du développement des nouvelles formes galéniques. Elle a été démontrée par Otsuka et *al.* (1999) dans le cas des polymorphes du phénobarbital. Les auteurs ont montré que la dureté des comprimés était différente pour les polymorphes A, B et F de ce principe actif.

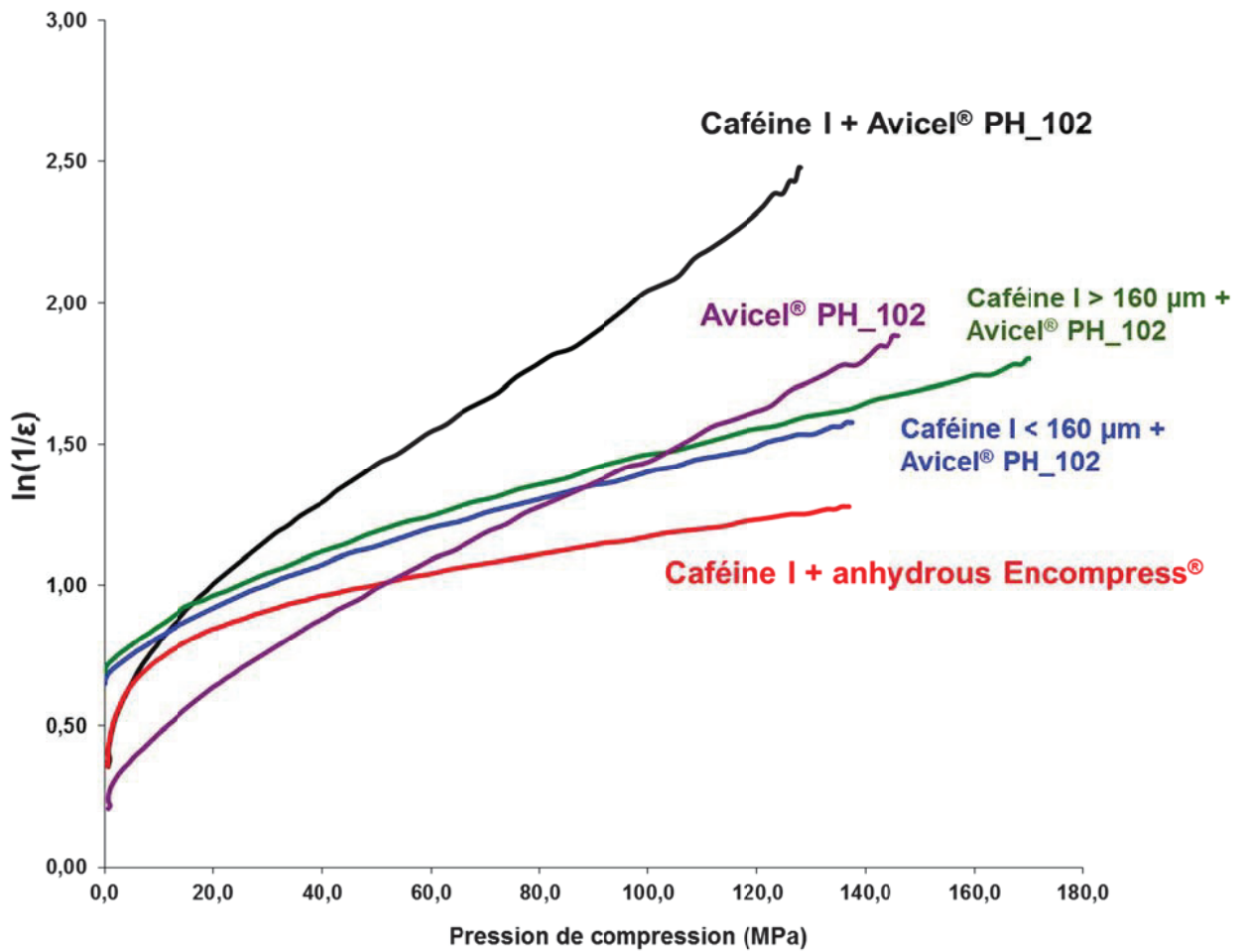


Figure III- 7 : Tracés des courbes de l'équation de Heckel appliquée à plusieurs mélanges de poudres

Code	Formulations	Seuil d'écoulement plastique P_y (MPa)	Comportement de la poudre en compression
-	Cafèine II (60% <i>m</i>) + Avicel® PH_102 (39% <i>m</i>)	71	plastique
Ref	Cafèine I (60% <i>m</i>) + Avicel® PH_102 (39% <i>m</i>)	80	plastique
A	Cafèine I (60% <i>m</i>) + Avicel® PH_200 (39% <i>m</i>)	82	plastique
-	Avicel® PH_102	91	intermédiaire
B	Cafèine I < 160 µm (60% <i>m</i>) + Avicel® PH_102 (39% <i>m</i>)	125	fragmentaire
C	Cafèine I > 160 µm (60% <i>m</i>) + Avicel® PH_102 (39% <i>m</i>)	144	fragmentaire
D	Cafèine I (60% <i>m</i>) + encompress anhydre (39% <i>m</i>)	225	très fragmentaire

Tableau III- 3 : Valeurs du seuil d'écoulement plastique P_y classées par ordre croissant pour les formulations étudiées



Comme nous l'avons fait remarquer dans les méthodes d'études par micro-indentation, la densité d'un matériau peut être déterminée via cette technique. L'intérêt dans notre cas est de la confronter aux données obtenues par micro-tomographie X.

Dans le cas de la micro-indentation, le volume analysé correspond à une demi-sphère dont le diamètre est trois fois supérieur à la taille de l'empreinte laissée par la pointe de l'indenteur. Cela signifie que dans cette étude le volume analysé ne dépasse jamais le millimètre de profondeur dans le comprimé. Nous obtenons par conséquent une analyse de la couche supérieure du comprimé. Les tailles moyennes des empreintes mesurées sur les comprimés en fonction de la densité réelle des comprimés ont été reportées sur la **Figure III- 8**. L'expérience a été réalisée pour deux séries de comprimés formulés avec de la CMC (sans caféine) et une série de comprimés formulés avec de la caféine I. Les valeurs moyennes de taille d'empreinte comprennent les mesures effectuées au bord et autour du centre de la surface supérieure des comprimés.

On observe que pour les trois cas, la relation entre la densité et la taille des empreintes est linéaire. La taille des empreintes diminue avec l'accroissement de la densité des comprimés, ce qui traduit une consolidation de la structure du comprimé avec la pression de compression. Ce premier résultat montre qu'il est possible de corrélérer simplement ces deux variables.

Les deux droites de la formulation ne contenant que de la cellulose sont plus pentues que celle de la formulation de caféine I. Ce résultat confirme ce qui était observé par micro-tomographie X sur la totalité du volume du comprimé. En effet, les variations de densité moyenne avec la pression de compression étaient déjà plus faibles pour la caféine I que pour la cellulose. La mesure en surface par indentation est en accord avec la mesure volumique par micro-tomographie X.

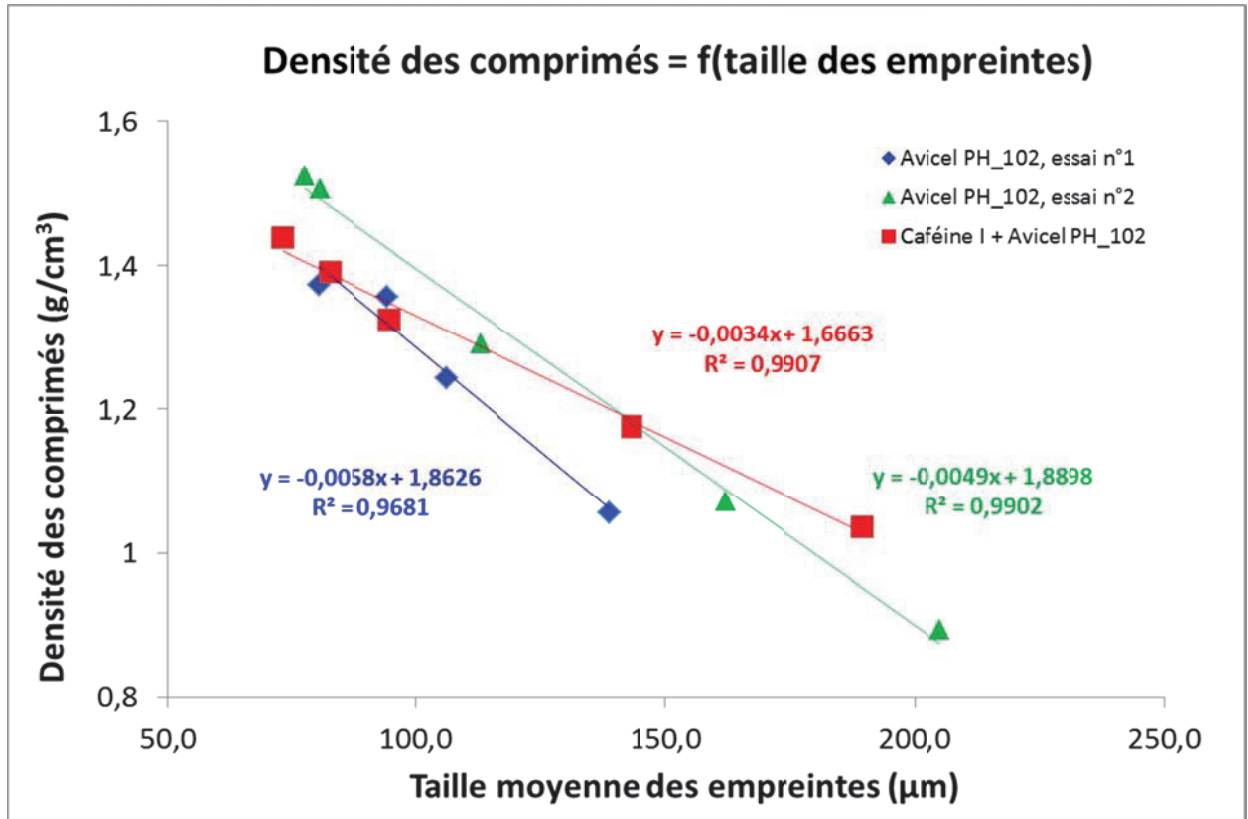


Figure III- 8 : Tailles des empreintes d'indentation mesurées à la surface supérieure des comprimés en fonction de la densité réelle des comprimés

Nous avons ensuite comparé les mesures réalisées au bord et autour du centre pour chaque série de comprimés (Figure III- 9 et Figure III- 10). Les points expérimentaux obtenus pour les deux séries de comprimés de CMC présentent des allures identiques. Les variations de tailles d'empreintes n'excèdent pas 10 µm pour des conditions équivalentes de compression.

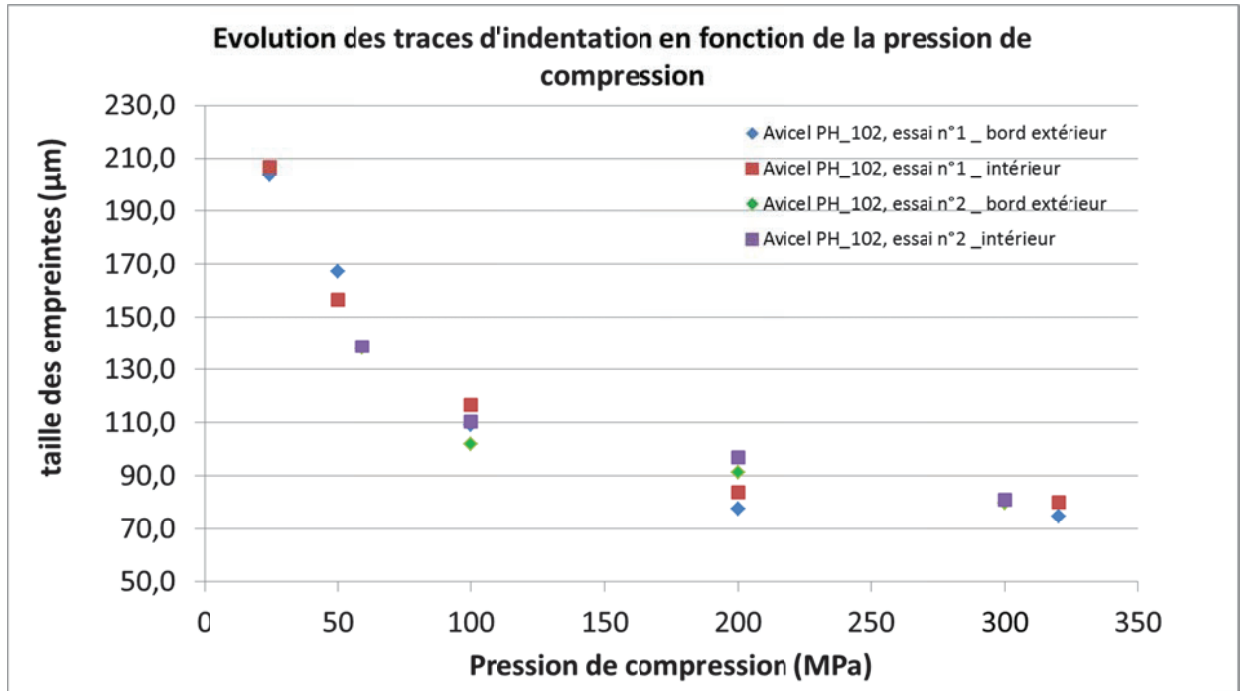


Figure III- 9 : Tailles des empreintes d’indentation des comprimés d’Avicel® PH-102 à différentes pressions aux bords et autour du centre de la surface supérieure

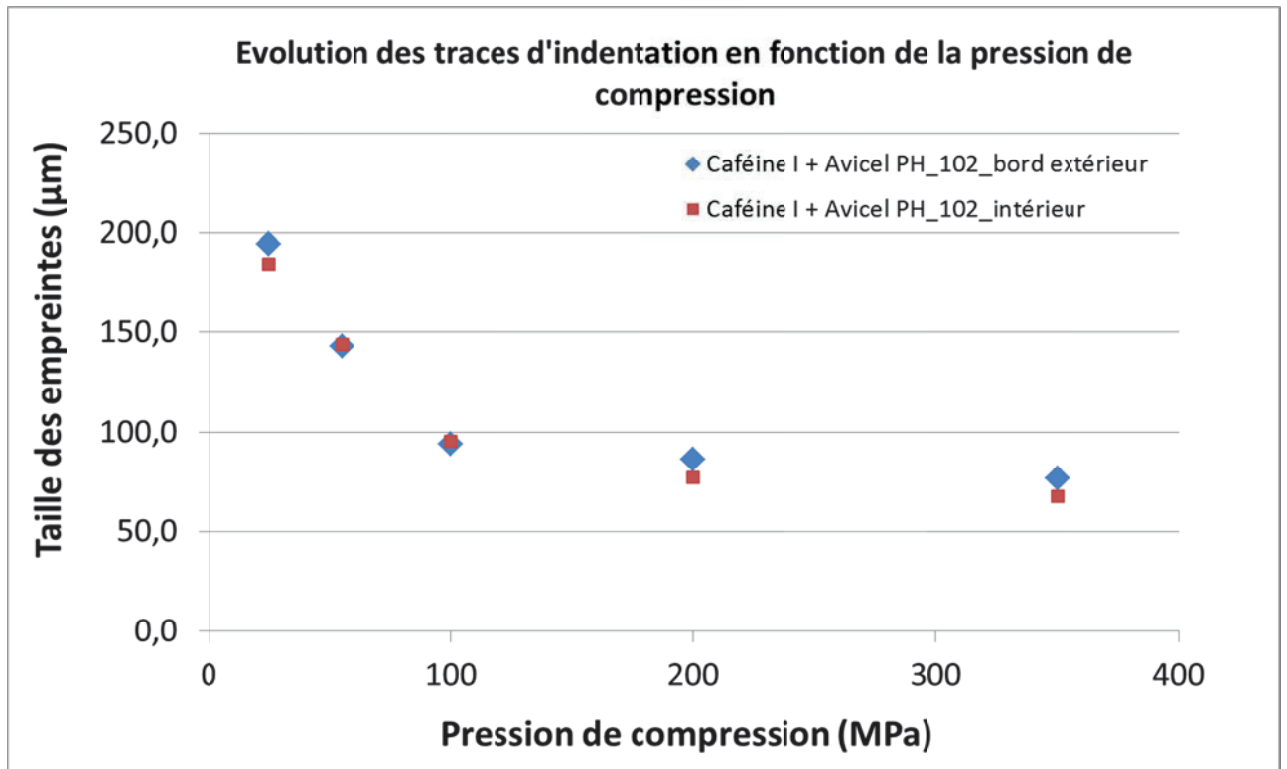


Figure III- 10 : Tailles des empreintes d’indentation des comprimés de caféine I à différentes pressions aux bords et autour du centre de la surface supérieure

De plus, les tailles d’empreintes ne varient pas de plus de 10 µm entre l’extérieur et le centre des comprimés pour les deux formulations. Si on compare ce résultat à ceux de la

micro-tomographie X on obtient les informations suivantes. Les variations de $0,1 \text{ g.cm}^{-3}$ estimées par micro-tomographie X correspondent à une différence de $30 \text{ }\mu\text{m}$ d'après les courbes d'étalonnage de la **Figure III- 8**. Or ce n'est jamais le cas pour la micro-indentation. Cela s'explique par la localisation de la mesure. En effet, la micro-tomographie X a permis de mettre en évidence des bandes plus dense de moins de 1 millimètre d'épaisseur au bord du comprimé. Pour des raisons expérimentales, les mesures de micro-indentation n'ont pu être effectuées qu'à partir de 1 mm de ce bord. Cette constatation est une limite de la technique. Dans ce cas l'analyse porte sur un volume comprenant une partie de la bordure dense du comprimé mais également un partie du matériau moins dense de l'autre côté de l'empreinte.

On conclura que la micro-indentation est une méthode rapide et efficace pour déterminer la densité moyenne d'un comprimé mais sa résolution spatiale est moindre que celle qui est permise par micro-tomographie X (en particulier au bord du comprimé).

A.1.4 Conclusion

Les outils de caractérisation utilisés dans cette partie apportent plusieurs enseignements sur les propriétés mécaniques des poudres. Dans un premier temps, l'étude de la densité des comprimés par micro-tomographie X a révélé des hétérogénéités entre le bord et le reste du volume des comprimés. Ces variations sont influencées par la nature de la poudre et éventuellement par la pression de compression dans le cas de la CMC. Deuxièmement, l'utilisation du modèle de Heckel a montré que les différentes formulations considérées ont des comportements mécaniques allant de plastique à fragmentaire. Une large zone de P_y est ainsi évaluée. Finalement, la micro-indentation à la surface des comprimés s'est révélée être un outil simple et fiable pour déterminer la densité moyenne des comprimés. Elle confirme les observations faites par micro-tomographie X dans ce domaine. Cependant elle n'apporte pas autant de précision localement, ce qui limite ses possibilités d'utilisation.

En conclusion, le procédé de compression et les comprimés de la formulation principale de caféine I ont été caractérisés.

A.2/ Estimation des transitions de phases par ACD

A.2.1/ Estimation de la transition de phase

Les échantillons prélevés sur les comprimés ont été choisis en fonction des connaissances sur la distribution des forces et des densités pour une compression uni-axiale (Train, 1956 ; Busignies et *al.*, 2004). En se basant sur ces travaux et les résultats expérimentaux de la section précédente, les plus grandes densités sont observées dans les coins supérieurs et au niveau du centre du comprimé. Les coins inférieurs reçoivent des forces plus faibles car le poinçon inférieur est statique. Ce phénomène provoque des densités plus basses dans cette zone. Les coins inférieur et supérieur ainsi que le cœur des comprimés ont par conséquent été choisis pour les analyses thermiques ACD.

Deux comprimés ont été analysés pour chaque série de comprimés (une série correspond à une pression de compression moyenne). La gamme de pression appliquée au cours de cette expérience était entre 70 MPa et 170 MPa. 170 MPa est la pression maximale atteignable dans les conditions expérimentales choisies (principalement le type d'appareil, la taille de la matrice, la formulation). Au-delà les comprimés sont endommagés dès leur éjection de la matrice.

La **Figure III- 11** représente l'évolution du taux de transition τ (*cf.* § II.C.1.2) dans les comprimés en fonction de la pression de compression. Les estimations de τ sont comprises entre 20% et 35%. L'écart relatif maximal entre deux valeurs pour un même comprimé (**Figure III- 11 (a)**) est de 10%. Le taux de transition τ du coin supérieur est toujours supérieur ou égal à celui des autres parties du comprimé. Néanmoins, il semble que le taux de transition soit peu dépendant de la zone analysée. En conséquence, τ peut être considéré comme constant dans tout le volume du comprimé. Les valeurs moyennes de τ_{moy} pour chaque comprimé (**Figure III- 11 (b)**) ont été calculées à partir des trois estimations réalisées pour chaque comprimé. τ_{moy} est compris entre 25 et 30% et n'est pas dépendant de la pression de compression.

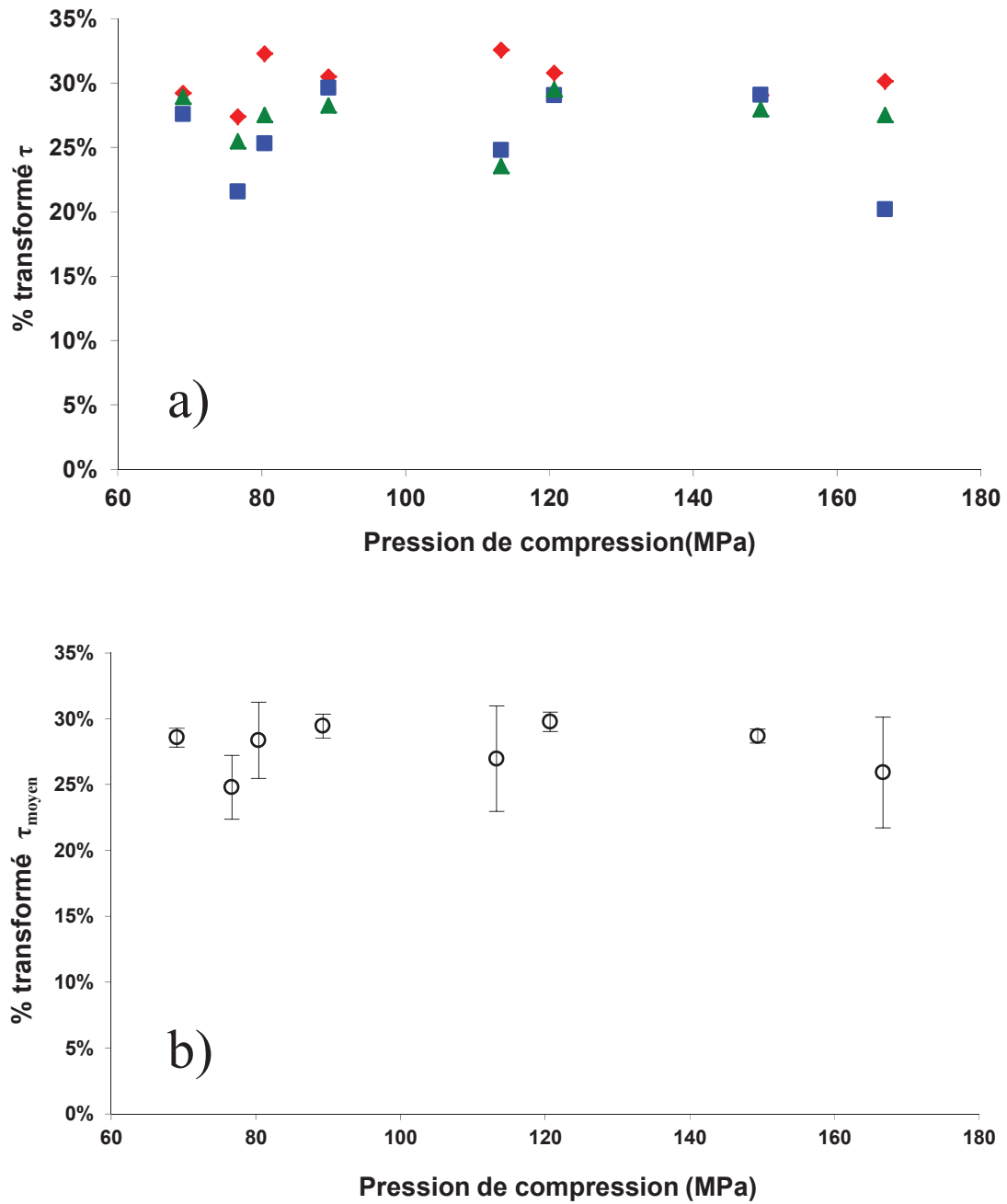


Figure III- 11 : Evolution du taux de transition τ en fonction de la pression de compression dans des comprimés a) (♦) face supérieure, (■) face inférieure, (▲) cœur du comprimé. b) Valeurs moyennes de τ dans chaque comprimé (○)

A.2.2.1/ Modification de la taille des particules de caféine forme I

La partie III.A.1.2.2 nous a montré qu'il est possible de modifier le comportement mécanique de la poudre en compression selon trois paramètres : la taille des particules de caféine forme I, la taille des particules et la nature physique du diluant (**Tableau III- 3**). Cette modification de comportement obtenue (plastique à fragmentaire) est-elle suffisante pour modifier le taux moyen de transition τ_{moy} de la caféine forme I ?

A.2.2.1/ Modification de la taille des particules de caféine forme I

Deux séries de comprimés basées sur les formules B et C contenant l'une ou l'autre distribution de caféine forme I (< 160 μ m et > 160 μ m) ont été fabriquées, en complément de la série principale de comprimés (formule REF en **Tableau III- 3**) pour laquelle la caféine forme I employée n'était pas calibrée. La répartition massique par classes de taille de la caféine I a été mesurée par tamisage (**Figure III- 12**). La taille des particules est inférieure à 400 μ m et la médiane de la distribution est située à 160 μ m. La distribution a été divisées en deux selon cette médiane.

L'influence de la pression de compression sur le taux de transformation de la caféine I pour ces deux séries de comprimés a été évaluée par ACD. Les mesures thermiques sont toujours effectuées au cœur et dans les coins supérieur et inférieur d'un comprimé. La moyenne des trois valeurs pour chaque comprimé est présentée en **Figure III- 13**. Il n'a pas été possible de réaliser ses mesures sur ces deux séries conjointement avec la série principale ce qui aurait permis de s'affranchir de la variabilité liée au lot de caféine forme I et au temps séparant la fabrication des comprimés et la mesure ACD.

Le taux moyen de transition τ_{moy} dans les comprimés est compris entre 10% et 15%, ce qui est inférieur de 10% au τ_{moy} mesuré dans la série principale (25%-30%). En revanche nous retrouvons bien qu'une variation de pression de compression n'affecte pas la valeur de τ_{moy} .

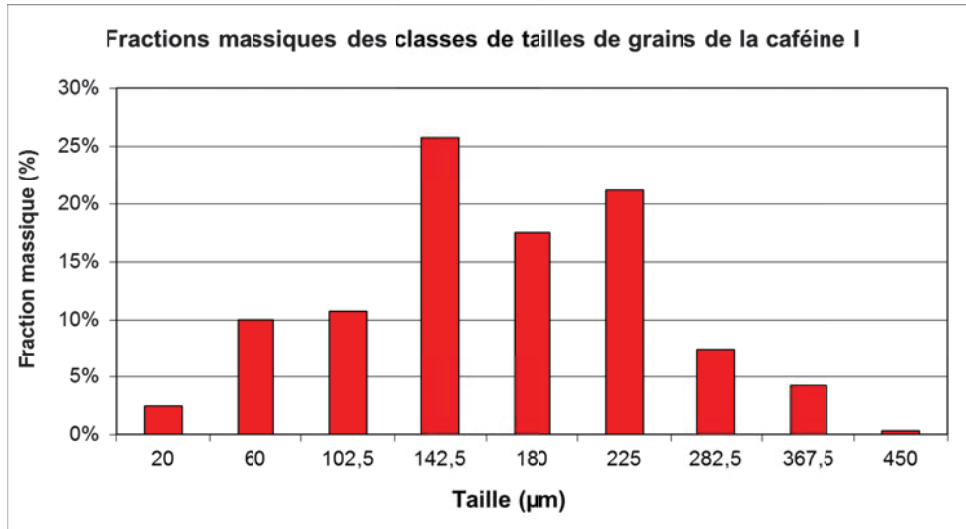


Figure III- 12 Répartition massique des tailles des particules de caféine I obtenue par tamisage

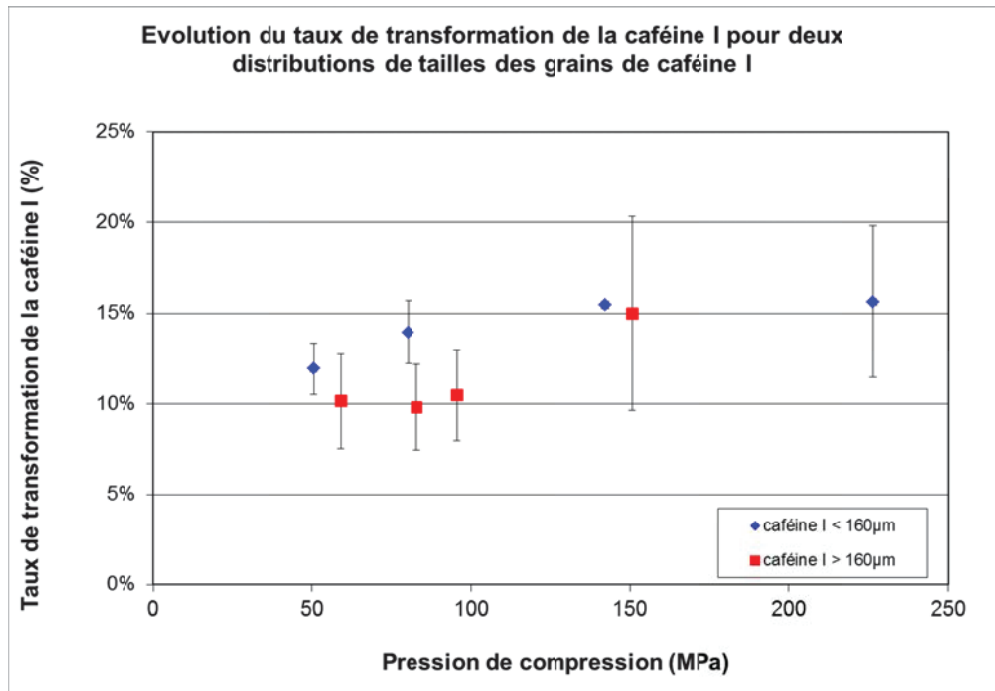


Figure III- 13 : Evolution du taux de transition moyen τ_{moy} en fonction de la pression de compression dans des comprimés contenant deux distributions de tailles de particules de caféine I

A.2.2.2/ Modification de la taille des particules d'excipient

L'effet de la taille des particules de l'excipient majoritaire sur le taux moyen de transformation a été évalué. Deux distributions de tailles adaptées à la compression directe ont été utilisées dans cette étude, l'Avicel[®] PH-102 (formule REF dans le tableau **Tableau III- 3**) et l'Avicel[®] PH-200 (formule A). La gamme PH-102 est celle utilisée dans la série principale; la taille moyenne des particules est de 114 μ m (granulométrie laser en voie sèche). La gamme PH-200 a une moyenne supérieure de taille de particules de 175 μ m (Ribet, 2003) et sera utilisée dans la formule A.

Simultanément, les deux séries de comprimés ont été fabriquées avec le même lot de caféine I, préalablement tamisée à 500 μ m puis leur taux de transformation moyen τ_{moy} mesuré par ACD selon le même protocole.

L'évolution de τ_{moy} en fonction de la pression de compression pour les deux formulations montre des valeurs similaires comprises entre 15% et 25% (**Figure III- 14**). De nouveau, nous ne relevons pas d'effet de la variation de pression de compression. Le changement opéré de distribution granulométrique de cet excipient n'a pas influencé significativement le τ_{moy} .

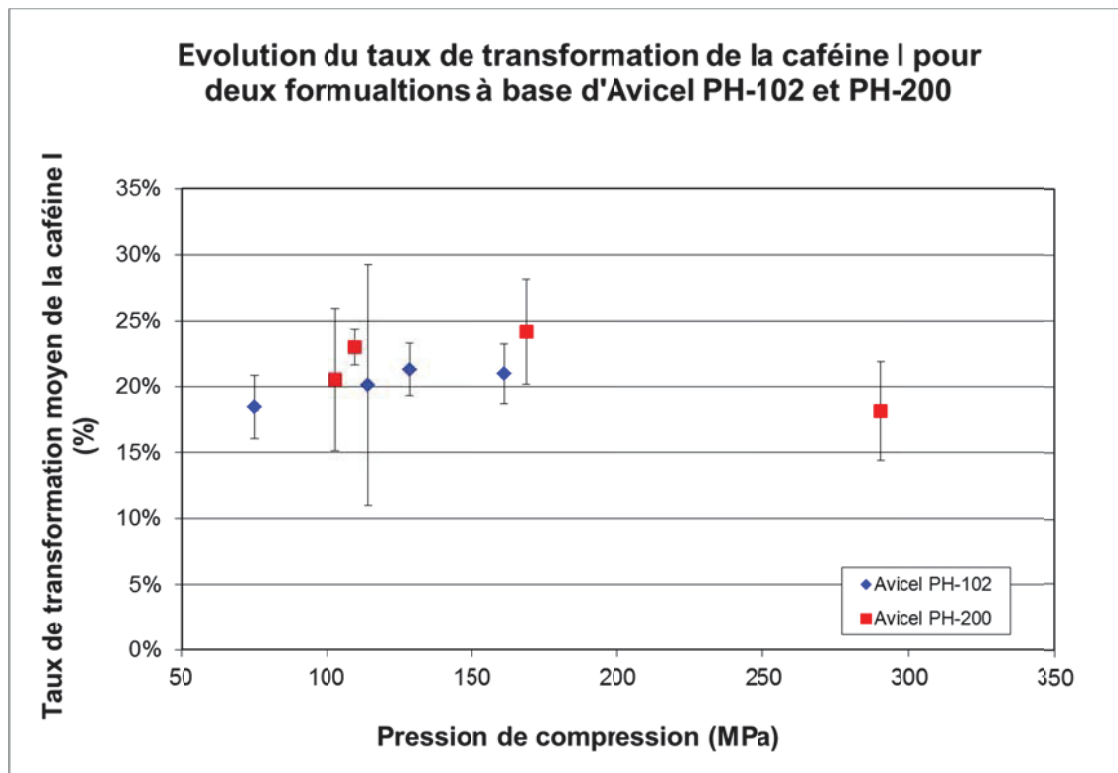


Figure III- 14 : Evolution du taux de transition moyen τ_{moy} en fonction de la pression de compression dans des comprimés contenant deux distributions de tailles de cellulose microcristalline

A.2.2.3/ Modification de la nature de l'excipient

L'excipient de la formule de référence a été remplacé dans les mêmes proportions massiques par du phosphate de calcium anhydre (Encompress[®] Anhydre) afin de conférer un comportement fragmentaire à la poudre en compression.

La compatibilité thermique entre l'Encompress[®] et la caféine a également été vérifiée au préalable. De nouveau, deux séries de comprimés basées sur les formulations D et REF (cf **Tableau III- 3**) sont fabriquées avec le même lot de caféine I, puis analysées par ACD.

Quel que soit l'excipient employé, les valeurs de τ_{moy} sont équivalentes et assez constantes avec la pression de compression (**Figure III- 15**), particulièrement dans le cas de la formule utilisant le phosphate de calcium.

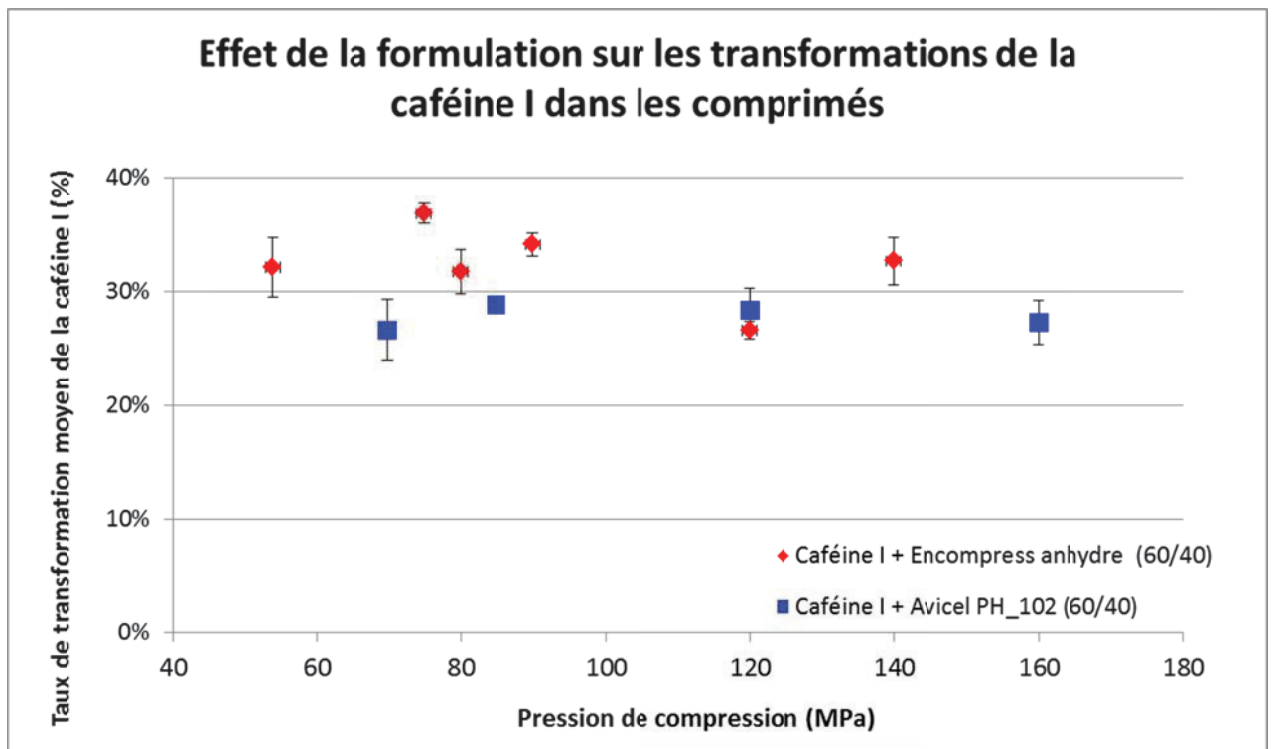


Figure III- 15 : Evolution du taux de transition moyen τ_{moy} de la caféine I en fonction de la pression de compression dans des comprimés contenant de la cellulose microcristalline (bleu) ou du phosphate de calcium anhydre (rouge)

A.2.2.4/ Discussion de l'influence du comportement mécanique de la poudre

Par l'intermédiaire des trois études précédentes nous avons vu qu'il était possible d'agir sur le comportement mécanique de la poudre en compression. L'effet des modifications apportées sur les transitions de phases peut se discuter en deux temps.

Premièrement aucune modification du taux de transformation moyen τ_{moy} n'a été observée par rapport à la formulation principale REF lorsque l'on agit sur l'excipient (taille des particules ou sa nature chimique et physique). Notons aussi qu'un comportement mécanique fragmentaire induit par l'excipient n'a pas influencé le taux de transformation de la caféine forme I. Le paramètre de seuil d'écoulement plastique P_y n'est donc pas suffisant dans cette étude pour expliquer une modification du taux de transformation.

Deuxièmement, une modification de τ_{moy} a été observée lorsque l'on agit sur la distribution de taille des particules de principe actif. Cela s'est traduit par une modification significative du comportement mécanique de la poudre de plastique à fragmentaire car l'accroissement du P_y est très nette (+40 à 65 MPa pour les formulations B et C). L'excipient utilisé étant le même que pour la formulation de référence, on peut supposer que ce sont majoritairement les grains de caféine I qui sont à l'origine de cette augmentation des événements de fragmentation. En effet, leur distribution étant plus homogène, le réarrangement des particules de caféine entre elles et avec l'excipient est moins aisé. Néanmoins il n'y a pas assez de données dans cette étude pour affirmer qu'un comportement fragmentaire lié à une distribution plus resserrée de tailles des particules de principe actif influe sur le taux de transition.

Nous pouvons simplement noter que l'influence de la taille de particules de principe actif sur la transformation polymorphique à l'état solide est largement mentionnée dans la littérature dans le cas du broyage. Une réduction de la taille se traduit assez fréquemment par l'occurrence d'une transformation polymorphique (Brittain, 2002) même si Minkov et *al.* (2011) rapportent un effet inverse dans le cas de la DL-cystéine.

A.4

La présence minoritaire d'un autre polymorphe dans une formule peut permettre un amorçage de la transformation lors du traitement mécanique du mélange. Ce fut le cas lors du broyage du palmitate de chloramphénicol (Otsuka et Kaneniwa, 1986). La présence de 1% de la forme A dans la forme B a accéléré la transformation de B en A lors du processus de broyage de B. Ce fut également le cas pour la transformation de C en B avec 1% de B. Les auteurs avancent l'hypothèse que le contact entre formes polymorphiques est possible en raison de la durée de l'opération (15 minutes) et est accru par la diminution des tailles.

Dans le cas de la caféine et pour le procédé de compression directe, une amorce de 20% massique de caféine II vis-à-vis de la forme I (Forme I/Forme II/CMC = 12/48/40 p/p) a été ajoutée à la formulation de CMC. Notons que le comportement mécanique de cette formule est toujours plastique. L'effet de cet ajout a été mesuré en déterminant le taux de transformation de la forme I dans les comprimés. La quantité initiale de forme II a été soustraite de la quantité totale de forme II présente dans les comprimés. Les valeurs de taux de transition τ ont été comparées à un lot de comprimés témoins fabriqués le même jour avec la formulation référence de caféine I (**Figure III- 16**).

Les conséquences de l'ajout de caféine II ne sont pas notables par rapport à la formulation de référence. Le taux de transition semble constant dans les deux cas et sa valeur moyenne est de 22% pour la formulation de caféine I et de 20% pour la formulation amorcée. A la différence du broyage, le procédé de compression ne semble pas provoquer une interaction suffisante, en termes de durée de contact ou d'intensité, entre les deux systèmes cristallins. Par extension on peut imaginer que la présence d'une forme polymorphique indésirable en faible quantité dans la poudre avant compression en raison d'une pollution accidentelle ne devrait pas se traduire par une transition polymorphique lors de la compression.

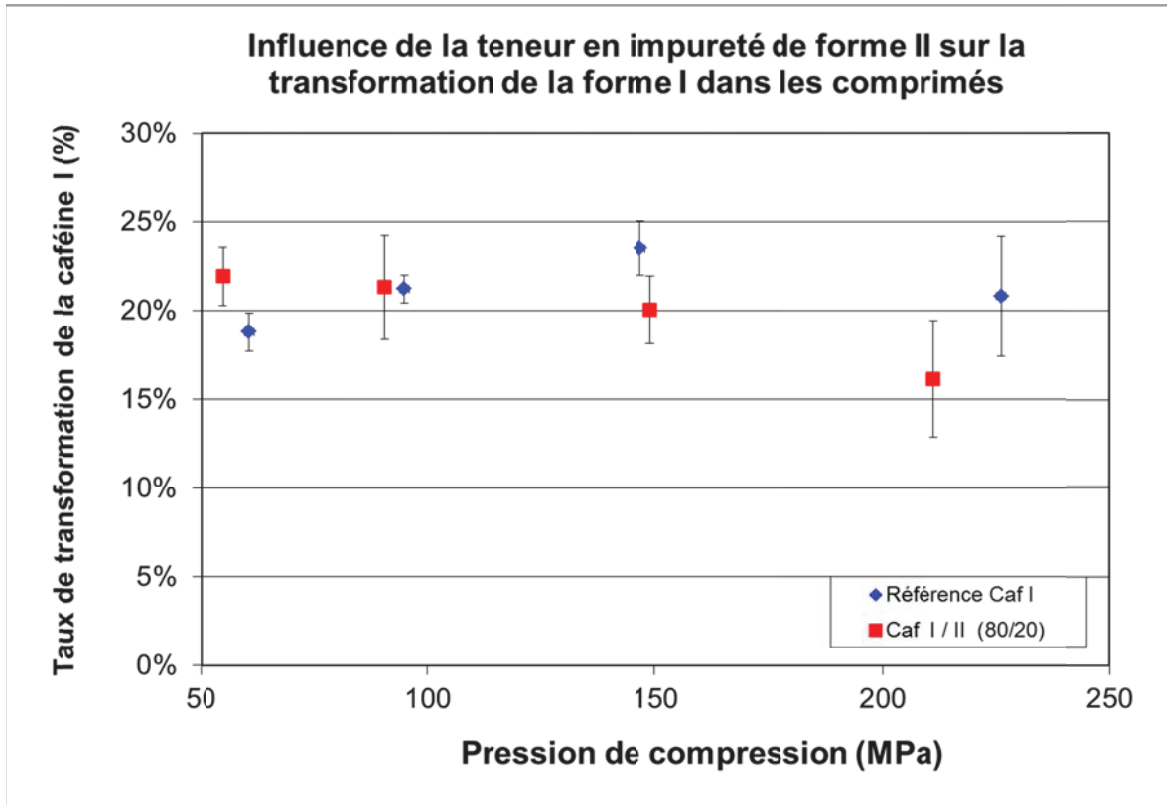


Figure III- 16 : Evolution du taux de transition τ en fonction de la pression de compression dans des comprimés de caféine I (bleu) et avec fraction de caféine II (rouge)

A. Influence de la cinétique de transformation de la caféine

Des échantillons de caféine I fraîchement préparée ont été placés respectivement dans des enceintes à 8°C et 30°C pendant une période de 40 jours. L'évolution du taux de transformation a été mesurée par ACD pendant cette période et représentée sur la **Figure III-17**. Nous constatons que l'évolution du taux de transformation est assez régulière pour chaque isotherme. La transformation semble commencer dès le début mais à des vitesses différentes en fonction de la température. L'absence de plateau initial peut laisser suggérer que la transformation est contrôlée par la germination et non par la croissance de la caféine forme II.

Nous remarquons également que la cinétique évolue avec la température de conservation. Un écart de 5% apparaît après environ 7 jours entre les deux températures et il se maintient jusqu'à la fin de l'expérience.

Ces données montrent qu'il est nécessaire d'attendre au minimum 20 jours (à 30°C) pour obtenir un taux de transformation de 15% et 40 jours (à 30°C) pour atteindre 20% de transformation.

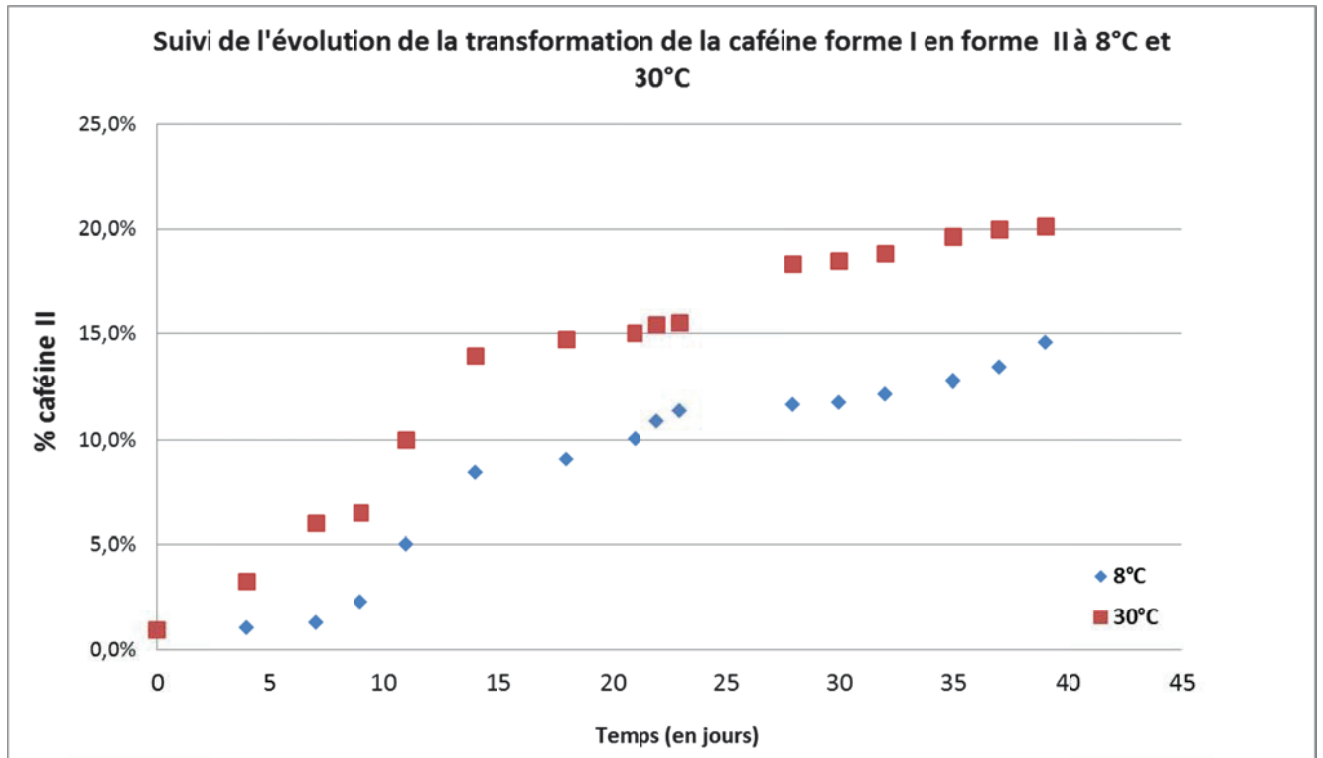


Figure III- 17 : Cinétique isotherme de transformation de la caféine I à 8°C et 30°C sur une période de 40 jours et mesurée par ACD

Cette étude a été complétée par une comparaison entre l'évolution du taux de transformation de la poudre de caféine I et des comprimés à base de caféine I. Les échantillons utilisés ont tous été conservés dans des récipients fermés et à température ambiante à pression atmosphérique. Cette étude a été menée sur 2 ans. Les résultats sont présentés dans le **Tableau III- 4**.

Nous remarquons tout d'abord que la caféine est transformée sitôt la compression terminée alors que la poudre ne l'est pas. Ceci démontre bien que la transformation de la caféine forme I en forme II est induite par la compression. L'écart est à ce moment précis de 25%. L'évolution pendant les deux années montre que cet écart a tendance à progressivement diminuer jusqu'à atteindre environ 10% mais il est toujours en faveur du comprimé.

De plus, le taux de transformation de la poudre après 2 ans est de 31% alors qu'il était compris entre 15% et 20% (à T ambiante) après 40 jours. Nous constatons donc une forte baisse de la vitesse de transformation avec le temps.

	Temps	1 jour	3 mois	6 mois	1 an	2 ans
Taux de transformation (%)	Poudre de caféine I	0%*	16,7%*	19,4%*	24,8%*	30,8%*
	Comprimé de caféine I	15%** - 25%*	25,2%**	37,8%*	-	41,3%*

* poudre et comprimés (150 MPa) issus du même lot de caféine I

** comprimés (175 MPa) issus de l'étude Raman en hautes fréquences

Tableau III- 4 : Suivi pendant 2 ans de la transformation de la caféine I en poudre et dans des comprimés formulés avec de la CMC

A.3/ Estimation des transitions de phase par spectrométrie Raman

A.3.1/ Imagerie Raman à basses fréquences

Chaque spectre enregistré au cours de la procédure de cartographie a été analysé séparément des autres. Cette méthodologie est longue car l'appareil n'est pas pourvu d'un logiciel de traitement automatique des spectres. C'est pour cela que la zone analysée à la surface du comprimé est simplement de 150 μm par 50 μm . Les zones étant réduites, elles ont été choisies lorsque la présence de caféine était suffisamment bien détectée par spectroscopie Raman.

Au cours du traitement, aucun spectre correspondant exactement à la forme I ou à la forme II de la caféine n'a été identifié. Tous les spectres sont constitués du double pic de la forme II avec une intensité variable comme présenté dans l'exemple en **Figure II- 34** du chapitre II. Cela montre qu'une transition de phase solide forme I \rightarrow forme II s'est produite au cours de la compression. Aucune forme pure n'ayant été identifiée, nous ne sommes pas en présence de grains de forme I et de forme II mélangés. Les deux formes coexistent donc à l'intérieur des grains à une échelle inférieure au micron. Cette technique permet donc de montrer que les formes I et II sont parties intégrantes des cristaux à l'échelle de 5 μm^3 .

Les images bidimensionnelles de la surface des comprimés correspondent aux degrés de transition ρ de la forme I en forme II et sont présentées sur la **Figure III- 18** avec une échelle de couleur de 0% (bleu foncé) à 100% (rouge).

Aucune des valeurs estimées de ρ n'est négative ou supérieure à 100%. Excepté pour 120 MPa, les images montrent une large distribution de ρ . Nous sommes en présence de zones où les transitions sont presque nulles et qui sont entourées de zones à taux élevé de transformation. A 120 MPa, ρ est d'environ 70% avec une variation d'amplitude de 10%.

Les degrés de transition moyens ρ_{moyen} calculés pour chaque image (moyenne des 66 spectres de l'image) sont compris entre 50% et 70%. Cependant, il n'est pas évident de dresser une conclusion à propos de l'effet de la pression par cette technique car elle ne reflète qu'une petite partie du volume total du comprimé.

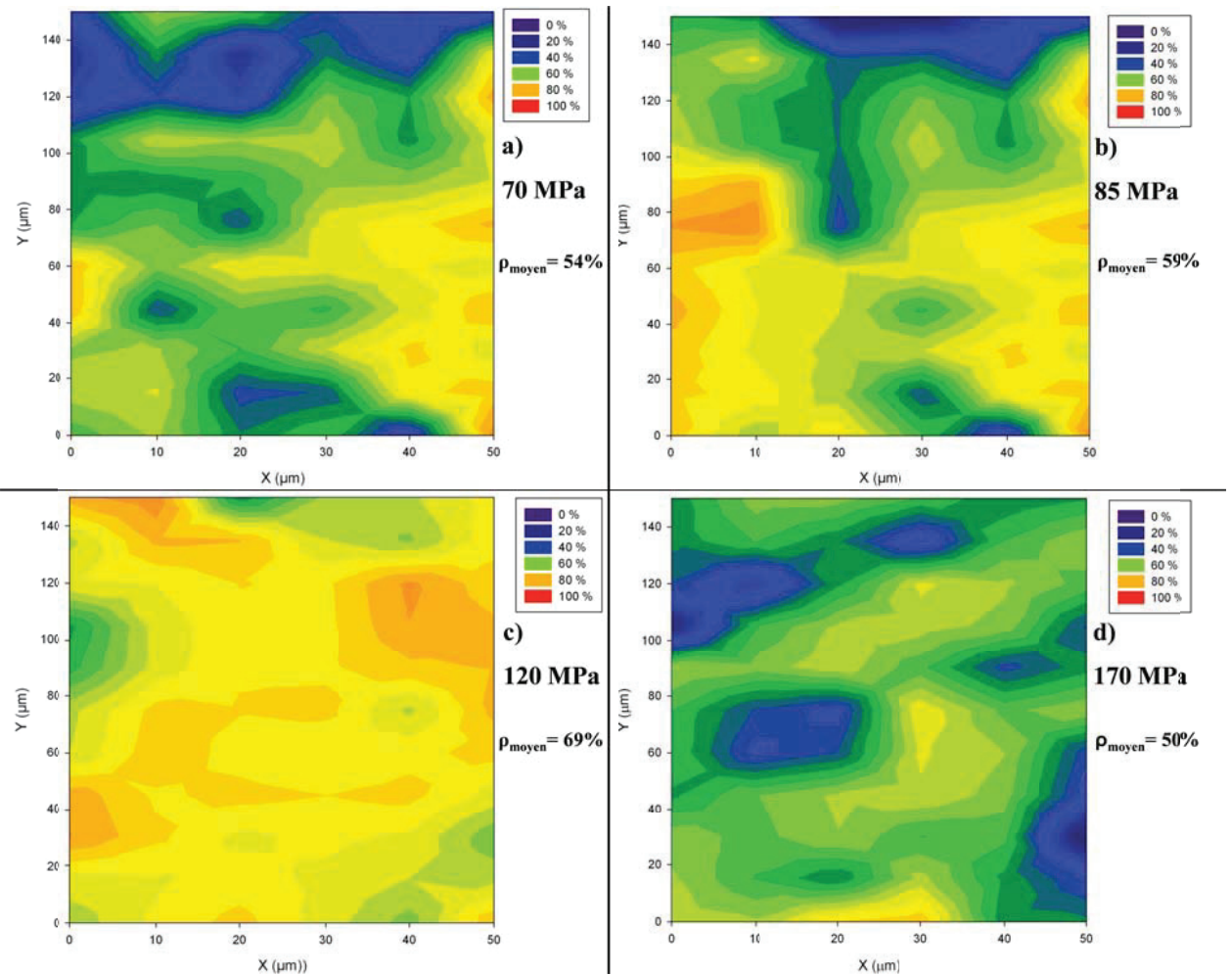


Figure III- 18 : Cartographies Raman à basses fréquences du taux de transition ρ réalisées pour 4 échantillons de surface de comprimés à des pressions différentes de compression. En bleu foncé le taux de transition est de 0% et en rouge le taux de transition est de 100%.

En complément des zones cartographiées en surface, quelques spectres ont été collectés sur les sections de comprimés (fabriqués à 70 MPa et 170 MPa) cassés manuellement. Aucune cartographie n'a été réalisée dans cette partie accidentée car elle aurait nécessité une surface parfaitement lisse et le lissage ou le ponçage risquait d'altérer la composition polymorphique de cristallites analysées. Quel que soit le comprimé analysé, l'estimation du degré de transition ρ est de 40% à 50% ce qui est plus faible qu'à la surface des comprimés. Ce résultat met ainsi en évidence une différence de taux de transition entre le cœur et la surface du comprimé de l'ordre de 20% à 30%. Néanmoins cette valeur n'est qu'informatrice compte tenu de la faible quantité de données.

Enfin, la poudre de caféine de forme I utilisée pour la compression a été analysée conjointement avec les comprimés avec cette technique. Trois jours de stockage à 8°C du

principe actif et des comprimés ont séparé la compression de l'analyse spectrale. La présence de la forme II n'est pas détectée dans la poudre de caféine I contrairement aux comprimés. La compression a donc été promoteur de la transition à la surface des comprimés.

A.3.2/ Imagerie Raman à hautes fréquences

L'utilisation de la spectroscopie Raman à basses fréquences a montré qu'il est possible de quantifier les polymorphes de la caféine très précisément en utilisant une résolution spatiale de 10 μm . De plus, le traitement du signal ne permet aucun doute sur l'interprétation et la quantification des deux phases. Cependant cette technique a montré certaines limites. Premièrement, le nombre de points par acquisition était limité par le traitement des spectres. Celui-ci s'effectuait manuellement spectre par spectre. De plus, le spectromètre Raman utilisé n'était pas un outil conventionnel que l'on peut trouver dans tous les laboratoires. Il est doté d'un système pouvant observer de très basses fréquences ($< 10 \text{ cm}^{-1}$) avec une grande résolution spectrale ($0,5 \text{ cm}^{-1}$).

Dans le but d'automatiser le traitement des spectres et d'augmenter la capacité d'acquisition des spectres, une seconde étude a été réalisée. Elle porte sur l'acquisition de spectres Raman selon la méthode point par point à hautes fréquences à la surface des comprimés. L'objectif est de pouvoir déterminer les deux formes polymorphiques de la caféine ainsi que les excipients de la formulation.

A.3.2.1/ Evaluation des transitions de phases de la caféine I en compression

Des cartographies de la surface supérieure des comprimés ont été réalisées pour différentes pressions de compression. Sur chaque comprimé, une partie centrale de la surface ainsi qu'une partie proche du bord ont été observées (**Figure III- 19**).

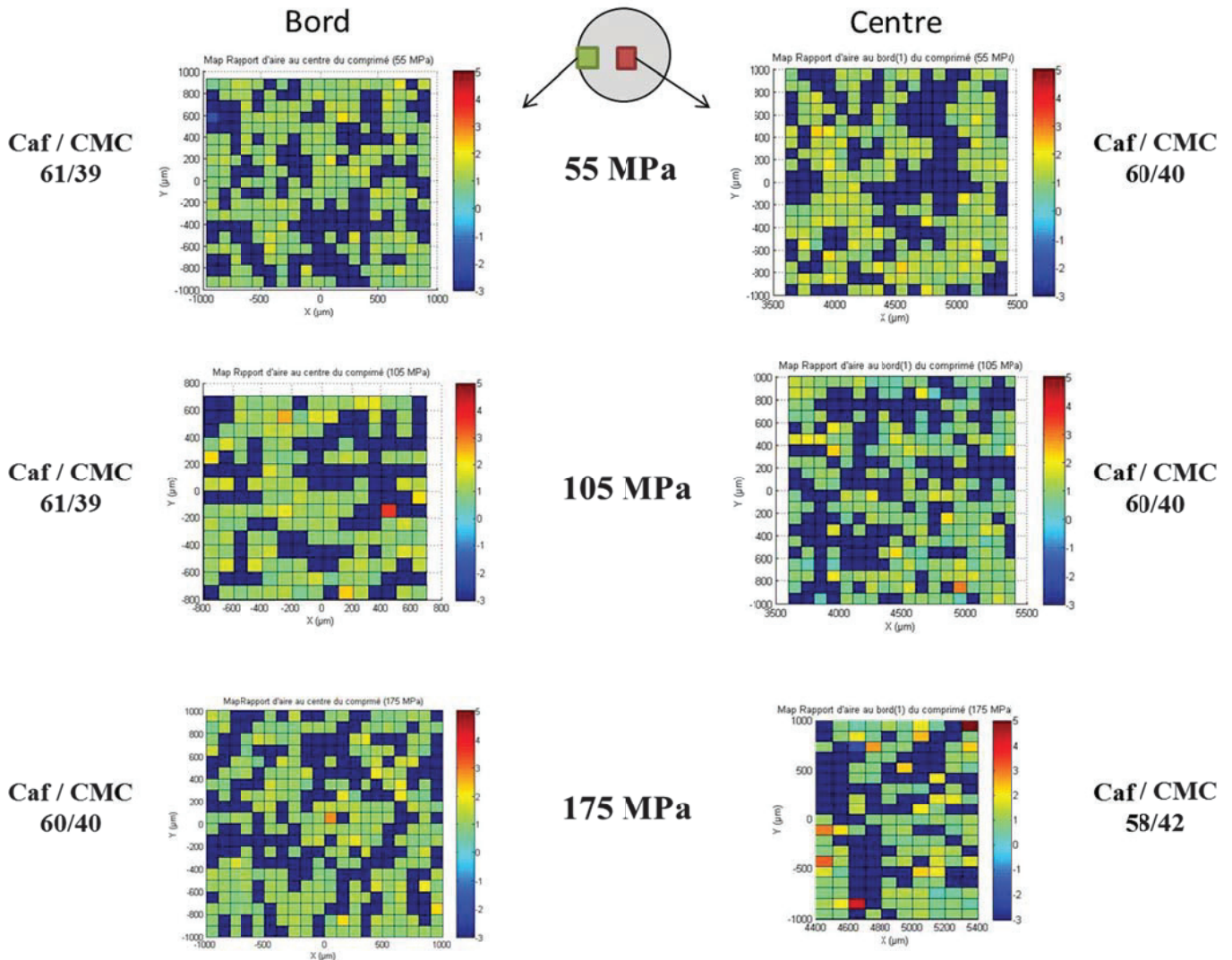


Figure III- 19 : Cartographies Raman à hautes fréquences des surfaces supérieures des comprimés. CMC : bleu, caféine : de 1 (forme I) à 5 (forme II)

Les ratios entre caféine et CMC ont été calculés pour chaque cartographie et indiqués sur la **Figure III- 19**. On remarque que ces ratios sont constants sur toutes les cartographies avec des écarts d'au plus de 2% relatif et correspondent aux proportions des constituants de la formule. Les particules ne semblent pas réparties uniformément à la surface. Des agglomérats de caféine et de CMC sont distingués sur toutes les cartographies. Leurs tailles peuvent atteindre plusieurs centaines de microns, ce qui dépasse la taille moyenne des grains. Cependant la résolution des analyses étant de 100 μm , on peut supposer que tous les détails concernant la forme des particules ne sont pas visibles sur les cartographies.

Les zones de couleur bleue sont relatives à la CMC et celles de couleur verte à rouge à la caféine. Dans les zones de présence de caféine, la couleur qui domine est le vert correspondant à la caféine forme I. Le début de la transition de la caféine de forme I à II est visualisé par les zones de couleur jaune qui sont en quantité minoritaire. Un très faible nombre de zones orange et rouges correspondant à un fort degré de transition sont détectées. La proportion des zones dont la valeur est supérieure à 1,0 dans l'échelle de couleur est en moyenne de 10 %, ce qui traduit bien que la transition est peu détectée en surface du comprimé sitôt la compression réalisée. Pour plus de précision, les histogrammes de répartition des rapports d'aires qui confirment cette observation sont en **annexe E**.

De plus, les cartographies ne montrent pas de différence significative de transition de la caféine forme I selon la localisation de la zone (bord ou centre) et selon la pression de compression.

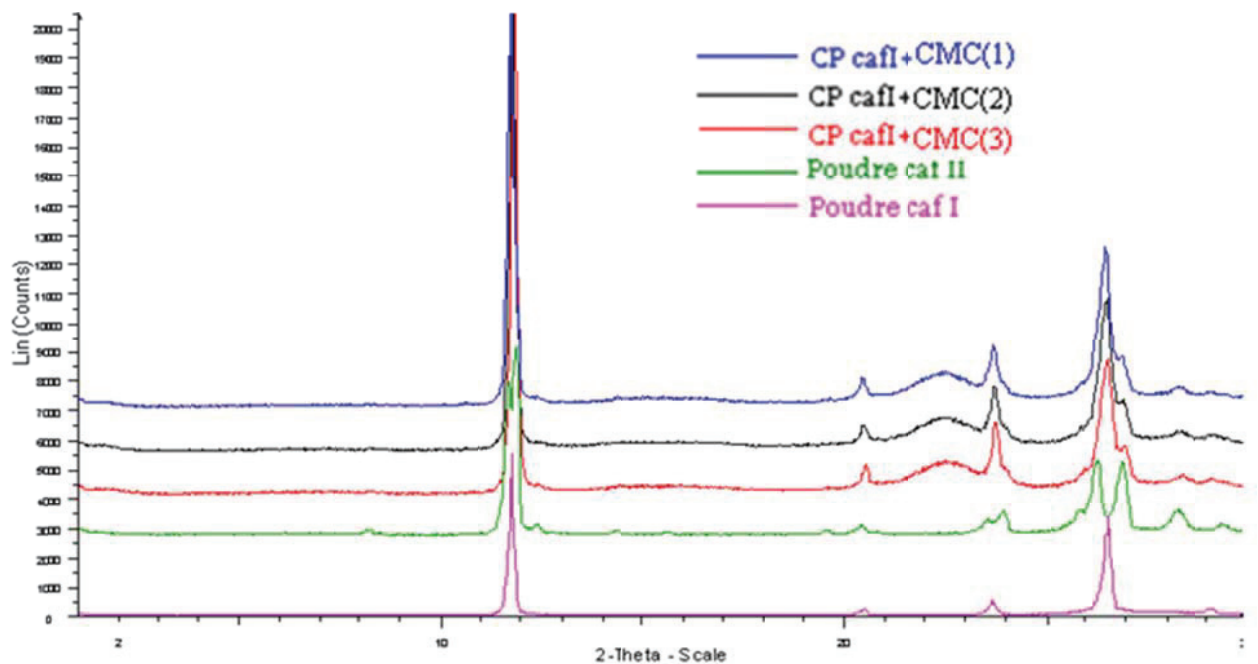


Figure III- 20 : Diffractogrammes RX des comprimés formulés de caféine, de poudres de caféine I et de caféine II

Les comprimés cartographiés ont également été analysés par des techniques complémentaires qui sont la DRX sur poudre et l'ACD. Trois diffractogrammes RX ont été réalisés à la surface supérieure de trois comprimés fabriqués et comparés aux diffractogrammes de la caféine I et de la caféine II (**Figure III- 20**). Les trois

diffractogrammes des comprimés sont identiques et ils présentent tous les composantes caractéristiques des deux formes I et II de la caféine entre 26° et 27° de l'angle 2θ . La forme I est majoritaire car l'intensité du pic correspondant est plus grande. Aucune quantification de la composition polymorphique à partir de ces spectres n'a été effectuée.

Les analyses ACD ont été réalisées sur le bord et au cœur des comprimés à différentes pressions (**Figure III- 21**). Les transformations de la caféine I après compression sont estimées à 15% environ sans influence de la pression de compression. Aucune différence n'est observée entre le bord et le centre des comprimés.

Les cartographies de la **Figure III- 19** sont en accord avec ces mesures ACD car il n'y a pas de dépendance de la transition radialement en surface du comprimé et selon la pression de compression.

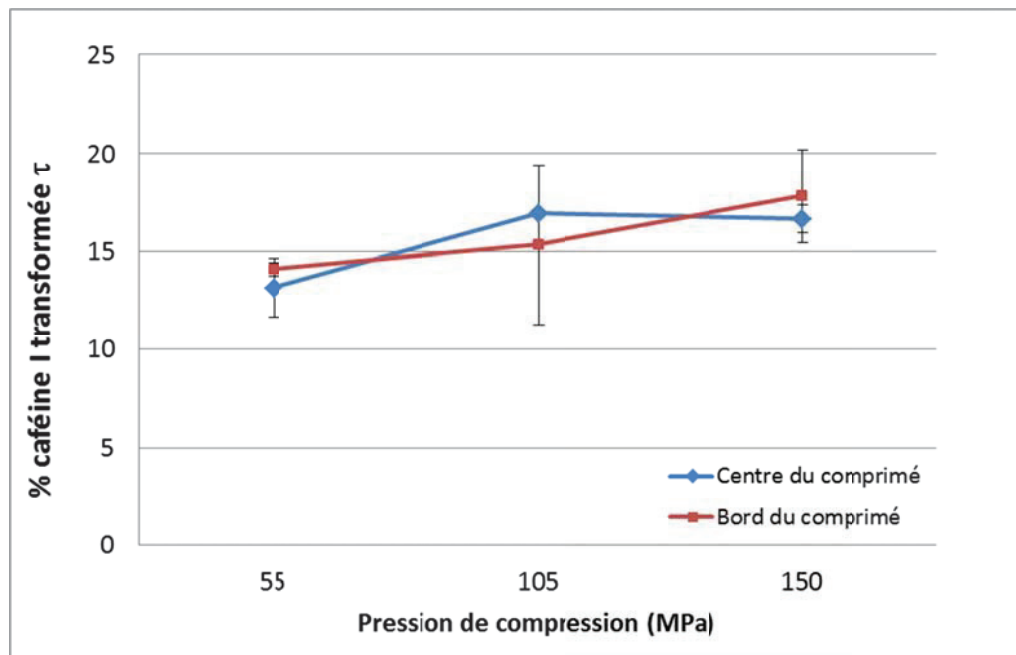


Figure III- 21 : Taux de transformation mesuré par ACD dans des comprimés de caféine I utilisés pour les cartographies à hautes fréquences.

A.3.2.2/ Effet de la cinétique de transformation

L'utilisation de la spectroscopie Raman à hautes fréquences n'a pas permis de démontrer que des transformations de la caféine I ont lieu dans les comprimés dans les jours suivant la compression. Une étude cinétique a été menée pour étudier l'évolution de la transition caféine I \rightarrow II dans les comprimés après une durée prolongée de conservation. Les comprimés ont été

conservés dans des récipients fermés à température ambiante pendant une période de trois mois.

Les résultats de cette étude sont représentés sur la **Figure III- 22** sous la forme de répartitions en nombre des rapports d'aires des cartographies. La répartition du comprimé de référence *Cp1* d'un mélange de caféine formes I et II est indiquée en bleu. La distribution correspondant à un comprimé fraîchement fabriqué (moins de deux jours) est tracée en rose. On remarque que cette distribution est quasiment centrée sur la forme I, aucune transition de phase n'est franchement détectée en surface du comprimé.

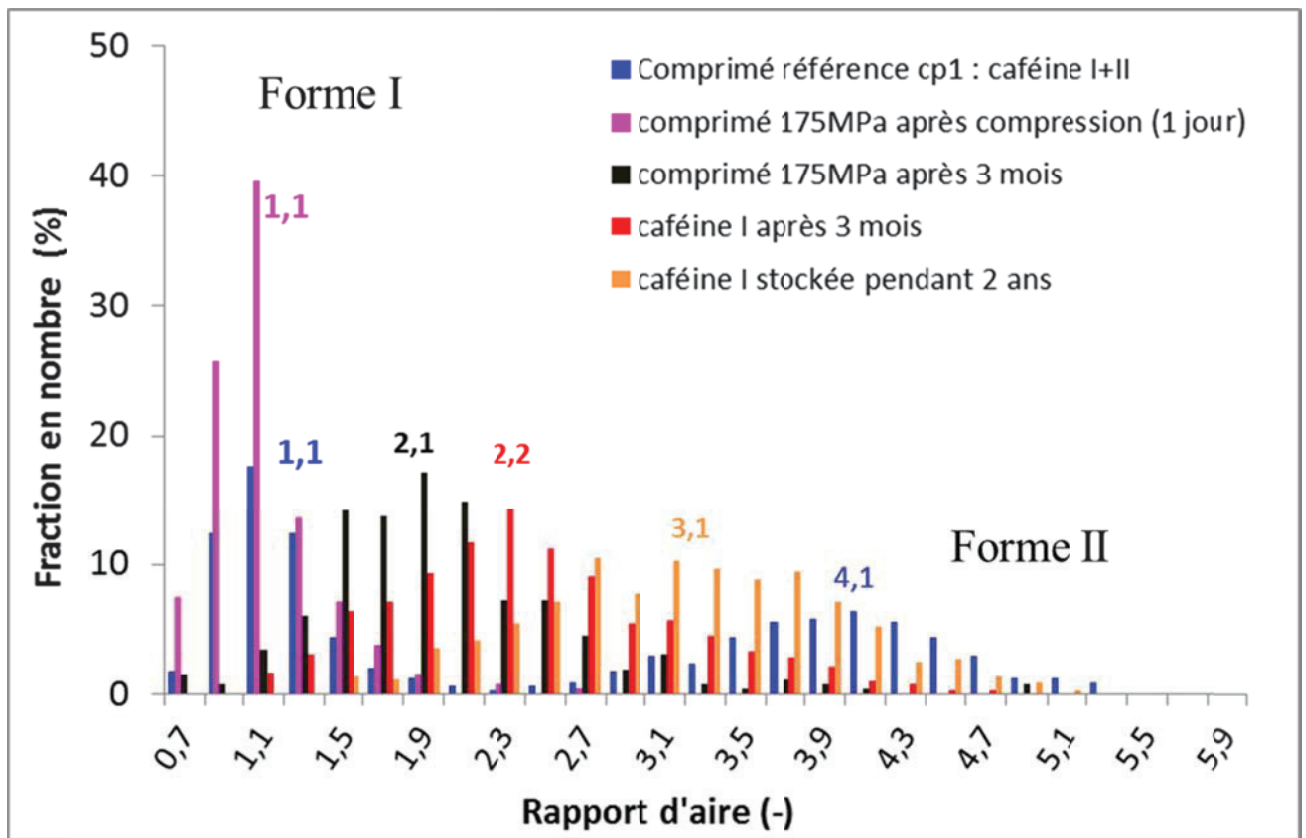


Figure III- 22 : Répartition des rapports d'aires du comprimé de référence cp1, de comprimés à différents instants après leur fabrication et de poudre de caféine I mise sous forme de comprimé manuellement

Le même comprimé a été cartographié trois mois après et le résultat a également été représenté (en noir sur la figure). Une distribution apparaît et elle est centrée sur la position de rapport d'aire 1,9. La caféine I non comprimée provenant du même lot que celle de ce comprimé a été cartographiée (via un comprimé fabriqué manuellement) et la répartition centrée sur 2,2 apparaît en rouge sur le graphique. La dernière distribution observable et centrée sur 3,1 correspond à de la caféine I non comprimée stockée pendant une période de deux ans dans les conditions ambiantes et comprimée manuellement pour les besoins de

l'analyse. Cette distribution ne se superpose pas complètement avec la distribution de la forme II centrée sur un rapport d'aires de 4,1. Nous ne possédons pas d'analyse intermédiaire du comprimé et de la caféine forme I non comprimée avant trois mois et d'analyse d'une cartographie sur un comprimé conservé pendant plusieurs années.

Premièrement, nous savons que la caféine I est partiellement transformée en forme II au cours du temps d'après les analyses ACD. Cette transformation se traduit par une modification progressive de la distribution des rapports d'aires. Il est donc possible de suivre la transformation de la caféine I par l'analyse en spectroscopie Raman à hautes fréquences. L'évolution de la distribution de rapport d'aires apparaît par le déplacement unique d'une population et non par une diminution d'une population de rapport d'aires centrée sur 1,0 (forme I) remplacée progressivement par une population de rapport d'aires centrée sur 4,1 (forme II). Cela signifie-t-il que la structure cristalline dans la particule de caféine se transforme progressivement, ou bien qu'il existe une forme polymorphique intermédiaire aux formes I et II ? Ce point sera discuté au paragraphe *A.4.3* en regard de la littérature et des analyses à basses fréquences. Il est donc possible d'exprimer la transformation de la caféine I par l'analyse en spectroscopie Raman à hautes fréquences. Néanmoins, aucune méthode quantitative n'a été mise au point pour le moment nous permettant de relier le déplacement de la distribution des rapports d'aires avec la composition polymorphique. Elle nécessiterait la conduite d'une expérience cinétique maîtrisée de la transformation de la caféine I en caféine II par l'intermédiaire d'une isotherme de température par exemple.

Deuxièmement nous constatons que le comprimé fraîchement fabriqué présente peu ou pas de transformation comme expliqué dans la partie précédente. Après une période de trois mois, la différence entre les distributions noire et rouge est minime ce qui signifie que la transition de la forme I non comprimée à 3 mois est équivalente à celle mesurée en surface du comprimé. Or ce n'est pas le cas pour l'analyse thermique où le comprimé est transformé à 10% de plus (cf. **Tableau III- 4**). Après 2 ans de vieillissement, la transition de la forme I mesurée par spectroscopie Raman à hautes fréquences est plus importante mais n'est pas encore terminée ce qui est en accord avec les mesures de cinétique de transformation sur poudre non comprimée par ACD (**Figure III- 17**).

A.4/ Discussion

La discussion des résultats obtenus sur les transitions de phases de la caféine I en compression s'articule autour de trois points : l'évaluation des paramètres mécaniques de compression, la comparaison des résultats de transition obtenus par les trois méthodes analytiques employées et la confrontation des résultats aux études antérieures issues de la littérature.

A.4.1/ Influence des paramètres mécaniques sur les transitions de phases

En résumé de la partie A.1, nous avons constaté qu'il existe des écarts de densité entre les bords des comprimés et le reste du volume. Un anneau très localisé (< 1 mm d'épaisseur) autour du bord des comprimés est plus dense et a été mis en évidence par micro-tomographie X. Ces hétérogénéités ne dépassent pas $0,2 \text{ g.cm}^{-3}$ soit 5% à 10% environ de la densité moyenne des comprimés. L'analyse des comprimés de CMC sans caféine a également montré que la formulation peut permettre de modifier l'amplitude des hétérogénéités. La présence de ces densités plus grandes au niveau du bord peut s'expliquer par la résistance des parois latérales de la matrice de compression lorsque le poinçon supérieur applique une pression au sommet du lit de poudre. La résultante est une augmentation des contraintes au niveau des parois et par conséquent une augmentation de la densité à cet endroit. Que ce soit par analyse thermique ou par micro-spectroscopie Raman à hautes fréquences, il n'a pas été mis en évidence un taux de transformation plus important de la caféine forme I dans cette zone de plus forte densité. Ceci est en accord avec le fait qu'un accroissement de la pression de compression ne se traduit pas par un taux de transformation plus élevé.

Nous avons également exclu le fait que le seuil d'écoulement plastique P_y ait une influence directe sur le taux de transition de la caféine forme I car le changement d'excipient (CMC → phosphate de calcium) n'a pas eu d'effet notable sur le taux de transition τ mesuré par analyse thermique. Parmi les paramètres mécaniques étudiés, seul le changement du comportement mécanique de la poudre de plastique à fragmentaire par modification de la granulométrie de la caféine forme I semble avoir réduit son taux de transition. La séparation des particules de caféine forme I en deux fractions, une de grande taille et une de petite taille, a engendré une baisse de 10% à 15% du taux de transformation. Il se pourrait donc que la fragmentation des

particules de caféine forme I engendre moins de déformations plastiques de ces particules. La validation de cette hypothèse nécessiterait une étude avec plusieurs lots calibrés de caféine forme I. En effet, cette conclusion doit être modérée car des lots de comprimés de la formulation de référence fraîchement fabriqués et analysés dernièrement ont montré également des taux de transition de 15%.

A.2/ Comparaison des résultats obtenus par analyse thermique et micro-spectroscopie Raman

L'analyse thermique et la spectroscopie Raman fournissent des contributions différentes et complémentaires. La différence entre les résultats obtenus à partir de ces deux techniques peut être expliquée par les arguments suivants.

L'ACD est une méthode thermique basée sur l'enthalpie de la transition polymorphique de la caféine forme I en caféine forme II mais elle conduit à la destruction de l'échantillon. La mesure ACD représente une fraction macroscopique du comprimé (10 mg soit 3-4% du comprimé). Son intérêt principal est de pouvoir déterminer les proportions des deux polymorphes de la caféine dans un échantillon représentatif du comprimé entier. Elle est également très précise comme nous pouvons le constater sur l'étude cinétique de la transformation de la caféine forme I. De plus elle apparaît être une mesure plus sensible que la micro-spectroscopie Raman (MSR) à hautes fréquences car la présence de forme II est détectée quelques heures après compression par ACD. Cependant, cette technique ne fournit aucune information sur la répartition des formes polymorphiques du principe actif dans le comprimé (coexistence de formes cristallines pures ou transition partielle du réseau cristallin de I à II dans la particule).

La MSR à basses fréquences permet d'obtenir des valeurs locales de transition qui sont complémentaires aux valeurs globales fournies par l'analyse thermique. Elle offre surtout une combinaison unique de caractérisation physique de la structure des particules et d'une résolution spatiale à l'échelle du micromètre. Le domaine des basses fréquences ($< 200 \text{ cm}^{-1}$) n'est pas ordinaire pour une étude Raman de produits pharmaceutiques, les cartographies sont souvent réalisées pour des fréquences plus grandes (Gordon et Mc Goverin, 2011). Comme nous l'avons constaté, l'existence probable du même type désordre orientationnel dans des deux polymorphes de la caféine rend difficile leur identification à des fréquences supérieures à 100 cm^{-1} (Moura-Ramos et al., 2006). En effet, les basses fréquences sont plus sensibles aux

phénomènes collectifs liés aux mouvements de groupes de molécules. Cette gamme est donc bien appropriée pour l'étude des phénomènes de cristallisation ou d'amorphisation. Les progrès réalisés sur les spectromètres à basses fréquences devraient permettre prochainement de réaliser des cartographies dans ce domaine. La résolution spectrale, même plus faible pour des systèmes à un seul réseau dispersant, devrait être suffisante pour différencier les deux polymorphes de la caféine. Par conséquent, le travail réalisé à basses fréquences est une application innovante de cartographie des polymorphes qui nécessite encore à ce jour un traitement manuel des données spectrales.

Le grand nombre de points issus de la cartographie par MSR à hautes fréquences a permis de confirmer que le degré de transformation de la caféine forme I en forme II est assez homogène sur toute la surface du comprimé. Malheureusement nous ne connaissons pas la relation entre les évolutions spectrales à hautes fréquences et le taux de transition. D'après ces résultats, on peut supposer que les données quantitatives mais très localisées recueillies à basses fréquences sont représentatives de la totalité de la surface du comprimé.

A.3.3/ Quantification des résultats aux études issues de la littérature

Quatre études s'intéressant aux transitions de phases de la caféine en compression ont été identifiées dans la littérature (*cf. Chapitre II, §A.1.5*). Les méthodes de caractérisation physique qu'elles emploient sont l'ACD, la DRX sur poudre et l'analyse microthermométrie à la surface des comprimés (AMT).

On constate que dans tous ces articles, des transitions de phases de type forme I en forme II par compression ont été identifiées dans des comprimés formulés (Pirttimäki *et al.*, 1993) et non formulés (Chan et Doelker, 1985 ; Mazel *et al.*, 2011). De la même manière nous avons identifié des transitions par ACD, DRX, et aussi par spectroscopie Raman dans nos comprimés formulés. Aucune transition n'est observée lorsque des comprimés sont fabriqués manuellement avec une presse IR contrairement à ce qui a été publié (Manduva *et al.*, 2008). Cependant la pression évoquée dans cet article était de 200 MPa contre 100 MPa pour cette étude. De plus, la durée de compression (*dwell time*) est très longue comparée à la durée industrielle de quelques millisecondes.

Nous n'avons pas remarqué d'effet de la pression de compression sur la formulation de référence ni dans les formulations supplémentaires ajoutées dans l'étude. Cela se traduit

également par un taux de transition constant sur toute la surface supérieure (MSR) et dans le reste du volume du comprimé (ACD sur les bords et le cœur). Ce résultat est en accord avec Mazel et *al.* (2011) et Pirttimäki et *al.*, (1993). Seuls les résultats publiés par Chan et Doelker (1985) semblent montrer des tendances différentes en fonction de la zone analysée par ACD.

Des taux différents de transformation de la caféine forme I en forme II ont été obtenus par deux techniques différentes : 15% à 30% en ACD, 50 à 70% en MSR à basses fréquences. Pirttimäki et *al.* (1993) obtiennent 50 à 60% dans le cœur et 70 à 80% à la surface par une méthode DRX qui ne semble pas être validée au préalable. De plus, la durée entre la fabrication du comprimé et l'analyse par DRX n'est pas spécifiée. Ces différences peuvent être probablement attribuées aux techniques et aux écarts temporels séparant la compression de la caractérisation physique des comprimés. De plus, la MRS et la DRX sont des techniques surfaciques alors que l'ACD analyse un volume plus important. Ces arguments montrent que les comparaisons entre les résultats quantitatifs provenant de chaque technique sont difficilement comparables.

Mazel et *al.* (2011) ont proposé une réévaluation des travaux réalisés sur les transitions de la caféine en compression et en broyage. Ces auteurs ont proposé l'existence d'une nouvelle forme polymorphique de la caféine (dite forme broyée), intermédiaire entre la forme I et la forme II monotrope avec la forme II et énantiotrope avec la forme I, à partir d'expériences en broyage et des caractérisations en DRX. Sur la base de mesures calorimétriques et de spectroscopie diélectrique, Decroix (2009) réfute l'existence d'une troisième forme anhydre basse température énantiotrope avec les formes I et II. Dans cette étude, les données de MRS à basses fréquences sur les comprimés font apparaître systématiquement les composantes spectrales des deux formes I et II. Aucune information ne vient étayer la présence d'une nouvelle forme lors des transitions dans les comprimés

La cinétique de transformation de la caféine forme I en forme II dans le comprimé doit être comparée relativement à celle qui a lieu dans une poudre non comprimée. Sitôt après compression, l'analyse thermique permet de mettre en évidence la présence de forme II au sein du comprimé et de vérifier son absence dans la poudre de caféine de forme I. Notons que la forme II n'est pas détectée en surface des comprimés juste après leur fabrication par les analyses de surface par DRX (Mazel et *al.*, 2011) et par MRS à hautes fréquences (cette étude). En revanche, quelques jours après compression, l'étude de Mazel et *al.* (2011) par

DRX et cette étude, au moyen des analyses ACD et MRS à basses fréquences, montrent des différences significatives de taux de transformation entre la poudre non comprimée d'origine et les comprimés. A la différence de Mazel et *al.* (2011), nous pouvons affirmer, sur la base des mesures ACD, que la compression induit immédiatement la transition de la forme I en forme II de la caféine, celle-ci se poursuivant au stockage.

Les travaux ACD et de spectroscopie à basses fréquences ont été publiés (Hubert et *al.*, 2011). Une copie est disponible en **annexe H**. Une publication regroupant les derniers résultats obtenus en spectroscopie Raman à hautes fréquences est en cours de rédaction.

Les principaux acquis de ce travail concernant la compression de la caféine sont les suivants :

- Les transitions de la caféine forme I sont bien induites par le procédé de compression et non par une cinétique de transition naturelle.
- L'estimation du taux de transition par ACD est comprise entre 15% et 30% dans les comprimés et ce quel que soit la position dans le comprimé (bords, surface, cœur).
- L'utilisation de la spectroscopie Raman à basses fréquences a montré la coexistence des deux polymorphes à l'échelle microscopique. Cela prouve que les transformations sont induites dans tous les grains de caféine.
- Les développements effectués en spectroscopie Raman à hautes fréquences ont confirmés la coexistence des deux polymorphes. De plus, cette technique permet d'associer l'identification de la caféine et des excipients. L'automatisation du traitement des spectres a permis de montrer que les transformations avaient lieu sur toute la surface. Cependant, cette technique ne semble pas avoir une sensibilité suffisante pour proposer une quantification des polymorphes de la caféine.

B/ Le cas de la carbamazépine

B.1/ Compression de la carbamazépine dihydrate

1.1/ Masses et duretés

Deux lots de CBZH cristallisés séparément ont été comprimés au cours de nos expériences. Les masses et les duretés sont regroupées pour chaque lot dans le **Tableau III- 5**. Cela permet de caractériser les comprimés et de détecter d'éventuelles différences entre les lots fabriqués. La dureté des comprimés varie entre les deux lots. On remarque en particulier que pour des pressions de compression proches (280 MPa et 300 MPa) la différence de résistance à la rupture est de 25 N. Cela n'a toutefois pas gêné l'analyse des comprimés car il s'agit d'une étude préliminaire sur les transformations de la CBZH. Il montre seulement des différences de réglage de la machine entre les deux expériences.

On note également que les comprimés fabriqués à 500 MPa pour le lot *b* se sont clivés lors du test de rupture empêchant la mesure de la force de rupture.

a)

Pression moyenne	Force moyenne	Masse (N=20)	Résistance à la rupture (N=10)
(MPa)	(N)	(mg)	(N)
300	30000	395	101
90	9000	402	74
75	7500	401	50

b)

Pression moyenne	Force moyenne	Masse (N=20)	Résistance à la rupture (N=10)
(MPa)	(N)	(mg)	(N)
500	50000	403	-
280	28000	409	76
180	18000	408	60
130	13000	412	45

Tableau III- 5 : Masses et duretés des comprimés de CBZH. a) lot SH-CB-03 b) lot SH-CB-05

1.2/ Équation de Heckel

L'équation de Heckel a été appliquée sur les données de compression enregistrées pour les deux lots de CBZH comprimée (**Tableau III- 6**). On remarque que les valeurs du seuil d'écoulement plastique P_y sont supérieures à 100 MPa traduisant un comportement fragmentaire du mélange. Pour le lot SH-CB-03 (**Tableau III- 6.a**) les valeurs sont comprises entre 125 MPa et 235MPa et augmentent avec la pression de compression. Pour le lot SH-CB-05 (**Tableau III- 6.b**) les valeurs sont régulières et situées autour de 250 MPa en moyenne. Ces résultats indiquent que les conditions expérimentales n'étaient pas exactement les mêmes

lors des deux essais. Cette différence peut être due à l'appareillage de compression dont les réglages ne peuvent pas être complètement maîtrisés (déplacement et vitesse du poinçon). On peut également supposer que la taille des particules varie d'un lot à l'autre. Une analyse de la taille des particules (des aiguilles dans ce cas) pourrait donner des informations complémentaires. Néanmoins, tous les résultats de P_y montrent que le mélange CBZH / Encompress[®] anhydre tend à se déformer de façon majoritairement fragmentaire (> 100 MPa) dans ces conditions.

Pression (Mpa)	P_y (MPa)
300	235
170	156
97	125

Pression (Mpa)	P_y (MPa)
500	258
280	233
180	266
130	267

Tableau III- 6 : Seuil d'écoulement plastique P_y des mélanges de poudre lors de la compression de : a) lot SH-CB-03 b) lot SH-CB-05

B.2/ Evaluation des transitions de phases solides par spectroscopie Raman

Le lot SH-CB-03 a été destiné à l'analyse par spectroscopie Raman. Dans un premier temps le but de cette expérience était d'acquérir des spectres à la surface d'un comprimé (300 MPa) et de les comparer à celui de la CBZH.

L'expérience consistait à se déplacer à la surface du comprimé par microscopie et d'acquérir un spectre Raman de zones diverses par leur aspect visuel (plus ou moins brillantes). L'acquisition des spectres a été réalisée dans le domaine de fréquences 200 – 1900 cm^{-1} . Deux gammes de fréquences (**Figure III- 23** et **Figure III- 24**) ont été choisies. Les spectres complets sont présentés en **annexe A.3**.

Les spectres *a*, *d* et *e* sont strictement identiques à la CBZH ce qui montre que la structure cristalline de la CBZH est demeurée intacte dans ces zones.

Les spectres *c* et *f* présentent des pics caractéristiques qui sont décalés par rapport à la CBZH. L'analyse de ces spectres montre que les pics décalés sont situés à 723, 1025 et 1042

cm^{-1} . Ces valeurs sont identiques à celles d'Auer et *al.* (Auer et *al.*, 2003) pour la $\text{CBZ}_{(\text{III})}$. Ce résultat montre que de la $\text{CBZ}_{(\text{III})}$ est présente en surface du comprimé. La recherche de tels spectres de carbamazépine a été complexe en raison d'un faible nombre de spectres différents de ceux de la CBZH. A la date, aucune analyse quantitative n'a été réalisée mais il semble que la proportion de $\text{CBZ}_{(\text{III})}$ dans ces comprimés soit faible ($< 1\%$). On ne peut donc pas exclure complètement l'hypothèse que la CBZH n'était pas pure à 100% au moment de la compression.

Le spectre *b* contient des composantes de CBZH et de $\text{CBZ}_{(\text{III})}$ à la fois. L'hypothèse qui peut être formulée ici est que le grain analysé de CBZH est en cours de transformation. Une autre hypothèse possible est que le spectre a été enregistré dans une zone où la CBZH et la $\text{CBZ}_{(\text{III})}$ sont en contact.

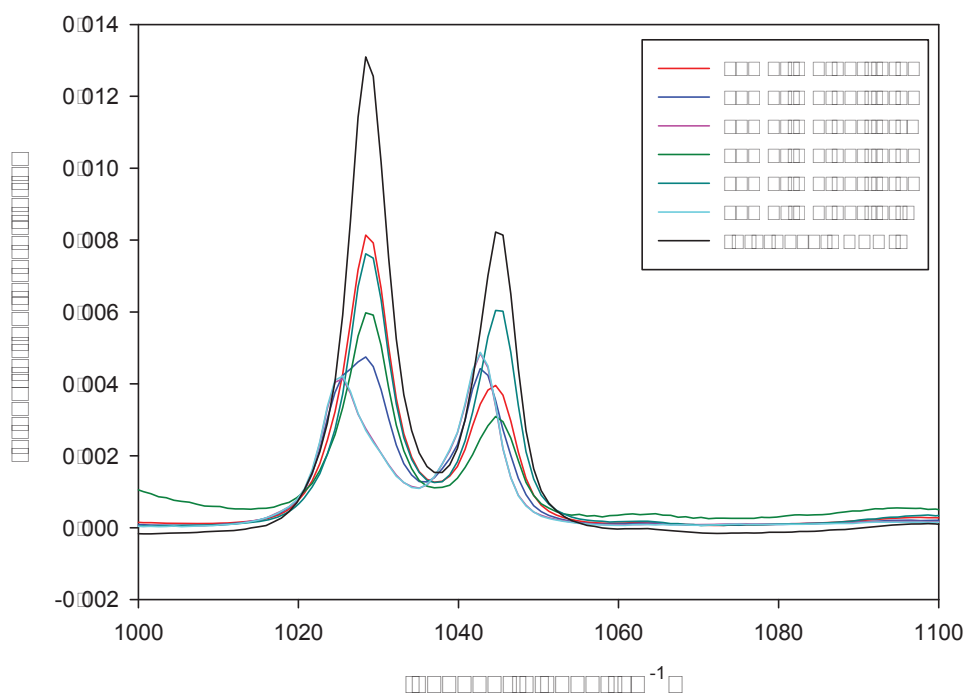


Figure III- 23 : Spectres Raman ($1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$) obtenus à différents points à la surface d'un comprimé de CBZH issu du lot SH-CB-03

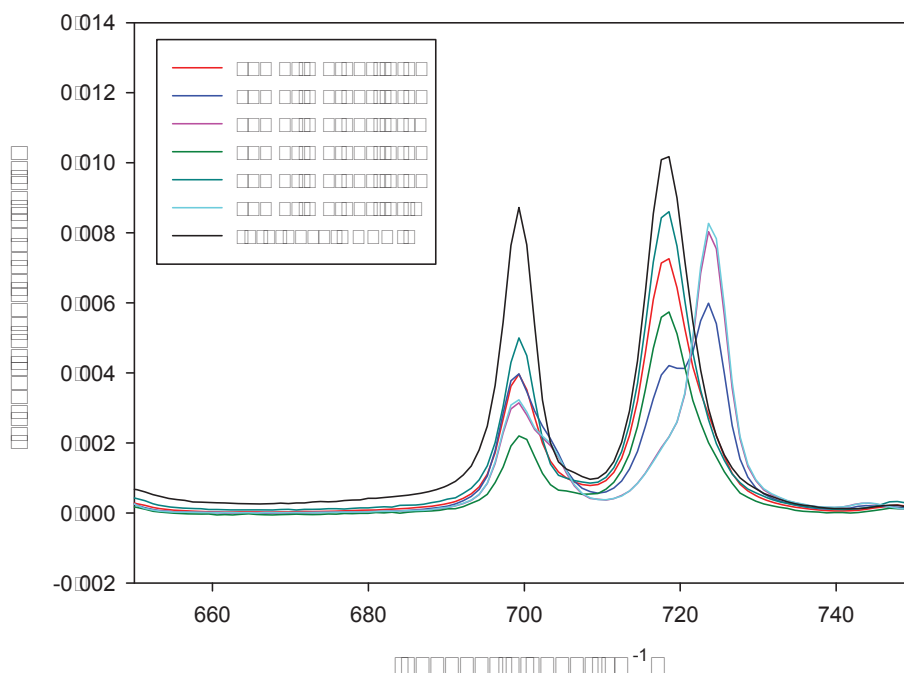


Figure III- 24 : Spectres Raman (650 – 750 cm^{-1}) obtenus à différents points à la surface d'un comprimé de CBZH issu du lot SH-CB-03

B.3/ Evaluation des transitions de phases solides par ATG

De la même manière que pour la CBZH seule, des analyses ATG ont été entreprises pour les comprimés de CBZH (lots SH-CB-03 et SH-CB-05). La formulation des comprimés comprend 50%*m* de CBZH ce qui porte la quantité théorique d'eau relâchée lors de la chauffe à 6,6%. Le thermogramme ATG de l'Encompress[®] anhydre et de la CBZH avant compression confirme ce principe (**Figure III- 25**) car l'Encompress[®] anhydre ne contient pas d'eau.

Des prélèvements de comprimés issus des deux lots et à toutes les forces de compression ont été analysés par ATG. Un exemple du type de profils observés (**Figure III- 26**) est représenté pour le lot SH-CB-03. On constate que tous les thermogrammes ont la même forme. Un retard au niveau du saut principal est observé lorsque la pression de compression augmente. Ce phénomène est dû à l'augmentation de la densité du comprimé avec la force de compression. Par conséquent la libération de l'eau est plus lente car la porosité du comprimé est plus faible.

Les mesures des pertes d'eau sont très proches dans tous les cas et sont comprises entre 6,29% et 6,58%. Il semble donc qu'aucune déshydratation partielle et aucune transition de phase de la CBZH n'a eu lieu dans les comprimés ou que celle-ci soit trop petite pour être

détectée par ATG. Ce résultat est en accord avec les précédentes analyses réalisées par spectroscopie Raman.

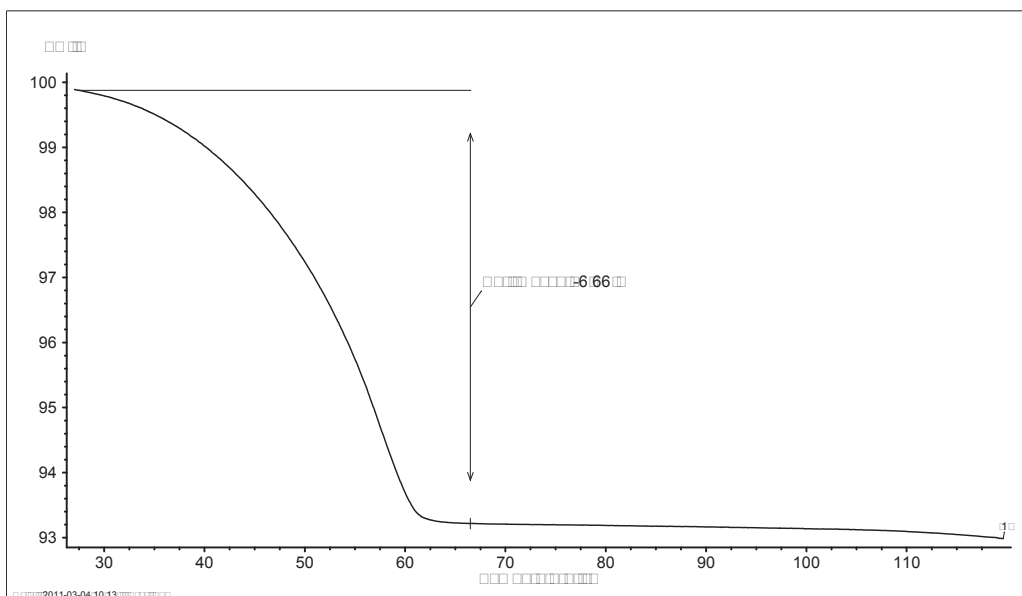


Figure III- 25 : Thermogramme ATG à 1°C/min d'un mélange CBZH (50%*m*) et Encompress[®] anhydre (50%*m*)

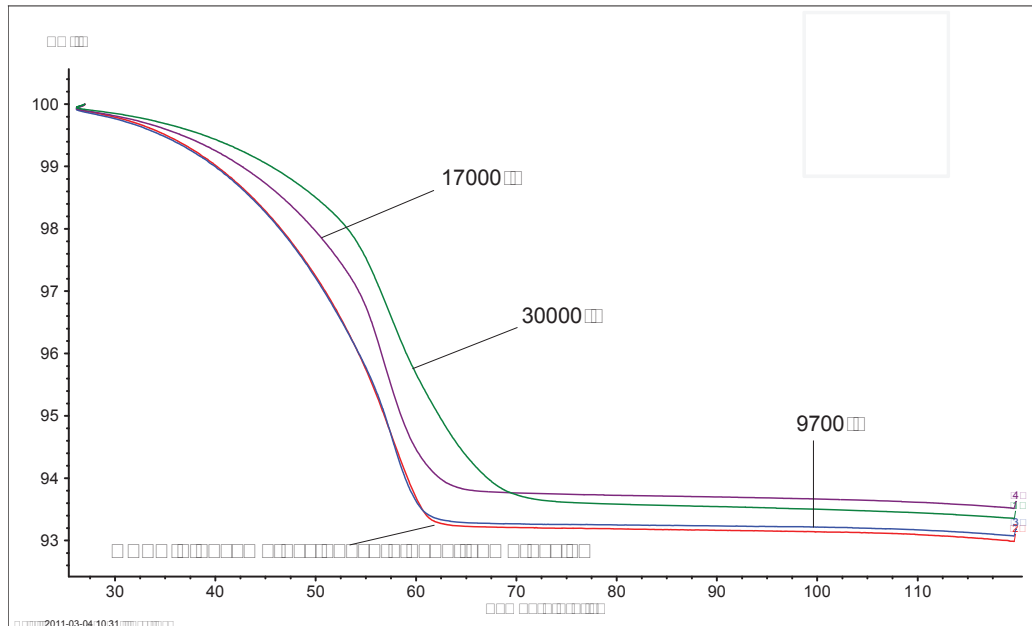


Figure III- 26 : Thermogrammes ATG à 1°C/min de morceaux de comprimés de CBZH pour le lot SH-CB-03 et de la référence CBZH (50%*m*) + Encompress anhydre (50%*m*)

B.4/ Evaluation des transitions de phases solides par DRX

Les comprimés du lot SH-CB-05 ont été analysés par DRX (Figure III- 27) afin de rechercher des traces de CBZ anhydre à leur surface. Pour chaque pression de compression un comprimé a été examiné. Un comprimé ayant passé 10 minutes dans la presse à 130MPa a été ajouté à l'étude. Il permettra de savoir si la durée de compression peut influencer la transition de phase solide de la CBZH.

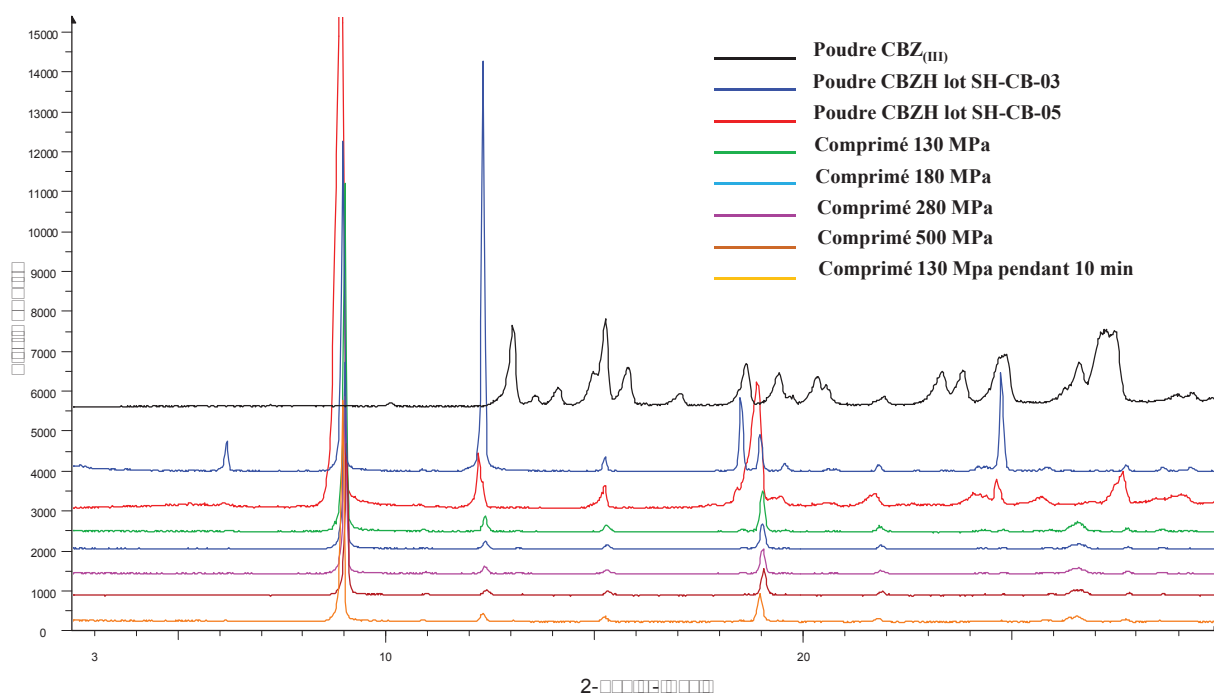


Figure III- 27 : Diffractogrammes RX des comprimés issus du lot SH-CB-05 et des références de CBZ_(III) et de CBZH

Les diffractogrammes des comprimés sont tous identiques et présentent les mêmes pics caractéristiques que la CBZH avec une intensité plus faible due à la dilution de la CBZH par l'Encompress[®] anhydre. Un pic supplémentaire pour les comprimés apparaît par rapport à la CBZH entre 26° et 27°. Ce pic est celui de l'Encompress[®] anhydre (cf annexe F). L'analyse par DRX des comprimés de ce lot ne permet pas de confirmer la présence de CBZ anhydre observée par spectroscopie Raman.

B.5/ Discussion et conclusion

La combinaison des résultats sur la compression de la CBZH montre que ce principe actif ne subit pas de transition de phase. Les quelques spectres Raman de CBZ anhydre observés ne semblent qu'une exception et non une généralité dans tout le comprimé. Par conséquent, nous ne confirmons pas les conclusions données Lefebvre et al. (1986). Nous n'avons donc pas donné suite à l'étude après cette réévaluation.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Les transformations induites par les procédés d'industrialisation (TIPI) représentent un sujet très vaste dans lequel le procédé de compression directe se distingue par la rapidité de l'étape de fabrication ($< 1\text{sec}$). Dans ce contexte, il n'est pas encore possible d'analyser la composition d'un comprimé au cours de sa fabrication contrairement à d'autres procédés comme la cristallisation, le broyage, la lyophilisation, le séchage, etc. Cette difficulté fut accentuée dans cette étude par la particularité de la caféine I à continuer de se transformer après la compression. Il fut donc nécessaire de distinguer les phénomènes cinétiques naturels des phénomènes induits par la compression.

Cette thèse a consisté principalement à étudier les transformations de la caféine I et de la carbamazépine dihydrate en compression directe. Dans chaque cas, des formulations ont été mises au point afin de pouvoir fabriquer des séries de comprimés identiques. La première étape de ces études a consisté à mettre au point des méthodes fiables et précises de caractérisation des formes polymorphiques. Nous retiendrons principalement de cette partie :

- La mise au point d'une méthode de quantification des polymorphes de la caféine par analyse calorimétrique différentielle (ACD) dans des comprimés formulés avec de la cellulose microcristalline. Cette méthode est basée sur la mesure de l'enthalpie de transition de la caféine II en caféine I et sur l'enthalpie de fusion de la caféine I. C'est une mesure intrinsèquement « macroscopique » sur des parties représentatives du bord et du cœur du comprimé.
- La mise au point d'une méthode d'analyse des images issues de la tomographie à rayons X afin de mesurer la densité localement dans tout le volume du comprimé.
- L'adaptation d'une méthode de cartographie Raman à basses fréquences permettant de quantifier les polymorphes anhydres de la caféine et de déterminer si les particules sont en partie ou complètement transformées. Cette gamme spectrale est bien appropriée pour l'étude des phénomènes de cristallisation ou d'amorphisation. La spectroscopie Raman est par essence une mesure locale, à l'échelle micrométrique, que nous avons appliquée essentiellement à la surface des comprimés. L'étude réalisée à basses fréquences est une application innovante de cartographie des polymorphes qui pourrait être automatisée prochainement en raison des progrès technologiques sur cet instrument d'analyse.

- Le développement d'une méthode d'indentification de chacun des polymorphes de la caféine anhydre en spectroscopie Raman à hautes fréquences. Néanmoins la quantification polymorphique n'a pas pu être finalisée. Soulignons que cette méthode a conduit à la cartographie de ces deux polymorphes et de l'excipient à la surface des comprimés.
- L'analyse thermique et la spectroscopie Raman fournissent des contributions différentes et complémentaires en raison de leur nature. Il est difficile de décider dans cette étude si les mesures différentes des taux de transition par analyse thermique et par spectroscopie Raman en basses fréquences sont réelles et/ou sont la conséquence de l'emploi de ces deux types de technique.
- La combinaison des mesures locales en tomographie X avec celles de l'ACD et de la spectroscopie Raman peut permettre de mettre en évidence si des variations spatiales de densité de solide et de taux de transition polymorphique sont liées.

□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□

L'étude sur la compression directe de la carbamazépine dihydrate (CBZH) au moyen des techniques thermiques (ACD et ATG) et spectroscopique (DRX) n'a pas montré de transformation (déshydratation) de ce principe actif. La réévaluation de l'étude de Lefebvre et *al.* (1986) ne nous permet pas d'être en accord avec ces auteurs. Cependant, l'analyse Karl Fischer réalisée par ces derniers n'avait pas confirmé la déshydratation mais les auteurs n'en avait pas tenu compte face aux résultats DRX et ACD. De plus, la CBZH était restée stable pendant 60 minutes de broyage. Or il n'y a pas dans la littérature à ce jour le cas d'une forme cristalline stable après une longue trituration mécanique et instable en compression. Néanmoins ce dernier point n'est qu'une constatation.



L'application d'une force de compression provoque une contrainte mécanique sur l'ensemble du lit de poudre. Les conséquences de cette contrainte sont la fragmentation et des déformations plastiques et élastiques des particules. Au cours de ce processus, nous avons montré que la forme I se transforme partiellement en forme II. Il apparaît que la transformation est bien provoquée très rapidement par la compression car un taux de transformation est mesuré par ACD dans les heures suivant la fabrication des comprimés. Cela n'est pas le cas sur la poudre de caféine I non comprimée.

Le traitement par spectroscopie Raman à hautes fréquences à la surface des comprimés ne permet pas de détecter une amorce de la transformation de la caféine I juste après la compression. Elle apparaît moins sensible que la mesure thermique par ACD. Les techniques de spectroscopie Raman à basses et hautes fréquences tendent à montrer que les structures cristallines I et II coexistent dans les cristallites de caféine. La mesure à basses fréquences ne vient pas étayer l'hypothèse d'une forme polymorphique intermédiaire entre les formes I et II en raison de la compression, comme suspectée par Mazel et *al.* (2011) en broyage.

Le taux de transformation polymorphique mesuré dans les premiers jours qui suivent la fabrication des comprimés est indépendant de l'intensité de la pression de compression appliquée. Par conséquent un accroissement de la densité locale (résultant d'une contrainte locale plus élevée) ne peut pas se traduire par un taux de transition polymorphique plus important. Cette indépendance entre le taux de transition et la densité du solide dans le cas de la caféine peut-elle être étendue à d'autres cas ?

Un resserrement de la distribution en taille des particules de caféine se traduit par un changement de comportement plastique à fragmentaire et à un taux de transition réduit juste après la compression. La réduction du nombre des déformations plastiques au sein des particules de principe actif est-elle à l'origine de la diminution du taux de transition ?

Références Bibliographiques

- Anwar, J., Tarling, S.E., Barnes, P., 1989. Polymorphism of Sulfathiazole. *J. Pharm. sci.*, **78**, 337.
- Auer, M.E., Griesser, U.J., Sawatzki, J., Qualitative and quantitative study of polymorphic forms in drug formulations by near infrared FT-Raman spectroscopy. *J. Mol. Struct.*, **661-662**, 307-317.
- Avrami, M., 1939. Kinetics of Phase Change. I. General Theory. *J. Chem. Phys.*, **7**, 1103–1112.
- Barbillat, J., Bougeard, D., Buntinx, G., Delhay, M., Dhamelin-court, P., Fillaux, F., 1986. Spectrométrie Raman. *Techniques de l'ingénieur*, **P 2865**.
- Barbosa, D., Doherty, M.F., 1988. The simple distillation of homogeneous reactive mixtures. *Chem. Eng. Sci.*, **43**, 541-550.
- Bauer, J., Spanton, S., Henry, R., Quick, J., Dizki, W., Porter, W., Morris, J., 2001. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharm. Res.*, **18**, 859-866.
- Bauer, M., 2002. Polymorphisme : origine et méthodes d'études. *Techniques de l'ingénieur* **P-1097**.
- Bernstein, J., 2002. Polymorphism in molecular crystals. *International union of crystallography monographs on crystallography 14*, **II**.
- Beyer, T., Day, G.M., Price, S.L., 2001. The prediction morphology and mechanical properties of the polymorphs of paracetamol. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 5086-5094.
- Boldyreva, E.V., Dmitriev, V., Hancock, B.C., 2006. Effect of pressure up to 5.5 GPa on dry samples of chlorpropamide form-A. *Int. J. Pharm.*, **327**, 51-57.
- Bothe, H., Cammenga, H.K., 1979. Phase transitions and thermodynamic properties of anhydrous caffeine. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **16**, 267-275.
- Brittain, H.G., 2002. Effects of mechanical processing on phase composition. *J. Pharm. Sci.* **91**, 1573-1580.
- Brittain, H.G., 2008. Polymorphism and solvatomorphism 2006. *J. Pharm. Sci.*, **97**, 3611.

- Brittain, H.G., 2009. Polymorphism and Solvatiomorphism 2007. *J. Pharm. sci.*, **98**, 1617.
- Brittain, H.G., 2010. Polymorphism and Solvatiomorphism 2008. *J. Pharm. sci.*, **99**, 3648.
- Brittain, H.G., 2011. Polymorphism and Solvatiomorphism 2009. *J. Pharm. sci.*, **100**, 1260.
- Brittain, H.G., 2012. Polymorphism and Solvatiomorphism 2010. *J. Pharm. sci.*, **101**, 464.
- Brockedon, W., 1943. Shaping Pills, Lozenges and Black Lead by Pressure in Dies. *British Patent*, n°9977.
- Broido, A., 1969. A simple, sensitive graphical method of treating thermogravimetric analysis data. *J. Polymer Sci. Part A*, **7**, 1761-1773.
- Brun, G.W., Martin, A., Cassel, E., Vargas, R.M.F., Cocero, M.J., 2012. Crystallization of caffeine by supercritical antisolvent (SAS) process: analysis of process parameters and control of polymorphism. *Cryst. Growth Des.*, **12**, 1943-1951.
- Burger, A., Ramberger, R., 1979a. On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I. Theory of thermodynamic rules. *Mikrochim. Acta*, **II**, 259-272.
- Burger, A., Ramberger, R., 1979b. On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. *Mikrochim. Acta*, **II**, 273-316.
- Busignies, V., Tchoreloff, P., Leclerc, B., Besnard, M., Couarraze, G., 2004. Compaction of crystallographic forms of pharmaceutical granular lactoses. I. compressibility. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **58**, 569-576.
- Busignies, V., Leclerc, B., Porion, P., Evesque, P., Couarraze, G., Tchoreloff, P., 2006a. Quantitative measurements of localized density variations in cylindrical tablets using X-ray microtomography. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **64**, 38-50.
- Busignies, V., Leclerc, B., Porion, P., Evesque, P., Couarraze, G., Tchoreloff, P., 2006b. Investigation and modeling approach of the mechanical properties of compacts made with binary mixtures of pharmaceutical excipients. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **64**, 51-65.
- Byrn, S.R., 1982. Solid state chemistry of drugs. *Academic Press, New York, U.S.A.*, 7-10.

Références Bibliographiques

- Byrn, S.R., Pfeiffer, R., Ganey, M., Hoiberg, M., Poochikian, G., 1995. Pharmaceutical solids: a strategic approach to regulatory considerations. *Pharm. Res.*, **12**, 945-954.
- Byrn, S.R., Pfeiffer, R.R., Stowell, J.G., 1999. Solid State chemistry of drugs, 2nd edition, *SSCI, Inc. West Lafayette*.
- Byrn, S.R., Xu, W., Newman, A.W., 2001. Chemical reactivity in solid-state pharmaceuticals: formulation implications. *Adv. Drug Deliv. Revs.*, **48**, 115.
- Cambridge Structural Database*, 2012. Summary statistics.
http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/csd/statistics/stats_entries_Jan2012.pdf
- Celik, M., 2011. Pharmaceutical powder compaction technology. *Second edition, Informa healthcare*. ISBN : 9781420089172.
- Cesaro, A., Starec, G., 1980. Thermodynamic properties of caffeine crystal forms. *J. Phys. Chem.*, **84**, 1345-1346.
- Chan, H. K, Doelker, E., 1985. Polymorphic transformation of some drugs under compression. *Pharmaceut. Dev. Tech.*, **11**, 315-332.
- Charlton, B., Newton, J.M., 1984. Theoretical estimation of punch velocities and displacements of single punch-punch and rotary machines. *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 645-651.
- Chieng, N., Rades, T., Aaltonen, J., 2011. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **55**, 618-644.
- Chemburkar, S.R., Bauer, J., Deming, K., Spiwek, H., Patel, K., Morris, J., Henry, R., Spanton, S., Dziki, W., Porter, W., Quick, J., Bauer, P., Donaubaue, J., Narayanan, B.A., Soldani, M., Riley, D., McFarland, K., 2000. Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development. *Org. Process Res. Dev.*, **4**, 413-417.
- Decroix, A.A, 2009. Stabilité physique de désordre orientationnel dans un cristal à usage thérapeutique : la caféine. *Thèse de l'université de Lille 1*, n°**40067**.

- Deeley, C. M., Spragg, R. A., Threlfall, T. L., 1991. A comparison of Fourier transform infrared and near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy for quantitative measurements: an application in polymorphism. *Spectrochim. Acta Part A*, **47**, 1217.
- Defossement, G., Randzio, S., Legendre, B., 2004. Contribution of calorimetry for Cp determination and scanning transitiometry for the study of polymorphism. *Cryst. Growth Des.*, **4**, 1169-1174.
- De Matas, M., Edwards, H.G.M., Lawson, E.E., Shields, L., York, P., 1998. FT-Raman spectroscopic investigation of a pseudopolymorphic transition in caffeine hydrate. *J. Mol. Struct.*, **440**, 97-104.
- Derollez, P., Correia, N.T., Danède, F., Capet, F., Affouard, F., Lefebvre, J., Descamps, M., 2005. Ab initio structure determination of the high-temperature phase of anhydrous caffeine by X-ray powder diffraction. *Acta Cryst.*, **B61**, 329-334.
- Descamps, M., Willart, J.F., Dudognon, E., Caron, V., 2007. Transformation of pharmaceutical compounds upon milling and comilling: the role of Tg. *J. Pharm. Sci.*, **96**, 1398.
- Dong, J.X, Li, Q., Tan, Z.C, Zhang, Z.H., Liu, Y., 2007. The standard molar enthalpy of formation, molar heat capacities, and thermal stability of anhydrous caffeine. *J. Chem. Thermodyn.*, **39**, 108-114.
- Dudognon, E., Willart, J.F., Caron, V., Capet, F., Larsson, T., Descamps, M., 2006. Formation of budesonide/alpha-lactose glass solutions by ball milling. *Solid State Comm.*, **138**, 68-71
- Edwards, H.G.M., Lawson, E., De Matas, M., Shields, L., York, P., 1997. Metamorphosis of caffeine hydrate and anhydrous caffeine. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **10**, 1985-1990.
- Edwards, H.G.M., Munshi, T., Anstis, M., 2005. Raman spectroscopic characterisations and analytical discrimination between caffeine and demethylated analogues of pharmaceutical relevance. *Spectrochim. Acta A*, **61**, 1453-1459.
- Ehrenfest, P., 1933. Phase changes classified according to the singularities of the thermodynamic potential. *Proc. Acad. Sci. Amsterdam*, **36**, 153-157.

Références Bibliographiques

- Enright, G.D., Terskikh, V.V., Brouwer, D.H., Ripmeester, J.A., 2007. The structure of two anhydrous polymorphs of caffeine from single-crystal diffraction and ultrahigh-field solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *Cryst. Growth Des.*, **7**, 1406-1410.
- Epple, M., Cammenga, H.K., Sarge, S.M., Diedrich, R., Balek, V., 1995. The phase transformation of caffeine: investigation by dynamic X-ray diffraction and emanation thermal analysis. *Thermochim. Acta*, **250**, 29-39.
- Everall, N.J., 2000a. Modeling and measuring the effect of refraction on the depth resolution of confocal raman microscopy. *Appl. Spectros.*, **54**, 773-782.
- Everall, N.J., 2000b. Confocal raman microscopy: why the depth resolution and spatial accuracy can be much worse than you think. *Appl. Spectros.*, **54**, 1515-1520.
- Everall, N.J., Lapham, J., Adar, F., Whitley, A., Lee, E., Mamedov, S., 2007. Optimizing depth resolution in confocal raman microscopy: a comparison of metallurgical, dry corrected, and oil immersion objectives. *Appl. Spectros.*, **61**, 251-259.
- Fontange, C., Chauchard, F., 2009. Introduction à l'apport des techniques proche infrarouge pour le contrôle des procédés de l'industrie pharmaceutique et démarche PAT. *Technologie Appliquée*, **269**, 27-35.
- Giron, D., 1995. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. *Thermochimica Acta*, **248**, 1-59.
- Giron, D., 1997. Thermal analysis of drugs and drug products. In *Encyclopedia of pharmaceutical technology, vol 15: thermal analysis of drugs and drug products to unit processes in pharmacy*. Marcel Dekker, New York. 1-79.
- Gordon, K.C., McGoverin, C.M., 2011. Raman mapping of pharmaceuticals. *Int. J. Pharm.*, **417**, 151-162.
- Gowen, A.A., O'Donnell, C.P., Cullen, P.J., Bell, S.E.J., 2008. Recent applications of chemicals imaging to pharmaceutical process monitoring and quality control. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **69**, 10-22.
- Grant, D.J.W., Brittain, H.G., 1999. Effects of polymorphism and solid-state solvation on solubility and dissolution rate. In *Polymorphism in pharmaceutical solids*, 279-330, Vol. **95** of *Drugs and pharmaceutical sciences*, Marcel Dekker, Inc. New York.

- Griesser, U.J., Burger, A., 1999. Statistical aspect of the occurrence of crystal forms among organic drug substances. *Abstract, XVIII Congress and general assembly of the international union of crystallography, Glasgow, Scotland.*
- Grunenenberger, A., Henck, J.O., Siesler, H.W., 1996. Theoretical derivation and practical applications of energy/temperature diagrams as an instrument in preformulation studies of polymorphic drug substances. *Int. J. Pharm.*, **129**, 147-158.
- Grzesiak, A.L., Lang, M., Kim, K., Matzger, A.J., 2003. Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. *J. Pharm. Sci.*, **92**, 2260-2271.
- Gurnham, C.F., Masson, H.J., 1946. Expression of liquids from fibrous materials. *Ind. Eng. Chem.*, **38**, 1309-1315.
- Harris, R.K., Ghi, P.Y., Puschmann, H., Apperley, D.C., Griesser, U.J., Hammond, R.B., Ma, C., Roberts, K.J., Pearce, G.J., Yates, J.R., Pickard, C.J., 2005. Structural studies of the polymorphs of carbamazepine, its dihydrate, and two solvates. *Org. Process Res. Dev.*, **9**, 902-910.
- Heckel, R.W., 1961. Density-pressure relationship in powder compaction. *Trans. Metall. Soc. AIME*, **221**, 671-675.
- Hédoux, A., Guinet, Y., Descamps, M., 1998. Raman signature of polymorphism in triphenyl phosphite. *Phys. Rev. B: Condens. Matter*, **58**, 31-34.
- Hédoux, A., Guinet, Y., Descamps, M., 2001. Size dependence of the Raman spectra in an amorphous-nanocrystalline mixed phase: the glacial state of triphenylphosphite. *J. Raman Spectrosc.*, **32**, 677-688.
- Hédoux, A., Guinet, Y., Capet, F., Paccou, L., Descamps, M., 2008. Evidence for high-density amorphous form in indomethacin from Raman scattering investigations. *Phys. Rev. B*, **6314**, 4169.
- Hédoux, A., Paccou, L., Guinet, Y., Willart, J.F., Descamps, M., 2009. Using the low-frequency Raman spectroscopy to analyze the crystallization of amorphous indomethacin. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **38**, 156-164.
- Hédoux, A., Guinet, Y., Descamps, M., 2011a. The contribution of Raman spectroscopy to the analysis of phase transformations in pharmaceutical compounds. *Int. J. Pharm.*, **417**, 17-31.

- Hédoux, A., Decroix, A.A., Guinet, Y., Paccou, L., Derollez, P., Descamps, M., 2011b. Low- and high-frequency Raman investigations on Caffeine: polymorphism, disorder and phase transformation. *J. Phys. Chem. B*, **115**, 5746-5763.
- Hersey, J.A., Rees J.E., 1971. Deformation of Particles during Briquetting. *Nature Physical Science*, **230**, 96.
- Hubert, S., Briancon, S., Hedoux, A., Guinet, Y., Paccou, L., Fessi, H., Puel, F., 2011. Process induced transformations (PITs) during tablet manufacturing: Phase transition analysis of caffeine using DSC and low frequency micro-Raman spectroscopy. *Int. J. Pharm.*, **420**, 76– 83.
- Ito, M., Suzuki, T., Yada, S., Kusai, A., Nakagami, H., Yonemochi, E., Terada, K., 2008. Development of a method for the determination of caffeine anhydrate in various designed intact tablets by near-infrared spectroscopy: A comparison between reflectance and transmittance technique. *J. Pharm. Biopharm. Anal.*, **47**, 819-827.
- Kawakita, K., Tsutsumi, Y., 1965. An empirical equation of state for powder compression. *Japan J. Appl. Phys.*, **4**, 56-63.
- Khamar, D., Pritchard, R.G., Bradshaw, I.J., Hutcheon, G.A., Seton, L., 2011. Polymorphs of anhydrous theophylline: stable form IV consists of dimer pairs and metastable form I consists of hydrogen-bonded chains. *Acta Cryst.*, **67**, 496-499.
- Khamar, D., Bradshaw, I.J., Hutcheon, G.A., Seton, L., 2012. Solid state transformations mediated by a kinetically stable form. *Cryst. Growth Des.*, **12**, 109-118.
- Kitamura, S., Chang, L.C., Guillory, J.K., 1994. Polymorphism of mefloquine hydrochloride. *Int. J. Pharm.*, **101**, 127.
- Kobayashi, Y., Ito, S., Itai, S., Yamamoto, K., 2000. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. *Int. J. Pharm.*, **193**, 137-146.
- Kogermann, K., Aaltonen, J., Strachan, C.J., Pöllänen, K., Heinämäki, J., Yliruuse, J., Rantanen, J., 2008. Establishing quantitative in-line analysis of multiple solid state transformations during dehydration. *J. Pharm. Sci.*, **97**, 4983-4999.

- Krahn, F.U., Mielck, J.B., 1987. Relation between several polymorphic forms and the dihydrate of carbamazepine. *Pharm. Acta Helv.*, **62**, 247-254.
- Kuhnert-Brandstätter, M., 1965. The status and future of chemical microscopy. *Pure and Applied Chemistry*, **10**, 136-143.
- Lang, M., Kampf, J.W., Matzger, A.J., 2002. Form IV of carbamazepine. *J. Pharm. Sci.*, **91**, 1186-1190.
- Lefebvre, C., Guyot-Hermann, A.M., Draguet-Brughmans, M., Bouché, R., Guyot, J.C., 1986. Polymorphic transitions of carbamazepine during grinding and compression. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **12**, 1913-1927.
- Legendre, B., Randzio, S.L., 2007. Transitionometric analysis of solid II/solid I transition in anhydrous theophylline. *Int. J. Pharm.*, **343**, 41-47.
- Lehmann, C.W., Stowasser, F., 2007. The crystal structure of anhydrous beta-caffeine as determined from X-ray powder diffraction data. *Chem. Eur. J.*, **13**, 2908-2911.
- Lehto, V.P., Laine, E., 1998. A kinetic study of polymorphic transition of anhydrous caffeine with microcalorimeter. *Thermochim. Acta*, **317**, 47-58.
- MacLeod, H.M., Marshall, U., 1977. The determination of density distribution in ceramic compacts using autoradiography. *Powder Tech.*, **16**, 107-122.
- Manduva, R., Kett, V.L., Banks, S.R., Wood, J., Reading, M., 2008. Calorimetric and spatial characterization of polymorphic transitions in caffeine using quasi-isothermal MTDSC and localized thermomechanical analysis, **97**. *J. Pharm. Sci.*, 1285-1300.
- Mazel, V., Delplace, C., Busignies, V., Faivre, V., Tchoreloff, P., Yagoubi, N., 2011. Polymorphic transformation of anhydrous caffeine under compression and grinding: a re-evaluation. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **37**, 832-840.
- Miguélez-Morán, A.M., Wu, C.Y., Dong, H., Seville, J.P.K., 2009. Characterisation of density distributions in roller-compacted ribbons using micro-indentation and X-ray micro-computed tomography. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **72**, 173-182.
- Minkov, V.S., Drebuschak, V.A., Ogienko, A.G., Boldyreva, E.V., 2011. Decreasing particle size helps to preserve metastable polymorphs. A case study of DL-cysteine. *Cryst. Eng. Comm.*, **13**, 4417-4426.

- Mitscherlich, E., 1822. Sur la relation qui existe entre la forme cristalline et les proportions chimiques. *Ann. Chim Phys.* 2, **19**, 350-419.
- Morris K.R., Griesser, U.J., Eckhardt, C.J., Stowell, J.G., 2001. Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacture processes. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **48**, 91-114.
- Moura Ramos, J.; Correia, N.; Diogo, H.; Descamps, M., 2006. Dielectric study of the slow motional processes in the polymorphic states of anhydrous caffeine. *J. Phys. Chem. B*, **110**, 8268-8273.
- Muller, P.R., Griesser, U.J., 2003. Poster abstract, PhandTA7, Presented at the 7th *International Conference/Workshop on Pharmacy and Applied Physical Chemistry*, Innsbruck, Austria.
- Murphy, D., Rodriguez-Cintron, F., Langevin, B., Kelly, R.C., Rodriguez-Hornedo, N., 2002. Solution-mediated phase transformation of anhydrous to dihydrate carbamazepine and the effect of lattice disorder. *Int. J. Pharm.*, **246**, 121-134.
- Nemet, Z., Sztatisz, J., Demeter, A., 2008. Polymorph transitions of bicalutamide: A remarkable example of mechanical activation. *J. Pharm. Sci.* **97**, 3222-3232.
- Neville, G. A., Beckstead, H. D., Shurvell, H. F., 1992. Utility of Fourier Transform-Raman and Fourier Transform-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy for Differentiation of Polymorphic Spironolactone Samples. *J. Pharm. Sci.*, **81**, 1141.
- Otsuka, M., Kaneniwa, N., 1986. Effect of seed crystals on solid-state transformation of polymorphs of chloramphenicol palmitate during grinding. *J. Pharm. Sci.*, **75**, 506-511.
- Otsuka, M., Matsumoto, T., Higuchi, S., Kaneniwa, N., 1991. Effects of Temperature and Pressure During Compression on Polymorphic Transformation and Crushing Strength of Chlorpropamide Tablets. *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 74-78.
- Otsuka, M., Hasegawa, H., Matsuda, Y., 1999. Effect of polymorphic forms of bulk powders on pharmaceutical properties of carbamazepine granules. *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 852-856.

Références Bibliographiques

- Otsuka, M., Ibe, K., Tokudome, Y., Ohshima, H., 2009. Nano- and macro- geometrical structural change of caffeine and theophylline anhydrate tablets during hydration process by using X-ray computed tomography. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **73**, 351-359.
- Papon, P., Leblond, J., Meijer, P.H.E., 2002. Physique des transitions de phases : concepts et applications. 2nd édition, Dunod. 1-30.
- Paronen, P., 1986. Heckel plots as indicators of elastic properties of pharmaceuticals. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **12**, 1903-1912.
- Petit, S., Coquerel, G., 2004. Transformations physiques de cristaux moléculaires induites par les procédés industriels de fabrication : approche théorique, conséquences et exemples. *Cristal 3, conférence sur la cristallisation et la précipitation industrielles, Saint-Etienne*.
- Pharmacopée Européenne, 7^{ème} édition, 2011.
- Pinto, S.S., Diogo, H.P., 2006. Thermochemical study of two anhydrous polymorphs of caffeine. *J. Chem. Thermodynamics*, **38**, 1515-1522.
- Pirttimäki, J., Laine, E., Ketolainen, J., Paronen, P., 1993. Effects of grinding and compression on crystal structure of anhydrous caffeine. *Int. J. Pharm.*, **95**, 93-99.
- Pirttimäki, J., Laine, E., 1994. The transformation of anhydrate and hydrate forms of caffeine at 100% RH and 0% RH. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1**, 203-208.
- Qu, H., Louhi-Kultanen, M., Kallas, J., 2006. Solubility and stability of anhydrate/hydrate in solvent mixtures. *Int. J. Pharm.*, **321**, 101-107.
- Raman, C.V., 1928. A change of wave-length in light scattering. *Nature*, **128**, 619.
- Reck, G., Dietz, G., 1986. The order-disorder structure of carbamazepine dihydrate: 5 H-dibenz[b, f]azepine-5-carboxamide dihydrate, C₁₅H₁₂N₂O, 2 H₂O. *Cryst. Res. Tech.*, **21**, 1463-1468.
- Ribet, J., 2003. Fonctionnalisation des excipients : application à la comprimabilité des celluloses et des saccharoses. *Université de Limoges*.

Références Bibliographiques

- Ripmeester, J.A., Garg, S.K., Davidson, D.W., 1980. NMR behavior of the clathrate hydrate of tetrahydrofuran. III. Effect of oxygen. *J. Magn. Reson.*, **38**, 537-544.
- Roberts, R.J., Rowe, R.C., 1987. Brittle/ductile behaviour in pharmaceutical materials used in tableting. *Int. J. Pharm.*, **36**, 205-209.
- Roberts, R.J., Rowe, R.C., Kendall, K., 1989. Brittle-ductile transitions in die compaction of sodium chloride. *Chem. Eng. Sci.*, **44**, 1647-1651.
- Rue, P.J., Rees, J.E., 1978. Limitations of the Heckel relation for prediction powder compaction mechanisms. *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 642.
- Rustichelli, C., Gamberini, G., Ferioli, V., Gamberini, M.C., Ficarra, R., Tommasini, S., 2000. Solid-state study of polymorphic drugs : carbamazepine. *J. Pharm. Biopharm. Anal.*, **23**, 41-54.
- Sabon, F., Jeanjean, B., Alberola, S., Terol, A., 1979. Contribution to the study of paracetamol-theophylline and paracetamol-caffeine associations. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **37**, 95-100.
- Schmid, S., Muller-Goymann, C.C., Schmidt, P.C., 2000. Interactions during aqueous film coating of ibuprofen with Aquacoat ECD. *Int. J. Pharm.*, **197**, 35.
- Schulz, H., Baranska, M., Baranski, R., 2007. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vib. Spectr.*, **43**, 13-25.
- Seton, L., Khamar, D., Bradshaw, I.J., Hutcheon, G.A., 2010. Solid State Forms of theophylline: presenting a new anhydrous polymorph. *Cryst. Growth Des.*, **10**, 3879-3886.
- Shah, J.C., Chen, J.R., Chow, D., 1999. Metastable polymorph of etoposide with higher dissolution rate. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **25**, 63-67.
- Shakhtshneider, T.P., Boldyrev, V.V., Boldyreva, E.V., 1999. Reactivity of molecular solids. Chapitre 8: Mechanochemical synthesis and mechanical activation. *John Wiley & Sons, Chichester, England*. 271-310.
- Sinka, I.C., Burch, S.F., Tweed, J.H., Cunningham, J.C., 2004. Measurement of density variations in tablets using X-ray computed tomography. *Int. J. Pharm.*, **271**, 215-224.

Références Bibliographiques

- Sinka, I.C., Motazedian, F., Cocks, A.C.F., Pitt, K.G., 2009. The effect of processing parameters on pharmaceutical tablet properties. *Powder Tech.*, **189**, 276-284.
- Steed, J.W., Atwood, J.L., 2000. *Supramolecular chemistry*, John Woley & Sons, England.
- Strachan, C.J., Rades, T., Newnham, D.A., Gordon, K.C., Pepper, M., Taday, P.F., 2004. Using terahertz pulsed spectroscopy to study crystallinity of pharmaceutical materials. *Chem. Phys. Lett.*, **390**, 20-24.
- Strachan, C.J., Rades, T., Gordon, K.C., 2007. A theoretical and spectroscopic study of gamma-crystalline and amorphous indomethacin. *J. Pharm. Sci.*, **92**, 831-838.
- Takahashi, Y., Nakashima, K., Ishihara, T., Nakagawa, H., Sugimoto, I., 1985. Polymorphism of fostedil: characterization and polymorphic change by mechanical treatments. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **11**, 1543.
- Taumann, G., 1926. The states of Aggregation. *Constable and Company, Ltd, London*, 116-157.
- Taylor, L.S., Langkilde, F.W., 2000. Evaluation of solid state forms present in tablets by raman spectroscopy. *J. Pharm. Sci.*, **89**, 1342-1353.
- Threlfall, T.L., 1995. Analysis of Organic Polymorphs. *Analyst*, **120**, 2435.
- Train, D., 1956. An investigation into the compaction of powders, *J. Pharm. Pharmacol.* **8**, 745-761.
- Tudor, A. H., Davies, M. C., Melia, C. D., Lee, D. G., Mitchell, R. C., Hendra, P. J., Church, S. J., 1991. The applications of near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy to the analysis of polymorphic forms of cimetidine. *Spectrochim. Acta, Part A*, **47**, 1389.
- Vippagunta, S.R., Brittain, H.G., Grant, D.J.W., 2001. Crystalline solids. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **48**, 3-26.
- Veesler, S., Puel, F., Fevotte, G., 2005. Polymorphisme dans les procédés de cristallisation en solution. *STP Pharma pratiques*.

Références Bibliographiques

- Walker, E.E. 1923. The properties of powders - Part VI: The compressibility of powders. *Transactions of the Faraday Society*, **19**, 73-82.
- Wehrlé, P., 2009. Le comprimé. *Journal le comprimé*, <http://www.lecomprime.com/blog/anciens-articles/monde-pharmaceutique/2011/12/01/le-comprime-par-le-prof-pascal-wehrle/#more-1556>.
- Willart, J.F., De Gusseme, A., Hemon, S., Odou, G., Danède, F., Descamps, M., 2001. Direct crystal to glass transformation of trehalose induced by ball milling. *Solid State Comm.*, **119**, 501-505.
- Willart, J.F., Caron, V., Lefort, R., Danède, F., Prévost, D., Descamps, M., 2004. Athermal character of the solid state amorphization of lactose induced by ball milling. *Solid State Comm.*, **132**, 693-696.
- Willart, J.F., Lefebvre, J., Danède, F., Comini, S., Looten, P., Descamps, M., 2005. Polymorphic transformation of the gamma-form of D-sorbitol upon milling: structural and nanostructural analyses. *Solid State Comm.*, **135**, 519-524.
- Willart, J.F., Descamps, M., Caron, V., Capet, F., Danède, F., Descamps, M., 2006. Formation of lactose: Mannitol molecular alloys by solid state vitrification. *Solid State Comm.*, **138**, 194-199.
- Yu, H.C.M., Rubinstein, M.H., Jackson, I.M., Elsabbagh, H.M., 1988. Multiple compression and plasto-elastic behavior of paracetamol and microcrystalline cellulose mixtures. *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 669-673.
- Yu, L., 2001. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Adv. Drug. Revs.*, **48**, 27-42.
- Zhang, G.G.Z., Gu, C., Zell, M.T., Burkhardt, R.T., Munson, E.J., Grant, D.J.W., 2002. Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs. *J. Pharm. Sci.*, **91**, 1089.
- Zhang, G.G.Z., Law, D., Schmitt, E.A., Qiu, Y., 2004. Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **56**, 371-390.

Annexes

Annexe A : Données complémentaires concernant la carbamazépine dihydrate CBZH

Annexe B : Fiches caractéristiques des excipients utilisés pour la compression directe

Annexe C : Effet de l'orientation d'un monocristal de caféine I en micro spectroscopie Raman

Annexe D : Programmes matlab® de traitement des données de tomographie à rayons X

Annexe E : Répartition des rapports d'aires des comprimés de caféine I

Annexe F : Diffractogramme RX sur poudre du phosphate de calcium anhydre

Annexe G : Calcul du facteur de résolution pour le traitement des données de spectroscopie Raman HF

Annexe H : Publication et communications issues de ce travail

ANNEXE A : Données complémentaires concernant la carbamazépine dihydrate CBZH

A-1-Bilan matière de la cristallisation de la CBZH

✓ Solvant : Eau/Ethanol

Ratio H₂O/EtOH : (Tableau A.1) Tableau A.1 : Ratios molaires et massiques du solvant de cristallisation

✓)

Eau	Ethanol
40 % (molaire)	60 % (molaire)
20 % (massique)	80 % (massique)

Tableau A.1 : Ratios molaires et massiques du solvant de cristallisation

Le ratio que nous avons sélectionné semble bien approprié à nos critères car la variation de solubilité est grande entre 15 et 35°C.

✓ Concentration de CBZ :

La concentration de CBZ choisie pour cette étude a été choisie de façon à obtenir une quantité suffisante (+ de 100g) pour la fabrication de comprimés et pour obtenir des cristaux de CBZH selon le protocole expérimental de Qu et *al.* (Qu et *al.*, 2006)

La concentration de CBZ utilisée est $C_{(CBZ)} = 12.85\text{g}/100\text{g}$ de solvant ou encore $C_{(CBZ)} = 11.39\%$ (massique).

✓ Tableau récapitulatif :

Les calculs ont été réalisés pour un 1kg d'éthanol à 96% (massique) et ils sont présentés dans le tableau ci-après (**Tableau A.2**).

Produits	Solvant			Solide
	Eau	EtOH (96%)	Total	CBZA
Masse (g)	208 g	1 kg	1,2 kg	156 g
Volume	208 mL	1,27 L	1,5 L	-

Tableau A.2 : Masses et volumes des produits utilisés pour la cristallisation de la CBZH

✓ Calcul de la masse théorique de CBZH cristallisée :

D'après Qu et *al.* (Qu et *al.*, 2006), la concentration anhydre de saturation de CBZH est $C^*_{(CBZH)} = 2.65\text{g}/100\text{g}$ de solvant ou encore $C^*_{(CBZH)} = 2.58\%$ (massique) à 15°C . La masse de cristaux secs de CBZH récupérée est la suivante :

$$M_{\text{CristauxCBZ}}(15^\circ\text{C}) = M_E \frac{(C_E - C^*)}{(1 - C^*)}$$

Avec M_E la masse totale de solvant, C_E la concentration initiale de CBZ et C^* la concentration de saturation de la CBZH (anhydre) à 15°C .

$$M_{\text{CristauxCBZ}}(15^\circ\text{C}) = (1000 + 208 + 156) \frac{(0.1138 - 0.0258)}{(1 - 0.0258)}$$

$$M_{\text{CristauxCBZ}}(15^\circ\text{C}) = 123.2\text{g}$$

En tenant compte des 13.2% d'eau dans les cristaux on obtient une masse de cristaux de CBZH de :

$$M_{\text{CristauxCBZH}}(15^\circ\text{C}) = 141.9\text{g}$$

A-2-Thermogramme ATG des lots de CBZH cristallisés

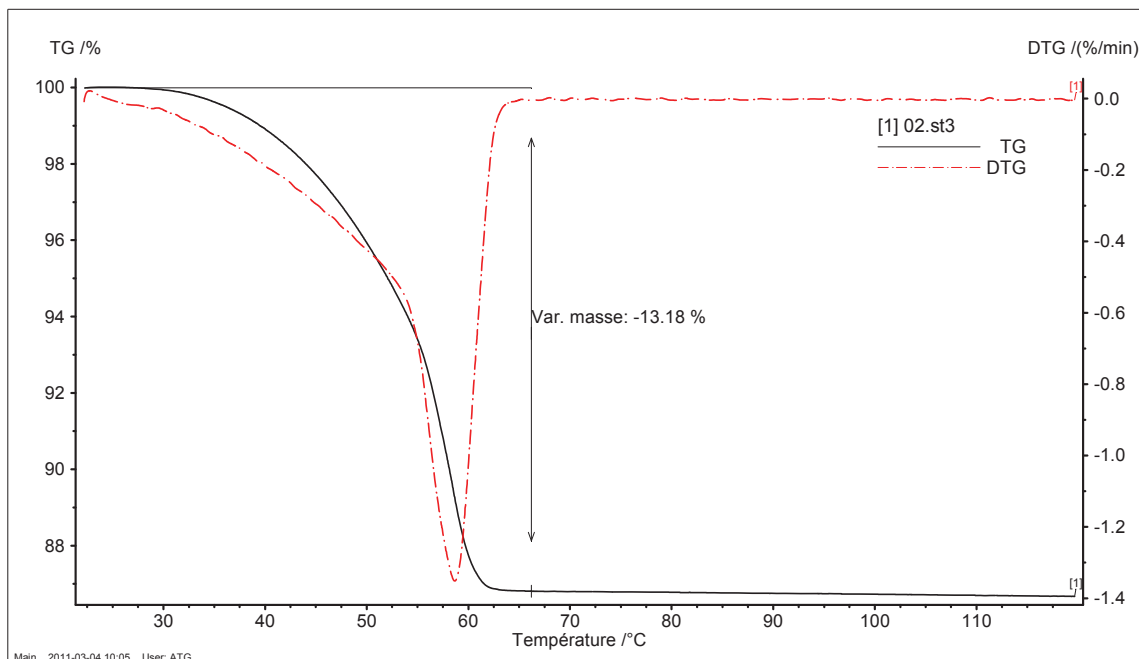


Figure A.1 : Thermogramme ATG de la CBZH lot SH-CB-03 à 1°C/min

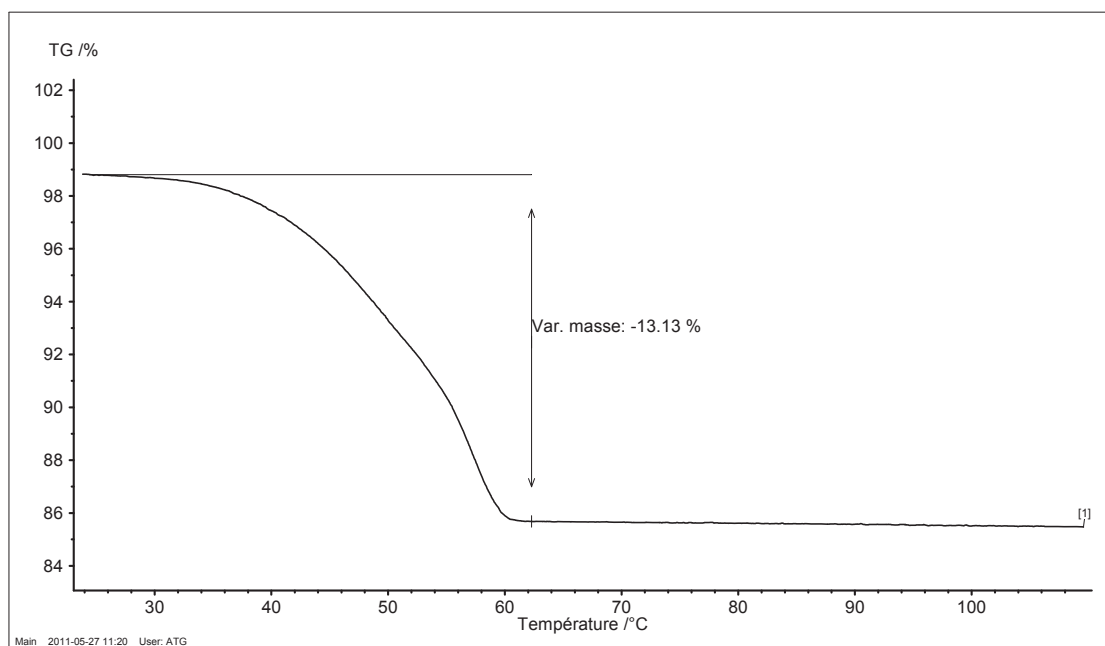
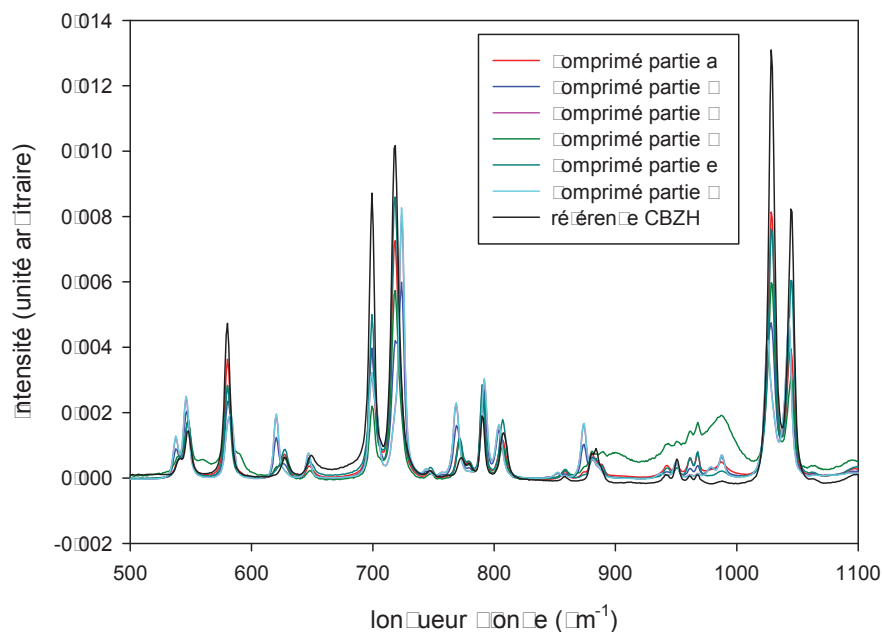
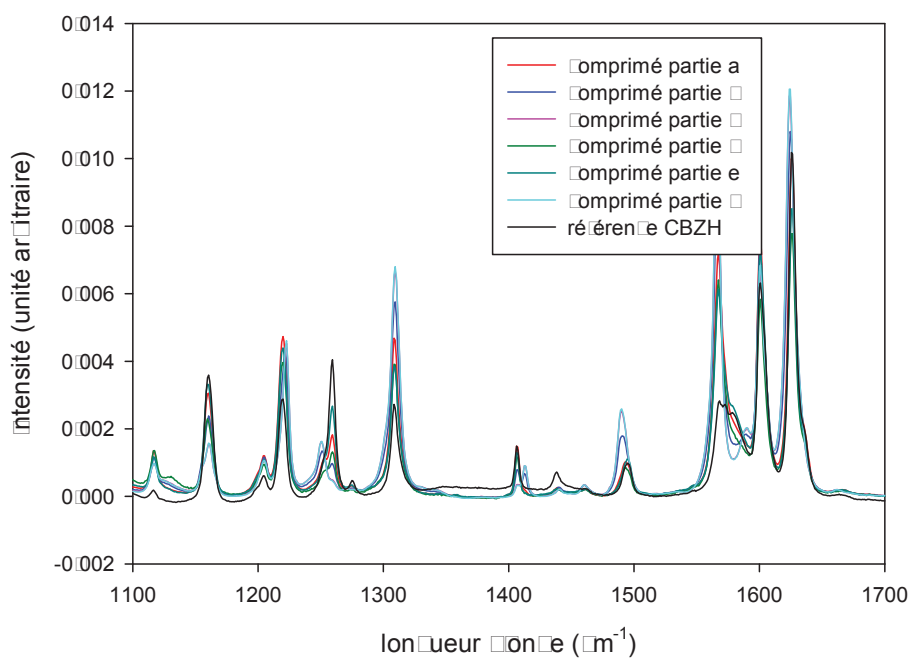


Figure A.2 : Thermogramme ATG de la CBZH lot SH-CB-05 à 1°C/min

A-3-Spectres Raman du lot SH-CB-03



Spectres Raman (500 – 1100 cm⁻¹) obtenus à différents points à la surface d'un comprimé de CBZH issu du lot SH-CB-03



Spectres Raman (1000 – 1100 cm⁻¹) obtenus à différents points à la surface d'un comprimé de CBZH issu du lot SH-CB-03

ANNEXE B : Fiches caractéristiques des excipients utilisés pour la compression directe

Cellulose, Microcrystalline

1 Nonproprietary Names

BP: Microcrystalline cellulose
JP: Microcrystalline cellulose
PhEur: Cellulosum microcrystallinum
USPNF: Microcrystalline cellulose

2 Synonyms

Avicel PH; Cellex; cellulose gel; Celphere; Ceolus KG; crystalline cellulose; E460; EmcoCel; Ethispheres; Fibrocel; Pharmacel; Tabulose; Vivapur.

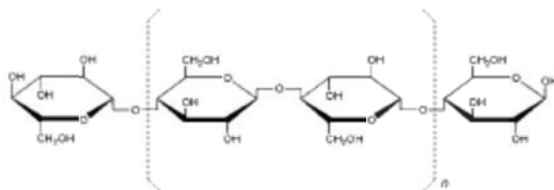
3 Chemical Name and CAS Registry Number

Cellulose [9004-34-6]

4 Empirical Formula and Molecular Weight

$(C_6H_{10}O_5)_n$ $\approx 36\,000$
where $n \approx 220$.

5 Structural Formula



6 Functional Category

Adsorbent; suspending agent; tablet and capsule diluent; tablet disintegrant.

7 Applications in Pharmaceutical Formulation or Technology

Microcrystalline cellulose is widely used in pharmaceuticals, primarily as a binder/diluent in oral tablet and capsule formulations where it is used in both wet-granulation and direct-compression processes.⁽¹⁻⁷⁾ In addition to its use as a binder/diluent, microcrystalline cellulose also has some lubricant⁽⁸⁾ and disintegrant properties that make it useful in tableting.

Microcrystalline cellulose is also used in cosmetics and food products; see Table I.

8 Description

Microcrystalline cellulose is a purified, partially depolymerized cellulose that occurs as a white, odorless, tasteless, crystalline powder composed of porous particles. It is commercially available in different particle sizes and moisture grades that have different properties and applications.

Table I Uses of microcrystalline cellulose.

Use	Concentration (%)
Adsorbent	20-90
Antiadherent	5-20
Capsule binder/diluent	20-90
Tablet disintegrant	5-15
Tablet binder/diluent	20-90

9 Pharmacopeial Specifications

See Table II.

Table II Pharmacopeial specifications for microcrystalline cellulose.

Test	JP 2001	PhEur 2005 (Suppl 5.1)	USPNF 23
Identification	+	+	+
Characters	+	+	-
pH	5.0-7.0	5.0-7.5	5.0-7.5
Bulk density	+	-	+
Loss on drying	$\leq 7.0\%$	$\leq 7.0\%$	$\leq 7.0\%$
Residue on ignition	$\leq 0.05\%$	-	$\leq 0.1\%$
Conductivity	+	+	+
Sulfated ash	-	$\leq 0.1\%$	-
Ether-soluble substances	$\leq 0.05\%$	$\leq 0.05\%$	$\leq 0.05\%$
Water-soluble substances	+	$\leq 0.25\%$	$\leq 0.25\%$
Heavy metals	≤ 10 ppm	≤ 10 ppm	$\leq 0.001\%$
Organic volatile impurities	-	-	+
Microbial limits	+	+	+
Aerobic	-	$\leq 10^3$ /g	≤ 1000 cfu/g
Molds and yeasts	-	$\leq 10^2$ /g	≤ 100 cfu/g
Solubility	-	+	-
Particle size distribution	-	-	+

10 Typical Properties

Angle of repose:

49° for *Ceolus KG*;
34.4° for *EmcoCel 90M*.⁽⁹⁾

Density (bulk):

0.337 g/cm³;
0.32 g/cm³ for *Avicel PH-101*;⁽¹⁰⁾
0.29 g/cm³ for *EmcoCel 90M*;⁽⁹⁾
0.29 g/cm³ for *VivaPur 101*.

Density (tapped):

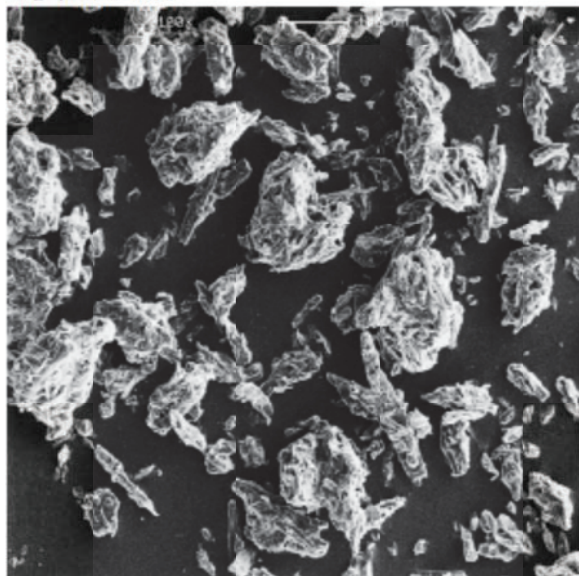
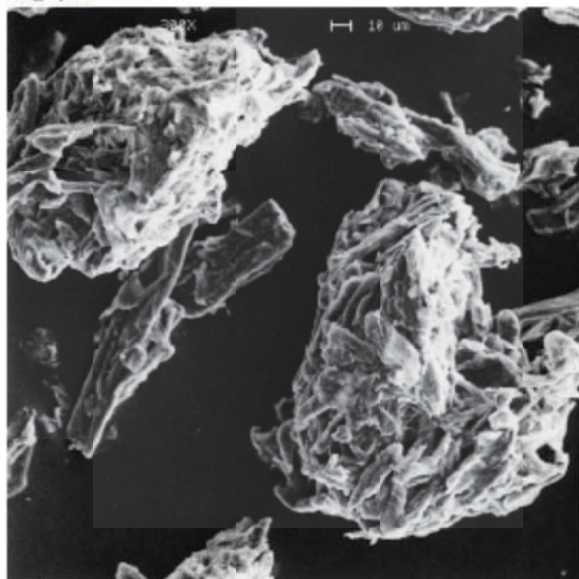
0.478 g/cm³;
0.45 g/cm³ for *Avicel PH-101*;
0.35 g/cm³ for *EmcoCel 90M*.⁽⁹⁾

Density (true): 1.512-1.668 g/cm³

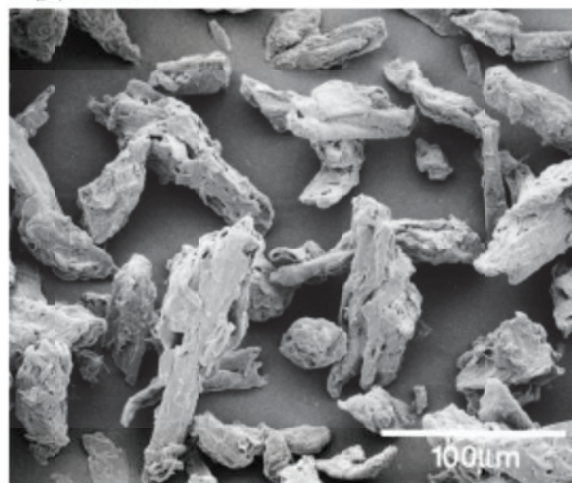
Flowability: 1.41 g/s for *EmcoCel 90M*.⁽⁹⁾

Melting point: chars at 260-270°C.

Moisture content: typically less than 5% w/w. However, different grades may contain varying amounts of water. Microcrystalline cellulose is hygroscopic.⁽¹¹⁾ See Table III.

SEM: 1*Excipient:* Microcrystalline cellulose*Manufacturer:* JRS Pharma LP.*Lot No.:* 98662*Magnification:* 100×**SEM: 2***Excipient:* Microcrystalline cellulose*Manufacturer:* JRS Pharma LP.*Lot No.:* 98662*Magnification:* 300×

Particle size distribution: typical mean particle size is 20–200 μm. Different grades may have a different nominal mean particle size; see Table III.

SEM: 3*Excipient:* Microcrystalline cellulose*Manufacturer:* FMC Biopolymer*Magnification:* 100×

Solubility: slightly soluble in 5% w/v sodium hydroxide solution; practically insoluble in water, dilute acids, and most organic solvents.

Specific surface area:

106–1.12 m²/g for *Avicel PH-101*;

121–1.30 m²/g for *Avicel PH-102*;

0.78–1.18 m²/g for *Avicel PH-200*.

11 Stability and Storage Conditions

Microcrystalline cellulose is a stable though hygroscopic material. The bulk material should be stored in a well-closed container in a cool, dry place.

12 Incompatibilities

Microcrystalline cellulose is incompatible with strong oxidizing agents.

13 Method of Manufacture

Microcrystalline cellulose is manufactured by controlled hydrolysis with dilute mineral acid solutions of α-cellulose, obtained as a pulp from fibrous plant materials. Following hydrolysis, the hydrocellulose is purified by filtration and the aqueous slurry is spray-dried to form dry, porous particles of a broad size distribution.

14 Safety

Microcrystalline cellulose is widely used in oral pharmaceutical formulations and food products and is generally regarded as a relatively nontoxic and nonirritant material.

Microcrystalline cellulose is not absorbed systemically following oral administration and thus has little toxic potential. Consumption of large quantities of cellulose may have a laxative effect, although this is unlikely to be a problem when cellulose is used as an excipient in pharmaceutical formulations.

Table III: Properties of selected commercially available grades of microcrystalline cellulose.

Grade	Nominal mean particle size (μm)	Particle size analysis		Moisture content (%)
		Mesh size	Amount retained (%)	
<i>Avicel PH-101</i> ^(a)	50	60 \leq 1.0 200 \leq 30.0	\leq 5.0	
<i>Avicel PH-102</i> ^(a)	100	60 \leq 8.0 200 \geq 45.0	\leq 5.0	
<i>Avicel PH-103</i> ^(a)	50	60 \leq 1.0 200 \leq 30.0	\leq 3.0	
<i>Avicel PH-105</i> ^(a)	20	400 \leq 1.0	\leq 5.0	
<i>Avicel PH-112</i> ^(a)	100	60 \leq 8.0	\leq 1.5	
<i>Avicel PH-113</i> ^(a)	50	60 \leq 1.0 200 \leq 30.0	\leq 1.5	
<i>Avicel PH-200</i> ^(a)	180	60 \geq 10.0 100 \geq 50.0	\leq 5.0	
<i>Avicel PH-301</i> ^(a)	50	60 \leq 1.0 200 \leq 30.0	\leq 5.0	
<i>Avicel PH-302</i> ^(a)	100	60 \leq 8.0 200 \geq 45.0	\leq 5.0	
<i>Cellex 101</i> ^(b)	75	60 \leq 1.0 200 \geq 30.0	\leq 5.0	
<i>Ceolus KG-802</i> ^(c)	50	60 \leq 0.5 200 \leq 30.0	\leq 6.0	
<i>Emcocel 50M</i> ^(d)	50	60 \leq 0.25 200 \leq 30.0	\leq 5.0	
<i>Emcocel 90M</i> ^(d)	91	60 \leq 8.0 200 \geq 45.0	\leq 5.0	
<i>Vivapur 101</i> ^(e)	50	60 \leq 1.0 200 \leq 30.0	\leq 5.0	
<i>Vivapur 102</i> ^(e)	90	60 \leq 8.0 200 \geq 45.0	\leq 5.0	
<i>Vivapur 12</i> ^(e)	160	38 \leq 1.0 94 \leq 50.0	\leq 5.0	

Suppliers:

^(a)FMC Biopolymer^(b)International Specialty Products^(c)Aashi Kasei Corporation^(d)J. Reitanmaier & Söhne GmbH

Deliberate abuse of formulations containing cellulose, either by inhalation or by injection, has resulted in the formation of cellulose granulomas.^(1,2)

15 Handling Precautions

Observe normal precautions appropriate to the circumstances and quantity of material handled. Microcrystalline cellulose may be irritant to the eyes. Gloves, eye protection, and a dust mask are recommended. In the UK, the occupational exposure limits for cellulose have been set at 10 mg/m³ long-term (8-hour TWA) for total inhalable dust and 4 mg/m³ for respirable dust; the short-term limit for total inhalable dust has been set at 20 mg/m³.⁽¹³⁾

16 Regulatory Status

GRAS listed. Accepted for use as a food additive in Europe. Included in the FDA Inactive Ingredients Guide (inhalations; oral capsules, powders, suspensions, syrups, and tablets; topical and vaginal preparations). Included in nonparenteral

medicines licensed in the UK. Included in the Canadian List of Acceptable Non-medicinal Ingredients.

17 Related Substances

Microcrystalline cellulose and carrageenan; microcrystalline cellulose and carboxymethylcellulose sodium; microcrystalline cellulose and guar gum; powdered cellulose; silicified microcrystalline cellulose.

Microcrystalline cellulose and carrageenan

Synonyms: *Lustre Clear*.

Comments: *Lustre Clear* (FMC Biopolymer) is an aqueous film coating combining microcrystalline cellulose and carrageenan.

Microcrystalline cellulose and carboxymethylcellulose sodium

Synonyms: *Avicel CL-611*; *Avicel RC-581*; *Avicel RC-591*; colloidal cellulose; dispersible cellulose.

Appearance: white, odorless and tasteless, hygroscopic powder. Acidity/alkalinity: pH = 6–8 for a 1.2% w/v aqueous dispersion.

Moisture content: not more than 6.0% w/w.

Particle size distribution:

Avicel CL-611: \leq 0.1% retained on a #60 mesh and \leq 50% retained on a #325 mesh;

Avicel RC-581: \leq 0.1% retained on a #60 mesh and \leq 35% retained on a #200 mesh;

Avicel RC-591: \leq 0.1% retained on a #60 mesh and \leq 45% retained on a #325 mesh.

Solubility: practically insoluble in dilute acids and organic solvents. Partially soluble in dilute alkali and water (carboxymethylcellulose sodium fraction).

Viscosity (dynamic):

5–20 mPa s (5–20 cP) for a 1.2% w/v aqueous dispersion of *Avicel CL-611*;

72–168 mPa s (72–168 cP) for *Avicel RC-581* at the same concentration;

39–91 mPa s (39–91 cP) for *Avicel RC-591* at the same concentration.

Comments: mixtures of microcrystalline cellulose and carboxymethylcellulose sodium that are dispersible in water and produce thixotropic gels are suitable as suspending vehicles in pharmaceutical formulations. The amount of carboxymethylcellulose present can vary between 8.3% and 18.8% w/w depending upon the grade of material.

Microcrystalline cellulose and guar gum

Synonyms: *Avicel CE-15*.

Comments: *Avicel CE-15* (FMC Biopolymer) is a coprocessed mixture of microcrystalline cellulose and guar gum used in chewable tablet formulations.

18 Comments

Several different grades of microcrystalline cellulose are commercially available that differ in their method of manufacture,^(14,15) particle size, moisture, flow, and other physical properties.^(16–28) The larger-particle-size grades generally provide better flow properties in pharmaceutical machinery. Low-moisture grades are used with moisture-sensitive materials. Higher-density grades have improved flowability.

Several coprocessed mixtures of microcrystalline cellulose with other excipients such as carrageenan, carboxymethylcellulose sodium, and guar gum are commercially available; see Section 17.

Celphere (Asahi Kasei Corporation) is a pure spheronized microcrystalline cellulose available in several different particle size ranges.

A specification for microcrystalline cellulose is contained in the Food Chemicals Codex (FCC).

19 Specific References

- Enzian GM. Direct compression of tablets using microcrystalline cellulose [in French]. *Pharm Acta Helv* 1972; 47: 321–363.
- Lerk CF, Bolhuis GK. Comparative evaluation of excipients for direct compression I. *Pharm Weekbl* 1973; 108: 469–481.
- Lerk CF, Bolhuis GK, de Boer AH. Comparative evaluation of excipients for direct compression II. *Pharm Weekbl* 1974; 109: 945–955.
- Lamberson RF, Raynor GE. Tableting properties of microcrystalline cellulose. *Manuf Chem Aerosol News* 1976; 47(6): 55–61.
- Lerk CF, Bolhuis GK, de Boer AH. Effect of microcrystalline cellulose on liquid penetration in and disintegration of directly compressed tablets. *J Pharm Sci* 1979; 68: 205–211.
- Chilankurti RN, Rhodes CT, Schwartz JB. Some studies on compression properties of tablet matrices using a computerized instrumented press. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 63–86.
- Wallace JW, Capozzi JT, Shangraw RF. Performance of pharmaceutical filler/binders as related to methods of powder characterization. *Pharm Technol* 1983; 7(9): 94–104.
- Omray A, Omray P. Evaluation of microcrystalline cellulose as a glidant. *Indian J Pharm Sci* 1986; 48: 20–22.
- Celik M, Okutgen E. A feasibility study for the development of a prospective compaction functionality test and the establishment of a compaction data bank. *Drug Dev Ind Pharm* 1993; 19: 2309–2334.
- Parker MD, York P, Rowe RC. Binder-substrate interactions in wet granulation 3: the effect of excipient source variation. *Int J Pharm* 1992; 80: 179–190.
- Callahan JC, Cleary GW, Elefant M, et al. Equilibrium moisture content of pharmaceutical excipients. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 355–369.
- Cooper CB, Bai TR, Heydemann E, Corrin B. Cellulose granules in the lungs of a cocaine sniffer. *Br Med J* 1983; 286: 2021–2022.
- Health and Safety Executive. *EH40/2002: Occupational Exposure Limits 2002*. Sudbury: Health and Safety Executive, 2002.
- Jain JK, Dixit VK, Varma KC. Preparation of microcrystalline cellulose from cereal straw and its evaluation as a tablet excipient. *Indian J Pharm Sci* 1983; 45: 83–85.
- Singh AK, Sakhuja A, Malik A. Evaluation of microcrystalline cellulose prepared from absorbent cotton as a direct compression carrier. *Drug Dev Ind Pharm* 1988; 14: 1131–1136.
- Doelker E, Mordier D, Iten H, Humbert-Droz P. Comparative tableting properties of sixteen microcrystalline celluloses. *Drug Dev Ind Pharm* 1987; 13: 1847–1875.
- Bassam F, York P, Rowe RC, Roberts RJ. Effect of particle size and source on variability of Young's modulus of microcrystalline cellulose powders. *J Pharm Pharmacol* 1988; 40: 68P.
- Dittgen M, Fricke S, Gerecke H. Microcrystalline cellulose in direct tableting. *Manuf Chem* 1993; 64(7): 17, 19, 21.
- Landin M, Martinez-Pacheco R, Gómez-Amoza JL, et al. Effect of country of origin on the properties of microcrystalline cellulose. *Int J Pharm* 1993; 91: 123–131.
- Landin M, Martinez-Pacheco R, Gómez-Amoza JL, et al. Effect of batch variation and source of pulp on the properties of microcrystalline cellulose. *Int J Pharm* 1993; 91: 133–141.
- Landin M, Martinez-Pacheco R, Gómez-Amoza JL, et al. Influence of microcrystalline cellulose source and batch variation on abletting behavior and stability of prednisone formulations. *Int J Pharm* 1993; 91: 143–149.
- Podczek F, Révész P. Evaluation of the properties of microcrystalline and microfine cellulose powders. *Int J Pharm* 1993; 91: 183–193.
- Rowe RC, McKillop AG, Bray D. The effect of batch and source variation on the crystallinity of microcrystalline cellulose. *Int J Pharm* 1994; 101: 169–172.
- Hasegawa M. Direct compression: microcrystalline cellulose grade 12 versus classic grade 102. *Pharm Technol* 2002; 26(5): 50, 52, 54, 56, 58, 60.
- Kothari SH, Kumar V, Banker GS. Comparative evaluations of powder and mechanical properties of low crystallinity celluloses, microcrystalline celluloses, and powdered celluloses. *Int J Pharm* 2002; 232: 69–80.
- Levis SR, Deasy PB. Production and evaluation of size-reduced grades of microcrystalline cellulose. *Int J Pharm* 2001; 213: 13–24.
- Wu JS, Ho HO, Sheu MT. A statistical design to evaluate the influence of manufacturing factors on the material properties and functionalities of microcrystalline cellulose. *Eur J Pharm Sci* 2001; 12: 417–425.
- Suzuki T, Nakagami H. Effect of crystallinity of microcrystalline cellulose on the compactability and dissolution of tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 1999; 47: 225–230.

20 General References

- Asahi Kasei Corporation. Technical literature: *Ceolus KG microcrystalline cellulose*, 2001.
- Asahi Kasei Corporation. Technical literature: *Celphere microcrystalline cellulose sphers*, 2001.
- DMV Pharma. Technical literature: *Pharmacel microcrystalline cellulose*, 1998.
- Doelker E. Comparative compaction properties of various microcrystalline cellulose types and generic products. *Drug Dev Ind Pharm* 1993; 19: 2399–2471.
- FMC Biopolymer. Technical literature: *Avicel PH microcrystalline cellulose*, 1998.
- International Specialty Products. Technical literature: *Celex 101 microcrystalline cellulose*, 1997.
- JRS Pharma LP. Technical literature: *Emcocel microcrystalline cellulose*, 2003.
- Smolinske SC. *Handbook of Food, Drug, and Cosmetic Excipients*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992: 71–74.
- Stanforth JN, Baichwal AR, Hart JP, Heng PWS. Effect of addition of water on the rheological and mechanical properties of microcrystalline celluloses. *Int J Pharm* 1988; 41: 231–236.

21 Authors

LY Galichet.

22 Date of Revision

20 August 2005.

Magnesium Stearate

1 Nonproprietary Names

BP: Magnesium stearate
JP: Magnesium stearate
PhEur: Magnesium stearas
USPNF: Magnesium stearate

2 Synonyms

Magnesium octadecanoate; octadecanoic acid, magnesium salt; stearic acid, magnesium salt.

3 Chemical Name and CAS Registry Number

Octadecanoic acid magnesium salt [557-04-0]

4 Empirical Formula and Molecular Weight

$C_{36}H_{70}MgO_4$ 591.34

The USPNF 23 describes magnesium stearate as a compound of magnesium with a mixture of solid organic acids that consists chiefly of variable proportions of magnesium stearate and magnesium palmitate ($C_{32}H_{62}MgO_4$). The PhEur 2005 describes magnesium stearate as a mixture of magnesium salts of different fatty acids consisting mainly of stearic acid and palmitic acid and in minor proportions other fatty acids.

5 Structural Formula

$[CH_3(CH_2)_{16}COO]_2Mg$

6 Functional Category

Tablet and capsule lubricant.

7 Applications in Pharmaceutical Formulation or Technology

Magnesium stearate is widely used in cosmetics, foods, and pharmaceutical formulations. It is primarily used as a lubricant in capsule and tablet manufacture at concentrations between 0.25% and 5.0% w/w. It is also used in barrier creams. See also Section 18.

8 Description

Magnesium stearate is a very fine, light white, precipitated or milled, impalpable powder of low bulk density, having a faint odor of stearic acid and a characteristic taste. The powder is greasy to the touch and readily adheres to the skin.

9 Pharmacopeial Specifications

See Table I.

Table I Pharmacopeial specifications for magnesium stearate.

Test	JP 2001	PhEur 2005	USPNF 23
Identification	+	+	+
Characters	—	+	—
Microbial limits	+	+	+
Aerobic microbes	≤1000/g	≤10 ³ /g	≤10 ³ /g
Fungi and yeasts	≤500/g	—	≤500/g
Acidity or alkalinity	+	+	+
Acid value of the fatty acid	—	19.5–21.0	—
Freezing point	—	≥53°C	—
Nickel	—	≤5 ppm	—
Cadmium	—	≤3 ppm	—
Specific surface area	—	—	+
Loss on drying	≤6.0%	≤6.0%	≤6.0%
Chloride	≤0.1%	≤0.1%	≤0.1%
Sulfate	≤1.0%	≤0.5%	≤1.0%
Lead	—	≤10 ppm	≤0.001%
Heavy metals	≤20 ppm	—	—
Relative stearic/palmitic content	+	+	+
Organic volatile impurities	—	—	+
Assay [dried, as Mg]	4.0–5.0%	4.0–5.0%	4.0–5.0%

10 Typical Properties

Crystalline forms; high-purity magnesium stearate has been isolated as a trihydrate, a dihydrate, and an anhydride.

Density (bulk): 0.159 g/cm³

Density (tapped): 0.286 g/cm³

Density (true): 1.092 g/cm³

Flash point: 250°C

Flowability: poorly flowing, cohesive powder.

Melting range:

117–150°C (commercial samples);

126–130°C (high purity magnesium stearate).

Solubility: practically insoluble in ethanol, ethanol (95%), ether and water; slightly soluble in warm benzene and warm ethanol (95%).

Specific surface area: 1.6–14.8 m²/g

11 Stability and Storage Conditions

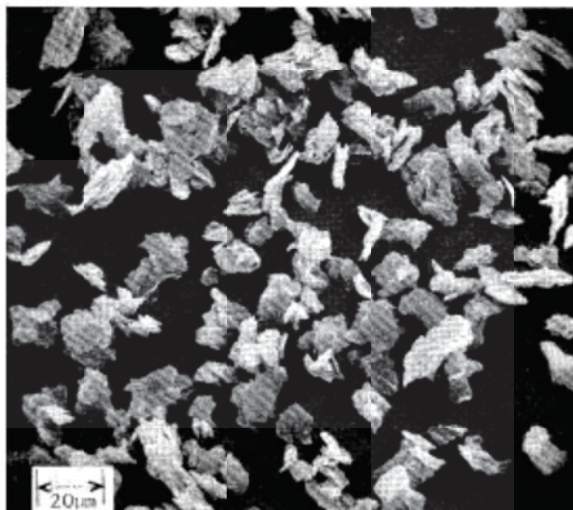
Magnesium stearate is stable and should be stored in a well-closed container in a cool, dry place.

12 Incompatibilities

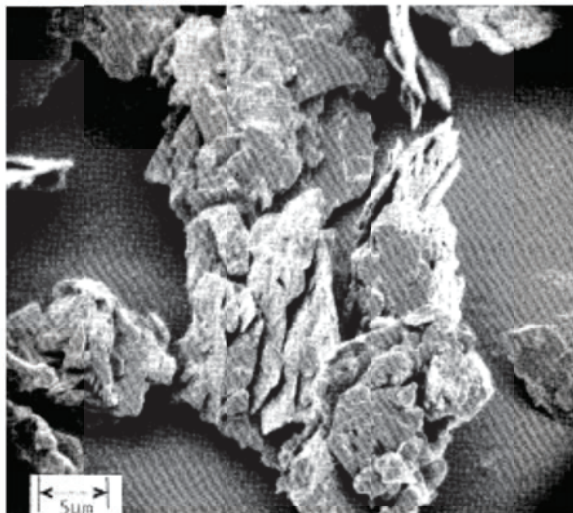
Incompatible with strong acids, alkalis, and iron salts. Avoid mixing with strong oxidizing materials. Magnesium stearate cannot be used in products containing aspirin, some vitamins, and most alkaloidal salts.

SEM: 1

Excipient: Magnesium stearate
Magnification: 600×

**SEM: 2**

Excipient: Magnesium stearate
Magnification: 2400×

**13 Method of Manufacture**

Magnesium stearate is prepared either by the interaction of aqueous solutions of magnesium chloride with sodium stearate or by the interaction of magnesium oxide, hydroxide, or carbonate with stearic acid at elevated temperatures.

14 Safety

Magnesium stearate is widely used as a pharmaceutical excipient and is generally regarded as being nontoxic following

oral administration. However, oral consumption of large quantities may produce a laxative effect or mucosal irritation.

No toxicity information is available relating to normal routes of occupational exposure. Limits for heavy metals in magnesium stearate worst-case daily intake and heavy metal composition.⁽¹⁾

Toxicity assessments of magnesium stearate in rats have indicated that it is not irritating to the skin, and is nontoxic when administered orally or inhaled.^(2,3)

Magnesium stearate has not been shown to be carcinogenic when implanted into the bladder of mice.⁽⁴⁾

LD₅₀ (rat, inhalation): >2 mg/L.⁽²⁾

LD₅₀ (rat, oral): >10 g/kg

15 Handling Precautions

Observe normal precautions appropriate to the circumstances and quantity of material handled. Eye protection and gloves are recommended. Excessive inhalation of magnesium stearate dust may cause upper respiratory tract discomfort, coughing, and choking. Magnesium stearate should be handled in a well-ventilated environment; a respirator is recommended.

16 Regulatory Acceptance

GRAS listed. Accepted as a food additive in the UK. Included in the FDA Inactive Ingredients Guide (oral capsules, powders, and tablets; buccal and vaginal tablets; topical preparations). Included in nonparenteral medicines licensed in the UK. Included in the Canadian List of Acceptable Non-medical Ingredients.

17 Related Substances

Calcium stearate; magnesium aluminum silicate; stearic acid; zinc stearate.

18 Comments

Magnesium stearate is hydrophobic and may retard the dissolution of a drug from a solid dosage form; the lowest possible concentration is therefore used in such formulations.⁽⁵⁻¹⁰⁾ Capsule dissolution is also sensitive to both the amount of magnesium stearate in the formulation and the mixing time; higher levels of magnesium stearate and long mixing times can result in the formation of hydrophobic powder beds that do not disperse after the capsule shell dissolves.^(11,12)

An increase in the coefficient of variation of mixing and a decrease in the dissolution rate have been observed following blending of magnesium stearate with a tablet granulation. Tablet dissolution rate and crushing strength decreased as the time of blending increased; and magnesium stearate may also increase tablet friability. Blending times with magnesium stearate should therefore be carefully controlled.⁽¹³⁻¹⁹⁾

The existence of various crystalline forms of magnesium stearate has been established.⁽³⁰⁻³⁴⁾ A trihydrate, a dihydrate, and an anhydrate have been isolated,^(5,32,33,35) and an amorphous form has been observed.⁽³⁶⁾ While the hydrate forms are stable in the presence of moisture, the anhydrous form adsorbs moisture at relative humidity up to 50%, and at higher humidities rehydrates to form the trihydrate. The anhydrate can be formed by drying either of the hydrates at 105°C.⁽³³⁾

It has not been conclusively established which form of pure magnesium stearate possesses the best lubricating properties.^(31,32,36,37) Commercial lots of magnesium stearate generally consist of mixtures of crystalline forms.^(32,34,38-40) Because of the possibility of conversion of crystalline forms during heating, consideration should be given to the pretreatment conditions employed when determining physical properties of magnesium stearate powders such as surface area.⁽⁴¹⁾

Physical properties of magnesium stearate can vary among batches from different manufacturers⁽⁴⁰⁾ because the solid-state characteristics of the powder are influenced by manufacturing variables.⁽³¹⁾ Variations in the physical properties of different lots of magnesium stearate from the same vendor have also been observed.⁽⁴⁰⁾ Presumably because of these variations, it has not been possible to conclusively correlate the dissolution rate retardation with observed lubricity.⁽⁴²⁾

However, various physical properties of different batches of magnesium stearate such as specific surface area, particle size, crystalline structure, moisture content, and fatty acid composition have been correlated with lubricant efficacy.^(32,36,39,40,43-47) Due to variations in the specific surface area, the USP NF 23 labeling states that specific surface area and the method specified for its determination should be listed on the label. Reduction in dissolution caused by the effects of magnesium stearate in some cases can be overcome by including a highly swelling disintegrant in the formulation.⁽⁴⁸⁾

There is evidence to suggest that the hydrophobic nature of magnesium stearate can vary from batch to batch owing to the presence of water-soluble, surface-active impurities such as sodium stearate. Batches containing very low concentrations of these impurities have been shown to retard the dissolution of a drug to a greater extent than when using batches that contain higher levels of impurities.⁽⁴²⁾ One study related lubricity to the fatty acid composition (stearate : palmitate) of lubricant lots for tablet formulations based on compaction data and tablet material properties.⁽⁴⁷⁾ However, other studies have indicated that fatty acid composition has no influence on lubricant activity⁽³²⁾ and high-purity magnesium stearate was as effective a lubricant as the commercial material.⁽¹⁰⁾ Moisture sorption at different relative humidities can result in morphological changes in the magnesium stearate.^(49,50)

A specification for magnesium stearate is included in the Food Chemicals Codex (FCC). The EINECS number for magnesium stearate is 209-150-3.

19 Specific References

- 1 Chowhan ZI, Harmonization of excipient standards. In: Weiner ML, Koczkoskie LA, eds. *Excipient Toxicity and Safety*. New York: Marcel Dekker, 2000: 321-354.
- 2 Anonymous. Final report of the safety assessment of lithium stearate, aluminum distearate, aluminum stearate, aluminum tristearate, ammonium stearate, calcium stearate, magnesium stearate, potassium stearate, sodium stearate, and zinc stearate. *J Am Coll Toxicol* 1982; 1: 143-177.
- 3 Sondergaard D, Meyer O, Wurtzen G. Magnesium stearate given perorally to rats: a short term study. *Toxicology* 1980; 17: 51-55.
- 4 Boyland E, Busby ER, Dukes CE, et al. Further experiments on implantation of materials into the urinary bladder of mice. *Br J Cancer* 1964; 18: 575-581.
- 5 Levy G, Guntow RH. Effect of certain formulation factors on dissolution rate of the active ingredient III: tablet lubricants. *J Pharm Sci* 1963; 52: 1139-1144.
- 6 Ganderton D. The effect of distribution of magnesium stearate on the penetration of a tablet by water. *J Pharm Pharmacol* 1969; 21 (Suppl.): 95-185.
- 7 Caldwell HC. Dissolution of lithium and magnesium from lithium carbonate capsules containing magnesium stearate. *J Pharm Sci* 1974; 63: 770-773.
- 8 Chowhan ZI, Amaro AA, Chow YP. Tablet-to-tablet dissolution variability and its relationship to the homogeneity of a water-soluble drug. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 145-168.
- 9 Lerk CF, Bolhuis GK, Smallembroek AJ, Zuurman K. Interaction of tablet disintegrants and magnesium stearate during mixing II: effect on dissolution rate. *Pharm Acta Helv* 1982; 57: 282-286.
- 10 Hussain MSH, York P, Timmins P. Effect of commercial and high purity magnesium stearates on in-vitro dissolution of paracetamol DC tablets. *Int J Pharm* 1992; 78: 203-207.
- 11 Samyn JC, Jung WY. In vitro dissolution from several experimental capsule formulations. *J Pharm Sci* 1970; 59: 169-175.
- 12 Murthy KS, Samyn JC. Effect of shear mixing on in vitro drug release of capsule formulations containing lubricants. *J Pharm Sci* 1977; 66: 1215-1219.
- 13 Ragnarsson G, Holzer AW, Sjogren J. The influence of mixing time and colloidal silica on the lubricating properties of magnesium stearate. *Int J Pharm* 1979; 3: 127-131.
- 14 Bolhuis GK, Lerk CF, Broersma P. Mixing action and evaluation of tablet lubricants in direct compression. *Drug Dev Ind Pharm* 1980; 6: 573-589.
- 15 Bossert J, Stamm A. Effect of mixing on the lubrication of crystalline lactose by magnesium stearate. *Drug Dev Ind Pharm* 1980; 6: 573-589.
- 16 Bolhuis GK, Smallembroek AJ, Lerk CF. Interaction of tablet disintegrants and magnesium stearate during mixing I: effect on tablet disintegration. *J Pharm Sci* 1981; 70: 1328-1330.
- 17 Sheikh-Salem M, Fell JT. The influence of magnesium stearate on time dependent strength changes in tablets. *Drug Dev Ind Pharm* 1981; 7: 669-674.
- 18 Stewart PJ. Influence of magnesium stearate on the homogeneity of a prednisone granule ordered mix. *Drug Dev Ind Pharm* 1981; 7: 485-495.
- 19 Jarosz PJ, Parrott EL. Effect of tablet lubricants on axial and radial work of failure. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 445-453.
- 20 Mitrevej KT, Augsburg L. Adhesion of tablets in a rotary tablet press II: effects of blending time, running time, and lubricant concentration. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 237-282.
- 21 Khan KA, Muskabhumma P, Rubinstein MH. The effect of mixing time of magnesium stearate on the tableting properties of dried microcrystalline cellulose. *Pharm Acta Helv* 1983; 58: 109-111.
- 22 Johansson ME. Investigations of the mixing time dependence of the lubricating properties of granular and powdered magnesium stearate. *Acta Pharm Suec* 1985; 22: 343-350.
- 23 Johansson ME. Influence of the granulation technique and starting material properties on the lubricating effect of granular magnesium stearate. *J Pharm Pharmacol* 1985; 37: 681-685.
- 24 Chowhan ZI, Chi LH. Drug-excipient interactions resulting from powder mixing III: solid state properties and their effect on drug dissolution. *J Pharm Sci* 1986; 75: 534-541.
- 25 Chowhan ZI, Chi LH. Drug-excipient interactions resulting from powder mixing IV: role of lubricants and their effect on in vitro dissolution. *J Pharm Sci* 1986; 75: 542-545.
- 26 Johansson ME, Nicklasson M. Influence of mixing time, particle size and colloidal silica on the surface coverage and lubrication of magnesium stearate. In: Rubinstein MH, ed. *Pharmaceutical Technology: Tableting Technology*. Chichester: Ellis Horwood, 1987: 43-50.
- 27 Wang LH, Chowhan ZI. Drug-excipient interactions resulting from powder mixing V: role of sodium lauryl sulfate. *Int J Pharm* 1990; 60: 61-78.
- 28 Muzikova J, Hozacek J. The dry binders, *Vivapur 102*, *Vivapur 12* and the effect of magnesium stearate on the strength of tablets containing these substances. *Ceske Slov Farm* 2003; 52(4): 176-180.
- 29 Muzikova J. Effect of magnesium stearate on the tensile strength of tablets made with the binder *Prosolv SMCC 90*. *Ceska Slov Farm* 2002; 51(1): 41-43.
- 30 Muller BW. The pseudo-polymorphism of magnesium stearate. *Zbl Pharm* 1977; 116(12): 1261-1266.

- 31 Miller TA, York P. Physical and chemical characteristics of some high purity magnesium stearate and palmitate powders. *Int J Pharm* 1985; 23: 55–67.
- 32 Ertel KD, Carstensen JT. Chemical, physical, and lubricant properties of magnesium stearate. *J Pharm Sci* 1988; 77: 625–629.
- 33 Ertel KD, Carstensen JT. An examination of the physical properties of pure magnesium stearate. *Int J Pharm* 1988; 42: 171–180.
- 34 Wada Y, Matsubara T. Pseudo-polymorphism and crystalline transition of magnesium stearate. *Thermochim Acta* 1992; 196: 63–84.
- 35 Sharpe SA, Celik M, Newman AW, Brittain HG. Physical characterization of the polymorphic variations of magnesium stearate and magnesium palmitate hydrate species. *Struct Chem* 1997; 8(1): 73–84.
- 36 Leinonen UI, Jalonen HU, Vihervaara PA, Laine ESU. Physical and lubrication properties of magnesium stearate. *J Pharm Sci* 1992; 81(12): 1194–1198.
- 37 Muller BW. Polymorphism of magnesium stearate and the influence of the crystal structure on the lubricating behavior of excipients. *Acta Pharm Suec* 1981; 18: 74–75.
- 38 Brittain HG. Raw materials. *Drug Dev Ind Pharm* 1989; 15(13): 2083–2103.
- 39 Dansereau R, Peck GE. The effect of the variability in the physical and chemical properties of magnesium stearate on the properties of compressed tablets. *Drug Dev Ind Pharm* 1987; 13: 975–999.
- 40 Barra J, Somma R. Influence of the physicochemical variability of magnesium stearate on its lubricant properties: possible solutions. *Drug Dev Ind Pharm* 1996; 22(11): 1105–1120.
- 41 Phadke DS, Collier JL. Effect of degassing temperature on the specific surface area and other physical properties of magnesium stearate. *Drug Dev Ind Pharm* 1994; 20(5): 853–858.
- 42 Billany MR, Richards JH. Batch variation of magnesium stearate and its effect on the dissolution rate of salicylic acid from solid dosage forms. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 497–511.
- 43 Frattini C, Simioni L. Should magnesium stearate be assessed in the formulation of solid dosage forms by weight or by surface area? *Drug Dev Ind Pharm* 1984; 10: 1117–1130.
- 44 Bos CE, Vromans H, Lerck CF. Lubricant sensitivity in relation to bulk density for granulations based on starch or cellulose. *Int J Pharm* 1991; 67: 39–49.
- 45 Phadke DS, Eichorst JL. Evaluation of particle size distribution and specific surface area of magnesium stearate. *Drug Dev Ind Pharm* 1991; 17: 901–906.
- 46 Steffens KJ, Koglin J. The magnesium stearate problem. *Mamf Chem* 1993; 64(12): 16, 17, 19.
- 47 Marwaha SB, Rubinstein MH. Structure-lubricity evaluation of magnesium stearate. *Int J Pharm* 1988; 43(3): 249–255.
- 48 Desai DS, Rubinski BA, Varia SA, Newman AW. Physical interactions of magnesium stearate with starch-derived disintegrants and their effects on capsule and tablet dissolution. *Int J Pharm* 1993; 91(2–3): 217–226.
- 49 Swaminathan V, Kildisig DO. An examination of the moisture sorption characteristics of commercial magnesium stearate. *AAPS PharSciTech* 2001; 2(4): 28.
- 50 Braconi P, Andres C, Ndiaye A. Structural properties of magnesium stearate pseudopolymorphs: effect of temperature. *Int J Pharm* 2003; 262 (1–2): 109–124.

20 General References

- Bohidar NR, Restaino FA, Schwartz JB. Selecting key pharmaceutical formulation factors by regression analysis. *Drug Dev Ind Pharm* 1979; 5: 175–216.
- Butcher AE, Jones TM. Some physical characteristics of magnesium stearate. *J Pharm Pharmacol* 1972; 24: 1P–9P.
- Ford JL, Rubinstein MH. An investigation into some pharmaceutical interactions by differential scanning calorimetry. *Drug Dev Ind Pharm* 1981; 7: 675–682.
- Johansson ME. Granular magnesium stearate as a lubricant in tablet formulations. *Int J Pharm* 1984; 21: 307–315.
- Jones TM. The effect of glidant addition on the flowability of bulk particulate solids. *J Soc Cosmet Chem* 1970; 21: 483–500.
- Pilpel N. Metal stearates in pharmaceuticals and cosmetics. *Mamf Chem Aerosol News* 1971; 42(10): 37–40.
- York P. Tablet lubricants. In: Florence AT, ed. *Materials Used in Pharmaceutical Formulation*. London: Society of Chemical Industry 1984: 37–70.
- Zanowiak P. Lubrication in solid dosage form design and manufacture. In: Swarbrick J, Boylan JC, eds. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* vol. 9. New York: Marcel Dekker, 1990: 87–112.

21 Authors

LV Allen, PE Luner.

22 Date of Revision

9 August 2005.

Calcium Phosphate, Dibasic Anhydrous

1 Nonproprietary Names

BP: Anhydrous calcium hydrogen phosphate
 JP: Anhydrous dibasic calcium phosphate
 PhEur: Calcii hydrogenophosphas anhydricus
 USP: Dibasic calcium phosphate

2 Synonyms

A-TAB; calcium monohydrogen phosphate; calcium orthophosphate; *Di-Cafos AN*; dicalcium orthophosphate; E341; *Emcompress Anhydrous*; *Fujicalin*; phosphoric acid calcium salt (1:1); secondary calcium phosphate.

3 Chemical Name and CAS Registry Number

Dibasic calcium phosphate [7757-93-9]

4 Empirical Formula and Molecular Weight

CaHPO_4 136.06

5 Structural Formula

CaHPO_4

6 Functional Category

Tablet and capsule diluent.

7 Applications in Pharmaceutical Formulation or Technology

Anhydrous dibasic calcium phosphate is used both as an excipient and as a source of calcium in nutritional supplements. It is used particularly in the nutritional/health food sectors. It is also used in pharmaceutical products because of its compaction properties, and the good flow properties of the coarse-grade material.⁽¹⁻⁵⁾ The predominant deformation mechanism of anhydrous dibasic calcium phosphate coarse-grade is brittle fracture and this reduces the strain-rate sensitivity of the material, thus allowing easier transition from the laboratory to production scale. However, unlike the dihydrate, anhydrous dibasic calcium phosphate when compacted at higher pressures can exhibit lamination and capping. This phenomenon can be observed when the material represents a substantial proportion of the formulation and is exacerbated by the use of deep concave tooling. This phenomenon also appears to be independent of rate of compaction.

Anhydrous dibasic calcium phosphate is abrasive and a lubricant is required for tableting, for example 1% w/w magnesium stearate or 1% w/w sodium stearyl fumarate.

Two particle-size grades of anhydrous dibasic calcium phosphate are used in the pharmaceutical industry. Milled material is typically used in wet-granulated or roller-compacted formulations. The 'unmilled' or coarse-grade material is typically used in direct-compression formulations.

Anhydrous dibasic calcium phosphate is nonhygroscopic and stable at room temperature. It does not hydrate to form the dihydrate.

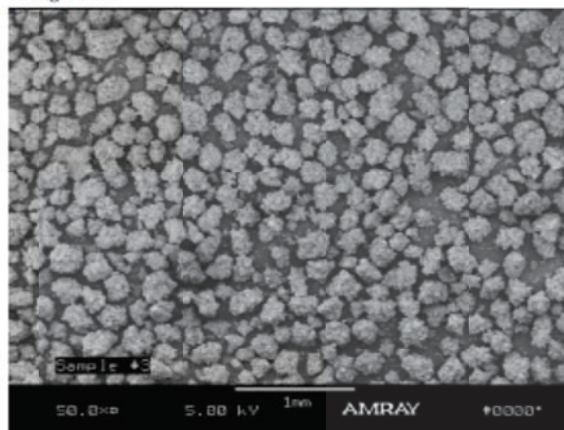
Anhydrous dibasic calcium phosphate is used in toothpaste and dentifrice formulations for its abrasive properties.

8 Description

Anhydrous dibasic calcium phosphate is a white, odorless, tasteless powder or crystalline solid. It occurs as triclinic crystals.

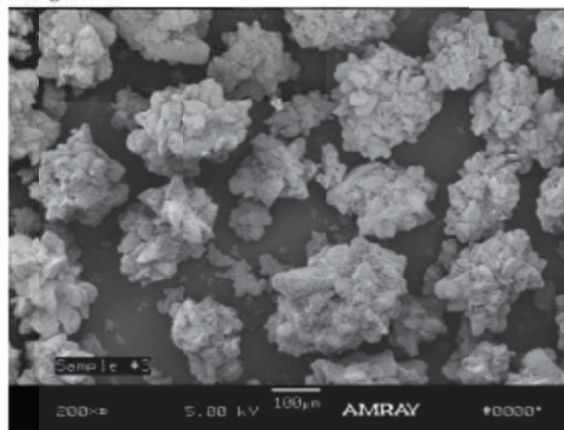
SEM: 1

Excipient: Emcompress Anhydrous
Manufacturer: JRS Pharma LP
Magnification: 50×
Voltage: 5kV



SEM: 2

Excipient: Emcompress Anhydrous
Manufacturer: JRS Pharma LP
Magnification: 200×
Voltage: 5kV



9 Pharmacopeial Specifications

See Table I.

Table I: Pharmacopeial specifications for calcium phosphate, dibasic anhydrous.

Test	JP 2001	PhEur 2005	USP 28
Identification	+	+	+
Characters	+	+	—
Loss on ignition	—	—	6.6–8.5%
Loss on drying	≤ 1.0%	≤ 2.0%	—
Acid insoluble substance	≤ 0.05%	—	≤ 0.2%
Heavy metals	≤ 31 ppm	≤ 40 ppm	≤ 0.003%
Chloride	≤ 0.248%	≤ 330 ppm	≤ 0.25%
Fluoride	—	≤ 100 ppm	≤ 0.005%
Sulfate	≤ 0.200%	≤ 0.5%	≤ 0.5%
Carbonate	+	+	+
Barium	+	+	+
Arsenic	≤ 2 ppm	≤ 10 ppm	≤ 3 µg/g
Organic volatile impurities	—	—	+
Iron	—	≤ 400 ppm	—
Assay (dried basis)	≥ 98.0%	98.0–101.0%	98.0–105.0%

10 Typical properties

Acidity/alkalinity:

- pH = 7.3 (20% slurry);
- pH = 5.1 (20% slurry of *A-TAB*);
- pH = 6.1–7.2 (5% slurry of *Fujicalin*).

Angle of repose: 32° (for *Fujicalin*)

Density: 2.89 g/cm³

Density (bulk):

- 0.78 g/cm³ for *A-TAB*;
- 0.45 g/cm³ for *Fujicalin*.

Density (tapped):

- 0.82 g/cm³ for *A-TAB*;
- 0.46 g/cm³ for *Fujicalin*.

Melting point: does not melt; decomposes at ≈425°C to form calcium pyrophosphate.

Moisture content: 0.1–0.2%. The anhydrous material contains only surface-adsorbed moisture and cannot be rehydrated to form the dihydrate.

Particle size distribution:

- A-TAB*: average particle diameter 180 µm;
- Encompress Anhydrous*: average particle diameter 136 µm;
- Fujicalin*: average particle diameter 94 µm;
- Powder: average particle diameter: 15 µm.

Solubility: practically insoluble in ether, ethanol, and water; soluble in dilute acids.

Specific surface area:

- 20–30 m²/g for *A-TAB*;
- 35 m²/g for *Fujicalin*.

11 Stability and Storage Conditions

Dibasic calcium phosphate anhydrous is a nonhygroscopic, relatively stable material. Under conditions of high humidity it does not hydrate to form the dihydrate.

The bulk material should be stored in a well-closed container in a dry place.

12 Incompatibilities

Dibasic calcium phosphate should not be used to formulate tetracycline antibiotics.⁽⁶⁾

The surface of milled anhydrous dibasic calcium phosphate is alkaline⁽²⁾ and consequently it should not be used with drugs that are sensitive to alkaline pH. However, reports^(7,8) suggest there are differences in the surface alkalinity/acidity between the milled and unmilled grades of anhydrous dibasic calcium phosphate; the unmilled form has an acidic surface environment. This difference has important implications for drug stability, particularly when reformulating from, e.g. roller compaction to direct compression, when the particle size of the anhydrous dibasic calcium phosphate might be expected to change.

Dibasic calcium phosphate dihydrate has been reported to be incompatible with a number of drugs and excipients and many of these incompatibilities are expected to occur with dibasic calcium phosphate, anhydrous; see Calcium phosphate, dibasic dihydrate.

13 Method of Manufacture

Calcium phosphates are usually prepared by reacting very pure phosphoric acid with calcium hydroxide, Ca(OH)₂ obtained from limestone, in stoichiometric ratio in aqueous suspension⁽²⁾ followed by drying at a temperature that will allow the correct hydration state to be achieved. After drying, the coarse-grade material is obtained by means of a classification unit; the fine particle-size material is obtained by milling. Dibasic calcium phosphate, anhydrous, may also be prepared by spray-drying.^(9,10)

14 Safety

Dibasic calcium phosphate anhydrous is widely used in oral pharmaceutical products, food products, and toothpastes and is generally regarded as a relatively nontoxic and nonirritant material.

15 Handling Precautions

Observe normal precautions appropriate to the circumstances and quantity of material handled. The fine-milled grades can generate nuisance dusts and the use of a respirator or dust mask may be necessary.

16 Regulatory Status

GRAS listed. Accepted as a food additive in Europe. Included in the FDA Inactive Ingredients Guide (oral capsules and tablets). Included in nonparenteral medicines licensed in Europe. Included in the Canadian List of Acceptable Non-medicinal Ingredients.

17 Related Substances

Calcium phosphate, dibasic dihydrate; calcium phosphate, tribasic; calcium sulfate.

18 Comments

Grades of anhydrous dibasic calcium phosphate available for direct compression include *A-TAB* (Rhodia), *Di-Cafos AN* (Chemische Fabrik Budenheim), *Encompress Anhydrous* (JRS Pharma LP), and *Fujicalin* (Fuji Chemical Industry Co. Ltd.).

The EINECS number for calcium phosphate is 231-837-1.

19 Specific References

- 1 Fischer E. Calcium phosphate as a pharmaceutical excipient. *Manuf Chem* 1992; 64(6): 25–27.
- 2 Schmidt PC, Herzog R. Calcium phosphates in pharmaceutical tableting 1: physico-pharmaceutical properties. *Pharm World Sci* 1993; 15(3): 105–115.
- 3 Schmidt PC, Herzog R. Calcium phosphates in pharmaceutical tableting 2: comparison of tableting properties. *Pharm World Sci* 1993; 15(3): 116–122.
- 4 Hwang R-C, Peck GR. A systematic evaluation of the compression and tablet characteristics of various types of lactose and dibasic calcium phosphate. *Pharm Technol* 2001; 25(6): 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68.
- 5 Schlack H, Bauer-Brandl A, Schubert R, Becker D. Properties of Fujicalin, a new modified anhydrous dibasic calcium phosphate for direct compression: comparison with dicalcium phosphate dihydrate. *Drug Dev Ind Pharm* 2001; 27(8): 789–801.
- 6 Weiner M, Bernstein IL. *Adverse Reactions to Drug Formulation Agents: A Handbook of Excipients*. New York: Marcel Dekker, 1989: 93–94.
- 7 Dulin WA. Degradation of bisoprolol fumarate in tablets formulated with dicalcium phosphate. *Drug Dev Ind Pharm* 1995; 21(4): 393–409.
- 8 Glombitza BW, Oelkrug D, Schmidt PC. Surface acidity of solid pharmaceutical excipients I. Determination of the surface acidity. *Eur J Pharm Biopharm* 1994; 40(5): 289–293.
- 9 Takami K, Machimura H, Takado K, Inagaki M, Kawashima Y. Novel preparation of free-flowing spherically granulated dibasic calcium phosphate anhydrous for direct tableting. *Chem Pharm Bull* 1996; 44(4): 868–870.
- 10 Schlack H, Bauer-Brandl A, Schubert R, Becker D. Properties of Fujicalin, a new modified anhydrous dibasic calcium phosphate dihydrate. *Drug Dev Ind Pharm* 2001; 27(9): 789–801.

20 General References

- Bryan JW, McCallister JD. Matrix forming capabilities of three calcium diluents. *Drug Dev Ind Pharm* 1992; 18(19): 2029–2047.
- Castensen JT, Estell C. Physical and chemical properties of calcium phosphates for solid state pharmaceutical formulations. *Drug Dev Ind Pharm* 1990; 16(7): 1121–1133.
- Fuji Chemical Industry Co. Ltd. Technical literature: *Fujicalin*, 1998.
- Rhodia. Technical literature: *Calcium phosphate excipients*, 1999.

21 Authors

RC Morceton.

22 Date of Revision

30 August 2005.

Colloidal Silicon Dioxide

1 Nonproprietary Names

BP: Colloidal anhydrous silica
PhEur: Silica colloidalis anhydrica
USPNF: Colloidal silicon dioxide

2 Synonyms

Aerosil; *Cab-O-Sil*; *Cab-O-Sil M-5P*; colloidal silica; fumed silica; light anhydrous silicic acid; silicic anhydride; silicon dioxide fumed; *Wacker HDK*.

3 Chemical Name and CAS Registry Number

Silica [7631-86-9]

4 Empirical Formula and Molecular Weight

SiO₂ 60.08

5 Structural Formula

SiO₂

6 Functional Category

Adsorbent; anticaking agent; emulsion stabilizer; glidant; suspending agent; tablet disintegrant; thermal stabilizer; viscosity-increasing agent.

7 Applications in Pharmaceutical Formulation or Technology

Colloidal silicon dioxide is widely used in pharmaceuticals, cosmetics, and food products; see Table I. Its small particle size and large specific surface area give it desirable flow characteristics that are exploited to improve the flow properties of dry powders in a number of processes such as tableting.⁽¹⁻³⁾

Colloidal silicon dioxide is also used to stabilize emulsions and as a thixotropic thickening and suspending agent in gels and semisolid preparations.⁽⁴⁾ With other ingredients of similar refractive index, transparent gels may be formed. The degree of viscosity increase depends on the polarity of the liquid (polar liquids generally require a greater concentration of colloidal silicon dioxide than nonpolar liquids). Viscosity is largely independent of temperature. However, changes to the pH of a system may affect the viscosity; see Section 11.

In aerosols, other than those for inhalation, colloidal silicon dioxide is used to promote particulate suspension, eliminate hard settling, and minimize the clogging of spray nozzles. Colloidal silicon dioxide is also used as a tablet disintegrant and as an adsorbent dispersing agent for liquids in powders.⁽⁵⁾ Colloidal silicon dioxide is frequently added to suppository formulations containing lipophilic excipients to increase

viscosity, prevent sedimentation during molding, and decrease the release rate.^(6,7) Colloidal silicon dioxide is also used as an adsorbent during the preparation of wax microspheres;⁽⁸⁾ as a thickening agent for topical preparations;⁽⁹⁾ and has been used to aid the freeze-drying of nanocapsules and nanosphere suspensions.⁽¹⁰⁾

Table I: Uses of colloidal silicon dioxide.

Use	Concentration (%)
Aerosols	0.5–2.0
Emulsion stabilizer	1.0–5.0
Glidant	0.1–0.5
Suspending and thickening agent	2.0–10.0

8 Description

Colloidal silicon dioxide is a submicroscopic fumed silica with a particle size of about 15 nm. It is a light, loose, bluish-white-colored, odorless, tasteless, nongritty amorphous powder.

9 Pharmacopeial Specifications

See Table II.

Table II: Pharmacopeial specifications for colloidal silicon dioxide.

Test	PhEur 2005	USPNF 23
Identification	+	+
Characters	+	—
pH (4% w/v dispersion)	3.5–5.5	3.5–5.5
Asenic	—	≤8 μg/g
Chloride	≤250 ppm	—
Heavy metals	≤25 ppm	—
Loss on drying	—	≤2.5%
Loss on ignition	≤5.0%	≤2.0%
Organic volatile impurities	—	+
Assay (on ignited sample)	99.0–100.5%	99.0–100.5%

10 Typical Properties

Acidity/alkalinity: pH = 3.5–4.4 (4% w/v aqueous dispersion)

Density (bulk): 0.029–0.042 g/cm³

Density (tapped): See Tables III, IV and V.

Flowability: 35.52% (Carr compressibility index)

Moisture content: See Figure 1.^(11,12)

Particle size distribution: 7–16 nm. See also Figure 2.

Refractive index: 1.46

Solubility: practically insoluble in organic solvents, water, and acids, except hydrofluoric acid; soluble in hot solutions of alkali hydroxide. Forms a colloidal dispersion with water.

Specific gravity: 2.2

Specific surface area: 200–400 m²/g (Stroehlein apparatus, single point); 50–380 m²/g (BET method). *See also* Tables III, IV and V.

Several grades of colloidal silicon dioxide are commercially available, which are produced by modifying the manufacturing process. The modifications do not affect the silica content, specific gravity, refractive index, color, or amorphous form. However, particle size, surface areas, and densities are affected. The physical properties of three commercially available colloidal silicon dioxides, *Aerosil* (Degussa), *Cab-O-Sil* (Cabot Corporation), and *Wacker HDK* (Wacker-Chemie GmbH) are shown in Tables III, IV and V, respectively.

Table III: Physical properties of *Aerosil*.

Grade	Specific surface area ^(a) (m ² /g)	Density (tapped) (g/cm ³)
130	130 ± 25	0.05
130vs	130 ± 25	0.12
200	200 ± 25	0.05
200vs	200 ± 25	0.12
300	300 ± 30	0.05
380	380 ± 30	0.05

^(a)BET method.

Table IV: Physical properties of *Cab-O-Sil*.⁽¹³⁾

Grade	Specific surface area ^(a) (m ² /g)	Density (tapped) (g/cm ³)
LM-5	130 ± 25	0.04
LM-50	150 ± 25	0.04
M-5	200 ± 25	0.04
H-5	325 ± 25	0.04
EH-5	390 ± 40	0.04
M-7D	200 ± 25	0.10

^(a)BET method.

Table V: Physical properties of *Wacker HDK*.⁽¹⁴⁾

Grade	Specific surface area ^(a) (m ² /g)	Density (tapped) (g/cm ³)
S13	125 ± 15	0.05
V15	150 ± 20	0.05
N20	200 ± 30	0.04
T30	300 ± 30	0.04
T40	400 ± 40	0.04
H15	120 ± 20	0.04
H20	170 ± 30	0.04
H30	250 ± 30	0.04
H2000	140 ± 30	0.22
H3004	210 ± 30	0.08
H2015	110 ± 30	0.20
H2050	110 ± 30	0.20

^(a)BET method.

SEM: 1

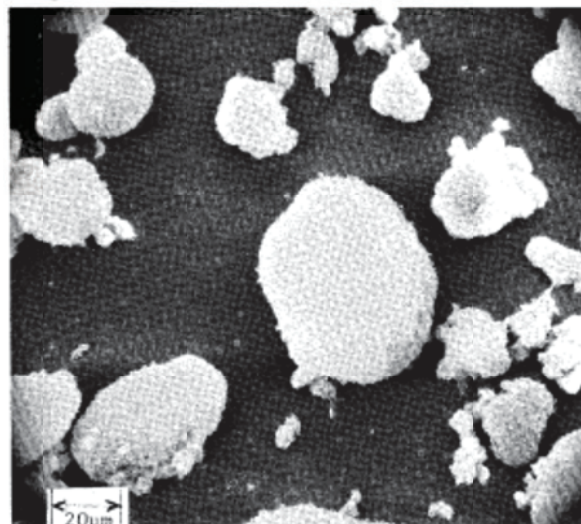
Excpient: Colloidal silicon dioxide (*Aerosil A-200*)

Manufacturer: Degussa

LotNo.: 87A-1 (04169C)

Magnification: 600×

Voltage: 20 kV



SEM: 2

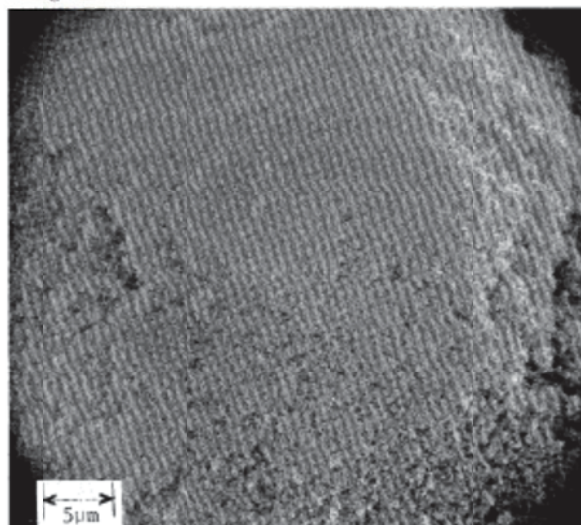
Excpient: Colloidal silicon dioxide (*Aerosil A-200*)

Manufacturer: Degussa

LotNo.: 87A-1 (04169C)

Magnification: 2400×

Voltage: 20 kV



11 Stability and Storage Conditions

Colloidal silicon dioxide is hygroscopic but adsorbs large quantities of water without liquefying. When used in aqueous systems at a pH 0–7.5, colloidal silicon dioxide is effective in

increasing the viscosity of a system. However, at a pH greater than 7.5 the viscosity-increasing properties of colloidal silicon dioxide are reduced; and at a pH greater than 10.7 this ability is lost entirely since the silicon dioxide dissolves to form silicates.^(1,3) Colloidal silicon dioxide powder should be stored in a well-closed container.

Some grades of colloidal silicon dioxide have hydrophobic surface treatments that greatly minimize their hygroscopicity.

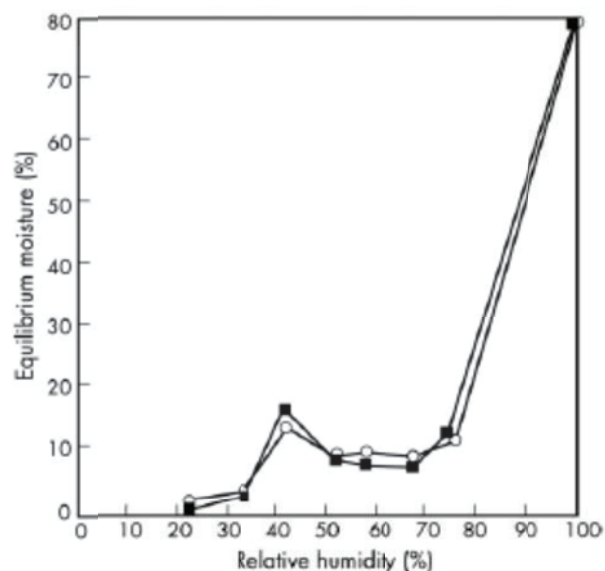


Figure 1: Sorption-desorption isotherm for colloidal silicon dioxide.
○: Sorption
■: Desorption

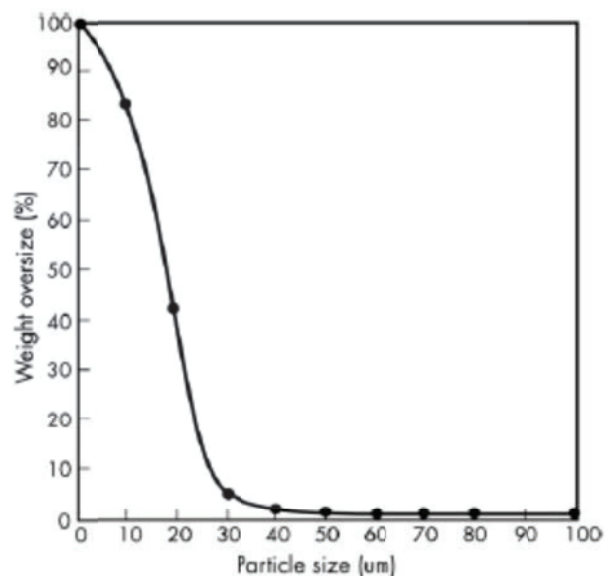


Figure 2: Particle size distribution of colloidal silicon dioxide (Aerosil A-200).

12 Incompatibilities

Incompatible with diethylstilbestrol preparations.^(1,5)

13 Method of Manufacture

Colloidal silicon dioxide is prepared by the vapor hydrolysis of chlorosilanes, such as silicon tetrachloride, at 1800°C using a hydrogen-oxygen flame.

14 Safety

Colloidal silicon dioxide is widely used in oral and topical pharmaceutical products and is generally regarded as an essentially nontoxic and nonirritant excipient. However, intraperitoneal and subcutaneous injection may produce local tissue reactions and/or granulomas. Colloidal silicon dioxide should therefore not be administered parenterally.

LD₅₀ (rat, IV): 15 mg/kg^(1,6)

LD₅₀ (rat, oral): 3.16 g/kg

15 Handling Precautions

Observe normal precautions appropriate to the circumstances and quantity of material handled. Eye protection and gloves are recommended. Precautions should be taken to avoid inhalation of colloidal silicon dioxide. In the absence of suitable containment facilities, a dust mask should be worn when handling small quantities of material. For larger quantities, a dust respirator is recommended.

Inhalation of colloidal silicon dioxide dust may cause irritation to the respiratory tract but it is not associated with fibrosis of the lungs (silicosis), which can occur upon exposure to crystalline silica.

16 Regulatory Acceptance

GRAS listed. Included in the FDA Inactive Ingredients Guide (oral capsules, suspensions, and tablets; transdermal and vaginal preparations). Included in nonparenteral medicines licensed in the UK. Included in the Canadian List of Acceptable Non-medicinal Ingredients.

17 Related Substances

18 Comments

The PhEur 2005 also contains a specification for hydrated colloidal silicon dioxide. The incidence of microbial contamination of colloidal silicon dioxide is low.

The EINECS number for colloidal silicon dioxide is 231-545-4.

19 Specific References

- 1 Lerk CF, Bolhuis GK, Smedema SS. Interaction of lubricants and colloidal silica during mixing with excipients I: its effect on tableting. *Pharm Acta Helv* 1977; 52: 33-39.
- 2 Lerk CF, Bolhuis GK. Interaction of lubricants and colloidal silica during mixing with excipients II: its effect on wettability and dissolution velocity. *Pharm Acta Helv* 1977; 52: 39-44.
- 3 Gore AY, Banker GS. Surface chemistry of colloidal silica and a possible application to stabilize aspirin in solid matrices. *J Pharm Sci* 1979; 68: 197-202.

- 4 Daniels R, Kerstiens B, Tishinger-Wagner H, Rupprecht H. The stability of drug absorbates on silica. *Drug Dev Ind Pharm* 1986; 12: 2127–2156.
- 5 Sherriff M, Enever RP. Rheological and drug release properties of oil gels containing colloidal silicon dioxide. *J Pharm Sci* 1979; 68: 842–845.
- 6 Tukker JJ, De Blaey CJ. The addition of colloidal silicon dioxide to suspension suppositories II. The impact on *in vitro* release and bioavailability. *Acta Pharm Technol* 1984; 30: 155–160.
- 7 Realdon N, Ragazzi E, Zotto MD, Fini GD. Effects of silicium dioxide on drug release from suppositories. *Drug Dev Ind Pharm* 1997; 23: 1025–1041.
- 8 Mani N, Suh HR, Jun HW. Microencapsulation of a hydrophilic drug into a hydrophobic matrix using a salting-out procedure. II. Effects of adsorbents on microsphere properties. *Drug Dev Ind Pharm* 2004; 30(1): 83–93.
- 9 Gallagher SJ, Trollet L, Carter TP, Heard CM. Effects of membrane type and liquid/liquid phase boundary on *in vitro* release of ketoprofen from gel formulations. *J Drug Target* 2003; 11(6): 373–379.
- 10 Schaffazick SR, Pohlman AR, Dalla-Costa T, Guterres SS. Freeze-drying polymeric colloidal suspensions: nanocapsules, nanospheres and nanodispersion. A comparative study. *Eur J Pharm Biopharm* 2003; 56(3): 501–505.
- 11 Ettlinger M, Ferch H, Mathias J. Adsorption at the surface of fumed silica [in German]. *Arch Pharm* 1987; 320: 1–15.
- 12 Callahan JC, Cleary GW, Elefant M, *et al*. Equilibrium moisture content of pharmaceutical excipients. *Drug Dev Ind Pharm* 1982; 8: 355–369.
- 13 Cabot Corporation. Technical literature: *Cab-O-Sil fumed silicas, the performance additives*, 1995.
- 14 Wacker-Chemie GmbH. Technical literature: *Wacker HDK fumed silica*, 1998.
- 15 Johansen H, Möller N. Solvent deposition of drugs on excipients II: interpretation of dissolution, adsorption and absorption characteristics of drugs. *Arch Pharm Chem (Sci)* 1977; 5: 33–42.
- 16 Lewis RJ, ed. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials*, 11th edn. New York: Wiley, 2004: 3205.

20 General References

Yang KY, Glemza R, Jarowski CI. Effects of amorphous silicon dioxides on drug dissolution. *J Pharm Sci* 1979; 68: 560–565.

21 Authors

SC Owen.

22 Date of Revision

22 August 2005.

ANNEXE C : Effet de l'orientation d'un monocristal de caféine I en micro spectroscopie Raman

Le trou confocal était à 200 μm avec une durée d'acquisition de 2×240 s. L'orientation est faite d'après la notation de Porto et Scott sur la spectroscopie Raman orientée (**Figure C.1**). On distingue trois orientations possibles du cristal (horizontal, vertical et perpendiculaire à la surface) et deux sens pour le laser (horizontal et vertical). Les résultats des spectres enregistrés sont représentés par la **Figure C.2**.

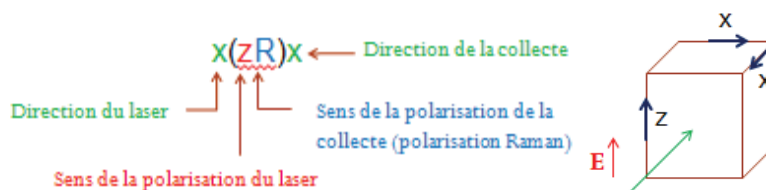


Figure C.1 : Orientation d'un polymorphe lors de l'acquisition d'un spectre Raman d'un cristal ayant une structure quadratique

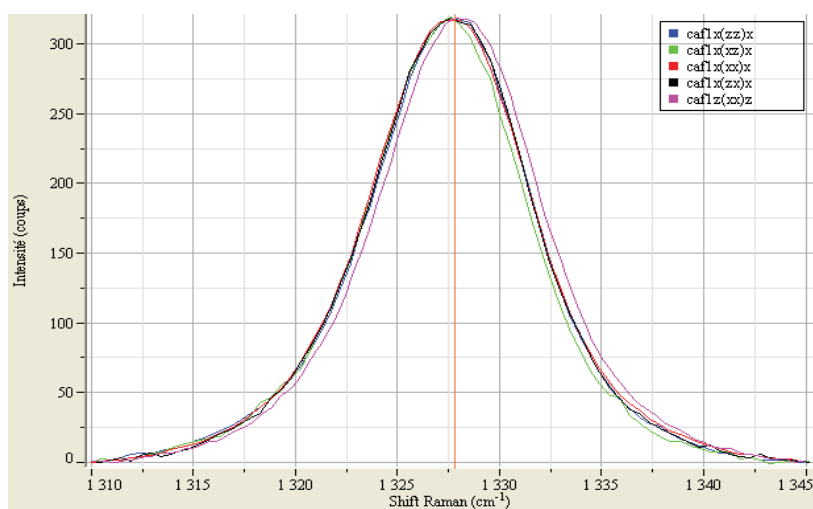


Figure C.2 : Spectres du monocristal de caféine forme I après correction de la ligne de base et la normalisation (bande de 1310 à 1345 cm^{-1})

Orientation	Cristal	Laser	Aire du pic 1	Aire de pic 2	Rapport d'aires p1/p2
x(zz)x	Horizontal	Horizontal	$1,949.10^7$	$1,838.10^7$	1,061
x(xz)x	Horizontal	Vertical	$1,344.10^7$	$1,307.10^7$	1,028
x(xx)x	Vertical	Horizontal	$1,760.10^7$	$1,805.10^7$	0,975
x(zx)x	Vertical	Vertical	$5,195.10^7$	$4,694.10^7$	1,107
z(xx)z	Perpendiculaire à la surface	Horizontal/vertical	$5,345.10^7$	$4,665.10^7$	1,146

Tableau C.1 : Comparaison des rapports d'aires de chaque spectre selon l'orientation

Le pic principal de la caféine à la même allure et la même position pour toutes les orientations testées. Les rapports d'aires p1/p2 calculés (**Tableau C.1**) sont d'environ 1,0. Cela correspond à de la caféine forme I.

Annexe D : Programmes matlab[®] de traitement des données de tomographie à rayons X

Programme principal :

```

clear all
close all
clc

%INFO nomenclature
%lignes : Y
%colonnes : X
%images : Z
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%liste des images du dossier
listim = dir(fullfile(pwd, '*.bmp'));
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%image de reference servant à définir le contour pour isoler
Iref=imread('10comprimes0103.bmp');
figure, Imtool(Iref);
%passage de l'image en niveau de gris
Jref = rgb2gray(Iref);
figure, Imtool(Jref);
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%calcul du nombre d'images à analyser et de leur taille
nb_im=length(listim);
[ly,lx]=size(Iref);

%facteurs de division des zones de découpage du comprimé
divx=240;
divy=227;
divz=fix(nb_im/1);
X1=0;
Xmax=960;
Y1=0;
Ymax=908;
%
% definition du vecteur de sauvegarde
Moy_im=zeros(divy,divx,nb_im);
%
% %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%recherche du contour du comprimé sur l'image de référence
% definition d'un ROI en forme d'ellipse
h_im = imshow(Jref);
e = imellipse(gca,[68.1606826739695 78.3765074086753 752.575680962394
756.578160301237]);
BW = createMask(e,h_im);
BW2=imcomplement(BW);
% définition d'un vecteur contenant la moyenne de niveau de gris de chaque
% image
moy_a=zeros(nb_im,1);
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% traitement de l'image : mesure du niveau de gris moyen et moyennes par
% zones
for i=1:nb_im
    %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
    %début analyse
    %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
    %image qui va etre analysée

```



```

I=imread(listim(i).name);
%l'image est convertie en niveau de gris (pas de perte d'information)
Igray=rgb2gray(I);
%le bord de l'image est remplacé par 255 à l'aide du contour défini
%avant la boucle
Igray(BW2)=255;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%calcul des moyennes par zones et de l'image
I_sort=Igray(Igray<255);
moy_a(i,1)=mean2(I_sort);
Moy_im(:, :, i)=im_stat(Igray,divx,divy,X1,Xmax);
end

moy_im_z=zeros(227,240,2);
% fonction annexe permettant de réaliser une moyenne selon z
moy_im_z2=zeros(227,240,2);
moy_im_z2(:, :, 1)=mean(Moy_im,3);
% conversion des niveaux de gris en densité
moy_im_z=0.021*moy_im_z2-1.2814;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%obtention d'une vue du dessus moyennée avec l'ensemble des images
[X,Y,Z] = meshgrid(1:1:240,1:1:227,1:1:2);
V=moy_im_z;
xslice =1;
yslice =1;
zslice =1;
slice(X,Y,Z,V,xslice,yslice,zslice)
colormap hsv
shading flat
% %Calcul du niveau de gris moyen de toutes les images
nvgris_moy=mean2(moy_a);
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Calcul de la moyenne de plusieurs rectangles selon l'axe des z (en
profondeur)
Moy_imf=im_statz(Moy_im,divx,divy,divz,nb_im);
Moy_imf2=0.021*Moy_imf-1.2814;
size(Moy_imf2);
figure
% Choix de différentes coupes selon les axes
[X,Y,Z] = meshgrid(1:1:240,1:1:227,1:1:70);
V=Moy_imf2;
xslice = 120;
yslice = 113;
zslice = [1,35];
slice(X,Y,Z,V,xslice,yslice,zslice)
colormap hsv
shading flat

```

Fonction im_stat : cette fonction permet de lisser les images en x et y avec l'incrément souhaité.

```

function Moy_im = im_stat(I3,divx,divy,X1,Xmax)

[ly,lx]=size(I3);
delta_x=Xmax-X1;
Moy_im2=zeros(divy,divx);

py=fix(ly/divy);
px=fix(lx/divx);

```

```

%calcul de la moyenne
for i=1:(divy-1)
    for j=1:(divx-1)
        X=I3((i-1)*(py)+1:i*(py)+1,(j-1)*(px)+1:j*(px)+1);
        X_sort=X(X<255);
        %inversion des variables x et y pour que X soit l'absicisse et Y l
        %'ordonnée
        Moy_im2(i,j)=mean2(X_sort);
    end
end

Moy_im=Moy_im2;

```

Fonction im_statz : Cette fonction assemble les images lissées en une seule matrice avec un second lissage suivant z si nécessaire.

```

function Moy_finale = im_statz(Moy_im,divx,divy,divz,nb_im)

pz=fix(nb_im/divz);
Moy_im3=zeros(divy,divx,divz);
for i=1:divy
    for j=1:divx
        for k=1:divz
            X=Moy_im(i,j,(k-1)*pz+1:k*pz);
            X_sort=X(X<255);
            Moy_im3(i,j,k)=mean2(X_sort);
        end
    end
end

Moy_finale=Moy_im3;

```

Annexe E : Répartition des rapports d'aires des comprimés de caféine I

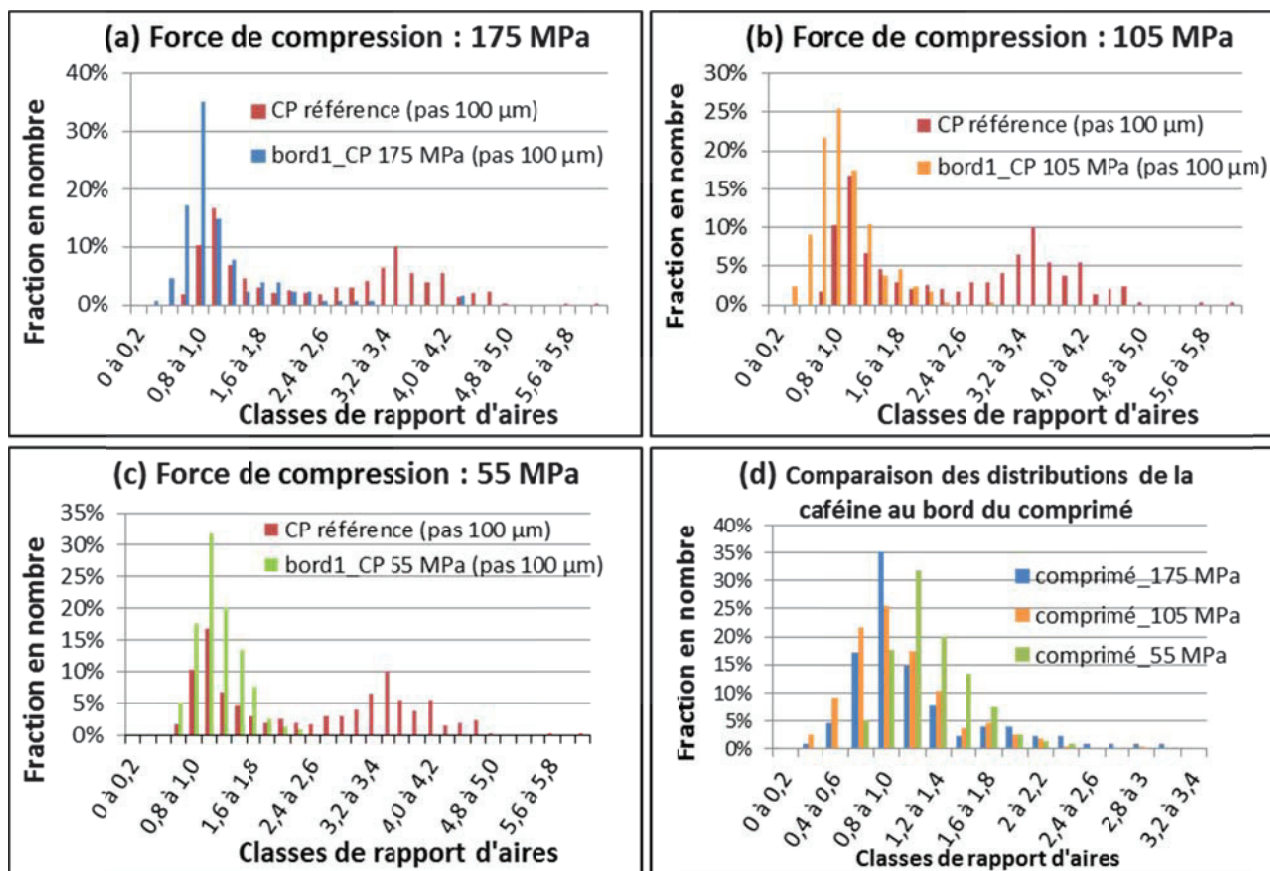


Figure E.1 : Distribution des rapports d'aires des composants p_1 et p_2 au bord de la surface supérieure des comprimés fabriqués pour à des pressions de (a) 175 MPa, (b) 105 MPa, (c) 55 MPa et (d) comparaison des distributions pour les 3 pressions

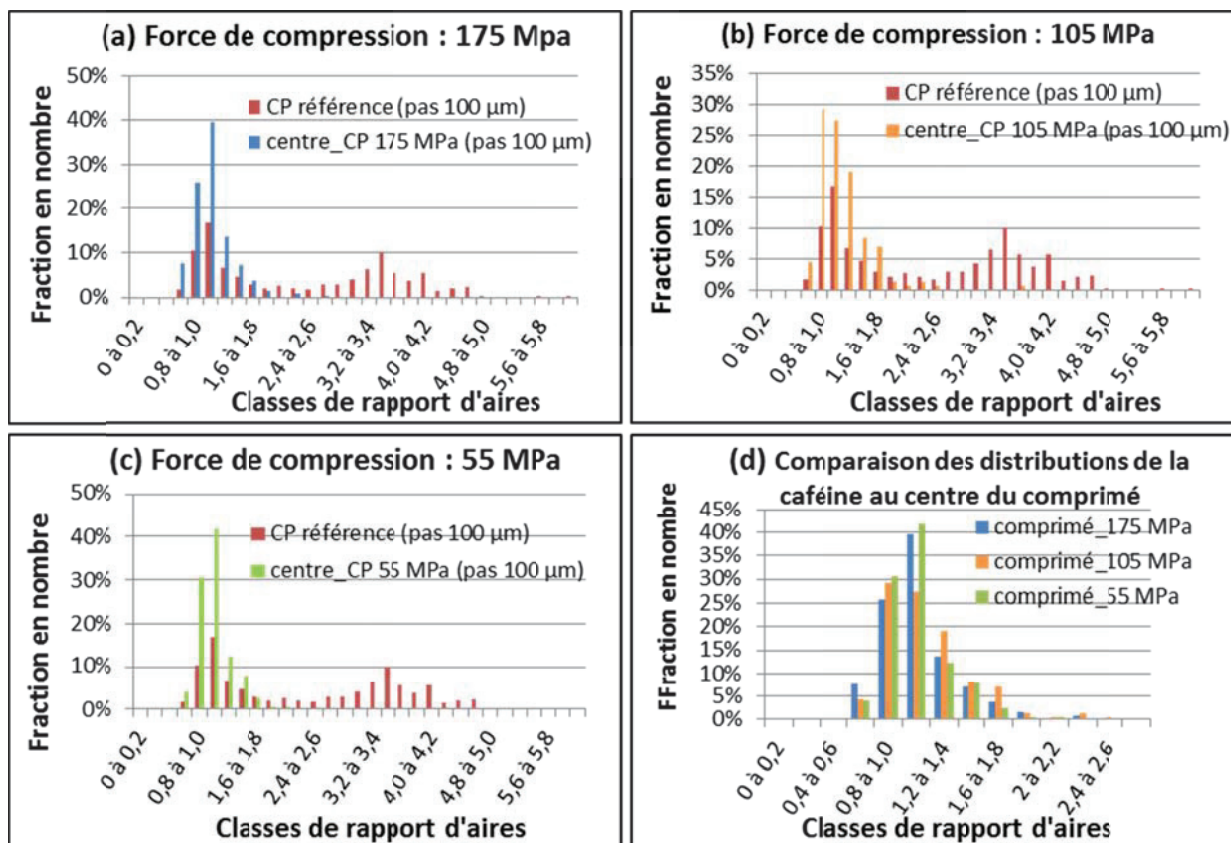


Figure E.2 : Distribution des rapports d'aires des composants $p1$ et $p2$ au centre de la surface supérieure des comprimés fabriqués à des pressions de (a) 175 MPa, (b) 105 MPa, (c) 55 MPa et (d) comparaison des distributions pour les 3 pressions

Annexe F : Diffractogramme RX sur poudre du phosphate de calcium anhydre

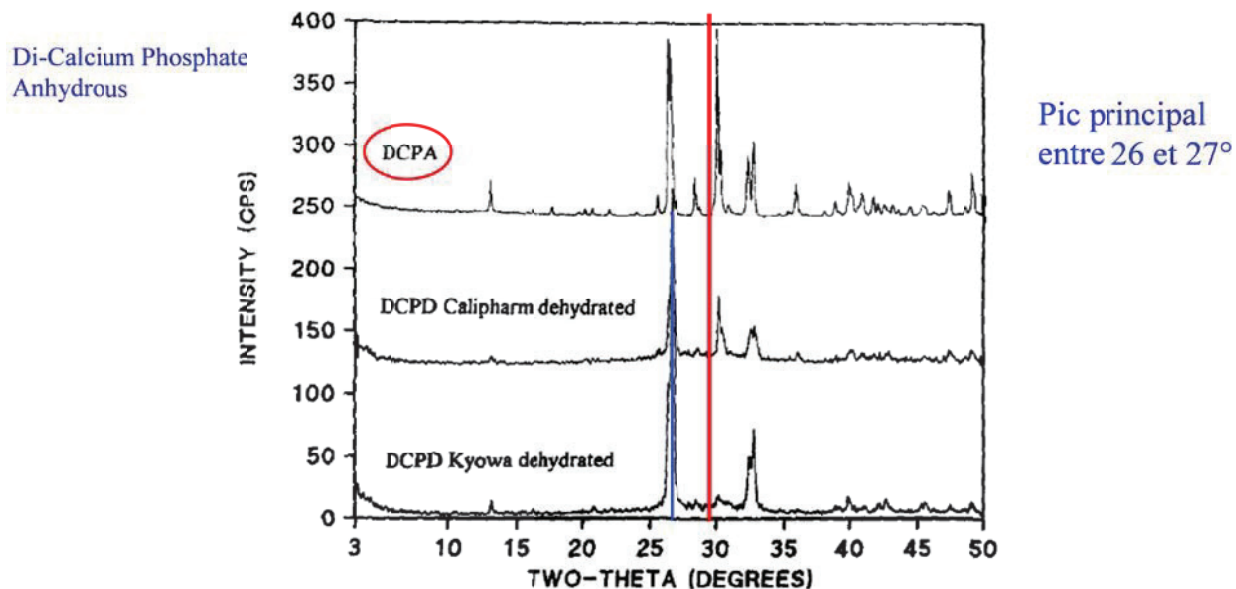


Figure F.1 : Diffractogramme RX du phosphate de calcium anhydre (D'après Landin et al., 1994)

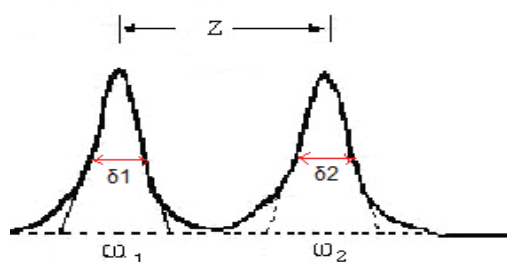
Annexe G : Calcul du facteur de résolution pour le traitement des données de spectroscopie Raman HF

Le facteur de résolution est un paramètre qui définit la plus ou moins bonne séparation des deux composés. Le facteur de résolution est calculé sur les histogrammes de distribution des positions selon la méthode suivante.

- Calcul de la largeur à mi-hauteur (δ)

La largeur à mi-hauteur est calculée avec l'écart-type de toutes les valeurs considérées (ici les positions ou Shift Raman). Cette valeur a une expression montrée par l'équation suivante avec les paramètres dans la **Figure G.1**.

$$\delta = 2\sqrt{2\ln(2)}\sigma \approx 2,3548\sigma$$



Avec δ : Largeur à mi-hauteur

σ : Écart type

z : Distance entre 2 pics

Figure G.1 : Paramètres nécessaires pour le calcul de la largeur à mi-hauteur

- Calcul du facteur de résolution

Cette valeur est obtenue par l'équation:

$$R = \frac{2z}{\omega_1 + \omega_2} = \frac{1,18z}{\delta_1 + \delta_2}$$

Dans notre cas, nous avons calculé le facteur de résolution en utilisant la largeur à mi-hauteur dont la formule se trouve ci-avant. Plus ce facteur est grand plus la séparation est bonne.

Annexe H : Publication et communications issues de ce travail

Ces travaux ont donné lieu à la date à une publication dans un journal et à six communications orales et affichées dans des congrès internationaux et nationaux. La publication est jointe dans cette annexe.

Publication :

Hubert, S., Briancon, S., Hédoux, A., Guinet, Y., Paccou, L., Fessi, H., Puel, F., **2011**. Process induced transformations during tablet manufacturing: Phase transition analysis of caffeine using DSC and low frequency micro-Raman spectroscopy. *Int. J. Pharm.*, **420**, 76-83.

Communications orales :

Hubert, S., Briancon, S., Hédoux, A., Guinet, Y., Paccou, L., Fessi, H., Puel, F., **2012**. Process Induced Transformations (PITs) during tablet manufacturing: caffeine transition analysis with DSC and low frequency micro-Raman spectroscopy. *World meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical technologies PBP-2012, Istanbul, mars 2012*.

Hubert, S., Briancon, S., Hédoux, A., Guinet, Y., Paccou, L., Fessi, H., Puel, F., **2012**. Phase transition analysis of caffeine using DSC and low frequency micro-Raman spectroscopy (MRS). *PhandTA 12, 12th International Conference on Pharmacy and Applied Physical Chemistry, Graz, mai 2012*.

Hubert, S., Briancon, S., Hédoux, A., Guinet, Y., Paccou, L., Manakul, T., De Ligny, D., Champagnon, B., Puel, F., **2012**. Micro-Raman spectroscopy of caffeine polymorphs in tablets: comparison between low and high frequency investigations. *International Workshop on Physical Characterization of Pharmaceutical Solids IWPCPS-14, Barcelona, juin 2012*.

Communications affichées :

Hubert, S., Briancon, S., Fessi, H., Puel, F., **2010**. Tableting induced solid phase transition of an active pharmaceutical ingredient: experimental investigations. *Solid-solid phase transformation in inorganic materials PTM-2010, Avignon, juin 2010*.

Hubert, S., Briancon, S., Hédoux, A., Guinet, Y., Paccou, L., Fessi, H., Puel, F., **2011**. Transformations Induites par les Procédés d'Industrialisation (TIPI's) lors de la fabrication de comprimés : Mesure du taux de transformation de la caféine par ACD et micro spectroscopie Raman basse fréquence. *Journée de l'institut de chimie de Lyon, juin 2011*.

Hubert, S., Briancon, S., Bérot, M., Nouguié-Lehon, C., Hoc, T., Puel, F., **2012**. Characterization of density distribution in formulated tablets using X-ray micro-computed tomography and micro-indentation. *12th International Conference on Pharmacy and Applied Physical Chemistry, Graz, mai 2012*.



Process induced transformations during tablet manufacturing: Phase transition analysis of caffeine using DSC and low frequency micro-Raman spectroscopy

Sébastien Hubert^{a,b}, Stéphanie Briançon^{a,b}, Alain Hedoux^{c,d}, Yannick Guinet^{c,d}, Laurent Paccou^{c,d}, Hatem Fessi^{a,b}, François Puel^{a,b,*}

^a Université de Lyon, F-69622 Lyon, France

^b Université Lyon 1, Villeurbanne, CNRS, UMR5007, Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP), CPE-Lyon, 43 bd du 11 Novembre 1918, 69100 Villeurbanne, France

^c Univ Lille Nord de France, F-59000 Lille, France

^d USTL, UMET, UMR 8207, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 May 2011

Received in revised form 9 August 2011

Accepted 15 August 2011

Available online 22 August 2011

Keywords:

PITs

Tableting

Caffeine

Polymorphism

DSC

Low-frequency Raman mapping

ABSTRACT

The phase transition of a model API, caffeine Form I, was studied during tableting process monitored with an instrumented press. The formulation used had a plastic flow behavior according to the Heckel model in the compression pressure range of 70–170 MPa. The quantitative methods of analysis used were Differential Scanning Calorimetry (DSC) and low frequency Micro Raman Spectroscopy (MRS) which was used for the first time for the mapping of polymorphs in tablets. They brought complementary contributions since MRS is a microscopic spectral analysis with a spatial resolution of $5\ \mu\text{m}^3$ and DSC takes into account a macroscopic fraction (10 mg) of the tablet. Phase transitions were present at the surfaces, borders and center of the tablets. Whatever the pressure applied during the compression process, the transition degree of caffeine Form I toward Form II was almost constant. MRS provided higher transition degrees (50–60%) than DSC (20–35%). MRS revealed that caffeine Form I particles were partially transformed in all parts of the tablets at a microscopic scale. Moreover, tablet surfaces showed local higher transition degree compared to the other parts.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

During the past decade, reviews (Brittain, 2002; Morris et al., 2001; Zhang et al., 2004) have started to set up theoretical and experimental approaches of phase induced transformations (PITs) in pharmaceutical manufacturing processes. Active pharmaceutical ingredients (APIs) and excipients may exist under different crystalline forms or amorphous phase depending on the nature of the treatment that they received. A modification of the crystalline lattice is known as a phase transformation. These transformations are mainly due to a stress or a modification of temperature and pressure. The consequence of the transformation is a change in the rate and extent that the active drug is absorbed from the dosage form and becomes available in the systemic circulation also known as the bioavailability (Dalton and Mayer, 2006).

This article deals with the process of direct compression in pharmaceutical applications. The use of direct compression has

increased in the past few years because of its economical interest and its elimination of the wet granulation and drying processes. However, API and excipients are also stressed during the compression process and it is not uncommon to observe phase transition during this manufacturing step (Baldyeva et al., 2006; Chan and Doelker, 1985; Lefebvre et al., 1986; Otsuka et al., 1989). Unfortunately, these transformations are not controlled and mainly unpredictable. Many parameters in the process itself could have an impact on the average transformation in final tablets like pressure, temperature and mechanical stress (Morris et al., 2001).

The purpose of this study was to improve the understanding of the PITs by analyzing the influence of different process parameters. This work is focused on the pressure effect on the phase transition of anhydrous caffeine Form I in a formulation developed for direct compression.

Caffeine ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$) is a common nutraceutical molecule and a well known model API for polymorphism studies (Epple et al., 1995; Lehto and Laine, 1998). It was used as an API model in our formulation. Two anhydrous forms of caffeine are known and called Form I and Form II. The Form II is stable at room temperature until 145°C and the Form I is stable from 145°C to its melting point 236°C (Pinto and Diogo, 2006). The interest of using caffeine in this study is the

* Corresponding author at: Université Lyon 1, Villeurbanne, CNRS, UMR5007, Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP), CPE-Lyon, 43 bd du 11 Novembre 1918, 69100 Villeurbanne, 7 France. Tel.: +33 (0)4 72 43 18 34; fax: +33 (0)4 72 43 16 82.

E-mail address: puel@lagep.univ-lyon1.fr (F. Puel).

Table 1

Compilation of the thermodynamic data on the solid phase transition and fusion of anhydrous caffeine.

Reference	Phase transition II \rightarrow I, T_{trans} (K)	$\Delta_{\text{trans}}H_m$ (J/g)	$\Delta_{\text{trans}}H_m$ (kJ/mol)	Fusion, T_{fus} (K)	ΔH_{fus} (J/g)	ΔH_{fus} (kJ/mol)
Bothe and Cammenga (1979)	414.2	20.7	4.0	–	–	–
Cesaro and Starec (1980)	426.0	20.1	3.9	511.9	120.5	23.4
Defossement et al. (2004)	411.4	20.1	3.9	507.1	93.7	18.2
Dong et al. (2007)	413.4	17.5	3.4	508.9	102.5	19.9
Edwards et al. (1997)	428.5	18.5	3.6	–	–	–
Manduva et al. (2008)	420.4	13.2	2.6	507.9	70.4	13.7
Pinto and Diogo (2006)	428.2	20.6	4.0	509.6	112.8	21.9
Sabon et al. (1979)	435.2	18.4	3.6	–	–	–
This work	419.0	19.8	3.8	507.9	109.0	21.2

possibility to easily quantify the transition by thermal analysis.

Two quantitative methods are presented in this work. Differential Scanning Calorimetry (DSC) on parts of the tablet and low frequency Micro Raman Spectroscopy (MRS) on the tablet surface were performed. DSC was reported to be a valuable method for the quantification of polymorphs (Muller and Griesser, 2003; Schlichter et al., 1985). In the case of anhydrous caffeine, the thermodynamic properties of the transition between the low temperature Form II and the high temperature Form I was observed and published by different authors (see Table 1). It was reported by Manduva et al. (2008) that the value of the transition temperature was dependent of the heating rate. The onset temperature of the phenomenon was increased by a faster heating rate. Thus, it can explain the wide range of temperature observed in the literature (Defossement et al., 2004; Sabon et al., 1979). However, the enthalpy of transition $\Delta_{\text{trans}}H_m$ is not affected by the onset temperature of the phenomenon which is a kinetic effect. It was shown (Hédoux et al., 2011b) that low-frequency Raman spectroscopy makes possible to identify the two forms of caffeine, while in the usual frequency range of investigations, i.e. above 200 cm^{-1} , Raman spectra are very similar. The degree of transformation Form I \rightarrow Form II was determined during an isothermal aging at 90°C by integration of the Raman signature of the emerging Form II. Consequently, micro Raman spectroscopy can be used to determine the degree of transformation toward Form II within sample tablets at the microscopic level. Micro Raman spectroscopy could also bring out information on the distribution of the two forms within the sample.

In addition to the quantitative study, compression parameters were recorded in order to describe the type of particle deformation during the compression process.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Commercial anhydrous caffeine Form II was purchased from Cooper. The product was purified at 90°C in an oven before thermal analysis. The high temperature anhydrous caffeine Form I was prepared using a method based on these suggested by Derollez et al. (2005) and Griesser et al. (1999) as follows. Commercially obtained anhydrous caffeine Form II was heated to 170°C in an oven for 24 h in order to anneal the Form II. Freshly produced Form I was cooled in liquid nitrogen. Powder XRD was used to confirm the structure of the sample (data not shown). A DSC scan was performed at a heating rate of $10^\circ\text{C}/\text{min}$ and no trace of the transition II \rightarrow I was found (see Fig. 1).

Microcrystalline cellulose, Avicel® PH-102, was obtained from FMC Biopolymer. Magnesium stearate was obtained from Cooper. Colloidal silicon dioxide, Aerosil® 200 V, was obtained from Evonik.

2.2. Tablets preparation

The tablets were prepared with a mixture of anhydrous caffeine Form I (60 wt%), microcrystalline cellulose (38 wt%) as a binder/diluent, magnesium stearate (1 wt%) as tablet lubricant and

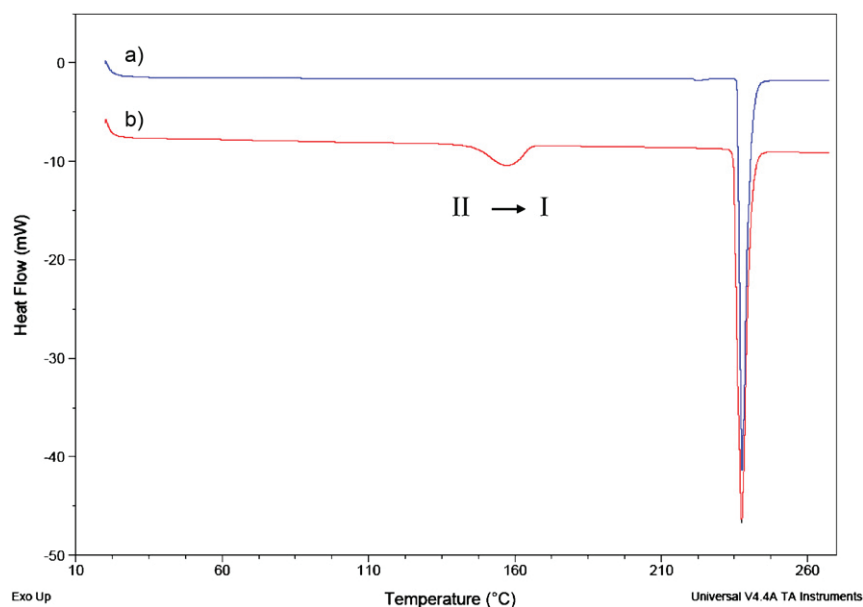


Fig. 1. (a) DSC curve of caffeine Form I. (b) DSC curve of caffeine Form II with a Y-axis offset for comparison.

Table 2
Data from tablets characterization obtained after compression.

No.	Compression pressure (MPa)	Mass ^a (mg)	Hardness ^b (N)	Thickness ^c (mm)	Diameter ^c (mm)	Tensile strength ^b (MPa)
1	74	299	54	2,56	11,3	1,19
2	87	298	67	2,48	11,3	1,51
3	119	298	90	2,38	11,3	2,13
4	160	298	112	2,28	11,3	2,76

^a Average mass calculated from 20 tablets.

^b Average hardness calculated from 10 tablets.

^c Average diameter calculated from 3 tablets.

colloidal silicon dioxide (1 wt%) as a glidant. About 300 mg of the mixture were filled in a cylindrical die (1 cm²) of an alternative instrumented Korsch tableting press equipped with flat punches. The upper punch displacement and the upper and lower compression forces were collected during compaction. The various compression pressures were obtained by modifying the run of the upper punch. 20 tablets were collected for each pressure. The range of compaction pressure was 70 MPa–170 MPa. The tablet masses, thicknesses and diameters were measured (see Table 2) just after compression according to the European Pharmacopeia methods section 2.09.05 (European Pharmacopeia, 2011).

2.3. Tablet tensile strength

Tablet tensile strengths were determined according to a diametral compression test (section 2.09.08, European Pharmacopeia, 2011) with flat faced steel platens performed on tablet hardness tester 6D from Schleuniger. The tensile strength σ (MPa) (see Table 2) was calculated using the equation (Fell and Newton, 1970)

$$\sigma = \frac{2P}{\pi dt} \quad (1)$$

where P (N) is the applied load or hardness, d (m) the tablet diameter and t (m) the tablet thickness.

An increase of the tensile strength means a consolidation of the internal structure (Akazawa, 1953; Barcellos and Carneiro, 1953).

2.4. Heckel plots

Heckel (1961) introduced an equation following a first order kinetic law to describe the densification of powders. The Heckel porosity–pressure function is usually applied to obtain a first understanding of the compression behavior of particulate materials (Busignies et al., 2004). The equation is

$$\ln\left(\frac{1}{1-D}\right) = kP + A \quad (2)$$

where k (MPa⁻¹) is the slope of the linear part and A is the intercept of the function, D is the relative density of the powder column at the pressure P (MPa).

During the volume reduction process the particles can deform according to three main behaviors: plastic, elastic and brittle. The mean yield pressure P_y defined by Hersey and Rees (1971) as the reciprocal of the slope k of the linear part of the function, was intended to give a measure of the plasticity of the compressed material. A greater slope (i.e. a lower P_y) indicates a greater degree of plasticity.

2.5. X-ray powder diffraction

Powder diffraction patterns of anhydrous caffeine phases were recorded with a scanning X-ray diffractometer (Bruker D8 Advance) using Cu K α radiation ($\lambda=1.54 \text{ \AA}$), tube voltage of 33 kV, and tube current of 45 mA. The intensities were measured at 2-theta values from 1° to 30° at a continuous scan rate of 10°/min

with a position sensitive detector aperture at 3° (equivalent to 0.5°/min with a scintillator counter). X-ray powder diffraction patterns obtained were compared to the ones calculated from the crystal structure reported in the Cambridge Structural Database (Pirttimäkki et al., 1993).

2.6. Thermal analysis

The DSC apparatus used for the calorimetric measurements was a Q200[®] from TA Instruments. The temperature calibration was performed with the melting point of indium (429.78 K) at a heating rate of 10 °C/min. The energy scale calibration was performed with the enthalpy of fusion of indium (28.45 J/g). A nitrogen purge of 50 mL/min was employed for all measurements. The heating rate was 10 °C/min and the temperature range was 20–270 °C. Hermetic aluminium alloy pans were used for the DSC scans with caffeine only. Perforated aluminium alloy pans were used for the DSC scans of caffeine and excipients mixtures. Microcrystalline cellulose releases water when heated above 40 °C. Thus and to avoid an increase of pressure in the pans, a hole was made in the lids for DSC measurements involving excipients. This method ensured a correct reliability of the experiments.

2.7. Validation of the analytical DSC method to quantify caffeine in tablets

The transition temperature II \rightarrow I of caffeine was measured for the commercial sample used in this work. It was found that the transition temperature $T_{\text{trans(II} \rightarrow \text{I)}}$ was 145 °C and the associated enthalpy of transition $\Delta_{\text{trans}}H_m$ was 19.85 J/g. These data are in the published range exposed in Table 1. Muller and Griesser (2003) had correlated the amount of caffeine Form II in a sample with the enthalpy of transition of pure Form II,

$$\% \text{ of caffeine Form II} = \frac{\Delta_{\text{trans}}H_m(\text{II} \rightarrow \text{I})}{\Delta_{\text{trans}}H_m(\text{II} \rightarrow \text{I}) \text{ of pure Form II}} \times 100 \quad (3)$$

where $\Delta_{\text{trans}}H_m(\text{II} \rightarrow \text{I})$ is the enthalpy of transition of the sample.

The tablets were made with 60% of caffeine Form I and the rest corresponded to the excipients. The dilution impact of the excipients has to be taken into account for the calculation of the transition degree of Form I. The total amount of anhydrous caffeine in the sample was calculated using the enthalpy of fusion of Form I, ΔH_{fus} (507.9 K) = 109 J/g. The total amount of caffeine in the sample is given by:

$$\% \text{ of anhydrous caffeine} = \frac{\Delta_{\text{fus}}H_{(1)} \text{ of the sample}}{\Delta_{\text{fus}}H_{(1)} \text{ of pure form I}} \times 100 \quad (4)$$

where $\Delta_{\text{fus}}H_{(1)}$ of the sample is the integrated value of the melting peak in the sample.

The relative amount of caffeine Form II in the tablet corresponds to the transition degree of caffeine Form I into Form II during the

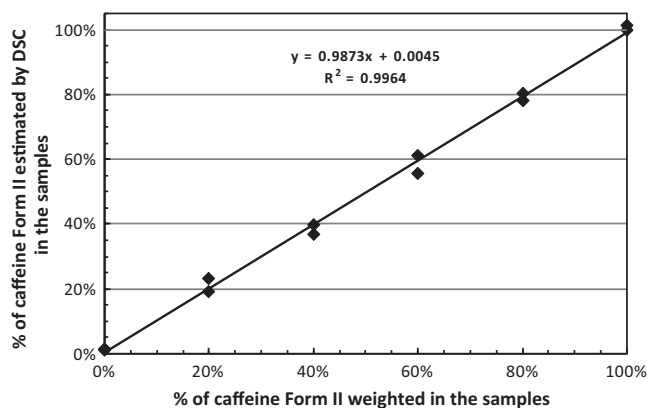


Fig. 2. Validation of the quantification method of caffeine Form II in powder mixture corresponding to the developed formulation.

compression process. The transition degree τ after compaction is defined as follows:

$$\tau = \frac{m_{\text{caffeine II}}}{m_{\text{caffeine total}}} = \frac{m_{\text{caffeine II}}}{m_{\text{caffeine I}} + m_{\text{caffeine II}}} \quad (5)$$

where m is the mass of the form of caffeine in the sample.

It becomes after combining expressions (3) and (4),

$$\tau = \frac{\Delta_{\text{trans}}H_{m(\text{II} \rightarrow \text{I})}}{\Delta_{\text{trans}}H_{m(\text{II} \rightarrow \text{I})} \text{ of pure form II}} \times \frac{\Delta_{\text{fus}}H_{(1)} \text{ of pure form I}}{\Delta_{\text{fus}}H_{(1)} \text{ of the sample}} \quad (6)$$

The experimental validation of this method was performed to confirm the expression (5) (see Fig. 2). Samples of 1 g were prepared according to the tablet formulation with different ratios of caffeine Form I and Form II. The ratios were respectively 0 wt%, 20 wt%, 40 wt%, 60 wt%, 80 wt% and 100 wt% of caffeine Form II compared to the Form I. Two samples were analyzed for each ratio. As far as process monitoring is concerned, the agreement between the weighted ratios and their estimates by DSC appears as satisfactory. Moreover, the standard deviation in each ratio does not exceed 5%, which indicates a good reproducibility of the measurements.

2.8. Raman spectroscopy

Low frequency Raman spectra presented in this paper were obtained on a XY Dilor spectrometer. It is characterized by a double monochromator grating dispersing system, composed of four mirrors with a long focal length (800 mm), and coupled to an additional grating system corresponding to the spectrograph. Obtaining an optical rejected light requires the well-adapted positioning of the monochromator with regard to the spectrometer, and allows the analysis of the low frequency domain to 2 cm^{-1} . Excitation was achieved using the 514.5 nm line of a mixed Argon–Krypton Coherent laser, focused through a $\times 100$ objective. The entrance and exit slits were opened to $150 \mu\text{m}$, determining for the incident radiation a resolution nearly less than 1.5 cm^{-1} in the low frequency range. The size of the spot ($1 \mu\text{m}^2$) and the selection of the confocal diaphragm corresponding to a depth of analyzed tablet of $5 \mu\text{m}$ lead to a spatial resolution of $5 \mu\text{m}^3$. Data for Raman maps were collected over $60 \mu\text{m}$ (X -axis) \times $165 \mu\text{m}$ (Y -axis) areas using a step size of $10 \mu\text{m}$ along X -axis and $15 \mu\text{m}$ along Y -axis. Each 2D Raman image consisted of 66 spectra analyzed separately by manual treatment. Baseline subtraction and normalization of the spectra were performed with Peakfit® software. 2D images of the mapped samples were plotted with SigmaPlot® software.

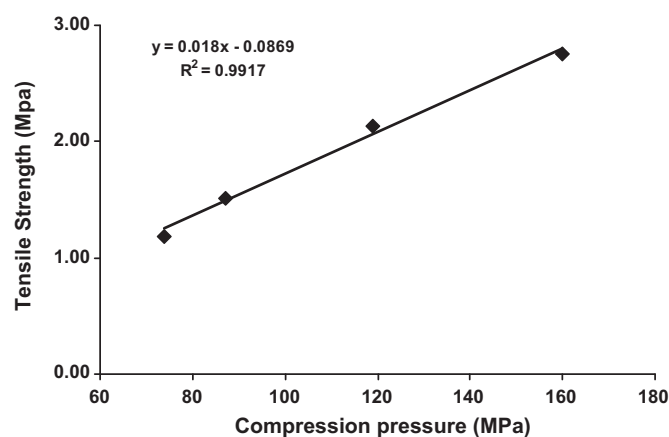


Fig. 3. Tablet tensile strength as a function of compaction pressure.

3. Results

3.1. Assessment of the compression process

3.1.1. Tablet tensile strength

The resistance to crushing test was performed to assess the influence of the compression pressure on the tablet resistance. The results of the test are shown in Fig. 3. All the tablets failed along a diametral line during the test. The breaking load was applied on 10 tablets for each pressure; it ensures a correct reliability of the test (European Pharmacopeia, 2011). As expected the tensile strength increased with the compaction pressure. This could be the result of having a higher energy contribution of the upper punch which causes an improvement of the cohesion between particles in the tablets.

These results also showed a linear function between the tensile strength and the compaction pressure. The correlation coefficient R^2 was 0.9917 which was acceptable. This graph was used as a calibration curve to estimate the compaction pressure of tablets in this work. Indeed, the pressures measured by the sensors were not identified for each specific tablet. Thus, it was decided to use the tensile strength in order to provide an estimate of the compression pressure for each tablet instead of the overall average of lower and upper pressures.

3.1.2. Heckel plots

The superposition of the Heckel plots for the increasing compaction pressure is shown in Fig. 4. The plots were obtained with the same formulation and using the “in-die” method.

A preliminary compression was performed using only Avicel® PH-102 which is well known for its plastic flow under compression. P_y values (see Table 3) for this excipient were 98 MPa in average, on the same pressure range as caffeine formulation.

In the case of caffeine formulation the Heckel plots followed the same linear part. The P_y values (see Table 3) were comparable and comprised between 75 and 80 MPa. This result showed that the formulation had the same compressional behavior in the full applied pressure range. These P_y values were lower than the Avicel® PH-102 values suggesting an improvement of the plastic flow in the formulation (Heckel, 1961). Moreover it brought a good cohesion of the compacts according to hardness measurements even at low pressure (70 MPa).

As the plots followed the same linear tendency, the reproducibility of the experiment for different pressures has been demonstrated. Thus the considered parameter in this study was the compression pressure.

Table 3
Mean transition degree of caffeine Form I toward Form II in tablets and P_y values for different maximum compression pressures.

Composition	Formulation of caffeine				Avicel® PH-102
	70 MPa	85 MPa	120 MPa	170 MPa	
Compression pressure	70 MPa	85 MPa	120 MPa	170 MPa	70–170 MPa
% transition τ_{mean} by DSC ^a	27%	29%	28%	27%	–
% transition ρ_{mean} by Raman mapping ^b	54%	59%	69%	50%	–
P_y (MPa)	79	76	79	79	98

^a DSC transition degree τ_{mean} is an average on two compacts.

^b Raman transition degree ρ_{mean} is an average on 66 spectra for each pressure.

3.2. Assessment of phase transitions in the tablets

3.2.1. DSC measurements

The samples for DSC measurements were taken from the upper and lower corners and from the middle region of the tablets. It has been supposed that these three regions present different pressures and density distributions (Train, 1956; Busignies et al., 2004). According to these works, the higher densities are localized in the upper corners and also around the center of the tablets. Lower corners usually show smaller densities, this is a consequence of the stationary state of the lower punch during the compression process with an alternative machine. Measurements at both sides of the compacts is then a good way to study the mechanical impact of the compression.

Two tablets were analyzed for each series of tablets. The tablets tensile strengths were recorded and converted into a normalized compression pressure using the tensile strength vs compression pressure linear equation (Fig. 3). Pressures were comprised between 70 and 170 MPa. This last pressure was the higher reachable load with the chosen experimental conditions, essentially influenced by the formulation and the press technology.

Fig. 5 displays the evolution of the transition degree τ with the compression pressure. Estimates of τ were comprised between 20% and 35%. The maximum relative gap between two transition degrees in a single tablet (see Fig. 5a) was 10% and τ in the upper side was always higher or equal to the other ones. Nevertheless the local region of the tablet has a minor effect on the resulting transformation, whatever the compaction pressure applied. Hence, τ could be considered constant in most parts of the compacts. A mean value τ_{mean} was calculated (see Fig. 5b) for each tablet using the upper side, lower side and middle region measurements. τ_{mean} was in the range of 25–30% and was not significantly influenced by the pressure level.

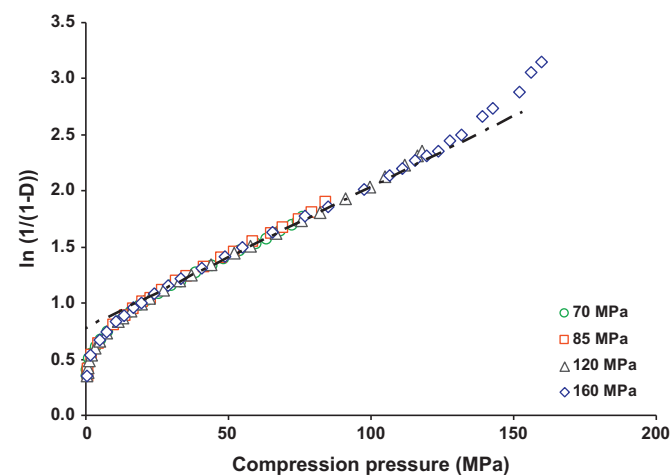


Fig. 4. Heckel plots of the caffeine mixture for increasing maximum compression pressure.

3.2.2. Raman spectroscopy

Caffeine polymorphs Form I and Form II have been previously studied in the low frequency range (from 10 to 600 cm^{-1}) and in the fingerprint region between 600 cm^{-1} and 1800 cm^{-1} (Hédoux et al., 2011a). Above 100 cm^{-1} , the spectra of Forms I and II are very similar (see Fig. 6) because of the existence of the same kind of orientational disorder in the two crystalline forms (Hédoux et al., 2011b; Moura Ramos et al., 2006). As a consequence, no Raman signature distinctive of each form can be detected in isolated spectral domains to be used as reference for quantifying the presence of Form I or II in a Raman mapping procedure. The frequency shift of the most intense band of the spectrum (1327 cm^{-1}) between Forms I and II is too much weak (<1 cm^{-1}) to provide information on the volume fraction of each coexisting form. By contrast, both crystalline forms can be identified below 100 cm^{-1} . The Form II is distinguishable from the Form I by a double hump which appears as a splitting of the broad band of the Form I (see Fig. 7). A spectrum from the 70 MPa tablet was drawn on the same figure in order to show the presence of both Forms I and II. All the recorded spectra had similar shape for all tablets.

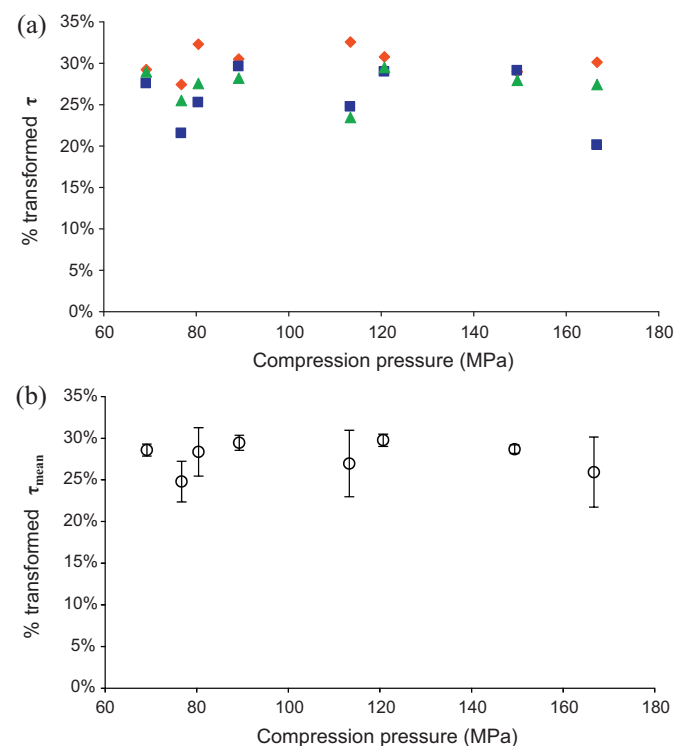


Fig. 5. Transition degree τ in the tablets vs the compression pressure. (a) (◆) Upper face, (■) lower face, and (▲) middle region. (b) Mean transition value τ_{mean} in each tablet (○).

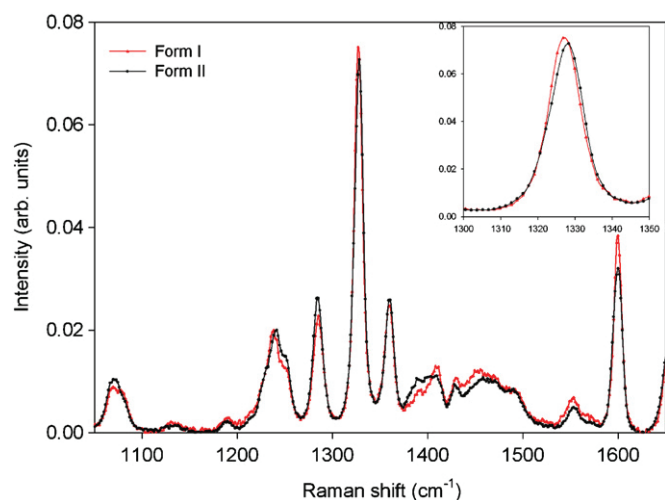


Fig. 6. Raman spectra of crystalline caffeine Form I and Form II in the region 1050–1650 cm^{-1} .

3.2.3. Mapping of phase transitions by low-frequency micro Raman spectroscopy

Each Raman spectrum recorded during the mapping procedure was analyzed independently of others. No spectrum of pure Form I or pure Form II was collected during the Raman mapping. As observed in Fig. 7 for the 70 MPa tablet, all spectra are composed of the more or less resolved double hump distinctive of Form II, indicating a transition rate (I \rightarrow II) more or less important. It can be deduced from MRS investigations that no coexistence of Forms I and II in tablets can be evidenced in a volume of $5 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}^2$. As a consequence, Raman spectra were interpreted as reflecting the degree of transition of Form I into Form II, and were analyzed using a method described in previous works (Hédoux et al., 2001, 2009, 2011b) to determine this volume fraction of transition ρ . For caffeine, it was shown that the reduced intensity of growing Form II revealed a shoulder between 30 cm^{-1} and 45 cm^{-1} . The relative integrated intensity of spectra has been correlated to a degree of transition (see Fig. 7). The transition degree ρ of Form I into Form

II is determined from integration between 32 and 76 cm^{-1} of the growing shoulder, distinctive of the emerging Form II, according to the relation (Hédoux et al., 2011):

$$\rho(i) = \frac{\int_{32 \text{ cm}^{-1}}^{76 \text{ cm}^{-1}} I_r(i) - I_r(\text{I})}{\int_{32 \text{ cm}^{-1}}^{76 \text{ cm}^{-1}} I_r(\text{II}) - I_r(\text{I})} \quad (7)$$

where $I_r(i)$, $I_r(\text{I})$ and $I_r(\text{II})$ are respectively the reduced intensities of spectrum i , Form I and Form II.

2D Raman images of tablets, corresponding to a distribution of degrees of transition ρ of Form I toward Form II, are presented in Fig. 8 with a colored scale from 0% (dark blue) to 100% (red).

Estimated values of ρ were always without negative value or value above 100%, it denotes a good reliability of the quantification process.

The four images showed a wide distribution of ρ except at 120 MPa. In this case, ρ remained close to 70% with 10% variation. For the others, some zones of the surface did not present any transition and were surrounded by zones with higher transition degrees.

The mean transition degrees ρ_{mean} according to the 66 spectra of each mapping were included in the 50–70% range (see Table 3). Since the Raman maps constitute only a small portion of the total sample volume, it is not possible to draw a conclusion at this point about the pressure effect on the caffeine transition. However, all analyzed areas show the presence of Form I of caffeine more or less transformed into Form II, and not the coexistence of both pure crystalline forms.

4. Discussion

4.1. Comparison of DSC results with the literature

The results of the DSC investigation on tablets corners and middle region differ from the study of Chan and Doelker (1985). The authors have not observed phase transitions of anhydrous caffeine Form I below 100 MPa. However, in that case compactions were performed without excipient. Often, the choice of a formulation influences the type of deformation and thus the compaction pressure (Kurup and Pilpel, 1978). In this work, the addition of

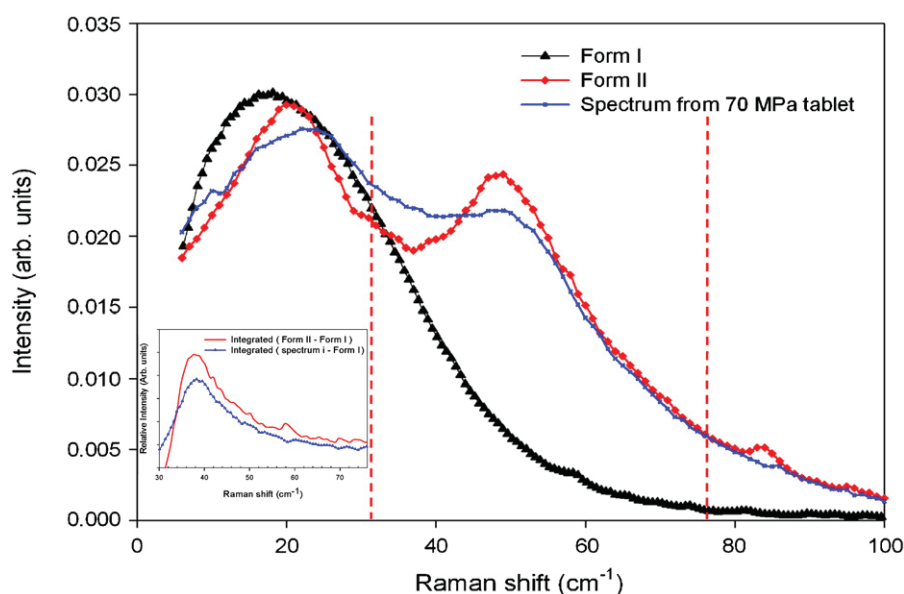


Fig. 7. Raman spectra of caffeine Forms I and II and a spectrum from the low frequency micro Raman spectroscopy of a 70 MPa tablet. Inset: Difference between Form II and Form I Raman spectra (red line without symbol) and difference between a spectrum from the mapping at 70 MPa and Form I Raman spectrum (blue line with symbols). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

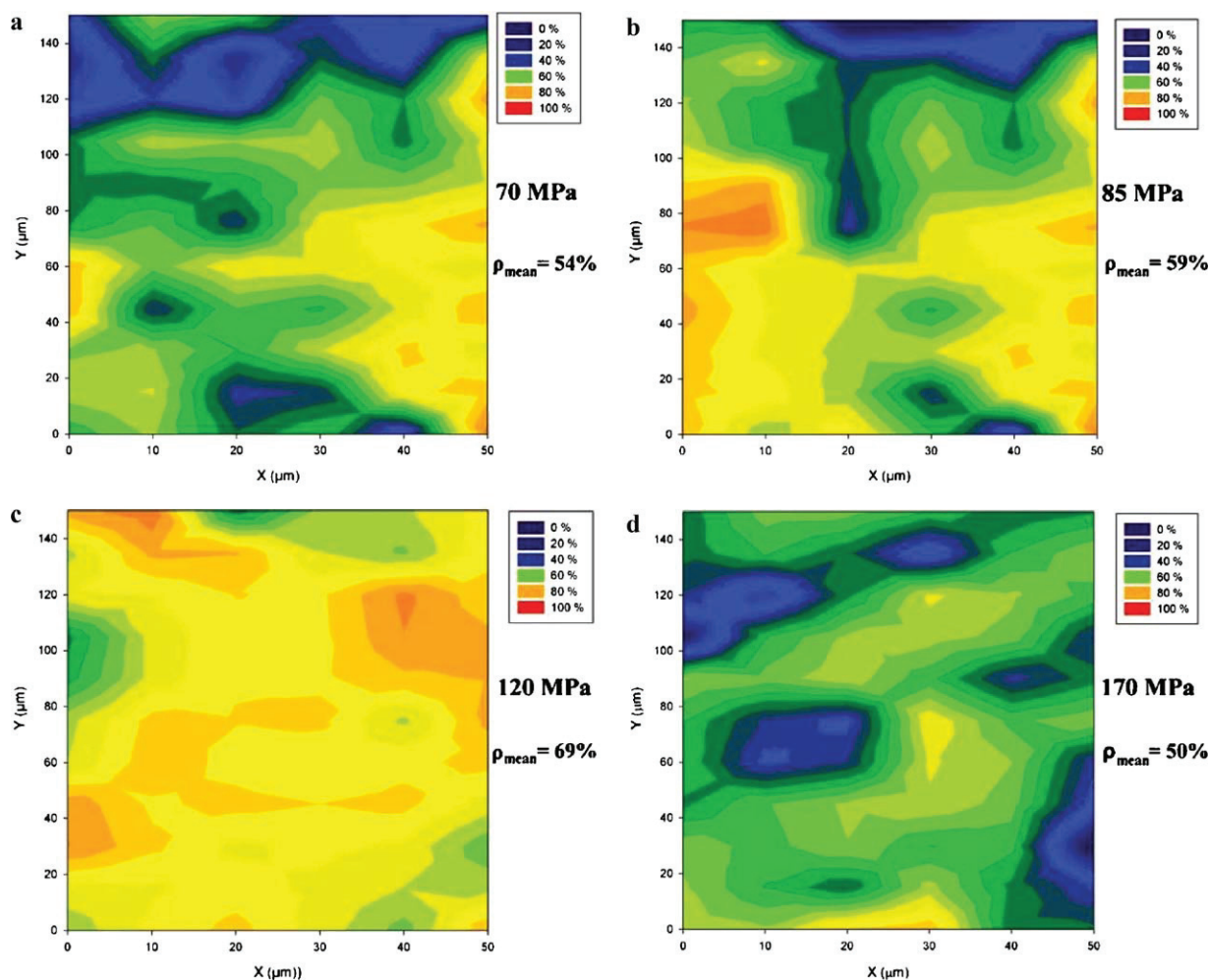


Fig. 8. Raman mapping of tablet parts made at 70, 85, 120 and 170 MPa.

Avicel® PH-102, inducing a plastic flow, allowed manufacturing tablets with good cohesion at lower pressure than Chan and Doelker (Kothari et al., 2002). The transmission of forces was also maintained at low pressure because of the Avicel® flow properties and this ensured a good cohesion of the tablet. However, these authors (Chan and Doelker, 1985) have shown that the transition degree was relatively constant and was distributed between 15% and 25% beyond 100 MPa. This is in accordance with our DSC results.

In our work, differences between both sides were not always distinguished, at most 10%. The influence of the tablet region seems to be less pronounced compared to Chan and Doelker (1985) results.

4.2. Combination of DSC and low frequency MRS mapping

DSC and Raman spectroscopy brought different and complementary contributions. The results obtained from these two different kinds of experiments were different, which may be explained by the following arguments.

DSC is based on the enthalpy of Form I \rightarrow Form II polymorphic transformation, which can be considered as a destructive method. Results given by DSC represent a macroscopic fraction of the tablet (10 mg or 3–4% of the tablet). Its main interest is to determining the proportion of two polymorphic forms in a sample volume, large enough to be representative of the tablet. However, no information can be obtained on the solid state of the API particles (coexistence of pure crystallographic forms, or partial transition of the crystal

lattice from I to II) within sample tablets. MRS offers the unique combination of physical characterization and spatial resolution at the micrometer scale. The low-frequency region ($<200\text{ cm}^{-1}$) is not a usual domain for Raman investigations, and MRS mapping was generally performed in the fingerprint region of molecular compounds. The existence of a similar orientational disorder in both forms of caffeine makes it impossible Raman mapping from Raman signatures in the middle frequency (MF) and high frequency (HF) regions. Consequently the present work firstly reports Raman mapping from overlapping signatures of both crystalline forms in the low-frequency region, which required manual treatment of each spectrum. It was clearly shown that tablets were composed of Form I of caffeine partially transformed toward Form II with a spatial resolution of $5\text{ }\mu\text{m}^3$. Some significant changes in the transition degree between the tablet surface and volume were evidenced by a complementary analysis of the center of two tablets by MRS. A few spectra were collected around the center of the section of broken 70 MPa and 170 MPa tablets. Estimations of the transition degree ρ were about 40–50% which seems to be lower than the tablet surface ρ . Nevertheless mapping on this broken section was quasi impossible because of the high roughness of the surface. Transition degree of caffeine was higher at the surface than in the rest of the volume since DSC measurements were half lower than Raman estimates which is confirmed by the Raman measurements in the center of tablets. This tendency confirms the transition observed by Pirttimäkki et al. (1993) with XRD analysis. They have shown that transition degree was between 70% and 80% at the surface and

lower in the ground tablet (50–60%). It suggests that the method applied in the MRS mapping leads to confident results. It is also enhanced by the number of acquisitions (66 spectra) on a small area. Raman investigations have shown that the spectra of caffeine (60 wt% of the formulation) in tablets could be heavily polluted by the presence of high-concentration of excipients, inhomogeneously distributed in sample tablets. As a consequence, the volume of analyzed tablets by MRS is not comparable to that analyzed by DSC experiments, and the results obtained by the two different kinds of experiments cannot be directly compared. In this context, the micro-Raman analysis was restricted to high-concentrated caffeine regions to give well-defined spectra of caffeine. Nevertheless, more experiments at the surface may confirm the tendency observed here.

5. Conclusion

In this work, tablets made of a model API, caffeine Form I, were analyzed according to DSC and low frequency MRS. Whatever the pressure applied in the compression process, the powder flow behavior remained plastic with the formulation used.

DSC results revealed that it was a good way to estimate the average transition degree in the tablet. However, it was not obvious to distinguish changes in transition between the different regions of the tablet because of the macroscopic volume required for the measurement.

Original MRS investigations were carried out on tablet; Raman mapping was performed in the low-frequency region ($<100\text{ cm}^{-1}$) to describe and to quantify the transition rate disordered forms within tablets. Local higher transformation degree (50–60%) was obtained compared to DSC (20%–35%). This technique was used for the first time in mapping of polymorphs into tablets. Since MRS is innovative, it was also used to show that caffeine Form I was always transformed partially toward Form II. Furthermore, it was concluded that transition may occur preferentially at the tablet borders.

The next steps of these investigations may be focused on the rate of compression and the type of technology used in order to find out which other parameters could be involved in phase transition during the compression process.

Acknowledgements

The support of the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche is gratefully acknowledged. In addition the authors are indebted to Ruben Vera for the X-ray diffractometry measurements and advice (Centre de Diffractométrie Henry Longchambon, Université Lyon 1, Villeurbanne) and thank G. Conod Nardi and J.P. Valour for their help in the use of the tableting press.

References

- Akazawa, T., 1953. International association of testing and research laboratories for materials and structures. RILEM Bull. 13, 13–23.
- Barcellos, F.L.L.B., Carneiro, A., 1953. International association of testing and research laboratories for materials and structures. RILEM Bull. 13, 99–125.
- Boldyreva, E.V., Dmitriev, V., Hancock, B.C., 2006. Effect of pressure up to 5.5 GPa on dry powder samples of chlorpropamide form-A. Int. J. Pharm. 327, 51–57.
- Bothe, H., Cammenga, H.K., 1979. Phase transitions and thermodynamic properties of anhydrous caffeine. J. Therm. Anal. Calorim. 16, 267–275.
- Brittain, H.G., 2002. Effects of mechanical processing on phase composition. J. Pharm. Sci. 91, 1573–1580.
- Busignies, V., Tchoreloff, P., Leclerc, B., Besnard, M., Couarraze, G., 2004. Compaction of crystallographic forms of pharmaceutical granular lactoses. I. Compressibility. Eur. J. Pharm. Biopharm. 58, 569–576.
- Cesaro, A., Starec, G., 1980. Thermodynamic properties of caffeine crystal forms. J. Phys. Chem. 84, 1345–1346.
- Chan, H.K., Doelker, E., 1985. Polymorphic transformation of some drugs under compression. Drug Dev. Ind. Pharm. 11, 315–332.
- Dalton, J.T., Mayer, M.C., 2006. Bioavailability of Drugs and Bioequivalence. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, third edn.
- Defossemont, G., Randzio, S.L., Legendre, B., 2004. Contributions of calorimetry for Cp determination and scanning transmittometry for the study of polymorphism. Cryst. Growth Des. 4, 1169–1174.
- Derollez, P., Correia, N.T., Danède, F., Capet, F., Affouard, F., Lefebvre, J., Descamps, M., 2005. *Ab initio* structure determination of the high-temperature phase of anhydrous caffeine by X-ray powder diffraction. Acta Crystallogr. B61, 329–334.
- Dong, J.X., Li, Q., Tan, Z.C., Zhang, Z.H., Liu, Y., 2007. The standard molar enthalpy of formation, molar heat capacities, and thermal stability of anhydrous caffeine. J. Chem. Thermodyn. 39, 108–114.
- Edwards, H.G.M., Lawson, E., De Matas, M., Shields, L., York, P., 1997. Metamorphosis of caffeine hydrate and anhydrous caffeine. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 1985–1990.
- Epple, M., Cammenga, H.K., Sarge, S.M., Diedrich, R., Balek, V., 1995. The phase transformation of caffeine: investigation by dynamic X-ray diffraction and emanation thermal analysis. Thermochim. Acta 250, 29–39.
- European Pharmacopeia, 2011. Seventh edn.
- Fell, J.T., Newton, J.M., 1970. Determination of tablet strength by the diametral compression test. J. Pharm. Sci. 59, 688–691.
- Griesser, U.J., Szelagiewicz, M., Hofmeir, U., Pitt, C., Cianferani, S., 1999. Vapor pressure and heat of sublimation of crystal polymorphs. J. Therm. Anal. Calorim. 57, 45–60.
- Heckel, R.W., 1961. Density–pressure relationship in powder compaction. Trans. Metall. Soc. AIME 221, 671–675.
- Hédoux, A., Guinet, Y., Descamps, M., 2001. Size dependence of the Raman spectra in an amorphous–nanocrystalline mixed phase: the glacial state of triphenylphosphite. J. Raman Spectrosc. 32, 677–688.
- Hédoux, A., Paccou, L., Guinet, Y., Willart, J.F., Descamps, M., 2009. Using the low-frequency Raman spectroscopy to analyze the crystallization of amorphous indomethacin. Eur. J. Pharm. Sci. 38, 156–164.
- Hédoux, A., Guinet, Y., Descamps, M., 2011a. The contribution of Raman spectroscopy to the analysis of phase transformations in pharmaceutical compounds. Int. J. Pharm. 417, 17–31.
- Hédoux, A., Decroix, A.A., Guinet, Y., Paccou, L., Derollez, P., Descamps, M., 2011b. Low- and high-frequency Raman investigations on caffeine: polymorphism, disorder and phase transformation. J. Phys. Chem. B 115, 5746–5763.
- Hersey, J.A., Rees, J., 1971. Deformation of particles during briquetting. Nature Phys. Sci. 230, 96.
- Kothari, S.H., Kumar, V., Banker, G.S., 2002. Comparative evaluations of powder and mechanical properties of low crystallinity celluloses, microcrystalline celluloses, and powdered celluloses. Int. J. Pharm. 232, 69–80.
- Kurup, T.R.R., Pilpel, N., 1978. Compression characteristics of pharmaceutical powder mixtures. Powder Technol. 19, 147–155.
- Lefebvre, C., Guyot-Hermann, A.M., Draguet-Brughmans, M., Bouche, R., Guyot, J.C., 1986. Polymorphic transitions of carbamazepine under grinding and compression. Drug Dev. Ind. Pharm. 12, 1913–1927.
- Lehto, V.P., Laine, E., 1998. A kinetic study of polymorphic transition of anhydrous caffeine with microcalorimeter. Thermochim. Acta 317, 47–58.
- Manduva, R., Kett, V.L., Banks, S.R., Wood, J., Reading, M., Craig, D.Q.M., 2008. Calorimetric and spatial characterization of polymorphic transitions in caffeine using quasi-isothermal MTDC and localized thermomechanical analysis. J. Pharm. Sci. 97, 1285–1300.
- Morris, K.R., Griesser, U.J., Eckhardt, C.J., Stowell, J.G., 2001. Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacture processes. Adv. Drug Deliv. Rev. 48, 91–114.
- Moura Ramos, J., Correia, N., Diogo, H., Descamps, M., 2006. Dielectric study of the slow motional processes in the polymorphic states of anhydrous caffeine. J. Phys. Chem. B 110, 8268–8273.
- Muller, P.R., Griesser, U.J., 2003. Poster abstract, PhandTA7. In: Presented at the 7th International Conference/Workshop on Pharmacy and Applied Physical Chemistry, Innsbruck, Austria.
- Otsuka, M., Matsumoto, T., Kaneniwa, N., 1989. Effects of the mechanical energy of multitableting compression on the polymorphic transformations of chlorpropamide. J. Pharm. Pharmacol. 41, 665–669.
- Pinto, S.S., Diogo, P., 2006. Thermochemical study of two anhydrous polymorphs of caffeine. J. Chem. Thermodyn. 38, 1515–1522.
- Pirttimäki, J., Laine, E., Ketolainen, J., Paronen, P., 1993. Effects of grinding and compression on crystal structure of anhydrous caffeine. Int. J. Pharm. 95, 93–99.
- Sabon, F., Jeanjean, B., Alberola, S., Terol, A., 1979. Contribution to the study of paracetamol–theophylline and paracetamol–caffeine associations. Annales Pharmaceutiques Françaises 37, 95–100.
- Schlichter, J., Sarig, S., Garti, N., 1985. Polymorphic transformations of cocoa butter in the presence of emulsifier, studied by the DSC. Thermochim. Acta 85, 517–520.
- Train, D., 1956. An investigation into the compaction of powders. J. Pharm. Pharmacol. 8, 745–761.
- Zhang, G.G.Z., Law, D., Schmitt, E.A., Qiu, Y., 2004. Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms. Adv. Drug Deliv. Rev. 56, 371–390.