



HAL
open science

Effet de la stérilisation par électrons accélérés sur les COC et sur l'impact des interactions avec des molécules actives

Hala Barakat

► **To cite this version:**

Hala Barakat. Effet de la stérilisation par électrons accélérés sur les COC et sur l'impact des interactions avec des molécules actives. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2013. Français. NNT : 2013PA114802 . tel-00936342

HAL Id: tel-00936342

<https://theses.hal.science/tel-00936342>

Submitted on 25 Jan 2014

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.

UNIVERSITE PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE :

Innovation Thérapeutique : Du Fondamental à l'Appliqué

Laboratoire de Matériaux et Santé EA401

DISCIPLINE

PHARMACOTECHNIE ET BIOPHARMACIE

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue le 24/01/2013

Par

Hala BARAKAT

Titre de la thèse :

Effet de la stérilisation par les électrons accélérés sur les copolymères d'oléfines cycliques et son impact sur les interactions avec des molécules actives

Directeur de thèse : Najet YAGOUBI Professeur des Universités, Paris Sud

Composition du jury :

<i>Rapporteurs :</i> Anne-Marie RIQUET	HDR, INRA, Massy
Eric POSTAIRE	HDR, Académie de sciences, Paris
<i>Examineurs :</i> Arlette BAILLET-GEFFROY	Professeur des Universités, Paris Sud
Yvette NGONO-RAVACHE	Ingénieur de recherche, CEA Caen
<i>Membres :</i> Philippe CARDOT	Professeur des Universités, Limoges
Caroline AYMES-CHODUR	Maître de conférences, Paris Sud
Najet YAGOUBI	Professeur des Universités, Paris Sud

Il faut aller jusqu'au bout, même pour ne pas vaincre.

Pierre Reverdy

À celle qui m'a accompagnée tout le long de ce combat, pas par pas, qui était pour moi beaucoup plus qu'une fille, elle m'était une amie et parfois une mère.

À toi ma très chère Nesma,

en espérant qu'un jour tu trouveras une réponse à ta question :

« Maman, pourquoi tu as choisi le plus dur des chemins ?? »

Et

À ma mère, Nawal,

sans laquelle et sans son soutien et ses sacrifices de toujours je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui

*à celui qu'à tout moment je souhaitais qu'il me partage cette expérience, et que
pour des raisons obscures n'a pas pu
au père de Nesma et Jad*

Remerciements

Je remercie vivement Mme le professeur Najet YAGOUBI, ma directrice de thèse, de m'avoir accueillie au sein de son équipe, et pour sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a accordée. Un grand merci Najet pour ton aide, ton soutien et tes conseils sur le plan scientifique et personnel pendant ces cinq années passées.

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements et ma profonde reconnaissance aux Dr. Caroline AYMES-CHODURE et Dr. Johanna SAUNIER, pour la qualité de leur encadrement, pour leur grande disponibilité et pour le temps qu'elles m'ont consacré depuis le début de cette thèse et jusqu'à la dernière minute de corrections. Merci à vous deux pour votre patience et pour le grand savoir que vous m'avez transmis dans le domaine des polymères qui est en plein essor. Merci aussi pour votre soutien, vos conseils et les rapports humains entretenus tout au long de ma thèse. Caroline, Johanna, vraiment MERCI pour tout.

Je tiens également à remercier le Dr. Anne-Marie RIQUET et le Dr. Eric POSTAIRE d'avoir accepté d'être les rapporteurs de mes travaux.

Je remercie de tout cœur le Professeur Arlette BAILLET-GEFFROY de m'avoir acceptée au sein du master « recherche et développement analytique : de la molécule active à sa bioanalyse », merci pour votre soutien et vos conseils tout au long de mon parcours de master, merci aussi d'avoir acceptée de faire partie du jury.

Je tiens à remercier le Professeur Philippe CARDOT et le Dr. Yvette NGONO-RAVACHE d'avoir acceptée de faire partie du jury de ma thèse.

Je suis également très reconnaissante au Dr. Emile JUBELI pour son investissement total dans la réalisation de l'étude de toxicité mais aussi pour son écoute et son encouragement de toujours surtout pendant la période de rédaction. Un grand merci à toi Emile pour ton aide aussi sur le plan personnel.

Je tiens à exprimer mes remerciements au Dr. Vincent Mazel pour m'avoir initiée et formée à l'analyse en microscopie Infra rouge, merci également pour son aide pour résoudre les problèmes informatiques rencontrés tout au long de cette thèse.

Je remercie par ailleurs tout le personnel de l'équipe Matériaux et santé et plus particulièrement Monsieur M.SGHAIER pour sa disponibilité et son aide lors de l'analyse thermique, Madame Nicole GOURLAIN pour sa sympathie et son aide pour toutes les démarches administrative mais aussi dans la vie quotidienne au laboratoire, merci Nicole d'avoir arrosé ma plante chaque matin. Un grand merci à Katia MANEURLAX pour son écoute et son soutien, ça m'a fait vraiment plaisir de te connaître Katia, merci beaucoup de m'avoir aidée pour les manipulations de dernière minute. Je n'oublie pas de remercier trois anciens personnels de l'équipe EA401, merci à Richard KIKOUAMA, qui m'a encadrée pendant mon stage de master, à Khelil SLIMANI pour ses conseils et son soutien et à Leila LARBES qui était à côté de moi lors de mes premières manips en HPLC, merci pour son soutien, pour sa bonne humeur et pour l'ambiance qui se dégageait lors de sa présence au laboratoire.

Cette thèse n'aurait pas pu être menée à bien sans le soutien continu de quelques personnes rares rencontrées au cours de ma vie en France, je ne peux qu'être très reconnaissante :

A Caroline AYMES-CHODUR, merci encore et encore, cette fois en tant qu'amie et grande sœur, ça va beaucoup me manquer de ne pas passer chaque matin à ta porte pour te dire bonjour, merci pour tout ce que tu m'as donné et que tu m'as appris, je vois l'humanité résumée dans ton personnage, merci Caroline pour ce que tu es.

A Karine CASAL, merci de nous avoir ouvert les bras à Nesma et moi, je n'étais jamais aussi tranquille que quand Nesma passait sa journée chez toi pour que je puisse travailler ma thèse, merci pour ton soutien et ta sympathie sans fin. Heureusement il y'a encore dans la vie des gens comme toi.

A Afraa ZREIKI, ma copine et ma voisine de résidence universitaire pendant plus de 4 ans, merci pour tes conseils utiles, pour tes encouragements et ton écoute, merci aussi pour tout ce que tu m'as transmis et pour les valeurs que tu défends dans ta vie.

A Darine ALKAADI, merci pour tous les moments qu'on a partagé à Paris surtout les soirées poétiques, tu es retournée en Syrie mais ta présence est toujours là, je suis contente de te connaître.

Je voudrais remercier également mes autres copines et amis, je remercie particulièrement Saad HAMAMA pour son aide durant six ans merci pour tout Saad merci d'être venu me

chercher au laboratoire à minuit la veille de l'envoi de mon rapport. Merci à Hatem YOUSSEF pour son aide lors de mes déménagements et à chaque fois que je lui demande un service. Je tiens aussi à remercier Sawsan HARFOUCH pour m'avoir écouté et avoir supporté mes crises de larmes et pour ses conseils personnels. Je remercie également Sawsana ALKHAYER, Myrian NASRA, Rawa KASBO, Rim JUBELI, Spiro KHOURY, Michel NOUMAN, Samia DABABI, Dalia ALIBRAHIM, Ibrahim AKEL, Ahmad ISMAEIL et Céline DELPLACE pour leur soutien.

Je tiens à remercier spécialement :

Mes parents Nawal et Talal, merci pour vos sacrifices de toujours depuis toute petite et jusqu'au moment où j'écris mes remerciements, merci pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises merci pour votre confiance et pour vos encouragements et votre soutien constant.

Mon cher frère, Neruda, mon meilleur ami et mon exemple et guide dans la vie, merci pour ton écoute et pour tout ce que tu m'as appris. Je suis fier d'avoir un frère comme toi.

Ma sœur Nora, tu es devenue médecin et tu t'es mariée mais tu resteras pour moi ma petite sœur très mignonne, merci Em-Nour pour ton soutien même quand tu es loin, merci pour l'amour que tu as pour Nesma et pour l'être occupée d'elle lors de ma première année en France.

Ma tante Samia et mon oncle Amine, pour l'amour qu'ils m'ont donné depuis mon enfance et pour leur soutien, je vous aime beaucoup.

Mes enfants Nesma et Jad, la joie de ma vie et mon bonheur de tous les jours.

Mon époux Khaldoun, merci pour ta compréhension même modeste, excuse-moi de te faire supporter le poids de la société depuis plus de six ans.

Mes beaux parents, Hassan et Salma pour leur sincère soutien et aide ; et à toute ma belle famille.

Enfin, je voudrais remercier la France de m'avoir accueillie sur son territoire, de m'avoir ouvert les bras, la France qui m'a donnée autant qu'elle m'a pris, merci pour toute cette richesse.

Je remercie aussi mon pays la Syrie, encore saignant, merci de financer mes études et de me donner l'opportunité de réaliser ma thèse en France en espérant que je te retrouverai plus belle que tu étais quand je t'ai quittée.

Sommaire

Table des Figures	15
Liste des Tableaux.....	22
Liste des Abréviations	24
Introduction	27
1 ^{ère} partie : Partie Bibliographique	33
Chapitre I : Les polymères dans l'industrie pharmaceutique et médicale	35
I.1 Utilisation des matières plastiques pour l'élaboration de dispositifs médicaux ou de conditionnements pharmaceutiques.	37
I.1.1 Introduction.....	37
I.1.2 Les qualités des polymères	37
I.1.3 Principaux polymères - Applications médicales et pharmaceutiques.....	38
I.2 Polymères à base d'oléfine cyclique (COP)	39
I.2.1 Introduction.....	39
I.2.2 Principales voies de synthèse, structures et propriétés	40
I.2.3 Applications médicales et pharmaceutiques	48
I.2.3.1 Conditionnement des produits pharmaceutiques et médicaux	48
I.2.3.2 Instruments et dispositifs médicaux	50
I.2.3.3 Applications analytiques et diagnostiques	52
I.2.4 TOPAS [®] : les différents grades, les propriétés et les aspects réglementaires.....	52
I.3 Conclusion	54
Chapitre II : Interactions matières plastiques / médicaments	55
II.1 Phénomènes de diffusion	58
II.2 Coefficient de partage (K).....	59
II.3 Migration des constituants du conditionnement vers la formulation pharmaceutique.	60
II.3.1 Migration des oligomères et monomères de synthèse	61

II.3.2 Migration des additifs et de leurs produits de dégradation.....	62
II.3.3 Mécanisme de migration	63
II.4 La sorption des constituants de la formulation dans le matériau	63
II.4.1 L'adsorption du principe actif sur la surface du matériau	63
II.4.2 L'absorption de principe actif dans le volume matriciel	67
II.5 Facteurs influençant la migration et l'absorption.....	68
II.5.1 Morphologie et flexibilité des chaînes polymère.....	68
II.5.2 Taille et forme de la molécule qui diffuse	70
II.5.3 Interaction polymère/migrant/solution	71
II.5.4 Durée de contact	72
II.5.5 Température de stockage	73
II.5.6 pH	74
II.5.7 Effet de l'irradiation	75
II.6 Conclusion.....	76
Chapitre III : La stérilisation	79
III.1 Introduction générale et définition de la stérilisation	81
III.2 Les différentes méthodes de stérilisation	81
III.2.1 Stérilisation par la chaleur.....	81
III.2.1.1 Stérilisation par la chaleur sèche	82
III.2.1.2 Stérilisation par chaleur humide	82
III.2.2 Stérilisation par l'oxyde d'éthylène	83
III.2.3 Stérilisation par gaz plasma.....	84
III.2.4 Stérilisation par les rayonnements ionisants (RI).....	85
III.2.4.1 Les rayonnements électromagnétiques – Irradiation gamma (γ).....	87
III.2.4.2 Les rayonnements corpusculaires – électrons accélérés.....	87
III.3 L'effet de la stérilisation par rayonnements ionisants sur les polymères	88

III.3.1 Scission, oxydation des chaînes et formation de produits volatils issus de la radiolyse	91
III.3.2 La réticulation	94
III.4 Conclusion	94
2 ^{ème} partie : Partie Expérimentale.....	97
Chapitre I: Matériels et Méthodes	99
I.1 Matières premières.....	101
I.1.1 Copolymères	101
I.1.2 Additifs	103
I.1.2.1 Antioxydants phénoliques (Irganox 1010 [®] et BHT)	103
I.1.2.2 Lubrifiant (N, N'bis éthylène stéaramide)	103
I.1.3 Principes actifs et formulations pharmaceutiques.....	103
I.2 Traitement des échantillons par électrons accélérés	104
I.3 Conditions de stockage des échantillons	105
I.4 Préparations des échantillons.....	105
I.4.1 Extraction par dissolution-précipitation.....	105
I.4.2 Extraction par Soxhlet.....	105
I.4.3 Coupe des échantillons pour l'analyse par microscopie IRTF	106
I.5 Méthodologie analytique	106
I.5.1 Evaluation des modifications dans le volume du matériau.....	107
I.5.1.1 Evaluation globale par Chromatographie d'Exclusion Stérique (CES).....	107
I.5.1.2 Evaluation globale par spectroscopie et microscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	107
I.5.1.3 Evaluation globale par analyse enthalpique différentielle (AED)	108
I.5.1.4 Evaluation spécifique par chromatographie liquide haute performance (CLHP)	109
I.5.2 Evaluation des modifications sur la surface du matériau.....	109

I.5.2.1 Etude de la topographie de surface par microscopie à force atomique (AFM)	110
I.5.2.2 Chimie de surface par spectroscopie de photoélectrons X (SPX)	111
I.5.2.3 Mouillabilité	113
I.5.3 Etude d'interactions avec les solutions médicamenteuses par spectroscopie UV-Visible	114
I.6 Etude de la toxicité	115
I.6.1 Lignée cellulaire	115
I.6.2 Préparation des échantillons	116
I.6.2.1 Antioxydant à l'état soluble	116
I.6.2.2 Antioxydant à l'état solide	116
I.6.2.3 Extrait des échantillons de COC	116
I.6.3 Test de Viabilité-MTT	116
I.6.3.1 Antioxydant à l'état soluble	116
I.6.3.2 Antioxydant à l'état solide	117
I.6.3.3 Extrait des échantillons de COC	117
I.6.4 Etude de la morphologie cellulaire	117
I.6.4.1 Antioxydant à l'état soluble	118
I.6.4.2 Antioxydant à l'état solide	118
I.6.4.3 Extrait des échantillons de COC	118
Chapitre II: Effets de la stérilisation par électrons accélérés dans le volume du matériau	119
II.1 Effet de la stérilisation sur la dégradation de l'antioxydant	121
II.2 Effet de la stérilisation sur la dégradation du polymère	124
II.2.1 Oxydation du polymère	124
II.2.2 Scission, branchement et réticulation des chaînes	127
II.3 Effet de la stérilisation sur la création de composés de faible masse molaire (CFMM)	136

II.4 Modifications des propriétés thermiques des COC	141
II.5 Conclusion.....	142
Chapitre III: Effets de la stérilisation par électrons accélérés sur la surface du matériau ..	143
III.1 Etude de la topographie de surface des COC par microscopie à force atomique (AFM)	145
III.2 Etude de la chimie de surface de COC	150
III.2.1 Analyse par spectroscopie et microscopie IRTF/RTA.....	150
III.3.2 Analyse par Spectroscopie des Photoélectrons X (SPX)	154
III.3 Mouillabilité de la surface des COC	161
III.3.1 Caractérisation de la surface du COC non irradié.....	162
III.3.2 Effet de l'irradiation sur la mouillabilité des films COC	168
III.5 Conclusion	175
Chapitre IV: Etude du vieillissement des COC.....	177
IV.1 Effet du vieillissement sur la structure des chaînes des COC.....	179
IV.2 Effet du vieillissement post-irradiation sur les propriétés thermiques des COC....	182
IV.3 Effet du vieillissement sur l'oxydation des COC	183
IV.4 Conclusion	187
Chapitre V: Etude d'interaction avec les COC et étude de toxicité	189
V.1 Etude de sorption des principes actifs dans le COC	191
V.1.1 Sorption du diazépam.....	191
V.1.1.1 Etude du PVC plastifié	191
V.1.1.2 Etude des COC	194
V.1.2 Sorption de la chlorpromazine.....	196
V.2 Etude de la migration des composés de faible masse molaire issus des COC.....	199
V.3 Etude préliminaire de toxicité	209
V.3.1 Effet des antioxydants et de l'extrait sur la viabilité des cellules endothéliales	209

V.3.1.1 Antioxydant à l'état soluble.....	209
V.1.1.2 Irganox 1010® à l'état solide	210
V.1.1.3 Extractibles des échantillons de COC.....	211
V.3.2 Effet des antioxydants et des extractibles sur la morphologie des cellules endothéliales.....	212
V.3.2.1 Antioxydants à l'état soluble	212
V.3.2.2 Antioxydants à l'état solide	212
V.3.2.3 Extrait des échantillons de COC.....	214
V.4 Conclusion	215
Conclusion générale et perspectives.....	217
Annexes.....	223
Annexe 1 : Structures chimiques des additifs et principes actifs utilisés.....	225
Annexe 2 : Principes des techniques et Protocoles expérimentaux	226
Annexe 3 : Gamme d'étalonnage de l'Irganox 1010®	230
Annexe 4 : Evaluation de l'énergie de surface	233
Annexe 5 : Etude de stabilité du diazépam et de la chlorpromazine	235
Annexe 6 : Chromatogrammes RP-CLHP des solutions d'extraction des granules de COC de type D et T avant et après irradiation.	237
Annexe 7 : Etude de la sorption du diazépam.....	239
Références bibliographiques	243

Table des Figures

Figure 1: Schéma de polymérisation des oléfines cycliques d'après [15].	41
Figure 2: Exemples des séquences possibles de norbornène dans un copolymère éthylène/norbornène (ENC) d'après [9]	42
Figure 3: Effet du rapport NB/E sur l'activité de copolymérisation et le taux de NB dans le copolymère [16].	43
Figure 4: Effet de la température de synthèse sur la masse molaire du copolymère obtenu [16].	44
Figure 5: Microstructure de l'ENC en fonction du catalyseur utilisé d'après [9].	45
Figure 6: Evolution de la température de transition vitreuse avec le taux de norbornène dans le copolymère COC [17].	46
Figure 7: Absence d'une relation linéaire entre la T_g et le taux de norbornène pour des COC possédant des microstructures différentes [33].	47
Figure 8: Pourcentage de cristallinité (●) de copolymères éthylène-norbornène contenant moins de 14 % molaire de norbornène. (◻)Température de cristallisation (°C) et (◼) Température de fusion (°C). Le calcul a été effectué à partir de mesures en AED [27].	48
Figure 9: cartouches, seringues pré-remplies et flacons à base de COC.....	49
Figure 10: Blister à base de COC pour le conditionnement pharmaceutique	50
Figure 11: Système Plexis™ : mélangeur et seringue pour la délivrance de ciment osseux. 51	
Figure 12 : Système TAH's MiniMix™ : mélangeur de colles dentaires.....	51
Figure 13 : Applications analytiques et diagnostiques du COC (tubes pour diagnostic et test clinique, dispositifs de microfluidics)	52
Figure 14 : Les différents niveaux de l'évaluation de la compatibilité d'un conditionnement primaire avec une formulation pharmaceutique d'après [48]	57
Figure 15 : Isotherme de Langmuir « modèle » d'un équilibre d'adsorption de l'insuline au contact d'un polymère. En ordonnée : surface de la couche mono moléculaire Σ (ou quantité adsorbée) en fonction de la concentration du soluté en unité par mL, à différentes températures [90].	64
Figure 16 : Influence de la température sur l'adsorption de l'insuline [85].....	67

Figure 17 : Profils de concentration (% restant par rapport à la concentration initiale) à 25°C de l'Irganox 1010 [®] et Irgafos 168 [®] dans différentes matrices poly oléfines stockées dans un mélange d'huiles en fonction du temps : (□) EP, (×) RACO, (○) PP, and (Δ) HDPE	69
Figure 18 : Concentration de DEHP ayant migré d'une poche de perfusion en PVC dans des solutions à base de quinine (500 mg de Quiniforme, 400 mg de Quinimax) [106].	72
Figure 19 : Quantité d'acide hydroxyhexanoïque ayant migré à partir du PVC plastifié par le PCL-PC après stockage dans l'eau à (a) 37 et 70 °C et (b) 37, 70 et 100 °C [107].....	74
Figure 20 : Structure chimique de l'oxyde d'éthylène.....	83
Figure 21: Mécanismes d'oxydation des polymères (P) [141].	92
Figure 22 : les différentes formes de COC utilisées dans l'étude (plaques, films, granulés). 101	
Figure 23: Figure de l'échantillon coupé par microtome pour l'analyse par microscopie IRTF.	106
Figure 24: Principe de la microscopie à force atomique [151].	110
Figure 25 : Angle de contact (θ) d'un solvant apolaire (a) et polaire (b) sur la surface du COC.	113
Figure 26 : Evolution de la concentration en Irganox 1010 [®] dans le COC (granulés) en fonction de la dose d'irradiation (n=3).....	122
Figure 27: Schéma de la dégradation de l'Irganox 1010 [®] d'après [152]	123
Figure 28 : Spectre IRTF/Transmission des films de COC (S) non irradiés et irradiés à 25,75, et 150 kGy.	124
Figure 29: Soustractions des spectres de films de COC irradié à des différentes doses du spectre initial.	125
Figure 30 : Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les trois types de COC. Analyse en IRTF/Transmission.	126
Figure 31 : Superposition des chromatogrammes de CES des trois grades de granules de COC (S, D et T) avant et après irradiation - Détecteur réfractométrique (DRI) (a, c, et e) et laser au petit angle, LALS, (15°) (b, d, et f).	128
Figure 32: Diagrammes de Mark-Houwink des granules de COC non irradiés a) S, b) D et c) T	133
Figure 33 : (a, c, e) Chromatogrammes par CES de l'extrait obtenu par dissolution précipitation (DP) des granules deCOC de type S, D et T respectivement à différentes doses	

d'irradiation. (b, d, f). Comparaison de la distribution du polymère (granules) non irradié dissout dans le toluène avec celle du polymère obtenu dans l'extrait (DP).....	137
Figure 34 : Chromatogrammes CLHP des extraits de granules de COC S non irradié et irradié à 25, 75 et 150 kGy. La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes réglé aux longueurs d'ondes de a) 280nm (pour le groupement phénol) b) 263nm (pour les noyaux aromatiques sans hétéroatome).	139
Figure 35 : Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la dose d'irradiation pour les trois grades de COC granules (S, D et T) (n=3).	141
Figure 36: Paramètres géométriques de la norme « ligne moyenne».	145
Figure 37 : Comparaison de l'image tridimensionnelle de la surface du film spincoaté type S extrait (a) non irradié et (b) irradié à 150 kGy.	146
Figure 38: a) Image optique du film de COC, b) Image AFM 100x100 μm^2 et c) section correspondant à la ligne noire sur l'image AFM.....	147
Figure 39: Comparaison de la topographie des films type S extrudés non irradiés (a) et irradiés à 150 kGy (b). Vues en 2D (1) et 3D (2).....	148
Figure 40 : Image en contraste de phase ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$) pour le film type S irradié à 150 kGy montrant la présence de deux phases distinctes.	149
Figure 41 : Spectre IRTF/RTA des COC non irradiés lubrifiés (D) et non lubrifiés (S) (granules et film)	151
Figure 42 : Spectre IRTF/RTA du BES et du lubrifiant recouvrant le COC de type D.....	152
Figure 43 : Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les trois types de COC. Analyse par IRTF/RTA	152
Figure 44 : Profil d'intensité de la bande C=O sur une ligne. L'intensité de cette bande a été normalisée avec la bande à 3405 cm^{-1} du polymère type S analysé en microscopie IRTF/Transmission pour l'échantillon irradié à 150 kGy. La bande à 3405 cm^{-1} représente une bande de COC qui n'était pas modifiée après irradiation. L'origine de la ligne a été prise au centre de l'échantillon découpé, soit à $1400 \mu\text{m}$ de la surface.....	153
Figure 45: Spectre de survol du film COC de type S irradié à 150 kGy.....	155
Figure 46: Bandes C1s des films COC type S irradiés et non irradiés (a) et O1s de film COC irradié à 150 kGy (b). L'intensité des différentes bandes a été normalisée.	157
Figure 47: a) Déplacement de plasmon et b) bandes C_{KLL} dans le cas du film de COC type S irradié à différentes doses, aux électrons accélérés.....	160

Figure 48: Bandes de valence pour le film du COC type S irradié à différentes doses	161
Figure 49 : Angles de contact sur (a) une surface lisse, (b) une surface rugueuse.....	163
<i>Figure 50 : Schéma de la première étape du mouillage d'un liquide sur une surface.</i>	<i>163</i>
Figure 51 : Phénomène de « stick-slide » observé dans le cas de l'eau [197].	164
<i>Figure 52 : Evolution des angles de contact sur le film de COC type S spincoaté pour les solvants peu volatils.</i>	<i>165</i>
Figure 53 : Evolution des angles de contact sur le film de COC type S spincoaté pour le diiodométhane	166
Figure 54 : Evolution des angles de contact sur le film de COC type S spincoaté pour l'eau.	167
Figure 55: Cinétiques de l'angle de contact de 4 solvants (eau, éthylène glycol, glycérol et diiodométhane avec les films COC de type S irradiés aux différentes doses.	169
Figure 56: Evolution des angles de contact de l'eau, du glycérol, de l'éthylène glycol et du diiodométhane obtenus avec les films COC en fonction de la dose d'irradiation. S : film spincoaté, S NA : film spincoaté sans antioxydant et C : film commercial extrudé irradié et vieilli 1 an à température ambiante.	171
Figure 57 : Angle de contact avec une surface rugueuse : a) effet Cassie ou Fakir b) effet Wenzel [207].	173
Figure 58: Evolution de l'angle de contact de l'éthylène glycol avec les films de COC type S non vieillis, vieillis 1 an à température ambiante et vieillis 1 mois à 50 °C.....	174
Figure 59: Chromatogrammes d'exclusion stérique de granules de COC type S témoin et vieilli 9, 15 et 31 mois à température ambiante. Signal du détecteur réfractométrique (a) et LASER/RALS (b). (L'absence du signal laser du témoin est due au fait que nous n'avons pas de détecteur laser lors de l'analyse du témoin).	180
Figure 60: Chromatogrammes d'exclusion stérique de granules de COC type S témoin et de ceux ayant subi un vieillissement accéléré. Signal du détecteur réfractométrique.	181
Figure 61: Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la dose d'irradiation pour les trois types de granules de COC après vieillissement post-irradiation..	182
Figure 62 : Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les trois COC (S, D, T) et les différentes conditions de vieillissement. Analyse réalisée en transmission sur les films.	184

Figure 63: Evolution de l'indice d'oxydation pour les films COC non irradiés pour les différentes conditions de vieillissement.	184
Figure 64: Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les films de COC (S, D, T) et les différentes conditions de vieillissement. Analyse réalisée en mode RTA.	186
Figure 65 : Pourcentage de diazépam présent sur et/ou dans le film de PVC après stockage de 1 à 48 heures.....	192
Figure 66: Pourcentage de diazépam présent dans la solution de désorption (a) dans le film de PVC après un stockage de 48 heures (b) et désorption aux ultrasons.....	193
Figure 67: Pourcentage de diazépam restant dans la solution en fonction du temps de stockage pour des stockages réalisés en présence de films COC type S et de PVC plastifié.	194
Figure 68: Pourcentage de diazépam dans la solution de mise en contact pour des films de COC type S irradiés à différentes doses.....	196
Figure 69: Pourcentage de chlorpromazine restant dans la solution après stockage avec les films de COC type S en comparaison avec le PVC.	197
Figure 70: Effet de la stérilisation sur le pourcentage de chlorpromazine dans la solution après stockage avec les films de COC type S.....	198
Figure 71: Chromatogramme des migrants issus de la mise en contact du film de COC de type S. Le stockage a été réalisé pendant 1 mois à 50°C.	199
Figure 72 : Migration globale obtenue après stockage des trois grades de granules de COC pendant 1 mois à 50 °C dans trois solvants de polarités différentes (pentanol, méthanol, eau dont les polarités respectives sont 0.568, 0.762 et 1).....	201
Figure 73 : Migration globale obtenue après stockage des trois grades de COC granulés pendant 3 mois à 50 °C dans trois solvants de polarités différentes (pentanol, méthanol, eau dont les polarités respectives sont 0.568, 0.762 et 1).....	203
Figure 74: Chromatogrammes CLHP des migrants détectés après la mise en contact des granules de COC de type S non irradié avec les 3 solvants. Stockage réalisé pendant 1 mois à 50 °C. Comparaison avec l'extrait obtenu par dissolution- précipitation (DP) des granules de COC non irradié. Détection réalisée par un détecteur à barette de diodes réglé à (a) 280 nm et (b) 263 nm.	204
Figure 75: Chromatogrammes RP-CLHP des migrants détectés après la mise en contact des granules de COC de type S irradié à 25 kGy avec les 3 solvants. Stockage réalisé pendant 1	

mois à 50 °C. Comparaison avec l'extrait obtenu par dissolution–précipitation (DP) des granules de COC type S irradié à 25 kGy. Détection réalisée par un détecteur à barette de diodes réglé à (a) 280 nm et (b) 263 nm.	205
Figure 76: Spectre UV correspondant au composé 7* (figure74) contenu dans les solutions de mise en stockage avec l'eau et le méthanol et au composé 7 (figure 75) mis en évidence dans l'extrait obtenu par dissolution-précipitation (DP) des granules de COC.	207
Figure 77: Spectre UV correspondant au composé 9* (figure 75) à 25 minutes contenu dans les solutions de mise en stockage avec le pentanol, au composé 9 mis en évidence dans l'extrait obtenu par dissolution-précipitation (DP) des granules de COC et à l'Irganox.....	208
Figure 78 : Cytotoxicité des antioxydants à l'état soluble évaluée avec le test de MTT après 48h d'incubation avec les cellules endothéliales (moyen ± SD, n=6)	210
Figure 79 : Cytotoxicité de l'Irganox 1010 à l'état solide évaluée avec le test de MTT après 48h d'incubation avec les cellules endothéliales (moyen ± SD, n=6)	211
Figure 80 : Cytotoxicité des extraits solubles obtenus par DP des granules de COC évaluée avec le test de MTT après 48h d'incubation avec les cellules endothéliales (moyen ± SD, n=6)	211
Figure 81 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec les antioxydants à l'état soluble. (a : Contrôle, b : Irganox1010, c : BHT).....	212
Figure 82 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec l'Irganox 1010® à l'état solide (a,b,c,d,e,f correspondant respectivement à 0, 10, 100, 500, 1000 et 5000 µg d'antioxydant /puits)	213
Figure 83 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec le BHT (a, b, c, d, e, f correspondant respectivement à 0, 10, 100, 500, 1000 et 5000 µg d'antioxydant /puits)	214
Figure 84 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec l'extrait obtenu par DP des granules de COC (a : S 0KGy, b : S 25KGy, c : T 0KGy, d : T 25KGy).....	215
Figure 85 : schéma du principe de la chromatographie d'exclusion stérique [149].....	227
Figure 86: Courbe d'étalonnage de l'Irganox 1010®.	230
Figure 87: Chromatogrammes RP-CLHP des extraits des granules de COC D non irradié et irradiés à 25, 75 et 150 kGy. La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes réglé aux longueurs d'ondes de a) 280nm b) 263nm	237

Figure 88: Chromatogrammes RP-CLHP des extraits des granules de COC T non irradié et irradiés à 25, 75 et 150 kGy. La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes réglé aux longueurs d'ondes de a) 280nm b) 263nm	238
Figure 89: Courbe d'étalonnage du diazépam dans le NaCl.	239
Figure 90: Courbe d'étalonnage du diazépam dans le THF et le PVC.	241

Liste des Tableaux

Tableau 1 : matières plastiques les plus utilisées dans les domaines pharmaceutique et médical.	39
Tableau 2 : Les principaux grades de Topas® COC.....	53
Tableau 3: Les différents grades de COC, leurs caractéristiques et les analyses réalisées sur les différentes formes.....	102
Tableau 4: Caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés pour l'étude de mouillabilité.	114
Tableau 5: Déconvolution de la bande C=O de films de COC irradié à 150 kGy.	126
Tableau 6: Masses molaires moyennes et distribution des masses molaires des trois grades de COC granulés avant et après irradiation aux électrons accélérés.....	130
Tableau 7 : Paramètres de Mark-Houwink des trois grades de COC granules.....	132
Tableau 8: Paramètres de rugosité pour une surface (2x2µm ²) du film type S non irradié et irradié à 150 kGy.....	147
Tableau 9: Augmentation de la surface générée par la rugosité pour les films COC type S spincoatés et extrudés avant et après irradiation à 150 kGy.....	150
Tableau 10: Pourcentage d'oxygène atomique en surface du film de COC type S en fonction de la dose.....	155
Tableau 11: Déconvolution de la bande O1s pour le film COC type S non irradié et irradié à 150 kGy. Energies E, largeur à mi-hauteur FWHM et contribution en %	158
Tableau 12 : Comparaison de l'angle de contact pour les films de COC type S extrudés (fraîchement irradié et après vieillissement) et spincoatés (avec et sans antioxydant). n.m signifie « non mesuré ».	168
Tableau 13: Description du gradient d'éluion.....	229
Tableau 14: Gamme d'étalonnage de l'Irganox 1010®.....	230
Tableau 15: Calcul de la teneur en Irganox 1010® dans les différents grades de granules de COC.....	232
Tableau 16: Stabilité du diazépam pendant 48 heures.	235
Tableau 17: Stabilité de la chlorpromazine pendant 48 heures(les valeurs obtenues sont celles d'absorbance (UA).	236
Tableau 18: Gamme d'étalonnage du diazépam.....	239

Tableau 19: Pourcentage de diazépam restant dans la solution après stockage 48 heures avec le PVC.	240
<i>Tableau 20 : Gamme d'étalonnage du diazépam dans le THF et le PVC.</i>	241
Tableau 21: Pourcentage de diazépam présent dans le film PVC après stockage 48 heures (cas du film PVC dissout dans 10 mL de THF).....	242
Tableau 22 : Pourcentage de diazépam présent dans le film PVC après stockage 48 heures (cas du film PVC solide).	242

Liste des Abréviations

ACN	Acétonitrile
AED	Analyse enthalpique différentielle
AFM	Microscopie à force atomique
ATBC	Acétyltributyle citrate
BES	N, N'- bis éthylène stéramide
BHT	Hydroxy butyle toluène
CES	Chromatographie d'exclusion stérique
CFMM	Composés de faible masse molaire
COC	Copolymères à base d'oléfines cycliques
COP	Polymères à base d'oléfines cycliques
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DEHP	di-(2-éthylhexyl) phtalate
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DP	Dissolution précipitation
DRI	Détecteur Réfractométrie
EG	Ethylène glycol
EMA	Agence européenne des médicaments
ENC	Copolymères éthylène/norbornène
EP	Copolymères d'éthylène-propylène
EVA	Ethylène vinyle acétate
FWHM	Largeur à mi-hauteur
HDPE (PEHD)	Polyéthylène haute densité
HDT	Température de fléchissement
HUV-EC-C	lignée cellulaire endothéliale de veine ombilicale humaine
ICH	Conférence International d'Harmonisation
IRTF	Infra Rouge à Transformée de Fourier

LALS	Détecteur LASER au petit angle (15°)
LASER	Détecteur de diffusion de la lumière laser
LDPE (PEBD)	Polyéthylène basse densité
LLDPE	Polyéthylène linéaire basse-densité
MAO	Méthylaluminoxane
MTT	3-[4,5-diméthylthiazol-2yl]-2,5-diphényltétrazolium bromide
NB	Norbornène
PA	Polyamide
PC	Polycarbonate
PCL-PC	Polycaprolactone-polycarbonate
PE	Polyéthylène
PET	Poly (téréphtalate d'éthylène)
PMMA	Poly-méthacrylate de méthyle
PP	Polypropylène
PS	Polystyrène
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
PU	Polyuréthane
PVC	Poly chlorure de vinyle
RACO	Copolymère aléatoire éthylène-co-propylène
RALS	Détecteur LASER au grand angle (90°)
RI	Rayonnement Ionisants
RP-CLHP	Chromatographie liquide haute performance à polarité de phase inversée
RPE	Résonance Paramagnétique électronique
RTA	Réflexion totale atténuée
SPX	Spectroscopie de photoélectrons X
T	Température
T_g	Température de transition vitreuse

THF	Tétrahydrofurane
UV	Spectroscopie Ultraviolet

Introduction

Les matières plastiques possèdent une grande diversité de propriétés physico-chimiques et mécaniques qui leur confèrent une grande adaptabilité à la plupart des applications pharmaceutiques et médicales, soit en tant que conditionnements de produits pharmaceutiques soit en tant que dispositifs médicaux. Parmi les matières plastiques les plus répandues en termes de fréquence d'utilisation dans ces domaines, on peut notamment citer les polyesters, les polyvinyliques (comme les polyacrylates et les polyoléfiniques) et les polyuréthanes. Bien que ces matériaux soient couramment utilisés et pour certains d'entre eux décrits dans des monographies de la Pharmacopée Européenne et Américaine, des problèmes liés à leur utilisation dans le domaine médical ont été déjà rencontrés, comme, par exemple, la migration du plastifiant contenu dans le poly chlorure de vinyle (PVC) vers des solutions médicamenteuses, l'adsorption et l'absorption de certains principes actifs dans des poches à base de PVC ou encore l'oxydation des prothèses à base de polyéthylène liée à leur stérilisation et à leur vieillissement dans le milieu biologique. C'est l'une des raisons pour lesquelles les recherches et les développements menés dans le domaine des polymères ne cessent d'apporter des solutions innovantes relatives aux contraintes d'usage des matières plastiques dans les domaines de la santé.

Ainsi, de nouvelles matières plastiques, comme par exemple les copolymères à base d'oléfiniques cycliques (COC), se révèlent très intéressantes pour diverses applications dans le domaine de la santé. En effet, les copolymères à base d'oléfiniques cycliques (COC) sont des matériaux relativement récents, qui possèdent des propriétés physico-chimiques avantageuses comme leur pureté, leur transparence comparable à celle de verre, leur rigidité, leur résistance à la chaleur et aux agents chimiques, ainsi que leur faible perméabilité aux gaz et à l'eau. Toutes ces caractéristiques font des copolymères à base d'oléfiniques cycliques, des matériaux prometteurs pour de nombreuses applications, dont le conditionnement des produits pharmaceutiques injectables et la fabrication de seringues.

Cependant, comme toutes les matières plastiques qui sont destinées à être en contact avec des produits pharmaceutiques ou des milieux biologiques, les copolymères à base d'oléfiniques cycliques doivent faire l'objet d'un procédé de stérilisation afin d'éviter tout risque infectieux. L'une des méthodes préconisées est la stérilisation aux électrons accélérés qui, grâce à sa fiabilité, son adaptabilité, son pouvoir pénétrant et son faible coût, se présente comme une méthode alternative de choix par rapport aux autres techniques de stérilisation comme

l'autoclavage. Cette dernière peut en effet induire une dégradation ou une déformation du matériau en raison de la chaleur générée.

Toutefois, les radicaux libres créés dans les matériaux lors de la stérilisation aux électrons accélérés peuvent entraîner des réactions en cascade et contribuer à la scission, au branchement et à la réticulation des chaînes du polymère. Ces modifications des chaînes peuvent entraîner des changements de propriétés mécaniques des matériaux ainsi que de leurs propriétés de surface. De plus, la scission de chaînes de polymère peut conduire à la création de composés de faible masse molaire (CFMM), qui constituent des migrants potentiels, susceptibles de diffuser depuis le cœur de la matrice polymère vers sa surface et de migrer dans les solutions en contact. De telles modifications du volume et de la surface du matériau risquent donc d'impacter la compatibilité du couple médicament/matériau, compatibilité qui est un critère de sécurité important exigé par les autorités réglementaires.

De plus, la dégradation du polymère peut se poursuivre après l'irradiation : les radicaux libres qui sont piégés dans la matrice peuvent interagir avec l'oxygène de l'air et contribuer ainsi à l'oxydation du polymère et à son vieillissement. Ce vieillissement constitue donc aussi un risque et doit donc être caractérisé.

Le travail mené dans cette thèse concerne l'effet de la stérilisation par les électrons accélérés sur des copolymères à base d'oléfines cycliques et les conséquences de ce traitement sur leurs interactions éventuelles avec des principes actifs pharmaceutiques. Il s'agit ainsi d'étudier un nouveau matériau destiné à être utilisé dans les domaines de la santé et dont le comportement vis-à-vis de la stérilisation par les électrons accélérés a été très peu étudié.

Ainsi, l'objectif de ce travail est, dans un premier temps, de mettre en évidence les modifications des copolymères à base d'oléfines cycliques après stérilisation par les électrons accélérés, dans le volume et en surface, ainsi qu'après un vieillissement post-irradiation, puis, dans un deuxième temps, d'évaluer les migrants potentiels issus de la mise en contact de ces matériaux avec des solutions de polarités différentes et de caractériser les interactions de ces matériaux avec des solutions de principes actifs pharmaceutiques.

Le travail présenté s'articule ainsi en deux parties :

La première partie est une revue bibliographique dans laquelle nous présenterons le contexte général de cette étude en décrivant l'utilisation des matières plastiques dans le domaine

pharmaceutique et médical, et en nous intéressant plus particulièrement aux copolymères à base d'oléfines cycliques. La structure et les propriétés des COC ainsi que leurs applications et les aspects réglementaires relatifs à leur utilisation seront évoqués. Nous détaillerons ensuite les différents phénomènes d'interaction médicaments/matériau en insistant sur leur origine, sur les facteurs qui les influencent mais aussi sur les mécanismes qui les régissent. A la fin de cette partie, nous présenterons les différentes techniques de stérilisation des polymères en détaillant les rayonnements ionisants dont la stérilisation par les électrons accélérés.

La deuxième partie de ce manuscrit sera consacrée à l'étude expérimentale ; après avoir décrit la méthodologie analytique adoptée pour réaliser nos objectifs, nous nous intéresserons tout d'abord à la caractérisation des COC dans le volume et en surface après stérilisation par les électrons accélérés, avant d'évoquer leur vieillissement à long terme. Enfin, nous nous intéresserons à l'étude de la migration des CFMM contenus dans les COC ainsi qu'à l'étude des interactions avec deux principes actifs largement utilisés dans le domaine des formulations injectables. Une étude préliminaire de toxicité des migrants potentiels sera également abordée.

Nous conclurons ce mémoire en reprenant les principaux résultats obtenus et en proposant nos perspectives pour la suite de ce projet.

1^{ère} partie : Partie Bibliographique

Chapitre I : Les polymères dans l'industrie pharmaceutique et médicale

I.1 Utilisation des matières plastiques pour l'élaboration de dispositifs médicaux ou de conditionnements pharmaceutiques.

I.1.1 Introduction

Les matières plastiques ont pris une place considérable dans tous les domaines de l'activité humaine, industrielle et commerciale et font partie intégrante de notre environnement.

Les techniques pharmaceutiques et médico-chirurgicales bénéficient elles aussi du développement des matières plastiques. En effet, ces dernières sont devenues indispensables tant pour la fabrication des conditionnements pharmaceutiques que pour celle des dispositifs médicaux tels que les sondes, les prothèses.... Ces applications exigent du matériau des qualités physiques, chimiques et biologiques définies et adaptées à leur emploi.

Dans cette partie, nous allons décrire dans un premier temps quelles sont les qualités des matières plastiques qui sont avantageuses pour les applications pharmaceutiques et médicales puis, dans un deuxième temps, nous allons citer les matières les plus utilisées dans ces domaines en évoquant plus précisément les polymères de type cyclo oléfines.

I.1.2 Les qualités des polymères

Les qualités les plus appréciées des matières plastiques peuvent être classées en trois catégories [1]:

- Leurs propriétés physiques, mécaniques, chimiques, biologiques, qui sont des qualités intrinsèques. On peut notamment citer leur faible densité, leur transparence ou translucidité. Par ailleurs, selon les polymères (nature chimique, masse et structure des chaînes), il est possible d'avoir des matériaux de rigidité variée (souple ou rigide) qui peuvent résister aux chocs, aux agents chimiques, aux rayonnements ionisants et présentant une bonne compatibilité avec différents milieux.
- Leur aptitude à être mises en œuvre, notamment leur facilité de transformation et d'assemblage.

- Leur aptitude à pouvoir être identifiées et contrôlées, ce qui permet d'établir une standardisation et une réglementation. En effet, dans ce cadre, les pharmacopées internationales et européenne [2] rédigent et publient des monographies sur les matières plastiques destinées aux usages pharmaceutiques et médicaux, comportant des essais spécifiques d'identification et généraux de contrôle. Ainsi de nombreux matériaux sont concernés par ces normes. Cependant, en raison de leur grande variété et de l'élaboration continue de nouveaux matériaux innovants et de nouvelles applications, toutes les matières plastiques ne sont pas inscrites dans les Pharmacopées. Dans ce cas, l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) publie des directives (guidelines) spécifiques les concernant comme par exemple la directive (CPMP/QWP/4359/03 et EMEA/CVMP/205/04) qui concerne les matériaux plastiques utilisés pour la première fois ou pour nouvelle application en tant que conditionnement primaire.

I.1.3 Principaux polymères - Applications médicales et pharmaceutiques

Comme nous l'avons mentionné précédemment les matières plastiques utilisées dans les domaines pharmaceutiques et médicaux sont nombreuses. Le Tableau 1 regroupe celles qui sont les plus souvent employées dans ces domaines [1].

Cependant, grâce au développement et à l'innovation dans le domaine des polymères, de nouveaux matériaux plastiques se montrent intéressants pour ces applications. Parmi ces matériaux, on peut notamment citer les copolymères d'oléfines cycliques qui font l'objet de notre étude et sur lesquels nous allons nous focaliser dans les paragraphes suivants.

Matière plastique	Application pharmaceutique et médicale	Dispositifs médicaux
PVC (polychlorure de vinyle) plastifié	Récipients pour le sang, les produits du sang et les solutions aqueuses pour perfusion intraveineuse, blisters	Tube pour les perfuseurs, tubulures de circulation extracorporelle, sondes trachéales, digestives ou respiratoires
PE (polyéthylène) et PP (polypropylène)	Sachets de conditionnement stériles, récipients de solutions aqueuses pour perfusion	Cathéters, pistons et corps de seringues, protecteurs d'aiguilles et d'embouts, sutures chirurgicales
PA (polyamide)	Films pour emballage	Cathéters intracardiaques, sondes urétérales, sutures chirurgicales, filtres à sang, embase et embouts de perfuseurs.
PS (polystyrène)	-	Chambres compte-gouttes, chambres de débullage
PMMA (poly-méthacrylate de méthyle)	-	Lentilles de contact, prothèses dentaires
PET (poly téréphtalate d'éthylène)	Films d'emballage, flacons	Fils de sutures chirurgicales, prothèses vasculaires tricotées
PU (polyuréthane)	-	Cathéters, sondes vésicales et urétérales, pansements autocollants transparents

Tableau 1 : matières plastiques les plus utilisées dans les domaines pharmaceutique et médical.

I.2 Polymères à base d'oléfine cyclique (COP)

I.2.1 Introduction

L'utilisation dans les domaines pharmaceutique et médical des polymères à base d'oléfine cyclique (COP) est relativement récente. Les références bibliographiques concernant la synthèse des COP remontent aux années 50 via les catalyseurs Ziegler Natta [3], mais leur histoire plus récente débute en 1983 avec le développement de polymères à base de norbornène mené par Yamazaki et al. de la société ZEON au Japon [4], puis avec la mise au

point du procédé de synthèse utilisant les catalyseurs métallocènes par Kaminsky et al. en 1989 [5, 6].

Depuis, la synthèse des COP a été au centre de nombreux travaux de recherche [7-14]. En effet, les COP se sont révélés être des matériaux très intéressants et occupent une place importante dans de nombreux domaines : l'optique avec les lentilles oculaires, les équipements médicaux et de diagnostic avec par exemple les boîtes de Pétri, les pipettes et les seringues, les conditionnements alimentaires et pharmaceutiques, le domaine électrique etc....Ceci est dû au fait que ces matériaux combinent plusieurs propriétés importantes comme la pureté, la transparence, la rigidité, une température de transition vitreuse élevée, et une faible perméabilité à l'eau et aux gaz. La diversité de ces propriétés résulte notamment de leur structure chimique qui est caractérisée par la présence de groupements de type oléfine cyclique.

Les polymères cyclo oléfines sont actuellement produits par Mitsui Chemical Co. (Japon), Topas advanced polymers (Ticona/Celanese initialement) (cf I.2.4) (Japon), Japan Synthetic Rubber (Japon) et Zeon Chemicals Co (Japon) respectivement sous les noms de APEL[®], TOPAS[®], ARTON[®], Zeonex et Zeonor.

I.2.2 Principales voies de synthèse, structures et propriétés

Il existe différents types de polymères à base d'oléfines cycliques selon le type de monomère cyclique utilisé et la méthode de polymérisation choisie pour la synthèse.

En général, les COP sont synthétisés par l'une des deux méthodes suivantes (Figure 1) [15]:

- une copolymérisation de monomères cycliques comme par exemple le 8, 9, 10-trinorborn-2-ène (norbornène) ou le 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 8, 8a-octa-hydro-1,4 :5,8-diméthanonaphthalène (tétracyclododécène) avec l'éthène. Cette copolymérisation conduit à la synthèse de matériaux de type TOPAS[®] et APEL[®]. Les polymères résultant de cette voie de synthèse sont appelés copolymères d'oléfines cycliques (COC).
- une polymérisation par ouverture de cycle de différents monomères cycliques suivie d'une hydrogénation conduit à la synthèse des matériaux de type ARTON[®], Zeonex[®] et Zeonor[®].

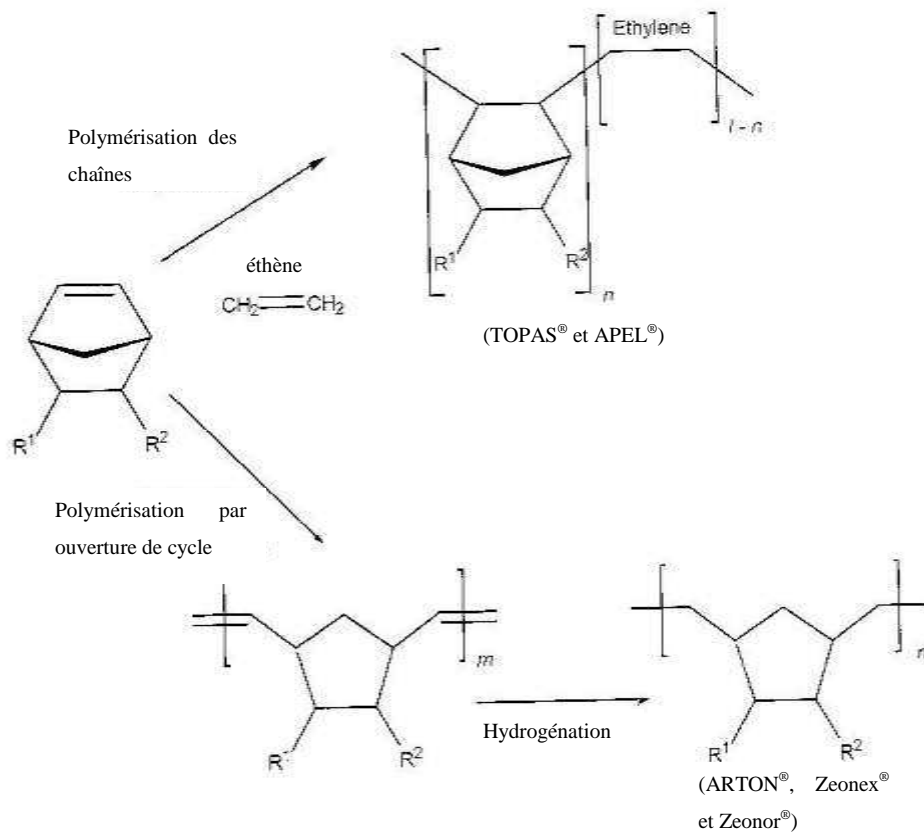


Figure 1: Schéma de polymérisation des oléfines cycliques d'après [15].

Parmi les différents COC, les copolymères éthylène/norbornène (ENC) sont les matériaux les plus prometteurs en termes d'application et donc les plus étudiés dans la littérature. Les études menées sur ces matériaux concernent tout autant la copolymérisation de l'éthylène et du norbornène à l'aide de différents types de catalyseurs métallocènes, que la relation entre leur structure et leurs propriétés. En effet, certaines propriétés importantes des ENC, telles que leur température de transition vitreuse (T_g) et leur cristallinité, sont influencées par leur structure. Mais avant d'aborder la relation structure-propriétés de l'ENC, nous allons tout d'abord évoquer sa structure et plus précisément les facteurs dont elle dépend.

La structure de l'ENC est caractérisée, non seulement par la composition molaire en norbornène et en éthylène, mais aussi par la distribution des monomères le long de la chaîne du copolymère et donc par les différents enchaînements possibles. En effet, la copolymérisation de l'éthylène et du norbornène peut produire des copolymères avec différents types de séquences : des séquences alternées (ENENE) ou des séquences aléatoires

en blocs (EENEE, ENNE ou ENNNE). La Figure 2 donne quelques exemples d'enchaînements pouvant exister au sein des copolymères ENC [9].

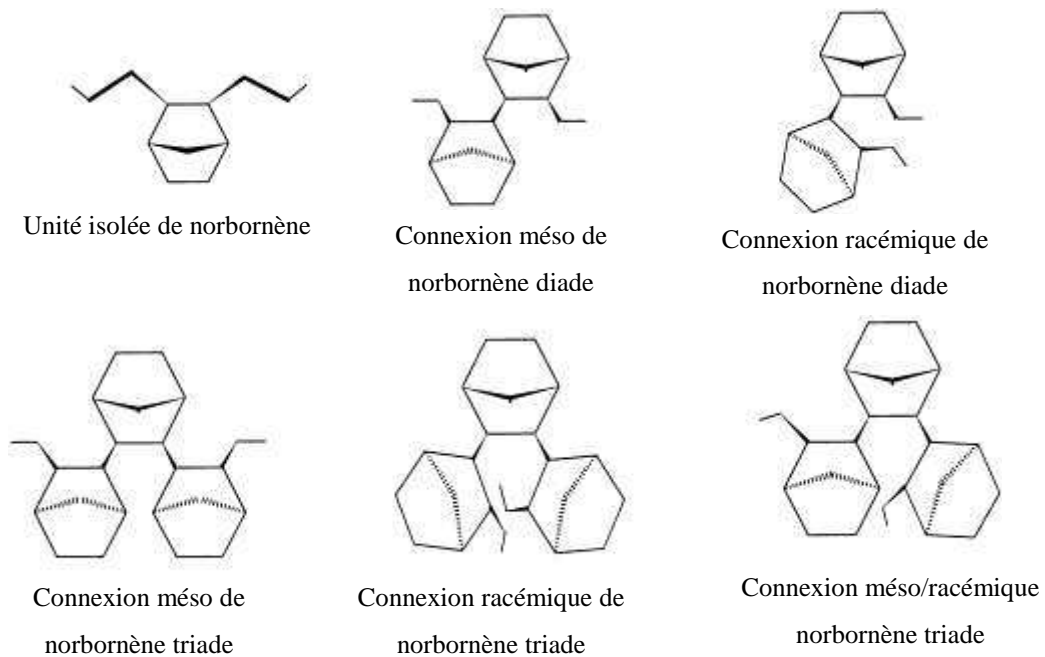


Figure 2: Exemples des séquences possibles de norbornène dans un copolymère éthylène/norbornène (ENC) d'après [9]

En général, la structure de l'ENC dépend d'une part des conditions de la copolymérisation et d'autre part, de la structure du catalyseur utilisé. Parmi les différents facteurs influençant la structure de l'ENC, on peut notamment citer :

- le rapport norbornène/éthylène (NB/E):

Il représente le rapport de la concentration de chaque monomère dans la solution initiale. Ce paramètre influence le taux molaire de norbornène (NB%) dans le copolymère final et la microstructure de ce dernier.

Selon Yao et al. [16], le taux de NB dans le copolymère final augmente avec le rapport NB/E. Cependant, pour des rapports NB/E élevés (supérieurs à 20), l'insertion de NB diminue (Figure 3).

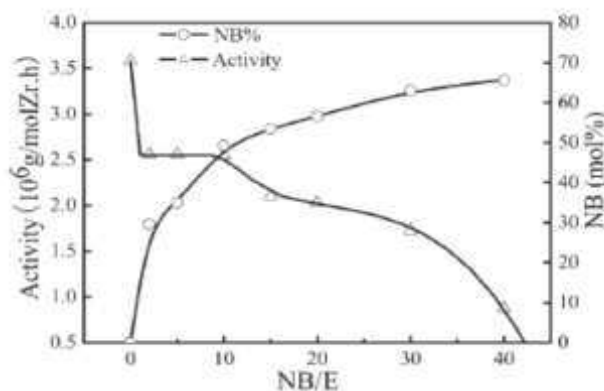


Figure 3: Effet du rapport NB/E sur l'activité de copolymérisation et le taux de NB dans le copolymère [16].

Un résultat similaire a été rapporté par Ruchatz et al. [8]. Ces auteurs ont montré qu'à une concentration élevée de norbornène (7.4 mol. L^{-1}), le nombre de terminaisons des chaînes contenant du norbornène domine, ce qui résulte en une diminution du taux d'insertion du norbornène. Ceci est dû à l'encombrement stérique du norbornène, qui peut aussi expliquer l'importance du rapport NB/E sur la microstructure de l'ENC. Selon Rische et al. [17], les copolymères qui ont un taux de norbornène inférieur à 50 % molaire présentent une stéréorégularité des chaînes importante et contiennent surtout des blocs de polyéthylène et des séquences où l'éthylène et le norbornène sont alternés. En revanche, les matériaux contenant plus de 50 % molaire de norbornène ont une stéréorégularité relativement faible avec des séquences de nature aléatoire contenant des blocs de norbornène dont la longueur est variable.

- La température de la polymérisation :

La température de polymérisation influence l'activité du catalyseur, le taux de norbornène incorporé ainsi que la masse molaire des copolymères synthétisés.

L'activité du catalyseur et la vitesse de polymérisation augmentent avec la température de polymérisation. Inversement, l'incorporation de norbornène dans le polymère diminue pour des températures supérieures à $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Cela peut s'expliquer d'une part, par la décomposition du catalyseur à de telles températures et d'autre part, par la diminution de l'activité du norbornène [14, 16]. De même, la masse molaire du copolymère obtenu diminue avec la température de polymérisation (Figure 4).

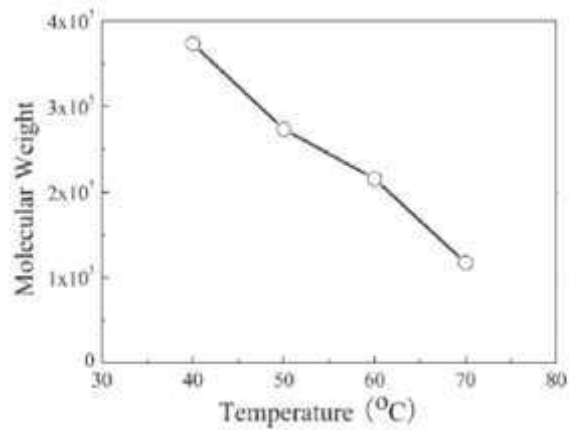


Figure 4: Effet de la température de synthèse sur la masse molaire du copolymère obtenu [16].

- La structure du catalyseur utilisé :

Parmi les différents catalyseurs utilisés pour la copolymérisation de l'éthylène et du norbornène, on peut citer les catalyseurs métallocènes et les catalyseurs demi-sandwichs. Le méthylaluminoxane (MAO) est utilisé comme co-catalyseur [18, 19]. La microstructure de l'ENC dépend de la nature et de la géométrie du catalyseur utilisé lors de la synthèse. Ce point a été largement abordé dans la littérature [8-10, 12, 13, 16, 20-27].

En général, les copolymères présentant un taux élevé de norbornène (> 50 % molaire) sont obtenus avec des catalyseurs qui comprennent dans leur structure des ligands peu encombrants, à l'exception des catalyseurs demi-sandwich, qui, bien que leur structure favorise l'accessibilité au centre d'activité, conduisent à la formation de copolymères contenant moins de 50 % de norbornène. Ceci peut être expliqué par l'absence d'activité de ces catalyseurs dans le cas de l'homopolymérisation du norbornène. Ruchatz et al. [9] ont classé les catalyseurs selon la microstructure de l'ENC obtenue, ce qui a permis de définir trois groupes principaux (Figure 5):

- Les catalyseurs dits de polymérisation alternée : ce sont des catalyseurs métallocènes substitués avec des groupes encombrants (symétrie C_1) [13, 20, 27] ou des catalyseurs demi-sandwich [21]. N'étant pas actifs pour l'homopolymérisation du norbornène, ces catalyseurs permettent d'obtenir des copolymères contenant moins de 50 % de norbornène et dont la microstructure comprend surtout des blocs d'éthylène (unités

isolées de norbornène) et des séquences alternées des deux monomères. La tendance à produire des séquences alternées diminue avec l'encombrement du catalyseur. Plus le groupement substituant est encombrant, moins les séquences sont alternées. Ce même effet du ligand a été référencé par Tritto et al. [13] qui ont montré que le catalyseur substitué par un groupement isopropyle permet une incorporation moindre de norbornène par rapport à celui substitué par un groupement méthyle.

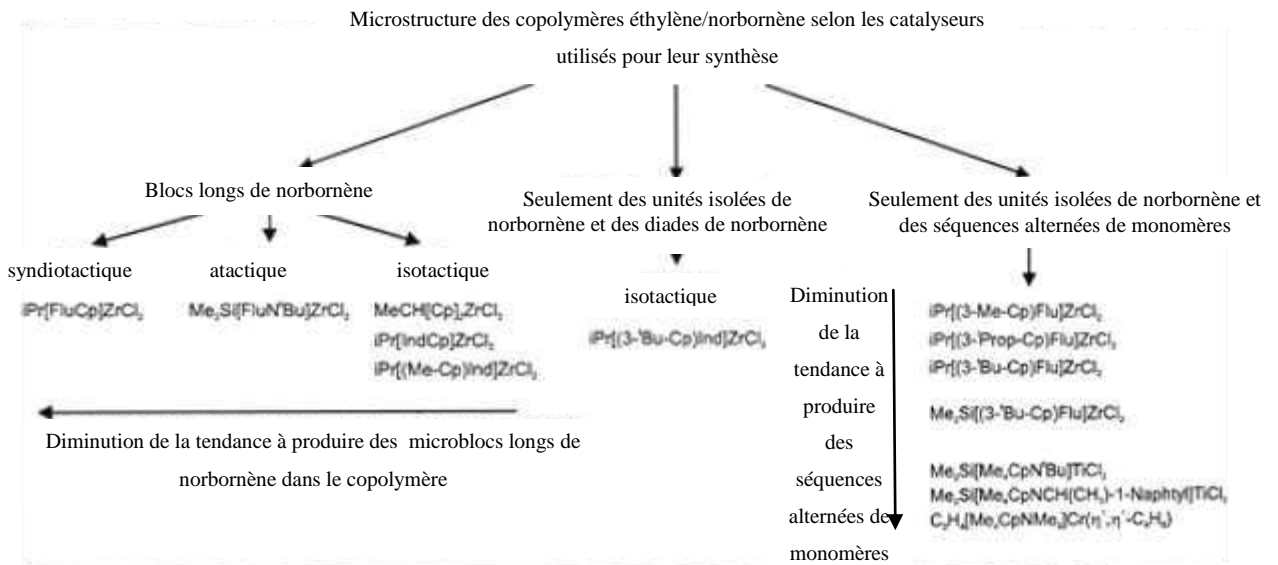


Figure 5: Microstructure de l'ENC en fonction du catalyseur utilisé d'après [9].

- Les catalyseurs qui produisent des copolymères contenant plus de 50 % de norbornène (symétrie C_2 et C_s) [16]. La longueur des blocs de norbornène obtenus (diades, triades ou plus long) dépend de la géométrie du catalyseur. Plus le catalyseur est petit, plus le bloc de norbornène est long. Quant à la tacticité des blocs obtenus, elle ne dépend pas seulement de la symétrie du métallocène mais aussi de l'énergie minimum obtenue avec une conformation iso- ou syndio-norbornène. Par ailleurs, ces catalyseurs ont une activité élevée pour l'homopolymérisation du norbornène.
- Les catalyseurs intermédiaires, comme l' $iPr[(3-^tBu-Cp)Ind]ZrCl_2$, ne permettent pas d'aboutir à l'homopolymérisation du norbornène mais peuvent cependant produire des copolymères contenant des blocs de norbornène (diades seulement). Dans ce cas, l'interaction stérique entre le ligand et le norbornène inséré n'est pas le seul facteur déterminant. La structure de bout de la chaîne joue aussi un rôle dans l'insertion d'un autre norbornène. En effet, l'insertion de norbornène est possible sur des chaînes

terminées par des séquences de type EE, NE ou EN ; cet effet est appelé l'effet pénultième.

Une corrélation entre la composition et la microstructure des COC et leurs propriétés physiques (dynamiques, optiques et thermiques) a été mise en évidence. La température de transition vitreuse (T_g) est la propriété la plus étudiée dans ce domaine. Il y a deux corrélations concernant la relation entre la T_g et la structure du copolymère. La plus connue est celle reliant la T_g au taux de norbornène dans le copolymère [12, 15, 17, 21, 28] (voir Figure 6).

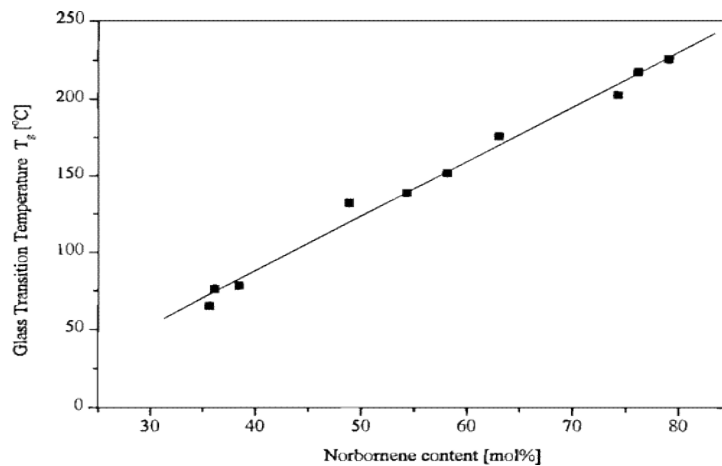


Figure 6: Evolution de la température de transition vitreuse avec le taux de norbornène dans le copolymère COC [17].

Il est possible de modéliser mathématiquement ce comportement, par une équation du premier degré [10, 27, 29, 30]. L'équation de Ruchatz et al [10] en est un exemple:

$$\text{Taux de norbornène (mole\%)} = (T_g/4) + 14 \quad (1)$$

Cependant, certains résultats reportés dans la littérature ont mis en doute ce type de loi linéaire pour tous les copolymères. En effet, certains copolymères contenant un taux similaire de norbornène possèdent des températures de transition vitreuse différentes [31-33]. Harrington et al. [31] ont étudié deux copolymères COC de microstructures différentes : aléatoire et stéréorégulière/alternée. Selon eux, le copolymère alterné a une T_g inférieure (de 30°C environ) par rapport à son analogue aléatoire. Une observation comparable a été rapportée par Wang et al. [32] qui ont montré, en utilisant différents co-

catalyseurs, que la synthèse produit des copolymères de T_g différentes pour un taux de norbornène identique. La T_g dépend donc non seulement du taux de norbornène mais aussi de la microstructure du copolymère. Ce type de dépendance a été mis en évidence par Forsyth et al. [33] pour des copolymères COC contenant un taux élevé de norbornène (47-60 % molaire) et ayant des microstructures différentes (Figure 7).

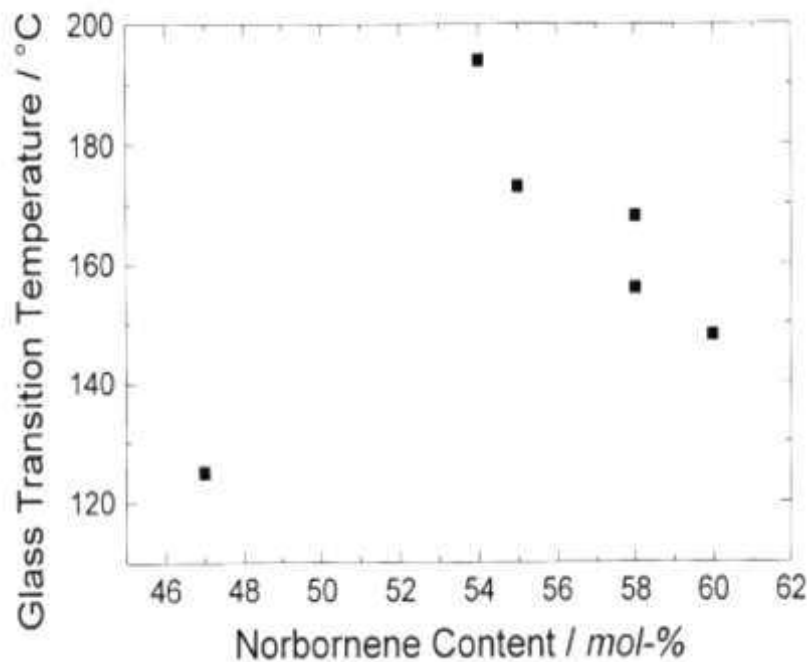


Figure 7: Absence d'une relation linéaire entre la T_g et le taux de norbornène pour des COC possédant des microstructures différentes [33].

De la même façon, la cristallinité du COC est influencée par sa structure. Elle diminue, puis disparaît quand le taux de norbornène dans le copolymère augmente. En effet, le copolymère devient amorphe pour un taux de norbornène supérieur à 14 % molaire [27, 34, 35] (Figure 8).

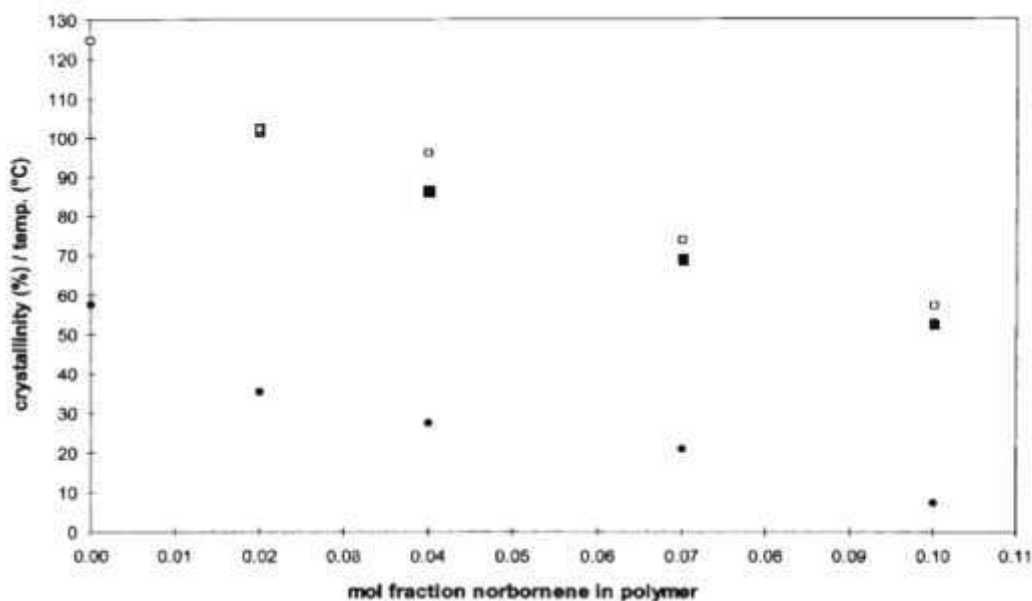


Figure 8: Pourcentage de cristallinité (●) de copolymères éthylène-norbornène contenant moins de 14 % molaire de norbornène. (◻) Température de cristallisation (°C) et (◼) Température de fusion (°C). Le calcul a été effectué à partir de mesures en AED [27].

Néanmoins, Arndt et al. [27] ont mis en évidence la présence d'une cristallinité pour les copolymères contenant plus de 37 % de norbornène dans leur structure. Selon eux, cette cristallinité est due à la stéréorégularité de la microstructure de ces copolymères qui contiennent surtout des séquences alternées. Ce même effet de la stéréorégularité de la microstructure sur la cristallinité a été montrée par Harrington et al. [31].

I.2.3 Applications médicales et pharmaceutiques

I.2.3.1 Conditionnement des produits pharmaceutiques et médicaux

Les polymères à base d'oléfines cycliques peuvent être utilisés comme conditionnement primaire pour les médicaments sous forme liquide, particulièrement pour les composés injectables mais ils peuvent aussi être utilisés comme blisters pour les formes solides ou ampoules pour les liquides unidoses (comme le sérum physiologique par exemple). Ils peuvent être associés au poly (téréphtalate d'éthylène) pour la réalisation de flacons multicouches destinés à stocker des produits pharmaceutiques ou cosmétiques sous différentes

formes. Les applications des COC dans le domaine des conditionnements peuvent être classées selon deux catégories:

La première est celle des flacons et des seringues. Comme nous l'avons mentionné, les COC sont des polymères inertes résistants aux acides et alkyles et présentent une excellente barrière contre l'humidité ; ils ne contiennent ni plastifiants ni halogènes. De plus, ils ont une rigidité et une transparence comparables à celle du verre tout en étant bien plus légers et plus résistants aux chocs que ce dernier. Enfin, ils peuvent être stérilisés par différentes techniques. Toutes ces raisons permettent aux COC de répondre aux exigences réglementaires et justifient leur utilisation pour le conditionnement des produits pharmaceutiques, plus particulièrement dans le domaine des solutions injectables avec notamment les seringues pré-remplies [36]. (Voir Figure 9).



Figure 9: cartouches, seringues pré-remplies et flacons à base de COC.

Parmi les fabricants de seringues à remplir à base de COC on peut citer :

- SCHOTT (Allemagne) qui produit des seringues à remplir de 1 à 50 mL, commercialisées sous le nom SCHOTT TopPac[®] [37]. La première introduction de SCHOTT TopPac[®] dans le marché pharmaceutique a été réalisée par Boehringer Ingelheim Pharma GmbH et Co (Allemagne); il s'agit d'une seringue pré-remplie avec de l'eau pour préparation injectable qui sert à reconstituer des produits lyophilisés [38].
- Daikyo Seiko Ltd, le partenaire japonais de West Pharmaceutical Services (Linoville, PA, USA), qui produit des seringues commercialisées sous le nom de Daikyo Crystal Zenith[®] [39].
- Plas-Tech Engineering Inc (USA) qui produit des seringues à remplir de 0.5 à 5 mL à partir des COC de Ticona (Topas 6013[®]) [40].

La deuxième application en termes de conditionnement primaire sont les blisters pour formes solides orales et les ampoules pour liquides uni-dose (Figure 10).

Les propriétés thermiques et mécaniques des COC permettent en effet un thermoformage uniforme de ces matériaux, qui résulte en l'obtention de films rigides mais flexibles et qui conservent leurs propriétés de transparence et de barrière à l'humidité. De plus, les COC peuvent être mélangés à d'autres matières plastiques telles que le PE et PET puis thermoformés pour obtenir des films monocouches. Ils peuvent aussi être l'un des composants de films multicouches. Les blisters à base de COC sont particulièrement intéressants pour le conditionnement des produits pharmaceutiques. En effet, les films COC sont des alternatives fiables au PVC. Ils sont 10 fois moins perméables à l'eau que les films PVC et sont plus respectueux de l'environnement puisqu'ils ne contiennent pas d'halogène [41].



Figure 10: Blisters à base de COC pour le conditionnement pharmaceutique

Le premier médicament conditionné dans des blisters en COC a été la spécialité Actonel[®] 35 mg de Procter et Gamble Pharmaceuticals. Le film COC utilisé était fabriqué par Klockner Pentaplast. D'autres fabricants de blisters COC existent comme Tekni-films et Alcan-Packaging.

Par ailleurs, les plateaux médicaux et les flacons multicouches COC/PET pour le conditionnement des formes solides sont d'autres applications pharmaceutiques.

I.2.3.2 Instruments et dispositifs médicaux

Parmi les nombreux instruments et dispositifs médicaux fabriqués à base de COC on peut citer :

- **Les instruments chirurgicaux**

Un exemple de ces applications est le système Plexis[®] (Figure 11) fabriqué par Advanced Biomaterial Systems (USA) à partir du COC de Ticona. Grâce à sa transparence, son inertie, sa stabilité et ses possibilités de stérilisation, les COC se sont imposés comme des matériaux de choix pour ce système qui permet le mélange et la délivrance de ciment osseux dans le même compartiment [42].



Figure 11: Système PlexisTM : mélangeur et seringue pour la délivrance de ciment osseux.

Les mélanges COC/PET sont par ailleurs des matériaux envisageables pour la réalisation d'implants et de replacements osseux comme par exemple les cartilages articulaires [43].

- **Les instruments dentaires**

Dans cette catégorie, on peut citer par exemple les mélangeurs de colles dentaires (Figure 12) qui sont commercialisés par TAH industrie (USA) sous le nom de TAH's MiniMixTM [44].



Figure 12 : Système TAH's MiniMixTM : mélangeur de colles dentaires

I.2.3.3 Applications analytiques et diagnostiques

Les COC apparaissent aujourd'hui comme un matériau adéquat pour les exigences analytiques et le diagnostic (Figure 13). En effet, ces polymères peuvent être utilisés pour la fabrication des tubes et cuves pour ces applications, comme par exemple, les tubes pour le diagnostic de la tuberculose [45]. Ils sont aussi impliqués dans la réalisation de produits et de dispositifs de micro-fluidique [46, 47].

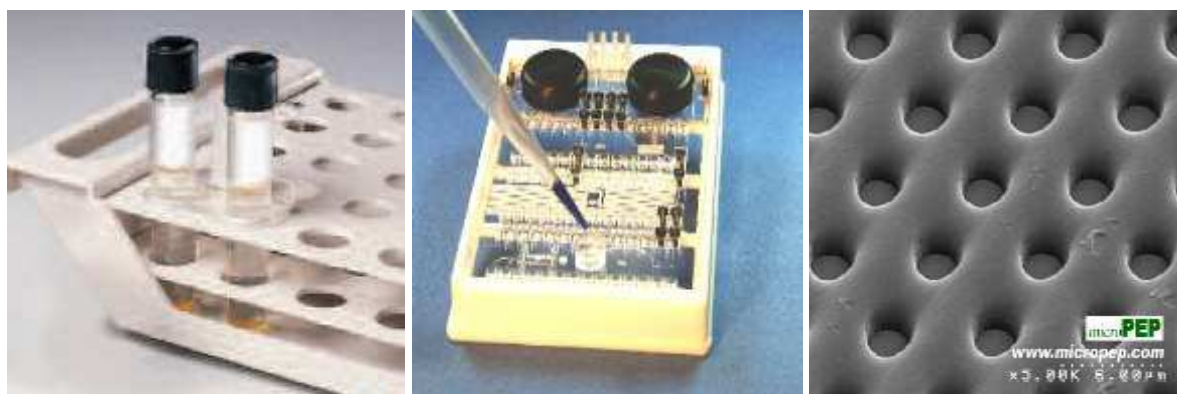


Figure 13 : Applications analytiques et diagnostiques du COC (tubes pour diagnostic et test clinique, dispositifs de microfluidics)

I.2.4 TOPAS[®] : les différents grades, les propriétés et les aspects réglementaires

Les polymères de type TOPAS[®] sont ceux que nous avons utilisés dans notre étude. Topas[®] est le nom commercial des copolymères d'oléfines cycliques (COC) produits par Ticona/Celanese jusqu'en janvier 2006. A partir de cette date, la production des COC a été vendue à deux compagnies japonaises, Daicel et Polyplastics, qui ont ensuite fusionné en une nouvelle entité appelée Topas Advanced Polymers.

Il existe différents grades de Topas[®] COC qui sont définis selon leur température de fléchissement (HDT= Heat Deflection Temperature) ; cette température dépend du taux de norbornène dans la structure. En effet, les grades qui ont un taux plus élevé de norbornène sont les plus résistants à la température. La nomenclature des grades principaux de Topas[®] est constituée de quatre chiffres ; les deux premiers représentent la viscosité intrinsèque et les deux derniers se réfèrent à la température de fléchissement.

Le Tableau 2 regroupe les principaux grades de Topas[®] COC avec une description résumée de leurs propriétés. Par ailleurs, il existe des sous-grades de Topas[®] COC qui sont disponibles pour des applications particulières dans le domaine de l'optique, du médical ou du diagnostic.

Grade	Description
8007	HDT = 75°C, propriétés barrières très importantes et faible absorption d'eau. Préconisé pour le conditionnement des produits sensibles à l'humidité.
5013	HDT = 130°C, excellentes propriétés optiques. Recommandé pour des applications optiques comme les lentilles de contact et pour des applications médicales et diagnostiques.
6013	HDT = 130°C, pureté et transparence élevée et résistance chimique importante, possibilité de stérilisation par irradiation gamma et par autoclave. Applications pour le conditionnement pharmaceutique et le diagnostic.
6015	HDT = 150°C, grade similaire au 6013 mais avec un HDT plus élevé qui ne peut pas être atteint avec d'autres polymères amorphes.
6017	HDT = 170°C, réservé aux applications qui exigent une résistance à des températures très élevées.

Tableau 2 : Les principaux grades de Topas[®] COC.

Les grades Topas[®] COC sont mis en forme, soit par moulage par injection, soit par extrusion, selon les applications préconisées pour ces matériaux.

Il faut noter qu'une autorisation (FCS No 405) pour l'utilisation de certains grades de COC pour le conditionnement des produits alimentaires secs a été donnée par le FDA (Food and Drug Administration) ; cette autorisation répond aux exigences des autorités réglementaires américaines concernant les polyoléfines (CFR 177.1520 section 3.9).

En ce qui concerne les applications pharmaceutiques et médicales, des dossiers DMF (Drug Master File) No. 12132 et MAF (Device Master File) No. 1043 ont été déposés. Ils font mention d'études de biocompatibilité qui ont été réalisées par Topas Advanced Polymer selon les recommandations de la Pharmacopée Américaine (XXII classe VI).

Au niveau de l'union européenne, les monomères utilisés pour la fabrication des COC sont listés dans la directive européenne 2002/72/EC (anciennement 90/128/EC) relative aux matières plastiques utilisées dans le domaine alimentaire. Cependant, pour le domaine pharmaceutique et celui des dispositifs médicaux, Topas advanced Polymer fait mention d'études d'identification et de contrôle ainsi que des études de biocompatibilité, réalisées selon les exigences de la Pharmacopée Européenne (section 3.1.3 et 3.2.2.1) et de l'ISO 10993.

L'assurance que les matériaux soient appropriés pour des applications pharmaceutiques et médicales reste donc de la responsabilité de l'industrie pharmaceutique et des fabricants de dispositifs médicaux.

I.3 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons montré l'importance des matières plastiques dans le domaine de la santé et nous nous sommes attachés à présenter une nouvelle classe de polymères, celle des oléfines cycliques (COC). Nous avons mis en évidence deux points importants ; le premier concerne la relation entre la microstructure des COC et leurs propriétés physico-chimiques, le second est la grande diversité des structures chimiques et propriétés physico-chimiques des copolymères à base d'oléfines cycliques ainsi que leurs nombreuses applications pharmaceutiques et médicales notamment dans le domaine du conditionnement des produits injectables. De telles applications nécessitent des études de compatibilité afin de s'assurer de l'absence d'interactions contenant/contenu, qui sont rédhibitoires pour les utilisations pharmaceutiques en terme de sécurité et stabilité.

L'étude des interactions matériaux/formulations feront l'objet du chapitre suivant.

Chapitre II : Interactions matières plastiques / médicaments

Comme nous l'avons mentionné dans le premier chapitre, l'inertie (notamment chimique) est la caractéristique la plus importante des matières plastiques utilisées dans le domaine pharmaceutique et médical. Certaines interactions entre ces matériaux et les produits pharmaceutiques sont documentées dans la littérature. Elles comprennent entre autres, la sorption, qui est l'adsorption ou l'absorption des constituants de la formulation pharmaceutique par les matériaux, et la migration des molécules contenues dans ce dernier vers les préparations pharmaceutiques. Ces interactions mutuelles matériaux plastiques / médicaments peuvent affecter aussi bien l'intégrité et la qualité des matériaux que la stabilité, l'efficacité et la sécurité des médicaments. La preuve de cette compatibilité est exigée par les autorités réglementaires et l'étude analytique de ces interactions représente la base de l'évaluation, qui peut être résumée selon le schéma présenté sur la Figure 14 [48].

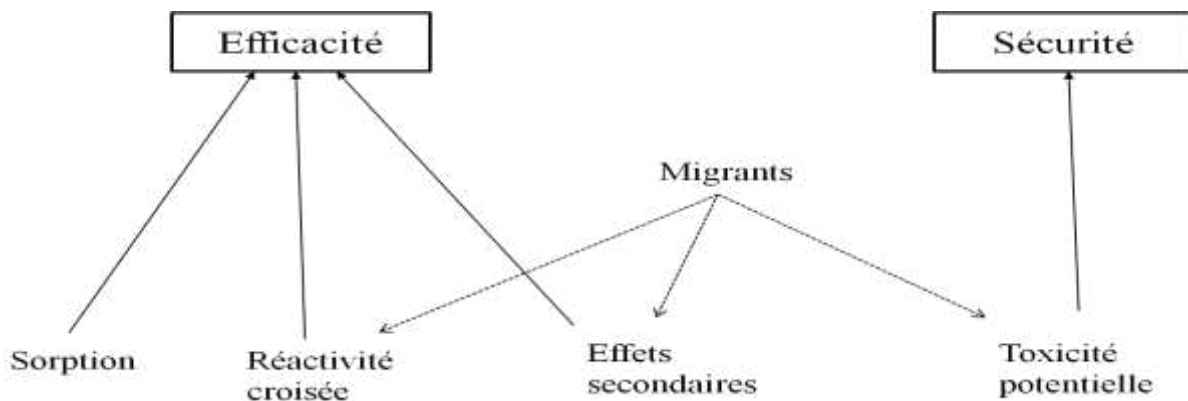


Figure 14 : Les différents niveaux de l'évaluation de la compatibilité d'un conditionnement primaire avec une formulation pharmaceutique d'après [48]

Cette évaluation intervient à trois niveaux :

- Evaluation de l'efficacité : le médicament répond-il de manière constante aux indications prévues pour son usage. Dans ce cas, les deux types d'interactions (sorption et migration) peuvent les affecter même si la sorption du principe actif est considérée comme l'interaction principale et est très documentée dans la littérature [49-62].
- Evaluation de la sécurité : le médicament cause-t-il des effets secondaires et imprévus pour le patient.

- Evaluation de la migration : le médicament contient-il des composés pouvant modifier l'efficacité et/ou la sécurité des médicaments. En effet, l'efficacité peut être influencée de deux façons :
- la réactivité croisée qui fait référence à la situation où un composé contenu initialement dans le polymère réagit avec un constituant de la formulation pharmaceutique et conduit à une modification de la molécule active et de ce fait à son inactivation.
- Les effets secondaires qui reflètent le cas où les migrants modifient l'une des propriétés du médicament (par exemple le pH) qui influence elle-même d'une manière directe ou indirecte l'efficacité ; par exemple, un migrant acide ou basique peut imposer au principe actif un pH différent de son pH de spécification.

La sécurité dépend principalement de la toxicité potentielle des migrants.

Ces interactions sont régies par un grand nombre de processus physiques et dépendent notamment de la vitesse de diffusion de l'additif et de sa solubilité respective dans le polymère et la solution. Les phénomènes de sorption et de migration nécessitent, en effet, à la fois une force motrice déterminée par les propriétés thermodynamiques du système et une mobilité suffisante de l'espèce qui sorbe ou migre. Ils sont donc liés à deux phénomènes majeurs : la diffusion au sein du matériau qui détermine l'aspect cinétique des phénomènes de sorption et de migration et le partage des produits entre deux phases, la formulation pharmaceutique et le matériau. Ce partage détermine les valeurs des concentrations à l'équilibre d'un composé dans les deux milieux et est donc liée à un aspect thermodynamique. Après avoir décrit de manière générale les processus de diffusion et de partage, nous détaillerons les processus de migration et de sorption dans le cas d'un système conditionnement en matière plastique/formulation pharmaceutique et nous montrerons par quels paramètres ils sont affectés.

II.1 Phénomènes de diffusion

La diffusion est un phénomène spontané qui tend à homogénéiser les différences de concentrations d'un composé au sein d'un système par la migration des molécules concernées des zones de forte concentration vers celles de faible concentration.

La cinétique de la diffusion est régie par les lois de Fick [63-65], qui postulent que le flux de diffusion est proportionnel au gradient de concentration dans le milieu. Cette loi fait intervenir le coefficient de diffusion qui est une grandeur qui dépend de la température (T), du milieu et de caractéristiques de l'espèce qui diffuse et du matériau. La première loi de Fick s'écrit dans le cas d'une diffusion plane s'effectuant perpendiculairement à un plan situé à une distance x de l'origine :

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} \right) \quad (2)$$

J est le flux de la molécule qui diffuse par unité de surface ($\text{molécule} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$), D est le coefficient de diffusion et $\left(\frac{dc}{dx} \right) (\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$ est le gradient de concentration, c la concentration de la molécule, et x la distance (m).

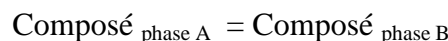
Pour une diffusion unidirectionnelle, la variation du gradient de concentration dans le temps est inversement proportionnelle à la variation du flux selon l'équation de la deuxième loi de Fick :

$$\frac{dc}{dt} = D \left(\frac{d^2c}{dx^2} \right) \quad (3)$$

La valeur du coefficient D est donc déterminante pour l'étude cinétique.

II.2 Coefficient de partage (K)

Par ailleurs les concentrations à l'équilibre et donc les phénomènes de migration et de sorption, en termes de quantité, vont être déterminés grâce au coefficient de partage, qui est une constante d'équilibre thermodynamique qui correspond à l'équilibre chimique suivant :



Il est donc égal au rapport de la concentration à l'état d'équilibre d'un soluté entre deux phases. Dans notre cas, il s'agit de la formulation pharmaceutique (B) et du matériau de conditionnement (A) :

$$K = \frac{C_B}{C_A}$$

Avec C_B concentration du soluté dans la phase liquide et C_A concentration du soluté dans le matériau.

K dépend de l'affinité de la molécule pour les deux phases et dépend, notamment, de son caractère hydrophile ou hydrophobe, ou encore de son aptitude à créer des liaisons secondaires (hydrogène, Van der Waals) avec l'un ou l'autre des milieux. Il est à noter que le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une molécule peut être exprimé par son coefficient de partage octanol/eau qui est le couple de référence pour le coefficient de partage.

La composition chimique du polymère (groupements, additifs..) ainsi que la nature de la formulation pharmaceutique (pH, lipophile, présence d'excipients,...) jouent aussi un rôle majeur.

II.3 Migration des constituants du conditionnement vers la formulation pharmaceutique.

La migration des constituants des matériaux plastiques utilisés comme conditionnement pharmaceutique vers le contenu est une interaction non négligeable compte tenu du risque de toxicité potentielle de ces composés. Les migrants contenus dans le matériau peuvent avoir plusieurs origines ; ils peuvent résulter de la synthèse et de la mise en forme du matériau, de sa formulation ainsi que des traitements stérilisants auxquels il est soumis. On peut ainsi retrouver des réactifs utilisés lors de la synthèse (monomères, catalyseurs, ...) et résidus de polymérisation (oligomères) comme produits donnant lieu à des interactions. Leur nature et leur taux sont fortement liés aux propriétés du polymère et au type de conditions de polymérisation (l'anionique, la cationique, et la radicalaire) ou encore au procédé de synthèse (en masse ou en solution). Actuellement, au niveau du médicament conditionné dans un contenant en matière plastique, on recherche principalement les monomères résiduels en raison de leur toxicité. Cependant, les composés de faible masse molaire (oligomères), potentiellement générateurs de troubles physiologiques chez le patient, du fait de leur solubilité non négligeable ou de leur présence sous forme de fines particules en suspension dans le médicament liquide, sont peu ou pas recherchés.

Par ailleurs la composition des matériaux plastiques est complexe ; elle comprend, outre les chaînes de polymère, divers types d'additifs. Ces derniers permettent par exemple de faciliter

la mise en forme (lubrifiants...), de protéger le matériau contre les agressions thermiques, chimiques ou induites par des rayonnements (antioxydants, anti UV...), ou bien encore de modifier les propriétés finales du matériau (plastifiant...). Ces additifs peuvent présenter une source d'interactions même s'ils figurent dans une liste de substances autorisées, notamment, par la Pharmacopée Européenne dans le cadre du conditionnement pharmaceutique.

Enfin, la transformation et la stérilisation des matériaux peuvent être à l'origine de dégradations qui aboutissent à la formation de composés de faible masse molaire (CFMM). Par exemple, le PVC subit, sous l'action de la chaleur, une réaction de décomposition qui conduit à la libération d'acide chlorhydrique et à la formation de dérivés carbonylés. Quant à la stérilisation des conditionnements pharmaceutiques par rayonnements ionisants, elle peut entraîner des scissions des chaînes de polymères et générer également des CFMM. Ces phénomènes de dégradation ne se limitent pas au polymère seul mais concernent aussi les additifs ajoutés au matériau.

Rappelons par ailleurs que de nombreux excipients et additifs de la formulation pharmaceutique sont eux-mêmes des substances ayant le pouvoir de former des solvates avec les CFMM ; ils peuvent aussi être à l'origine des migrations et engendrer des incompatibilités entre le contenu et le contenant.

II.3.1 Migration des oligomères et monomères de synthèse

La migration des monomères à partir de matériaux vers les solutions de mise en contact a été observée au cours de certaines études de compatibilité. Plusieurs études ont été ainsi consacrées au monomère utilisé dans la synthèse du polyamide 6, l' ϵ -caprolactame. Par exemple, l'étude d'interaction entre une solution de perfusion parentérale de métronidazole (0.5%) et son contenant à base de matériau plastique multicouches (polypropylène, polyamide 6, polyéthylène), a mis en évidence la migration de ce composé [66]. Ulsaker et al. [67] ont détecté, quant à eux, 8 à 15 ppm d' ϵ -caprolactame dans des solutions intraveineuses stockées dans des poches de PVC protégées par une couche de polyamide 6. De plus, ce monomère a été retrouvé à des taux élevés dans des solutions de simulation alimentaire (eau et éthanol 95%) mises en contact avec des films multicouches de polyamide 6 destinés au conditionnement alimentaire [68], même si le taux de migration reste dans les limites établies par les législations européennes (15 mg/kg) [69] : le taux d' ϵ -caprolactame diminue par

ailleurs avec la dose d'irradiation (irradiation gamma) pour les films stockés dans une solution d'éthanol et devient non détectable pour les films stockés dans l'eau. Des résultats semblables ont été mis en évidence par Lawson et al. [70], qui ont montré que l' ϵ -caprolactame et ses oligomères migrent dans des solutions de simulation aqueuse.

II.3.2 Migration des additifs et de leurs produits de dégradation

La migration des additifs et de leurs produits de dégradation vers les milieux de contact a fait l'objet d'un grand nombre de travaux. Les plastifiants et les antioxydants représentent les additifs les plus étudiés [71-75].

En ce qui concerne les plastifiants, le [di-(2-éthylhexyl) phtalate] (DEHP), est le plus couramment étudié car il est le seul autorisé par la Pharmacopée Européenne dans le domaine pharmaceutique. Il donne la souplesse souhaitée au matériau notamment au polychlorure de vinyle (PVC), qui est utilisé plastifié pour réaliser des poches ou des tubulures de perfusion [76]. Le DEHP est connu pour avoir des effets indésirables sur la santé [77-79] : il peut être un facteur de développement du carcinome hépatocellulaire chez les animaux [80] et présente un risque tératogène chez les rats [81]. Il est donc important de le rechercher dans les solutions de perfusion, d'en réduire l'exposition avec les solutions administrées.

Il a été prouvé que ce dérivé migre à partir de la matrice polymère vers la solution en contact [82, 83]. Faouzi et al. [84] ont mis en évidence la migration de DEHP (200 ppm), contenu dans un système de perfusion parentérale à base de PVC, dans une solution de Tenisposide[®]. Une telle contamination par le DEHP a aussi été mentionnée par Arbin et al. [85].

La migration des antioxydants a elle aussi été mise en évidence dans différentes solutions de simulations pharmaceutiques et alimentaires [86, 87] : Schwope et al. ont montré la migration de deux antioxydants phénoliques, l'Irganox 1010[®] et le BHT (2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol ou hydroxytoluène butyle) contenus dans du polyéthylène basse densité (LDPE) vers une solution de simulation aqueuse [88] ; de même, Sarbach et al. [72] ont détecté des traces de BHT comme produit de dégradation de l'Irganox 1010[®] dans une solution de perfusion parentérale de métronidazole. Afin de mieux comprendre les facteurs qui influencent la migration des additifs et de leurs produits de dégradation vers les milieux en contact, nous allons résumer le mécanisme de la migration.

II.3.3 Mécanisme de migration

La migration des CFMM est un processus qui suit différentes étapes [89]:

- La diffusion des composés depuis le cœur de la matrice polymère vers sa surface : cette diffusion suit les lois de Fick. Ce processus, qui est commun à plusieurs phénomènes décrits dans ce chapitre, dépend de plusieurs facteurs qui seront détaillés dans II.5.
- la désorption des molécules de la surface vers le milieu en contact.

Une fois que ces composés et le solvant se trouvent à l'interface matériau/milieu, les interactions composé/solvant entrent en jeu ce qui permet le passage de la molécule dans le milieu. Le phénomène le plus fréquemment rencontré est la dissolution du composé, qui est fonction de sa nature et de sa structure chimique mais qui dépend aussi des propriétés du solvant. La polarité relative du composé par rapport à celle du solvant et leur affinité mutuelle jouent un rôle important dans la solubilisation, par la formation de liaisons hydrogène ou Van der Waals.

Ce phénomène est facilité par la sorption de molécules de solvant sur la surface du matériau.

II.4 La sorption des constituants de la formulation dans le matériau

Le phénomène de sorption concerne les principes actifs ainsi que les excipients entrant en interaction avec le matériau plastique. Nous allons nous intéresser dans cette partie à la sorption du principe actif, qui comprend l'adsorption sur la surface et l'absorption dans le matériau, et qui résulte en une perte de principe actif dans la solution médicamenteuse.

II.4.1 L'adsorption du principe actif sur la surface du matériau

L'adsorption physique est un processus thermodynamique spontané qui rend le système (adsorbat+adsorbant) plus stable. Elle résulte en la formation d'une couche mono moléculaire de molécules actives sur la surface du matériau. Les principales caractéristiques du phénomène d'adsorption sont les suivantes :

- Action de surface, impliquant différents types d'interactions faibles entre la surface du matériau et les molécules actives, comme les liaisons électrostatiques, les forces de Van der Waals, et les interactions hydrophile-hydrophobe,....
- Phénomène très rapide (de l'ordre de quelques secondes) et accéléré par l'élévation de la température.

A l'état stationnaire, la quantité adsorbée sur le matériau dépend de la surface de contact liquide/matériau. L'état d'équilibre est exprimé par des modèles dits d'isothermes d'adsorption ; l'isotherme le plus connu est l'isotherme de Langmuir (Figure 15) qui exprime la quantité adsorbée en fonction de la concentration de ce même composé adsorbé dans la solution de mise en contact, à une température déterminée [90].

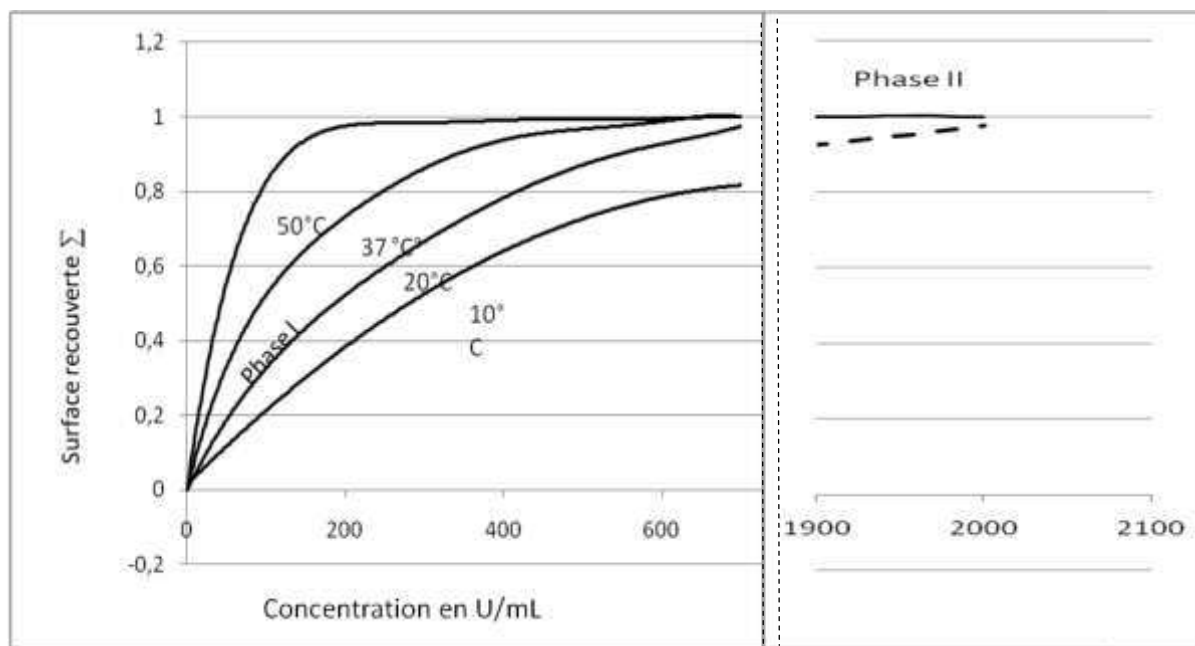


Figure 15 : Isotherme de Langmuir « modèle » d'un équilibre d'adsorption de l'insuline au contact d'un polymère. En ordonnée : surface de la couche mono moléculaire Σ (ou quantité adsorbée) en fonction de la concentration du soluté en unité par mL, à différentes températures [90]

Aux faibles concentrations, les molécules fixées ne peuvent pas recouvrir entièrement la surface. Aux fortes concentrations, la surface est virtuellement saturée et l'augmentation de la concentration n'a plus d'influence sur les quantités fixées.

Lorsque la concentration initiale est suffisante pour saturer la surface par une couche moléculaire, l'équilibre devient un «équilibre à saturation ». Après l'équilibre ou la saturation, le flux net de molécules s'échangeant au contact de la surface devient nul.

Les macromolécules comme les protéines sont connues pour leur interaction avec certains polymères, mais c'est surtout l'insuline qui a fait l'objet de nombreux travaux et que nous allons présenter pour illustrer cette partie sur les phénomènes d'adsorption. L'insuline se fixe sur de nombreux matériaux comme le polychlorure de vinyle [57], le polyéthylène [91], le polypropylène et les copolymères éthylène-acétate de vinyle. Sa fixation sur le verre a également été décrite dans la littérature [53, 92].

L'adsorption de l'insuline est un phénomène instantané qui correspond à la saturation des sites de fixation du matériau en contact. L'adsorption de l'insuline entraîne une diminution de la quantité délivrée au patient, et donc une perte de son efficacité thérapeutique. Comme l'insuline est notamment utilisée pour le traitement de l'hyperglycémie, il est très important d'étudier ce phénomène et de déterminer le taux d'adsorption avec les différents matériaux par lesquels l'insuline est susceptible d'être stockée ou administrée.

Le taux de perte de l'insuline varie de 5 à 80 % selon les auteurs ; ce taux dépend des conditions expérimentales, du type de contenant étudié (poches, tubulures, filtres ou seringues), mais aussi des techniques utilisées pour quantifier la perte du principe actif. Par exemple, Wideroe et al. [93] ont rapporté l'adsorption de 65% d'insuline en contact avec une poche de PVC, ce qui est cohérent avec les travaux d'Allwood et al. [94] qui ont estimé la perte d'insuline à 35% après un stockage dans une poche de PVC de 500 mL. Par contre, selon Twardowski et al. [59], seulement 5% d'insuline seraient fixés sur les poches de PVC.

Parmi les nombreux facteurs influençant l'adsorption d'insuline sur les poches de perfusion, certains dépendent du conditionnement (surface de contact, nature), d'autres de la solution médicamenteuse (concentration en principe actif, composition de la solution,...) et enfin certains sont des paramètres extérieurs comme la température. Concernant l'effet du conditionnement, l'adsorption d'insuline, à concentration égale, est plus importante dans des poches d'1L que dans des poches de 500 mL pour lesquelles les sites de fixation à saturer sont moins nombreux [93]. Ainsi, le pourcentage de fixation d'insuline sur des seringues est

négligeable par rapport à la quantité totale d'insuline présente initialement dans la solution et peut être expliqué par une surface de contact très réduite. Par ailleurs, Hirsche et al. [95, 96] ont montré l'influence de la nature du matériau, en mettant en évidence une adsorption deux fois supérieure sur des poches de PVC par rapport à des poches de polyéthylène (PE).

Concernant la composition de la solution de mise en contact, la concentration initiale est un facteur important. En effet, le pourcentage de perte d'insuline est plus important pour des faibles concentrations initiales. Ainsi Weber et al. [97] ont montré que la perte d'insuline est plus importante pour les solutions contenant moins de 10 unités d'insuline (UI) qu'avec des solutions plus concentrées contenant 30, 60 ou 100 unités. L'influence de la nature du liquide de perfusion est quant à elle controversée. Selon Hirsch et al. [96] et Lundgren et al. [98], l'adsorption de l'insuline est plus importante dans le chlorure de sodium à 0.9 % (V/V) que dans le glucose à 5 % ; Allwood et al. [94] ont conclu au résultat inverse, tandis que Ung et al. [60] ont montré l'absence de différence d'adsorption entre les deux liquides de perfusion. En revanche, l'addition d'albumine humaine, d'électrolytes et de vitamines aux solutions d'insuline, diminue l'adsorption de cette dernière et augmente sa disponibilité [97, 99, 100] en raison d'un phénomène de compétition entre les molécules présentes. Ainsi Hewson et al. [99] ont révélé une augmentation significative de la disponibilité de l'insuline (60 %) quand l'albumine est ajoutée. Cette inhibition partielle de la fixation de l'insuline par l'albumine a été confirmée par d'autres auteurs [97]. Selon Christianson et al. [100] la présence de multivitamines et d'électrolytes diminue aussi la perte de d'insuline de 95 % à 5 % ; Weber et al. [97] ont rapporté quant à eux, une plus faible influence de la présence d'électrolytes sur l'adsorption (diminution de la perte de l'insuline de 45 % à 35 %).

Enfin la température influence de manière non négligeable ces phénomènes : l'adsorption de l'insuline est plus importante à 37°C qu'à 24°C (Figure 16) pour des concentrations de 0 à 280 UI/mL [58]. L'effet de la température est plus important pour l'adsorption au contact de solutions de faibles concentrations.

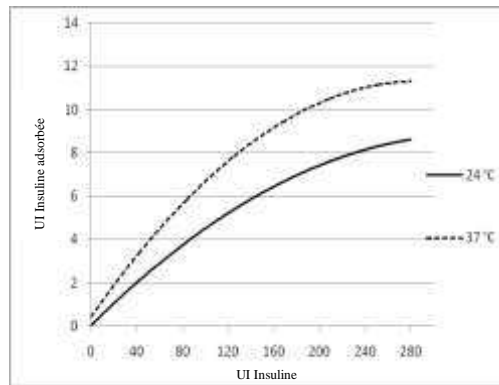


Figure 16 : Influence de la température sur l'adsorption de l'insuline [85]

II.4.2 L'absorption de principe actif dans le volume matriciel

L'absorption de principe actif dans le matériau est la deuxième étape du processus de sorption ; elle correspond à la diffusion de la molécule fixée par adsorption dans la matrice polymère.

En général, l'absorption, au contraire de l'adsorption, est un phénomène qui se caractérise par une cinétique lente, de l'ordre de plusieurs heures à plusieurs jours voire des mois. Les molécules pénètrent dans le polymère à partir de la couche d'adsorption. Cette pénétration est contrôlée par les lois de diffusion de Fick. La cinétique peut donc s'accélérer en cas d'augmentation de la température ou de la concentration initiale dans la solution. L'ensemble de ces paramètres influencent en effet le coefficient de diffusion qui a déjà été évoqué dans la partie II.1.

Plusieurs couples polymères/médicaments sont sujets à ce phénomène. Pour les polymères, c'est essentiellement le PVC plastifié qui a été le plus souvent incriminé dans ce type d'interaction. Pour les médicaments, on peut citer différentes familles comme par exemple les dérivés nitrés comme la nitroglycérine et le dinitrite d'isosorbide, les benzodiazépines, les barbituriques. Ainsi, les solutions de nitroglycérine stockées dans des poches de PVC perdent en moins d'une heure plus de 10 % de leur teneur initiale [52, 62, 101] et plus de 50 % en 48 heures.

II.5 Facteurs influençant la migration et l'absorption

Différents facteurs influencent le phénomène de diffusion des constituants du matériau vers le milieu de contact (migration) ou de la préparation pharmaceutique vers le matériau (sorption). Ces facteurs sont propres au matériau constitutif du conditionnement, à la molécule qui diffuse, au milieu de contact et aux conditions de stockage et de stérilisation. Ils peuvent affecter à la fois la cinétique du phénomène mais aussi l'importance de ce dernier.

II.5.1 Morphologie et flexibilité des chaînes polymère

La diffusion d'une espèce dans le matériau dépend de la morphologie microscopique du matériau et notamment de l'arrangement des chaînes macromoléculaires. En effet, contrairement à la phase cristalline que l'on peut considérer comme imperméable, la phase amorphe favorise la diffusion des migrants grâce à son volume libre. Ce volume libre est lié à la température de transition vitreuse (T_g) du polymère et conditionne le mouvement des chaînes. En effet, les petits mouvements segmentaires possibles au-dessus de la T_g vont permettre d'accroître la vitesse de diffusion car cette mobilité des chaînes permet la création et le déplacement des micro-vides au sein de la matrice polymère. Ainsi, plus le polymère est amorphe plus la diffusion est importante. En outre, plus sa T_g est basse, plus la cinétique à température ambiante sera rapide.

Parmi les recherches menées dans ce cadre, Marcato et al. [102] ont étudié le comportement de quatre matrices de type polyoléfiniques ayant différentes structures et degrés de cristallinité : un polypropylène isotactique (PP), un copolymère aléatoire éthylène-co-propylène (RACO), un mélange (EP) de deux copolymères d'éthylène-propylène (l'un hétérophasique et l'autre amorphe) et un polyéthylène haute densité (HDPE). Ces matrices ont été mises en contact avec un mélange de 5 huiles représentatives d'excipients lipophiles utilisés dans les formulations pharmaceutiques et cosmétiques.

La migration de deux antioxydants, l'Irganox 1010[®] et l'Irgafos 168[®], a été mise en évidence. On constate une migration plus importante et plus rapide pour l'EP qui présente le taux de cristallinité (x) le plus faible ($x=30\%$), et la migration la plus faible et la plus lente pour le HDPE qui est le plus cristallin ($x=70\%$) (Figure 17).

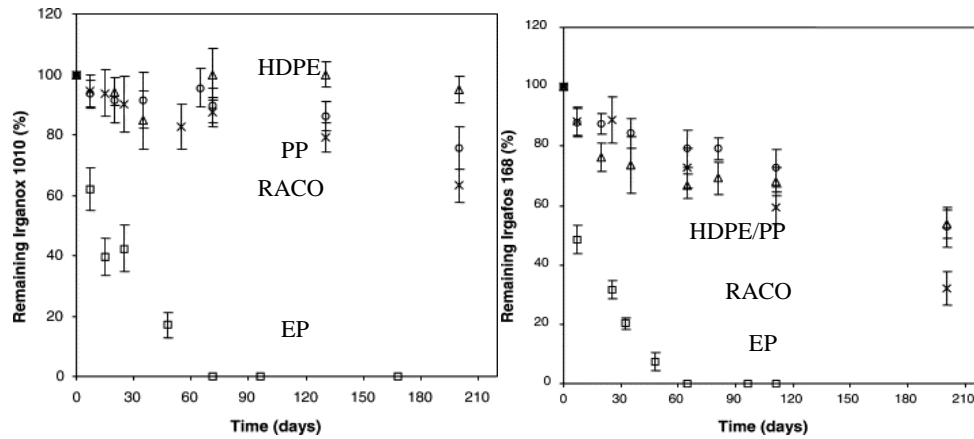


Figure 17 : Profils de concentration (% restant par rapport à la concentration initiale) à 25°C de l'Irganox 1010[®] et Irgafos 168[®] dans différentes matrices poly oléfines stockées dans un mélange d'huiles en fonction du temps : (□) EP, (×) RACO, (○) PP, and (Δ) HDPE

Pour l'Irganox 1010[®], l'importance et la vitesse du phénomène augmente avec la proportion de phase amorphe. En revanche, pour l'Irgafos 168, une migration identique est observée pour le PP (x= 52 %) et le HDPE (x= 70 %) malgré leurs taux de cristallinité différents. Ce dernier critère n'est donc pas le seul paramètre qui influence la migration : la polarité, l'encombrement stérique des chaînes jouent aussi un rôle important.

De la même façon, la cristallinité du polymère a un impact sur la sorption des constituants du milieu de contact vers le matériau. Ainsi, Limam et al. [103] ont étudié la sorption de deux solvants organiques (butanol et octanol) par deux matériaux : un poly (téréphtalate d'éthylène) (PET) et un copolymère d'oléfine cyclique (TOPAS[®]) à des températures différentes. Ils ont montré que la sorption augmente quand la cristallinité du polymère diminue ; en effet, la sorption des solvants est plus importante pour le TOPAS[®] que pour le PET.

D'autres recherches ont confirmé ces résultats [104-106]. Par exemple, Sammon et al. [104] ont montré que la sorption du méthanol dans le PET est fonction du degré de cristallinité du polymère et qu'elle s'accompagne du gonflement du polymère ; au contraire, l'eau qui ne fait pas gonfler le polymère, ne diffuse pas de manière importante.

L'absorption des principes actifs dans des polymères amorphes (tels que le PVC souple) est aussi plus importante que dans des polymères semi-cristallins (polyoléfines). Treleano et al. [107] ont montré une absorption plus élevée de nitroglycérine et diazépam dans des matériaux

comme l'EVA (Ethylène Vinyle Acétate) ou le PU par rapport au PVC. En revanche, cette absorption était moins importante dans le PE ou dans le PP. Ce résultat a déjà été confirmé par Tchiakapé et al. [108] qui ont révélé que le diazépam présentait une absorption plus importante dans le PVC par rapport au Stédim 6[®], qui est un nouveau matériau de conditionnement à base de PE. Par ailleurs, la présence d'additifs dans le matériau, comme par exemple les plastifiants, influence aussi la mobilité des chaînes et donc la T_g . Ainsi la quantité de plastifiant joue un rôle important dans l'absorption de principes actifs. Ce rôle a été mis en évidence par Treleano et al. [107] ; selon ces auteurs, le PVC le plus rigide (i.e. qui contient moins de plastifiant) présente une plus faible absorption de nitroglycérine et de diazépam par rapport au PVC souple (qui contient une quantité élevée de plastifiant).

II.5.2 Taille et forme de la molécule qui diffuse

La vitesse de diffusion d'une molécule dépend de sa masse molaire (qui influence sa taille) ainsi que de sa forme. Autrement dit, elle dépend du volume spécifique de la molécule [109]. En effet le coefficient suit une loi de type Arrhénius

$$D=D_0 \exp^{(-E/RT)} \quad (4)$$

D_0 est le facteur pré-exponentiel de diffusion, E l'énergie d'activation, R la constante des gaz parfaits et T la température.

L'énergie d'activation E peut se définir comme l'énergie nécessaire pour que la molécule se déplace par saut, et est proportionnelle au volume nécessaire à la molécule pour se mouvoir.

Selon Limam et al. [103], la taille du solvant joue un rôle crucial sur sa diffusion dans le matériau ; plus le solvant est petit, plus la sorption est importante. En effet, ils ont montré que la diffusion de butanol dans le PET est plus importante que celle de l'octanol.

L'influence de la taille a également été mis en évidence par Schwope et al.[88]. Selon ces auteurs la migration du BHT, qui est le mono phénol constitutif de l'Irganox 1010[®], dans des solutions de mise en contact avec le LDPE est plus rapide par rapport à celle de l'Irganox 1010[®].

De même, comme on peut le voir sur la Figure 17, l'Irgafox 168[®], qui possède une masse molaire plus petite que l'Irganox 1010[®], migre plus rapidement [102].

II.5.3 Interaction polymère/migrant/solution

La migration des CFMM dépend de la nature du milieu en termes de polarité et de lipophilie. Parmi les CFMM il existe de nombreux additifs ; ces derniers ont en général un caractère lipophile ; leur migration est donc favorisée en présence d'un milieu lipophile et est inversement limitée en solution aqueuse.

La recherche des antioxydants dans des solutions aqueuses de simulation alimentaire mise en contact avec des films de polyéthylène de basse densité (LDPE), a montré, qu'à l'exception de l'Irgafos 168[®] et de l'Ethanox 330[®] qui sont détectés à l'état de traces, les autres antioxydants ne sont pas détectés [110]. Au contraire, certains de ces antioxydants ont été trouvés à un taux plus important pour des matrices polyoléfiniques mises en contact avec un milieu lipophile [102].

Le même effet a été observé pour les plastifiants qui, insolubles dans l'eau, ne sont normalement pas extraits au contact de solutions de perfusion aqueuses préparées dans des poches de PVC. Cependant, quand des excipients sont ajoutés aux solutions de perfusion pour favoriser la solubilité d'un principe actif en augmentant le caractère lipophile de la solution, la migration des plastifiants peut se produire. L'exemple le plus connu est la migration de quantités importantes de DEHP dans une solution de perfusion parentérale de Paclitaxel[®] préparée dans des poches de PVC à cause de la présence de deux excipients essentiels pour la solubilisation du Paclitaxel[®], qui sont le cremophor et l'éthanol [111]. Allwood et al. ont montré que plus la solution est concentrée en Paclitaxel[®], et donc en excipients, plus la migration est importante.

De même, Faouzi et al. [112] ont montré que la libération de DEHP dans des solutions de quinine augmente quand ces solutions sont mélangées avec d'autres médicaments qui augmentent leur caractère lipophile.

De plus, la présence d'un plastifiant dans le polymère influence le phénomène d'absorption de principe actif car il modifie le caractère lipophile et la polarité du matériau et entraîne ainsi une modification du coefficient de partage. Selon Airaud et al. [113], une absorption de 6 à 7 % d'hydrochlorure de clomipramine, qui est une molécule hydrophobe, a été observée avec des poches de PVC plastifié ; en revanche avec des poches de Stedim 6[®], aucune absorption n'a été détectée.

Dans le cas du PVC, le coefficient de partage diminue de la nitroglycérine au dinitrate d'isosorbide et au dinitrate d'éthylène glycol [114] : la molécule de trinitrine contient en effet trois groupements NO_2 alors que les dinitrates, qui ont une affinité plus faible, n'ont que deux groupements NO_2 . Le mononitrite d'isosorbide quant à lui ne se fixe pas sur les matériaux plastiques. La substitution du groupement NO_2 par le groupement OH augmente le caractère hydrophile du principe actif et la possibilité de former des liaisons hydrogène avec la phase aqueuse. En raison de cette forte affinité pour le solvant, la fixation de cette molécule par le matériau n'est pas favorisée.

De la même façon Smith et al. [55] ont prouvé que plus le principe actif est hydrophobe (un coefficient de partage octanol/eau élevé), plus il se fixe sur des cathéters de PU.

II.5.4 Durée de contact

La migration des additifs dépend de la durée de mise en contact du couple formulation/conditionnement.

Comme le montre la Figure 18, la quantité libérée de DEHP à partir du PVC dans des formulations pharmaceutiques à base de quinine, est fonction du temps de mise en contact : après 8 heures de stockage, la quantité libérée est de $3 \mu\text{g.mL}^{-1}$ alors qu'après 4 jours elle est de $21 \mu\text{g.mL}^{-1}$ [112].

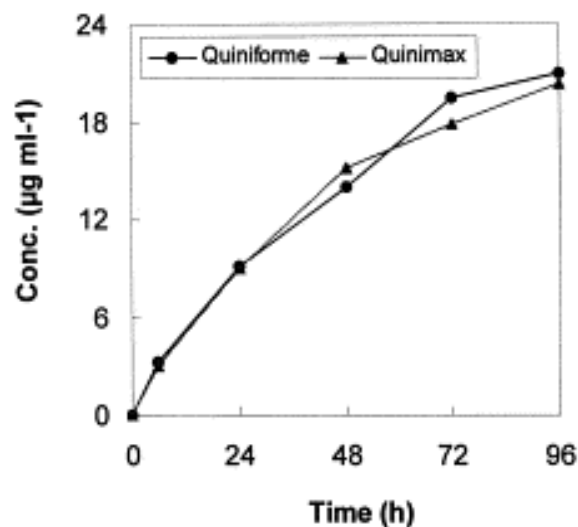


Figure 18 : Concentration de DEHP ayant migré d'une poche de perfusion en PVC dans des solutions à base de quinine (500 mg de Quiniforme, 400 mg de Quinimax) [106].

De même, la migration des antioxydants Irganox 1010[®] et Irgafos 168[®] à partir des matrices polyoléfiniques vers une préparation huileuse augmente avec le temps de stockage [102].

II.5.5 Température de stockage

Il existe une influence de la température. Concernant la vitesse de diffusion, cette dépendance est régie par la loi d'Arrhenius [89, 115], précédemment citée (équation N° 4).

Ainsi, la température favorise la cinétique de migration des additifs : plus la température de stockage est élevée, plus la migration des additifs est rapide. La température peut par ailleurs faire varier le coefficient de partage (constante d'équilibre) et donc influencer les concentrations à l'équilibre dans le matériau et la solution. Plusieurs exemples dans la littérature montrent l'effet de la température sur la migration des additifs et de leurs produits de dégradation. Marcato et al. [102] ont montré que la libération des antioxydants est plus importante à 50 °C qu'à 25 °C. Hakkarainen et al. [116] ont caractérisé la migration de plusieurs composés de faible masse molaire libérés par un PVC plastifié avec un nouveau plastifiant, le polycaprolactone-polycarbonate (PCL-PC) et ce, après un stockage dans l'eau à différentes températures (37, 70 et 100 °C). Les composés détectés après mise en contact sont identifiés comme des produits de dégradation et d'hydrolyse de ce plastifiant. Parmi ces composés on trouve notamment de l'acide hydroxyhexanoïque. Après stockage à 37 et 70 °C, il migre en petites quantités, mais son relargage augmente significativement après stockage à 100 °C (Figure 19).

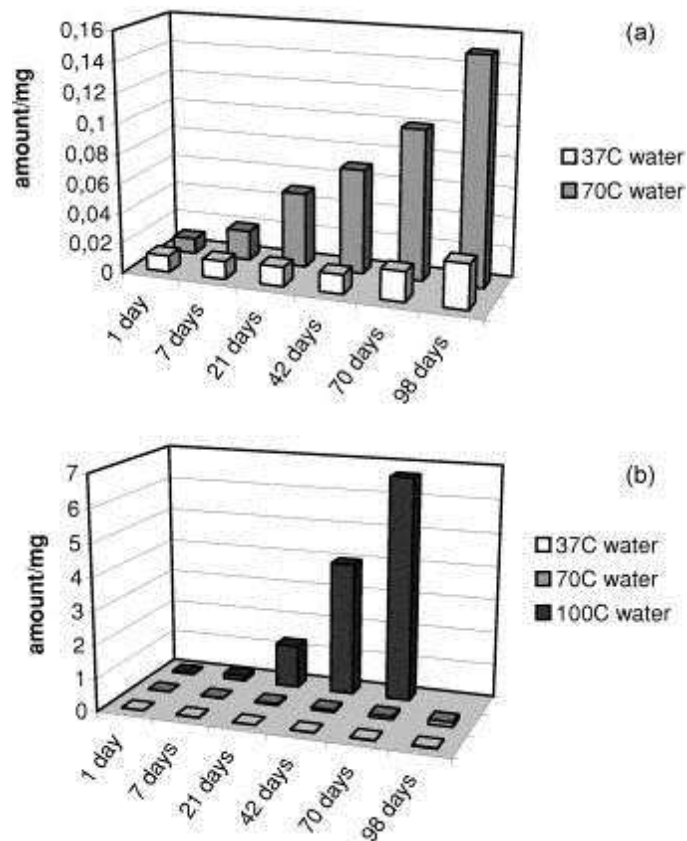


Figure 19 : Quantité d'acide hydroxyhexanoïque ayant migré à partir du PVC plastifié par le PCL-PC après stockage dans l'eau à (a) 37 et 70 °C et (b) 37, 70 et 100 °C [107]

II.5.6 pH

Le pH de la solution peut lui aussi influencer les phénomènes de migration et de sorption. Un effet du pH a notamment été mis en évidence sur l'absorption des principes actifs acides ou basiques qui s'ionisent plus ou moins selon le pH de la solution. Quand le pH de la solution favorise l'ionisation du principe actif, son absorption dans le matériau est défavorisée car les principes actifs s'absorbent sous forme moléculaire.

Plusieurs exemples dans la littérature ont évoqué cet effet : le thiopental qui est un barbiturique à caractère acide faible (pK_a égal à 7.6), présente un taux de fixation maximal dans le PVC à $pH < 6$ selon Illume et al. [117]. À ce pH, ce composé existe à plus de 97 % sous forme non ionisée. Martenes et al. [51] ont également montré que l'absorption de thiopental peut atteindre 73 % pour des solutions à $pH=4$ et peut être nulle à $pH=9.1$. Un

phénomène d'absorption pH-dépendant a été mis en évidence pour d'autres principes actifs comme la warfarine [49] et la chlorpromazine [117].

II.5.7 Effet de l'irradiation

L'irradiation joue un rôle très important sur la migration des additifs et de leurs produits de dégradation. Ce rôle peut favoriser ou limiter la migration; ceci dépend :

- du type d'additif utilisé.
- de la dose d'irradiation : elle détermine le type d'effet que produit l'irradiation sur le polymère (scissions ou réticulation des chaînes).

Ainsi, Zygoura et al. [118] ont étudié l'effet de l'irradiation par rayonnement ionisant sur la migration de deux plastifiants du PVC, le di-(2-éthylhexyl) adipate (DEHA) et l'acétyltributyle citrate (ATBC) dans des solutions aqueuses de simulation alimentaire, et ont montré que la migration du DEHA et de l'ATBC augmente significativement après irradiation (25 kGy). Cette augmentation peut être expliquée, en partie, par la scission des chaînes macromoléculaires de polymère induite par l'irradiation aux doses indiquées. Une telle dégradation du polymère provoque l'augmentation de son volume libre, ce qui favorise la migration des plastifiants.

En revanche, l'irradiation du PVC à des doses plus élevées (> 100 kGy) conduit à une réticulation de la structure de polymère, ce qui aboutit à diminuer le taux de migration des plastifiants en raison de la diminution du volume libre dans le polymère et de la dégradation conjointe du plastifiant à ces doses élevées [119].

En ce qui concerne l'effet de l'irradiation sur la migration des antioxydants et de leurs produits de dégradation, les nombreuses recherches menées dans ce domaine ont mis en évidence [120-126] une diminution de la migration des antioxydants en fonction de la dose d'irradiation en raison de leur dégradation par le traitement.

Jeon et al. [125] ont quantifié l'Irgafos 168[®] et l'Irganox 1076[®] ayant migré d'une matrice de polyéthylène linéaire basse-densité (LLDPE) irradiée à des doses allant de 0 à 200 kGy vers différentes solutions de simulation alimentaire; l'Irgafos 168[®] n'est pas détecté dans

les solutions de simulation tandis que le taux de migration de l'Irganox 1076[®] diminue avec l'augmentation de la dose d'irradiation. Après migration, les composés se décomposent dans le milieu par la radiolyse ou par d'autres processus de dégradation. De plus Jeon et al. [125] ont identifié dans le matériau deux produits de dégradation : le 2,4-di-tert-butylphénol et 1,3-di-tert-butylbenzène, dont la concentration augmente avec la dose d'irradiation. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Stoffers et al. [124] et Welle et al. [123] qui ont montré que le teneur en antioxydants dans les polyoléfines diminuait avec la dose d'irradiation, et que ceci entraînait une diminution du taux de migration de ces antioxydants; cependant les produits de dégradation ayant migré étaient à l'état de traces dans le milieu de mise en contact selon Welle et al. [122].

II.6 Conclusion

Cette partie bibliographique nous a permis de mettre en évidence les différents types d'interactions possibles entre les médicaments et leurs conditionnements.

Le phénomène de migration à partir du matériau plastique vers les formulations pharmaceutiques est l'une des interactions les plus importantes car elle peut être à l'origine d'une toxicité potentielle de la formulation pharmaceutique. La sorption des principes actifs dans la matrice polymère influence quant à elle l'efficacité des médicaments.

Quel que soit le type d'interaction, le mécanisme mis en jeu implique un phénomène de diffusion. La cinétique plus ou moins rapide de la diffusion, détermine l'importance du phénomène étudié, qui dépend aussi du coefficient de partage entre la formulation et le matériau.

D'une manière générale, les facteurs influençant les interactions médicaments/matériaux sont surtout liés aux propriétés physico-chimiques des matériaux et/ou des principes actifs, ainsi qu'à la nature du milieu et aux conditions de stockage.

De très nombreuses molécules pharmaceutiques sont concernées par ces interactions, ainsi qu'une très grande variété de matières plastiques.

C'est pour cela que l'étude de ces interactions est indispensable chaque fois qu'un matériau plastique est destiné à être mis en contact avec une formulation pharmaceutique ou avec des

milieux biologiques, et ce, afin de s'assurer de la qualité de la compatibilité et par conséquent de prouver la sécurité d'emploi du produit de santé.

Les copolymères d'oléfines cycliques sont des matériaux plastiques relativement récents; très peu d'études à notre connaissance ont évoqué les phénomènes de diffusion et d'interactions de ce type de polymère avec des médicaments. Hussein et al. [127] ont étudié les effets des COC utilisés comme un matériau de stockage sur l'activité enzymatique d'un modèle protéine lysozyme. Saunier et al. [128] ont mis en évidence une migration de l'antioxydant Irganox 1010[®] à partir de COC stockées dans des solutions de polarités différentes et à différentes températures. Etudier la migration et les interactions possibles des COC avec des principes actifs et plus précisément étudier l'effet de la stérilisation par rayonnement ionisant sur les interactions possibles entre conditionnement/médicaments est donc un point particulièrement crucial qui fera l'objet de ce travail de thèse. En effet, la radio-stérilisation est connue pour modifier les propriétés des matériaux et leurs comportements vis-à-vis des solutions en contact.

Dans le chapitre suivant, nous allons évoquer les différents types de stérilisation des matières plastiques et surtout la radio stérilisation et ses effets sur les matériaux.

Chapitre III : La stérilisation

III.1 Introduction générale et définition de la stérilisation

Selon l'AFNOR (l'Agence Française des Normes), la stérilisation est « la mise en œuvre d'un ensemble de méthodes et de moyens validés visant à supprimer tous les micro-organismes viables, de quelque nature que ce soit et sous quelque forme que ce soit, portés par un objet parfaitement nettoyé » (NF EN556).

Un objet est considéré comme stérile lorsqu'il est exempt de tout micro-organisme, mais comme il est impossible en pratique de détecter de très faibles niveaux de contamination et de vérifier la stérilité de tous les articles traités, la notion de stérilité requise et décrite dans les textes réglementaires est basée sur une fonction de probabilité. En effet, selon la Pharmacopée Européenne [2], pour qu'un dispositif médical puisse être étiqueté « stérile », la probabilité théorique qu'un micro-organisme viable soit présent après processus de stérilisation, doit être inférieure à 10^{-6} . On parle alors de Niveau d'Assurance Stérilité (NAS= 10^{-6}), sachant qu'il a été montré que la mortalité des micro-organismes lors d'une stérilisation suit une évolution logarithmique.

III.2 Les différentes méthodes de stérilisation

On peut classer les méthodes de stérilisation en trois grands groupes : la stérilisation par effet thermique, la stérilisation par agents chimiques et la stérilisation par agents physiques. Aucune de ces méthodes n'est universelle, c'est-à-dire applicable à tous les types de produits. Le choix de l'une d'entre elle dépendra de plusieurs facteurs tels que la nature chimique du dispositif médical, sa sensibilité aux agents stérilisants ainsi que sa forme et la nature de son emballage. Par ailleurs, la méthode choisie peut être limitée par le fait que cette stérilisation doit être effectuée de manière répétée comme en milieu hospitalier par exemple.

III.2.1 Stérilisation par la chaleur

La stérilisation par la chaleur est l'une des premières méthodes utilisées pour obtenir la stérilité. Elle est principalement appliquée pour stériliser des dispositifs médicaux métalliques et des contenants en verre tels que les ampoules et les flacons. On peut distinguer deux types de stérilisation par la chaleur : stérilisation par la chaleur sèche et stérilisation par la chaleur humide. Il convient de noter que même si l'appareillage et

les procédés de mise en œuvre de ce type de traitement ont largement évolués depuis leur première mise au point, leur principe quant à lui est resté le même.

III.2.1.1 Stérilisation par la chaleur sèche

Ce mode de stérilisation utilise un four dépourvu d'humidité, appelé aussi four Pasteur ou étuve Poupinel, qui est chauffé à une température donnée pendant un temps défini. Étant donnée la mauvaise conductibilité de l'air sec, ce four doit être muni d'un système de ventilation en circuit fermé afin d'augmenter le coefficient de convection et ainsi permettre une meilleure répartition de la température dans l'ensemble du four. En général, les températures de stérilisation varient entre 140 et 180 °C selon le type et le degré de contamination initiale, tandis que la durée des cycles est comprise entre 30 minutes et 2 heures : elle dépend de la nature du matériel à stériliser, de son volume et de son conditionnement.

La chaleur sèche permet de stériliser par déshydratation suivie d'une oxydation des protéines constitutives des micro-organismes. Il faut noter que certaines bactéries peuvent développer une résistance par sporulation. La stérilisation dans ce cas n'est plus valide.

Cette technique de stérilisation est simple, mais elle est limitée car elle ne peut pas être utilisée pour des matériaux thermosensibles ou des polymères oxydables tels que les polyoléfines ; elle est aujourd'hui considérée moins fiable et plus difficile à contrôler que la stérilisation par chaleur humide, et elle n'est donc plus utilisée.

III.2.1.2 Stérilisation par chaleur humide

La stérilisation par la chaleur humide est réalisée dans un autoclave qui utilise la vapeur d'eau saturée sous pression comme agent stérilisant ; la chaleur, associée à l'humidité, provoquent la destruction des germes. C'est le mode de stérilisation le plus utilisé en milieu hospitalier (dans 90 % des cas) et il représente le premier choix pour le matériel résistant aux températures et pressions élevées.

La chaleur humide détruit les micro-organismes par coagulation de leur cytoplasme et dénaturation irréversible des enzymes nécessaires à leur métabolisme.

L'efficacité de cette méthode dépend de trois paramètres importants :

- la durée du cycle qui varie de 40 à 60 minutes avec une phase de stérilisation d'une durée inversement proportionnelle à la température. Les temps moyens sont de 20 minutes à 121 °C, 15 minutes à 126 °C ou 10 minutes à 134 °C
- le couple température/pression
- le pourcentage d'humidité du cycle.

Cette méthode est la méthode de référence de la Pharmacopée Européenne. En effet, c'est le procédé de stérilisation le plus fiable et le plus facile à contrôler ; il est peu coûteux, rapide et non toxique pour l'environnement ; il est applicable à quelques polymères connus pour être résistants à la chaleur tels que les silicones et les polymères fluorés. Mais cette technique ne convient pas aux polymères hydrolysables, facilement dégradables par l'eau ou aux matériaux thermolabiles, qui peuvent être dégradés ou déformés par la température.

III.2.2 Stérilisation par l'oxyde d'éthylène

L'oxyde d'éthylène est un éther cyclique dont la structure chimique est représentée dans la Figure 20. Il est gazeux à pression atmosphérique et à température ambiante.

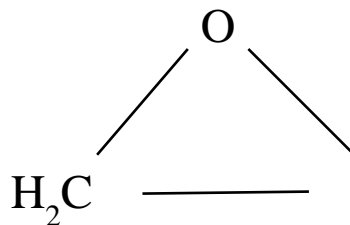


Figure 20 : Structure chimique de l'oxyde d'éthylène

L'oxyde d'éthylène a des propriétés bactéricides, virucides, sporicides et fongicides, mais il est inefficace vis-à-vis des Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC : des agents infectieux de nature protéique, qui ne sont ni des virus ni de bactéries (concept du prion) et sont à l'origine de plusieurs maladies humaines neurologiques). Son action stérilisante est due à son pouvoir alkylant vis-à-vis des groupes amines des acides nucléiques des microorganismes par l'ouverture de son cycle, ce qui lui permet aussi de participer à des réactions d'hydroxy-éthylation qui favorise son action.

L'efficacité de l'oxyde d'éthylène est fonction de 4 paramètres :

- la concentration en oxyde d'éthylène (en moyenne 400 à 1000 mg/L) qui est utilisé à l'état pur dans des appareils fonctionnant en dépression ou en mélange avec un gaz inerte tel que l'azote pour les appareils fonctionnant en surpression (1 à 6 bars),
- la durée de l'exposition (en moyenne 3 à 6 heures),
- la température (50 à 60°C),
- l'humidité relative : l'eau est indispensable à l'action stérilisante de l'oxyde d'éthylène (30 à 60 % d'humidité relative).

Cette méthode de stérilisation est peu coûteuse et permet de stériliser les produits thermosensibles car elle se déroule à une température relativement faible par rapport aux techniques présentées précédemment. Mais elle présente néanmoins de nombreux inconvénients :

- L'oxyde d'éthylène est inflammable à l'air à partir d'une concentration supérieure à 3 %, c'est la raison pour laquelle il est utilisé sous pression réduite, pur ou mélangé avec un gaz inerte tel que l'azote.
- Il possède des propriétés cancérigènes et mutagènes, et peut entraîner des irritations des muqueuses oculaires et respiratoires, des nausées, des vomissements et des troubles nerveux.
- L'oxyde d'éthylène est rapidement absorbé par la plupart des matériaux plastiques, il peut ainsi réagir avec les molécules de polymères et forme des composés toxiques, ce qui est dangereux pour les manipulateurs et pour le patient.

Pour toutes ces raisons, une désorption des produits stérilisés est nécessaire après chaque cycle afin d'éliminer tout résidu toxique.

En effet, l'oxyde d'éthylène piégé dans le matériau après une mauvaise désorption peut entraîner chez le patient des problèmes sanguins graves tels que des syndromes hémorragiques ou encore des fibrinolyse. C'est pourquoi les autorités réglementaires limitent de plus en plus l'utilisation de cette méthode aux matériaux qui ne peuvent pas supporter les autres techniques de stérilisation.

III.2.3 Stérilisation par gaz plasma

Le plasma est un gaz dont les atomes et les molécules sont excités et/ou ionisés. Il est obtenu par l'intermédiaire d'un gaz qui reçoit de l'énergie par l'action d'une décharge ; cette dernière peut être produite par différents moyens : des ondes radios, des micro-ondes, des décharges

couronne ou des décharges à barrière diélectrique. Différents types de gaz peuvent être utilisés : des gaz inertes tels que l'argon ou l'hélium, des gaz comme par exemple l'oxygène ou l'azote, l'air, l'hydrogène, la vapeur d'eau, ou des agents stérilisants tels que le peroxyde d'hydrogène ou l'acide peracétique.

On peut distinguer deux types de plasma : le plasma direct (le traitement se produit dans le plasma) et le plasma différé (le traitement s'effectue dans la zone de post décharge). Pour le plasma en mode direct, les espèces réactives sont les ions, les photons et des espèces neutres, tandis qu'en mode différé seuls les photons et les espèces neutres ont une action.

La stérilisation par plasma est un procédé non toxique comparé à l'oxyde d'éthylène. C'est un procédé particulièrement intéressant pour les matériaux thermosensibles. Il est préconisé pour les promédicaments. Mais cette technique possède l'inconvénient de modifier la surface des matériaux entraînant ainsi une variation possible des propriétés de biocompatibilité du matériau.

III.2.4 Stérilisation par les rayonnements ionisants (RI)

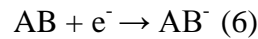
La stérilisation par rayonnements ionisants peut être une méthode de choix alternative dans le cas où les autres méthodes ne peuvent être utilisées. Cette méthode est actuellement largement utilisée dans différents secteurs de l'industrie (pharmaceutique, médical, alimentaire...) [129, 130], car elle possède un pouvoir pénétrant qui permet la stérilisation de produits préalablement conditionnés dans un emballage étanche.

L'effet des radiations ionisantes sur les micro-organismes est essentiellement dû à des modifications chimiques de l'ADN et l'ARN qui entraînent une inhibition de la croissance pour de faibles doses, puis la mort des cellules pour la dose stérilisante. A ces effets directs des radiations ionisantes, viennent s'ajouter les effets indirects liés à la radiolyse de l'eau qui est le constituant majoritaire des micro-organismes.

Les rayonnements ionisants produisent des ionisations dans la matière qu'ils traversent. L'ionisation est la conséquence d'un transfert d'énergie du rayonnement aux atomes irradiés conduisant, quand elle est suffisamment forte, à l'éjection d'un électron de son orbitale et donc à l'ionisation de la cible traitée (ion positif) :



Comme l'énergie délivrée est supérieure à celle de la liaison de l'électron avec l'atome, l'excédent d'énergie est transmis par l'électron éjecté (secondaire) sous forme d'énergie cinétique. Aussi, l'électron en question est accéléré et va, à son tour, produire d'autres ionisations pour être finalement capté par un autre atome, ce qui aboutit ainsi à la formation d'un ion négatif :



Cependant, lorsque l'énergie absorbée est insuffisante et ne permet pas d'éjecter un électron, une modification de type excitation est obtenue :



L'ionisation et l'excitation sont des réactions dites primaires. Elles dépendent de l'énergie du rayonnement et sont en équilibre avec d'autres réactions secondaires plus complexes. Ces derniers sont responsables de l'ensemble des modifications physico-chimiques de la matière soumise aux rayonnements ionisants. Ces réactions secondaires ont lieu en raison de l'instabilité des espèces formées et elles conduisent à des réarrangements par recombinaison, dissociation et formation de radicaux libres.

En radio-stérilisation, deux catégories de rayonnements ionisants sont utilisées :

- Les rayonnements d'origine électromagnétique telle que l'irradiation gamma (γ).
- Les rayonnements d'origine corpusculaire tels que les faisceaux d'électrons accélérés (EA) encore appelés irradiation bêta (β).

La dose de rayonnement absorbée à laquelle les produits doivent être soumis doit permettre la destruction totale des micro-organismes. Avant de revenir sur ces deux types de rayonnements ionisants nous allons définir quelques grandeurs caractéristiques :

- **Energie d'un rayonnement :**

Exprimée en électronvolts (eV), elle détermine, en partie, le pouvoir de pénétration du traitement.

- **Dose absorbée :**

La dose absorbée par un échantillon est la quantité d'énergie absorbée par la cible par unité de masse. Son unité est le Gray (Gy), qui représente l'absorption d'une énergie d'un Joule par kilogramme de matière. ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg} = 6,24 \cdot 10^{18} \text{ eV/kg}$).

Il faut noter que la dose de stérilisation recommandée par les autorités réglementaires européennes est de 25 kGy [2].

- **Débit de dose :**

Le débit de dose correspond à la dose absorbée par unité de temps, (la vitesse à laquelle l'énergie est absorbée par la cible) et se mesure en Gy/s (seconde).

III.2.4.1 Les rayonnements électromagnétiques – Irradiation gamma (γ)

La découverte des rayons gamma est due à Paul Villard, chimiste français (1860-1934). Le premier stérilisateur utilisant les rayons gamma a été développé par Ethicon (Johnson and Johnson) et a été commercialisé en 1956 [131].

Les rayons gamma sont des ondes électromagnétiques de courtes longueurs d'onde comprises entre 10^{-10} et 10^{-14} m. Ils sont de grande énergie et sont obtenus à partir d'éléments radioactifs (les plus couramment utilisés sont le Cobalt 60 et le Césium 137). La désintégration de ces noyaux atomiques libère des photons d'énergie de l'ordre du MeV. Les rayonnements gamma ont un pouvoir de pénétration très important. Ils interagissent avec la matière via trois mécanismes principaux : l'effet photoélectrique, la diffusion Compton et la production de paires électron-positron. En plus de ces trois mécanismes, un rayonnement dit de freinage (Bremsstrahlung) peut intervenir : il correspond à une émission de rayons X.

III.2.4.2 Les rayonnements corpusculaires – électrons accélérés

Ils correspondent à des faisceaux d'électrons générés par une cathode portée à une forte intensité et accélérés par une tension électrique et des accélérateurs à ondes hyper fréquentielles. Ceux-ci permettent d'atteindre des énergies considérables mais limitées, dans le cas de la radio stérilisation, à quelques MeV (10 MeV).

A chaque collision avec les électrons des atomes de la matière cible, les électrons incidents de grande énergie (électrons primaires) perdent une partie de leur énergie cinétique, entraînant la libération des électrons dits secondaires et par conséquent produisent une ionisation. Ces électrons secondaires peuvent avoir suffisamment d'énergie pour générer d'autres réactions d'ionisation en cédant à chaque collision une partie de leur énergie. Comme dans le cas des rayonnements gamma, un second mécanisme se traduit par l'émission de rayonnement de freinage lors du passage des électrons au voisinage des atomes.

Le pouvoir pénétrant des électrons accélérés est plus faible que celui des rayonnements gamma ; il dépend de l'énergie du flux des électrons et de la nature (densité) du produit traité.

En conclusion, les rayonnements gamma permettent la stérilisation de produits de densité élevée mais ils nécessitent des temps d'exposition relativement longs (faible débit dose : quelques kGy/heure). En revanche, la stérilisation par électrons accélérés, du fait de son faible pouvoir pénétrant, ne permet de stériliser que des produits de faible densité mais son débit de dose élevée (de l'ordre de quelques kGy/s) permet de réaliser une stérilisation en des temps plus courts [132].

Outre leur action stérilisante, les rayonnements ionisants peuvent conduire à des modifications physico-chimiques des matériaux constitutifs des dispositifs médicaux et du conditionnement. Ces modifications sont la conséquence de différentes réactions complexes qui dépendent de plusieurs paramètres que nous allons maintenant détailler.

III.3 L'effet de la stérilisation par rayonnements ionisants sur les polymères

Le comportement des polymères vis-à-vis des rayonnements stérilisants est un sujet très important qui a été largement rapporté dans la littérature [133-135]. En général, on peut classer les polymères en trois catégories selon leur résistance aux rayonnements stérilisants :

- Les polymères peu résistants : ils se dégradent sous rayonnement pour une dose de 25 kGy [polytétrafluoroéthylène (PTFE), polyvinyliques (PVC) et polyméthacrylate de méthyle (PMMA)].

- Les polymères résistants : ils peuvent subir un ou plusieurs cycles de stérilisation [Polyéthylène (PE), cellulose et dérivés, polymères fluorés autres que PTFE, polyacryliques autres que PMMA, silicones, polyuréthanes (PU)...].
- Les polymères très résistants : ils peuvent subir de nombreux cycles de stérilisation en ne présentant que des altérations modérées [Polystyrène (PS) et autres polymères aromatiques, polyéthylène téréphtalate (PET) et polycarbonates (PC) aromatiques...].

Quel que soit le type de polymère, les principales modifications chimiques qui peuvent avoir lieu sous l'effet des rayonnements ionisants sont les suivantes :

- Phénomènes de scission (coupure de chaînes) et de branchement voire de réticulation des chaînes de polymères : ces modifications, responsables du changement des propriétés physiques du polymère [136], sont simultanées : il y a compétition entre les scissions et le branchement. Cependant, un processus prédomine généralement sur l'autre. Bien qu'il n'existe pas une règle structurale simple pour prédire la réaction prédominante, la scission prédomine généralement sur le branchement dans le cas des polymères ramifiés ou ayant un carbone substitué (tel que le polyméthacrylamide) ; en revanche, le branchement serait majoritaire pour les polymères comportant des carbones peu ou pas substitués (tels que le PE et le PP).
- La formation de gaz et de composés de faible masse molaire issus de la radiolyse [137].
- La formation de doubles liaisons.
- En présence d'oxygène, la scission oxydative des chaînes aboutit à la formation de peroxydes, d'alcools, de carbonyles et de nombreux composés de faible masse molaire contenant de l'oxygène.
- Les radicaux libres créés par irradiation peuvent être piégés dans le polymère et entraîner son vieillissement post-irradiation.

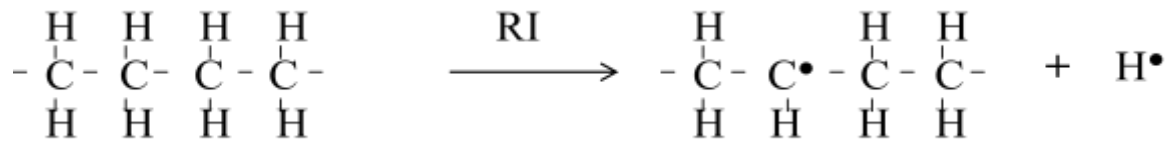
L'importance des modifications induites par l'irradiation dépend de différents facteurs tels que l'arrangement des chaînes du polymère aboutissant aux zones amorphes ou cristallines, la

présence d'additifs comme les antioxydants et les conditions d'irradiation (dose absorbée, type de rayonnements, atmosphère d'irradiation, débit dose, etc...).

Afin de mieux comprendre ces modifications, les réactions primaires des rayonnements doivent être observées à basse température en absence d'oxygène afin que les autres possibilités de conversion de l'énergie comme les mouvements moléculaires ou la formation de composés oxydés soient bloqués. En prenant comme exemple le polyéthylène [136], on peut distinguer les réactions suivantes :

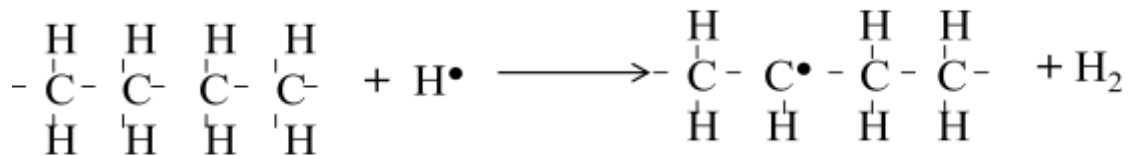
- Réaction 1 : Scission de liaisons C-H

L'énergie absorbée par le polymère sous rayonnement étant plus importante que l'énergie de la liaison C-H, cette dernière est susceptible d'être rompue lors de l'irradiation. La scission de liaison C-H est favorisée par rapport à celle de la liaison C-C [138]. Il y a alors formation d'un radical H• et d'un radical alkyle (R•).



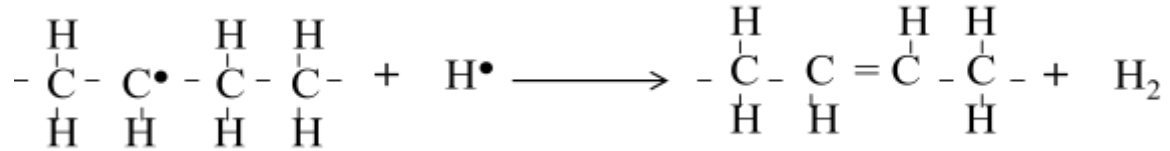
Le radical libre H• a suffisamment d'énergie cinétique pour arracher un autre atome d'hydrogène et produire une molécule dihydrogène, ou alors pour se lier à un autre H radicalaire

- Réaction 2 : formation d'une molécule dihydrogène



Plusieurs réactions de recombinaison peuvent alors se produire :

- Réaction 3 : formation d'une double liaison



- Réaction 4 : recombinaison de deux macro-radicaux aboutissant à la réticulation des chaînes.
- Réaction 5 : scission de la chaîne principale du polymère.

Ces deux dernières réactions sont détaillées ci-dessous.

III.3.1 Scission, oxydation des chaînes et formation de produits volatils issus de la radiolyse

La scission du polymère se produit quand le carbone de la chaîne principale du polymère est encombré stériquement. La présence de groupements encombrants rend en effet difficile la recombinaison des radicaux de la chaîne principale.

La scission des chaînes de polymère est caractérisée par une diminution de la masse molaire du polymère, mesurée par Chromatographie d'Exclusion Stérique (CES). En outre, plusieurs propriétés des polymères dépendent de la masse molaire et donc changent avec la scission des chaînes. Par exemple, la résistance à la traction diminue après la scission et la vitesse de dissolution dans les solvants augmente.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'irradiation des polymères en milieu inerte conduit à une scission et/ou à une réticulation. Toutefois, selon la structure du polymère l'une ou l'autre prédomine. En présence d'oxygène, l'impact de l'irradiation sera différent. Ainsi, dans le cas des polymères ayant une structure qui favorise la scission ou dans le cas des polymères amorphes, l'oxygène interfère avec le processus menant à la scission en réagissant avec les radicaux formés : des peroxydes sont ainsi créés au niveau des points de rupture, ce qui diminue la coupure de chaînes. Ce type de comportement est rencontré dans le cas du PMMA (poly méthacrylate de méthyle).

En revanche, dans le cas des polymères qui subissent essentiellement une réticulation, l'oxygène favorise les réactions de scission [139, 140].

La scission par oxydation est déclenchée par une réaction entre une molécule d'oxygène et un radical libre qui aboutit à la formation d'un radical peroxyde (POO°). Ce radical subit à son tour d'autres réactions d'arrachement d'hydrogène et de combinaison et conduit à la dégradation du polymère et à la formation de nombreux produits d'oxydation : hydroperoxydes (POOH), peroxydes (POOP), aldéhydes, esters, cétones, acides carboxyliques et alcools [141] (Figure 21).

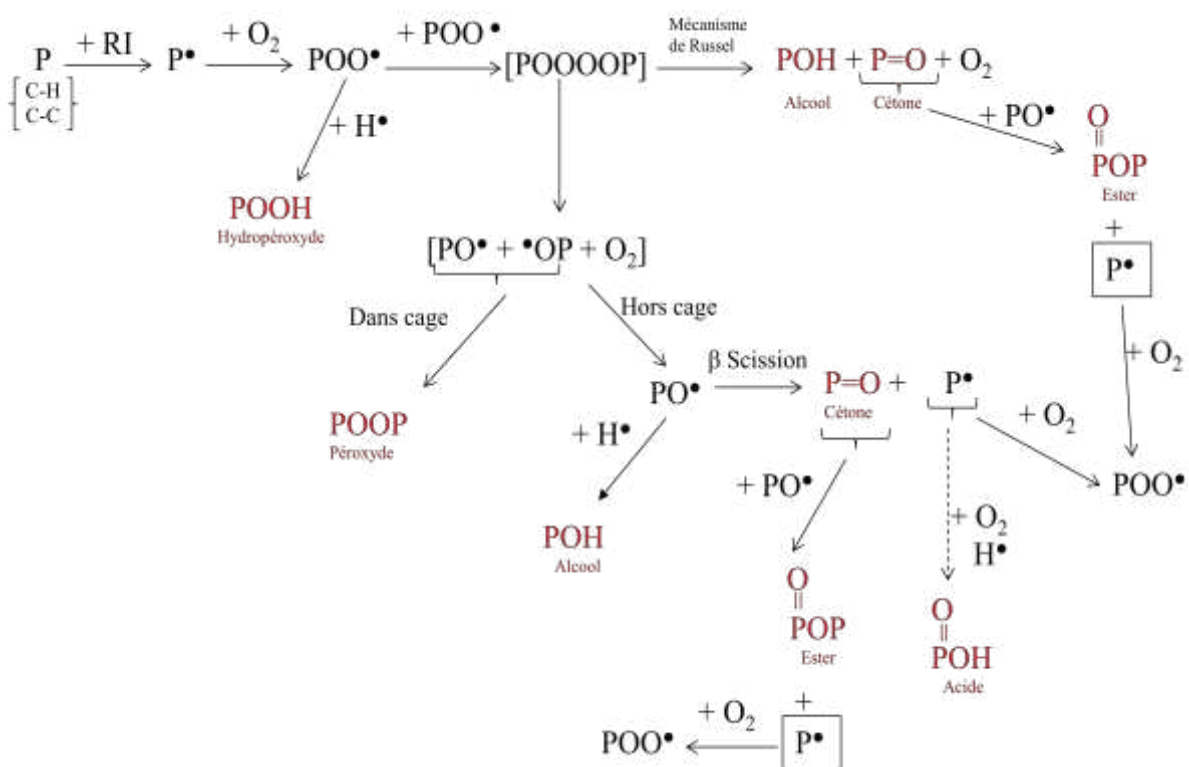


Figure 21: Mécanismes d'oxydation des polymères (P) [141].

Ces produits de dégradation peuvent être mis en évidence par une analyse par Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF), qui montre l'absorption de bandes de vibration entre 1710 et 1720 cm^{-1} , caractéristiques du groupement fonctionnel $-C=O$ et dont l'intensité augmente avec la dose d'irradiation, et d'autres vers 3500 cm^{-1} caractéristiques du groupement hydroxyles.

De plus, en raison de leur faible masse molaire, certains de ces composés sont volatils, ce qui permet de les détecter et de les identifier par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Azuma et al. [142] ont ainsi détecté plus de 100 produits de dégradation dans un échantillon de LDPE irradié aux électrons accélérés à température ambiante ; Rojas de Gante et al. [143] ont obtenu des résultats similaires.

La formation de ces produits d'oxydation et leurs quantités dépendent de plusieurs facteurs tels que la dose absorbée et la concentration d'oxygène dans l'atmosphère : ainsi, Rojas de Gante et al. ont étudié la quantité d'acides carboxyliques formés après irradiation et ont trouvé qu'elle augmentait avec la dose d'irradiation et la concentration en oxygène [143]. Ce résultat a été confirmé par Azuma et al. [144] qui ont montré que la formation d'acides carboxyliques dépend de la température et de l'énergie de l'irradiation. L'effet de la présence d'antioxydants dans le polymère a été évoqué par ces mêmes auteurs, qui ont montré que les antioxydants ajoutés au polymère diminuent remarquablement la formation de ces acides [145] mais entraînent la formation de produits de dégradation eux aussi volatils et détectés par CPG.

Le type d'irradiation utilisé (électrons accélérés ou rayonnement gamma) joue aussi un rôle important dans l'oxydation : cela est dû à la différence du débit dose qui caractérise ces deux types de rayonnements ionisants. Sous électrons accélérés, la formation de radicaux libres et les réactions impliquant ces radicaux sont brèves et intenses ; par conséquent l'oxygène aura peu de temps pour diffuser au sein du polymère et réagir avec les radicaux. En revanche, l'irradiation gamma est caractérisée par un débit de dose moins important : les espèces réactives radio induites ont plus de temps pour réagir avec l'oxygène présent. Ainsi, Fintzou et al. [146, 147] ont comparé l'effet des deux types de stérilisation par irradiation sur les propriétés physico-chimiques et mécaniques de seringues de polypropylène en fonction de la dose d'irradiation. L'analyse par IRTF a montré la formation pour les deux types d'irradiation de groupements carbonyles dont l'intensité augmente en fonction de la dose ; cette intensité est plus importante dans le cas de l'irradiation gamma. La concentration des produits d'oxydation formés est aussi plus élevée pour ce type de rayonnements. Ces mêmes auteurs ont montré que l'irradiation sous vide entraîne des modifications moindres, comparées à celles obtenues en présence d'oxygène [148].

L'objectif de cette thèse est ainsi d'évaluer l'effet de l'irradiation par électrons accélérés sur les copolymères à base d'oléfines cycliques tant dans le volume qu'en surface, puis d'étudier l'effet de cette méthode de stérilisation sur les interactions possibles entre le conditionnement et le médicament.

2^{ème} partie : Partie Expérimentale

Chapitre I: Matériels et Méthodes

I.1 Matières premières

I.1.1 Copolymères

Nous avons choisi de travailler sur des copolymères à base d'oléfinés cycliques de type éthylène-co-norbornène qui sont employés dans l'élaboration des conditionnements de produits pharmaceutiques tels que les seringues pré-remplies et de dispositifs médicaux. Ces copolymères ont été fournis par la société Ticona (Allemagne) et sont commercialisés sous le nom de TOPAS[®].

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé deux grades de TOPAS[®] qui contiennent un taux différent de norbornène, le TOPAS[®] 6013 et le TOPAS[®] 8007. Ce dernier nous a été fourni selon deux formulations (S et D) ; le grade D correspondant au matériau qui contient un lubrifiant. Leurs caractéristiques sont données dans le tableau (3a). Ces grades nous ont été fournis sous la forme de granules d'environ 2 mm de diamètre, de plaques de 2 mm d'épaisseur et de films d'une épaisseur comprise entre 100 et 200 microns. La Figure 22 présente une photographie des différents échantillons.



Figure 22 : les différentes formes de COC utilisées dans l'étude (plaques, films, granulés)

Suivant l'étude réalisée, la technique d'analyse ou le procédé d'extraction sélectionné, l'une ou l'autre de ces formes a pu être privilégiée. Par exemple, pour l'analyse par CLHP et CES, les extractions ont été réalisées sur les granules, en revanche, pour l'IRTF, la mouillabilité et l'étude de l'adsorption, les films ont été utilisés. Enfin, pour l'analyse en microscopie IRTF, les plaques ont été coupées pour obtenir un morceau d'un millimètre d'épaisseur.

Par ailleurs, pour l'étude de la mouillabilité, en plus des films commerciaux extrudés, des films spincoateds ont été préparés au laboratoire. Le Tableau 3 (a et b) regroupe les différents

grades de COC utilisés dans cette étude, leurs caractéristiques ainsi que les analyses réalisées sur les différentes formes.

Grade de TOPAS [®]	8007/ S-41	8007/ D-61	6013/ T-12
Taux de norbornène (% masse molaire)	≈ 30	≈ 30	≈ 50
Taux de lubrifiant (% masse)	0	0.2	0
Température de transition vitreuse (T _g) (C°)	78	78	135

Forme de TOPAS [®]		Techniques analytiques utilisées et préparation des échantillons	Objectif de l'étude
Granules		<ul style="list-style-type: none"> - Extraction (dissolution /précipitation) - Dissolution, - stockage dans différents solvants. 	- Etude des composés de faible masse molaire et de leur migration
		AED (DSC).	Etude des propriétés thermiques
Films	Extrudés	IRTF (RTA et transmission), mouillabilité, SPX, AFM.	Etude de propriétés de surface et étude d'interaction avec les solutions pharmaceutiques
	Spincoatés	Mouillabilité et AFM	Etude de surface
Plaques		Microscopie IRTF.	Etude de surface

Tableau 3: Les différents grades de COC, leurs caractéristiques et les analyses réalisées sur les différentes formes.

I.1.2 Additifs

I.1.2.1 Antioxydants phénoliques (Irganox 1010[®] et BHT)

L'Irganox 1010[®] et le BHT dont les structures sont présentées en Annexe 1, sont des antioxydants primaires ajoutés aux polymères pour les protéger contre les dégradations causées par l'oxydation. En effet, ces antioxydants piègent les radicaux libres et inhibent la propagation des réactions d'oxydation en bloquant les radicaux alkyles et peroxydes.

L'Irganox 1010[®] et le BHT employés dans cette étude ont été fournis par la société Ciba (Suisse) et Sigma aldrich respectivement.

I.1.2.2 Lubrifiant (N, N'bis éthylène stéaramide)

Le bis éthylène stéaramide (BES) est un lubrifiant utilisé dans la fabrication des matières plastiques afin de limiter la friction de la matière sur l'outillage et pour diminuer l'échauffement au cours de la mise en œuvre. Sa structure chimique est présentée en Annexe 1.

Ce lubrifiant nous a été fourni par la société Sigma Aldrich (France).

I.1.3 Principes actifs et formulations pharmaceutiques

Afin d'étudier les interactions éventuelles et notamment l'adsorption et/ou l'absorption dans les matériaux, nous avons choisi deux molécules médicamenteuses (diazépam et chlorpromazine).

Ces deux molécules sont connues pour interagir avec les poches de PVC. Le diazépam appartient à la famille des benzodiazépines ; il est connu pour ses propriétés antianxiolytiques et anticonvulsivantes. Il est aussi utilisé pour ses propriétés sédatives, hypnotiques, et amnésiantes. Quant à la chlorpromazine, c'est un médicament de la famille des phénothiazines. Il est utilisé en psychiatrie pour ses diverses propriétés : sédative, calmante, antihypertenseur, antiémétique, mais surtout antipsychotique. La structure chimique de ces deux principes actifs est présentée dans l'Annexe 1.

Des solutions de ces deux principes actifs, à des concentrations de l'ordre de 40 µg/mL pour le diazépam et de 250 µg/mL pour la chlorpromazine, ont été préparées dans une solution

physiologique de NaCl 0.9 % (m/m) et dans un tampon acétate ou phosphate.

I.2 Traitement des échantillons par électrons accélérés

Selon leur forme, les différents grades de polymères ont été emballés, dans des sachets plastiques (granules et plaques) ou simplement roulés (films). Ils ont ensuite été stockés dans des cartons (un carton pour chaque dose d'irradiation) et envoyés à la société Ionisos (Chaumesnil-Troyes) pour réaliser l'irradiation.

Le procédé de stérilisation mis en œuvre utilise des électrons accélérés. Le rayonnement est émis par un accélérateur d'électrons. Les électrons émis sont de haute énergie (9.8 Mev +/- 0.2) et donc très pénétrants.

Un système automatique de convoyeur achemine les produits au centre de la cellule d'irradiation, puis les fait passer sous le faisceau d'électrons selon une vitesse appropriée de telle sorte qu'ils reçoivent une dose de 25 kGy.

Ce traitement est rapide, le temps d'exposition aux rayonnements ne dure que quelques secondes. La dose absorbée par le produit, exprimée en kiloGray (kGy), dépend essentiellement des facteurs suivants :

- la puissance et l'énergie du faisceau d'électrons,
- la vitesse de passage sous le faisceau,
- la composition et la densité des matériaux.

Les matériaux ont été soumis à trois doses d'irradiation (25, 75 et 150 kGy). 25 kGy est la dose de stérilisation recommandée par les autorités réglementaires (Pharmacopée Européenne) [2] pour la stérilisation des dispositifs médicaux et des produits pharmaceutiques. Les deux doses plus élevées ont été utilisées pour amplifier l'effet de l'irradiation sur ces matériaux.

Pour chaque dose, la société Ionisos nous a fourni un certificat de traitement sur lequel sont indiquées les conditions de traitement (le nombre de passage et la vitesse du convoyeur) ainsi que le relevé de dose (doses maximale et minimale contrôlées).

I.3 Conditions de stockage des échantillons

Après irradiation, les polymères irradiés ont été stockés à température ambiante, ce qui nous permettra plus tard d'étudier le vieillissement post-irradiation à long terme.

Pour l'étude du vieillissement post-irradiation dans les conditions accélérées, certains échantillons ont été stockés dans une étuve à 50 °C pendant plusieurs semaines.

La mise en évidence des migrants potentiels a été réalisée dans des flacons de verre. L'objectif était de mettre en contact le matériau (granules) avec 3 solvants de polarités différentes. Ces flacons ont été stockés à 50°C pour des durées allant de 1 à 3 mois. Les solvants choisis sont l'eau, le méthanol et le pentanol dont les polarités relatives sont de l'ordre de 1, 0.762 et 0.568 respectivement (selon Christian Reichardt [150]).

I.4 Préparations des échantillons

I.4.1 Extraction par dissolution-précipitation

Tous les matériaux, même ceux de grade médical, contiennent des extractibles qui peuvent être des résidus de synthèse (catalyseurs, monomères, solvants..), des additifs (plastifiants, antioxydants, lubrifiants...) ou des oligomères.

Afin d'analyser sélectivement ces extractibles et plus précisément les antioxydants, nous avons eu recours à une technique d'extraction pour les séparer de la matrice polymère. Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi la méthode par dissolution-précipitation dont le principe est de dissoudre le matériau à chaud et sous agitation dans un solvant approprié, puis de le faire précipiter avec un non-solvant. Le protocole de cette extraction est détaillé en Annexe 2.

I.4.2 Extraction par Soxhlet

Après irradiation à 150 kGy, le matériau était partiellement soluble dans le toluène. De ce fait, nous avons utilisé une méthode d'extraction par Soxhlet afin de calculer le taux de réticulation des chaînes polymères selon la formule suivante :

$$\text{taux de réticulation} = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (8)$$

où m_i est la masse initiale de polymère et m_f est la masse de polymère après extraction soxhlet.

Le principe de cette méthode est de placer une quantité connue de polymère (3 g) dans une cartouche de cellulose, elle-même placée dans un extracteur soxhlet. Le ballon à fond rond contenant le solvant (150 mL de toluène) est placé dans un chauffe ballon (90°C) et le tout est surmonté d'un réfrigérant. La durée d'extraction est de 24 heures. Le polymère et la cartouche de cellulose sont pesés avant et après extraction (et séchage). La masse de polymère pesée après extraction correspond à la partie insoluble de polymère (chaînes réticulées).

I.4.3 Coupe des échantillons pour l'analyse par microscopie IRTF

Les granules sont coupées en lamelles d'épaisseur 60 μm à l'aide d'un microtome (Leica RM 2255) et les plaques sont découpées pour obtenir des échantillons dont l'épaisseur est de l'ordre de 0.95 mm (Figure 23).

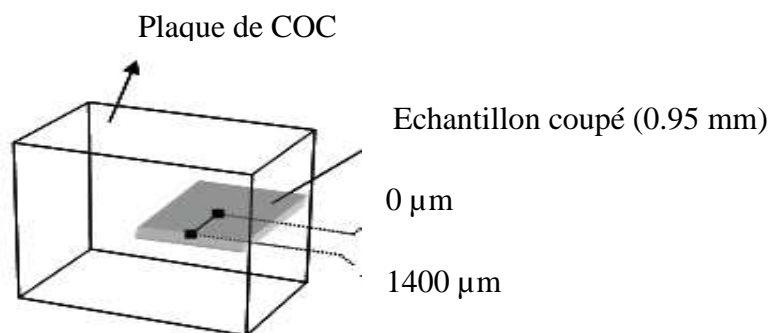


Figure 23: Figure de l'échantillon coupé par microtome pour l'analyse par microscopie IRTF.

I.5 Méthodologie analytique

Afin d'évaluer les éventuelles modifications subies par le matériau sous l'effet de l'irradiation, nous avons développé une méthodologie analytique faisant appel à des techniques de caractérisations physico-chimiques, permettant de mettre en évidence les modifications dans le volume du matériau et celles propres à leur surface. L'ensemble de ces modifications est susceptible d'influencer la compatibilité d'un couple conditionnement /formulation. C'est la raison pour laquelle nous avons réalisé une étude de migration et d'interaction avec des solutions médicamenteuses ainsi qu'une étude préliminaire de toxicité des extractibles mis en évidence.

I.5.1 Evaluation des modifications dans le volume du matériau

Pour atteindre cet objectif, nous avons eu recours à deux approches : la première est une méthode globale qui fait appel à des techniques séparatives comme la chromatographie d'exclusion stérique (CES), spectrales comme la spectroscopie IRTF (transmission) et d'analyse thermique comme l'analyse enthalpique différentielle (AED). La deuxième approche est une méthode d'évaluation plus spécifique, qui consiste à utiliser la chromatographie liquide haute performance (CLHP).

I.5.1.1 Evaluation globale par Chromatographie d'Exclusion Stérique (CES)

Cette technique permet de mettre en évidence des scissions de chaînes (diminution des masses molaires moyennes) et des recombinaisons de chaînes ou branchements (augmentation des masses molaires moyennes) qui pourraient se produire après le traitement par électrons accélérés. Elle permet aussi de mettre en évidence des extractibles de faibles masses molaires tels que les oligomères et les additifs et leur migration dans le milieu de contact. Le principe de cette technique ainsi que les conditions opératoires réalisées dans ce travail sont détaillés en Annexe 2.

I.5.1.2 Evaluation globale par spectroscopie et microscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Dans le cadre de ce travail, la spectroscopie IRTF nous a permis d'une part, de mettre en évidence la présence de certains additifs contenus dans le copolymère et d'autre part, d'étudier la formation de fonctions oxygénées suite à l'irradiation du matériau. Quant à l'utilisation de la microscopie IR, elle nous a permis de déterminer la distribution du lubrifiant dans le volume du copolymère et la présence d'un gradient d'oxydation de la surface vers le cœur de la matrice (analyse sur les plaques).

L'analyse a été réalisée au moyen d'un spectromètre IRTF (Perkin Elmer Spectrum 2000). Deux types de mesures ont été réalisés : une mesure en réflexion totale atténuée (RTA) à l'aide d'un cristal diamant (Golden Gate Specac) spécifique de l'analyse de surface (1 μm), et une mesure en transmission où le faisceau traverse toute l'épaisseur de l'échantillon (films).

Les spectres obtenus correspondent à la moyenne de 16 acquisitions, avec une résolution de 4cm^{-1} . Les longueurs d'ondes étudiées se situent dans des domaines compris entre 4000 et 400cm^{-1} (transmission) et de 4000 to 600cm^{-1} (RTA). Pour les deux modes d'acquisition le témoin est l'air.

Pour l'analyse par microscopie IRTF, le domaine des longueurs d'ondes exploitées est compris entre 4000 et 700cm^{-1} avec une résolution de 8cm^{-1} . 8 et 30 acquisitions ont été réalisées pour les granules et les plaques respectivement. Une cartographie de $35\times 35\text{ }\mu\text{m}^2$ a été réalisée sur les granules avec un pas de $10\text{ }\mu\text{m}$, tandis qu'une ligne de profil a été réalisée sur les plaques avec un pas de $20\text{ }\mu\text{m}$.

I.5.1.3 Evaluation globale par analyse enthalpique différentielle (AED)

L'Analyse Enthalpique Différentielle (AED) ou Différentielle Scanning Calorimetry (DSC) est une technique d'analyse permettant la caractérisation des propriétés thermiques des matériaux. Le principe de cette méthode est de mesurer les variations d'enthalpie entre un échantillon et une référence lors d'un balayage en température. Elle permet ainsi de déterminer :

- la température de transition vitreuse (T_g) des polymères et leurs capacités calorifiques ;
- les températures de fusion et de cristallisation ;
- les enthalpies de fusion qui permettent de calculer le taux de cristallinité des polymères.

Dans le cadre de ce projet, cette technique a été utilisée pour déterminer la température de transition vitreuse (T_g) des COC, qui est un copolymère amorphe. La transition vitreuse se traduit par une élévation de la ligne de base qui résulte de la variation de la capacité calorifique (C_p) de l'échantillon.

Nous avons utilisé un appareil d'AED (TA Q1000). Les masses des échantillons analysés étaient comprises entre 10 et 12 mg pour les granules. Des capsules en aluminium non hermétiques, de $20\text{ }\mu\text{L}$ de volume ont été utilisées. Le gaz vecteur utilisé est de l'azote à un débit de 50 mL/min . Le cycle thermique auquel l'échantillon est soumis est le suivant :

- une montée en température de 0°C à 160°C à 10°C/min .

- un refroidissement de 160°C à 0°C à 10°C/min.
- une deuxième montée en température de 0 °C à 160°C à 10°C/min.

Pour l'étude de la température de la transition vitreuse, seule la deuxième montée en température a été exploitée. Une capsule vide est utilisée comme référence. L'appareil est calibré en température et en enthalpie à l'aide d'un standard d'indium ($T = 156,6^{\circ}\text{C}$ $\Delta H = 28.45 \text{ J.g}^{-1}$)

I.5.1.4 Evaluation spécifique par chromatographie liquide haute performance (CLHP)

Pour identifier et quantifier l'additif présent dans les COC, nous avons utilisé la CLHP à polarité de phases inversée (RP-CLHP) dont la phase stationnaire est apolaire (une colonne de silice greffée par une longue chaîne carbonée, C18 par exemple) et la phase mobile est moyennement polaire. Les conditions opératoires utilisées ainsi que la méthode de quantification sont résumées en Annexes 2 et 3 respectivement.

Par ailleurs, la RP-CLHP permet de mettre en évidence les migrants potentiels présents dans les solutions de mise en contact (l'antioxydant et les produits de dégradation) et de les évaluer spécifiquement.

I.5.2 Evaluation des modifications sur la surface du matériau

La méthodologie adoptée pour cette étude consiste dans un premier temps à évaluer la topographie de surface par analyse en Microscopie à force atomique (ou AFM pour Atomic Force Microscopy), puis dans un deuxième temps à étudier la chimie de surface en faisant appel à deux techniques d'analyse spectrale : la spectroscopie de photoélectrons X (SPX) et la spectroscopie IRTF en mode RTA. Les domaines de profondeur analysés sont de l'ordre de quelques nanomètres pour la SPX et de l'ordre du micromètre pour l'IRTF/RTA. Enfin, la mouillabilité de surface est caractérisée par la mesure d'angles de contact qui permet d'analyser l'extrême surface du matériau (domaine d'analyse de profondeur compris entre 0.5 et 1 nm).

I.5.2.1 Etude de la topographie de surface par microscopie à force atomique (AFM)

La microscopie à force atomique est une technique de microscopie à sonde locale qui permet de caractériser la topographie de surface d'un échantillon avec une précision pouvant aller jusqu'à l'angström, mais aussi d'étudier des interactions ou des déformations dynamiques sur des échelles inférieures au micromètre. Pour ceci une pointe très fine, supportée par un micro levier (cantilever), balaye l'échantillon. La pointe très proche de la surface subit de la part de celle-ci une force attractive ou répulsive selon la distance pointe-surface mesurée par la déviation du levier. Un ordinateur enregistre cette distance et peut ainsi reconstituer une image de la surface. Le principe de la microscopie à force atomique est présenté dans la Figure 24.

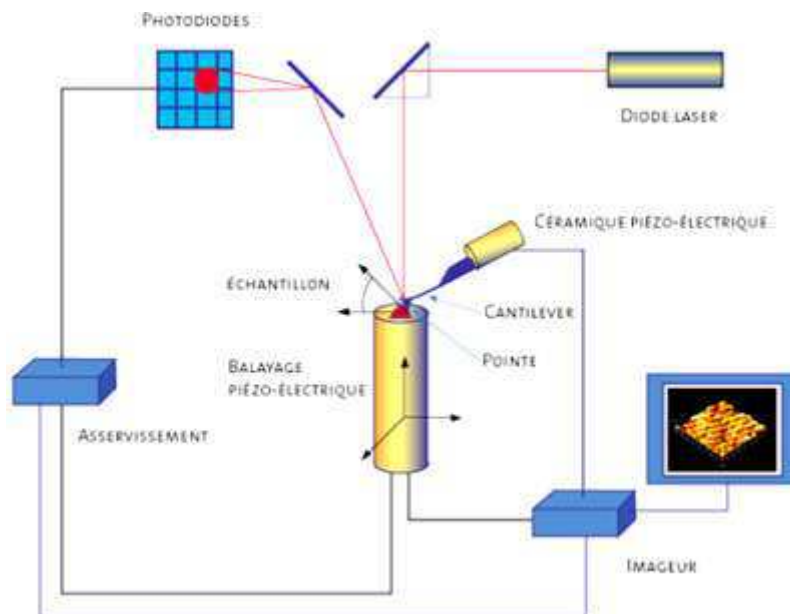


Figure 24: Principe de la microscopie à force atomique [151].

Il faut noter qu'il existe plusieurs modes de balayage en AFM ;

- le mode contact (statique) : dans lequel la pointe et la surface restent en contact.
- le mode modulation de fréquence (mode non-contact résonant) : la pointe est placée à quelques dizaines de nanomètres de la surface.

- le mode contact intermittent (tapping) qui est très utilisé pour l'étude des surfaces polymères car il permet d'éviter la dégradation de la surface des matériaux. Il consiste à faire vibrer le levier à sa fréquence de résonance avec une amplitude initiale A_0 . L'amplitude est telle que le contact pointe/échantillon est intermittent. L'interaction pointe-surface modifie les caractéristiques de l'oscillation (amplitude, phase). L'amplitude varie ainsi en fonction de la topographie et permet de donner une image de la topographie de la surface en opérant une boucle de rétroaction, qui permet de maintenir A_0 constante en déplaçant l'échantillon en z (mode hauteur). Les variations de la phase de l'oscillation donnent une image locale des forces d'adhésion et de la composition chimique locale. Les différences de contrastes sont notamment dues à des différences de module d'élasticité.

Un AFM Innova (Bruker) a été utilisé en mode tapping ; des images topographiques et de phase ont été réalisées. La fréquence de résonance de la pointe était de 320 kHz (pointe silicium d'un rayon de 8 nm) et la fréquence de balayage de l'échantillon était de 1 Hz. Des images de $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ et plus ont été réalisées en différents endroits de l'échantillon (n=8 minimum).

I.5.2.2 Chimie de surface par spectroscopie de photoélectrons X (SPX)

La spectroscopie SPX, aussi appelée ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis) est une méthode physique d'analyse chimique qui permet de déterminer la nature et la concentration des atomes présents sur la surface d'un matériau et de déterminer leur environnement chimique c.à.d. les liaisons chimiques dans lesquels ils sont impliqués. Ceci est possible grâce à la détermination des énergies de liaison des atomes présents en extrême surface. En effet, le principe de cette technique est basé sur la mesure de l'énergie cinétique des électrons émis par un solide sous l'impact d'un faisceau de photons X d'énergie $h\nu$ connue. Tout électron de cœur ou de valence ayant une énergie de liaison inférieure à $h\nu$ peut être éjecté, cet effet est appelé l'effet photoélectrique. Cette énergie, caractéristique des niveaux énergétiques atomiques de différents éléments est alors accessible par la relation de conservation de l'énergie :

$$E_{\text{liaison}} = h\nu - E_{\text{cinétique}} \quad \text{où } h : \text{ constante de Planck}$$

ν : fréquence de radiation

Le spectre des électrons de cœur, caractéristiques d'un atome dans un environnement chimique donné, permet son identification. Tous les éléments peuvent être détectés à l'exception de l'hydrogène et de l'hélium. La technique s'applique aussi bien aux solides conducteurs qu'aux isolants, avec différentes morphologies, échantillons massiques, poudres, films minces, couches déposées,

Les énergies de liaison des niveaux de cœur sont sensibles à l'environnement chimique de l'atome. Ce phénomène, appelé déplacement chimique, se traduit par des variations d'énergie de liaison, interprétées en terme de changements d'états électroniques, de nature des liaisons chimiques, de variation de degrés d'oxydation. En fonction de l'élément et de l'état chimique, le déplacement chimique peut aller de quelques dixièmes d'eV à quelques eV. La mise en évidence de ces différences d'états chimiques dans un composé n'est, dans la plupart des cas, pas immédiate et nécessite une décomposition mathématique du spectre.

Dans le but de mettre en évidence les éléments présents sur la surface du COC après stérilisation, une étude par SPX a été menée sur les films commerciaux de COC, avant et après irradiation par électrons accélérés. Nous nous sommes intéressés particulièrement aux raies 1s du carbone et de l'oxygène.

L'appareil utilisé est un VG Escalab 220iXL Thermo Electron, situé à l'Institut Lavoisier de Versailles (CEFS2) (Université de Versailles Saint-Quentin). Il est équipé d'une source de rayons X (double anode) de type AlK_α . La calibration de l'appareil a été réalisée par une procédure Thermo Electron par rapport aux raies $4f^{7/2}$ de l'or dont l'énergie de liaison est de l'ordre de 85 eV.

L'acquisition a été réalisée avec une constante d'énergie de passage de 50 eV sur les raies C1s et O1s et de 200 eV pour le spectre de survol (spectre global). La correction des énergies de liaison a été réalisée en utilisant l'énergie de la raie C1s prise à 285 eV comme référence. Pour les raies C1s, 36 scans ont été enregistrés et 49 scans pour les raies O1s.

I.5.2.3 Mouillabilité

Cette méthode permet d'évaluer la polarité de surface d'un matériau mais aussi de déterminer son énergie de surface.

Les mesures de mouillabilité sont parmi les méthodes les plus sensibles aux modifications de surface et l'analyse se situe dans un domaine de profondeur très faible de l'ordre de 0.5 à 1 nm.

En général, les liquides hydrophiles forment de grands angles de contact avec les surfaces hydrophobes, et de petits angles avec les surfaces hydrophiles (Figure 25). La valeur de l'angle de contact dépend cependant aussi de la topographie de surface.

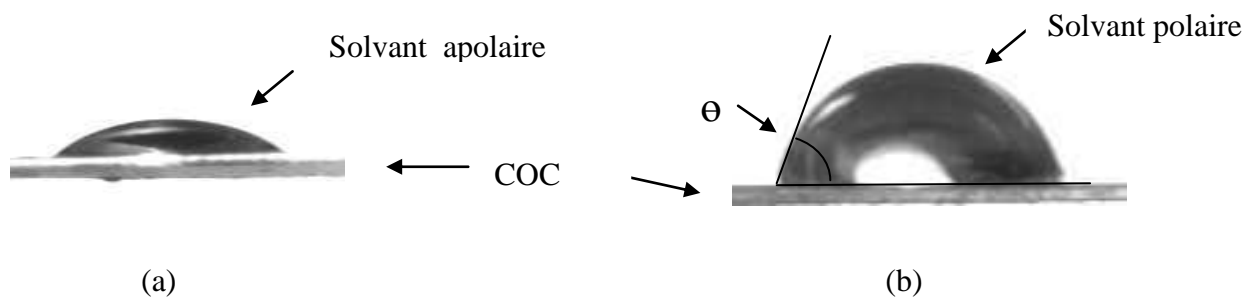


Figure 25 : Angle de contact (θ) d'un solvant apolaire (a) et polaire (b) sur la surface du COC.

Dans ce travail, la mesure de l'angle de contact a pour but de voir l'influence de différents paramètres sur l'état de surface et leurs conséquences en terme d'adsorption de principes actifs. Notamment, nous avons voulu mettre en évidence l'influence de l'antioxydant et du traitement stérilisant par électrons accélérés sur la polarité de surface.

La mesure de l'angle de contact a été réalisée à l'aide d'un goniomètre (GBX, France) associé au logiciel Digidrop Analysis Windrop++ (v1.00.01.01, GBX).

Cinq liquides de polarités croissantes ont été utilisés (voir Tableau 4). Ils possèdent également différentes tensions de surface, qui peuvent nous permettre de déterminer l'énergie de surface du matériau. Cependant ils ont aussi d'autres caractères physico-chimiques qui peuvent jouer

sur le résultat mesuré (Tableau 4). Afin de tester la reproductibilité, 10 gouttes de chaque liquide ont été déposées sur chaque type de substrat. Le dépôt a été effectué en mode statique et filmé à la vitesse d'une image par seconde. Afin de calculer les énergies de surface, le modèle d'Owens Wendt a été utilisé (Annexe 4).

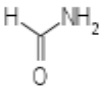
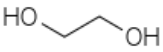
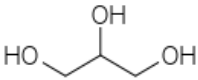
	formule	Viscosité à 25°C (mPa.s)	Tension de vapeur à 20°C (mm Hg)	Tension de surface à 20°C (mN.m⁻¹)	Composante polaire à 20°C (mN.m⁻¹)
Eau	H ₂ O	0.9	17.5	72.8	51
Diiodométhane	CH ₂ -I ₂	2.8	0.68	51.8	0
Formamide		3.7	0.014	58	19
Ethylène glycol		16.1	0.05	48	19
Glycérol		934	0.00015	64	30

Tableau 4: Caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés pour l'étude de mouillabilité.

La méthodologie adoptée pour l'étude de mouillabilité sera détaillée dans le chapitre consacré à l'étude de surface (III.2.4.1).

I.5.3 Etude d'interactions avec les solutions médicamenteuses par spectroscopie UV-Visible

Pour l'étude des interactions du COC avec des formulations pharmaceutiques, deux morceaux de films COC non irradiés et irradiés à 25, 75 et 150 kGy (1.5 x 3 cm) ont été mis en contact avec les solutions médicamenteuses dans des flacons de verre. Ces derniers ont été ensuite stockés à 25°C pendant des temps différents allant de 1 à 48 heures. L'étude a été réalisée en comparaison avec le PVC qui est connu pour absorber les principes actifs choisis.

Il faut noter qu'une étude de la stabilité des principes actifs a été préalablement menée pendant 48 heures. Les détails sont présentés en Annexe 5.

Les matériaux et les solutions issus de ce stockage ont été analysés séparément, par spectroscopie UV – Visible. Selon la loi de Beer-Lambert l'absorbance est proportionnelle à la concentration des substances.

Pour cela, à chaque temps étudié, les solutions stockées ont été récupérées et analysées en UV. Ensuite, les films ont été rincés deux fois avec de l'eau distillée dans un flacon de verre et puis analysés en UV. Une fois les films analysés, ils ont été immergés dans une solution physiologique et placés dans un bain à ultrasons pendant 30 minutes afin de désorber les molécules adsorbées. La solution de désorption a aussi été analysée en UV.

L'appareil utilisé est un spectromètre UV V-550 (JASCO/France), piloté par le logiciel Spectra manager.

I.6 Etude de la toxicité

Afin de mettre en évidence la toxicité des migrants potentiels contenus dans les COC, une étude de toxicité a été menée. Dans un premier temps, un test de viabilité a été réalisé, puis, dans un deuxième temps, les modifications morphologiques des cellules après mise en contact avec des antioxydants et des extraits de COC ont été observées. Les antioxydants étudiés sont l'Irganox 1010[®] et le BHT ; ils ont été testés en solution (migrants solubles) et à l'état solide car il est possible de les retrouver sous forme solide sur la surface des matériaux en cas de phénomène d'exsudation (blooming).

I.6.1 Lignée cellulaire

Pour l'étude de cytotoxicité *in-vitro*, une lignée cellulaire endothéliale de veine ombilicale humaine (HUV-EC-C) fournie par ATCC Compagnie, a été employée. Le milieu de culture DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) a été supplémenté par 2 mL de glutamine, de 10 % (m/m) de sérum fœtal de veau, de 50 UI.mL⁻¹ de pénicilline et 50 UI.mL⁻¹ de streptomycine. La culture a été réalisée à 37°C, sous atmosphère humide contenant 5 % de CO₂.

I.6.2 Préparation des échantillons

I.6.2.1 Antioxydant à l'état soluble

Un excès de chaque antioxydant a été mis sous agitation avec le milieu de culture cellulaire pendant une nuit afin d'obtenir une solution saturée. Les solutions saturées ont été filtrées sur des filtres 0.22 µm avant de les appliquer sur les cellules.

I.6.2.2 Antioxydant à l'état solide

Différentes concentrations comprises entre 50 et 5000 ppm (de chaque antioxydant) ont été préparées dans l'éthanol. Ces solutions éthanoliques ont été déposées dans des puits de plaques laissées ouvertes sous une hotte à flux laminaire, pendant 2h jusqu'à évaporation totale de l'éthanol et obtention d'une quantité suffisante d'antioxydant solide dans les puits.

I.6.2.3 Extrait des échantillons de COC

Une extraction dans le toluène à chaud d'environ 3 g précisément pesés de COC (S et T à 0 et 25kGy) a été réalisée selon le protocole mentionné précédemment. Les solvants organiques ont ensuite été évaporés dans un ballon à fond rond, puis 10 mL de milieu de culture ont été ajoutés. Après une période de 10 min d'incubation à température ambiante une filtration stérilisante a été réalisée avec des filtres de 0,22µm.

I.6.3 Test de Viabilité-MTT

Afin d'évaluer la toxicité des antioxydants vis-à-vis des cellules HUV-EC-C, un test de viabilité au MTT (3-[4,5-diméthylthiazol-2yl]-2,5-diphényltétrazolium bromide) a été mené. Le principe de ce test est de mesurer l'activité de l'enzyme succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives. Ce test a été réalisé sur les différents échantillons selon les protocoles suivants :

I.6.3.1 Antioxydant à l'état soluble

Les cellules ont été cultivées dans des plaques de 96 puits à une densité de 5000 cellules/puits, puis incubées pendant 24 h à 37°C. Ensuite, le milieu de culture a été remplacé par le milieu saturé en antioxydant. Après une incubation de 48 heures, 20µL d'une solution de MTT à 5

mg.mL⁻¹ dans du PBS (Phosphate Buffer Saline) ont été rajoutés dans chaque puits. Les plaques ont ensuite été incubées pendant 2 heures afin que les enzymes mitochondriales des cellules viables métabolisent le MTT en formazan cristallisé. Le milieu de culture a ensuite été retiré et les cristaux bleus de formazan ainsi formés ont été dissouts dans 200 µL de DMSO (diméthylsulfoxyde). Les absorbances (A) de la solution de formazan, peuvent être corrélées au nombre de cellules viables, et ont été mesurées à 570 nm en utilisant un lecteur de plaques (Labsystems multiscan MS). La viabilité dans les conditions X est ensuite exprimée de la manière suivante :

$$\text{Viabilité X (\%)} = (A_x / A_{\text{témoin}}) \times 100 \text{ (9)}$$

avec $A_{\text{témoin}} = A$ à $0\mu\text{g.mL}^{-1}$ et $A_x = A$ dans les conditions X.

I.6.3.2 Antioxydant à l'état solide

Après préparation (expliquée en 6.2.2) des plaques contenant l'antioxydant à l'état solide (plaques de 96 puits avec 200 µL/puits et 8 puits par concentration d'antioxydant), les cellules ont étéensemencées dans les puits contenant l'antioxydant à une densité de 5000 cellules/puits. Après 48 heures d'incubation à 37°C le test de cytotoxicité au MTT à été réalisé selon le protocole précédemment détaillé (I.6.3.1).

I.6.3.3 Extrait des échantillons de COC

Les cellules ont été cultivées dans des plaques de 96 puits à une densité de 5000 cellules/puits. Après incubation pendant 24 h à 37°C, le milieu de culture à été remplacé avec celui qui a été mis en contact avec l'extrait selon le protocole décrit en (I.6.2.3). Après 48h d'incubation à 37°C le test de cytotoxicité au MTT a été réalisé selon le protocole précédemment détaillé (I.6.3.1).

I.6.4 Etude de la morphologie cellulaire

La toxicité d'une substance peut entraîner une modification morphologique des cellules après leur mise en contact. Ainsi, l'effet de l'exposition aux antioxydants et aux extraits sur la morphologie des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUV-EC-C) a été étudié. Les modifications éventuelles de la morphologie des cellules ont été observées à l'aide d'un microscope inversé, AxioObserver Z1_Colibri (Carl Zeiss, Allemagne). Il est équipé

d'un appareil photo Axiocam MRm CCD. Toutes les images ont été acquises à l'aide d'un objectif sec Acroplan 10x 0.25.

I.6.4.1 Antioxydant à l'état soluble

Les cellules ont été cultivées dans des plaques de 24 puits à une densité de 20000 cellules/puits, puis incubées pendant 24 h à 37°C. Ensuite le milieu de culture a été remplacé avec le milieu saturé en antioxydant. Après 48 h d'incubation, les modifications de la morphologie des cellules ont été évaluées.

I.6.4.2 Antioxydant à l'état solide

Après préparation des plaques contenant l'antioxydant solide suivant le protocole de I.6.2.2 (plaques de 24 puits avec 500 µl/puits), les cellules ont étéensemencées dans les puits contenant l'antioxydant à une densité de 20000 cellules/puits. Après 48 heures d'incubation à 37 °C les modifications morphologiques des cellules ont été observées avec le microscope précédemment décrit.

I.6.4.3 Extrait des échantillons de COC

L'étude morphologique après incubation avec le milieu mis en contact avec l'extrait (voir I.6.2.3) a été réalisée selon le même protocole décrit pour les antioxydants à l'état soluble (I.6.3.1).

Chapitre II: Effets de la stérilisation par électrons accélérés dans le volume du matériau

Il existe encore peu d'études dans la littérature sur l'effet des rayonnements stérilisants sur les copolymères à base d'oléfinés cycliques. À notre connaissance, seules trois équipes dont la nôtre, ont étudié le radio comportement de ces nouveaux matériaux.

Les modifications de la structure des COC induites par l'irradiation et celles des propriétés thermiques sont les effets principalement mis en évidence par les études menées dans ce domaine.

Dans ce chapitre, nous allons aborder les effets de la stérilisation par électrons accélérés sur le polymère et l'antioxydant contenu dans celui-ci, et montrer comment des composés de faible masse molaire (CFMM) sont générés par ce traitement.

II.1 Effet de la stérilisation sur la dégradation de l'antioxydant

L'analyse par chromatographie liquide CLHP de l'extrait de polymère, obtenu après dissolution-précipitation d'un COC non irradié, montre la présence d'un pic majoritaire à 27 minutes qui correspond à l'Irganox 1010[®], un antioxydant appartenant à la liste positive de la Pharmacopée Européenne.

La teneur en antioxydant dans les trois grades de COC a été déterminée après un étalonnage externe dont les détails sont présentés en Annexe 3. La teneur en Irganox 1010[®] est respectivement de l'ordre de 1175 ± 36 , 1618 ± 31 et 1202 ± 112 ppm pour les grades S, D et T.

On peut voir sur la Figure 26 que le taux d'Irganox 1010[®] diminue avec la dose d'irradiation, et ce, quel que soit le grade de COC étudié.

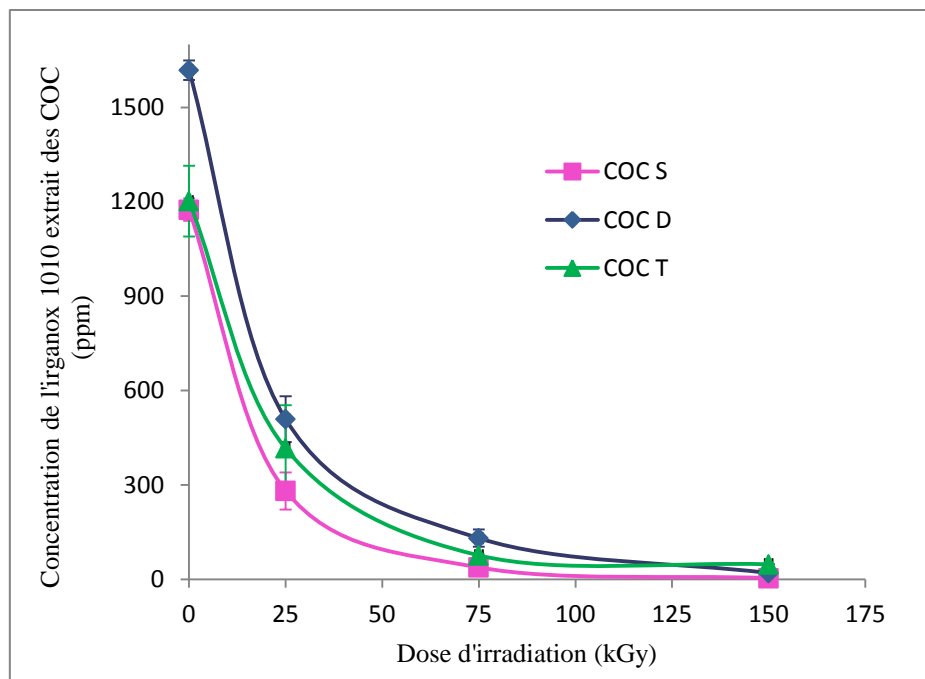


Figure 26 : Evolution de la concentration en Irganox 1010[®] dans le COC (granulés) en fonction de la dose d'irradiation (n=3)

Les COC perdent environ 65 % de leur teneur initiale en antioxydant après une irradiation à 25 kGy et plus de 90 % pour des doses supérieures ou égales à 75 kGy. Cette diminution de l'Irganox 1010[®] après irradiation peut s'expliquer par la dégradation de la molécule via la perte de ses sous-unités (notées A) selon le schéma présenté dans la Figure 27 [152]. Par ailleurs, il est possible que des dégradations de la sous unité A conduisent à la formation du BHT, qui est également un antioxydant inscrit à la Pharmacopée Européenne. De plus, on ne peut exclure la formation de liaisons covalentes entre les molécules d'Irganox 1010[®] et les chaînes de polymère suite à l'irradiation, ce greffage ayant déjà été reporté par Allen et al. [152].

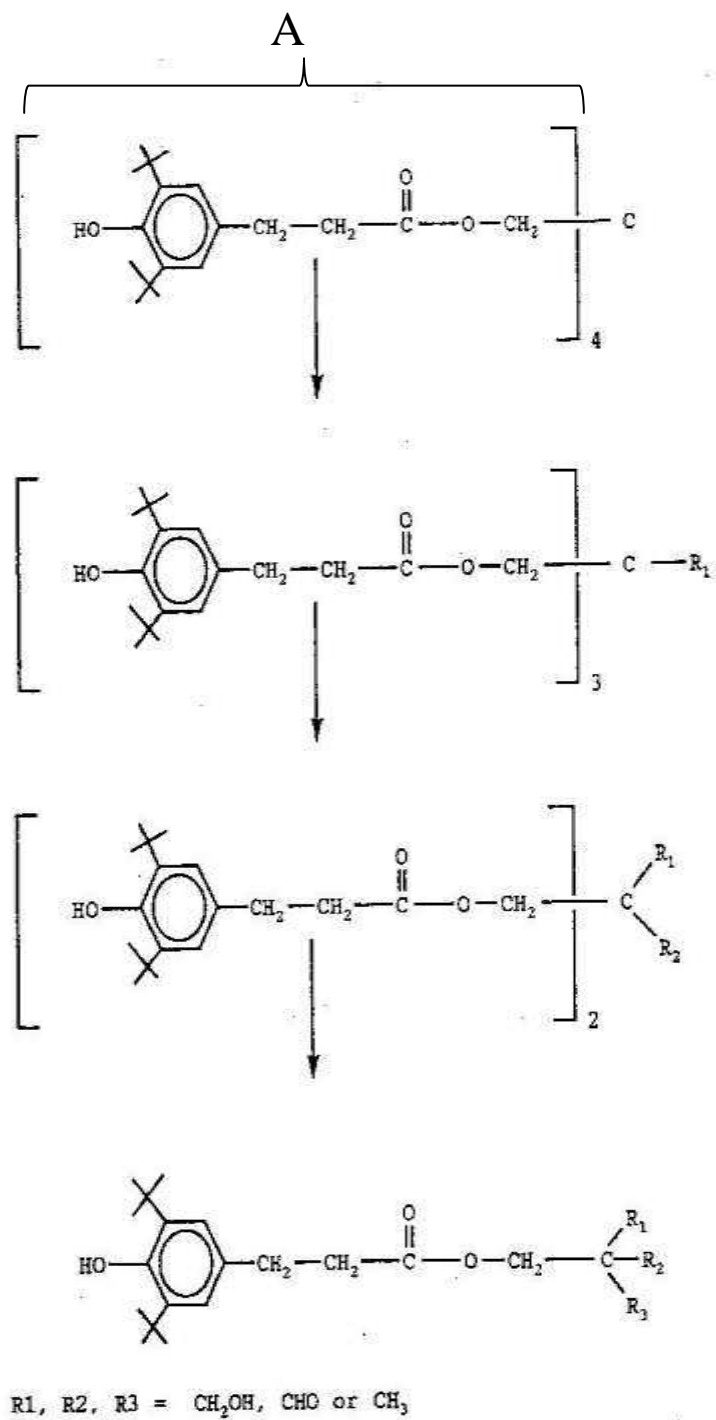


Figure 27: Schéma de la dégradation de l'Irganox 1010[®] d'après [152]

II.2 Effet de la stérilisation sur la dégradation du polymère

II.2.1 Oxydation du polymère

L'analyse par spectroscopie infrarouge en transmission ne montre pas de modification importante de la structure du COC après stérilisation. En revanche, une bande de vibration autour de 1712 cm^{-1} a été observée (Figure 28) qui correspond aux vibrations d'élongation du groupement carbonyle (-C=O) et dont l'intensité augmente avec la dose.

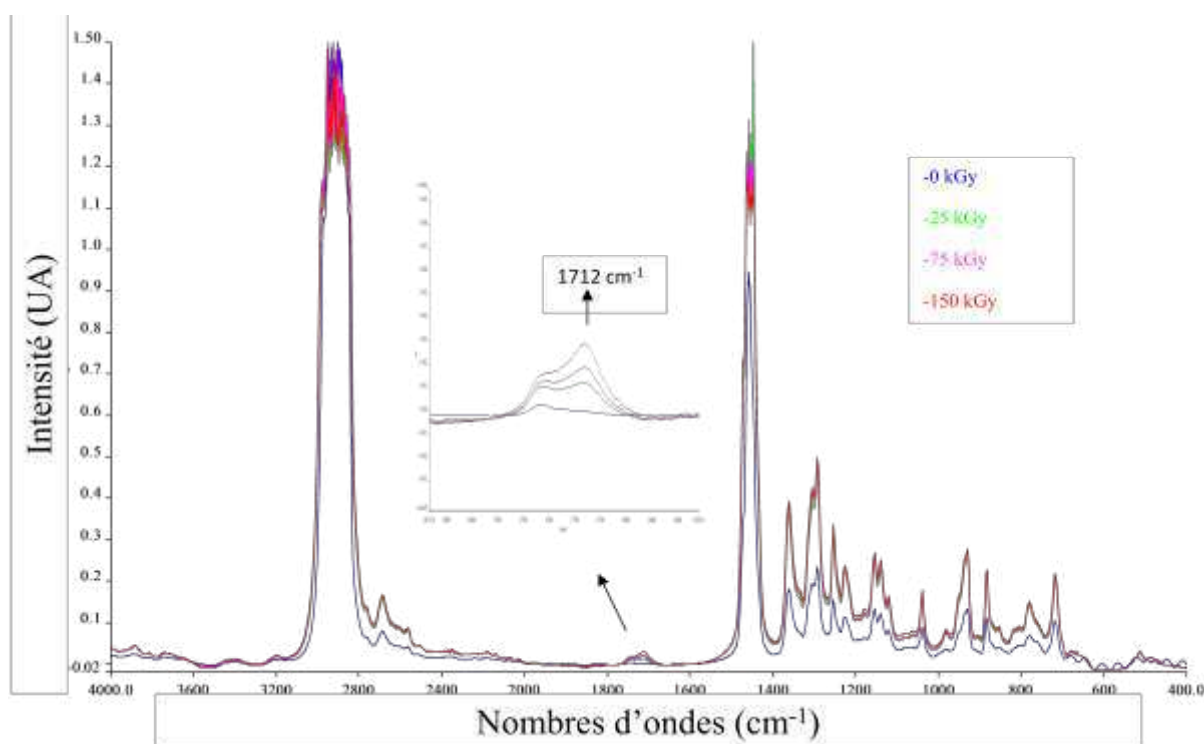


Figure 28 : Spectre IRTF/Transmission des films de COC (S) non irradiés et irradiés à 25,75, et 150 kGy.

La mise en évidence d'autres modifications sur le spectre est délicate. En effet, bien que les vibrations d'élongation ν (C=O) se situent dans une zone où il n'y a pas d'interférence avec les bandes d'absorption du polymère et qu'elles présentent un fort coefficient d'extinction, on ne les voit que faiblement. Afin d'explorer d'autres bandes comme celles des ν (OH) ($3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$) et ν (C=C) (1645 cm^{-1}) qui ont un coefficient d'extinction plus faible ou de γ C=C ($675\text{-}850\text{ cm}^{-1}$) dont la fréquence est proche de certaines bandes du COC,

nous avons réalisé une soustraction des spectres de COC irradiés par rapport au COC non irradié (Figure 29). Cette soustraction n'a cependant permis de ne mettre en évidence que les bandes C=O.

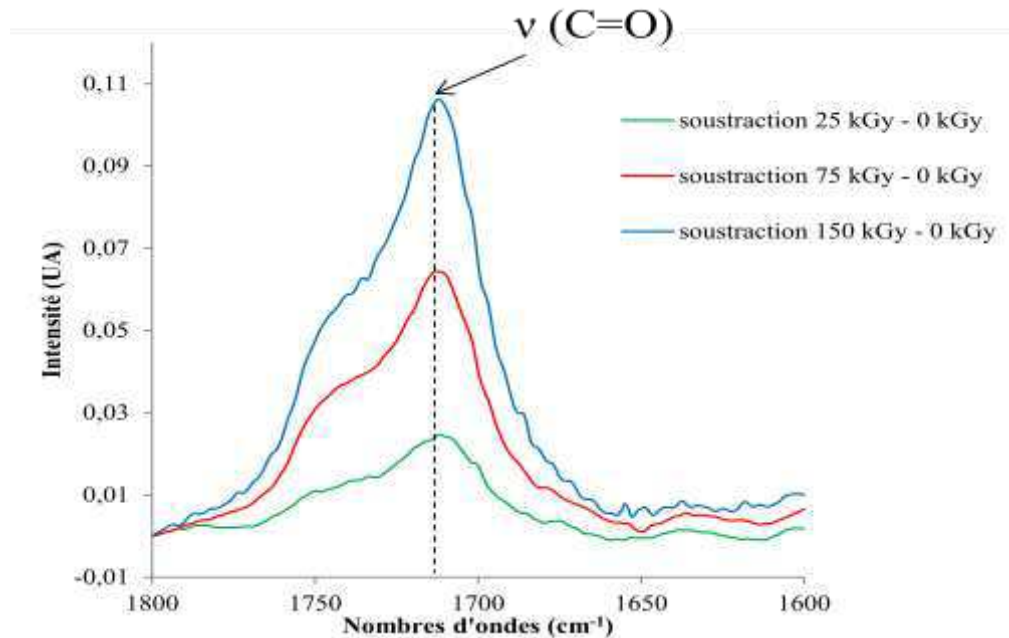


Figure 29: Soustractions des spectres de films de COC irradié à des différentes doses du spectre initial.

La formation des bandes d'oxydation C=O est due à la réaction des radicaux libres avec l'oxygène de l'air.

Ce type d'oxydation a été mis en évidence par d'autres équipes. Pour le TOPAS 6013 soumis à une irradiation aux électrons accélérés, Cerrada et al. [153] ont montré l'apparition de nouvelles bandes autour de 1700 et 1750 cm^{-1} correspondant à la formation de cétones et de lactones. De la même façon, Secerov et al. [154] et Kačarević-Popović Zorica et al. [155] ont reporté que l'irradiation gamma sous air des COC génère des radicaux libres le long des chaînes, radicaux qui réagissent avec l'oxygène pour former des intermédiaires réactionnels de type peroxy qui vont ensuite donner des fonctions cétones, hydroxyyles et hydroperoxyyles.

Dans notre cas, une déconvolution de la bande C=O a été réalisée afin de lui attribuer les espèces correspondantes. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence la présence majoritaire d'acides carboxyliques ainsi que celle de fonctions aldéhydes et esters (Tableau 5). En effet, ces trois fonctions représentent 92 % de la bande C=O déconvoluée, le reste de la

déconvolution (8 %) correspond à des bandes de faible absorbance à 1691 et 1783 cm^{-1} correspondant respectivement aux acides carboxyliques conjugués et aux lactons.

Bande d'absorbance	ν (COOH)	ν (-CHO)	ν (O-C=O)
Nombre d'ondes (cm^{-1})	1711	1728	1728
Proportion relative (%)	50	22	22
ϵ ($\text{c.mole}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	710 [156]	265-340 [156]	340 [156]

Tableau 5: Déconvolution de la bande C=O de films de COC irradié à 150 kGy.

En prenant en compte les ϵ de chaque espèce, on peut en déduire que la concentration en acides carboxyliques est environ 5 fois supérieur à celle des aldéhydes et esters.

Il faut noter que la tendance à former des espèces contenant le groupement (-C=O) est la même pour les trois types de COC (S, D et T). La grandeur évaluée pour cette comparaison est le rapport entre l'absorbance de la bande C=O à 1712 cm^{-1} et celle d'une bande propre du COC à 1362 cm^{-1} qui n'est pas modifiée après irradiation. Cette grandeur est nommée ici, indice d'oxydation (Figure 30).

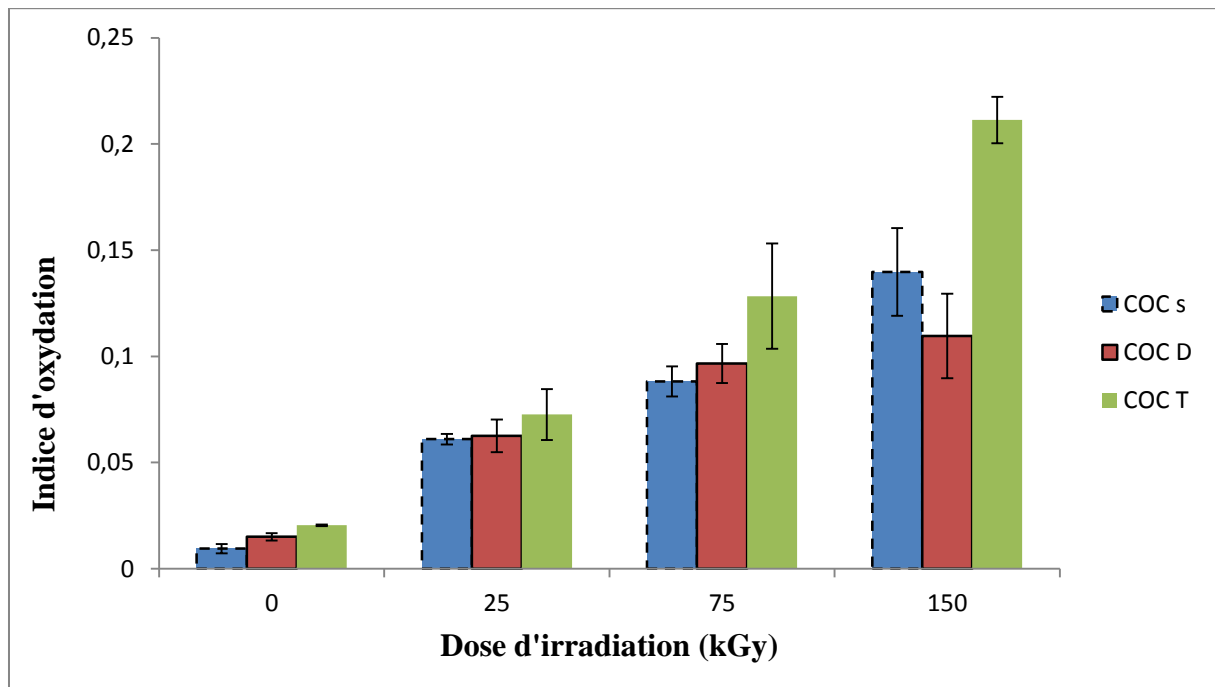


Figure 30 : Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les trois types de COC. Analyse en IRTF/Transmission.

Cependant, l'oxydation du COC de type T est plus importante par rapport aux COC de type S et D surtout pour des doses supérieures à 25 kGy. Ceci est probablement dû à la structure du COC de type T qui contient un taux plus élevé de norbornène ; l'encombrement stérique de cette molécule confère au COC une conformation qui favorise la diffusion de l'oxygène au sein du polymère. Cela est en accord avec la constatation de Nadake et al [157] : la photo dégradation des COC dépend de son contenu en norbornène.

II.2.2 Scission, branchement et réticulation des chaînes

Le comportement des COC vis-à-vis de l'irradiation peut varier et dépend de plusieurs facteurs à savoir, la dose d'irradiation, son environnement mais surtout le grade du COC étudié (taux de norbornène et taux d'antioxydant).

La présence d'une réticulation des chaînes de COC à une dose d'irradiation de 150 kGy a été mise en évidence par le calcul de taux de gel (Wg) ou taux de réticulation (I.4.2-partie expérimentale). Ainsi, la proportion de la fraction non soluble de polymère était respectivement de l'ordre de 65, 45 et 8 % pour les COC de type S, D et T. Cette différence de taux de réticulation entre les trois grades s'explique par la différence de leur teneur en antioxydant et leur taux de norbornène. Les COC S et D contiennent une quantité égale de norbornène (35 % molaire) mais ont une teneur différente en Irganox 1010[®] : elle est ainsi 1,5 fois plus élevée pour le grade D ce qui peut expliquer que le taux de réticulation soit moins important pour ce dernier car il est plus protégé [158]. Le COC T contient un taux de norbornène relativement élevé dont l'encombrement stérique défavorise la réticulation sous rayonnement ; il est donc logique qu'il présente un taux de réticulation plus faible.

Des résultats différents des nôtres ont été observés par Cerrada et al. [153] et Secerov et al. [154]. Selon ces derniers, aucune fraction insoluble n'est formée après irradiation aux électrons accélérés et rayonnement gamma, à des doses élevées (plus de 150 kGy), et dans des COC contenant respectivement 48 et 55 % molaire de norbornène. Cependant la structure des COC dans ces deux études n'est pas exactement la même que la notre et le taux d'antioxydant est différent aussi.

La superposition des chromatogrammes obtenus pour les COC irradiés et non irradiés permet de comprendre l'évolution des masses molaires moyennes (Figure 31).

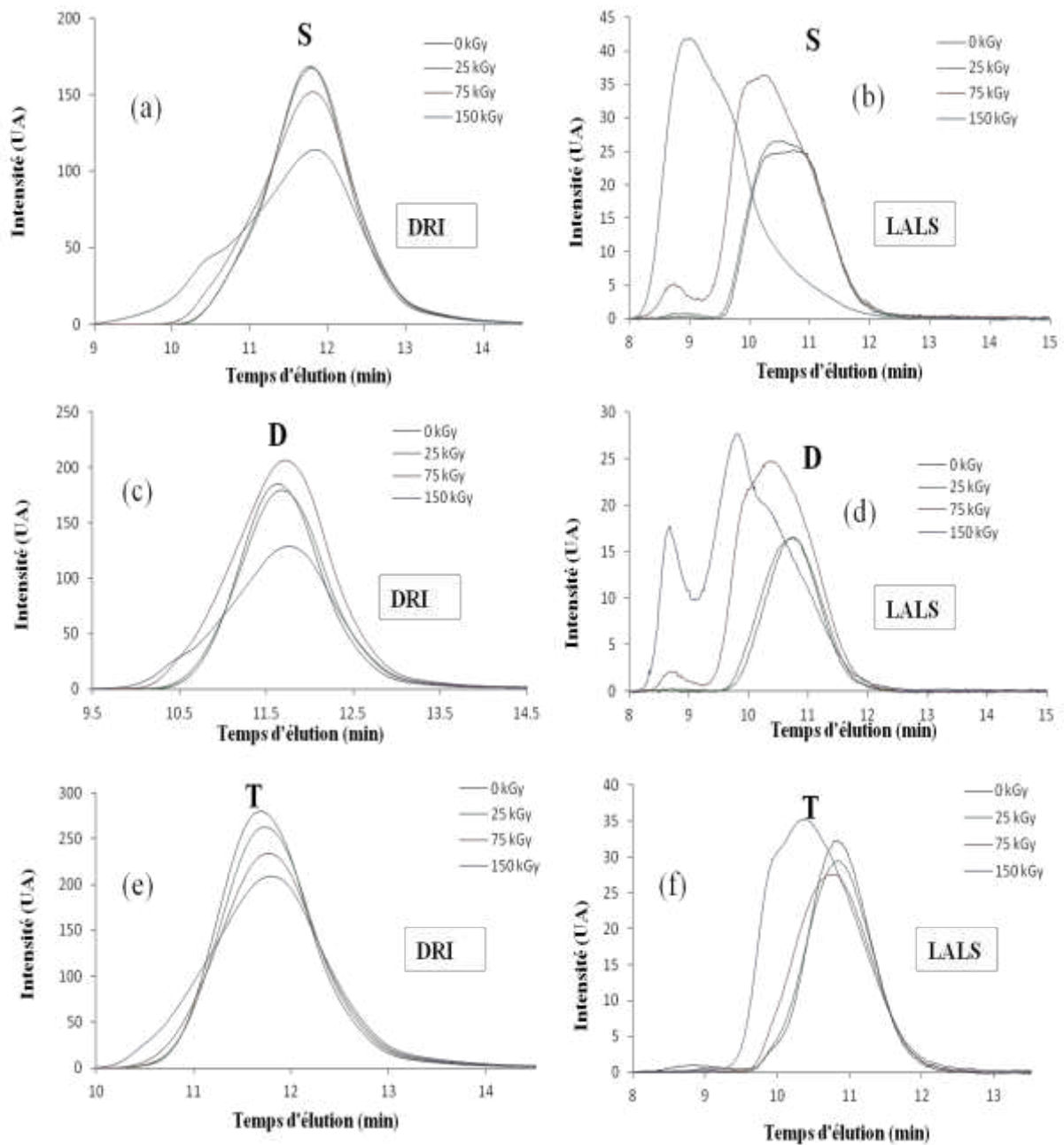


Figure 31 : Superposition des chromatogrammes de CES des trois grades de granules de COC (S, D et T) avant et après irradiation - Détecteur réfractométrique (DRI) (a, c, et e) et laser au petit angle, LALS, (15°) (b, d, et f).

L'utilisation de différents détecteurs permet d'obtenir des informations complémentaires. Les signaux obtenus à partir du détecteur réfractométrique (Figure 31 (a), (c), (e)) qui est un détecteur de concentration, permet d'observer à faible dose d'irradiation, un léger déplacement de la distribution et des masses de plus haute fréquence (la masse au sommet du pic) vers un volume d'élution plus élevé : ce phénomène correspond à la formation de composés de plus basse masse molaire et donc à des phénomènes de scission. En revanche, aux doses d'irradiation plus élevées, la distribution se déplace vers les volumes d'élution plus faibles avec l'apparition d'un épaulement correspondant à des masses plus élevées, ce qui est la conséquence du branchement des chaînes. De plus, la diminution de l'intensité du signal pour les différents grades de COC irradiés à 150 kGy est cohérente avec le taux de réticulation calculé pour chacun de ces grades (S, D, T).

Les signaux obtenus avec le détecteur de diffusion de la lumière laser (Figure 31 (b), (d) et (f)), permettent de mettre en évidence le branchement des chaînes de polymère. Ainsi, de nouvelles distributions de très haute masse molaire ont été observées dès la dose de 25 kGy pour les trois grades de COC avec toutefois, des masses molaires significativement plus élevées pour le grade S par rapport aux grades D et que T.

L'évaluation des masses molaires des COC en nombre, en poids et d'ordre supérieur ainsi que de sa distribution après irradiation (Tableau 6) montre que les scissions et les branchements des chaînes sont simultanés. La modification prédominante pour les faibles doses d'irradiation est la scission alors que pour des doses élevées, le branchement et donc la réticulation prédominent.

Grade de COC	Dose d'irradiation (kGy)	W _g (%)	M _n x 10 ⁴ (g/mol)	M _w x 10 ⁴ (g/mol)	M _z x 10 ⁴ (g/mol)	I _p =M _w /M _n	G(s) (mol.J ⁻¹)	G(x) (mol.J ⁻¹)	Br. Nbr	λ _{Mi}
S	0	/	3.3 ± 0.2	7.9 ± 0.1	17.0 ± 0.1	2.4 ± 0.1	/	/	0.09	0.17
	25	/	3.1 ± 0.1	8.1 ± 0.1	18.0 ± 0.7	2.6 ± 0.1	1.0E-7	3.2E-8	0.13	0.09
	75	/	3.2 ± 0.2	12.0 ± 0.3	42.0 ± 3.2	3.6 ± 0.2	/	/	0.38	0.23
	150	65	4.7 ± 0.3*	15.0 ± 1.1*	41.0 ± 5.7*	3.1 ± 0.3	/	/	1.42*	1.26*
D	0	/	3.6 ± 0.5	7.6 ± 0.1	13.0 ± 0.6	2.1 ± 3.3	/	/	0.05	0.09
	25	/	3.5 ± 0.2	8.4 ± 0.2	17.0 ± 2.3	2.4 ± 0.1	8.2E-8	4.3E-8	0.19	0.06
	75	/	4.2 ± 0.2	12.0 ± 0.1	34.0 ± 1.3	2.9 ± 0.1	/	/	0.62	0.24
	150	45	4.0 ± 0.3*	18.0 ± 1.0*	150.0 ± 4.6*	4.7 ± 0.2	/	/	1.08*	0.53*
T	0	/	5.1 ± 0.2	9.7 ± 0.1	17.0 ± 1.3	1.9 ± 0.1	/	/	0.02	0.02
	25	/	4.6 ± 0.5	9.6 ± 0.1	17.0 ± 0.5	2.1 ± 0.2	9.3E-8	2.1E-8	0.12	0.07
	75	/	4.5 ± 0.1	11.0 ± 0.1	23.0 ± 1.0	2.4 ± 0.1	5.4E-8	2.0E-8	0.26	0.13
	150	8	5.3 ± 0.2*	15.0 ± 0.3*	50.0 ± 2.1*	2.9 ± 0.1	8.7E-9*	1.5E-8*	0.53*	0.31*

Tableau 6: Masses molaires moyennes et distribution des masses molaires des trois grades de COC granulés avant et après irradiation aux électrons accélérés.

W_g (%):taux de gel, M_n: masse molaire moyenne en nombre, M_w: masse molaire moyenne en poids, M_z: masse molaire moyenne d'ordre supérieur (3), I_p: Indice de polymolécularité, G(s) et G(x) : taux de scission et de réticulation, Br.Nbr : nombre de branchements, λ_{Mi}: fréquence de branchement.

* : calcul effectué sur la partie de polymère non réticulée

Par conséquent, l'hétérogénéité de la distribution de la masse molaire des COC, caractérisée par l'indice de polymolécularité (I_p), augmente entre 0 et 150 kGy respectivement de 2.4 à 3.1, de 2.1 à 4.7 et de 1.9 à 2.9 pour les grades S, D et T. Pour une dose d'irradiation de 25 kGy, qui correspond à la dose recommandée pour la stérilisation, une diminution de M_n et une légère augmentation de M_w et de M_z ont été observées. Ceci signifie que suffisamment de chaînes courtes sont créées pour diminuer la valeur de M_n qui est plus sensible à la présence de faible masse, mais qu'en parallèle des chaînes de plus forte masse ont aussi été créées ce qui se traduit par une augmentation de M_w et M_z . En revanche, pour les doses les plus élevées, toutes les masses molaires (M_n , M_w et M_z) augmentent, ce qui montre que le branchement et la réticulation sont les effets prédominants de l'irradiation. Ceci est confirmé par le calcul du rendement de scission $G(S)$ et de réticulation $G(X)$ à partir de l'équation de Saito [159] :

$$\frac{1}{M_{n,D}} = \frac{1}{M_{n,0}} + 10^{-3} \times (G(S) - G(X)) \times D \quad (10)$$

$$\frac{1}{M_{w,D}} = \frac{1}{M_{w,0}} + 10^{-3} \times \left(\frac{G(S)}{2} - 2G(X) \right) \times D \quad (11)$$

D est la dose absorbée (kGy), $M_{n,0}$, $M_{w,0}$, $M_{n,D}$ et $M_{w,D}$ sont les masses molaires moyennes en nombre et en poids (g.mol^{-1}) initiales et à une dose D respectivement.

Les valeurs obtenues à 25 kGy montrent que $G(S)$ est supérieur à $G(X)$ pour tous les grades étudiés. Ce résultat confirme donc la prédominance du phénomène de scission à cette dose. Inversement, pour des doses supérieures, $G(S)$ est moins important que $G(X)$ pour le grade T, indiquant encore une fois l'importance des phénomènes de branchement à ces doses. Il faut noter que $G(S)$ et $G(X)$ n'ont pas été évalués aux autres doses pour les deux autres grades de COC (S et D) car la formation de fraction non soluble est trop importante au-dessus de 75 kGy.

Il est à noter que les masses molaires ont été calculées par triple détection ; les équations qui permettent la corrélation entre le signal des détecteurs et la masse molaire de polymère sont les suivantes :

$$\text{DRI} = K_{RI} \times C \times (dn/dC) \quad (12)$$

$$R_{\text{visc}} = K_{\text{visc}} \times C \times IV \quad (13)$$

$$[\eta] = [IV] = K_M \times M_v^a \quad (14)$$

$$R_{\theta} = M_w \times K_{LS} \times \left(\frac{dn}{dc}\right)^2 \times C \quad (15)$$

L'équation (12) correspond au détecteur réfractomètre :

DRI est le signal obtenu, K_{RI} est la constante du réfractomètre, dn/dc est l'incrément d'indice de réfraction, C est la concentration de l'échantillon.

L'équation (13) correspond au viscosimètre :

R_{visc} est le signal obtenu, K_{visc} est la constante du viscosimètre, IV ou $[\eta]$ est la viscosité intrinsèque de polymère.

Le viscosimètre donne des informations importantes sur la structure des polymères (ramifications, rigidité de la chaîne) car il permet de déterminer la valeur de la constante K . K et a sont les constantes de Mark-Houwink (MH) et dépendent du couple polymère/solvant. Ils sont liés à la masse des chaînes par la relation (14). Lorsque l'on trace $\text{Log}M=f(\text{Log}K)$, la comparaison du diagramme de Mark-Houwink pour l'échantillon à analyser et pour un polymère linéaire de même composition chimique, permet d'évaluer l'écart à la linéarité de l'échantillon. Ainsi on peut remarquer que les COC non irradiés ne sont pas linéaires (Figure 32). En effet, pour les trois grades de COC un écart à la linéarité avec un changement de la pente pour les masses molaires de l'ordre de 40000 g/mole a été observé.

Les valeurs des paramètres de Mark-Houwink obtenues sont présentées dans le Tableau 7. Pour le grade T, la valeur de K est moins importante que celles calculées pour les grades S et D, ce qui peut s'expliquer par son taux élevé de norbornène qui augmente la rigidité du polymère et diminue ainsi son volume hydrodynamique et sa viscosité intrinsèque. Un résultat comparable a été mis en évidence par Yao et al. [160]. Cependant, pour les grades S et D, on observe aussi des valeurs de K différentes et ce, malgré leur composition identique en norbornène. La seule différence entre ces deux grades est la quantité d'antioxydant et la présence d'un lubrifiant (2 %) dans le grade D.

Grade COC	NB (%) molaire	$K \times 10^4$ (dL/g)	a
S	35	4.50	0.65
D	35	2.96	0.67
T	50	2.36	0.66

Tableau 7 : Paramètres de Mark-Houwink des trois grades de COC granules.

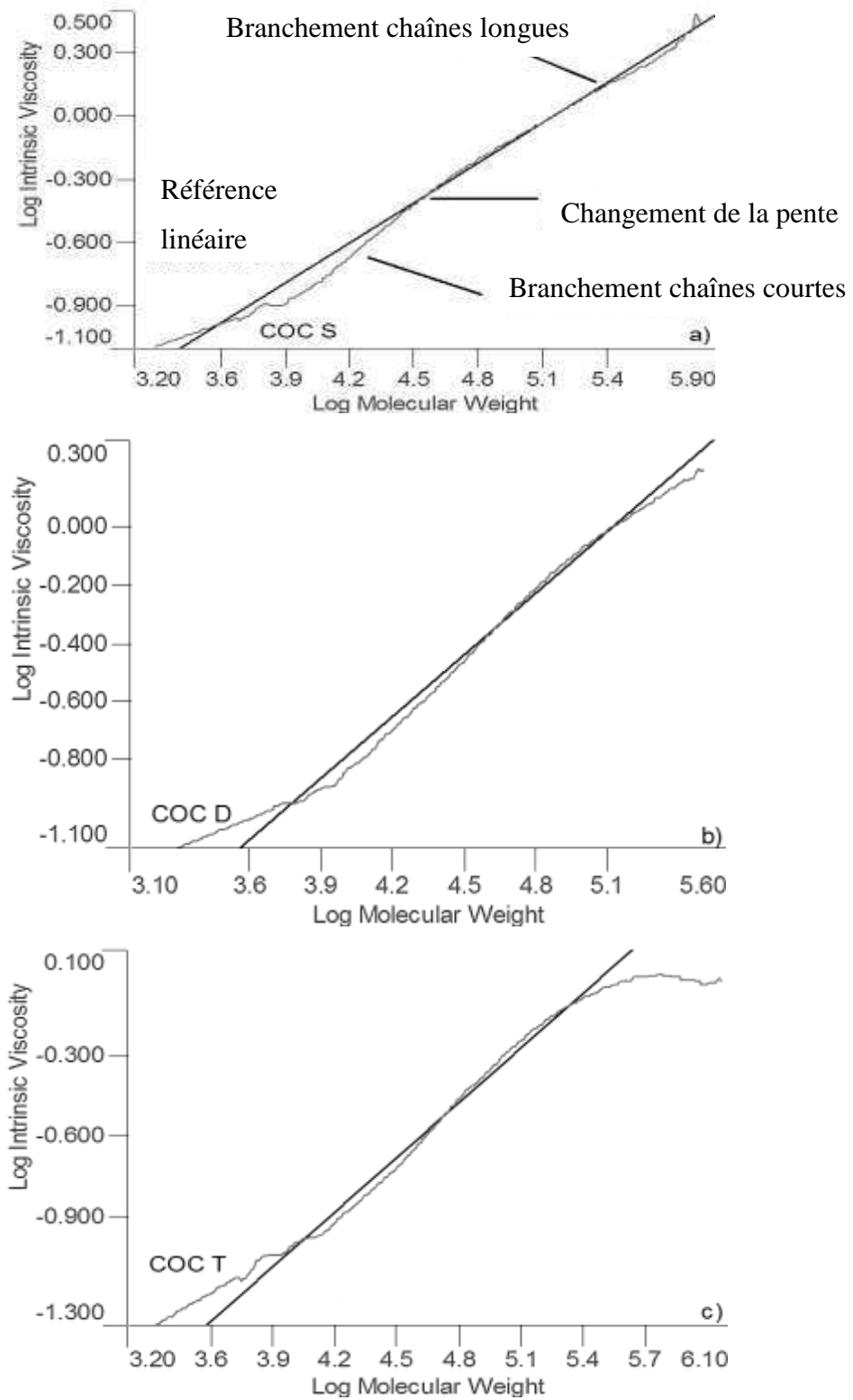


Figure 32: Diagrammes de Mark-Houwink des granules de COC non irradiés a) S, b) D et c)

T

L'équation (15) correspond au détecteur laser :

KLS est la constante de diffusion du laser, M_w est la masse molaire moyenne en poids, $R(\theta)$ est l'intensité de la lumière diffusée.

La diffusion de la lumière laser permet de mesurer la taille des particules. Couplée avec la mesure de viscosité intrinsèque, cette détection permet d'évaluer le taux de branchement sur une macromolécule.

Les branchements conduisent à des structures plus compactes et plus denses par rapport à une structure linéaire. Les structures branchées peuvent prendre plusieurs formes : branchement sur la chaîne principale, branchement en forme de peigne ou en forme d'étoile. Le branchement est en outre caractérisé par sa longueur et l'on parlera alors de branchement de chaînes courtes ou de chaînes longues (>175 carbones). Les ramifications courtes n'auront pas d'effet sur les propriétés rhéologiques du polymère mais leur présence modifie leur température de cristallisation et leurs propriétés mécaniques. Les techniques utilisées pour caractériser les ramifications courtes sont basées sur le fractionnement par cristallisation telles que le TREF (Temperature Rising Elution Fractionation), le CRYSTAF (Crystallisation Analysis Fractionation) et l'AED. En revanche, les ramifications longues vont modifier les propriétés rhéologiques du polymère (volume hydrodynamique, temps de relaxation des chaînes) car ces chaînes sont suffisamment longues pour s'enchevêtrer dans les chaînes macromoléculaires voisines. Les ramifications longues sont caractérisées par la CES couplée à un viscosimètre ou à un détecteur à diffusion de la lumière. Il faut alors calculer g ou g' . Le paramètre g' et correspond au rapport de la viscosité intrinsèque d'un polymère branché (b) et de celle d'un polymère linéaire (l) de même nature :

$$g' = \frac{[\eta]_{M,b}}{[\eta]_{M,l}} \quad (16)$$

Le facteur g de Stockmayer, est défini comme le rapport du carré des rayons de giration de la molécule branchée (b) et d'une molécule linéaire (l) de même composition chimique et même poids moléculaire ;

$$g = \frac{\langle R_g \rangle_{M,b}^2}{\langle R_g \rangle_{M,l}^2} \quad (17)$$

Les facteurs g et g' sont reliés par la relation suivante : $g' = g^x$, avec x , le facteur de structure.

Il existe une relation entre le facteur g et le nombre de ramifications longues par chaîne (B), qui conduit à la relation donnant le nombre de branchements longs pour 1000 carbonnes :

$$\frac{LCB}{1000C} = \frac{B \times 1000 \times M_o}{M_b} \quad (18)$$

Avec M_o , la masse molaire du monomère et M_b , la masse molaire du polymère ramifié mesurée.

Dans notre cas, n'ayant pas de référence linéaire de COC à notre disposition, l'indication du taux de branchement reste indicative et surtout relative au COC non irradié, pris comme référence.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 6. Pour tous les grades de COC, le nombre de branchements et la fréquence de branchement augmentent avec la dose d'irradiation. Un résultat comparable a été mis en évidence par Cerrada et al. [153]. En revanche, si l'on compare la fréquence de LCB pour les COC irradiés à 150 kGy, on remarque qu'elle est deux fois plus importante pour le grade S que pour le grade D et 4 fois plus importante que pour le grade T. Ces résultats peuvent être corrélés avec la réticulation mise en évidence par la formation d'une fraction non soluble.

II.3 Effet de la stérilisation sur la création de composés de faible masse molaire (CFMM)

Les composés de faible masse molaire ont été mis en évidence par l'analyse des solutions d'extraction obtenues par dissolution-précipitation des polymères par CES et par CLHP.

En ce qui concerne l'analyse par CES (Figure 33 a, c et e), le chromatogramme de l'extrait correspondant au COC non irradié montre la présence de deux distributions molaires majoritaires centrées à 11,8 et 14,9 minutes. La première distribution est attribuée à la fraction soluble des plus petites chaînes du polymère après dissolution précipitation car le temps d'élution correspond à celui de faibles masses contenues dans le polymère (Figure 33 b, d et f). La deuxième distribution correspond essentiellement à des composés dont les masses sont voisines de celle de l'Irganox 1010[®] (temps d'élution= 14,9 minutes) avec un épaulement à $t = 15,4$ minutes, correspondant à l'un de ses produits de dégradation ou à des oligomères. Après irradiation, l'intensité du pic correspondant à l'Irganox 1010[®] diminue et laisse apparaître de nouvelles distributions (attribuées à ses produits de dégradation ou de recombinaison). L'intensité de la distribution correspondant au polymère, quant à elle, augmente après irradiation selon l'ordre $25 \text{ kGy} > 75 \text{ kGy} \geq 150 \text{ kGy} > 0 \text{ kGy}$ pour le S et le D, ce qui peut s'expliquer par les modifications induites sur les chaînes par l'irradiation. Les chaînes plus courtes créées par la scission sont plus solubles ce qui explique d'une manière générale que l'intensité de cette distribution soit plus importante pour les polymères irradiés que pour le non irradié et qu'elle soit plus importante pour le polymère irradié à 25 kGy, dose pour laquelle les scissions prédominent.

Par ailleurs, la réticulation partielle des chaînes à 150 kGy rend une partie du polymère insoluble, ce qui explique la diminution de l'intensité de la distribution à 150 kGy.

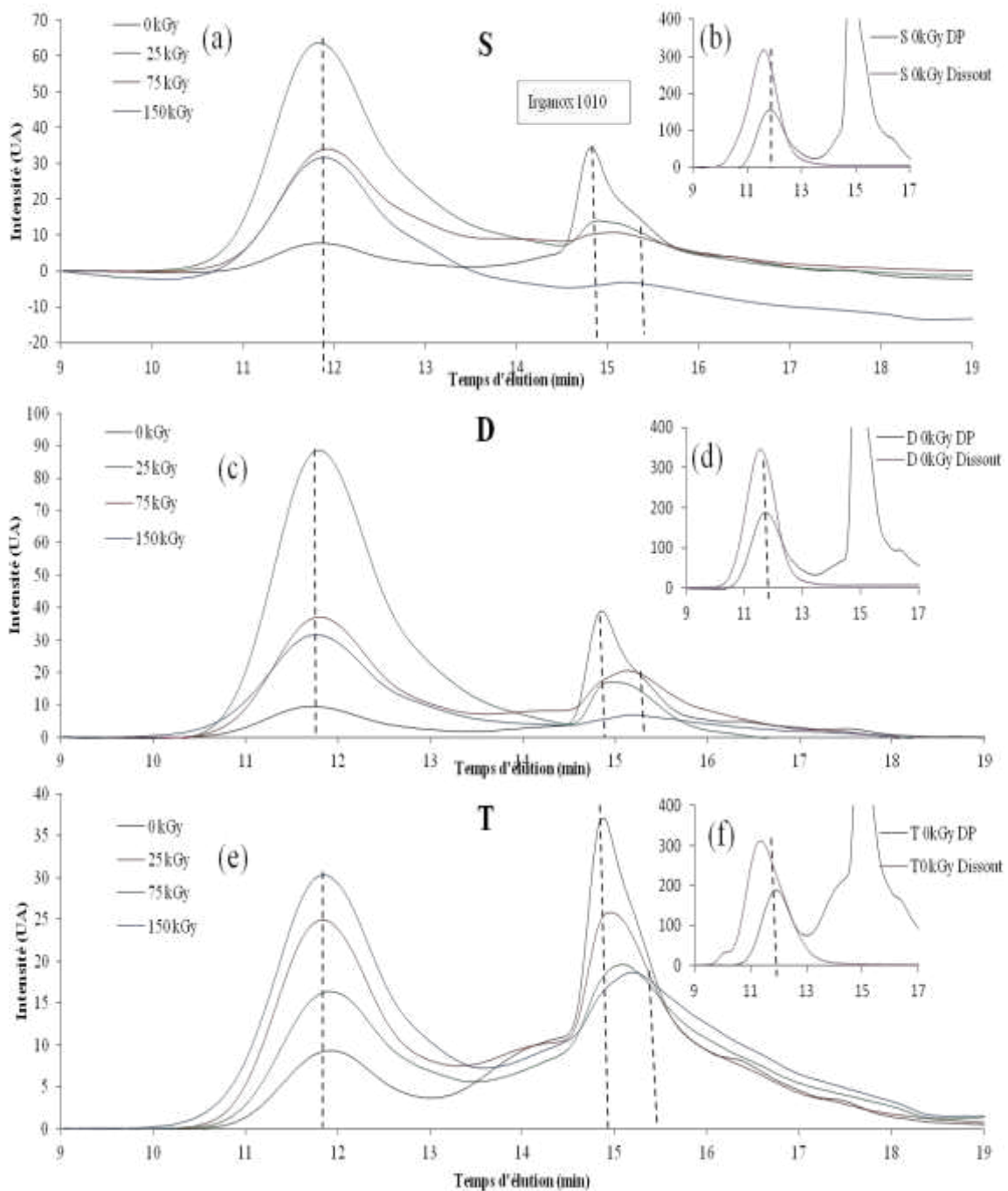


Figure 33 : (a, c, e) Chromatogrammes par CES de l'extrait obtenu par dissolution précipitation (DP) des granules deCOC de type S, D et T respectivement à différentes doses d'irradiation. (b, d, f). Comparaison de la distribution du polymère (granules) non irradié dissout dans le toluène avec celle du polymère obtenu dans l'extrait (DP)

L'évolution de la distribution de l'extrait du polymère de grade T en fonction de la dose est différente. Pour ce grade, l'intensité augmente avec la dose d'irradiation. Si on considère

le taux de scission, son évolution est la même pour les autres grades, mais par contre, pour les plus fortes doses, le taux de branchement tend à diminuer et le taux de gel est également faible. Comparativement aux autres grades, on a donc une plus grande quantité de polymère soluble, notamment à 150 kGy.

L'étude des composés de faible masses molaires et surtout des produits de dégradation de l'antioxydant est très importante car ces espèces sont susceptibles de migrer du polymère vers les formulations pharmaceutiques. Afin d'étudier ces migrants, l'évolution des produits de dégradation de l'Irganox 1010[®] a été suivie par chromatographie à polarité de phases inversée (RP-CLHP), qui est une méthode de séparation plus sélective et plus spécifique que la CES. Pour cette technique séparative le temps de rétention diminue avec la polarité de la molécule éluée mais augmente avec la masse de cette dernière.

Par ailleurs, seuls les composés chromophores seront détectés dans notre cas car un détecteur UV à barrette de diodes (200 à 500 nm) a été utilisé.

La superposition des chromatogrammes correspondant aux COC avant et après irradiation (Figure 34) montre pour le COC non irradié, la présence d'un pic majoritaire à 27 minutes (pic 1) attribué à l'Irganox 1010[®] et des pics peu intenses correspondant soit aux résidus de synthèse de l'Irganox 1010[®] (pics 2, 4, 5) soit à des produits de dégradation et/ou de recombinaison générés lors du processus d'extraction (pics 3 et 7). L'évolution du profil chromatographique montre que certains produits de dégradation observés sur le non irradié sont aussi générés par l'irradiation (augmentation de l'intensité des pics 4, 5 et 6) avant d'être éventuellement dégradés pour des doses d'irradiation suffisamment fortes (pics 5 et 6). D'autres sont dégradés dès les faibles doses (pics 1, 2 et 3). Enfin de nouveaux produits de dégradation sont mis en évidence (pics 8 et 9).

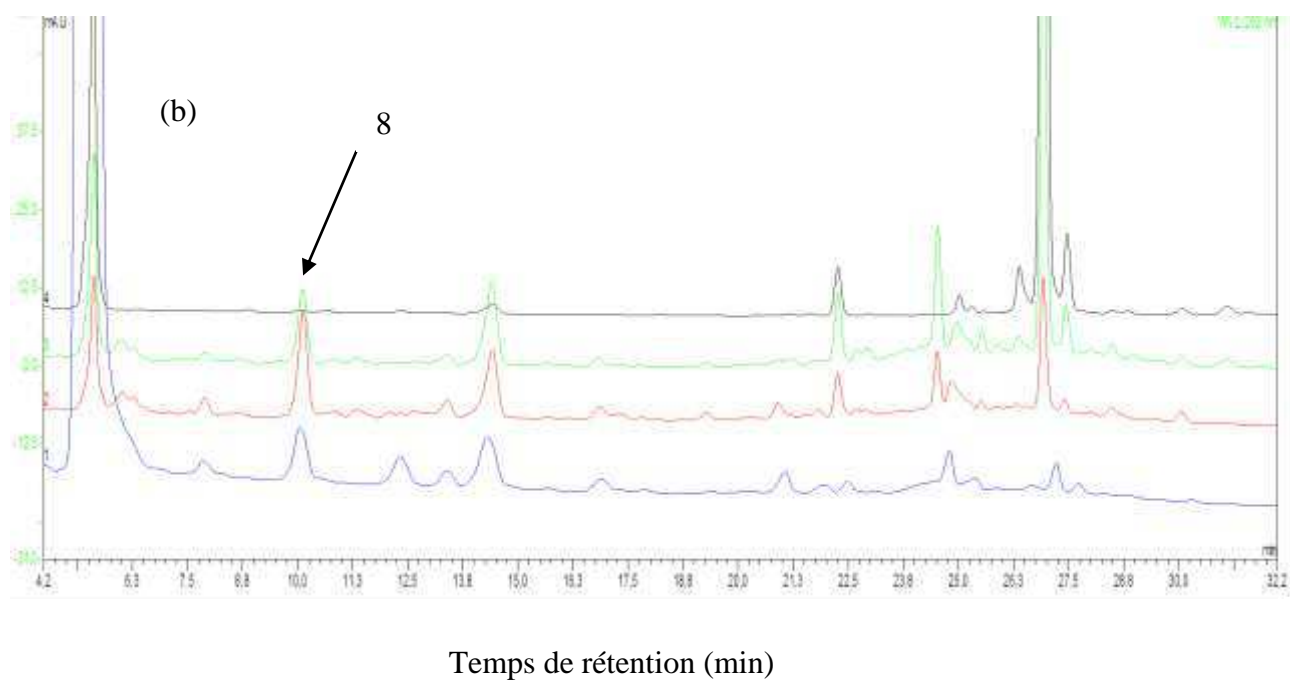
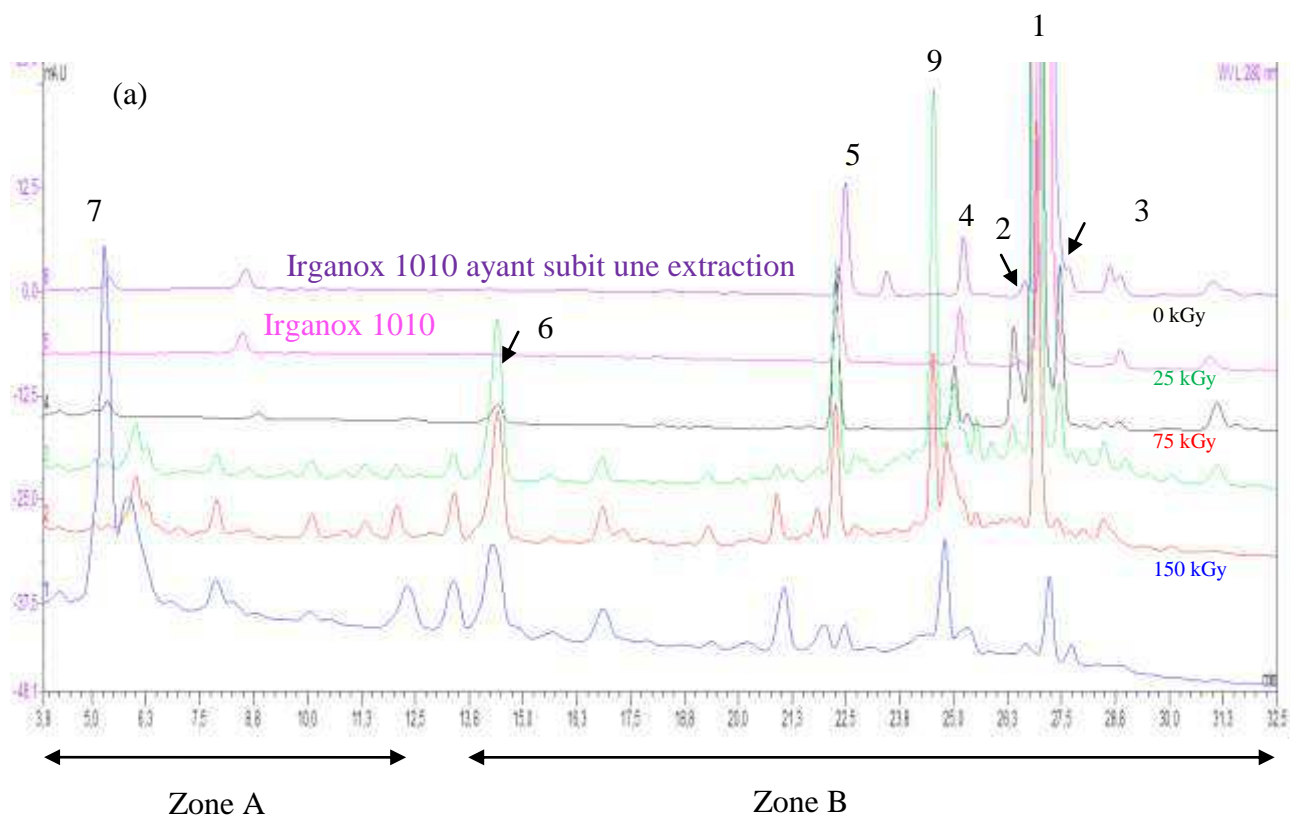


Figure 34 : Chromatogrammes CLHP des extraits de granules de COC S non irradié et irradié à 25, 75 et 150 kGy. La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes réglé aux longueurs d'ondes de a) 280nm (pour le groupement phénol) b) 263nm (pour les noyaux aromatiques sans hétéroatome).

En effet, en prenant par exemple le chromatogramme correspondant à l'extraction du polymère irradié à une dose de 25 kGy, on peut distinguer deux zones correspondant à la présence de nouveaux composés. La première (zone A) correspond à des pics ayant des temps de rétention t_r courts et donc attribués à la création de petites molécules ou composés plus polaires que l'Irganox 1010[®]. Dans la deuxième (zone B) on observe la présence de nombreux pics correspondant à des produits de dégradation de masse plus importante et/ou de polarité intermédiaire. En effet, ces composés sont détectés à des temps de rétention t_r plus élevés, avec des temps de rétention qui pour certains sont même supérieurs à celui de l'Irganox 1010[®] (exemple pic 3). Une diminution significative de ces derniers produits, associée en parallèle à une augmentation de l'ensemble de pics de la zone A, a été observée après l'irradiation à 75 kGy. Il semble donc que les produits de dégradation de masse suffisante se clivent en produits de dégradation de plus faible masse. Nous avons aussi remarqué que la majorité des produits de dégradation de la zone A, a un maximum d'absorbance à 263 nm, qui est une longueur d'onde caractéristique du noyau aromatique sans hétéroatome (Figure 34b); en revanche, le maximum d'absorbance des produits de dégradation de la zone B est à 280 nm, ce qui est plus caractéristique des noyaux aromatiques avec hétéroatome comme le groupement phénol (Figure 34a).

Pour la dose de 150 kGy, la majorité des pics des produits de dégradation observés disparaissent totalement ou diminuent en intensité (pics 9, 5, 6 et 8). Seuls les pics des produits de dégradation de faible masse augmentent en intensité (7).

Les résultats sont similaires pour les trois types de COC. La superposition des chromatogrammes correspondants aux COC de type D et T avant et après irradiation est donnée en Annexe 6.

Il faut noter que les produits de dégradation de l'Irganox 1010[®] ont déjà été mis en évidence dans la littérature [152, 161, 162]. Allen et al. ont détecté plus de 50 composés différents après l'irradiation du polypropylène aux électrons accélérés à une dose de 50 kGy. Bourges et al., ont identifié quant à eux, quatre produits principaux de dégradation de l'Irganox 1010[®] après irradiation à savoir, un phénol, une quinone, une quinone methide et un hydroxybenzaldéhyde.

Une étude préliminaire en CLHP couplée à la spectrométrie de masse a été réalisée afin d'identifier les extractibles du COC ; cependant, les résultats obtenus ne sont pas concluants du fait de la complexité de la matrice utilisée et ne seront pas présentés dans ce manuscrit. En revanche, l'étude de la migration de ces extractibles dans des milieux de polarités différentes ainsi que l'étude de leur toxicité a été étudiée et sera abordée dans le chapitre V.

II.4 Modifications des propriétés thermiques des COC

Les modifications de structure des COC, induites par l'irradiation peuvent entraîner des modifications de ses propriétés thermiques.

En effet, une légère diminution de l'ordre de 1 °C de la température de transition vitreuse (T_g) est observée après irradiation pour les trois grades de COC (Figure 35).

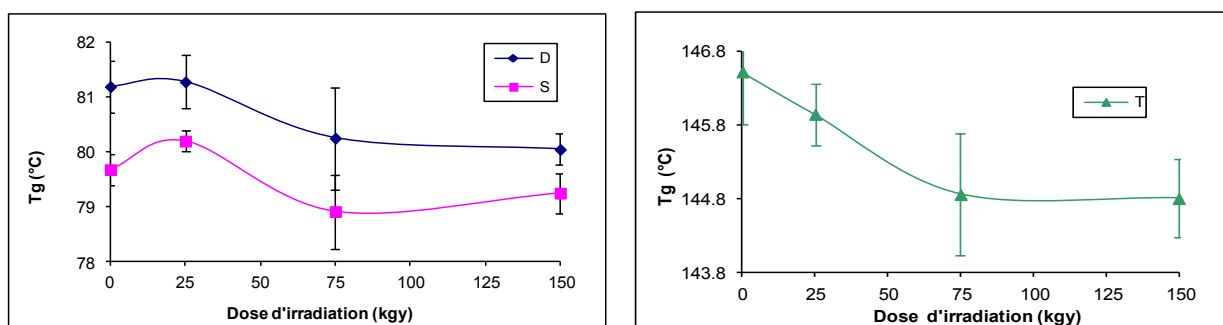


Figure 35 : Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la dose d'irradiation pour les trois grades de COC granules (S, D et T) ($n=3$).

Cette faible modification de la T_g peut s'expliquer en partie par une augmentation du volume libre généré par la scission et le branchement car ces deux phénomènes augmentent la concentration des bouts de chaînes. Même si la réticulation partielle du polymère a eu lieu, elle ne semble pas affecter l'augmentation de volume libre créé par les scissions et branchements, ce qui est en accord avec la diminution de T_g .

Il faut noter que les variations de la T_g des COC après irradiation sont différentes d'une étude à l'autre selon le polymère étudié et les conditions d'irradiation.

Selon Cerrada et al. [153], la température de transition vitreuse (T_g) du TOPAS 6013[®] se déplace de 135°C à 144°C après irradiation par électrons accélérés à 233 kGy sous air. Cette

augmentation indique une perte de la mobilité des chaînes due à une réticulation importante du polymère par l'irradiation. La même tendance a été montrée par Secerov et al. [154, 155] pour le TOPAS 6015[®] contenant un antioxydant.

En revanche, l'irradiation sous air du TOPAS 6015[®] exempt d'antioxydant, entraîne une diminution de la température de transition vitreuse (T_g) de 13 °C d'après Secerov et al. [154, 155]. Ces auteurs attribuent cette diminution de T_g à une augmentation du volume libre, généré par une concentration plus élevée des bouts de chaînes créés par scission oxydative après irradiation.

II.5 Conclusion

Nous avons mis en évidence une modification significative des chaînes de polymère après irradiation avec une prédominance du branchement et de la réticulation pour les doses élevées, ainsi qu'une oxydation post-traitement du polymère. La présence de telles modifications n'influence que peu les propriétés thermiques du polymère, mais la création des composés de faible masse molaire que sont les oligomères et les produits de dégradation et de recombinaison de l'antioxydant, est observée, même à la dose de 25 kGy qui est la dose recommandée par la Pharmacopée Européenne pour la stérilisation des dispositifs médicaux et des conditionnements pharmaceutiques. Ces composés étant des migrants potentiels susceptibles d'influencer la qualité des formulations pharmaceutiques en cas de migration, l'étude de leur diffusion dans différents milieux paraît indispensable afin de comprendre la compatibilité des copolymères à base d'oléfines cycliques avec les médicaments. Cette étude sera détaillée dans le chapitre V consacré aux interactions contenant/contenu. Toutefois, la migration n'est pas la seule interaction possible. En effet, l'adsorption à la surface des matériaux des principes actifs ou des excipients présents dans les formulations pharmaceutiques et/ou leur absorption dans les matériaux, sont d'autres types d'interactions possibles. Compte tenu de la modification de composés en surface du matériau, leur étude est aussi importante que celle de la migration. C'est pourquoi, la connaissance des propriétés de surface des copolymères à base d'oléfines cycliques ainsi que l'effet de la stérilisation sur la surface est une étape cruciale que nous allons détailler dans le chapitre suivant.

Chapitre III: Effets de la stérilisation par électrons accélérés sur la surface du matériau

Etudier l'état de surface de matières plastiques utilisées comme conditionnements pharmaceutiques ou comme dispositifs médicaux et notamment après stérilisation est un sujet très important, car la surface peut conditionner les différents types d'interactions possibles entre ces matériaux et les formulations pharmaceutiques ou les milieux biologiques avec lesquels ils sont en contact.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'articles concernant l'état de surface de COC après stérilisation par rayonnement ionisant. C'est la raison pour laquelle nous allons nous intéresser dans ce chapitre à mettre en évidence l'effet de la stérilisation par électrons accélérés sur la surface des COC en caractérisant les modifications topographiques, et chimiques et en montrant leur impact sur la mouillabilité.

III.1 Etude de la topographie de surface des COC par microscopie à force atomique (AFM)

La microscopie à force atomique a été utilisée afin d'examiner la topologie de surface du COC et de mesurer sa rugosité avant et après stérilisation par électrons accélérés. L'analyse en AFM a été réalisée sur des films spincoâtés de COC extraits non irradiés et irradiés mais aussi sur des films extrudés commerciaux.

Il est à noter que plusieurs des paramètres utilisés pour caractériser la micro géométrie des surfaces sont normalisés. Nous allons nous intéresser dans cette thèse aux paramètres de profil de rugosité qui sont décrits dans la norme AFNOR NFE 05-015. Ainsi on peut distinguer deux types de paramètres : les paramètres géométriques et les paramètres statistiques.

Les paramètres géométriques de rugosité les plus couramment utilisés sont R_t (aussi appelé R_{max}) et R_p (Figure 36).

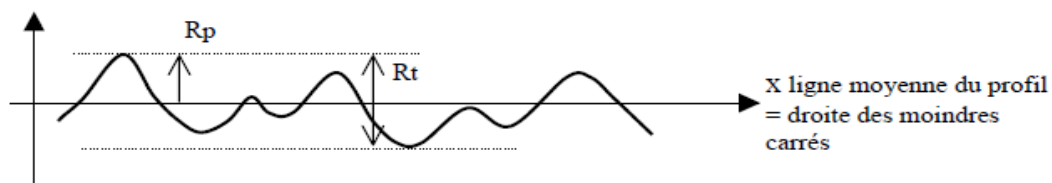


Figure 36: Paramètres géométriques de la norme « ligne moyenne ».

R_t est la différence d'altitude entre le point le plus élevé et le point le plus bas du profil. C'est l'étendue des mesures d'altitude du profil. R_p est l'altitude du point le plus élevé du profil par rapport à la ligne moyenne (ou droite des moindres carrés).

Les paramètres statistiques de rugosité généralement utilisés sont R_a et R_q :

R_a est la moyenne arithmétique de la valeur absolue des altitudes du profil par rapport à la ligne moyenne. Ce paramètre est représentatif de l'amplitude verticale de dispersion des altitudes autour de la ligne moyenne. Si $z(x)$ est l'altitude du point d'abscisse x et L la longueur explorée, R_a est définie alors par :

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |z(x)| dx \quad (19)$$

R_q est la moyenne quadratique des altitudes du profil par rapport à la ligne moyenne. Ce paramètre est représentatif de la dispersion en altitude des points du profil.

Après avoir défini les paramètres de rugosité nous allons maintenant présenter les résultats obtenus par AFM.

Comme le montre la Figure 37, qui présente une comparaison de l'image tridimensionnelle de la surface des films COC spincoatés irradiés et non irradiés, une dégradation très importante de la surface du COC après irradiation à 150 kGy a été observée avec la présence d'aspérités régulières dont la largeur est de l'ordre de 150 nm et dont la hauteur varie entre 7 et 15 nm. Ces aspérités augmentent la rugosité de surface du film spincoaté (R_q) : initialement autour de 0.7 ± 0.04 nm, elle est de l'ordre de 5 nm après irradiation à 150 kGy.

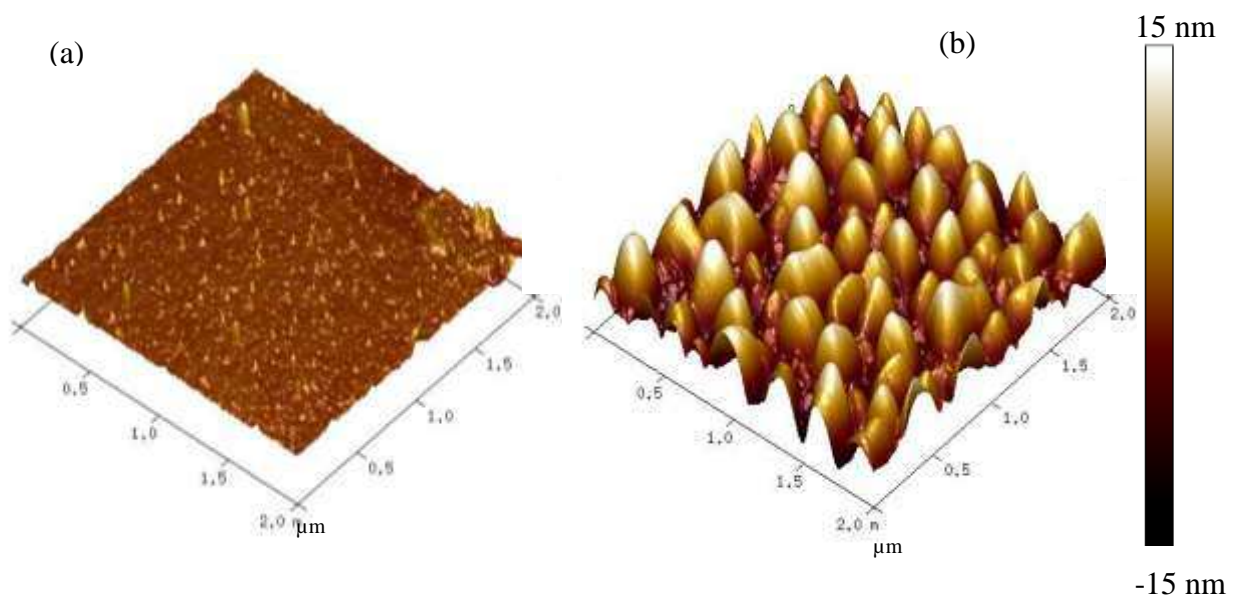


Figure 37 : Comparaison de l'image tridimensionnelle de la surface du film spincoaté type S extrait (a) non irradié et (b) irradié à 150 kGy.

En ce qui concerne les films extrudés, la microscopie optique a montré la présence d'un grand nombre de défauts (Figure 38a). Le scan réalisé en AFM sur une fenêtre de $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ (Figure 38b) a montré que la hauteur de ces aspérités est comprise entre quelques nanomètres et quelques dizaines de nanomètres (Figure 38c).

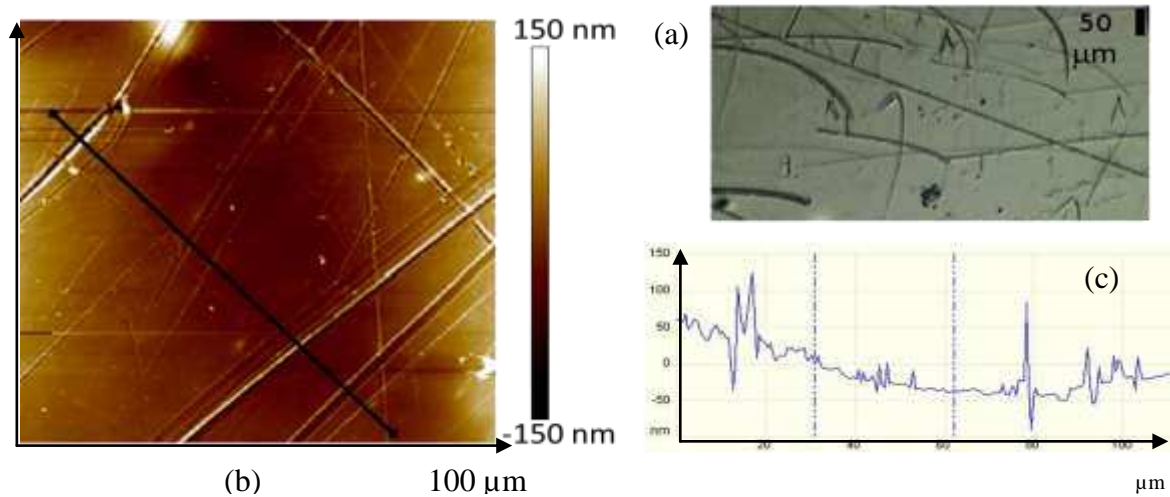


Figure 38: a) Image optique du film de COC, b) Image AFM $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ et c) section correspondant à la ligne noire sur l'image AFM

Afin de s'affranchir de la présence de ces défauts, nous avons effectué l'analyse sur une surface plus petite ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$). Les images 2D et 3D obtenues sont présentées sur la Figure 39. Elles montrent que la surface du film non irradié est lisse et uniforme par rapport au film irradié à 150 kGy même si l'écart type de la rugosité est important à cause de l'hétérogénéité de surface du film (Tableau 8).

	R_q (nm)	R_a (nm)	R_{\max} (nm)
0 kGy (n=9)	$1,8 \pm 1.1$	1.2 ± 0.7	22 ± 11.0
150 kGy (n=11)	8.5 ± 3.8	6.7 ± 3.0	68 ± 29.0

Tableau 8: Paramètres de rugosité pour une surface ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$) du film type S non irradié et irradié à 150 kGy.

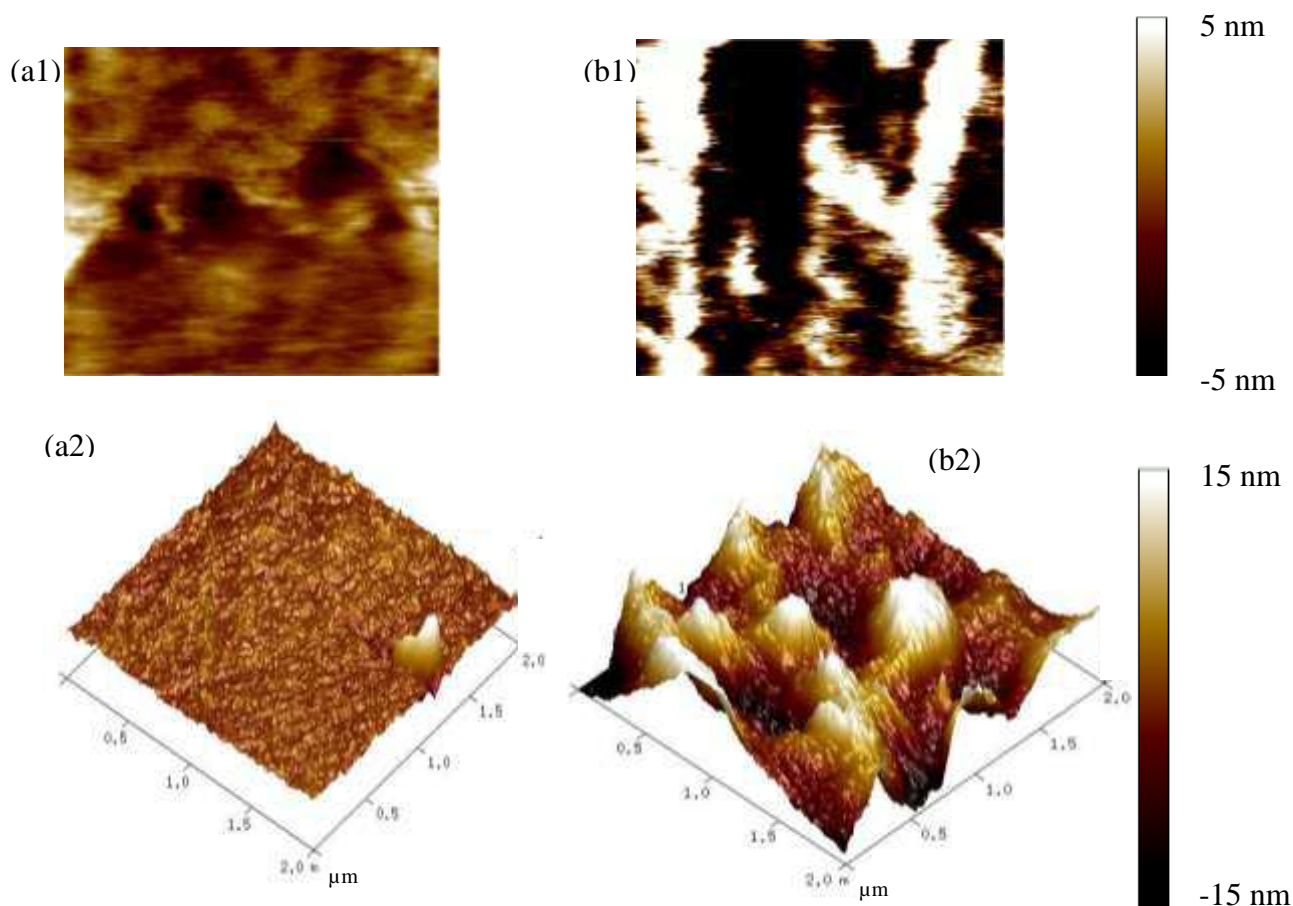


Figure 39: Comparaison de la topographie des films type *S* extrudés non irradiés (a) et irradiés à 150 kGy (b). Vues en 2D (1) et 3D (2).

Les images réalisées en contraste de phase, obtenues en mesurant le déphasage entre l'oscillation du ressort libre et l'oscillation du ressort en interaction avec la surface [163], nous ont permis quant à elles de montrer un autre effet de la dégradation sur certaines zones des échantillons avec l'apparition de deux phases distinctes de duretés différentes, ce qui n'a jamais été mis en évidence pour les échantillons non irradiés (Figure 40).

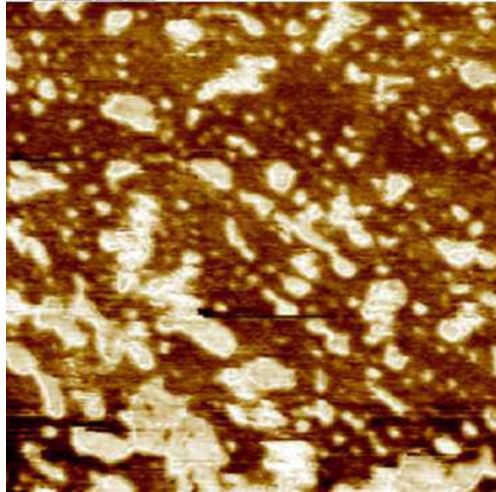


Figure 40 : Image en contraste de phase ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$) pour le film type S irradié à 150 kGy montrant la présence de deux phases distinctes.

Il est à noter que l'effet de l'irradiation par électrons accélérés sur la topographie de surface de différents polymères a déjà été reporté dans la littérature. Nathawat et al. [164] ont montré une augmentation de la rugosité de surface de films de poly méthacrylate de méthyle (PMMA) de 3 à 5 nm après irradiation aux électrons accélérés de faible énergie (10 keV) (à un débit de dose de $2 \times 10^{14} \text{ e}^-/\text{cm}^2$). La même observation a été montrée pour des films de polycarbonate (PC) dont la rugosité augmente de 1.5 à 14 nm après irradiation [165].

Par ailleurs, d'autres types de traitements sont responsables de la modification de la topographie de surface des polymères comme par exemple l'irradiation gamma [166], l'irradiation par bombardement d'ions [167], mais surtout le traitement par gaz plasma qui est connu pour décaper les surfaces et y greffer des groupements fonctionnels hydrophiles (selon le gaz utilisé), ce qui modifie la rugosité [168, 169].

Selon Roy et al. [168] la rugosité du COC augmente avec le temps du traitement plasma et est fonction du gaz utilisé lors du traitement. La même tendance a été mise en évidence par Hwang et al. [170] et Bhattacharyya et al. [169]. L'augmentation de la rugosité de surface après traitement est due à la scission de chaînes de polymère et à la réaction d'oxydation qui génère sur la surface des produits polaires.

La mise en évidence de l'évolution de la rugosité de surface des COC après irradiation est importante car elle peut augmenter la surface de contact, qui est un paramètre important pour certaines applications comme l'adhésion [171]. En effet, une augmentation de la rugosité peut

favoriser l'ancrage et augmenter la surface disponible pour l'adhésion par rapport à une surface lisse. La Tableau 9 donne l'augmentation de surface générée par la rugosité, calculée à partir d'une image de $2 \times 2 \mu\text{m}^2$. L'augmentation de la surface due à la rugosité est généralement faible même si elle est favorisée par l'irradiation.

	Spincoaté 0 kGy	Spincoaté 150 kGy	Extrudé 0 kGy	Extrudé 150 kGy
% augmentation de la surface/ surface lisse	0.3 ± 0.2	1.3 ± 0.6	0.3 ± 0.2	2.6 ± 2.2

Tableau 9: Augmentation de la surface générée par la rugosité pour les films COC type S spincoatés et extrudés avant et après irradiation à 150 kGy

L'évolution de la rugosité de surface des COC peut aussi contribuer à la modification de leur comportement en mouillabilité ; or cette dernière est déterminante pour certaines applications notamment lors de la mise en contact avec des milieux chimiques, biologiques ou pharmaceutiques. Cependant, la topographie ne contribue qu'en partie à la modification de la mouillabilité. La mouillabilité est en effet déterminée de manière importante par la chimie de surface chimie qui peut être modifiée de manière conséquente par le traitement ionisant, et que nous allons maintenant caractériser.

III.2 Etude de la chimie de surface de COC

Connaître la composition chimique de la surface des COC avant et après stérilisation par électrons accélérés est une étape cruciale pour expliquer l'effet de la stérilisation sur la mouillabilité de ces matériaux et sur leur caractère plus ou moins hydrophile. La chimie de surface des COC a été analysée par spectroscopie et microscopie IRTF et par SPX.

III.2.1 Analyse par spectroscopie et microscopie IRTF/RTA

Tout d'abord, nous avons caractérisé la surface des différents grades non irradiés. La principale différence observée est la présence d'un lubrifiant en surface du grade D. Les spectres IR des des COC de type S et D sont présentés sur la

Figure 41. Nous pouvons observer dans le cas du COC de type D, des bandes d'absorption à 3300, 1637 et 1564 cm^{-1} caractéristiques de la présence d'un lubrifiant contenant des fonctions amides. Ce lubrifiant a été identifié par analyse, dans les mêmes conditions spectrales qu'un standard ; le BES (N, N'- bis éthylène stéramide) (cf Figure 42). Pour les granules, les bandes d'absorption du lubrifiant en RTA sont très intenses alors que pour les films, elles sont de faible intensité et décalées en nombre d'ondes. Par ailleurs, l'analyse en microscopie IRTF par transmission d'une section de 60 μm d'un granule de COC de type D, montre l'absence du lubrifiant à l'intérieur du matériau. Les granules ont en effet été seulement recouverts par le lubrifiant, ce qui explique le fort signal en RTA. Pour les films qui ont été préparés par extrusion à partir des granules enrobés, on observe par contre une quantité beaucoup plus faible de lubrifiant en surface.

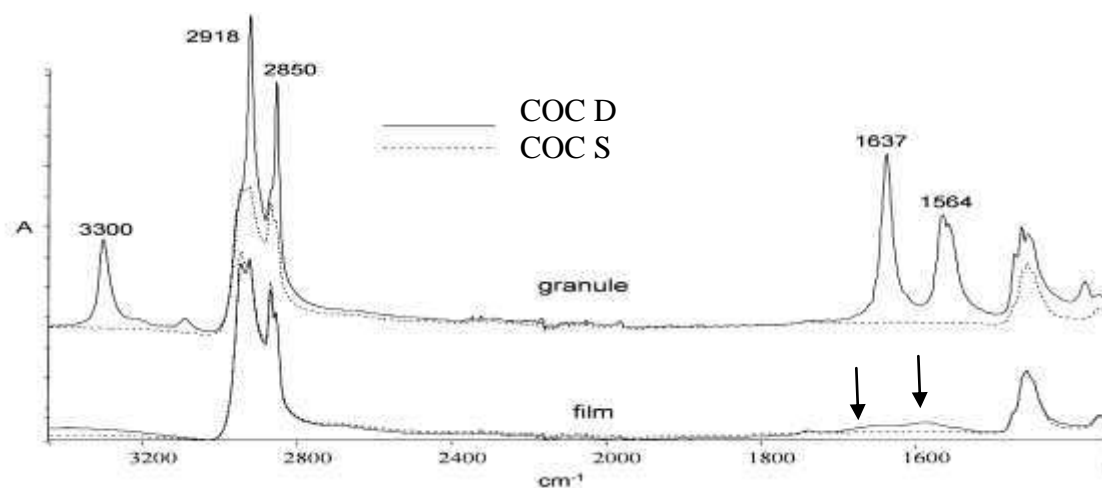


Figure 41 : Spectre IRTF/RTA des COC non irradiés lubrifiés (D) et non lubrifiés (S) (granules et film)

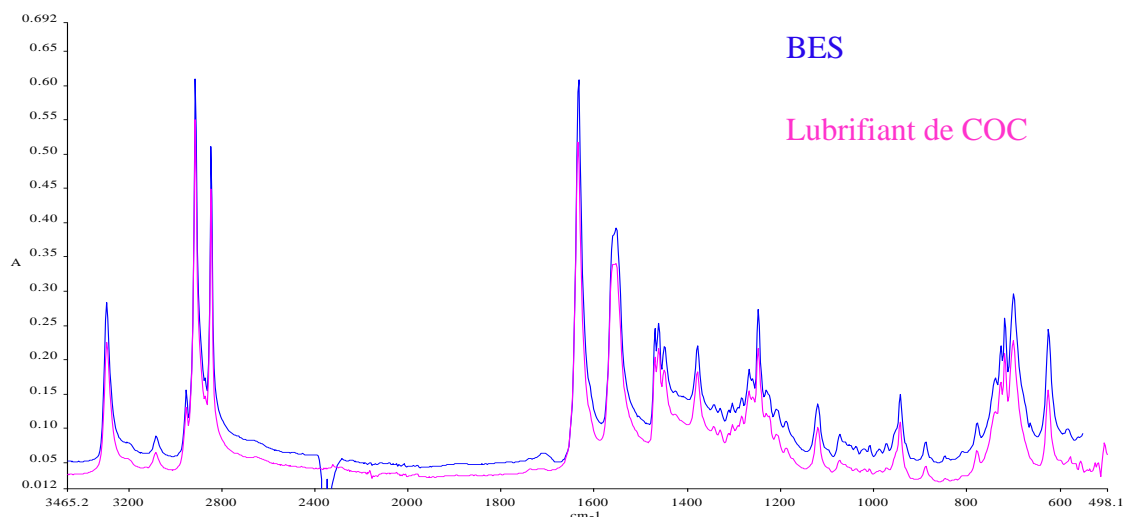


Figure 42 : Spectre IRTF/RTA du BES et du lubrifiant recouvrant le COC de type D.

Nous avons ensuite caractérisé les modifications de surface dues à l'irradiation. Comme nous l'avons observé par IRTF en mode transmission, les spectres RTA du COC irradié révèlent l'apparition d'une bande d'absorbance à 1712 cm^{-1} caractéristique de la vibration d'élongation du groupement C=O et dont l'intensité augmente avec la dose d'irradiation, et ce, quel que soit le type de COC analysé (Figure 43).

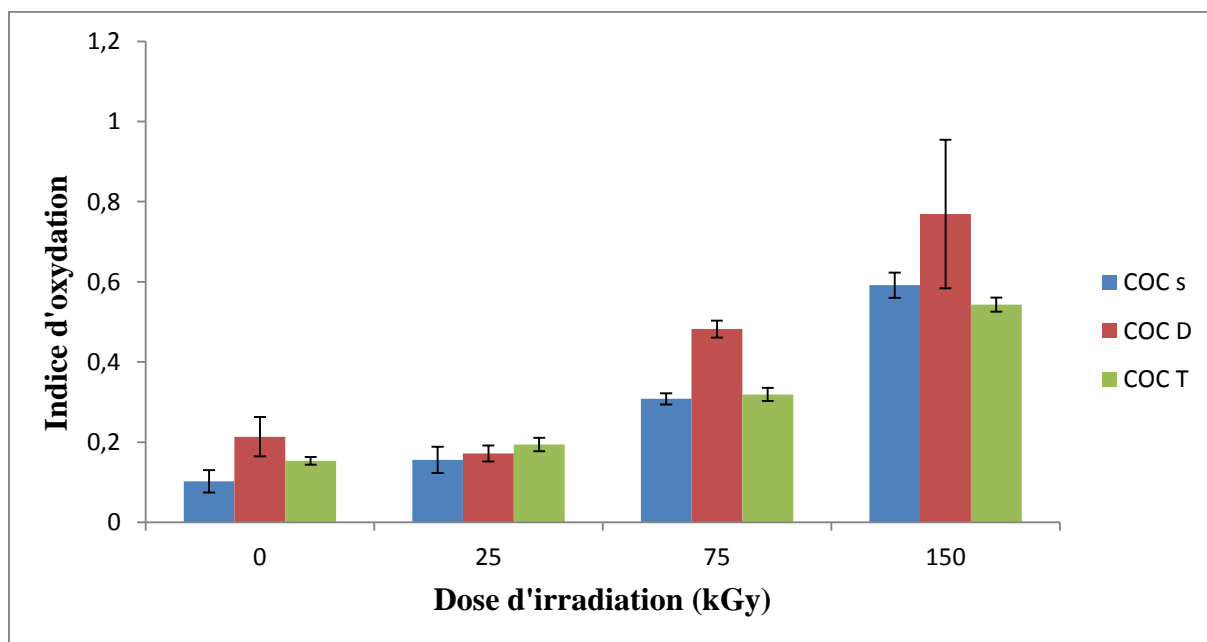


Figure 43 : Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les trois types de COC. Analyse par IRTF/RTA

Afin de savoir si l'effet de l'irradiation est homogène sur la surface et dans le volume du matériau, nous avons suivi la bande d'oxydation observée après irradiation par microscopie IRTF en transmission.

Ainsi, nous avons pu observer pour les COC irradiés à 150 kGy, la présence d'un gradient d'oxydation de la surface vers le volume du matériau et jusqu'à une profondeur de l'ordre de 300 μm (Figure 44). Ce gradient peut être expliqué par la cinétique de diffusion de l'oxygène de la surface vers l'intérieur du matériau.

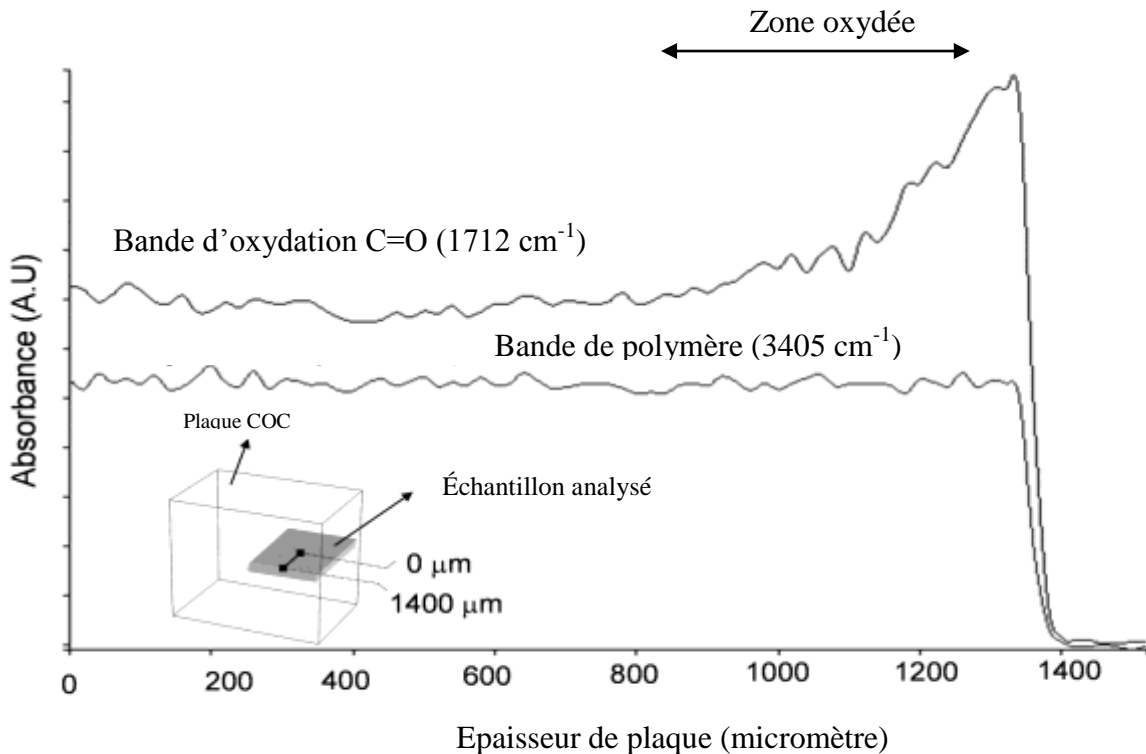


Figure 44 : Profil d'intensité de la bande C=O sur une ligne. L'intensité de cette bande a été normalisée avec la bande à 3405 cm^{-1} du polymère type S analysé en microscopie IRTF/Transmission pour l'échantillon irradié à 150 kGy. La bande à 3405 cm^{-1} représente une bande de COC qui n'était pas modifiée après irradiation. L'origine de la ligne a été prise au centre de l'échantillon découpé, soit à 1400 μm de la surface.

III.3.2 Analyse par Spectroscopie des Photoélectrons X (SPX)

Lors d'une étude par SPX on peut s'intéresser à différentes zones d'énergies que nous allons décrire en nous appuyant sur la description d'un spectre de survol (Figure 45). Ce spectre permet de couvrir une large gamme d'énergies et est réalisé à basse résolution.

- Tout d'abord se trouvent des raies correspondant aux niveaux électroniques de cœur des éléments présents. Dans notre cas ce sont les niveaux 1s du carbone C1s (285 eV) et de l'oxygène O1s (530 eV) : ces raies permettent de réaliser une analyse élémentaire quantitative de la surface du matériau (intensité relative de raies).
- Entre 0 et 40 eV se trouvent les bandes de valence : elles correspondent aux électrons partagés dans les liaisons chimiques inter atomiques et sont surtout caractéristiques de la conformation ; elles permettent par exemple de distinguer le polyéthylène du polypropylène [172] alors que le reste du spectre est similaire pour ces 2 polymères.
- A plus haute énergie se trouvent les raies d'émission Auger qui sont assez larges et complexes. La position de ces raies dépend de l'énergie du rayonnement incident. Quand un photoélectron de cœur est éjecté, le retour à l'état fondamental peut se faire par émission d'un électron Auger. Les raies Auger KLL correspondent au phénomène suivant : un électron de la couche L vient combler l'ionisation de la couche K ; l'énergie de cette transition est alors communiquée à un troisième électron de la couche L qui est éjecté. Les raies Auger sont elles aussi sensibles à l'environnement chimique.
- Les raies de perte d'énergie (plasmons) : ce sont des pics secondaires voisins d'un pic principal.

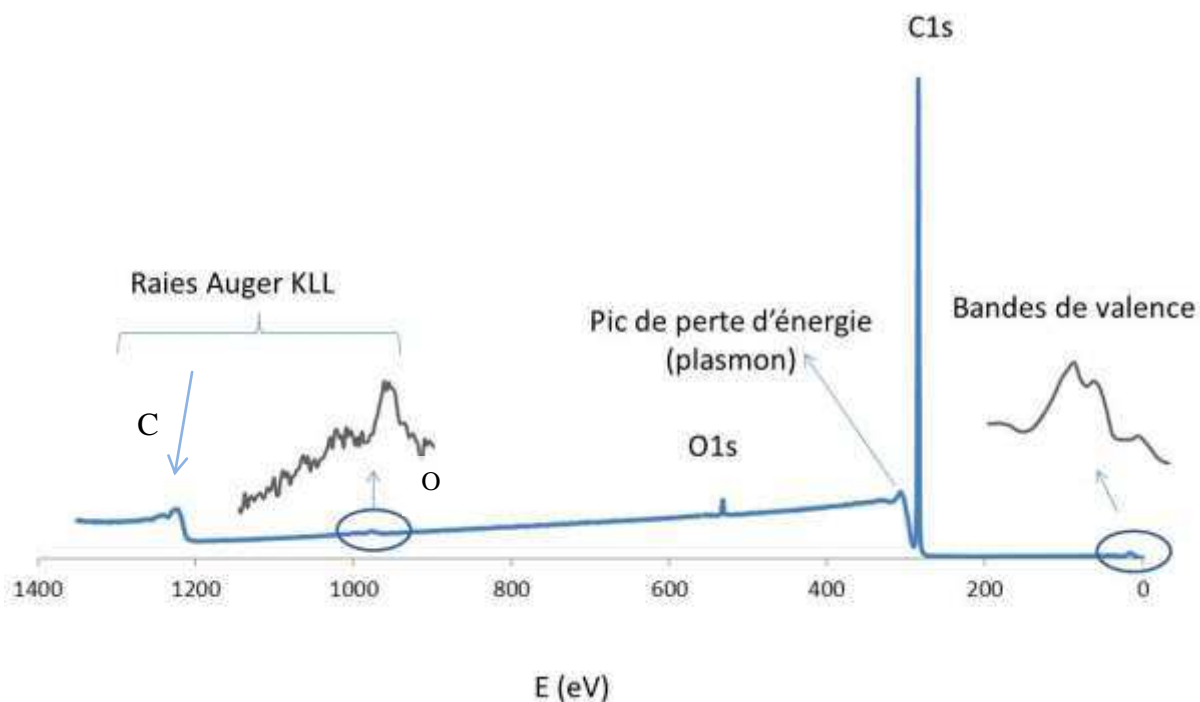


Figure 45: Spectre de survol du film COC de type S irradié à 150 kGy.

La quantification de l'oxygène présent sur la surface des différents échantillons a été réalisée en mesurant l'aire des pics C1s et O1s et en corrigeant par les facteurs de sensibilité (1 pour le C et 2.93 pour O).

On définit alors le % O atomique de façon suivante :

% O atomique = $\frac{o}{c+o} = \frac{1}{1+\frac{c}{o}}$ avec $C/O=2.93 \times I_C/I_O$ et où I représente l'aire de la raie 1s des éléments.

Un enrichissement de la surface des COC en oxygène est ainsi observé après irradiation aux électrons accélérés (Tableau 10).

Dose (kGy)	0	25	150
% O atomique	0.27	0.52	1.42

Tableau 10: Pourcentage d'oxygène atomique en surface du film de COC type S en fonction de la dose.

Un tel enrichissement en oxygène après irradiation aux électrons accélérés a été mis en évidence dans la littérature [165, 173-177]. En effet, Zenkiewikz et al. [174, 175] ont étudié l'effet de l'irradiation aux électrons accélérés sur des films de polyéthylène (PE) ainsi que sur des mélanges de PEBD, PEHD, PS, PP et PET, et ont montré une augmentation du rapport O/C avec la dose d'irradiation à la surface de ces polymères. Cette augmentation est plus importante que dans le cas du traitement que nous avons appliqué dans le cadre de ce travail, ce qui est dû probablement à une plus faible teneur en antioxydant dans leurs polymères. Des résultats comparables ont été révélés par Nathawat et al. [165] sur le polycarbonate, et par Wetzal et al. [176] et Majumder et al. [173] sur le polyuréthane et l'éthylène propylène diène (EPDM) respectivement.

Il est à noter que l'enrichissement de la surface du COC en oxygène, observé par SPX, est en corrélation avec l'augmentation des groupements -C=O observée en IRTF/RTA.

Afin de caractériser le type de liaison et par conséquent la fonction chimique correspondante, des spectres ont été réalisés à plus haute résolution pour les bandes C1s et O1s. En effet, en fonction du type de liaison chimique ($\underline{\text{C}}\text{-O}$, $\underline{\text{C}}\text{=O}$, $\underline{\text{C}}\text{-C}$), l'énergie de cœur va être différente et il est donc possible de déconvoluer ces bandes pour mettre en évidence les différentes fonctions et leur proportion à la surface du matériau.

Les énergies de liaisons ont toutes été recalées par rapport à une référence connue afin d'éviter le déplacement artificiel d'énergies de liaison vers des valeurs plus élevées, ce qui est dû aux charges positives résiduelles générées par l'émission de photoélectrons. Dans notre cas la référence utilisée est l'énergie de la C1s des $\underline{\text{C}}\text{-C}$ aliphatiques à 285 eV.

La superposition des spectres des bandes C1s et O1s, présentée sur la Figure 46, ne permet pas de mettre en évidence de façon probante l'augmentation des espèces oxygénées. Notamment, aucune bande caractéristique de $\underline{\text{C}}\text{-O}$ ou $\underline{\text{C}}\text{=O}$ n'a été mise en évidence sur le spectre de la bande C1s. Ceci est dû notamment au faible taux d'oxygène présent dans les échantillons même après irradiation.

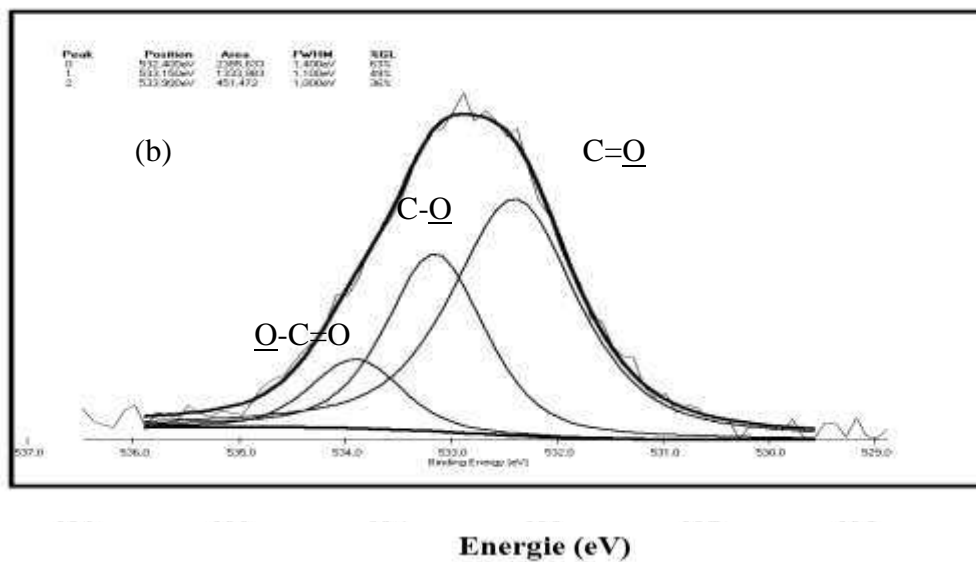
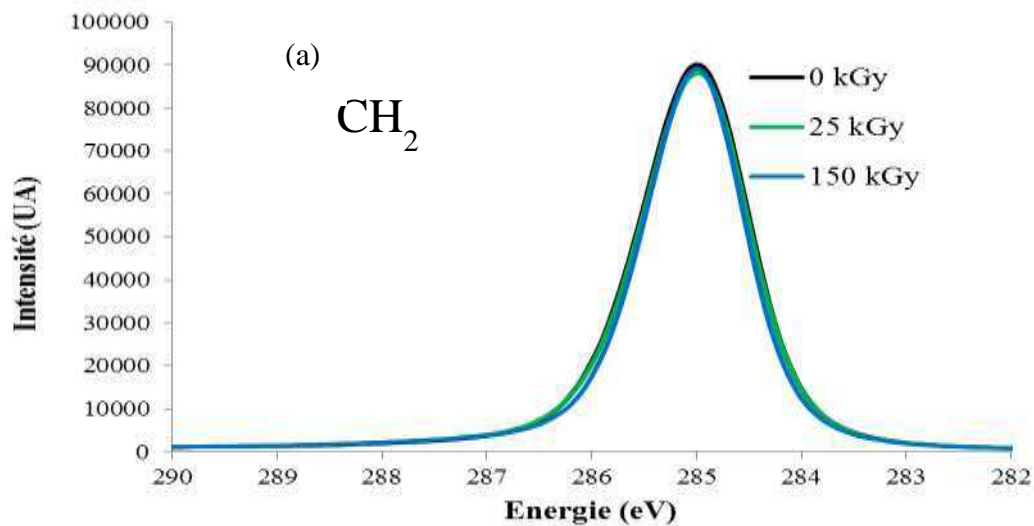


Figure 46: Bandes $\text{C}1\text{s}$ des films COC type S irradiés et non irradiés (a) et $\text{O}1\text{s}$ de film COC irradié à 150 kGy (b). L'intensité des différentes bandes a été normalisée.

En outre, la déconvolution de la bande $\text{C}1\text{s}$ dans les polyoléfines est généralement délicate. En effet, si on s'appuie sur les études réalisées sur le PE [178-182] (qui est présent à 65 % molaire dans le COC étudié) on voit que cette bande est par nature asymétrique [183]. Par conséquent, plusieurs approches ont été développées dans la littérature. La première est de décomposer cette bande avec 4 bandes de faible largeur (une méthode dite de progression vibrationnelle à quatre composants), la deuxième est d'utiliser un seul pic mais asymétrique généré au moyen d'une fonction de Gelius [180].

Cette asymétrie vers les plus hautes énergies de liaison est particulièrement gênante pour quantifier les contributions de type $\underline{\text{C}}=\text{O}$ et $\underline{\text{C}}-\text{O}$ en particulier à faible taux. C'est pourquoi nous n'avons pas cherché à déconvoluer cette bande.

Pour la bande O1s, on doit faire face à deux autres difficultés :

1. L'étude est délicate en raison du bruit de fond important ;
2. La déconvolution est complexe car, d'une manière générale, les énergies des différentes liaisons sont encore plus proches pour les bandes O1s que pour les bandes C1s [184, 185].

Même s'il semble y avoir une bande O1s unique centrée entre 532.8 et 532.9 eV, sa largeur à mi-hauteur (FWHM) est très importante (FWHM=2-2.4 eV) par rapport à ce qui est rapporté dans la littérature pour les bandes O1s de polymères possédant des groupements oxygénés (dans ce cas la FWHM est compris entre 1.1 et 1.4 eV). Cela laisse supposer la présence de plusieurs contributions pour cette bande. La déconvolution de la bande O1s des COC non irradiés et irradiés à 150 kGy permet de distinguer 3 bandes correspondant aux fonctions $\underline{\text{O}}-\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\underline{\text{O}}\text{H}$ et $\text{C}=\underline{\text{O}}$. Le résultat de cette déconvolution est résumé dans le Tableau 11. On peut remarquer que la déconvolution est relativement analogue pour le 0 et le 150 kGy. Cependant, la comparaison quantitative des pourcentages de ces bandes semble délicate en raison de la faible intensité du signal (par rapport au bruit du fond).

Dose (kGy)	Bande ($\underline{\text{O}}-\text{C}=\text{O}$)	Bande ($\text{C}-\underline{\text{O}}\text{H}$) ou ($\text{C}-\underline{\text{O}}-\text{C}$)	Bande ($\text{C}=\underline{\text{O}}$)
150	E=533.9 eV FWHM =1.00 eV 13%	E=533.15 eV FWHM =1.10 eV 31%	E=532.4 eV FWHM =1.40 eV 56%
0	E=533.8 eV FWHM =1.66 eV 21%	E=533.15 eV FWHM =1.20 eV 35%	E=532.3eV FWHM =1.40 eV 44%

Tableau 11: Déconvolution de la bande O1s pour le film COC type S non irradié et irradié à 150 kGy. Energies E, largeur à mi-hauteur FWHM et contribution en %

Cette analyse peut être corrélée avec celle réalisée en IRTF où la seule modification observée entre le COC irradié et non irradié est une augmentation de l'absorbance de la bande C=O. La déconvolution du spectre résultant de la soustraction du spectre du COC irradié à 150 kGy de celui du COC non irradié, a permis en effet de distinguer trois bandes majoritaires à 1712, 1728 et 1748 cm^{-1} correspondant respectivement aux groupements suivants : acide carboxylique (HO-C=O), aldéhyde (H-C=O) et ester (-O-C=O) (voir chapitre II).

Par ailleurs, la recherche des phénomènes tels que le branchement, la déshydrogénation des chaînes et la formation d'insaturations sur la surface du matériau peut être réalisée en exploitant d'autres domaines d'énergie du spectre SPX, comme le déplacement en énergie du pic de plasmon associé au pic C1s, l'élargissement des raies d'émission Auger KLL , ou les bandes de valence.

Le déplacement du pic de plasmon est corrélé à la densité d'électrons de valence. Il est donc lié à la densité massique du polymère [186]. Ainsi, l'augmentation du déplacement en énergie du pic de plasmon reflète une augmentation de la densité massique en surface qui peut être reliée à une déshydrogénation des chaînes et donc à la création potentielle d'insaturations C=C. Ce phénomène est alors généralement associé à un élargissement de la bande C_{KLL} qui est dû à la participation d'électrons π à la transition KLL, électrons sp^2 qui sont caractéristiques de la présence de liaisons C=C.

Ces deux derniers types de modifications ont par exemple été observés sur la surface du PE traité par bombardement d'ions [187-189] : le déplacement en énergie du pic de plasmon augmente typiquement de 20 eV à 26 eV après traitement et les raies Auger KLL sont élargies significativement. Dans le cas du COC traité aux électrons accélérés, et comme le montre la Figure 47, aucune différence au niveau du déplacement du pic de plasmon n'a été remarquée entre les échantillons irradiés et non irradiés (la plasmon apparaît à 21 eV du pic principal). De même aucune évolution de la transition KLL n'a été observée. On peut en conclure que peu de liaisons C=C sont créées en surface après irradiation aux électrons accélérés, contrairement à ce qui est observé après un bombardement d'ions.

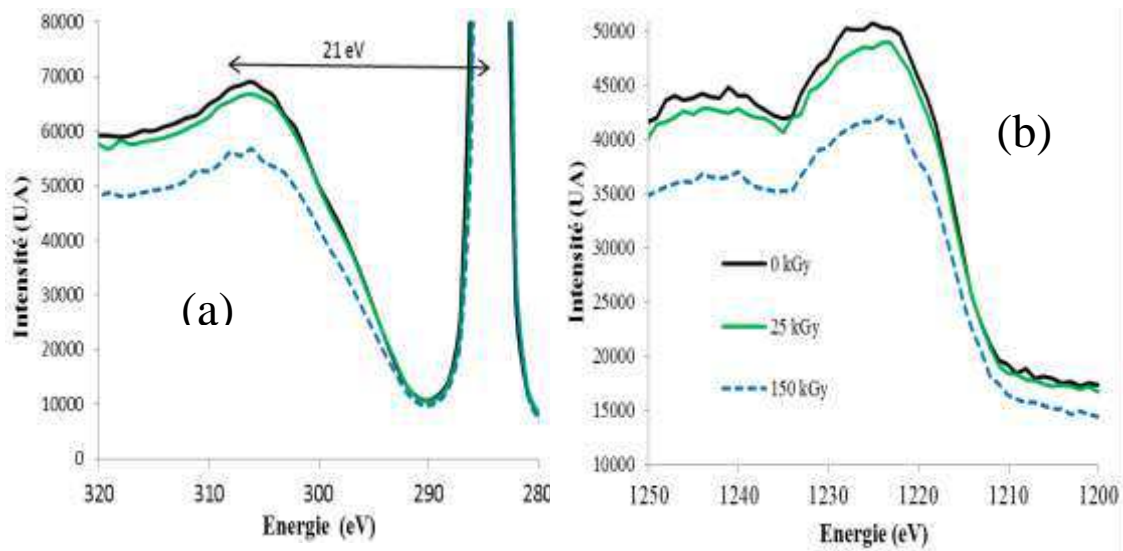


Figure 47: a) Déplacement de plasmon et b) bandes C_{KLL} dans le cas du film de COC type S irradié à différentes doses, aux électrons accélérés.

Une autre zone à exploiter est la zone des bandes de valence. Même si elle est d'une interprétation complexe, cette zone a été largement étudiée dans le cas des polyoléfines où les bandes de valence sont caractéristiques des liaisons C-C (C2s) et C-H (C2p et H1s) [172, 187, 188, 190-192]. L'importance de cette zone ne vient pas seulement de sa sensibilité à la présence de groupements pendants [172] mais aussi de sa sensibilité à la création de doubles liaisons, de branchement ou de réticulation. Ainsi, l'évolution des bandes C2s et C2p du PE après un bombardement d'ions vers une forme large centrée à 20 eV a été observée par Lee et al. [187] et Toth et al. [188] et attribuée à une déshydrogénation et à la création de doubles liaisons. Teodoru et al. [178] ont, quant à eux, mis en évidence la croissance de bandes de valence entre 14 et 18 eV après un traitement plasma, et l'ont attribué soit au branchement de chaînes latérales, soit à une réticulation des chaînes.

L'étude que nous avons menée sur le COC traité aux électrons accélérés, montre l'absence d'un élargissement des bandes de valences du carbone, ce qui est en accord avec l'absence de modifications observées sur les déplacements du plasmon et les transitions KLL. Cependant, l'allure des C2s liantes et anti liantes a été modifiée, comme on peut le voir sur la Figure 48. La bande initialement située à 14 eV (C2s anti liante) et la bande large centrée à 18 eV évoluent après irradiation ; nous pouvons ainsi observer une bande majoritaire à 17 eV et un épaulement à plus haute énergie (autour de 19 eV).

La modification observée sur l'allure de la raie C2s peut être notamment attribuée aux phénomènes de branchement des COC qui ont déjà été montrés par chromatographie d'exclusion stérique [193].

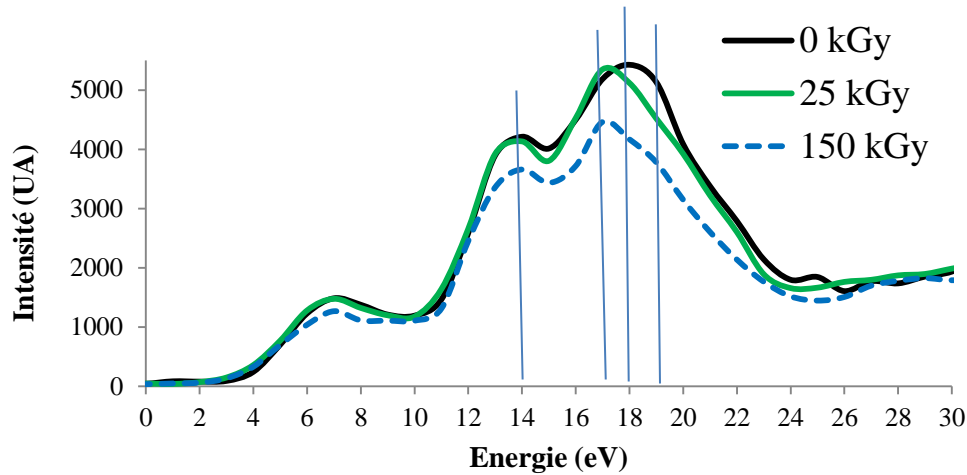


Figure 48: Bandes de valence pour le film du COC type S irradié à différentes doses

Après avoir étudié la topographie et la chimie de surface, nous allons maintenant étudier les angles de contact de différents liquides avec la surface des COC. Ces angles vont nous permettre de caractériser la mouillabilité, l'énergie de surface et le caractère plus ou moins polaire de surface des COC.

III.3 Mouillabilité de la surface des COC

L'évolution des angles de contact et de l'énergie de surface de différents polymères après irradiation aux électrons accélérés a fait l'objet de plusieurs études. La diminution de l'angle de contact de l'eau en fonction de la dose d'irradiation et donc l'augmentation de l'énergie de surface sont les effets principaux observés [167, 173, 176, 194, 195]. Cette augmentation est attribuée dans la plupart des cas à l'augmentation de la composante polaire sur la surface des matériaux [176, 196].

A notre connaissance, aucune étude dans la littérature n'a évoqué l'effet de l'irradiation aux électrons accélérés sur la mouillabilité des COC. Cependant, l'effet d'autres types de traitements tels que le traitement plasma ou le traitement UV/ozone sur ces matériaux a déjà été étudié.

III.3.1 Caractérisation de la surface du COC non irradié

Les mesures d'angle de contact ont été réalisées sur des films COC de type S spincoated (extraits et non extraits) et extrudés (fraîchement irradiés et vieillis un an à température ambiante). L'évolution de l'angle de contact de la goutte de liquide à la surface du matériau en fonction du temps a été étudiée.

Avant de détailler nos résultats, nous allons expliquer le choix méthodologique réalisé lors de cette étude, ce qui nous amène à discuter de la difficulté de l'interprétation des angles de contact.

La mesure des angles de contact est certainement la méthode la plus sensible aux modifications de surface en raison du faible domaine analysé en profondeur (de l'ordre de 0.5 à 1nm). Pour comparaison, la profondeur analysée en SPX est de l'ordre de quelques nanomètres. Pour déterminer l'énergie de surface du matériau, il faut déterminer $\theta_{\text{éq}}$, valeur qu'il est nécessaire de connaître pour appliquer la relation d'Young.

Toute la difficulté de la méthode réside en la détermination de ces angles à l'équilibre.

On dit généralement que l'angle à l'équilibre est compris entre l'angle à l'avancée (θ_a) et l'angle au retrait (θ_r). θ_a et θ_r sont déterminés de manière dynamique, en augmentant continûment et lentement pour θ_a le volume de la goutte déposée jusqu'à trouver une valeur stable, et en aspirant continûment et lentement le liquide déposé pour θ_r . Pour une surface idéale, lisse, homogène et non déformable, les valeurs de ces deux angles devraient être très proches. Par contre, une importante hystérésis peut se produire si la surface est hétérogène (au niveau de sa rugosité ou de sa chimie). Pour une surface lisse mais hétérogène chimiquement, l'angle à l'équilibre peut être estimé comme étant très proche de l'angle à l'avancée, par contre pour une surface rugueuse, il n'y a plus aucune certitude : on observe un angle apparent. Pour mieux comprendre la notion d'angle apparent, nous allons illustrer cette notion avec la figure suivante (Figure 49) qui montre:

- l'angle sur une surface lisse (a),
- les angles réel et apparent (mesuré expérimentalement) sur une surface rugueuse (b).

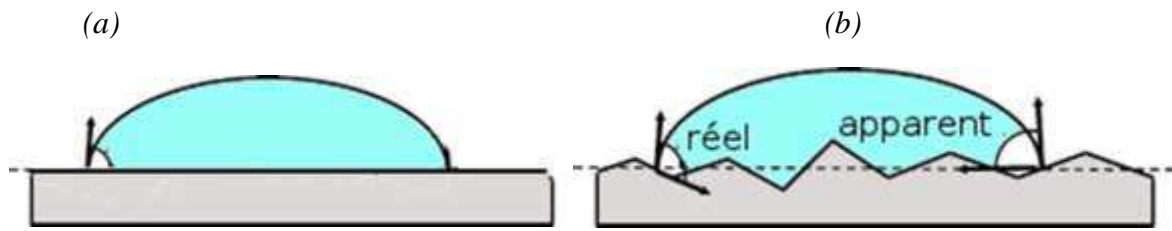


Figure 49 : Angles de contact sur (a) une surface lisse, (b) une surface rugueuse

Différents facteurs compliquent en outre la détermination de l'angle de contact à l'équilibre. La valeur de l'angle de contact observée est liée non seulement à la composition chimique de l'échantillon mais aussi à la topographie, à la pureté du liquide, à la présence d'impuretés solubles en surface et à la stabilité de l'interface qui peut être affectée par la dissolution partielle de la surface ou par son gonflement.

En outre, la plupart des angles de contact évoluent avec le temps et ce, pour différentes raisons.

Tout d'abord, il existe toujours une étape d'étalement pendant laquelle l'angle de contact évolue de 180° à un angle correspondant à un mouillage partiel de la surface (

1. Figure 50).

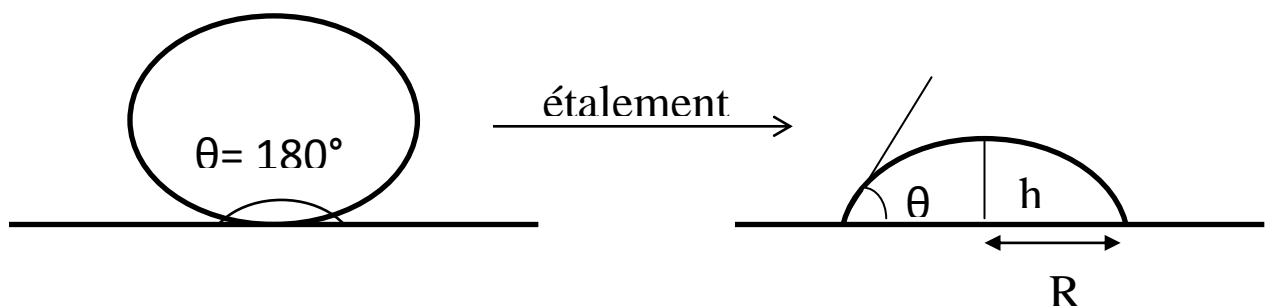


Figure 50 : Schéma de la première étape du mouillage d'un liquide sur une surface.

La cinétique de cette étape dépend de différents paramètres comme les propriétés physico-chimiques du solvant utilisé (viscosité) et la topographie de l'échantillon. Lors de cette étape, le volume V de la goutte reste constant mais sa hauteur h diminue tandis que son rayon R augmente.

2. Ensuite, l'angle de contact peut évoluer en raison de:

- a) l'évaporation de la goutte.
- b) la pénétration du solvant au sein du matériau via un réseau poreux ou par gonflement du polymère.
- c) une dissolution partielle de composés présents en surface.

Afin de distinguer ces différents phénomènes, nous avons choisi dans cette étude de suivre le volume de la goutte déposée V , sa hauteur h et le rayon R de sa surface de contact avec le temps car ce sont de bons indices sur les causes de l'évolution de l'angle de contact. Par exemple, dans les cas a) et b) précédemment cités, V diminue avec le temps mais pas dans le cas c) où l'on tendrait plutôt vers une augmentation de V . Dans le cas b), h diminue alors que R peut augmenter, alors que dans le cas a), V diminue généralement à R constant même s'il peut se produire par intermittence des phénomènes dits de « stick-slide ». Ce phénomène est présenté en Figure 51 : h diminue continûment avec θ tandis que R reste constant, puis subitement R se rétracte tandis que θ et h réaugmentent, jusqu'à atteindre une nouvelle valeur constante de R .

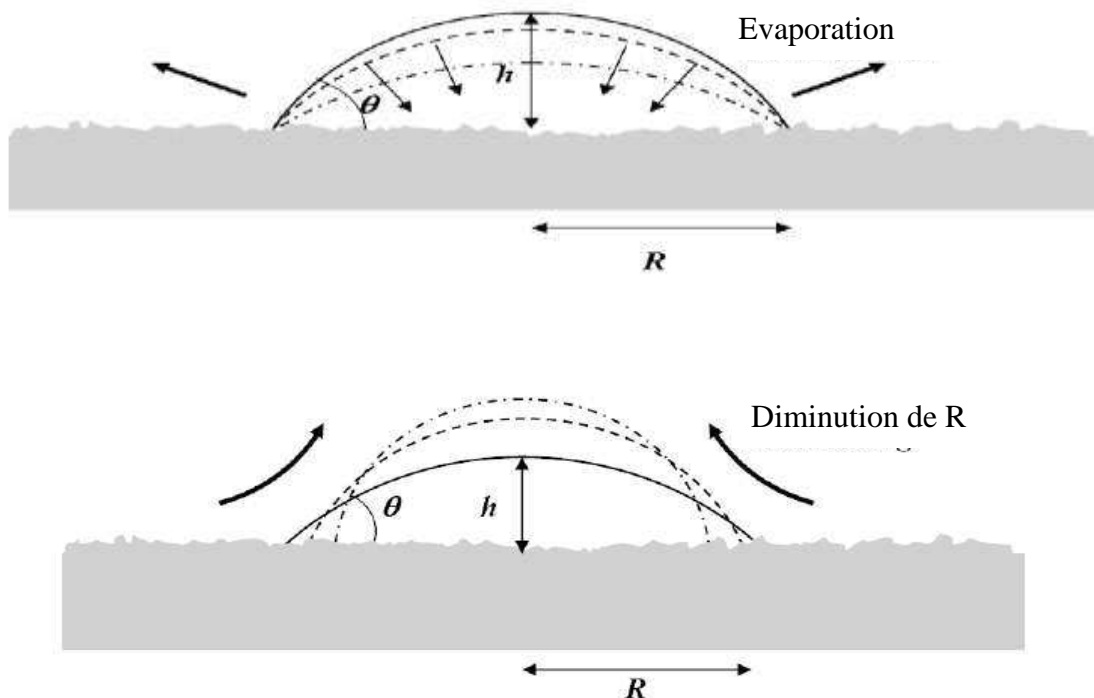


Figure 51 : Phénomène de « stick-slide » observé dans le cas de l'eau [197].

Ce phénomène s'explique par le fait que la ligne de contact est « ancrée » sur les hétérogénéités du substrat, à la valeur d'équilibre précédente tant que l'énergie est insuffisante pour franchir la barrière énergétique correspondante à l'ancrage. Pour des valeurs de θ et de h données, le potentiel énergétique est atteint et R se rétracte pour atteindre un nouvel état d'équilibre. La valeur de l'angle sur ce plateau peut être alors considérée comme un angle au retrait (elle correspond en effet au cas d'une diminution progressive continue et lente du volume de la goutte déposée). Nous utiliserons cette méthode pour déterminer l'angle au retrait avec l'eau.

Pour déterminer l'angle de contact à l'équilibre et calculer l'énergie de surface, nous avons tout d'abord étudié les films spincoâtés de COC extraits qui se rapprochent le plus d'une surface idéale lisse et homogène. Nous avons observé différentes évolutions de l'angle de contact avec le temps selon le solvant utilisé.

Pour les solvants peu volatils et visqueux comme par exemple l'éthylène glycol (EG), le glycérol et le formamide, les angles de contact sont relativement constants avec le temps (Figure 52) après une première phase d'étalement du liquide. Il est à noter que pour une surface lisse, la vitesse d'étalement de la goutte de solvant dépend à la fois de la tension de surface, de la viscosité du liquide, et du volume de la goutte. Cette vitesse augmente notamment avec le rapport tension de surface/viscosité, ce qui nous permet de prédire en regardant le Tableau 4 (chapitre I) que la vitesse d'étalement doit être plus importante pour l'eau que pour l'EG et le glycérol.

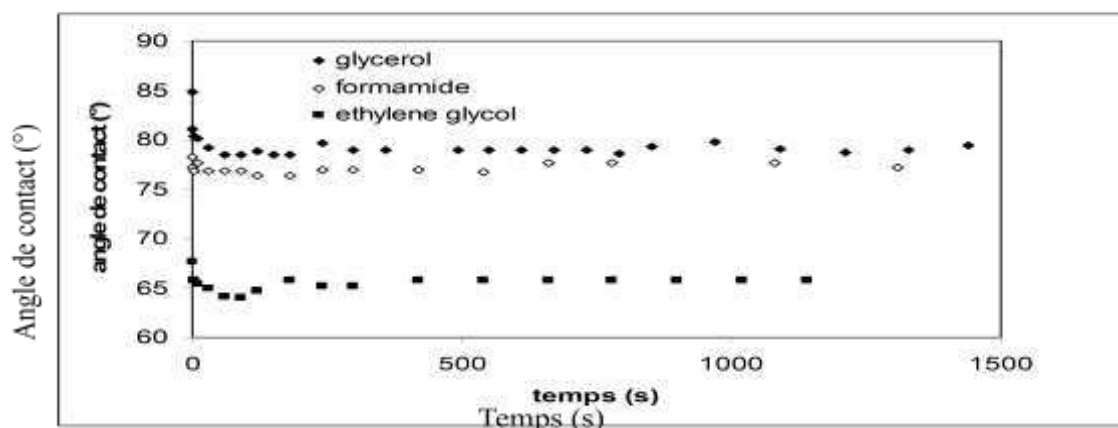


Figure 52 : Evolution des angles de contact sur le film de COC type S spincoaté pour les solvants peu volatils.

En ce qui concerne les solvants plus volatils comme le diiodométhane et l'eau, une diminution de l'angle de contact avec le temps a été observée (Figure 53 et Figure 54). Elle correspond à la diminution progressive du volume de la goutte déposée du fait de son évaporation (h diminue et R est constant).

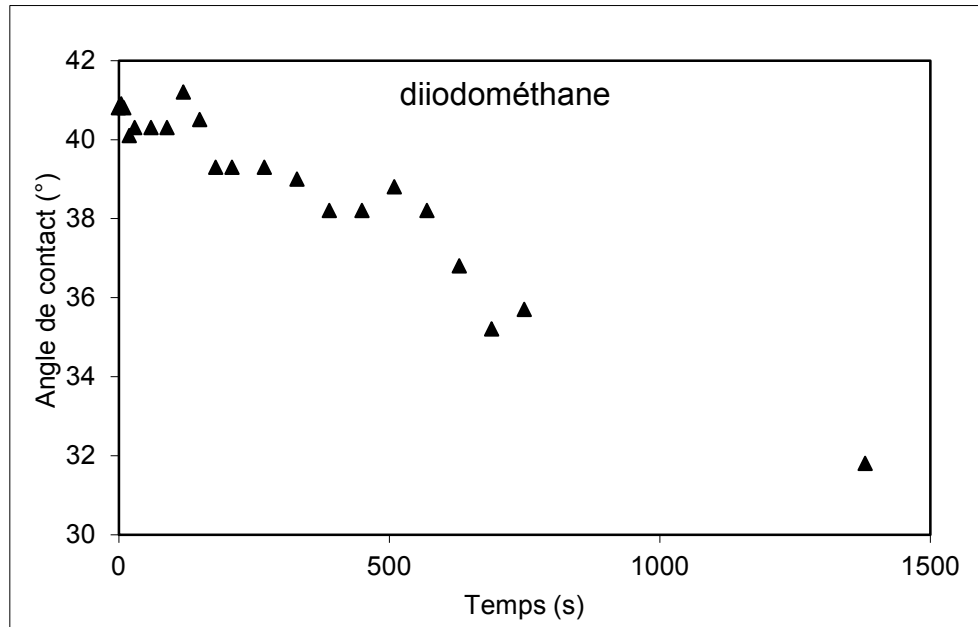


Figure 53 : Evolution des angles de contact sur le film de COC type S spincoaté pour le diiodométhane

Dans le cas de l'eau, la cinétique de l'angle de contact montre en outre des phénomènes de stick-slide répétés [198] qui permettent de stabiliser la valeur de l'angle de contact lors de l'évaporation de la goutte (Figure 54). Après une première diminution de l'angle de contact (entre 90 et 200 s), un plateau est observé entre 200 et 800 s (il est expliqué par une succession d'ancrages et de désancrages de la ligne de contact) ; dans un premier temps, la hauteur de la goutte h et l'angle de contact diminuent conjointement alors que le rayon de la goutte R est constant ; puis, dans un deuxième temps, R diminue brutalement et successivement à h constante pour maintenir l'angle de contact à une valeur stable jusqu'à 800 s où la valeur de l'angle de contact chute à cause de la diminution conjointe de h et R .

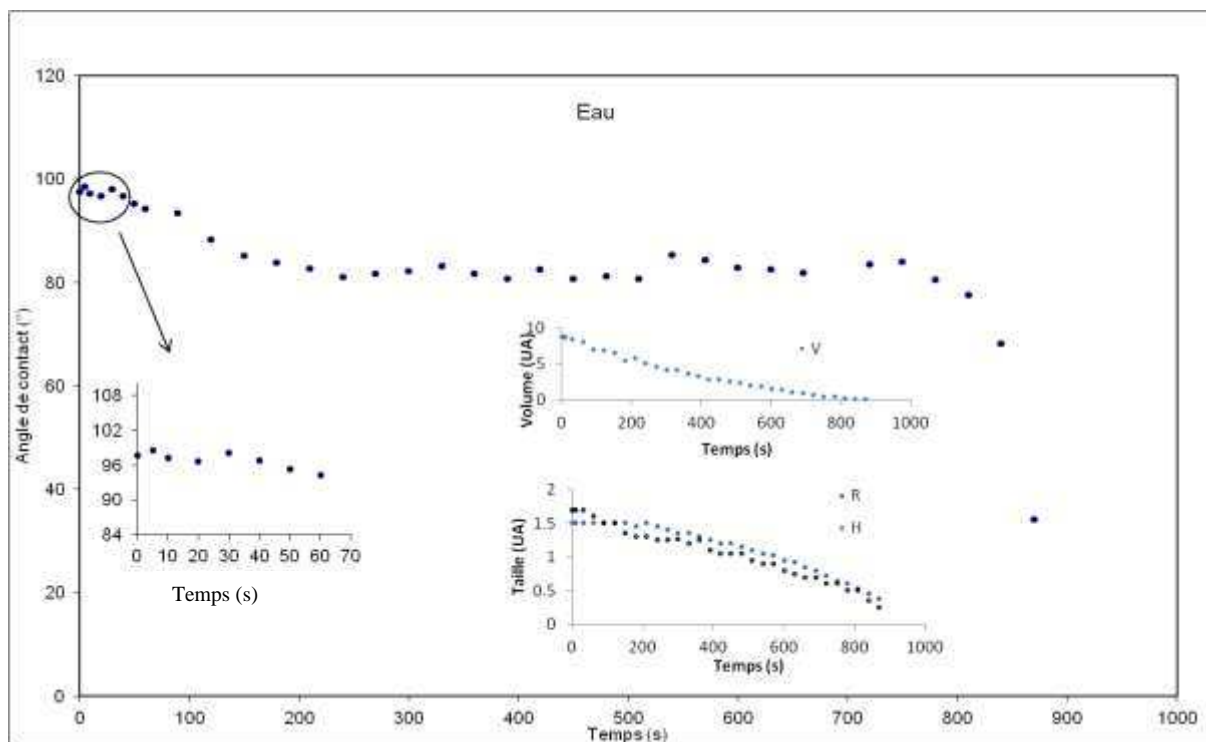


Figure 54 : Evolution des angles de contact sur le film de COC type S spincoaté pour l'eau.

Cette étude de la cinétique de l'angle de contact nous permet notamment de choisir un angle de contact qui sera utilisé ensuite pour comparer les différents échantillons et pour calculer l'énergie de surface. Pour les solvants non volatils (glycérol et autres), la stabilisation de l'angle de contact a été attendue, tandis que pour les solvants volatils (diiodométhane et eau), qui subissent une évaporation rapide mais qui ont en contre partie une vitesse d'étalement (mouillage) rapide, nous avons pris la mesure 5 secondes après le dépôt de la goutte.

Les valeurs de l'angle de contact choisies sont résumées dans le Tableau 12. Ces résultats mettent en évidence d'une part, l'absence de différences significatives entre les films spincoatés avec et sans antioxydant et d'autre part, l'absence de différence entre les films spincoatés et ceux extrudés à l'exception du cas où l'eau est utilisée comme solvant. De plus, aucun effet du vieillissement n'a été observé sur les films commerciaux non irradiés après un an de stockage à température ambiante.

Θ (°)	Eau t=0	Eau Θ_r	Glycérol	Ethylène glycol	Formamide	Diiodométhane
Film extrudé	87.3±4	n.m	n.m	68.3±1.5	n.m	39.5±5
Film extrudé vieilli 1 an à température ambiante	89.9±1.1	79.2±1.2	80.3±0.3	67±3.2	n.m	42.6±2
Film spincoaté	97.5±0.8	84.2±1	80.5±0.5	64.9±1	75.7±1	42.5±1.2
Film spincoaté sans antioxydant	97.6±1	83±1.5	77.3±1.5	66.3±1.1	75.3±1	42.5±1.4

Tableau 12 : Comparaison de l'angle de contact pour les films de COC type S extrudés (fraîchement irradié et après vieillissement) et spincoatés (avec et sans antioxydant). n.m signifie « non mesuré ».

Comme les films spincoatés sans antioxydant sont à priori les plus lisses et les plus homogènes, nous avons utilisé leurs valeurs afin de tracer $\frac{\gamma_L(1 + \cos \theta)}{2\sqrt{\gamma_{Ld}}}$ en fonction de $\frac{\sqrt{\gamma_{Lp}}}{\sqrt{\gamma_{Ld}}}$, où γ_d est le coefficient de tension superficielle d'un liquide L, γ_{Ld} est sa composante dispersive et γ_{Lp} est sa composante polaire, ce qui nous permet en utilisant le modèle d'Owens-Wendt de déterminer l'énergie de surface du COC et sa composante polaire. L'énergie de surface du COC a été estimée à 38 mN.m⁻¹ dont 0.2 mN.m⁻¹ pour la composante polaire (0.5 %).

III.3.2 Effet de l'irradiation sur la mouillabilité des films COC

Afin d'étudier l'effet de l'irradiation sur la mouillabilité des COC, nous allons comme précédemment étudier la cinétique de l'angle de contact avec les films spincoatés pour les différentes doses d'irradiation car cette cinétique peut être modifiée par l'irradiation.

En effet, comme le montre la Figure 55, qui présente l'évolution des angles de contact en fonction de la dose d'irradiation pour les différents solvants, les résultats obtenus avec l'eau

sont particulièrement intéressants car la cinétique de l'angle de contact semble radicalement modifiée pour le COC irradié à 150 kGy.

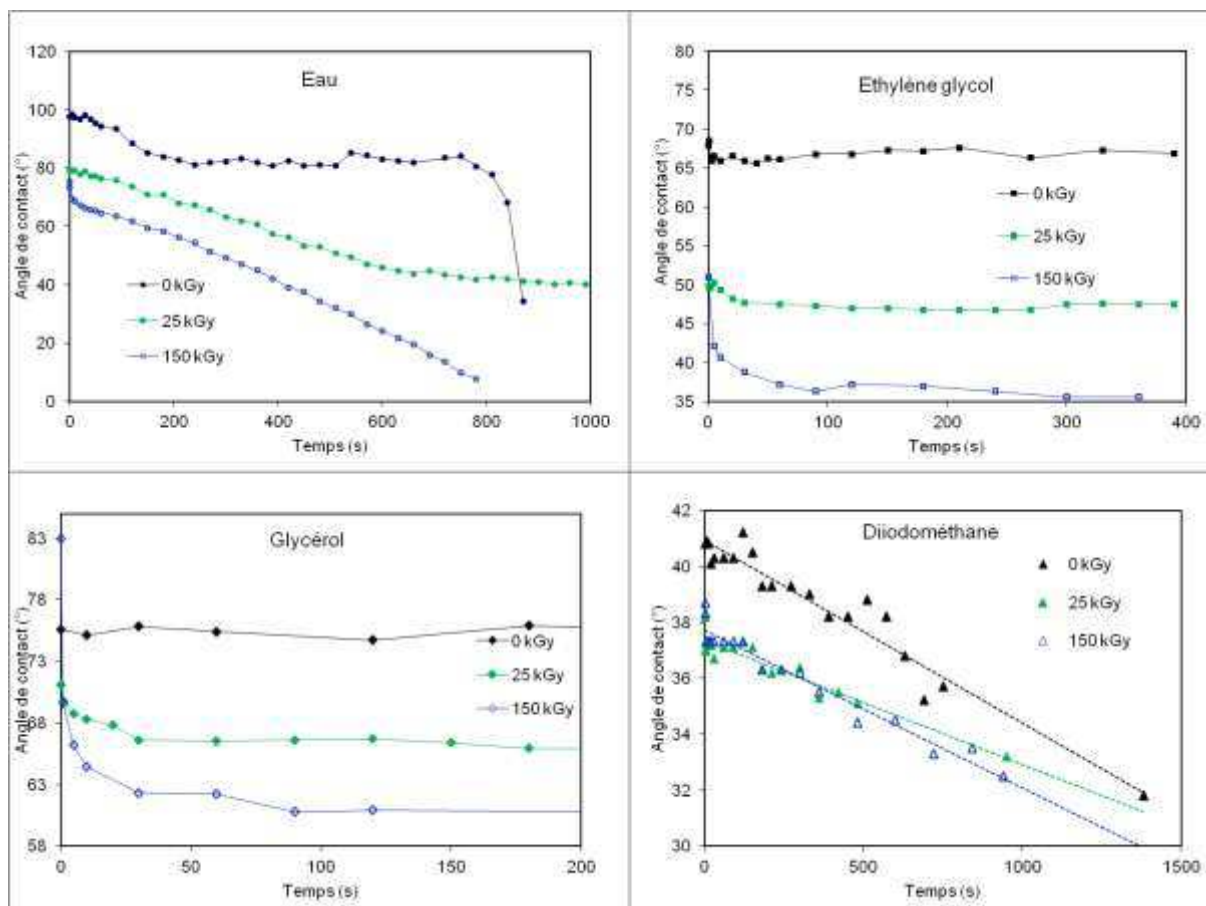


Figure 55: Cinétiques de l'angle de contact de 4 solvants (eau, éthylène glycol, glycérol et diiodométhane) avec les films COC de type S irradiés aux différentes doses.

Ce résultat peut être corrélé avec la modification de la topographie de surface observée précédemment. Ainsi on peut remarquer pour le COC non irradié et celui irradié à 25 kGy, que l'étape d'étalement est suffisamment rapide pour qu'elle ne soit pas observée sur l'échelle des temps employée pour la prise d'images (une image toutes les secondes), tandis qu'elle est clairement observée pour le COC irradié à 150 kGy avec un temps de mouillage de l'ordre de 5 à 10 secondes. La rugosité de surface peut être responsable de cette diminution de vitesse de mouillage en créant un potentiel d'ancrage supplémentaire avec la surface. Ceci est confirmé par le fait que le phénomène de stick-slide observé pendant l'évaporation pour le COC non

irradié disparaît à 150 kGy à cause d'un ancrage important qui empêche la goutte de se rétracter facilement.

La diminution de la vitesse d'étalement a été observée pour les autres solvants tels que l'éthylène glycol et le glycérol avec un temps de mouillage qui augmente avec la dose d'irradiation. Par exemple, il faut plus d'une minute pour atteindre la stabilisation d'une goutte de glycérol sur la surface du COC irradié à 150 kGy contre quelques secondes dans le cas du COC non irradié.

En ce qui concerne le diiodométhane, l'évolution cinétique de l'angle de contact est la même quelle que soit la dose ; la décroissance de l'angle avec le temps est due, comme il a été expliqué auparavant, à l'évaporation progressive du solvant.

Après avoir étudié la cinétique de l'angle de contact, nous allons maintenant comparer les valeurs des angles de contact des différents solvants en fonction de la dose d'irradiation, pour les films spincoatsés et extrudés (Figure 56).

Pour les films spincoatsés, une diminution de l'angle de contact en fonction de la dose d'irradiation a été mise en évidence avec l'eau. Cette diminution qui reflète l'augmentation du caractère hydrophile de la surface après irradiation est en accord avec l'augmentation du taux de fonctions oxygénées observée par SPX. La différence entre la valeur de l'angle de contact initial et celle de l'angle au retrait augmente avec la dose d'irradiation, ce qui peut être attribué à une augmentation de l'hystérésis de mouillage de l'eau généré par l'augmentation de la rugosité de surface.

Par ailleurs, la diminution de l'angle de contact a été observée pour tous les solvants utilisés même pour le diiodométhane qui est un solvant apolaire, ce qui signifie, qu'après irradiation, la mouillabilité augmente quel que soit le solvant. Cependant, dans ce cas, la diminution de l'angle de contact est faible (de l'ordre de 5°) et l'angle n'évolue plus pour des doses supérieures à 25 kGy. L'amplitude de la diminution de l'angle de contact avec la dose est d'une manière générale plus importante à faibles doses (notamment jusqu'à des doses ≤ 25 kGy) pour les solvants étudiés. Un comportement comparable a été montré par Zenkiewicz et al. sur des films à base de PP [199] sur lesquels une diminution de tous les angles de contact (eau, glycérol, formamide, diiodométhane et bromonaphtalène) a été

observée après irradiation aux électrons accélérés avec une stabilisation de l'angle à partir d'une dose de 100 kGy.

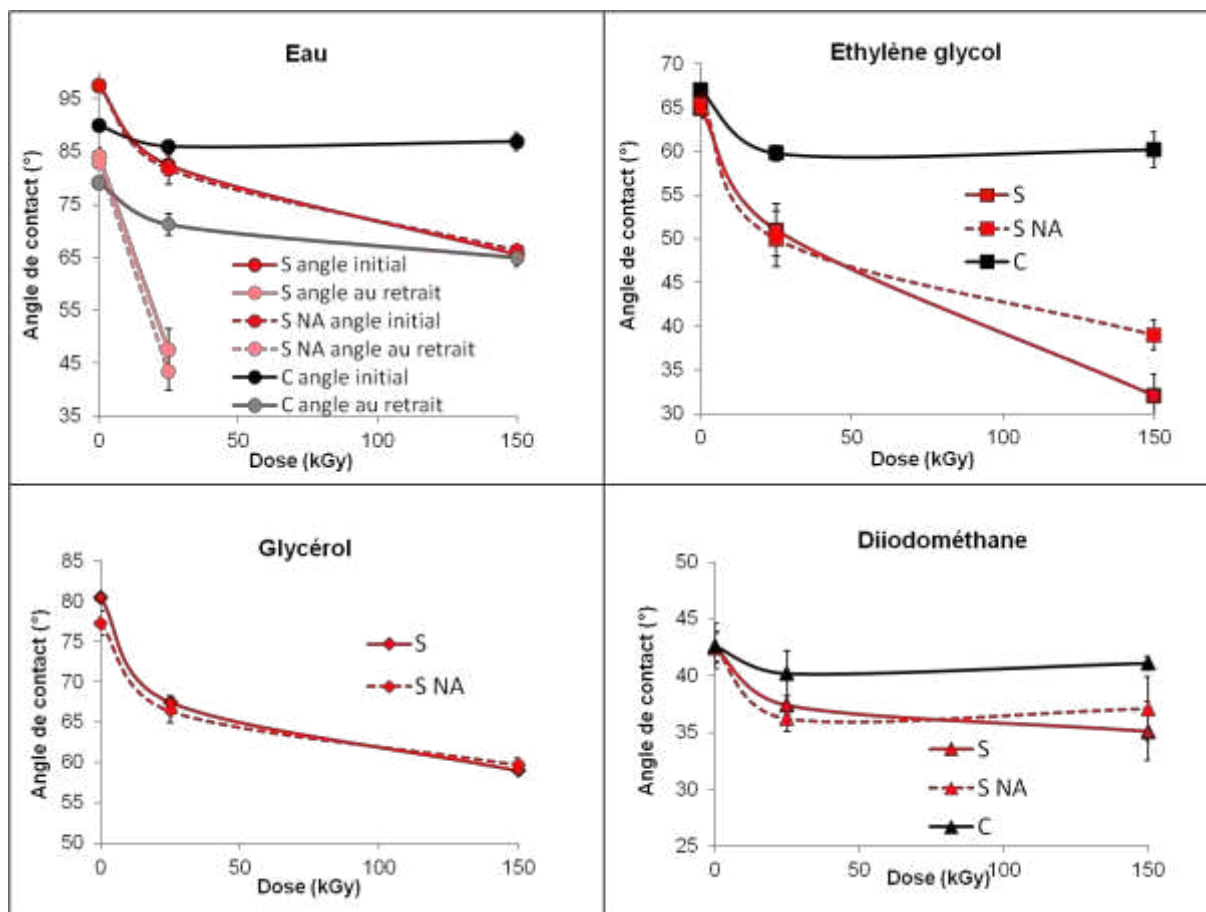


Figure 56: Evolution des angles de contact de l'eau, du glycérol, de l'éthylène glycol et du diiodométhane obtenus avec les films COC en fonction de la dose d'irradiation. S : film spincoaté, S NA : film spincoaté sans antioxydant et C : film commercial extrudé irradié et vieilli 1 an à température ambiante.

L'énergie de surface a été calculée pour les films spincoatés irradiés à 25 kGy. Ainsi, une augmentation de l'énergie et de la polarité de surface après irradiation a été observée : l'énergie de surface est de l'ordre de 40.5 mN.m^{-1} avec une composante polaire de l'ordre de 2.7 mN.m^{-1} (7% de l'énergie).

Il est à noter que la diminution des angles de contact et l'augmentation de l'énergie de surface, observées dans le cas des COC irradiés aux électrons accélérés ont été déjà reportées

dans la littérature mais avec d'autres types de traitements comme le plasma. Ainsi Roy et al. [168], Hwang et al. [170], et Nikolova et al. [171] ont montré une diminution de l'angle de contact correspondant à une augmentation du caractère hydrophile qui peut être lié au temps de traitement plasma, au gaz utilisé et au rapport énergie du réacteur/ débit de gaz. Bien que cette tendance des angles de contact à diminuer soit la même, l'amplitude de la diminution est, quant à elle, moins importante pour les électrons accélérés que pour traitement de type UV/ozone ou plasma. En effet, dans notre cas, les électrons accélérés entraînent la formation des radicaux libres qui peuvent ensuite réagir avec l'oxygène de l'air, et que pour le plasma ou UV/ozone il est possible de greffer une plus grande quantité d'oxygène en travaillant dans des milieux particulièrement riches en espèces oxygénés réactives.

Il est à noter que compte tenu de la rugosité de surface observée en AFM après irradiation à 150 kGy et de la cinétique de l'évolution de l'angle de contact à cette dose, l'énergie de surface n'a pas été calculée dans ce cas car la surface est alors loin d'être une surface lisse et homogène et le modèle d'Owens-Wendt nous semble donc difficile à appliquer. L'augmentation de la rugosité peut avoir une influence sur les valeurs d'angles de contact en exacerbant ou en diminuant la mouillabilité par rapport à une surface lisse de même composition chimique. Il est ainsi possible qu'un comportement dit de Cassie ou Wenzel (Figure 57) intervienne [200-207].

1. L'effet Cassie-Fakir [208] correspond au cas où le liquide ne pénètre pas la rugosité de la surface (Figure 64a). On peut alors voir que l'angle apparent Θ_{app} (Θ_{cb} dans la figure 57) mesuré est lié à celui obtenu sur une surface lisse et à la fraction de surface en contact avec le solvant ($f_{contact}$) par la relation suivante :

$$\cos\Theta_{app} = f_{contact} (1 + \cos\Theta_{lisse}) - 1$$

Quelle que soit la valeur de l'angle de contact mesuré, une diminution de la mouillabilité (donc une augmentation du caractère hydrophobe dans le cas de l'eau) sera alors générée par la rugosité. Autrement dit, Θ_{app} sera toujours plus important que Θ_{lisse} .

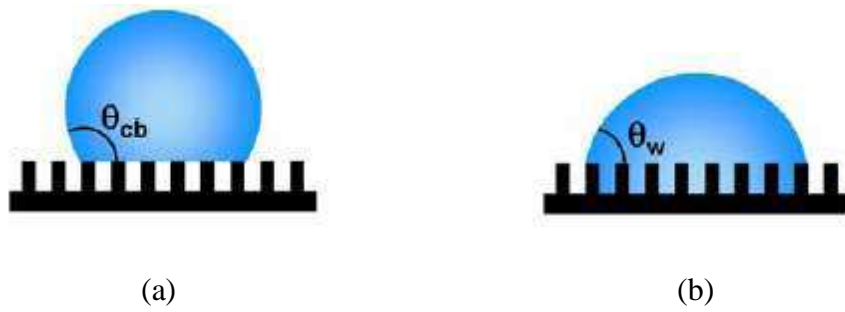


Figure 57 : Angle de contact avec une surface rugueuse : a) effet Cassie ou Fakir b) effet Wenzel [207].

- Le comportement de type Wenzel s'applique au cas où le liquide pénètre la rugosité et qu'il est donc en contact avec une surface plus importante que pour une surface lisse (Figure 57b). Θ_{app} (Θ_w) est alors lié à Θ_{lisse} et au rapport r entre la surface réelle et celle projetée ($r > 1$) par la relation suivante [209]:

$$\cos \Theta_{app} = r (\cos \Theta_{lisse})$$

Dans ce cas, selon la valeur de l'angle de contact, la rugosité, soit amplifie la mouillabilité et donc le caractère hydrophile (eau) de la surface si $\Theta_{app} < 90^\circ$ ($\Theta_{app} < \Theta_{lisse}$), soit diminue la mouillabilité et donc augmente le caractère hydrophobe si $\Theta_{app} > 90^\circ$ ($\Theta_{app} > \Theta_{lisse}$). Pour des angles $\Theta_{app} < 90^\circ$, tels qu'ils sont observés sur nos échantillons traités, ce type de comportement augmenterait donc la mouillabilité des solvants et la diminution de l'angle de contact après irradiation serait dû non seulement à l'incorporation de fonctions oxygénées mais aussi à l'augmentation de la rugosité de surface.

La comparaison des films spincoatés extraits et non extraits ne montre pas de différence significative des angles de contact mesurés: la présence de l'antioxydant (à une teneur de l'ordre de 1000 ppm) n'a pas d'effet sur la mouillabilité de surface des échantillons irradiés. Cependant, des différences sont observées entre les films spincoatés et ceux extrudés vieillis 1 an après irradiation. On peut remarquer que la diminution de l'angle de contact en fonction de la dose d'irradiation est systématiquement moins importante dans le cas des films extrudés (Figure 56) et qu'aucune évolution de l'angle de contact n'est observée entre 25 et 150 kGy.

Par ailleurs, un effet du vieillissement a été mis en évidence sur les films de COC extrudés en particulier aux fortes doses (Figure 58).

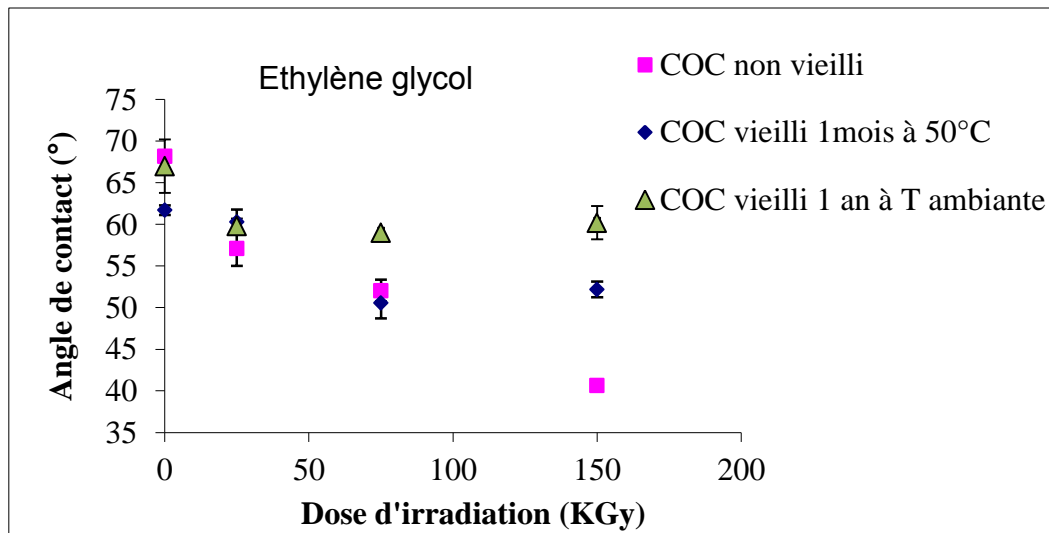


Figure 58: Evolution de l'angle de contact de l'éthylène glycol avec les films de COC type S non vieillis, vieillis 1 an à température ambiante et vieilli 1 mois à 50 °C.

Une partie de ces résultats a été publiée [193]; on peut remarquer que la diminution de l'angle de contact avec l'éthylène glycol des films irradiés à 150 kGy est plus importante pour le COC fraîchement irradié par rapport à celui analysé un an après irradiation ($\Theta=40^\circ$ à 150 kGy pour les fraîchement irradiés contre 60° pour les vieillis 1 an à température ambiante). Cette différence peut être attribuée au vieillissement de l'échantillon car on observe un comportement similaire pour les échantillons vieillis 1 mois à 50° ($\Theta=55^\circ$ à 150 kGy). Le vieillissement après un traitement plasma conduit généralement à des résultats similaires : par exemple, Roy et al. [168] ont montré que le caractère hydrophile obtenu après traitement plasma d'un COC n'est pas permanent et que les angles de contact obtenus évoluent considérablement lors du vieillissement. Une augmentation rapide des angles de contact est observée durant les 12 premiers jours de vieillissement post-traitement ; après 16 jours du vieillissement, une valeur stable est atteinte. D'une manière générale ces phénomènes de vieillissement en surface s'expliquent soit par une diffusion des fragments des produits d'oxydation de basse masse vers le cœur de l'échantillon soit par la réorientation des groupements polaires vers le cœur du matériau, ceci afin de minimiser l'énergie d'une surface en contact avec l'air.

III.5 Conclusion

Ce chapitre, consacré à l'étude de l'effet de l'irradiation aux électrons accélérés sur l'état de surface des copolymères d'oléfines cycliques, nous a permis de mettre en évidence des modifications physiques et chimiques sur la surface des COC après irradiation. La principale modification physique observée est une augmentation de la rugosité de surface post irradiation. Les modifications chimiques résultent de la formation des produits d'oxydation sur la surface du matériau sont, quant à elles, responsables de l'augmentation de sa polarité.

Bien que les modifications mises en évidence sous l'effet des électrons accélérés soient relativement faibles par rapport aux autres types de traitements, elles contribuent toutes à une augmentation de la mouillabilité de surface. La question que l'on peut se poser concerne la contribution éventuelle de cette évolution de surface sur les interactions avec les solutions ou formulations pharmaceutiques avec lesquelles les COC sont susceptibles d'être en contact. Pour y répondre, une étude de migration et de sorption a été réalisée et sera abordée ultérieurement (chapitre V).

De plus, il faut rappeler qu'un effet du vieillissement post irradiation a été observé sur les échantillons. L'étude de ce vieillissement semble donc aussi importante que celle des effets de l'irradiation. En effet, la stabilité à long terme peut changer d'une manière notable le comportement des matériaux. C'est pourquoi, nous allons consacrer le chapitre suivant à l'étude du vieillissement des COC.

Chapitre IV: Etude du vieillissement des COC.

Bien que la dose préconisée par la réglementation pour la stérilisation des produits pharmaceutiques et médicaux ne soit pas à l'origine d'importantes modifications physico-chimiques des polymères, il y a toujours un risque potentiel relatif à la qualité et/ou à la sécurité compte tenu des délais de péremption (3-5 ans). En effet, les radicaux libres créés lors de l'irradiation peuvent rester piégés dans le polymère et contribuer ainsi, si les conditions de stockage le permettent, à son vieillissement post-irradiation. Ce dernier se manifeste principalement par une perte des propriétés mécaniques, qui est la conséquence de la réaction en chaînes des radicaux et de la dégradation oxydative du polymère.

Le vieillissement post-irradiation dépend des conditions d'irradiation (type de traitement, dose absorbée, atmosphère d'irradiation), des conditions de vieillissement (température, temps, atmosphère) et du polymère lui-même (structure, épaisseur, etc.).

Par ailleurs, les matériaux non irradiés peuvent aussi être sujets à un vieillissement plus ou moins important suivant les conditions de stockage.

Il n'y a pas à notre connaissance, à l'exception d'une étude réalisée par notre équipe [128], de travaux antérieurs concernant l'étude du vieillissement des copolymères cyclo oléfines. Les résultats exposés dans ce chapitre présentent une étude préliminaire du vieillissement des COC. Nous allons nous focaliser plus précisément sur l'évolution de la structure des chaînes, des propriétés thermiques et de l'oxydation des COC avec le vieillissement.

IV.1 Effet du vieillissement sur la structure des chaînes des COC

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence les modifications des chaînes du polymère liées au vieillissement et de prévoir les éventuelles interactions qui en résultent comme la migration des composés de faible masse molaire dans les milieux en contact. Le vieillissement présenté dans cette partie porte uniquement sur le COC de type S non irradié. Deux méthodes de vieillissement ont été utilisées : en conditions réelles (les échantillons ont été analysés après 9, 15 et 31 mois de vieillissement à température ambiante) et en conditions accélérées (stockage 1 mois à 50 °C dans 3 solvants de polarités différentes, qui sont l'eau, le méthanol et le pentanol dont les polarités relatives sont respectivement de l'ordre de 1, 0.762 et 0.568 selon Reichardt).

Les chromatogrammes du COC témoin et ceux des COC vieillis pendant 9, 15 et 31 mois à température ambiante ont été comparés (Figure 59). Nous avons mis en évidence un vieillissement des COC à température ambiante qui se manifeste par des scissions et des branchements de chaînes dès 9 mois de stockage et par la formation d'un gel pour des temps suffisamment longs.

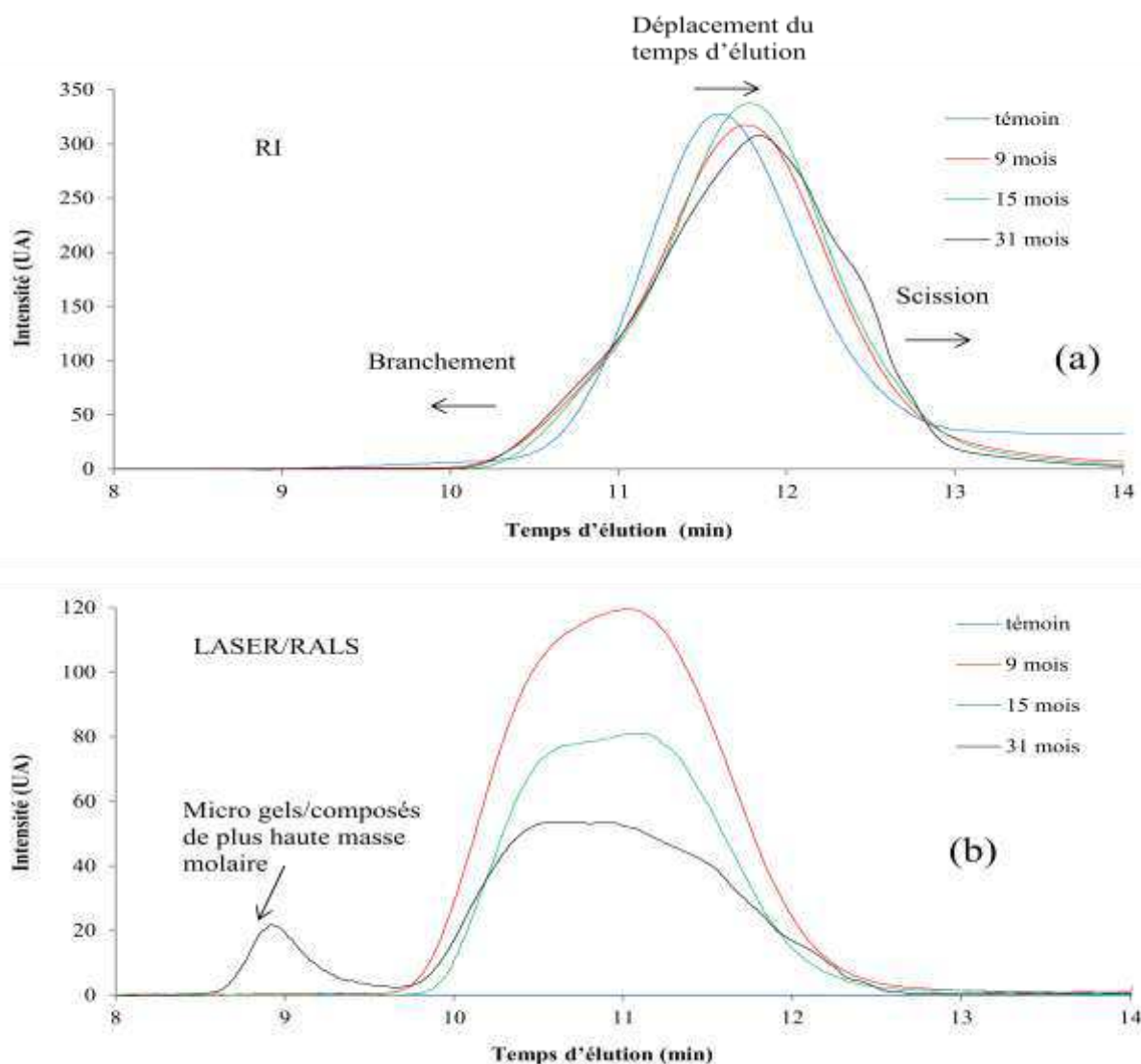


Figure 59: Chromatogrammes d'exclusion stérique de granules de COC type S témoin et vieilli 9, 15 et 31 mois à température ambiante. Signal du détecteur réfractométrique (a) et LASER/RALS (b). (L'absence du signal laser du témoin est due au fait que nous n'avions pas de détecteur laser lors de l'analyse du témoin).

Le signal obtenu à partir du détecteur réfractométrique (Figure 59a) montre un élargissement de la distribution des masses molaires du polymère après vieillissement à la fois vers les faibles masses et les fortes masses (un épaulement) ainsi qu'un déplacement du maximum des pics vers les plus faibles masses molaires pour les trois temps de vieillissement. Ceci nous indique, d'une part, que des scissions et des branchements des chaînes de polymère se produisent lors du vieillissement, d'autre part, que la scission est prédominante.

Le signal de l'échantillon vieilli pendant 31 mois, obtenu à partir du détecteur LASER aux grands angles (90°) RALS montre, quant à lui, l'apparition de deux nouvelles distributions : la première obtenue aux faibles temps d'élution peut être attribuée à la formation d'une fraction de gel ou d'agrégats (une distribution comparable a été mise en évidence avec le détecteur LASER/RALS pour le COC irradié à des doses élevées). La deuxième, qui est aussi mise en évidence avec le détecteur réfractométrique, concerne les faibles masses molaires et est attribuée à la scission des chaînes

En ce qui concerne le vieillissement dans des conditions accélérées, nous pouvons remarquer que quelle que soit la polarité du solvant avec lequel le COC est mis en contact, l'allure du chromatogramme du polymère est la même (Figure 60).

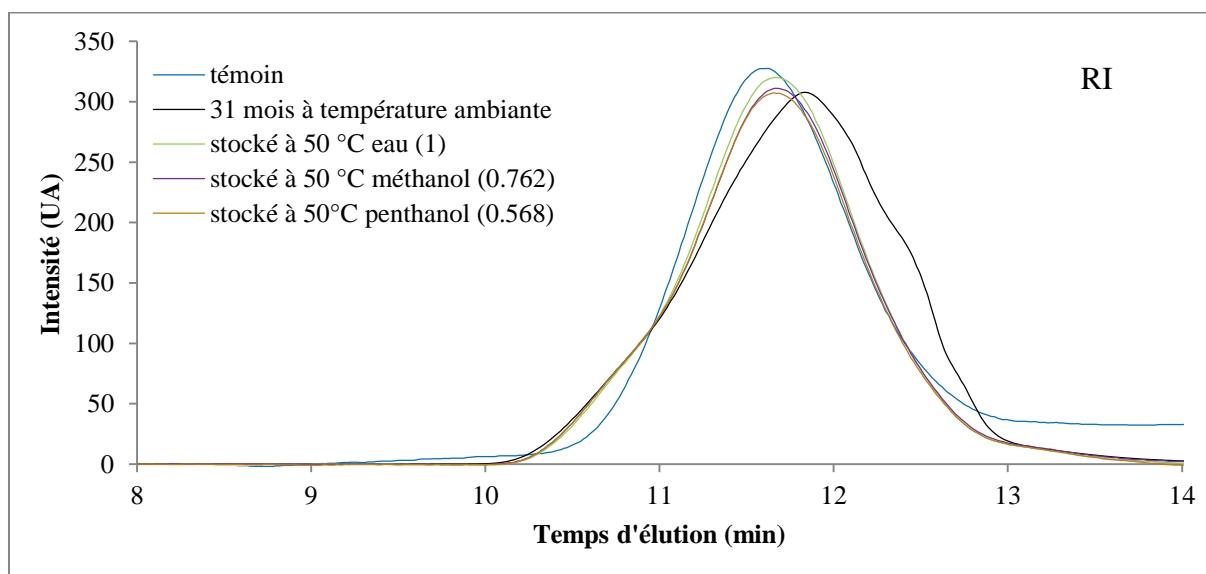


Figure 60: Chromatogrammes d'exclusion stérique de granules de COC type S témoin et de ceux ayant subi un vieillissement accéléré. Signal du détecteur réfractométrique.

Si on compare cette allure à celle obtenue dans le cas du vieillissement dans les conditions réelles, on retrouve un élargissement de la distribution de la masse molaire, mais celui-ci est moins important que dans le cas du polymère vieilli pendant 31 mois à température ambiante. Notamment, le décalage du pic vers les faibles masses molaires est plus faible et donc indique qu'il y a moins de scissions au niveau des chaînes.

IV.2 Effet du vieillissement post-irradiation sur les propriétés thermiques des COC

Une diminution de la température de transition vitreuse T_g de l'ordre d'un degré est observée après vieillissement. Seul le COC de type T irradié à 150 kGy voit sa T_g diminuer de manière plus importante (4 °C) avec le vieillissement (Figure 61).

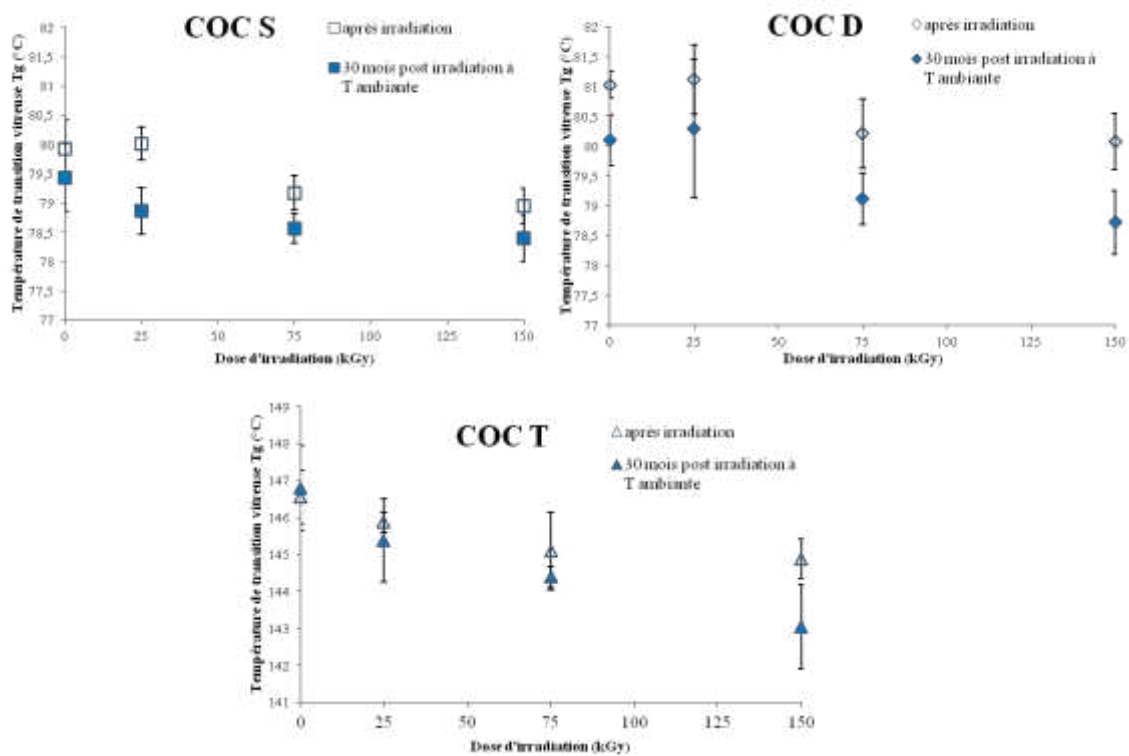


Figure 61: Evolution de la température de transition vitreuse en fonction de la dose d'irradiation pour les trois types de granules de COC après vieillissement post-irradiation.

Bien que cette diminution soit relativement faible, elle peut être corrélée avec la scission et le branchement des chaînes observés en CES après vieillissement. En effet, comme nous l'avons

mentionné auparavant, la scission et le branchement des chaînes entraînent une augmentation des bouts de chaînes qui augmente le volume libre dans le polymère et donc fait diminuer la T_g .

IV.3 Effet du vieillissement sur l'oxydation des COC

Pour étudier l'oxydation post-irradiation des COC, deux conditions de vieillissement ont été fixées: des conditions à long terme, qui consistent à stocker les matériaux à température ambiante pendant 30 mois, et des conditions accélérées pour lesquelles le matériau a été stocké à une température élevée par rapport aux conditions d'utilisation (50°C) pendant un mois. Les conditions de vieillissement fixées pour le vieillissement à long terme sont comparables à celles préconisées par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) qui indique que le vieillissement à long terme doit durer, au minimum, 12 mois (36 mois pour la péremption). Les analyses sont menées par IRTF en mode transmission et RTA sur les COC sous forme de films. L'intérêt d'utiliser ces deux modes d'analyse est de réaliser l'acquisition sur différents épaisseurs et d'expliquer ainsi le gradient d'oxydation qui a été mis en évidence par microscopie IRTF.

La grandeur évaluée est l'indice d'oxydation ; son évolution en fonction de la profondeur analysée, le temps de stockage et la dose d'irradiation a été suivie. De plus, l'influence du type de matrice (S, D, T) et de la température de stockage sur l'oxydation post-irradiation a été également étudiée.

Les résultats obtenus avec les films COC en transmission (Figure 62) permettent d'évaluer l'évolution de l'oxydation sur l'ensemble de l'épaisseur de l'échantillon (comprise entre 100 et $200\ \mu\text{m}$ pour les films).

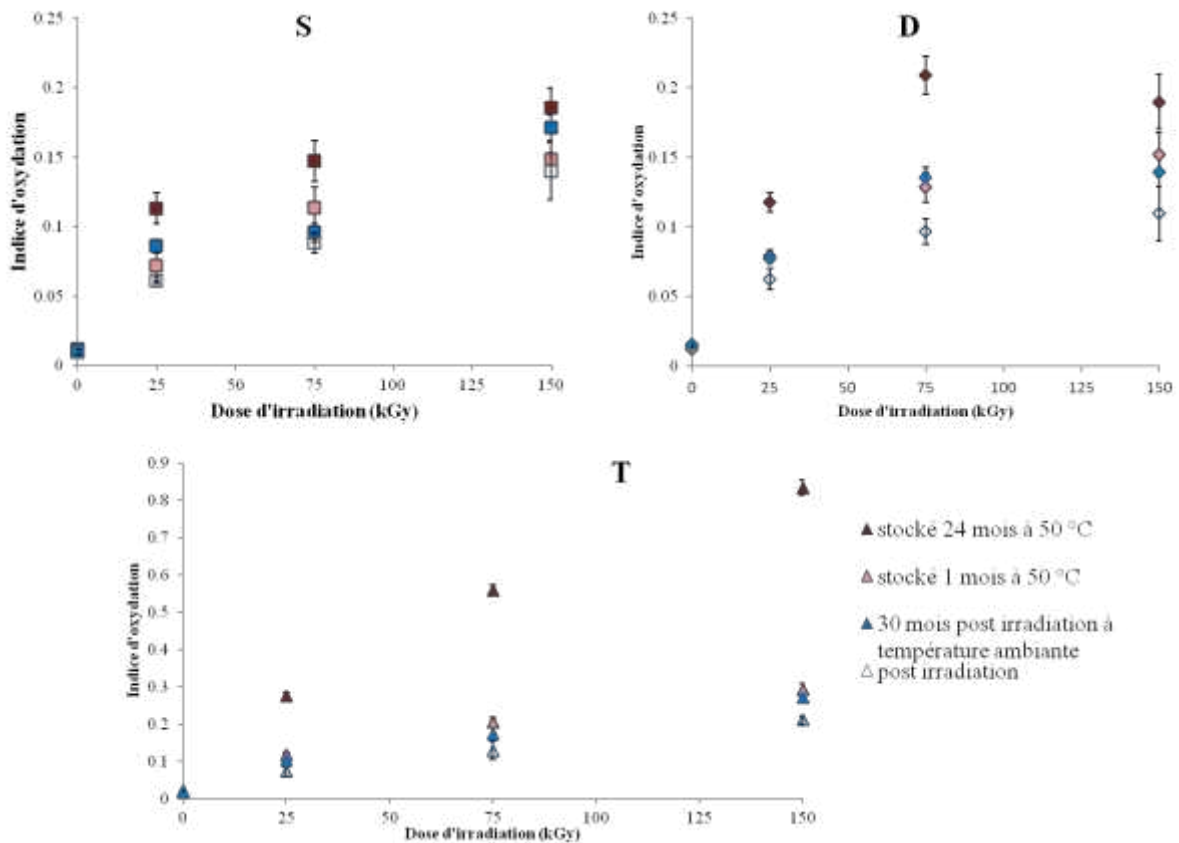


Figure 62 : Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les trois COC (S, D, T) et les différentes conditions de vieillissement. Analyse réalisée en transmission sur les films.

Quel que soit le COC non irradié, aucune évolution significative de l'indice d'oxydation n'est observée même pour les conditions de vieillissement les plus sévères (Figure 63).

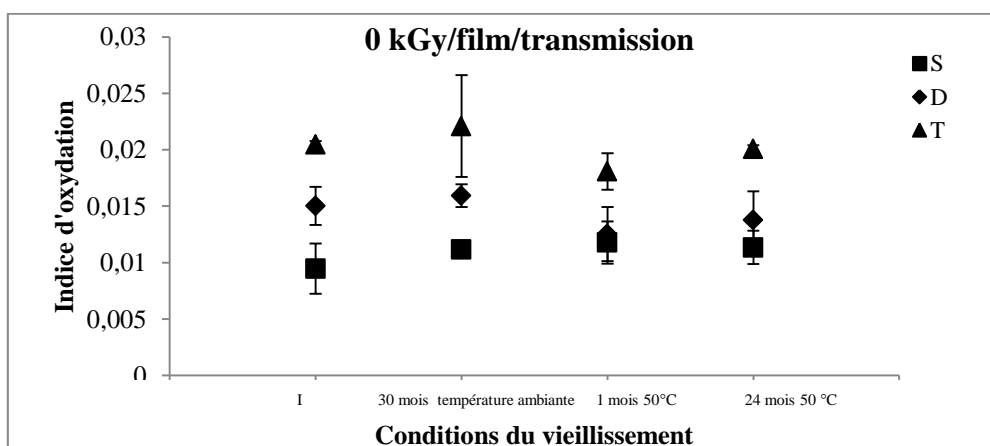


Figure 63: Evolution de l'indice d'oxydation pour les films COC non irradiés pour les différentes conditions de vieillissement.

Les antioxydants contenus dans ces matériaux permettent donc de protéger efficacement le polymère du vieillissement.

Ce n'est plus le cas pour les COC irradiés, pour lesquels on observe une augmentation de l'indice d'oxydation.

Lors d'un vieillissement dans les conditions réelles, l'indice d'oxydation augmente légèrement par rapport à sa valeur initiale déterminée immédiatement après traitement ionisant. Pour les COC S et D, cette augmentation est de l'ordre de 2 et 3 % pour des irradiations respectivement de 25 kGy et 150 kGy. Pour le COC T elles sont respectivement de l'ordre de 3 et 6 % pour les mêmes doses. Ce vieillissement post-irradiation s'explique par la présence de radicaux libres, issus de l'irradiation et piégés dans la matrice. Ces derniers vont interagir avec l'oxygène qui diffuse avec le temps au sein du matériau et ainsi générer progressivement des produits d'oxydation.

Plus la dose d'irradiation est importante, plus la concentration en radicaux libres générés est grande et plus l'indice d'oxydation augmente avec le vieillissement. Le vieillissement plus marqué du COC T par rapport aux COC S et D est probablement dû à sa structure plus riche en norbornène. Tout d'abord, les groupements cycliques et rigides de norbornène semblent conduire à une conformation des chaînes qui favorise la diffusion de l'oxygène. En outre, selon une étude réalisée par notre équipe en RPE (Résonance Paramagnétique électronique) en collaboration avec S. Esnouf (CEA/DSM/IRAMIS/SIS2M/laboratoire de radiolyse), les radicaux libres majoritaires après irradiation sont ceux issus du norbornène et non ceux issus du PE, ce qui laisse supposer qu'une concentration plus importante de radicaux libres va être générée dans le COC T. Enfin, les modifications des chaînes polymères induites par l'irradiation, comme les réticulations, les branchements et les scissions peuvent plus ou moins gêner la diffusion de l'oxygène : les résultats précédents ont montré des phénomènes de réticulation moins importants dans le cas du COC T, ce qui peut favoriser la diffusion de l'oxygène par rapport à un polymère plus réticulé. Par ailleurs, la mobilité des chaînes est plus favorisée par le vieillissement pour le COC T irradié que pour les autres grades irradiés, puisqu'on a observé pour ce grade particulier une diminution plus significative de la T_g entre le polymère irradié vieilli et non vieilli. L'interprétation du comportement des COC après un vieillissement accéléré est plus délicate. Comme pour le vieillissement dans les conditions réelles, une augmentation de l'indice d'oxydation est observée. Cependant, le vieillissement

accéléralé peut faire intervenir plusieurs phénomènes. La température plus élevée peut favoriser la diffusion de l'oxygène et sa réaction avec les radicaux libres, et elle peut aussi favoriser de nouvelles dégradations des chaînes qui sont à l'origine de la formation de nouveaux radicaux. Cet effet sera plus ou moins marqué suivant le polymère, et notamment selon sa T_g .

Nous allons maintenant nous intéresser aux résultats obtenus en mode RTA, c'est-à-dire en analysant les films sur quelques micromètres de profondeur (de l'ordre de 1.3 à 1.5 μm). Contrairement à ce qui a été observé lors de l'analyse en transmission, les grades de COC S et T non irradiés présentent une oxydation de surface plus importante après un vieillissement dans des conditions réelles qu'après un vieillissement accéléré (Figure 64).

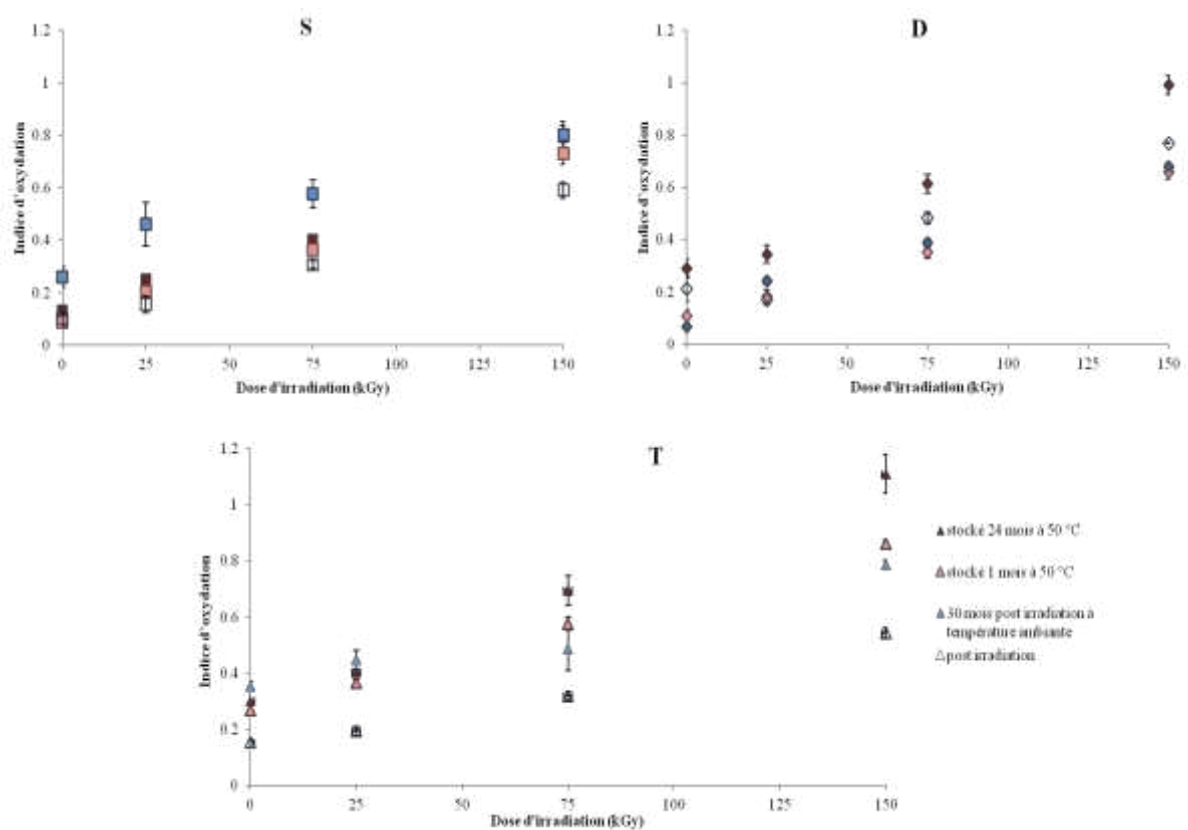


Figure 64: Evolution de l'indice d'oxydation en fonction de la dose d'irradiation pour les films de COC (S, D, T) et les différentes conditions de vieillissement. Analyse réalisée en mode RTA.

La surface étant la première en contact avec l'atmosphère, elle est donc la première à subir des modifications liées à l'effet de la température, de la lumière et de l'oxygène. Le fait que cette oxydation soit moins importante dans le cas du vieillissement accéléré peut être attribué à la diffusion des groupements carbonyles grâce aux mouvements macromoléculaires qui sont

facilités à une température supérieure à l'ambiante et qui vont faciliter la diffusion des groupements d'oxydation vers l'intérieur du matériau. Comme précédemment on observe que les COC T s'oxydent de manière plus importante.

En ce qui concerne le vieillissement post-irradiation de la surface des COC, l'évolution de l'indice d'oxydation (figure 64) permet de constater que, contrairement aux grades S et T, l'indice d'oxydation du grade D, obtenu après vieillissement dans les conditions réelles et accélérées à court terme, est plus bas qu'après irradiation. La diffusion des groupements oxygénés vers l'intérieur serait donc facilitée par la présence du lubrifiant dans sa structure. En effet, ce lubrifiant favorise les mouvements des chaînes et intra chaînes, ce qui favorise aussi la diffusion des groupements oxygénés vers l'intérieur.

D'une manière générale, en comparant les résultats obtenus en transmission et en RTA, on peut constater, d'une part, que l'oxydation issue du vieillissement post-irradiation est plus importante sur la surface du matériau que dans son volume, ce qui est cohérent avec le gradient d'oxydation mis en évidence lors de notre étude en microscopie IRTF ; d'autre part ce gradient est moins important dans le cas du grade T car l'encombrement stérique du norbornène facilite la diffusion de l'oxygène. Enfin, le vieillissement post irradiation du COC T est plus important que celui des COC D et S et ce, quelles que soient les conditions de vieillissement appliquées.

IV.4 Conclusion

Dans ce chapitre consacré à l'étude du vieillissement des copolymères cyclo oléfines, nous avons pu mettre en évidence deux effets principaux : le premier est une oxydation post-irradiation des COC, plus importante sur leur surface que dans leur volume, et qui dépend essentiellement du grade analysé et de sa teneur en norbornène ou en lubrifiant, des conditions de vieillissement et de la dose d'irradiation. Le deuxième effet est une modification qualitative de la masse molaire du polymère due à des scissions, branchements et réticulations des chaînes. Ces phénomènes ont pour conséquence une faible diminution de la température de transition vitreuse après vieillissement.

Plusieurs questions restent cependant en suspens :

- les modifications mises en évidence après vieillissement du polymère ont-elles un effet sur ses propriétés mécaniques ? Nous avons en effet constaté que les films minces de polymère deviennent cassants avec le temps.
- le vieillissement du polymère a-t-il une influence sur les interactions avec les milieux de mise en contact ?

Pour répondre à cette dernière question, une étude concernant les interactions entre le COC et des solutions médicamenteuses a été réalisée sur des échantillons vieillis et sera abordé dans le chapitre suivant.

Chapitre V: Etude d'interaction avec les COC et étude de toxicité

V.1 Etude de sorption des principes actifs dans le COC

V.1.1 Sorption du diazépam

Comme nous l'avons mentionné dans la partie « matériels et méthodes » (Chapitre I- partie expérimentale), le but de cette étude est de mesurer la concentration en principe actif dans une solution de diazépam après un stockage au contact de films de COC, réalisé à 25 °C à différents temps (1, 2, 6, 8, 24 et 48 heures). Le comportement du COC vis-à-vis de ces solutions a été comparé à celui d'un film de PVC plastifié (poche de perfusion) qui correspond à un témoin positif connu pour sorber de manière importante le diazépam. Pour mettre en évidence la sorption, une méthode d'analyse par spectroscopie UV a été mise au point. La stabilité du diazépam dans la solution a aussi été étudiée sur 48 heures (voir Annexe 5), le temps de 48 heures se justifie par rapport à la durée habituelle d'utilisation des poches de perfusion reconstituées à l'hôpital.

Les résultats obtenus seront exprimés comme le rapport d'absorbance à la longueur d'onde spécifique du diazépam en solution avant et après stockage avec le matériau. Cette absorbance relative représente le pourcentage de diazépam restant dans la solution après stockage

V.1.1.1 Etude du PVC plastifié

Pour étudier la sorption du diazépam sur le PVC plastifié, deux types de mesures ont été réalisées : la première est la mesure de la concentration en diazépam dans la solution de mise en contact, la deuxième est celle dans les films de PVC issus du stockage. Ces derniers ont été analysés par UV après rinçage, en utilisant comme référence un film de PVC non stocké. En parallèle, ces films ont été dissouts dans le THF et les solutions obtenues ont été analysées par UV en utilisant comme référence le PVC non stocké, dissout dans le THF. Les différentes valeurs du coefficient ϵ dans la solution de NaCl et dans les films de PVC ont été déterminées en réalisant deux gammes de diazépam, la première dans une solution de NaCl et la seconde dans une solution de THF contenant le PVC dissout. Les détails des calculs sont présentés en Annexe 7.

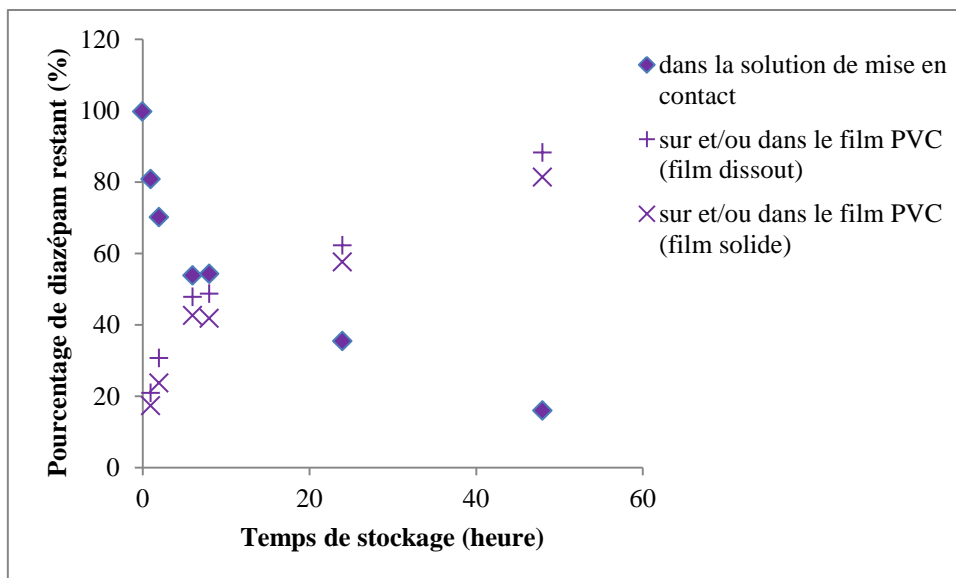


Figure 65 : Pourcentage de diazépam présent sur et/ou dans le film de PVC après stockage de 1 à 48 heures

Le pourcentage de diazépam (Figure 65) présent dans les films est quasiment le même quelle que soit la technique utilisée pour le dosage (films solides ou dissouts) ; la faible différence observée entre les deux formes analysées est probablement due à une hétérogénéité de la sorption du diazépam sur et/ou dans le PVC. La somme des pourcentages de diazépam restant dans la solution de mise en contact et ceux du diazépam sorbé dans le film atteint les 100 % si on prends en compte la part de perte en diazépam due au rinçage (estimée par analyse des solutions de rinçage à environ 1%), et aux dégradations du diazépam (quantifiées lors de l'étude de stabilité à 1.5%).

Une étude de la cinétique de désorption aux ultrasons a été réalisée sur les films PVC stockés 48 heures (Figure 66).

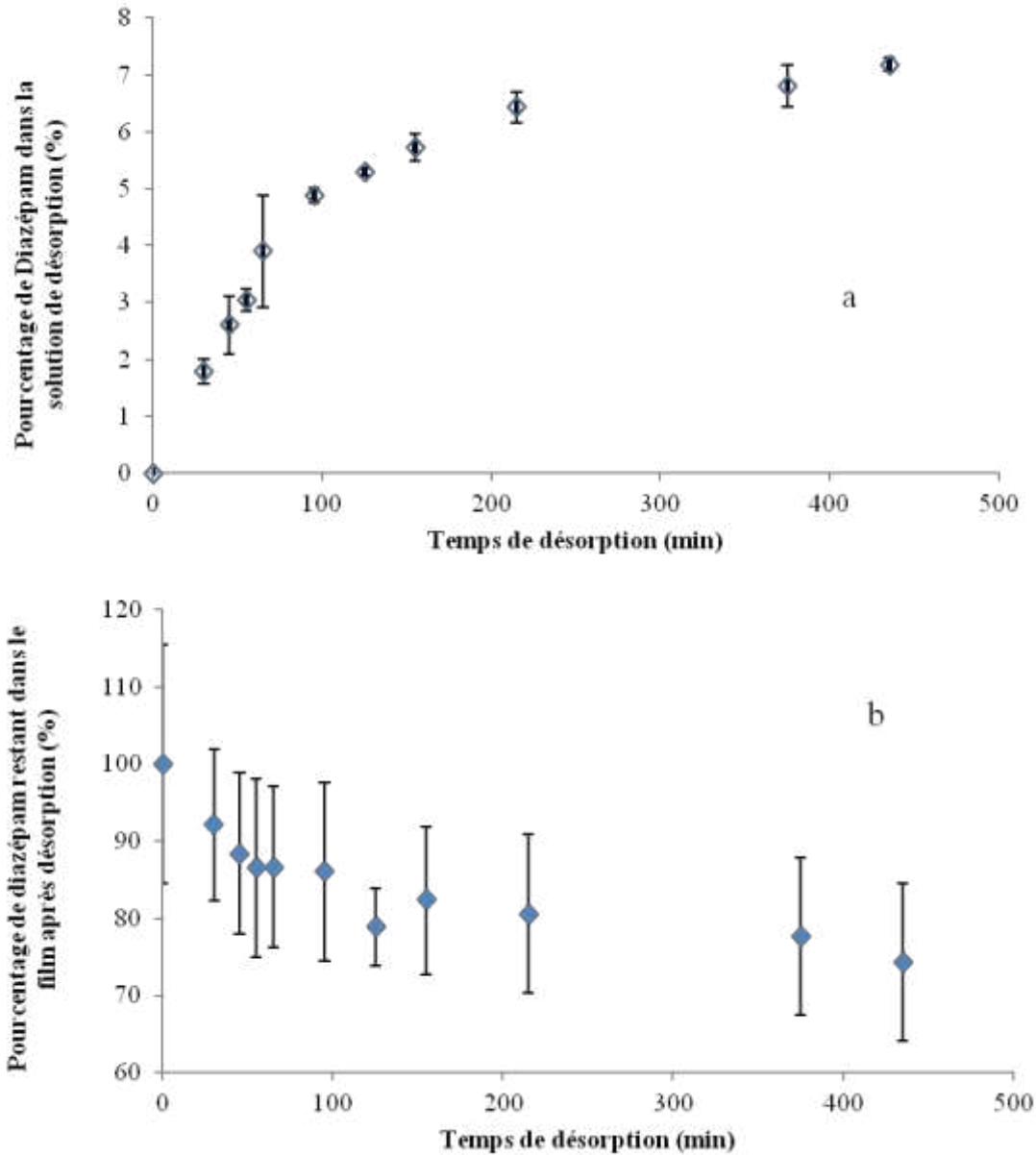


Figure 66: Pourcentage de diazépam présent dans la solution de désorption (a) dans le film de PVC après un stockage de 48 heures (b) et désorption aux ultrasons.

On peut remarquer qu'après 450 minutes de désorption, seulement 10 % de diazépam ont été désorbés du film de PVC. Cela signifie que l'interaction du diazépam avec le PVC est très forte et que l'on peut supposer qu'il n'y a pas seulement une adsorption mais aussi une absorption du diazépam. La courbe obtenue pour l'analyse des films désorbés montre un pourcentage de désorption plus important (20%) mais la dispersion des résultats est très importante ce qui laisse supposer une interaction hétérogène du diazépam à la surface ou dans le volume du PVC. Il faut noter que nous avons mené une étude par spectroscopie et

microscopie IRTF sur les films stockés dans une solution de diazépam mais nous n'avons pas pu mettre en évidence la présence de diazépam dans le volume ou en surface de l'échantillon à cause du manque de sensibilité de la méthode.

V.1.1.2 Etude des COC

La concentration de diazépam dans la solution n'évolue pas après 48 heures de stockage avec le COC alors qu'au contact du PVC plastifié, la concentration en diazépam chute de 20 % dès la première heure de mise en contact et de plus de 80 % après 48 heures de stockage (Figure 67).

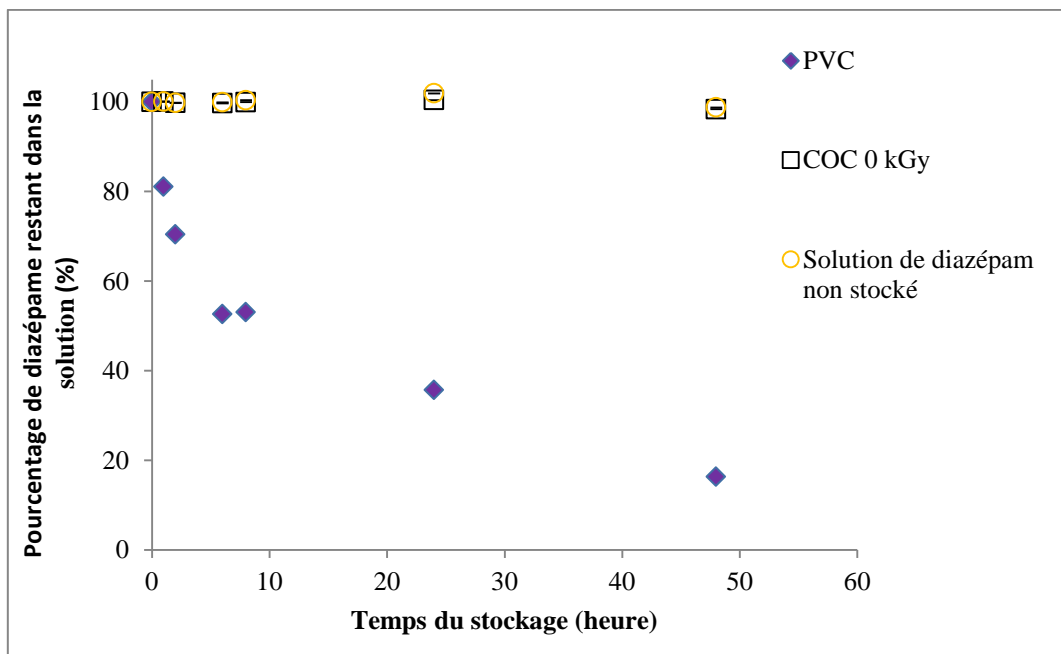


Figure 67: Pourcentage de diazépam restant dans la solution en fonction du temps de stockage pour des stockages réalisés en présence de films COC type S et de PVC plastifié.

Ces résultats sont comparables à ceux reportés dans la littérature : une sorption importante du diazépam est observée dans les poches à base de PVC [49, 62, 107, 210] alors que ce phénomène est très faible pour des poches réalisées à base d'autres matériaux comme le PE ou le PP [54, 56, 210-212]. Pour expliquer ces résultats, il faut considérer les deux principaux phénomènes qui interviennent dans la sorption d'un composé qui sont la diffusion du composé au sein du matériau et son coefficient de partage entre la solution médicamenteuse et

le matériau. Les interactions entre deux molécules peuvent être la conséquence de liaisons hydrogènes, des interactions entre groupements polaires (interaction dipôle permanent/ dipôle permanent), et des forces de dispersion. Des fonctions similaires entre deux molécules doivent donc favoriser l'interaction entre ces dernières. La présence de groupements polaires dans le PVC (chlore), le diazépam (chlore, fonctions imine et amide) et le DEHP (fonctions esters) favorisent donc très certainement l'interaction par rapport à des polymères de type polyoléfines. Par ailleurs, plusieurs auteurs ont montré une corrélation entre le coefficient de partage octanol/eau et le coefficient de partage polymère/eau. Ainsi les polymères de type PVC et PU ont tendance à sorber en plus grande quantité des molécules lipophiles. Le diazépam étant une molécule lipophile (son coefficient de partage octanol/eau est respectivement de l'ordre de 465 ou 501 selon Illum et al. [117] et Kowaluk et al. [49]), elle possède ainsi une grande affinité vis-à-vis du PVC plastifié qui possède un caractère lipophile important.

D'autre part, le PVC est un matériau amorphe et la forte teneur en plastifiant incorporé peut favoriser la cinétique de diffusion du diazépam dans son volume. Le PE et le PP, même s'ils possèdent une température de transition vitreuse relativement basse (sub ambiante), sont des semi-cristallins, ce qui défavorise les phénomènes de diffusion.

Dans notre cas, bien que le COC soit un copolymère amorphe, aucune sorption de diazépam n'a été montrée. Cela est dû d'une part à sa T_g plus élevée (80°C) comparativement au PVC plastifié et d'autre part à sa plus faible affinité pour le diazépam.

L'effet de la stérilisation aux électrons accélérés des COC sur leur interaction avec le diazépam a été aussi étudié (Figure 68).

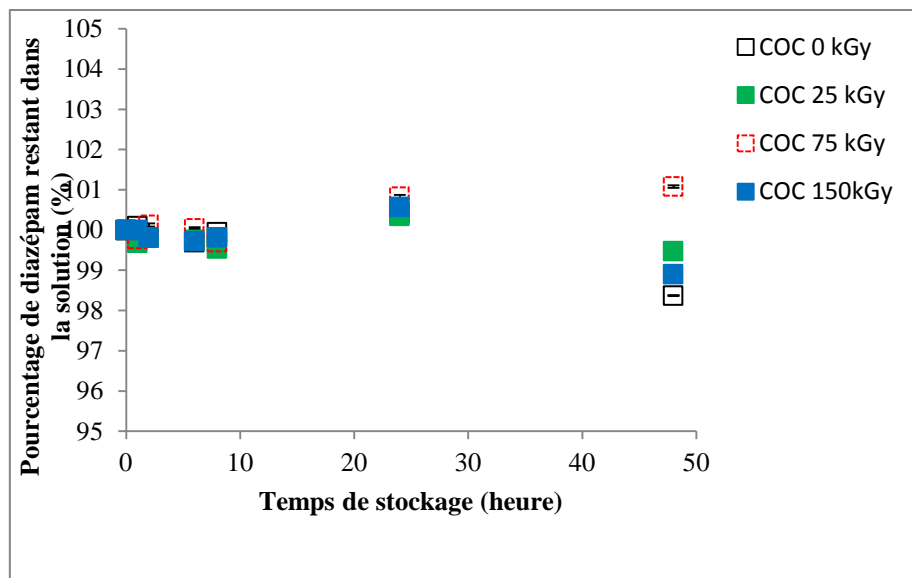


Figure 68: Pourcentage de diazépam dans la solution de mise en contact pour des films de COC type S irradiés à différentes doses.

Comme le montre cette figure, la stérilisation n'a aucun effet sur le comportement du COC vis-à-vis des solutions de diazépam. Nous avons vu que l'irradiation favorisait l'augmentation du volume libre au sein du polymère, et donc la diffusion d'espèces au sein du matériau. Cependant, la variation de T_g est trop faible pour pouvoir accroître de manière significative la diffusion du diazépam. La présence de groupements oxygénés en surface du matériau qui se traduit par une modification de la mouillabilité n'affecte pas non plus l'adsorption du diazépam à la surface. Il faut noter cependant, que ces tests ont été réalisés sur des films irradiés vieillis pour lesquels la modification de la mouillabilité était beaucoup plus faible que juste après irradiation. Enfin, la génération dans les matériaux des composés de faible masse molaire après irradiation et leur migration potentielle vers les solutions en contact qui pourrait favoriser ou défavoriser une interaction, selon leur nature hydrophile ou hydrophobe, n'a pas non plus de conséquence sur l'interaction avec le diazépam.

V.1.2 Sorption de la chlorpromazine

La sorption de la chlorpromazine a été étudiée dans des solutions de différents pH (7 et 4.8). La littérature attribue en effet à la chlorpromazine une sorption dépendant du pH. La chlorpromazine étant une base faible avec un pK_a de l'ordre de 9, elle est sous forme non ionisée à des pH élevés (≥ 7). Cette forme non ionisée est plus lipophile et se sorbe plus

facilement dans le matériau. Nous avons expérimentés les deux pH avec le PVC et le COC (Figure 69).

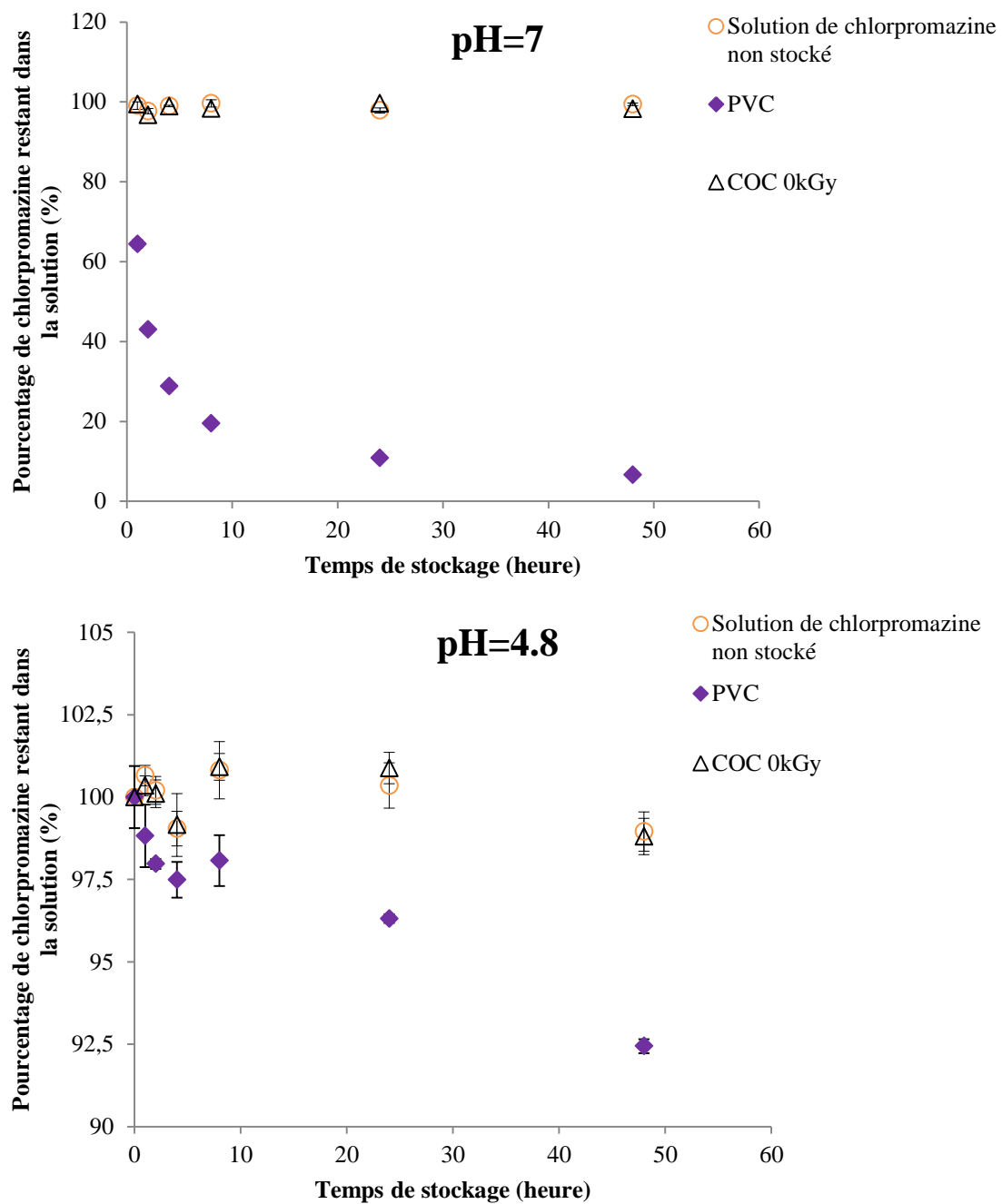


Figure 69: Pourcentage de chlorpromazine restant dans la solution après stockage avec les films de COC typeS en comparaison avec le PVC.

Quel que soit le pH de la solution de chlorpromazine mise en contact avec le COC, aucune sorption de chlorpromazine sur ce dernier n'a été observée. Au contraire, dans le cas du PVC,

une perte très importante voir totale de chlorpromazine à été montrée après un stockage de 48 heures dans des solutions à pH 7. La perte est par contre beaucoup plus faible si on diminue le pH (8 % de perte pour les solutions à pH 4,8). Pour le COC, l'effet du pH n'a aucune importance ce qui représente un intérêt clinique certain car la perfusion de la chlorpromazine doit se fait dans une solution de NaCl 0,9% (pH=7), afin que le principe soit sous sa forme non ionisée active. Par ailleurs, comme dans le cas de diazépam, la stérilisation aux électrons accélérés n'a aucun effet sur l'interaction entre le COC et la chlorpromazine et ce quel que soit le pH de la solution de chlorpromazine stockée (Figure 70).

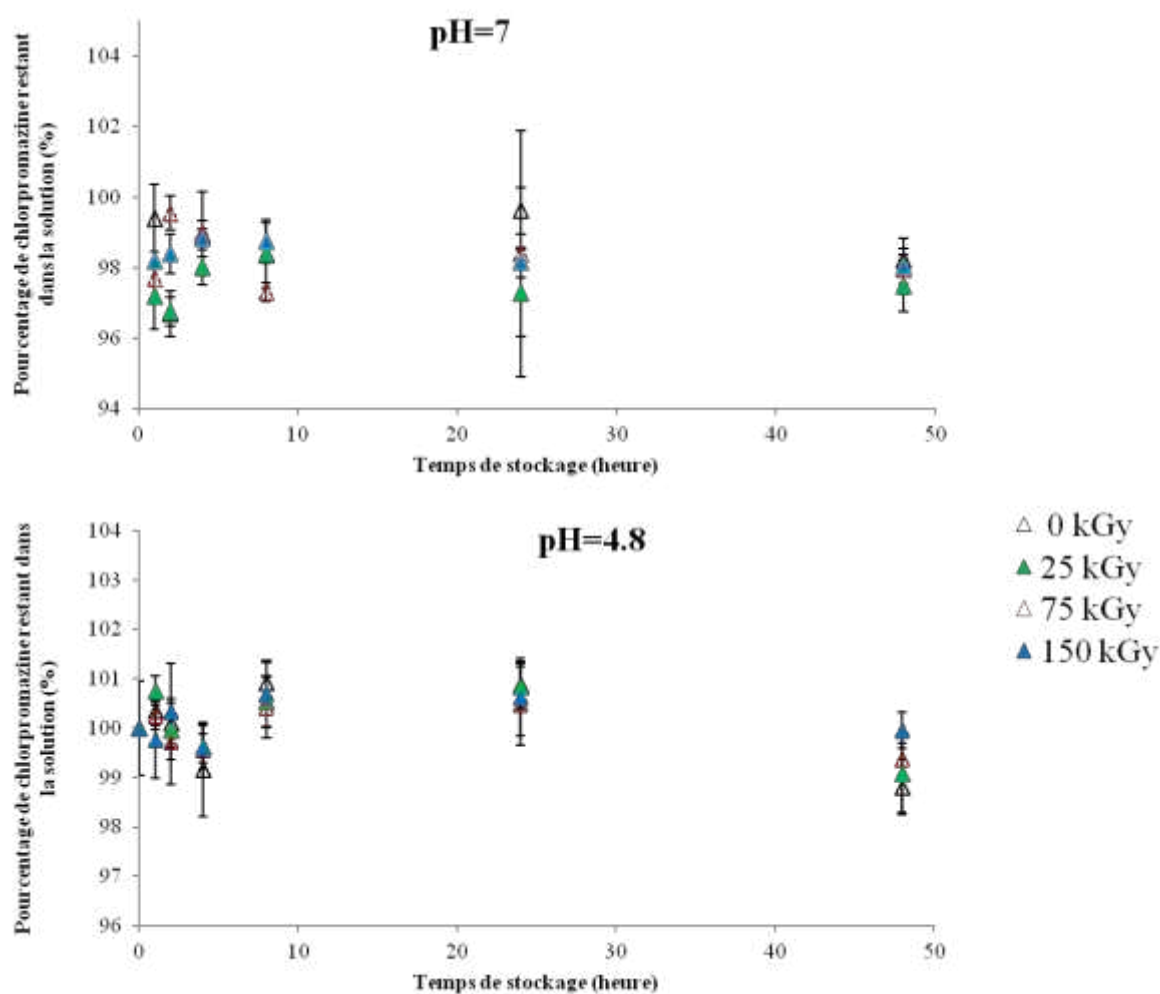


Figure 70: Effet de la stérilisation sur le pourcentage de chlorpromazine dans la solution après stockage avec les films de COC type S.

V.2 Etude de la migration des composés de faible masse molaire issus des COC

Les migrants des différents grades de COC ont d'abord été évalués d'une manière globale en faisant appel à la CES et puis d'une manière plus spécifique en réalisant les analyses en RP-CLHP. Trois solvants de polarités différentes ont été utilisés. Il est à noter que l'étude de migration réalisée dans cette thèse est une étude préliminaire et qualitative qui va nous permettre de comprendre la nature de ces composés sans pour autant les identifier ou les quantifier.

V.2.1 Evaluation globale des migrants de COC

L'effet de différents paramètres tels que la dose d'irradiation, le temps de stockage, la polarité du solvant et le grade de COC sur la migration globale des composés de faible masse molaire a été étudié.

Le profil des migrants obtenu par CES (Figure 71) montre la présence de plusieurs distributions de différentes masses molaires et de faible intensité.

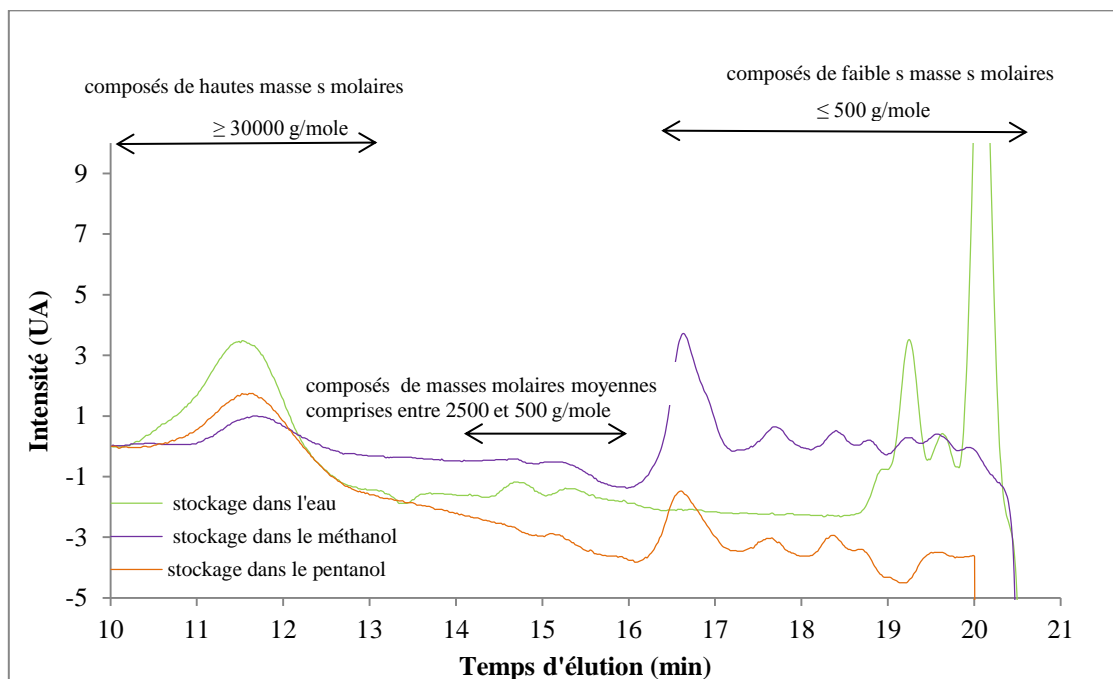


Figure 71: Chromatogramme des migrants issus de la mise en contact du film de COC de type S. Le stockage a été réalisé pendant 1 mois à 50°C.

On peut distinguer trois catégories de composés :

- des composés de hautes masses molaires, comparables à celle du polymère ; ces composés ont été trouvés dans la solution de mise en contact quelle que soit sa polarité, ce qui nous laisse supposer qu'il ne s'agit pas d'une migration mais plutôt d'une dégradation de polymère dans la solution à cause de la température (50°C).
- des composés de masses molaires moyennes, comprises entre 500 et 2500 g/mole (ces valeurs sont des valeurs approximatives obtenues en comparant le temps d'élution de ces composés avec celui des standards de masse molaire connue).
- Des composés de faibles masses molaires, comprises entre 100 et 500 g/mole.

Nous allons nous intéresser aux deux derniers types de composés pour la suite de l'étude. Pour cela, l'aire globale des distributions correspondant à ces composés a été calculée et utilisée comme paramètre de comparaison entre les différents types de stockage. L'interprétation des résultats obtenus est délicate compte tenu de la complexité de la matrice étudiée, d'une part et du nombre limité de résultats exploitables, d'autre part. On peut remarquer (Figure 72) que :

- D'une manière générale, les grades S et T présentent des taux de migration plus importants que le grade D. Ce dernier étant recouvert de lubrifiant, il est possible que la couche formée par ce composé plutôt lipophile limite les phénomènes de migration vers les milieux liquides plus hydrophiles.
- La migration globale diminue avec la polarité de la solution de mise en contact sauf dans le cas du COC de grade S non irradié. Cette diminution est liée d'abord à l'affinité du solvant vis-à-vis des migrants. En effet, que les migrants soient des oligomères du COC, de l'antioxydant et/ou ses produits de dégradation ou de recombinaison, ils sont de nature plutôt hydrophobe, qui favorise leur partage dans le milieu le moins polaire. En outre l'affinité polymère/solvant est importante à considérer. En effet, la sorption du solvant dans le polymère va favoriser le gonflement des chaînes polymères et donc la mobilité des migrants. Ces phénomènes ont déjà été mis en évidence par Saunier et al. [128].

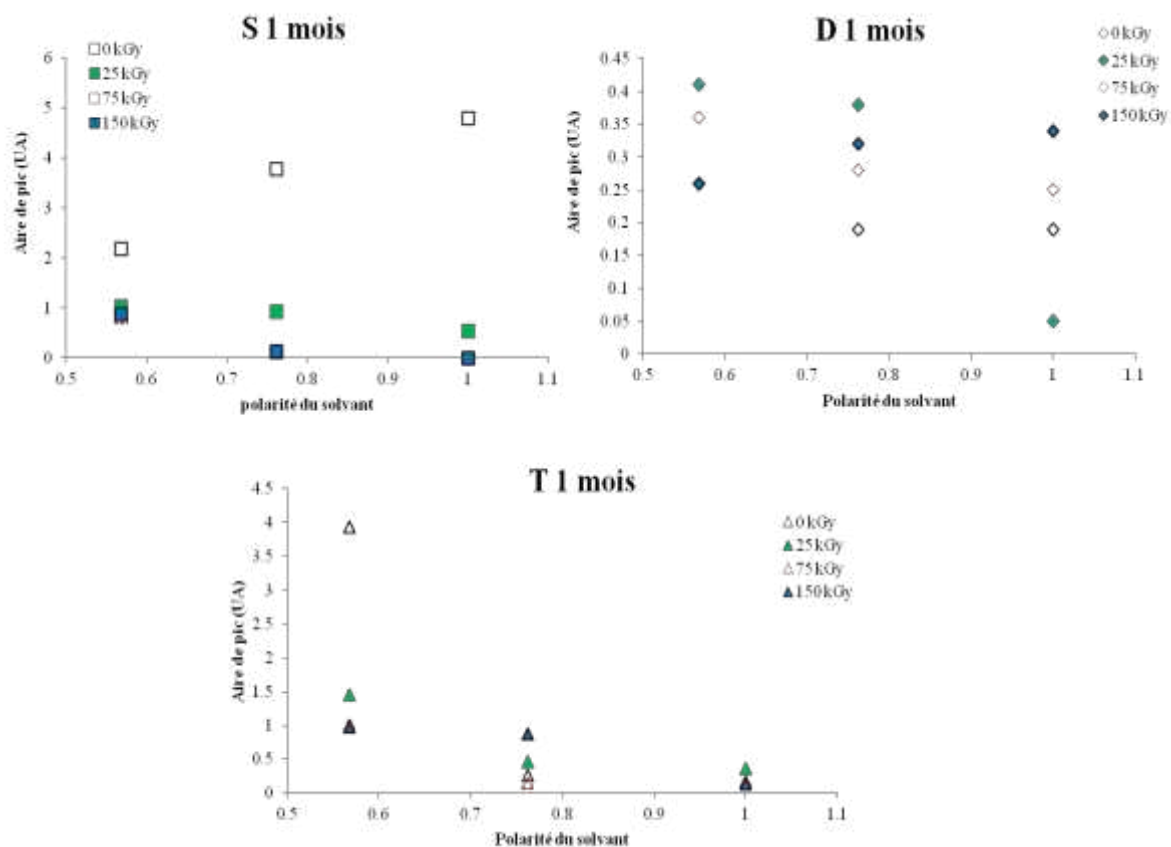


Figure 72 : Migration globale obtenue après stockage des trois grades de granules de COC pendant 1 mois à 50 °C dans trois solvants de polarités différentes (pentanol, méthanol, eau dont les polarités respectives sont 0.568, 0.762 et 1)

La tendance inverse est observée dans le cas du COC S non irradié où le maximum de migration a été obtenu dans la solution aqueuse. Pour expliquer ce comportement, nous nous sommes appuyés sur des études de migration réalisées sur les polyoléfines.

Selon Gandek et al. [213] une migration importante des antioxydants phénoliques tels que l'Irganox[®] 1010 et le BHT peuvent être observés dans l'eau lors d'un stockage à température élevée (60 °C), même si ces additifs sont peu solubles dans l'eau. Ce comportement est dû à la dégradation des antioxydants en milieu aqueux à température élevée.

Si on regarde le profil des migrants obtenus avec l'eau dans notre cas (Figure 71), on peut constater qu'il s'agit des composés de très faibles masses molaires. De plus, ces migrants ne sont pas mis en évidence après une irradiation, qui est connue pour

dégrader fortement l'antioxydant initialement présent, Cela nous laisse supposer que l'explication de Gandek et al [213] peut s'appliquer à nos échantillons. Toutefois, les migrants en question ne sont pas mis en évidence avec les grades D et T non irradié, et pour le grade S ne sont pas d'une concentration plus importante pour un temps de stockage plus élevé (3 mois) voir Figure 73. En outre, pour une mise en contact avec des solvants alcooliques, les migrants ont une masse légèrement plus élevée et sont en taux plus important dans le méthanol que dans le pentanol. Ce comportement pourrait s'expliquer par une diffusion plus importante du méthanol au sein du polymère à cause de sa petite taille, cependant aucun gonflement du COC n'a été montré dans le méthanol d'après Saunier et al.[128], les alcools gonflant le plus les COC étant ceux de plus faible polarité. Pour toutes ces raisons, l'explication du profil des migrants obtenu avec le S non irradié après stockage d'un mois reste en suspens. De même l'analyse des migrants obtenus après un stockage de 3 mois (Figure 73) est délicate à interpréter : il n'y a aucune tendance nette en fonction de l'un ou l'autre des paramètres (solvant et dose). En effet, chaque grade montre une tendance différente selon le solvant et la dose d'irradiation, même si en général, on constate dans la majorité des cas, une diminution de la migration avec la polarité du milieu, et augmentation de la migration avec le temps de stockage pour les polymères non irradiés.

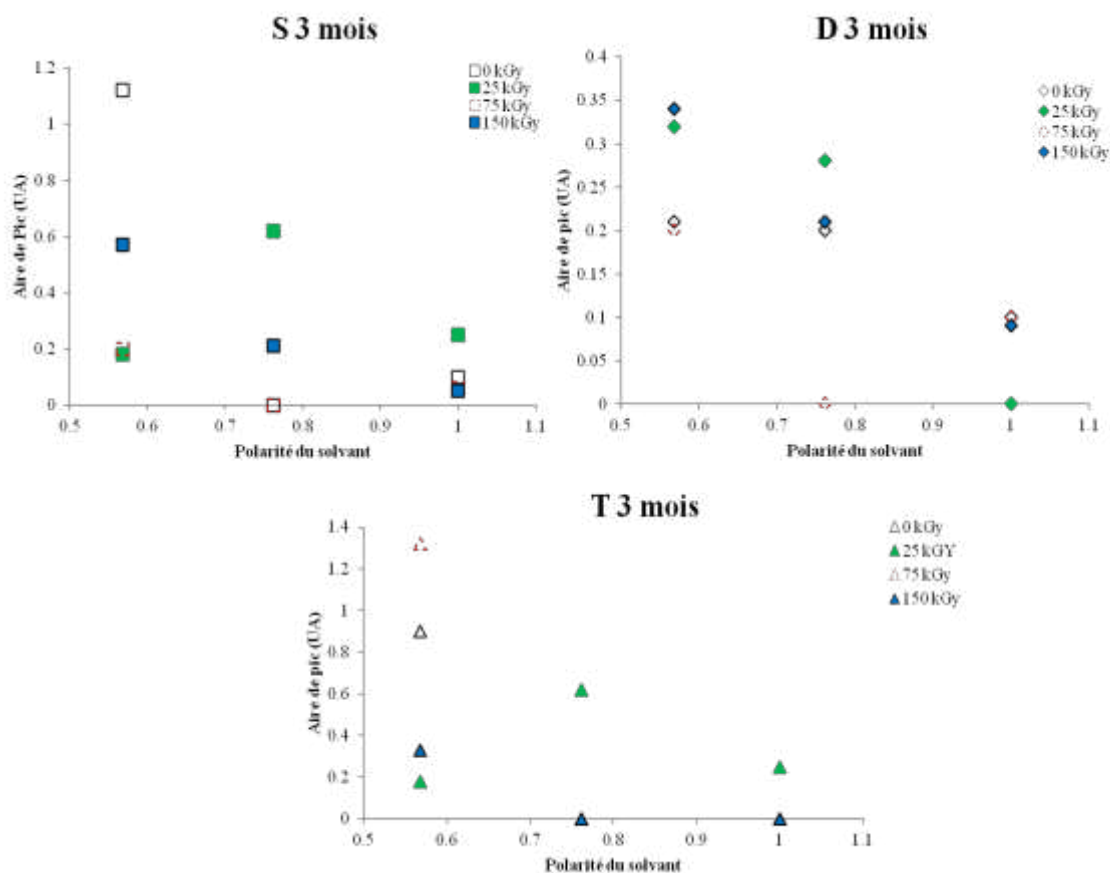


Figure 73 : Migration globale obtenue après stockage des trois grades de COC granulés pendant 3 mois à 50 °C dans trois solvants de polarités différentes (pentanol, méthanol, eau dont les polarités respectives sont 0.568, 0.762 et 1)

Ce qu'il faut retenir de cette étude est que des composés de différentes masses molaires ont été mis en évidence après la mise en contact des COC avec différents solvants ; ces composés sont en concentration faible et qualitativement différent d'un grade à l'autre selon les paramètres étudiés.

La suite de cette évaluation des migrants est l'évaluation spécifique qui portera seulement sur le grade S, non irradié et irradié à 25 kGy, et stocké 1 mois dans les trois solvants.

V.2.1 Evaluation spécifique des migrants du COC

Le profil des migrants obtenu par CLHP pour le COC non irradié (Figure 74a et b) et celui irradié à 25 kGy (Figure 75a et b) montre la présence, dans les solutions de mise en stockage, de composés de différentes polarités.

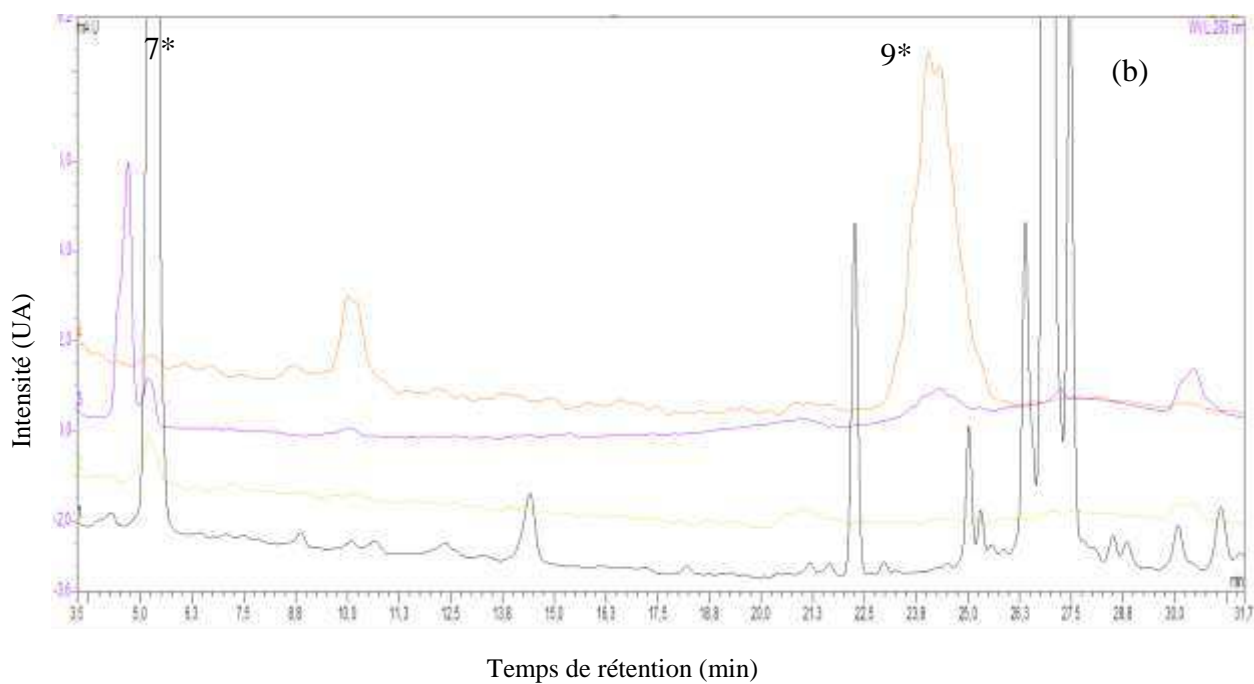
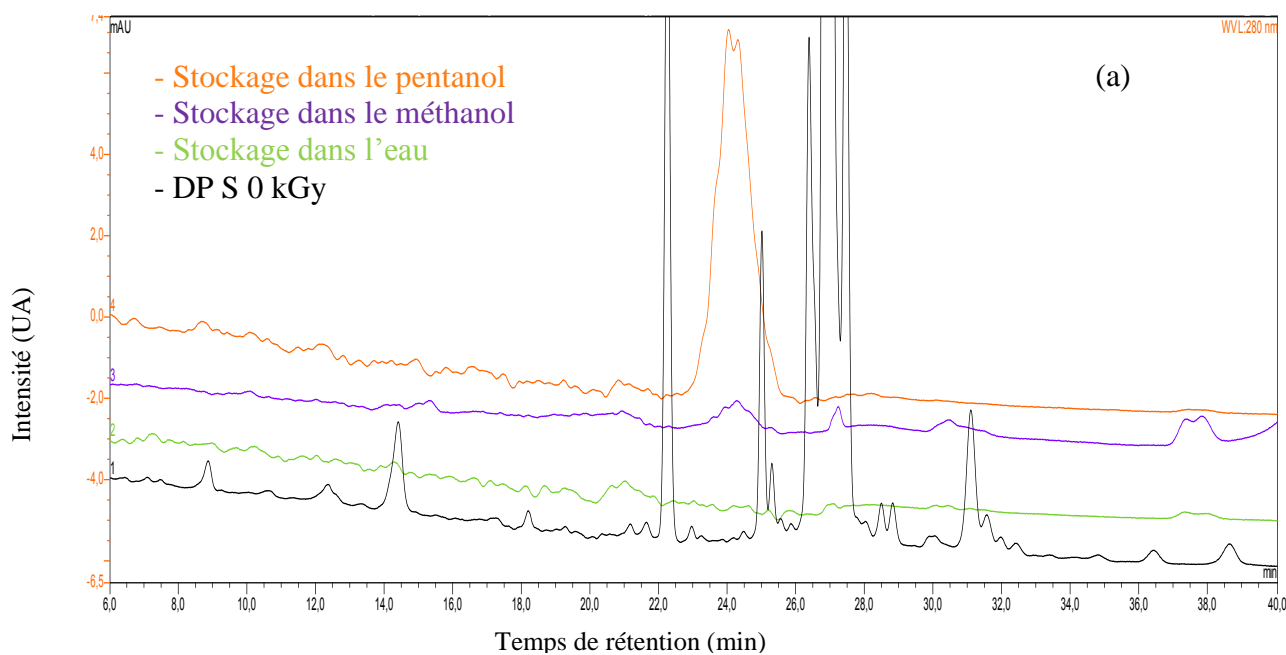


Figure 74: Chromatogrammes CLHP des migrants détectés après la mise en contact des granules de COC de type S non irradié avec les 3 solvants. Stockage réalisé pendant 1 mois à 50 °C. Comparaison avec l'extrait obtenu par dissolution- précipitation (DP) des granules de COC non irradié. Détection réalisée par un détecteur à barette de diodes réglé à (a) 280 nm et (b) 263 nm.

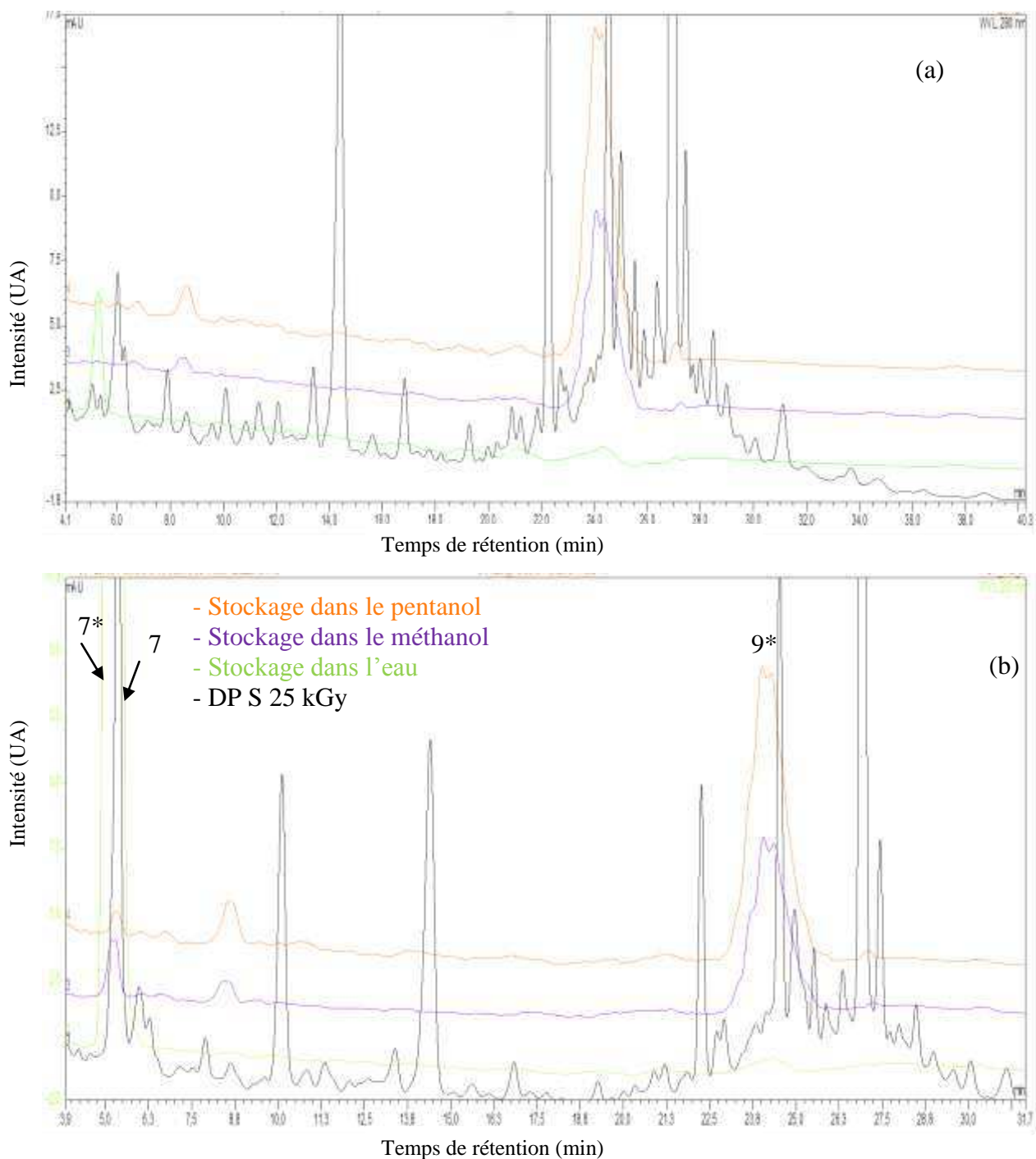


Figure 75: Chromatogrammes RP-CLHP des migrants détectés après la mise en contact des granules de COC de type S irradié à 25 kGy avec les 3 solvants. Stockage réalisé pendant 1 mois à 50 °C. Comparaison avec l'extrait obtenu par dissolution-précipitation (DP) des granules de COC type S irradié à 25 kGy. Détection réalisée par un détecteur à barette de diodes réglé à (a) 280 nm et (b) 263 nm.

En général, on remarque la présence de deux types de composés :

- des composés plutôt polaires situés dans une zone correspondant à un temps de rétention $t_r \leq 12$. Ces composés sont retrouvés en concentration plus importante dans les milieux de stockage suffisamment polaires comme l'eau ou le méthanol. Nous allons nous intéresser plus particulièrement au pic majoritaire noté (7*) sur les chromatogrammes dont le temps de rétention se situe autour de 5 minutes.

- des composés de polarité intermédiaire situés dans une zone correspondant à des $t_r \geq 12$ minutes. Leur présence est plus importante dans les solutions de stockage à base de solvants alcooliques, particulièrement le pentanol qui est le moins polaire. Nous allons nous intéresser aux composés majoritaires de cette zone notés (9*) sur les chromatogrammes et dont le temps de rétention est compris entre 23 et 26 minutes.

La comparaison des spectres UV du composé 7* obtenu dans les solutions de mise en stockage avec celui de composé 7 obtenu au même temps de rétention après dissolution-précipitation du COC, montre des spectres UV similaires (Figure 76), avec un maximum d'absorbance compris entre 250 et 270 nm : il est donc très probable qu'il s'agisse du même composé, qui a été caractérisé comme un produit de dégradation de l'Irganox 1010® (paragraphe II.3 de la partie expérimentale). La concentration de ce composé est plus importante dans les solutions mises en contact avec le polymère irradié que dans celles qui ont contenu le polymère non irradié. Par ailleurs, sa concentration est même plus importante dans la solution de mise en contact avec le polymère irradié que dans l'extrait du polymère irradié obtenu par dissolution précipitation. Ce dernier point suggère que non seulement ce composé migre depuis la matrice polymère mais qu'en plus il est produit lors du stockage à 50°C, en raison d'une dégradation au contact de l'eau de l'Irganox 1010®. Cette observation est cohérente avec les constatations de Gandec et al. [214] concernant la dégradation des antioxydants phénoliques dans des solutions aqueuses.

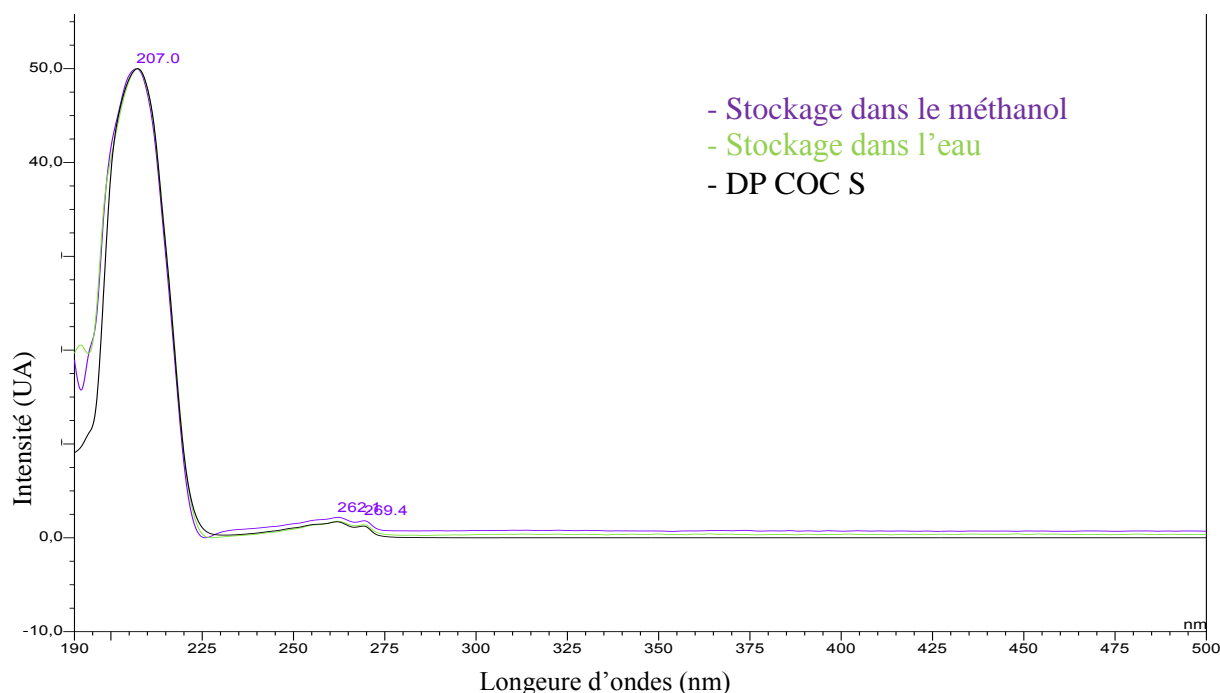


Figure 76: Spectre UV correspondant au composé 7* (figure 74) contenu dans les solutions de mise en stockage avec l'eau et le méthanol et au composé 7 (figure 75) mis en évidence dans l'extrait obtenu par dissolution-précipitation (DP) des granules de COC.

En ce qui concerne le massif du pic 9*, on peut supposer qu'il s'agit de produits de dégradation de l'Irganox 1010[®] ou des produits de recombinaison (oligomères/produits de dégradation) avec un fragment de l'Irganox 1010[®]. L'allure du spectre UV du massif élué à 25 minutes semble correspondre à celui de l'un des pics retrouvés sur le chromatogramme de l'extrait, et ressemble à celui de l'Irganox 1010[®] (Figure 77). Comme le pic 7*, le massif du pic 9* est plus intense avec les solutions de mise en stockage qui ont contenu des COC irradiés.

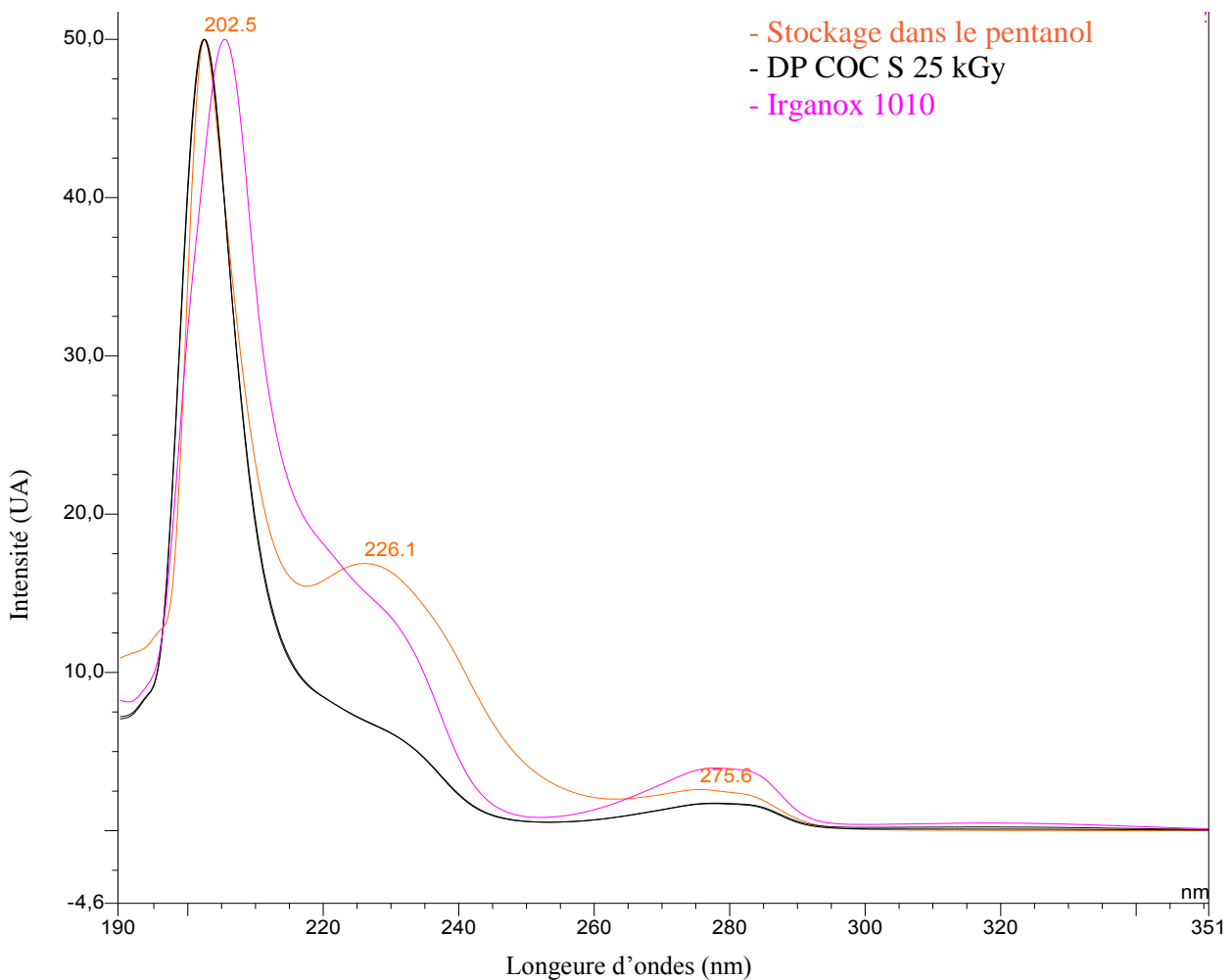


Figure 77: Spectre UV correspondant au composé 9* (figure 75) à 25 minutes contenu dans les solutions de mise en stockage avec le pentanol, au composé 9 mis en évidence dans l'extrait obtenu par dissolution-précipitation (DP) des granules de COC et à l'Irganox.

On peut donc conclure que la mise en contact du COC avec des solutions de différentes polarités se traduit par une migration et une dégradation des composés polaires ou moyennement polaires, issus de la dégradation de l'antioxydant et/ou de recombinaison de ses produits de dégradation avec des oligomères du polymère ; de plus, ces phénomènes sont plus importants dans le cas de polymère irradié.

Cette constatation est très importante et inquiétante car cela peut influencer la compatibilité de COC et surtout sa sécurité d'emploi. Malheureusement, aucun de ces composés n'a été identifié, et donc leur toxicité spécifique n'a pas pu être étudiée. Néanmoins, la toxicité de l'Irganox 1010[®] et du BHT (un de ses produits de dégradation potentiels), ainsi que celle, globale, de l'extrait de COC ont été étudiées.

V.3 Etude préliminaire de toxicité

Cette évaluation a été réalisée sur une lignée de cellules endothéliales (HUVECs : cellules endothéliale de la veine ombilicale). Ces cellules sont dites « adhésives », autrement dit, elles adhèrent à la surface du support de culture cellulaire (boîte de pétri, flacon..etc), et leur croissance se produit en deux dimensions sur cette surface

La toxicité éventuellement provoquée par les matériaux sur ces cellules peut entraîner des modifications morphologiques, voire un détachement partiel ou total en cas de mort cellulaire. Ainsi, nous avons choisi d'évaluer quantitativement le caractère cytotoxique de nos composés par la méthode de MTT décrite ci-dessous, et qualitativement à travers l'observation microscopique du tapis cellulaire.

V.3.1 Effet des antioxydants et de l'extrait sur la viabilité des cellules endothéliales

L'impact des différents antioxydants a été déterminé sur les HUVECs (cellules endothéliales de veine ombilicale humaine) après 48 heures d'incubation à 37 °C en utilisant le test de MTT. L'Irganox 1010[®] présent dans le polymère et le BHT qui peut être un de ses produits de dégradation ont été étudiés.

V.3.1.1 Antioxydant à l'état soluble

Le milieu de culture cellulaire saturé avec l'antioxydant (via une agitation avec un excès de ce dernier pendant une nuit) a été filtré puis ajouté aux cellules endothéliales pour une incubation de 48 heures. La Figure 78 montre que l'Irganox 1010[®] n'a pas de toxicité significative, la viabilité cellulaire dépassant les 80 %. Par contre, pour les cellules mises en contact avec du BHT, la viabilité cellulaire n'est plus que de l'ordre de 50 %, ce qui démontre une cytotoxicité de cet antioxydant sous sa forme soluble malgré une solubilité aqueuse très faible, de l'ordre de 1 µg/mL.

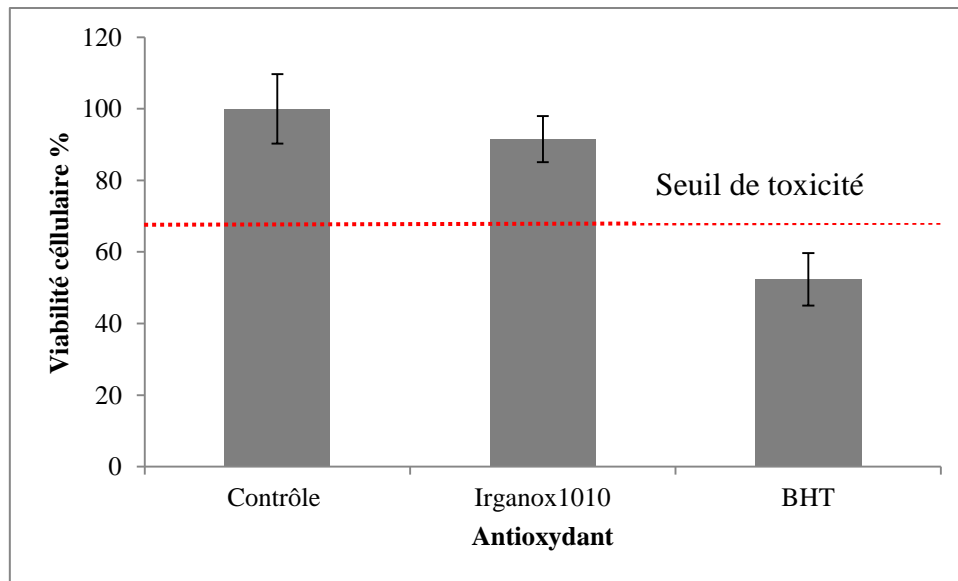


Figure 78 : Cytotoxicité des antioxydants à l'état soluble évaluée avec le test de MTT après 48h d'incubation avec les cellules endothéliales (moyen \pm SD, n=6)

V.1.1.2 Irganox 1010[®] à l'état solide

Les résultats présentés sur la Figure 79 montrent qu'il n'y a pas de diminution de la viabilité cellulaire au contact de l'antioxydant à l'état solide ; on observe au contraire une augmentation de la viabilité cellulaire quand plus de 1000 μ g d'antioxydant sont en contact avec la suspension de cellules dans le puits. Ce comportement pourrait être expliqué par le fait que les antioxydants ont formé un tapis solide au fond du puits, couche dont la densité augmente avec la quantité d'antioxydant déposé dans le puits : ce tapis pourrait constituer un support qui favorise l'adhésion des cellules. Malheureusement, nous n'avons pas pu vérifier cette hypothèse par manque de temps.

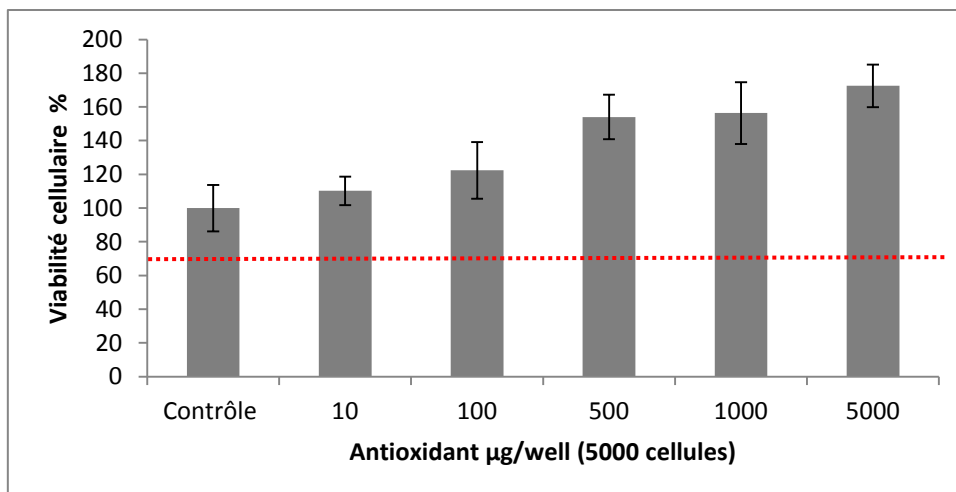


Figure 79 : Cytotoxicité de l'Irganox 1010 à l'état solide évaluée avec le test de MTT après 48h d'incubation avec les cellules endothéliales (moyen \pm SD, n=6)

V.1.1.3 Extractibles des échantillons de COC

Le milieu de culture cellulaire a été mis en contact avec les extractibles de différents échantillons (obtenus par dissolution précipitation des granules de COC type S, T irradié ou non) ; puis les HUV-EC-Cs ont été incubées avec ce milieu pendant 48 heures avant de réaliser le test de MTT. L'ensemble de ces extraits n'est pas cytotoxique pour les cellules étudiées, leur viabilité dépassant les 85 % (Figure 80). Ces résultats sur la toxicité des extraits confirment ceux obtenus avec l'Irganox 1010[®] qui est l'un des extractibles principaux contenus dans ces extraits.

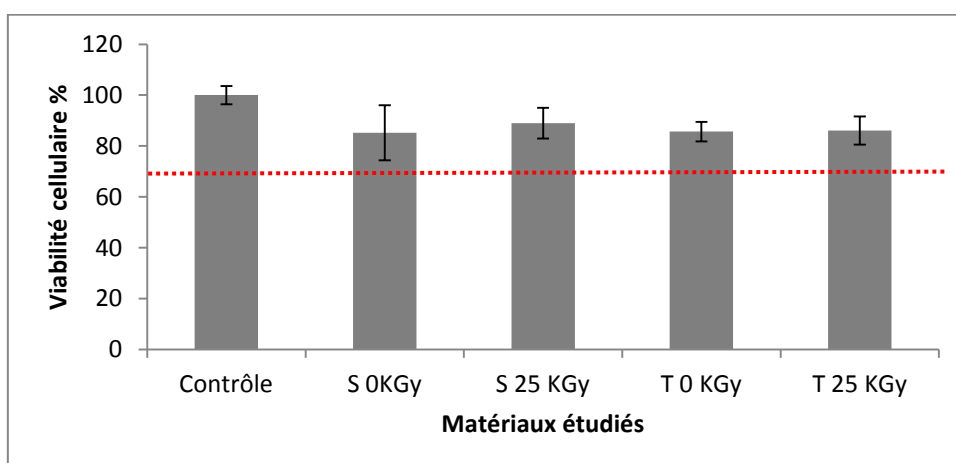


Figure 80 : Cytotoxicité des extraits solubles obtenus par DP des granules de COC évaluée avec le test de MTT après 48h d'incubation avec les cellules endothéliales (moyen \pm SD, n=6)

V.3.2 Effet des antioxydants et des extractibles sur la morphologie des cellules endothéliales

V.3.2.1 Antioxydants à l'état soluble

Pour l'Irganox 1010[®], aucune modification significative de morphologie n'est observée après 48 heures d'incubation par rapport à des cellules de contrôle (Figure 81). Dans le cas du BHT plusieurs cellules sont rondes et commencent à se détacher de la surface du puits, ce qui peut être interprété comme un premier signe de toxicité de ce composé vis-à-vis des cellules endothéliales.

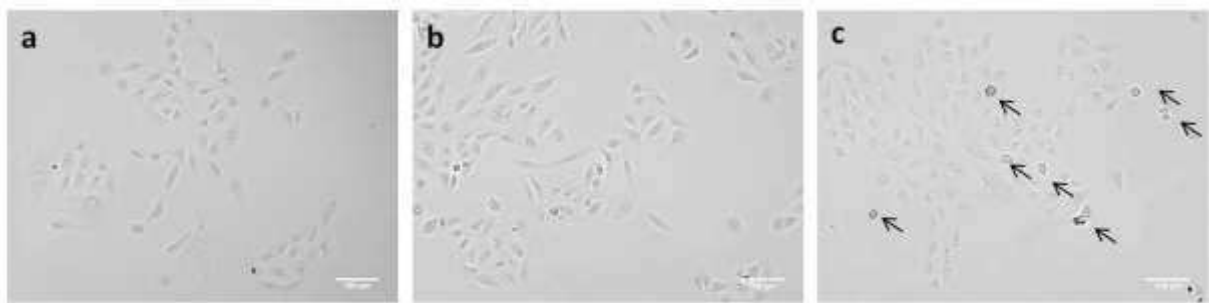


Figure 81 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec les antioxydants à l'état soluble. (a : Contrôle, b : Irganox1010, c : BHT)

V.3.2.2 Antioxydants à l'état solide

Après formation d'une couche d'antioxydant au fond des puits de culture cellulaire, la suspension cellulaire a été déposée et les cellules vivantes ont été observées avec un microscope inversé après 48 heures d'incubation.

La Figure 82 montre la morphologie des cellules incubées avec des quantités croissantes d'Irganox 1010[®]. Sur l'ensemble des images, les cellules ont un aspect normal. Il convient de signaler que l'Irganox 1010[®] a un contraste tel, qu'il rend l'observation des cellules difficile quand la quantité d'antioxydant déposé au fond du puits est importante (Figure 82d, e et f).

Dans le cas du BHT, (Figure 83), des signes d'apoptose sont observés : les cellules se détachent de la surface des puits et se rétractent ; un gonflement de la membrane cytoplasmique (« membrane bubble ») est visible sur les Figure 83d, e et f. Pour les cellules

incubées avec une quantité de BHT supérieure à 5000 μg dans le puits, une destruction totale de la couche de cellules est observée avec des cellules qui sont entièrement rondes et détachées de la surface.

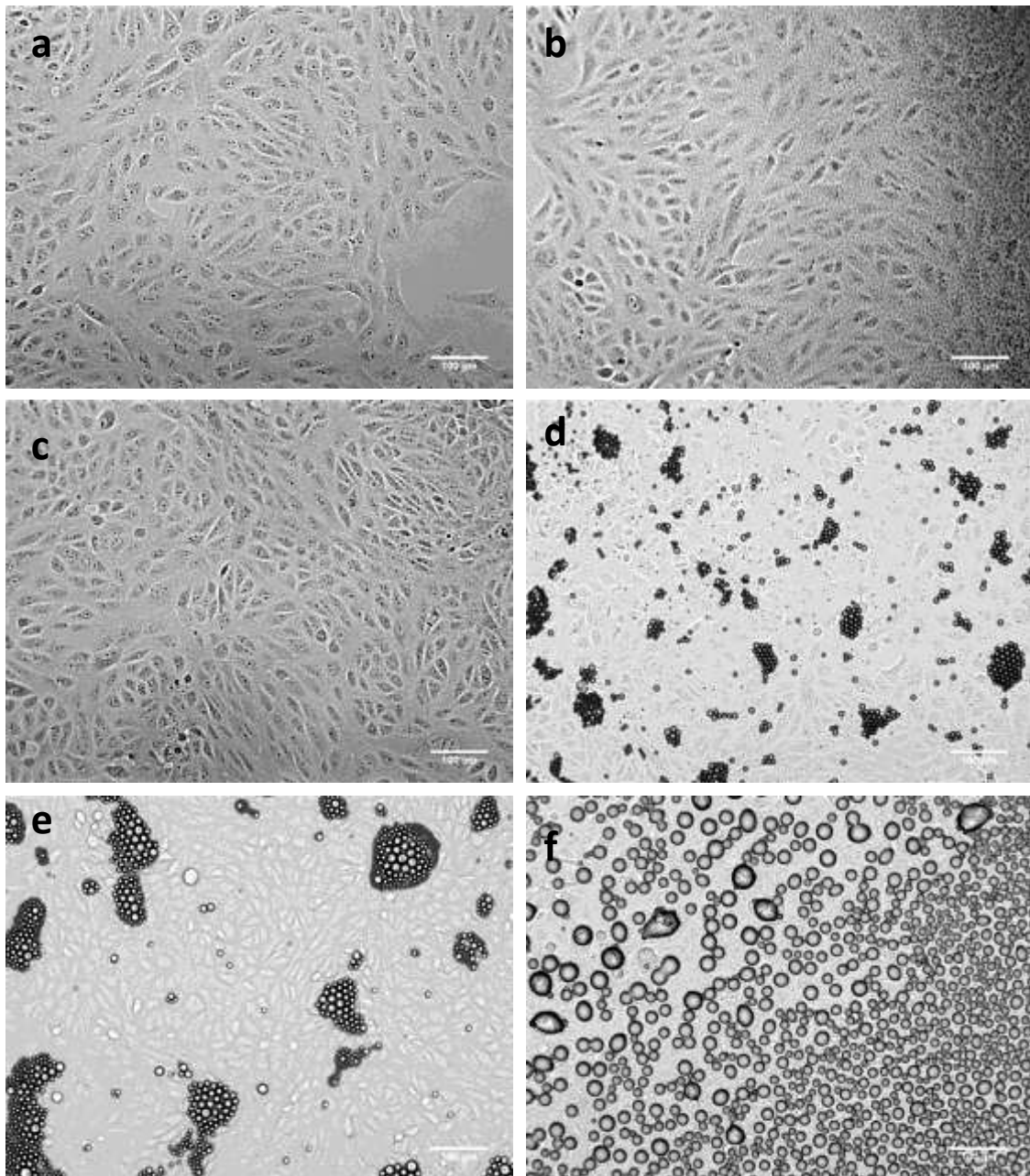


Figure 82 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec l'Irganox 1010® à l'état solide (a,b,c,d,e,f correspondant respectivement à 0, 10, 100, 500, 1000 et 5000 μg d'antioxydant /puits)

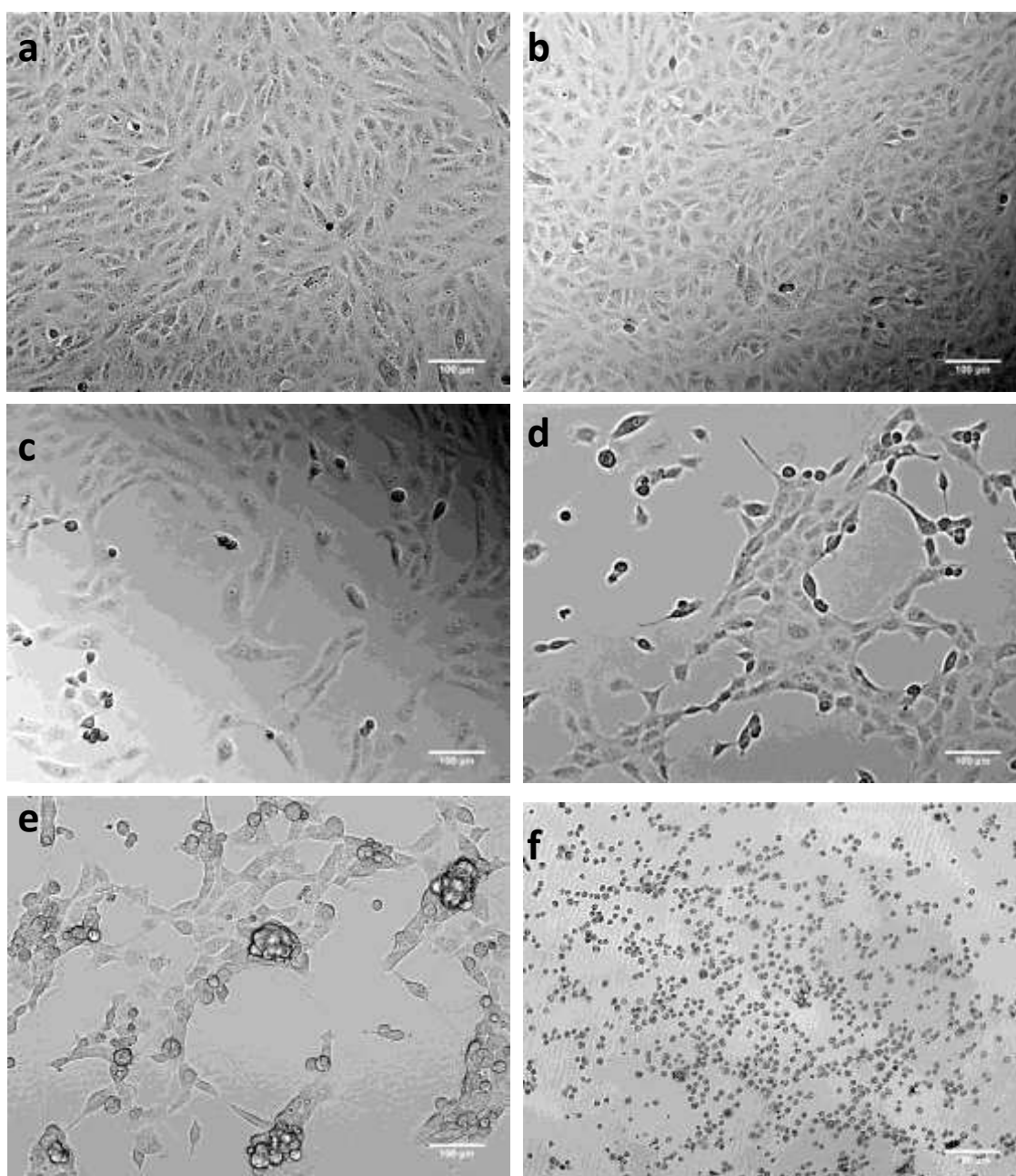


Figure 83 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec le BHT (a, b, c, d, e, f correspondant respectivement à 0, 10, 100, 500, 1000 et 5000 μ g d'antioxydant /puits)

V.3.2.3 Extrait des échantillons de COC

Les cellules mises en contact avec un milieu préalablement en contact avec les extractibles des différents matériaux (S, T irradié ou non) ont un aspect normal avec un tapis cellulaire et

une morphologie identique à celle des cellules de contrôle (Figure 84). Les extractibles solubles ne sont donc pas cytotoxiques pour les cellules étudiées.

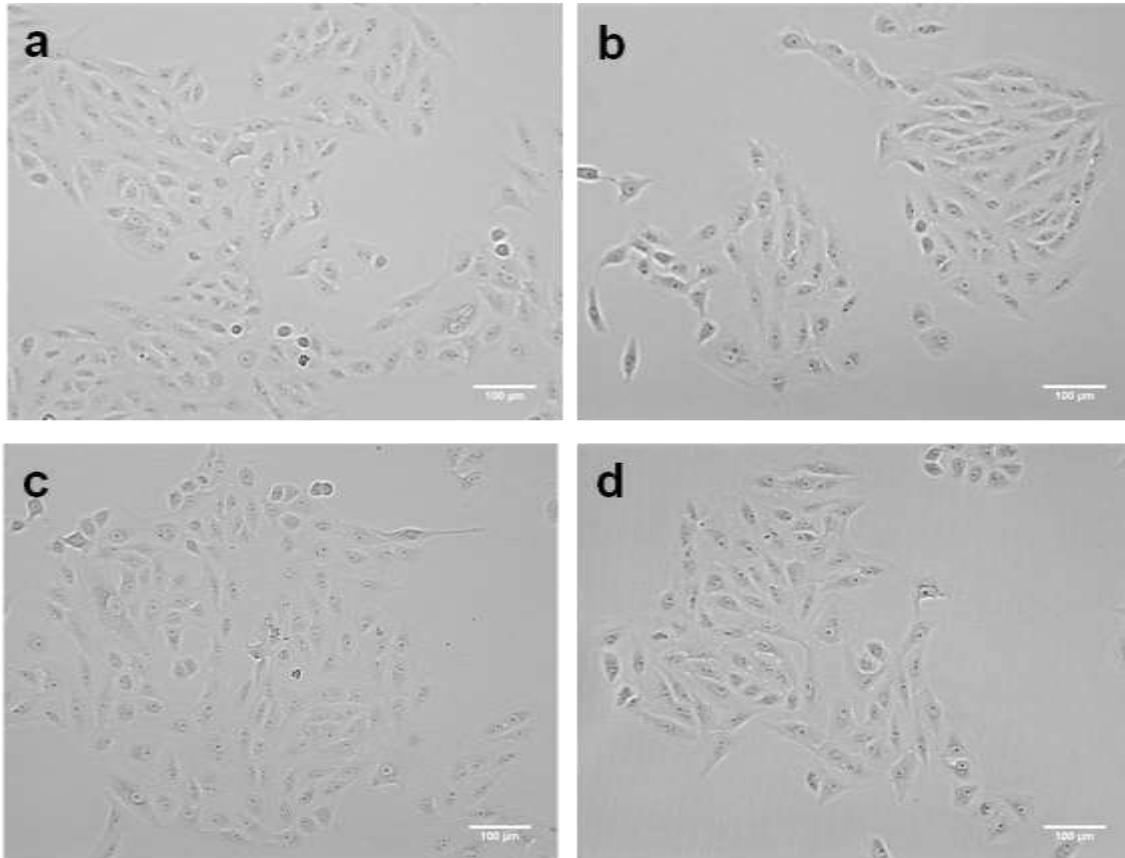


Figure 84 : Morphologie des cellules endothéliales après mise en contact avec l'extrait obtenu par DP des granules de COC (a : S 0KGy, b : S 25KGy, c : T 0KGy, d : T 25KGy)

V.4 Conclusion

Ce chapitre, consacré à l'étude d'interactions avec des COC et à l'étude de toxicité, nous a permis d'abord de montrer l'absence, dans les conditions choisies pour cette étude, d'interactions des COC stérilisés au moyen d'électrons accélérés avec des solutions de diazépam et chlorpromazine, molécules connues pour interagir fortement avec le PVC plastifié (sorption). Le COC n'affecte pas donc pas l'efficacité de ces deux principes actifs en réduisant la teneur. Cependant, des composés de masses molaires et de polarités différentes

ont été mis en évidence dans les différentes solutions de mise en contact avec le COC à température élevée. Certains de ces composés ont été trouvés, avec une concentration relativement importante, dans des solutions aqueuses en contact avec le COC stérilisé, ce qui met en question la sécurité d'emploi des COC pour le stockage des produits injectables. En effet, même si l'étude préliminaire de toxicité a montré l'absence de toxicité de l'Irganox 1010[®] contenu dans ces matériaux ou de l'extrait de COC, nous ne pouvons pas conclure à une absence de risque. En effet, d'une part, l'étude de toxicité n'a pas porté sur les solutions de mise en contact mais sur les extraits ; d'autre part, elle a été réalisée seulement sur les extractibles solubles dans le milieu de culture. Il est donc à notre avis nécessaire d'identifier chacun des migrants afin d'en étudier spécifiquement la toxicité, pour pouvoir débattre de la compatibilité des COC dans le domaine des injectables.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier l'effet de la stérilisation par électrons accélérés sur les copolymères d'oléfines cycliques, ainsi que son impact sur les interactions avec des formulations pharmaceutiques. Les copolymères étudiés sont des matériaux relativement récents avec des propriétés intéressantes pour des applications diverses dans le domaine pharmaceutique et médical.

Pour réaliser notre objectif, nous avons mis au point une méthodologie analytique de caractérisation que nous avons menée selon quatre approches expérimentales qui sont :

- l'étude de l'effet de la stérilisation dans le volume du matériau grâce à un ensemble de techniques séparatives (CES et CLHP), spectrales (IRTF/Transmission) et d'analyses thermiques (AED).
- l'étude de l'effet de la stérilisation sur la surface du matériau par des techniques de microscopie (AFM pour la topographie de surface et microscopie IRTF), de spectroscopie (IRTF/RTA et SPX : étude de la chimie de surface), et par les mesures d'angles de contact (étude de la mouillabilité).
- l'étude du vieillissement des COC et notamment leur oxydation post-irradiation.
- l'étude des interactions des COC avec les milieux de contact qui comprend deux volets : une étude de la sorption de deux principes actifs sur le COC et une étude de la migration des composés de faibles masses molaires (CFMM) à partir du COC vers les milieux en contact suivie d'une étude préliminaire de toxicité des extractibles du COC.

Grâce à cette méthodologie, nous avons pu mettre en évidence différents types de modifications dans le volume et sur la surface du matériau après stérilisation ainsi qu'après vieillissement.

La modification principale relative au volume du matériau observée à la dose réglementaire de stérilisation (25 kGy) est la scission des chaînes de polymère qui accompagne la création des composés de faibles masses molaires (CFMM), donc de migrants potentiels risquant d'influencer la sécurité d'emploi des COC. En effet, certains de ces composés ont été retrouvés avec une concentration relativement importante dans les solutions de mise en contact avec les COC stérilisés, et notamment dans la solution aqueuse. Toutefois, l'étude

préliminaire de toxicité a montré l'absence de cytotoxicité des extractibles obtenus à la dose de la stérilisation.

Les modifications relatives à la surface des COC radio-stérilisés sont, quant à elles, de deux natures : physique avec une augmentation de la rugosité de surface et chimique avec une augmentation de la polarité due de la formation de produits d'oxydation ; ces deux types de modifications conduisent à l'augmentation de la mouillabilité de surface, qui peut être importante sur les films spincoâtés fraîchement irradiés. Cependant, ces modifications sont relativement faibles même à des doses supérieures à celle préconisée pour la stérilisation sur les films extrudés vieillis, ce qui peut expliquer l'absence d'un effet de l'irradiation sur le comportement des COC vis-à-vis des solutions médicamenteuses. En effet, aucune variation de la sorption des principes actifs choisis n'a été montrée entre les COC irradiés et non irradiés vieillis.

L'ensemble des résultats obtenus nous a permis d'atteindre l'objectif fixé. Toutefois, plusieurs questions restent en suspens et doivent être éclaircies. C'est pourquoi il est notamment important, dans les perspectives de ce travail, de se concentrer sur les approches suivantes:

- L'étude de la cinétique de la diffusion post-irradiation de l'oxygène dans le COC au moyen de la RPE qui doit nous permettre de proposer un mécanisme d'oxydation post-irradiation des COC; cette étude, faite en collaboration avec le CEA Saclay (S. Esnouf) est en cours.
- Une identification des extractibles et des migrants du COC par CLHP couplée à la spectrométrie de masse doit être réalisée. Une telle identification est indispensable et permettra de réaliser une étude spécifique de toxicité concernant ces composés.
- L'étude de la topographie de surface, de la chimie de surface menée par SPX et celle de la mouillabilité doit être menée sur les deux autres grades de COC afin d'explorer l'effet du lubrifiant et de la structure du COC sur les modifications de surface observées. De plus, étudier l'effet de l'antioxydant sur la surface d'une manière plus approfondie peut être réalisé en préparant des films spincoâtés de COC avec des taux croissants d'Irganox 1010[®]. En outre il nous semble important d'étudier de manière

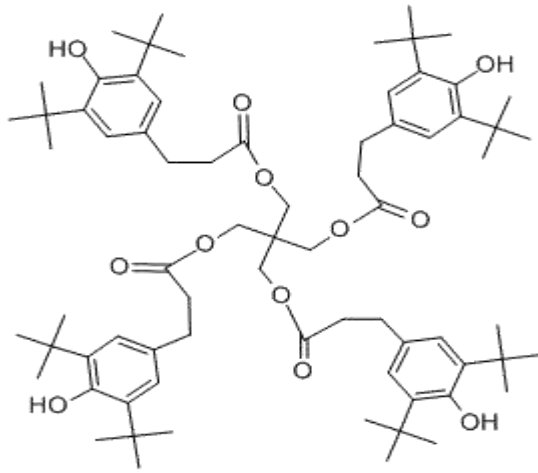
plus développée la cinétique de vieillissement du point de vue de la mouillabilité et de la chimie de surface.

- L'étude des propriétés mécaniques des différents grades de COC après irradiation ainsi qu'après vieillissement est importante afin de s'assurer que les COC conservent leurs propriétés mécaniques tout au long de leur durée d'utilisation. Nous avons en effet décelé une certaine fragilité des films extrudés irradiés à forte dose.
- L'étude de migration doit être poursuivie en utilisant des conditions réelles de stockage, à savoir, une température de 25 °C et des solutions de simulation pharmaceutiques. En effet, la présence d'excipients peut influencer l'interaction entre les COC et les milieux en contact, comme l'ont montré divers travaux antérieurs.
- L'étude préliminaire de la toxicité a été réalisée sur les extractibles du COC à l'état soluble ; il est aussi important d'étudier la toxicité des migrants effectifs en étudiant la toxicité des solutions de mise en contact.
- L'étude de sorption a été réalisée avec le grade S, il nous semble nécessaire après avoir étudié la surface des autres grades de réaliser une étude d'interaction avec des principes actifs.

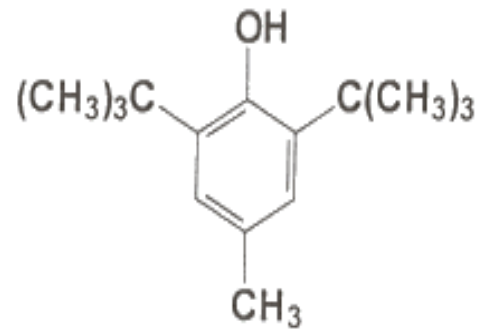
Enfin, le travail mené dans cette thèse concerne les copolymères d'oléfinés cycliques sous forme de matière première, il serait donc intéressant par la suite de transposer l'étude aux conditionnements pharmaceutiques réels de type seringue ou flacon mis en stabilité dans les conditions ICH. En effet, tout processus de mise en forme ainsi que les conditions de stockage peuvent avoir des effets sur la compatibilité du couple matériau/médicament.

Annexes

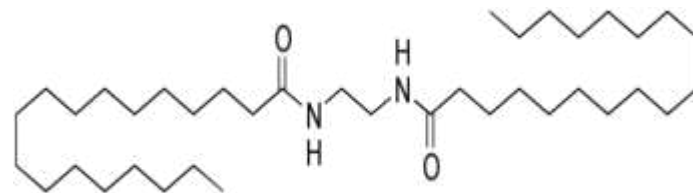
Annexe 1 : Structures chimiques des additifs et principes actifs utilisés



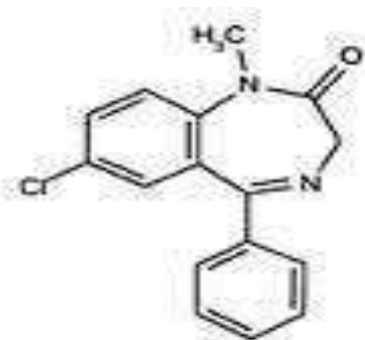
Irganox 1010[®]



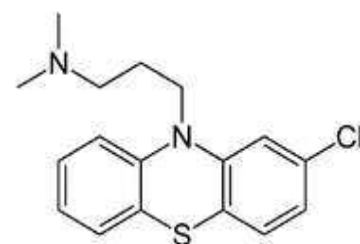
BHT



N, N'bis éthylène stéaramide



Diazépan[®]



Chlorpromazine

Annexe 2 : Principes des techniques et Protocoles expérimentaux

2.1 Extraction dissolution-précipitation

3 g précisément pesés de polymère sous forme de granules, sont mis à chauffer à reflux durant environ 40 minutes dans un ballon à fond plat dans 50 mL de toluène (grade CLHP, VWR) sous agitation et à une température relativement élevée (70 °C), suffisante pour dissoudre le matériau. Une fois que la dissolution complète du matériau est atteinte, 50 mL de méthanol froid (grade CLHP, VWR) sont versés lentement sur la solution maintenue sous agitation, ce qui permet de précipiter les chaînes de polymère tout en conservant les extractibles en solution. La solution ainsi obtenue est ensuite filtrée sur papier filtre, le précipité étant rincé plusieurs fois au méthanol. La solution récupérée est alors évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI R-210) à 60°C. Le résidu sec obtenu contient les extractibles du polymère dont les additifs. Il sera ultérieurement solubilisé pour faire l'analyse par CLHP.

2.2 Chromatographie d'exclusion stérique (CES)

Aussi appelée filtration sur gel lorsque la phase mobile est aqueuse et chromatographie par perméation de gel (CPG) si la phase mobile est organique, la CES est une technique de chromatographie liquide qui permet de séparer les molécules selon leur taille. En effet, elle est fondée sur la différence de pénétration des molécules de l'échantillon dans les pores de la phase stationnaire ; ces pores doivent avoir un diamètre moyen du même ordre de grandeur que celui des espèces à séparer lorsqu'elles sont en solution dans la phase mobile.

Dans la pratique, chaque phase stationnaire est adaptée à une plage de séparation, appelée perméation sélective (cf figure 85), encadrée par une zone d'exclusion et une zone de perméation totale. Les molécules dont le diamètre est plus grand que celui des pores sont exclues du gel (d'où l'expression d'«exclusion stérique»). Elles traversent le gel en prenant comme chemin le volume interstitiel. Elles seront donc éluées au même volume d'éluion. Généralement, plus les molécules sont petites, plus elles peuvent cheminer longtemps à travers l'ensemble de pores du gel. Pour augmenter la plage de séparation, il est fréquent de mettre en série 2 ou 3 colonnes. La Figure 85 représente un schéma du principe de la chromatographie d'exclusion stérique [215].

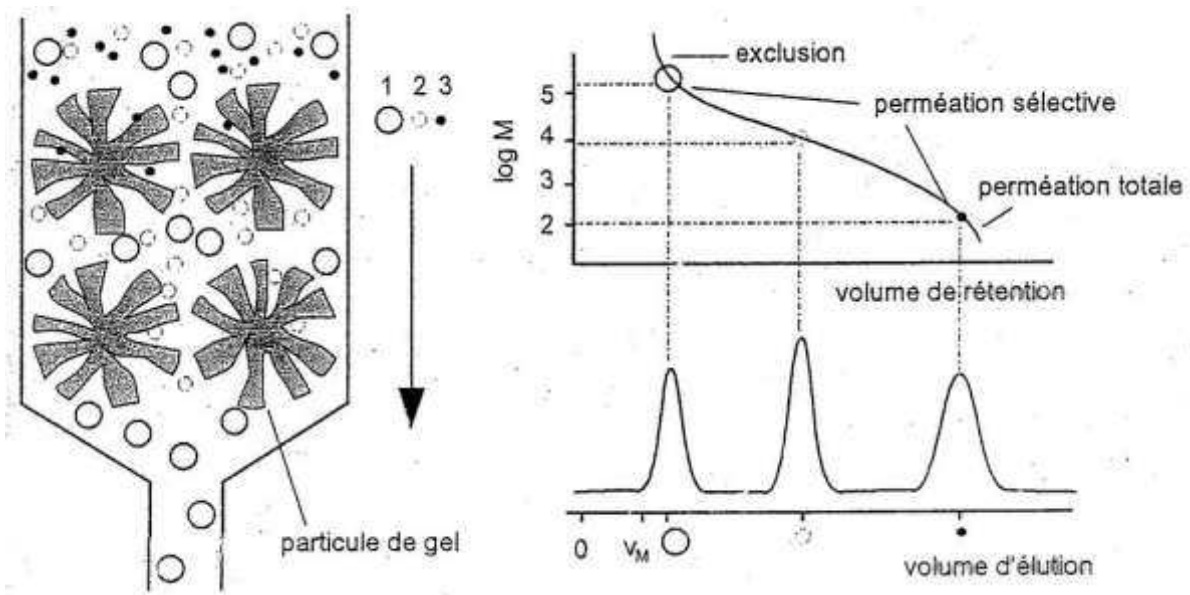


Figure 85 : schéma du principe de la chromatographie d'exclusion stérique [149]

Les chaînes de polymères sont analysées en sortie de colonne par un ou plusieurs détecteurs (réfractomètre, détecteur UV, viscosimètre, diffusion laser.....). On obtient alors un chromatogramme où chaque pic correspond à une distribution de masse donnée. La largeur des pics est fonction de la dispersion des masses au sein de la distribution.

Grâce à cette méthode, les différentes masses molaires moyennes du polymère peuvent être déterminées et on peut notamment calculer :

- La masse molaire moyenne en poids (M_w) : $\overline{M}_w = \frac{\sum M_i c_i}{\sum c_i}$ (20)
- La masse molaire moyenne en nombre (M_n) : $\overline{M}_n = \frac{\sum c_i}{\sum c_i / M_i}$ (21)
- La masse molaire d'ordre supérieur (M_z) : $\overline{M}_z = \frac{\sum M_i^2 c_i}{\sum M_i c_i}$ (22)
- L'indice de poly moléularité en masse ($I_p = M_w / M_n$) (23), qui est caractéristique de l'homogénéité en masse de la distribution.
- La distribution est divisée en i tranches de largeurs égales, et C_i et M_i sont respectivement la concentration et la masse molaire de la $i^{\text{ème}}$ tranche.

Un système PL-GPC 220 (Polymer Laboratories, UK) a été utilisé. La séparation des composés est réalisée au moyen de deux colonnes (Polymer Laboratories) : la première est constituée d'un gel dont les particules sont de porosité de 100 Å et la deuxième est une colonne mixed-D ; elles ont toutes les deux une taille de particules de 5 µm, une longueur de 300 mm et un diamètre de 7.5 mm ; le domaine de masses séparées est de 200-4000 g/mol (100 Å) et de 200- 4 x10⁶ g/mol (Mixed-D). Ces colonnes sont thermostatées à 60°C ; l'éluant utilisé est du toluène (grade CLHP, VWR) à un débit de 1 mL/min. 200 µL de polymère, préalablement dissout dans du toluène à une concentration de 5 mg/mL et filtré par un filtre PTFE de porosité 0.45µm, sont injectés. La détection est assurée par trois détecteurs : un détecteur refractomètre (DRI) (Polymer Laboratories, UK) monté en série avec un viscosimètre différentiel 220R (DV) (Viscotek, UK) ; ces deux détecteurs sont montés en parallèle avec un détecteur de diffusion de la lumière laser PD 2040 (possédant deux angles d'analyse : 15 et 45°) et dont le laser à une longueur d'onde de 670 nm (Precision Detectors, Inc., USA). Le système est contrôlé par le logiciel PL-GPC 220 Control® (2.01version). L'acquisition, le traitement des résultats ainsi que le calcul des masses molaires et du taux de branchement se fait au moyen du logiciel Omnisec - version 4.0 (Viscotek).

Les masses molaires ont été calculées par triple détection. La calibration des détecteurs a été réalisée en utilisant un standard de polystyrène (Polymer Laboratories) dont la M_p est égale à 50400 g/mol (dn/dc est de 0.1065 mL/g, viscosité intrinsèque est de 0.2604 dL/g et l'indice de poly moléularité est de 1.03).

Le dn/dc des échantillons est de 0.06 mL/g ; il a été déterminé en réalisant des solutions de différentes concentrations de COC et en mesurant l'aire de pics du réfractomètre. La pente de la droite donnant l'aire de pics en fonction de la concentration permet de déterminer le dn/dc.

2.3 Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

L'analyse en CLHP est faite après extraction par dissolution-précipitation du COC. Le résidu sec résultant est solubilisé dans un mélange constitué de 1 mL de THF (tétrahydrofurane) et d'1 mL d'acétonitrile (ACN), puis filtré sur un filtre téflon millipore (0,22 µm) et injecté. Dans des COC mis en contact avec des solvants, ces derniers sont évaporés et les résidus respectifs sec sont repris par le mélange THF/ACN et analysé.

Nous avons utilisé un système Ultramate 3000 (Dionex) composé d'un injecteur automatique, d'une pompe et d'un détecteur UV-Visible à longueur d'onde variables (barrettes de diodes).

20 µL de solution à analyser sont injectés sur une colonne de type LiChrocart® 250-4 RP-18e (5µm) taille 250x4 mm (Lichrosphere, Interchim). Le débit est de 1 mL/min. Deux phases mobiles ont été utilisées avec un mode gradient (c.f Tableau 13). L'acquisition et le traitement de données sont assurés par le logiciel Chromeleon™ version (Dionex).

Temps de rétention (min)	Méthanol	Eau
0	80 %	20 %
25	100 %	0 %
40	100 %	0 %
41	80 %	20 %
50	80 %	20 %

Tableau 13: Description du gradient d'éluion.

L'antioxydant présent est identifié par comparaison avec l'analyse dans les mêmes conditions de standards inscrits à la Pharmacopée Européenne. Il est ensuite quantifié après réalisation d'une courbe d'étalonnage obtenue à partir de 5 solutions de concentrations différentes choisies autour du domaine de concentration de la solution analysée (annexe 3).

Annexe 3 : Gamme d'étalonnage de l'Irganox 1010[®]

Une gamme de concentrations croissantes du standard Irganox 1010[®] a été préparée et analysée dans les mêmes conditions chromatographiques mentionnées précédemment. L'aire sous le pic correspondant à l'Irganox 1010[®] dans chaque solution est calculée et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 14).

Concentration (ppm)	Aires				
	n=1	n=2	n=3	Moyenne	écart-type
100	10.42	10.47	10.45	10.45	0.028
500	53.38	55.44	55.93	54.91	1.353
750	86.85	85.83	85.58	86.08	0.671
1000	115.69	116.28	115.85	115.94	0.301
1500	173.49	173.94	173.92	173.78	0.255
2000	227.94	229.33	229.47	228.90	0.836
4000	439.98	447.39	441.96	443.11	3.835

Tableau 14: Gamme d'étalonnage de l'Irganox 1010[®].

La courbe d'étalonnage est tracée et la linéarité de la méthode est validée (Figure 86).

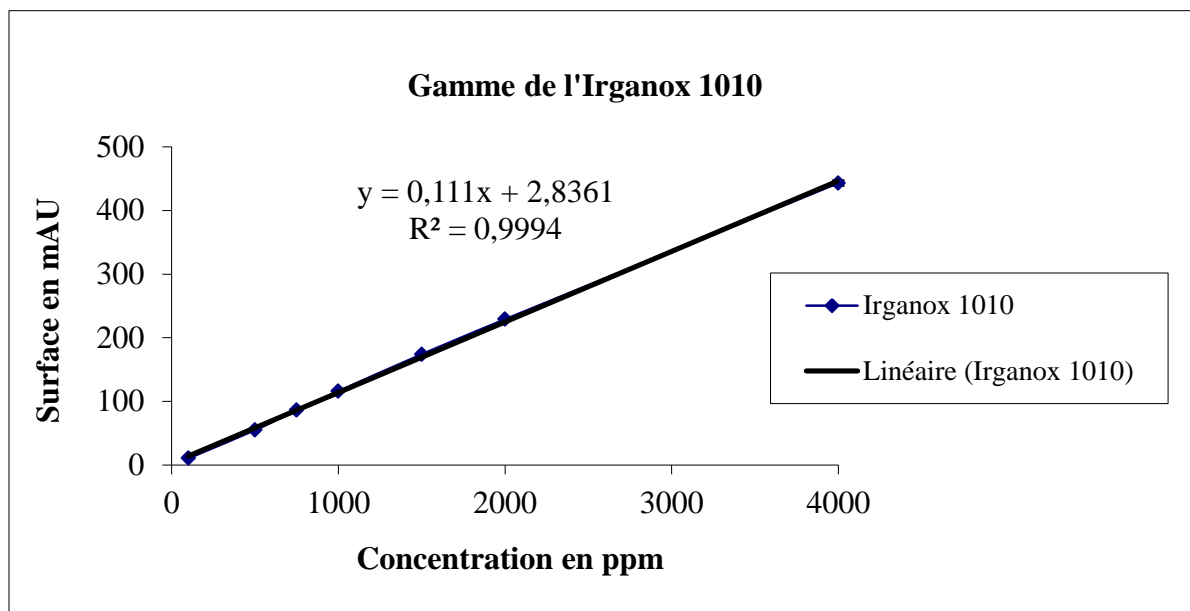


Figure 86: Courbe d'étalonnage de l'Irganox 1010[®].

Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) ont été calculées à partir du chromatogramme de la solution d'Irganox 1010[®] à la concentration de 100 ppm.

$LD = 3 \times \text{Bruit de fond} = 0.045 \text{ ppm}$, $LQ = 10 \times \text{Bruit de fond} = 0.15 \text{ ppm}$.

Le teneur en Irganox 1010[®] dans les différents grades de COC a été ensuite calculée à partir de la gamme d'étalonnage de l'Irganox 1010[®]. Les résultats sont résumés dans le Tableau 15.

Grade COC	Dose (kGy)	Aire du pic (mAU)			Concentration (ppm)			moyenne	écart type
		1	2	3	1	2	3		
S	0	134	129	136.79	1181.41	1136.37	1206.59	1174.80	35.58
	25	27	40	35	217.69	334.81	289.76	280.76	59.08
	75	7.1	7	6.98	38.41	37.51	37.33	37.75	0.58
	150	3	3.5	3.2	1.48	5.98	3.28	3.59	2.27
D	0	185	184	178.54	1640.87	1631.86	1582.63	1618.46	31.35
	25	68	52	58	587.06	442.92	496.97	508.98	72.82
	75	14	20	18	100.58	154.63	136.61	130.61	27.52
	150	5.9	4	5.2	27.60	10.48	21.30	19.79	8.66
T	0	143	144	121.94	1262.50	1271.50	1072.78	1202.26	112.22
	25	64	34	44	551.03	280.76	370.60	415.89	137.64
	75	11.5	11	11.3	78.05	73.55	76.25	75.95	3.18
	150	8.1	8	8.2	47.42	46.52	48.32	47.42	0.90

Tableau 15: Calcul de la teneur en Irganox 1010[®] dans les différents grades de granules de COC.

Annexe 4 : Evaluation de l'énergie de surface

Nous avons utilisé cinq liquides pour mesurer l'angle de contact, l'eau, le diiodométhane, le formamide, l'éthylène glycol et le glycérol. Le coefficient de tension superficielle d'un liquide L est égal à la somme de sa composante polaire γ_L^p et de sa composante dispersive γ_L^d (Équation (24)).

$$\gamma_{Li} = \gamma_{Li}^p + \gamma_{Li}^d \quad \text{Équation (24)}$$

De même on peut définir les composantes polaire, γ_S^p , et dispersive, γ_S^d , de l'énergie de surface d'un solide à partir de l'équation (25).

$$\gamma_S = \gamma_S^p + \gamma_S^d \quad \text{Équation (25)}$$

Pour un liquide i en contact avec un matériau d'énergie de surface γ_S , la relation de Young s'écrit :

$$\gamma_{Li} \cdot \cos\Theta_i = \gamma_S - \gamma_{SLi} \quad \text{Équation (26)}$$

Où : Θ_i est l'angle de contact à l'équilibre mesuré pour le liquide Li avec la surface du matériau et γ_{SLi} est le coefficient de tension interfaciale.

La modélisation d'Owens nous donne l'expression du coefficient de tension interfaciale σ_{SLi} .

$$\gamma_{SLi} = \gamma_S + \gamma_{Li} - 2(\gamma_S^d \cdot \gamma_{Li}^d)^{1/2} - 2(\gamma_S^p \cdot \gamma_{Li}^p)^{1/2} \quad \text{Équation (27)}$$

En utilisant l'Équation (26) et l'Équation (27) on obtient qui ne dépend plus que de la tension de surface du liquide et de l'énergie de surface du matériau :

$$\gamma_{Li}(1 + \cos\Theta_i) = 2(\gamma_S^d \cdot \gamma_{Li}^d)^{1/2} + 2(\gamma_S^p \cdot \gamma_{Li}^p)^{1/2} \quad \text{Équation (28)}$$

Pour résoudre cette équation en γ_S^p et γ_S^d , on peut la réécrire en remplaçant par A_i , B_i et C_i ($A_i = \gamma_{Li}(1 + \cos\Theta_i)$, $B_i = 2(\gamma_{Li}^d)^{1/2}$ et $C_i = 2(\gamma_{Li}^p)^{1/2}$) les termes connus (Équation (28)) :

$$A_i = B_i (\gamma_s^d)^{1/2} + C_i (\gamma_s^p)^{1/2} \quad \text{Équation (29)}$$

Dans l'Équation (29) nous avons les constantes suivantes :

i	eau	diiodométhane	formamide	éthylène glycol	glycérol
γ_{Li} (mN/m)	72.8	51.8	58	48	64
γ_{Li}^p (mN/m)	51.0	0.0	19	19	30
γ_{Li}^d (mN/m)	21.8	51.8	39	29	34
B_i (mN/m) ^{1/2}	9.3	14.4	12.5	10.7	11.7
C_i (mN/m) ^{1/2}	14.3	0.0	8.7	8.7	11

Donc, nous avons une équation linéaire à deux inconnues (γ_s^d et γ_s^p) de la forme suivante (Équation 30):

$$X = Y \cdot (\gamma_s^p)^{1/2} + (\gamma_s^d)^{1/2} \quad \text{Équation 30}$$

Où : $X = C_i / B_i$ et $Y = A_i / B_i$.

Grâce aux cinq points ($i = 1, 2, 3, 4$ et 5), il est possible de tracer les variations de Y en fonction X , et cette fonction linéaire permet d'accéder aux constantes caractéristiques du solide étudié : $(\gamma_s^p)^{1/2}$ et $(\gamma_s^d)^{1/2}$. A partir de l'Équation (on obtient l'énergie de surface (γ_s).

Annexe 5 : Etude de stabilité du diazépam et de la chlorpromazine

La stabilité du diazépam et de la chlorpromazine a été étudiée pendant 48 heures sous différentes conditions de stockage. Trois solutions de chaque principe actif ont été préparées. L'absorbance des solutions a été mesurée pour chaque condition du stockage, puis l'absorbance relative par rapport à la solution non stockée a été calculée. La solution est considérée stable pour des valeurs d'absorbance relatives comprises entre 95 % et 105 %.

Conditions de stockage		à temps initial	stockage 48 heures au réfrigérateur	stockage 48 heures à 25 °C à l'abri de la lumière	stockage 48 heures à température ambiante et à la lumière
	rep1	0.151	0.156	0.150	0.152
	rep2	0.152	0.155	0.150	0.153
solution 1	rep3	0.153	0.155	0.151	0.152
	moyenne	0.152	0.155	0.150	0.152
	Ecart type	0.0012	0.0005	0.0007	0.0004
absorbance relative		100	102.06	98.73	100.2
	rep1	0.183	0.183	0.179	0.173
solution 2	rep2	0.182	0.186	0.180	0.174
	rep3	0.182	0.185	0.180	0.174
	moyenne	0.182	0.185	0.179	0.174
	Ecart type	0.0006	0.0014	0.0004	0.0008
absorbance relative		100	101.51	98.47	95.47
	rep1	0.201	0.204	0.197	0.199
solution 3	rep2	0.199	0.203	0.198	0.199
	rep3	0.203	0.203	0.198	0.199
	moyenne	0.201	0.203	0.198	0.199
	Ecart type	0.0021	0.0005	0.0006	0.0003
absorbance relative		100	101.21	98.57	99.36
Absorbance relative moyenne		100	101.60	98.60	98.34
écart type		0	0.4336	0.1307	2.5222

Tableau 16: Stabilité du diazépam pendant 48 heures.

Conditions de stockage		à temps initial	stockage 48 heures au réfrigérateur	stockage 48 heures à 25 °C à l'abri de la lumière	stockage 48 heures à température ambiante et à la lumière
	rep1	0.974	0.952	0.946	0.896
	rep2	0.989	0.950	0.957	0.891
solution 1	rep3	0.979	0.968	0.958	0.889
	moyenne	0.979	0.954	0.953	0.892
	Ecart type	0.0087	0.0064	0.0066	0.0034
absorbance relative		100	97.45	97.35	91.18
	rep1	1.016	1.011	0.989	0.916
solution 2	rep2	1.012	1.011	1.009	0.923
	rep3	1.023	1.009	0.975	0.915
	moyenne	1.017	1.010	0.991	0.918
	Ecart type	0.0054	0.0009	0.0175	0.0043
absorbance relative		100	99.36	97.402	90.253
	rep1	0.963	0.974	0.973	0.887
solution 3	rep2	0.982	0.973	0.977	0.889
	rep3	0.979	0.974	0.971	0.892
	moyenne	0.975	0.973	0.974	0.889
	Ecart type	0.010	0.0006	0.003	0.0025
absorbance relative		100	99.84	99.87	91.20
	Absorbance relative	100	98.87	98.209	90.853
	écart type	0	1.252	0.481	0.439

Tableau 17: Stabilité de la chlorpromazine pendant 48 heures (les valeurs obtenues sont celles d'absorbance (UA)).

Ainsi, on peut conclure que le diazépam est stable quelle que soit la condition de stockage, tandis que la chlorpromazine est stable seulement au réfrigérateur et à l'abri de la lumière. Pour la suite de l'étude d'interaction, nous avons choisi de stocker les solutions à l'abri de la lumière à 25 °C.

Annexe 6 : Chromatogrammes RP-CLHP des solutions d'extraction des granules de COC de type D et T avant et après irradiation.

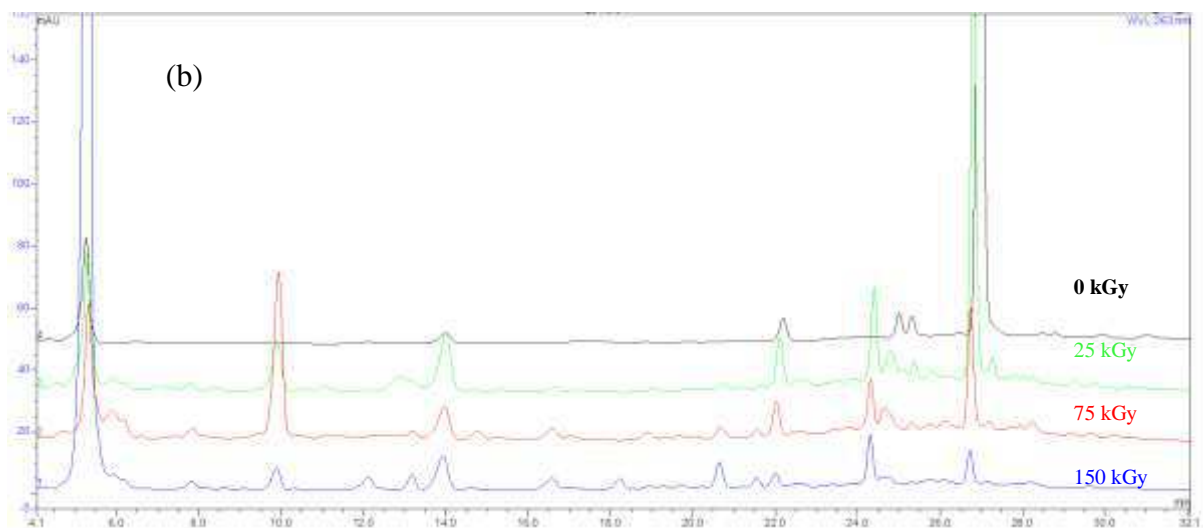
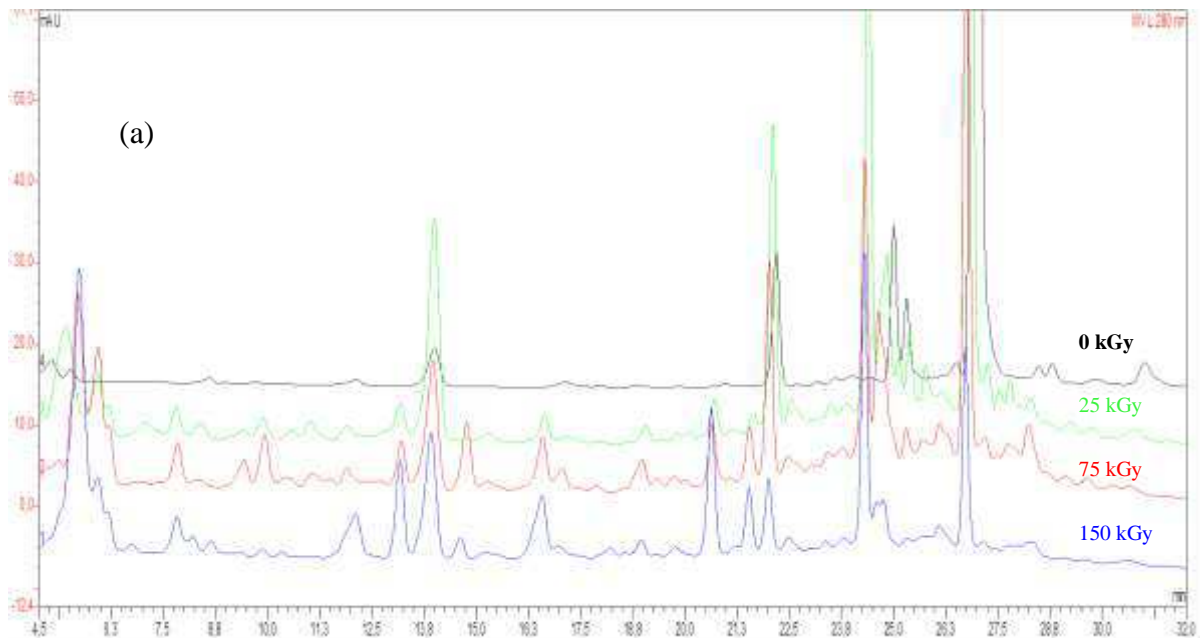


Figure 87: Chromatogrammes RP-CLHP des extraits des granules de COC D non irradié et irradiés à 25, 75 et 150 kGy. La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes réglé aux longueurs d'ondes de a) 280nm b) 263nm

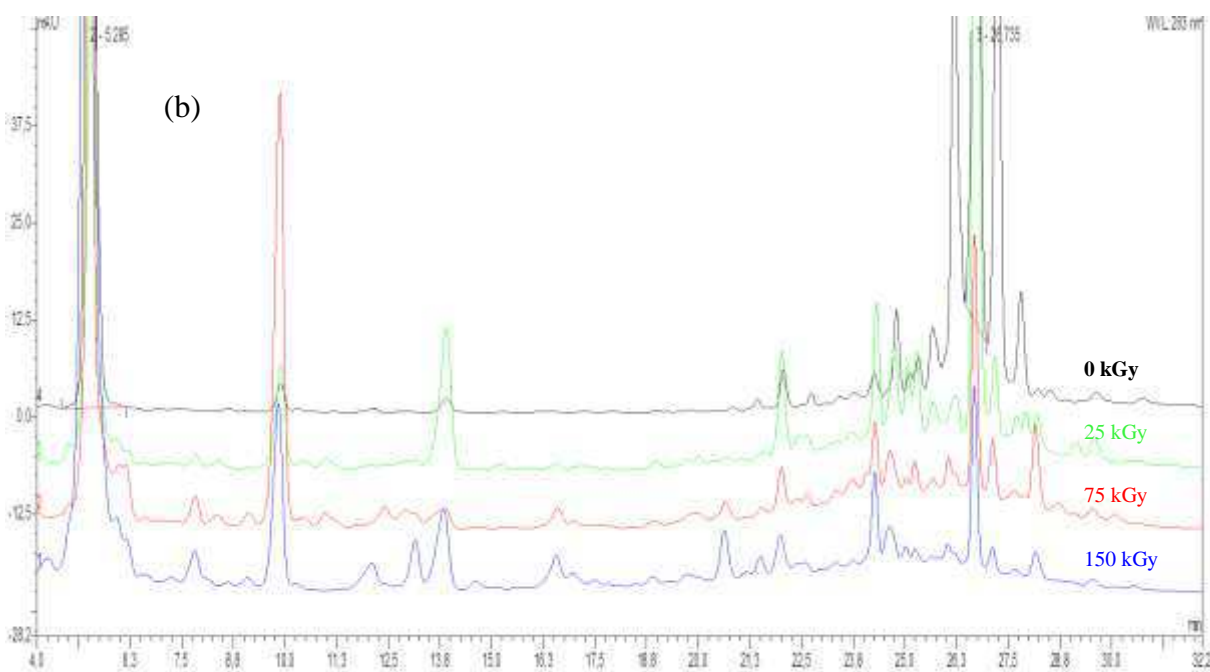
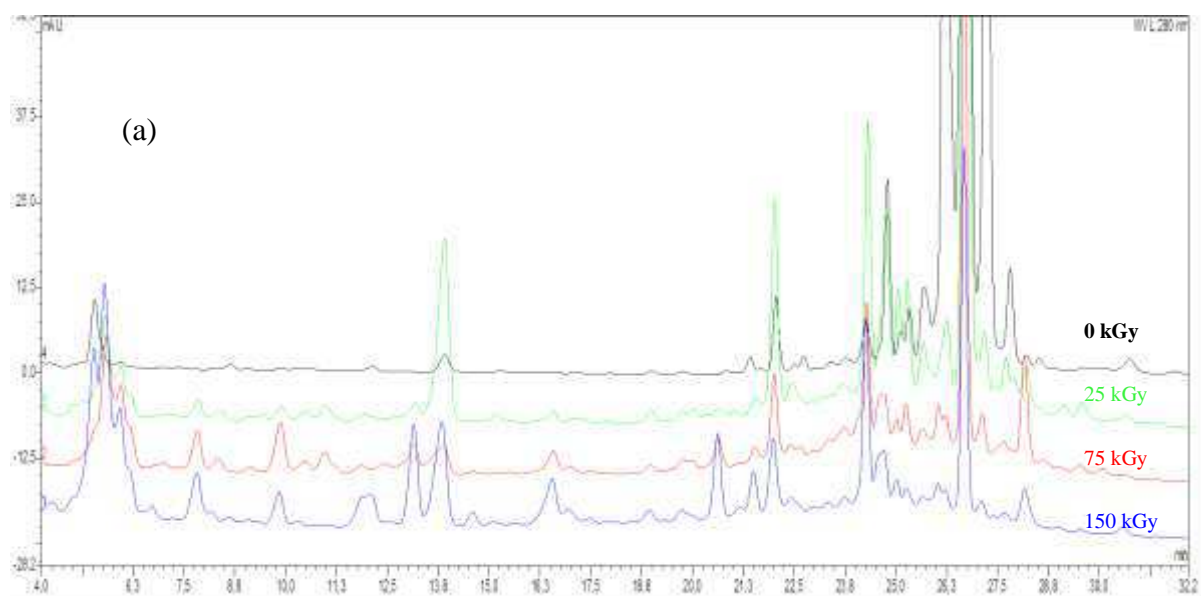


Figure 88: Chromatogrammes RP-CLHP des extraits des granules de COC T non irradié et irradiés à 25, 75 et 150 kGy. La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes réglé aux longueurs d'ondes de a) 280nm b) 263nm

Annexe 7 : Etude de la sorption du diazépam

Une gamme de diazépam dans une solution de NaCl a été préparée et analysée en UV. L'absorbance obtenue a été mesurée pour chaque solution et les résultats obtenus sont présentés en Tableau 18.

Concentration µg/mL	Absorbance en UV à 316 nm			Moyenne	Ecart- type
	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3		
40	0.151	0.152	0.153	0.152	0.0013
20	0.077	0.078	0.078	0.078	0.0001
15	0.062	0.063	0.063	0.063	0.0007
10	0.039	0.038	0.039	0.039	0.00002
8	0.032	0.032	0.033	0.032	0.0004
5	0.020	0.020	0.020	0.020	0.00004
2.5	0.009	0.009	0.010	0.0096	0.0005
1	0.0032	0.0031	0.0033	0.0032	0.0001
0.5	0.0017	0.0013	0.002	0.0016	0.0003
0.25	0.00076	0.00063	0.0009	0.00076	0.0001

Tableau 18: Gamme d'étalonnage du diazépam.

La courbe d'étalonnage correspondant à cette gamme est présentée en Figure 89.

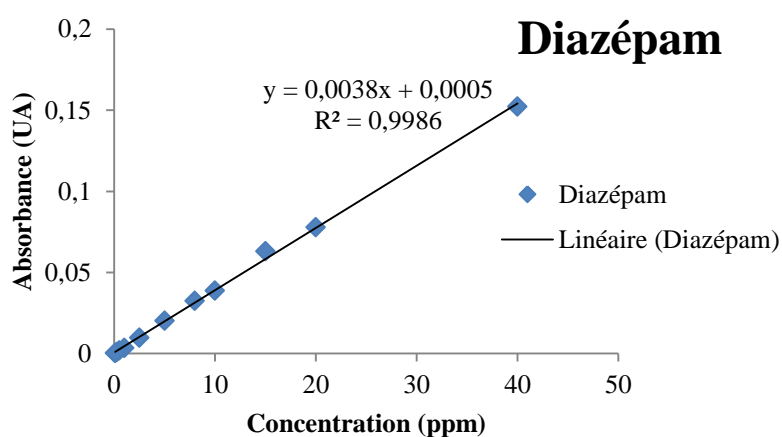


Figure 89: Courbe d'étalonnage du diazépam dans le NaCl.

Les limites de détection et de quantification ont été calculées statistiquement et on a obtenu les résultats suivants :

	pende	Ordonnée à l'origine
valeur	0.00383944	0.00053593
écart-type	4.7771E-05	0.00070879
Limite de détection : 3 x s ord. / pente		
LD= 0.6 ppm		
Limite de quantification : 10 x s ord. / pente		
LQ=1.8 ppm		

A partir de cette gamme, il est possible de calculer la concentration d'une solution dont l'absorbance est connue selon la loi Beer Lambert :

$$A = \epsilon \times I \times C$$

A est l'absorbance mesurée par UV, ϵ est l'absorptivité spécifique du diazépam ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), I est l'épaisseur de l'échantillon analysée (cm) et C est la concentration de la solution ($\text{ppm} = \mu\text{g}/\text{mL} = \mu\text{g}/\text{cm}^3$).

Ainsi, la concentration et la masse de diazépam restant dans la solution stocké avec le PVC, ainsi que la masse relative de diazépam par rapport à la masse initiale (400 μg), ont été calculés. Les résultats obtenus sont présentés dans Tableau 19.

Temps de stockage dans le PVC	Absorbance			moyenne	écart type	concentration (ppm= $\mu\text{g}/\text{mL}$)	Masse de diazépam dans la solution (μg)	masse relative (%)
	Rep 1	Rep 2	Rep 3					
0	0.151	0.152	0.153	0.152	0.0017	39.90	399	99.75
1	0.123	0.124	0.123	0.123	0.0005	32.32	323.15	80.79
2	0.106	0.108	0.107	0.107	0.0008	28.05	280.53	70.13
6	0.082	0.082	0.082	0.0823	0.0002	21.52	215.21	53.80
8	0.083	0.082	0.083	0.083	0.0004	21.70	216.96	54.24
24	0.054	0.054	0.055	0.054	0.0003	14.17	141.71	35.43
48	0.025	0.025	0.025	0.025	0.0002	6.40	64.04	16.01

Tableau 19: Pourcentage de diazépam restant dans la solution après stockage 48 heures avec le PVC.

Afin de calculer la masse de diazépam sur et/ou dans le film de PVC, nous avons calculé un nouvel ϵ propre au diazépam dans une solution de PVC réalisée dans le THF. En effet, la nature de la solution semble modifier l'absorption du diazépam : par exemple la longueur d'onde spécifique pour le diazépam est à 316 nm dans la solution de NaCl et à 321 nm dans la solution de film dissout ou dans le film solide. Pour cela, nous avons préparé une autre gamme de diazépam dans une solution de THF contenant le PVC dissout et les solutions obtenues ont été ensuite analysées en UV. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 20.

Concentration $\mu\text{g/mL}$	Absorbance en UV à 321 nm			Moyenne	Ecart-type
	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3		
40	0.124	0.126	0.126	0.125	0.0017
20	0.062	0.063	0.062	0.062	0.0005
10	0.030	0.032	0.032	0.031	0.0006
5	0.017	0.016	0.017	0.016	0.0006
2.5	0.008	0.008	0.008	0.008	0.0002
1	0.003	0.004	0.003	0.003	0.0004
0.5	0.0016	0.0005	0.0010	0.0010	0.0005

Tableau 20 : Gamme d'étalonnage du diazépam dans le THF et le PVC.

La courbe d'étalonnage correspondant à cette gamme est présentée en Figure 89.

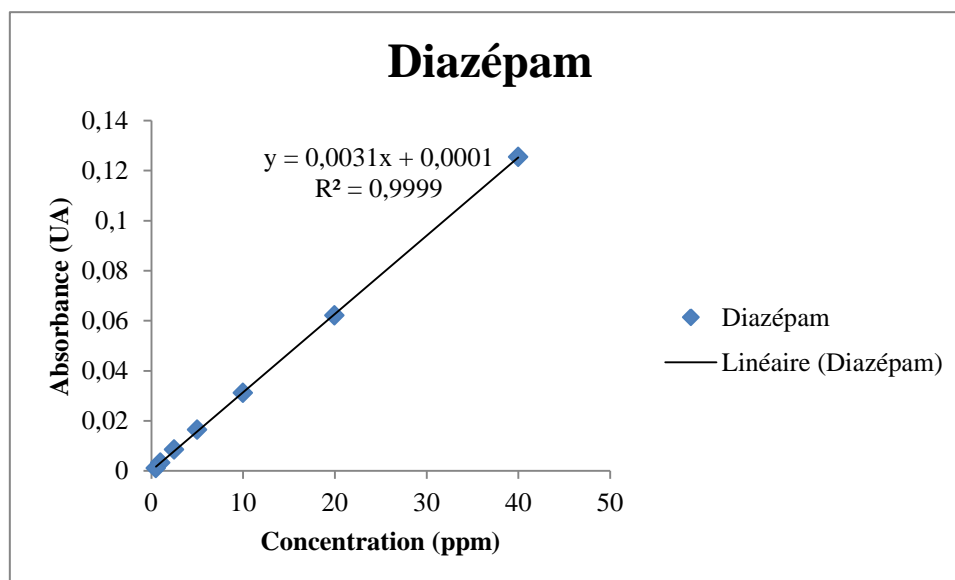


Figure 90: Courbe d'étalonnage du diazépam dans le THF et le PVC.

A partir de cette courbe, on détermine un nouvel ε égal à 0.0031, qui permet de calculer la concentration et la masse de diazépam dans le film solide ou dissout. Les résultats présentés dans les deux tableaux suivants ont été obtenus (Tableau 21, Tableau 22).

Temps de stockage dans le PVC	REP 1	REP2	Moyenne	Ecart type	concentration ($\mu\text{g/mL}$)	masse de diazépam (μg)	masse relatif
1	0.028	0.025	0.026	0.0021	8.38	83.76	20.94
2	0.038	0.039	0.038	0.0002	12.28	122.83	30.71
6	0.060	0.059	0.060	0.0007	19.11	191.11	47.78
8	0.060	0.061	0.061	0.0008	19.48	194.83	48.71
24	0.078	0.075	0.078	0.003	24.90	249.01	62.25
48	0.120	0.120	0.1020	4.6E-06	35.29	352.93	88.23

Tableau 21: Pourcentage de diazépam présent dans le film PVC après stockage 48 heures (cas du film PVC dissout dans 10 mL de THF).

Temps de stockage dans le PVC	REP 1	REP2	moyenne	écart type	concentration ($\mu\text{g/mL}$)	masse de diazépam (μg)	masse relatif
1	0.027	0.021	0.024	0.0047	226.39	69.28	17.32
2	0.033	0.032	0.033	0.0009	309.50	94.71	23.68
6	0.049	0.068	0.059	0.014	556.80	170.38	42.59
8	0.061	0.054	0.057	0.0044	546.23	167.15	41.79
24	0.085	0.073	0.079	0.0085	753.06	230.44	57.61
48	0.130	0.094	0.112	0.0251	1063.64	325.47	81.37

Tableau 22 : Pourcentage de diazépam présent dans le film PVC après stockage 48 heures (cas du film PVC solide).

A partir de cette nouvelle valeur de ε (0.0031), nous avons calculé les valeurs correspondant au diazépam restant dans les solutions de désorption et dans les films désorbés.

Références bibliographiques

1. P. Breitburd, M.H., *Place des matières plastiques à usage médico-chirurgical*, in *LES MATIERES PLASTIQUES A USAGE PHARMACEUTIQUES*, E. POSTAIRE, Editor. 1991, Editions Médicales Internationales: Cachan. p. 4-10.
2. (sterilization), *European Pharmacopoeia*. Vol. 7th edition - 01/2008:50101. 2011, Strasbourg, France: Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare of the Council of Europe (EDQM).
3. Arthur W. Anderson, W., Del., Nicolas G. Merckling, , *NOUVEL POLYMER OF ETHYLENE AND BICYCLO-(2.2.1)-2-HEPTENES*, in *United states Patent Office*. 1657.
4. Yamazaki, M., *Industrialization and application development of cyclo-olefin polymer*. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2004. **213**(1): p. 81-87.
5. Kaminsky, W., A. Bark, and M. Arndt, *New polymers by homogenous zirconocene/aluminoxane catalysts*. *Makromolekulare Chemie. Macromolecular Symposia*, 1991. **47**(1): p. 83-93.
6. Kaminsky, W. and R. Spiehl, *Copolymerization of cycloalkenes with ethylene in presence of chiral zirconocene catalysts*. *Die Makromolekulare Chemie*, 1989. **190**(3): p. 515-526.
7. Ruchatz, D. and G. Fink, *Ethene Norbornene Copolymerization with Homogeneous Metallocene and Half-Sandwich Catalysts: Kinetics and Relationships between Catalyst Structure and Polymer Structure. 4. Development of Molecular Weights*. *Macromolecules*, 1998. **31**(15): p. 4684-4686.
8. Ruchatz, D. and G. Fink, *Ethene Norbornene Copolymerization Using Homogenous Metallocene and Half-Sandwich Catalysts: Kinetics and Relationships between Catalyst Structure and Polymer Structure. 1. Kinetics of the Ethene Norbornene Copolymerization Using the [(Isopropylidene)(\hat{I} -5-inden-1-ylidene- \hat{I} -5-cyclopentadienyl)]zirconium Dichloride/Methylaluminoxane Catalyst*. *Macromolecules*, 1998. **31**(15): p. 4669-4673.
9. Ruchatz, D. and G. Fink, *Ethene Norbornene Copolymerization Using Homogenous Metallocene and Half-Sandwich Catalysts: Kinetics and Relationships between Catalyst Structure and Polymer Structure. 2. Comparative Study of Different Metallocene- and Half-Sandwich/Methylaluminoxane Catalysts and Analysis of the Copolymers by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. *Macromolecules*, 1998. **31**(15): p. 4674-4680.
10. Ruchatz, D. and G. Fink, *Ethene Norbornene Copolymerization with Homogenous Metallocene and Half-Sandwich Catalysts: Kinetics and Relationships between Catalyst Structure and Polymer Structure. 3. Copolymerization Parameters and Copolymerization Diagrams*. *Macromolecules*, 1998. **31**(15): p. 4681-4683.
11. Scrivani, T., R. Benavente, E. Pérez, and J.M. Pereña, *Stress-Strain Behaviour, Microhardness, and Dynamic Mechanical Properties of a Series of Ethylene-Norbornene Copolymers*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2001. **202**(12): p. 2547-2553.
12. Thorshaug, K., R. Mendichi, L. Boggioni, I. Tritto, S. Trinkle, C. Friedrich, and R. Malhaupt, *Poly(ethene-co-norbornene) Obtained with a Constrained Geometry Catalyst. A Study of Reaction Kinetics and Copolymer Properties*. *Macromolecules*, 2002. **35**(8): p. 2903-2911.
13. Tritto, I., L. Boggioni, and D.R. Ferro, *Alternating Isotactic Ethylene Norbornene Copolymers by C₁-Symmetric Metallocenes: Determination of the Copolymerization Parameters and Mechanistic Considerations on the Basis of Pentad Analysis*. *Macromolecules*, 2004. **37**(26): p. 9681-9693.
14. Kiesewetter, J., B. Arikan, and W. Kaminsky, *Copolymerization of ethene with norbornene using palladium(II) [alpha]-diimine catalysts: Influence of feed composition, polymerization temperature, and ligand structure on copolymer properties and microstructure*. *Polymer*, 2006. **47**(10): p. 3302-3314.
15. Shin, J.Y., J.Y. Park, C. Liu, J. He, and S.C. Kim, *Chemical structure and physical properties of cyclic olefin copolymers*. *International Union of Pure and Applied Chemistry*, 2005. **77**(5): p. 801-814.
16. Yao, Z., F. Lv, S.-J. Liu, and K. Cao, *Synthesis of ethylene and norbornene copolymer with metallocene catalysts and characteristic analysis*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2008. **107**(1): p. 286-291.

17. Rische, T., A.J. Waddon, L.C. Dickinson, and W.J. MacKnight, *Microstructure and Morphology of Cycloolefin Copolymers*. *Macromolecules*, 1998. **31**(6): p. 1871-1874.
18. Kaminsky, W., *New polyolefins by metallocen catalysts*. *International Union of Pure and Applied Chemistry*, 1998. **70**(6): p. 1229-1233.
19. Kaminsky, W., *The discovery of metallocene catalysts and their present state of the art*. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2004. **42**(16): p. 3911-3921.
20. Tritto, I., L. Boggioni, M.C. Sacchi, P. Locatelli, and D.R. Ferro, *On the ethylene-norbornene copolymerization mechanism*. *Macromolecular Symposia*, 2004. **213**(1): p. 109-122.
21. Tritto, I., C. Marestin, L. Boggioni, M.C. Sacchi, H.-H. Brintzinger, and D.R. Ferro, *Stereoregular and Stereoirregular Alternating Ethylene-Norbornene Copolymers*. *Macromolecules* 2001. **34**(17): p. 5770-5777.
22. Arndt-Rosenau, M. and I. Beulich, *Microstructure of Ethene/Norbornene Copolymers†*. *Macromolecules*, 1999. **32**(22): p. 7335-7343.
23. Tritto, I., L. Boggioni, J.C. Jansen, K. Thorshaug, M.C. Sacchi, and D.R. Ferro, *Ethylene-Norbornene Copolymers from Metallocene-Based Catalysts: Microstructure at Tetrad Level and Reactivity Ratios*. *Macromolecules*, 2001. **35**(3): p. 616-623.
24. Tritto, I., L. Boggioni, C. Zampa, and D.R. Ferro, *Ethylene-Norbornene Copolymers by Cs-Symmetric Metallocenes: Determination of the Copolymerization Parameters and Mechanistic Considerations on the Basis of Tetrad Analysis*. *Macromolecules*, 2005. **38**(24): p. 9910-9919.
25. Tritto, I., C. Marestin, L. Boggioni, L. Zetta, A. Provasoli, and D.R. Ferro, *Ethylene-Norbornene Copolymer Microstructure. Assessment and Advances Based on Assignments of ¹³C NMR Spectra†*. *Macromolecules*, 2000. **33**(24): p. 8931-8944.
26. Thorshaug, K., R. Mendichi, L. Boggioni, I. Tritto, S. Trinkle, C. Friedrich, and R. Mülhaupt, *Poly(ethene-co-norbornene) Obtained with a Constrained Geometry Catalyst. A Study of Reaction Kinetics and Copolymer Properties*. *Macromolecules*, 2002. **35**(8): p. 2903-2911.
27. Arndt, M. and I. Beulich, *C1-symmetric metallocenes for olefin polymerisation, 1. Catalytic performance of [Me₂C(3-tertBuCp)(Flu)]ZrCl₂ in ethene/norbornene copolymerisation*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1998. **199**(6): p. 1221-1232.
28. Benedikt, G.M., E. Elce, B.L. Goodall, H.A. Kalamarides, L.H. McIntosh, L.F. Rhodes, K.T. Selvy, C. Andes, K. Oyler, and A. Sen, *Copolymerization of Ethene with Norbornene Derivatives Using Neutral Nickel Catalysts*. *Macromolecules*, 2002. **35**(24): p. 8978-8988.
29. Forsyth, J.F., T. Scrivani, R. Benavente, C. Marestin, and J.M. Pereña, *Thermal and dynamic mechanical behavior of ethylene/norbornene copolymers with medium norbornene contents*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2001. **82**(9): p. 2159-2165.
30. Brauer, E., C. Wild, and H. Wiegleb, *Characterization of ethylene homo- and copolymers*. *Polymer Bulletin*, 1987. **18**(1): p. 73-80.
31. Harrington, B.A. and D.J. Crowther, *Stereoregular, alternating ethylene-norbornene copolymers from monocyclopentadienyl catalysts activated with non-coordinating discrete anions*. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 1998. **128**(1-3): p. 79-84.
32. Wang, Q., J. Weng, Z. Fan, and L. Feng, *Influence of mixed aluminoxane systems on ethylenenorbornene copolymerization catalyzed by metallocene*. *Macromolecular Rapid Communications*, 1997. **18**(12): p. 1101-1107.
33. Forsyth, J., J.M. Pereña, R. Benavente, E. Pérez, I. Tritto, L. Boggioni, and H.-H. Brintzinger, *Influence of the Polymer Microstructure on the Thermal Properties of Cycloolefin Copolymers with High Norbornene Contents*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2001. **202**(5): p. 614-620.
34. Park, S.Y., K.Y. Choi, K.H. Song, and B.G. Jeong, *Kinetic Modeling of Ethylene-Norbornene Copolymerization Using Homogeneous Metallocene Catalysts*. *Macromolecules*, 2003. **36**(11): p. 4216-4225.
35. Kaminsky, W., P.-D. Tran, and R. Werner, *New polymers by copolymerization of ethylene and norbornene with metallocene catalysts*. *Macromolecular Symposia*, 2004. **213**(1): p. 101-108.

36. Sagar Makwana, B.B., Yogita Makasana, Abhay Dharamasi, *Prefilled syringes: An innovation in parenteral packaging*. International Journal OF Pharmaceutical Investigation, 2011. **1**(4): p. 200-206.
37. SCHOTT. *Prefillable polymer syringes – SCHOTT TopPac®*. © 2012 avril 2012]; Available from: http://www.schott.com/pharmaceutical_packaging/english/products/syringes/polymer_syringe_s.html?so=france&lang=french.
38. Polin, J.B. *PARENTERALS: Injecting Excitement into Parenteral Drug Packaging*. 2005; Available from: <http://www.pmpnews.com/article/parenterals-injecting-excitement-parenteral-drug-packaging>.
39. West Pharmaceutical Services, I. *West Prefillable Syringe Solutions for Pharmaceutical and Biopharmaceutical Applications*.; Available from: <http://www.westpfssolutions.com/en/prefsys/Pages/PFSPlasticBasedSystems.aspx>.
40. Topas. *Plas-Tech Engineering Uses TOPAS Cyclic Olefin Copolymer to replace Glass in Prefilled Syringes*. 2010 AVRIL 2012; Available from: <http://www.topas.com/index/contact/read-news.htm?id=6235>.
41. by Kurt Trombley and Becky Frayer, P.G.P.I., and Ekkehard Beer and Stephen Drost, Ticona. *The Benefits of Cyclic Olefin Copolymer*. 2004; Available from: <http://www.pmpnews.com/article/benefits-cyclic-olefin-copolymer>.
42. Topas. *Advanced Biomaterial Systems Selects TOPAS® COC in Biomaterial Delivery Device to Gain Clarity, Chemical Resistance*. 2007; Available from: <http://www.topas-us.com/media/news/advbio.htm>.
43. Petrtyl, M., Z. Bastl, Z. Krulis, H. Hulejova, M. Polanska, J. Lisal, J. Danesova, and P. Cerny, *Cycloolefin-Copolymer/Polyethylene (COC/PE) Blend Assists with the Creation of New Articular Cartilage*. Macromolecular Symposia, 2010. **294**(1): p. 120-132.
44. Topas. *TAH MiniMix™ Dispensing Systems Rely on TOPAS®* 2007; Available from: <http://www.topas-us.com/media/enewsletter/200710NA.htm#TAH>.
45. Ticona. *Topas® COC Replaces Glass in BD Tuberculosis Diagnostic Tube; COC Chosen Over Polycarbonate to Gain Moisture Barrier*. 2001; Available from: <http://www.topas-us.com/Media/news/mgit.pdf>.
46. Ticona. *Microfluidics Made Easy with Hi-Tech COC Polymer from Ticona*. 2005; Available from: <http://www.topas-us.com/Media/news/thinxs.pdf>.
47. Lamonte, R. *microPEP Molds Microwell Array with TOPAS® COC*. 2009; Available from: <http://www.topas-us.com/media/news/micropep.pdf>.
48. Jenke, D., *Evaluation of the chemical compatibility of plastic contact materials and pharmaceutical products; safety considerations related to extractables and leachables*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2007. **96**(10): p. 2566-2581.
49. Kowaluk, E., M. Roberts, H. Blackburn, and A. Polack, *Interactions between drugs and polyvinyl chloride infusion bags*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1981. **38**(9): p. 1308-1314.
50. Kowaluk, E., M. Roberts, and A. Polack, *Interactions between drugs and intravenous delivery systems*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1982. **39**(3): p. 460-467.
51. Martens, H., P. De Goede, and A. Van Loenen, *Sorption of various drugs in polyvinyl chloride, glass, and polyethylene-lined infusion containers*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1990. **47**(2): p. 369-373.
52. McNiff, B., E. McNiff, and H. Fung, *Potency and stability of extemporaneous nitroglycerin infusions*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1979. **36**(2): p. 173-177.
53. Mizutani, T. and A. Mizutani, *Estimation of adsorption of drugs and proteins on glass surfaces with controlled pore glass as a reference*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1978. **67**(8): p. 1102-1105.

54. Salomies, H.E.M., R.M. Heinonen, and M.A.I. Toppila, *Sorptive loss of diazepam, nitroglycerin and warfarin sodium to polypropylene-lined infusion bags (Softbags)*. International Journal of Pharmaceutics, 1994. **110**(2): p. 197-201.
55. Smith, J.C., M.C. Davies, C.D. Melia, S.P. Denyer, and M.R. Derrick, *Uptake of drugs by catheters: the influence of the drug molecule on sorption by polyurethane catheters*. Biomaterials, 1996. **17**(15): p. 1469-1472.
56. Tchiakpé, L., C.B. Airaud, A. Ould Mohamed, A. Gayte-Sorbier, M. Verdier, and J. Guerri, *Stedim 6® and Clearflex®, two new multilayer materials for infusion containers. Comparative study of their compatibility with five drugs versus glass flasks and polyvinyl chloride bags*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 1996. **7**(3): p. 199-206.
57. Tol, A., R.F.P. Quik, and J.H.H. Thyssen, *Adsorption of human and porcine insulins to intravenous administration sets*. Pharmacy World & Science, 1988. **10**(5): p. 213-216.
58. Twardowski, Z., K. Nolph, T. McGary, and H. Moore, *Influence of temperature and time on insulin adsorption to plastic bags*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1983. **40**(4): p. 583-586.
59. Twardowski, Z., K. Nolph, T. McGary, H. Moore, P. Collin, R. Ausman, and W. Slimack, *Insulin binding to plastic bags: a methodologic study*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1983. **40**(4): p. 575-579.
60. Ung, J., M. Hu, T. Hagerup, and R.K. Campbell, *Lispro Insulin: Adsorption and Stability in Selected Intravenous Devices*. The Diabetes Educator, 1999. **25**(2): p. 237-245.
61. Wong, M., R. Marion, K. Reed, and Y. Wang, *Sorption of unoprostone isopropyl to packaging materials*. International Journal of Pharmaceutics, 2006. **307**(2): p. 163-167.
62. Yliruusi, J., A. Sothmann, R. Laine, R. Rajasilta, and E. Kristoffersson, *Sorptive loss of diazepam and nitroglycerin from solutions to three types of containers*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1982. **39**(6): p. 1018-1021.
63. Crank, J., *The Mathematics of Diffusion*. Clarendon Press, Oxford, 1975. **2nd ed.**
64. Comyn, J., *Polymer Permeability*. Amsterdam: Elsevier, 1985.
65. Neogy, P., *Diffusion in Polymer*. Marcel Dekker, 1996.
66. Sarbach, C., N. Yagoubi, J. Sauzieres, C. Renaux, D. Ferrier, and E. Postaire, *Migration of impurities from a multilayer plastics container into a parenteral infusion fluid*. International Journal of Pharmaceutics, 1996. **140**(2): p. 169-174.
67. Ulsaker, G.A. and G. Teien, *Identification of caprolactam as a potential contaminant in parenteral solutions stored in overwrapped PVC bags*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1992. **10**(1): p. 77-80.
68. Félix, J., M. Monteiro, J. Manzoli, M. Padula, D. Pezo, J. Romero, and C. Nerín, *Identification and migration of degradation compounds from irradiation of multilayer polyamide 6 films for meat foodstuffs and cheese*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008. **391**(3): p. 847-857.
69. European Commission (2002) Off J Eur Community L220/18.
70. Lawson, G., C.T. Barkby, and C. Lawson, *Contaminant migration from food packaging laminates used for heat and eat meals*. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 1996. **354**(4): p. 483-489.
71. Zygoura, P.D., E.K. Paleologos, K.A. Riganakos, and M.G. Kontominas, *Determination of diethylhexyladipate and acetyltributylcitrate in aqueous extracts after cloud point extraction coupled with microwave assisted back extraction and gas chromatographic separation*. Journal of Chromatography A, 2005. **1093**(1-2): p. 29-35.
72. Yagoubi, N., A. Baillet, C. Mur, and D. Baylocq-Ferrier, *Determination of phenolic antioxidants in pharmaceutical formulations by liquid chromatography and migration study on HDPE packagings*. Chromatographia, 1993. **35**(7): p. 455-458.
73. Allen, D.W., M.R. Clench, A. Crowson, and D.A. Leathard, *Identification by particle-beam liquid chromatography-mass spectrometry of transformation products of the antioxidant Irganox 1330 in food-contact polymers subjected to electron-beam irradiation*. Journal of Chromatography A, 1993. **629**(2): p. 283-290.

74. Goulas, A.E., P. Zygoura, A. Karatapanis, D. Georgantelis, and M.G. Kontominas, *Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study*. Food and Chemical Toxicology, 2007. **45**(4): p. 585-591.
75. Schwope, A.D., D.E. Till, D.J. Ehntholt, K.R. Sidman, R.H. Whelan, P.S. Schwartz, and R.C. Reid, *Migration of Irganox 1010 from ethylene-vinyl acetate films to foods and food-simulating liquids*. Food and Chemical Toxicology, 1987. **25**(4): p. 327-330.
76. Hanawa, T., N. Endoh, F. Kazuno, M. Suzuki, D. Kobayashi, M. Tanaka, K. Kawano, Y. Morimoto, S.i. Nakajima, and T. Oguchi, *Investigation of the release behavior of diethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride tubing for intravenous administration based on HCO60*. International Journal of Pharmaceutics, 2003. **267**(1-2): p. 141-149.
77. Hill, S.S., B.R. Shaw, and A.H.B. Wu, *The clinical effects of plasticizers, antioxidants, and other contaminants in medical polyvinylchloride tubing during respiratory and non-respiratory exposure*. Clinica Chimica Acta, 2001. **304**(1-2): p. 1-8.
78. Latini, G., *Potential Hazards of Exposure to Di-(2-Ethylhexyl)-Phthalate in Babies*. Neonatology, 2000. **78**(4): p. 269-276.
79. Tickner, J.A., T. Schettler, T. Guidotti, M. McCally, and M. Rossi, *Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: A critical review*. American Journal of Industrial Medicine, 2001. **39**(1): p. 100-111.
80. Kevy, S.V. and M.S. Jacobson, *Hepatic effects of a phthalate ester plasticizer leached from poly(vinyl chloride) blood bags following transfusion*. Environ Health Perspect, 1982. **45**: p. 57-64.
81. Singh, A.R., W.H. Lawrence, and J. Autian, *Embryonic-Fetal Toxicity and Teratogenic Effects of a Group of Methacrylate Esters in Rats*. Journal of Dental Research, 1972. **51**(6): p. 1632-1638.
82. Allwood, M.C., *The release of phthallate ester plasticizer from intravenous administration sets into fat emulsion*. International Journal of Pharmaceutics, 1986. **29**(2-3): p. 233-236.
83. Faouzi, M.E.A., T. Dine, M. Luyckx, C. Brunet, M.-L. Mallevais, F. Goudaliez, B. Gressier, M. Cazin, J. Kablan, and J.C. Cazin, *Stability, compatibility and plasticizer extraction of miconazole injection added to infusion solutions and stored in PVC containers*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1995. **13**(11): p. 1363-1372.
84. Faouzi, M.A., T. Dine, M. Luyckx, B. Gressier, F. Goudaliez, M.L. Mallevais, C. Brunet, M. Cazin, and J.C. Cazin, *Leaching of diethylhexyl phthalate from PVC bags into intravenous teniposide solution*. International Journal of Pharmaceutics, 1994. **105**(1): p. 89-93.
85. Arbin, A., S. Jacobsson, K. Hänninen, A. Hagman, and J. Östelius, *Studies on contamination of intravenous solutions from PVC-bags with dynamic headspace GC-MS and LC-diode array techniques*. International Journal of Pharmaceutics, 1986. **28**(2-3): p. 211-218.
86. Lickly TD, Bell CD, and L. KM, *The migration of Irganox 1010 antioxidant from high-density polyethylene and polypropylene into a series of potential fatty-food simulants*. Food Addit Contam, 1990. **7**(6): p. 805-14.
87. Bourges, F., G. Bureau, and B. Pascat, *Effects of electron beam irradiation on the migration of antioxidants and their degradation products from commercial polypropylene into food simulating liquids*. Food Addit Contam, 1993. **10**(4): p. 443-52.
88. Schwope, A.D., D.E. Till, D.J. Ehntholt, K.R. Sidman, R.H. Whelan, P.S. Schwartz, and R.C. Reid, *Migration of BHT and Irganox 1010 from low-density polyethylene (LDPE) to foods and food-simulating liquids*. Food and Chemical Toxicology, 1987. **25**(4): p. 317-326.
89. Ferrara, G., M. Bertoldo, M. Scoponi, and F. Ciardelli, *Diffusion coefficient and activation energy of Irganox 1010 in poly(propylene-co-ethylene) copolymers*. Polymer Degradation and Stability, 2001. **73**(3): p. 411-416.
90. Y. Arnaud, A.D., A Mignot, *Interactions matières plastiques/médicaments*, in *LES MATIERES PLASTIQUES A USAGE PHARMACEUTIQUES*, E.POSTAIRE, Editor. 1991, Editions Médicales Internationales: Cachan. p. 308.

91. Trissel, L.A., Q.A. Xu, and M. Baker, *Drug compatibility with new polyolefin infusion solution containers*. American Journal of Health-System Pharmacy, 2006. **63**(23): p. 2379-2382.
92. Mitrano, F. and D. Newton, *Factors affecting insulin adherence to type I glass bottles*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1982. **39**(9): p. 1491-1495.
93. Wideroe, T.-E., L.C. Smeby, K.J. Berg, S. Jorstad, and T.M. Svartas, *Intraperitoneal (125I) insulin absorption during intermittent and continuous peritoneal dialysis*. Kidney Int, 1983. **23**(1): p. 22-28.
94. Allwood, M.C., *Sorption of drugs to intravenous delivery systems*. Pharmacy International, 1983. **4**: p. 83-85.
95. Hirsch, J., J. Wood, and R. Thomas, *Insulin adsorption to polyolefin infusion bottles and polyvinyl chloride administration sets*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1981. **38**(7): p. 995-997.
96. Hirsch, J., M. Fratkin, J. Wood, and R. Thomas, *Clinical significance of insulin adsorption by polyvinyl chloride infusion systems*. American society of Hospital Pharmacists, 1977. **34**: p. 583-588.
97. Weber, S., W. Wood, and E. Jackson, *Availability of insulin from parenteral nutrient solutions*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1977. **34**(4): p. 353-357.
98. Lundgren, P.G. and L. Landersjö, *INCOMPATIBILITY AND STABILITY PROBLEMS ASSOCIATED WITH INTRAVENOUS ADMIXTURES: A SURVEY*. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 1980. **5**(4): p. 279-297.
99. Hewson, M.P., V. Nawadra, J.R. Oliver, C. Odgers, J.L. Plummer, and K. Simmer, *Insulin infusions in the neonatal unit: Delivery variation due to adsorption*. Journal of Paediatrics and Child Health, 2000. **36**(3): p. 216-220.
100. Christianson, M.A., M.W. Schwartz, and N. Suzuki, *Determinants of Insulin Availability in Parenteral Nutrition Solutions*. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 2006. **30**(1): p. 6-9.
101. Boylan, J., R. Robison, and P. Terrill, *Stability of nitroglycerin solutions in Viaflex plastic containers*. American Journal of Health-System Pharmacy, 1978. **35**(9): p. 1031.
102. Marcato, B., S. Guerra, M. Vianello, and S. Scalia, *Migration of antioxidant additives from various polyolefinic plastics into oleaginous vehicles*. International Journal of Pharmaceutics, 2003. **257**(1-2): p. 217-225.
103. Limam, M., L. Tighzert, F. Fricoteaux, and G. Bureau, *Sorption of organic solvents by packaging materials: polyethylene terephthalate and TOPAS((R))*. Polymer Testing, 2005. **24**(3): p. 395-402.
104. Sammon, C., J. Yarwood, and N. Everall, *A FTIR-ATR study of liquid diffusion processes in PET films: comparison of water with simple alcohols*. Polymer, 2000. **41**(7): p. 2521-2534.
105. Escobal, A., C. Iriondo, and I. Katime, *Organic solvents adsorbed in polymeric films used in food packaging:: Determination by head-space gas chromatography*. Polymer Testing, 1999. **18**(4): p. 249-255.
106. van Lune, F.S., L.M. Nijssen, and J.P.H. Linssen, *Absorption of methanol and toluene by polyester-based bottles*. Packaging Technology and Science, 1997. **10**(4): p. 221-227.
107. Treleano, A., G. Wolz, R. Brandsch, and F. Welle, *Investigation into the sorption of nitroglycerin and diazepam into PVC tubes and alternative tube materials during application*. International Journal of Pharmaceutics, 2009. **369**(1-2): p. 30-37.
108. Tchiakp, L., opold, C.B. Airaud, A. Ould Mohamed, A. Gayte-Sorbier, M. Verdier, and J. Guerri, *Stedim 6 and Clearflex, two new multilayer materials for infusion containers. Comparative study of their compatibility with five drugs versus glass flasks and polyvinyl chloride bags*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 1996. **7**(3): p. 199-206.
109. Földes, E., *Study of the effects influencing additive migration in polymers*. Die Angewandte Makromolekulare Chemie, 1998. **261-262**(1): p. 65-76.

110. Dopico-García, M.S., J.M. López-Vilariño, and M.V. González-Rodríguez, *Determination of antioxidant migration levels from low-density polyethylene films into food simulants*. Journal of Chromatography A, 2003. **1018**(1): p. 53-62.
111. Allwood, M.C. and H. Martin, *The extraction of diethylhexylphthalate (DEHP) from polyvinyl chloride components of intravenous infusion containers and administration sets by paclitaxel injection*. International Journal of Pharmaceutics, 1996. **127**(1): p. 65-71.
112. Faouzi, M.A., F. Khalfi, T. Dine, M. Luyckx, C. Brunet, B. Gressier, F. Goudaliez, M. Cazin, J. Kablan, A. Belabed, and J.C. Cazin, *Stability, compatibility and plasticizer extraction of quinine injection added to infusion solutions and stored in polyvinyl chloride (PVC) containers*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1999. **21**(5): p. 923-930.
113. Charles, B.A., G.-S. André, and B. Christine, *Comparative study of the sorption of clomipramine and viloxazine hydrochlorides in Stedim 6[®] and PVC bags*. Bio-Medical Materials and Engineering, 1998. **8**(5): p. 279-283.
114. Roberts, M.S., P.A. Cossum, E.A. Kowaluk, and A.E. Polack, *Factors affecting the availability of organic nitrates from plastic infusion systems: structure of organic nitrate, nature of plastic and effect of temperature*. International Journal of Pharmaceutics, 1983. **17**(2-3): p. 145-159.
115. Dong, W. and P. Gijsman, *The diffusion and solubility of Irganox® 1098 in polyamide 6*. Polymer Degradation and Stability, 2010. **95**(6): p. 955-959.
116. Hakkarainen, M., *Qualitative and quantitative solid-phase microextraction gas chromatographic-mass spectrometric determination of the low-molecular-mass compounds released from poly(vinyl chloride)/polycaprolactone-polycarbonate during ageing*. Journal of Chromatography A, 2003. **1010**(1): p. 9-16.
117. Ilium, L., H. Bundgaard, and S.S. Davis, *A constant partition model for examining the sorption of drugs by plastic infusion bags*. International Journal of Pharmaceutics, 1983. **17**(2-3): p. 183-192.
118. Zygoura, P.D., E.K. Paleologos, and M.G. Kontominas, *Migration levels of PVC plasticisers: Effect of ionising radiation treatment*. Food Chemistry, 2011. **128**(1): p. 106-113.
119. Mendizabal, E., L. Cruz, C.F. Jasso, G. Burillo, and V.I. Dakin, *Radiation crosslinking of highly plasticized PVC*. Radiation Physics and Chemistry, 1996. **47**(2): p. 305-309.
120. Franz, R. and F. Welle, *Effect of Ionizing Radiation on the Migration Behavior and Sensory Properties of Plastic Packaging Materials*, in *Irradiation of Food and Packaging*. 2004, American Chemical Society. p. 236-261.
121. Marque, D., A. Feigenbaum, D. Dainelli, and A.M. Riquet, *Safety evaluation of an ionized multilayer plastic film used for vacuum cooking and meat preservation*. Food Addit Contam, 1998. **15**(7): p. 831-41.
122. Welle, F., G. Haack, and R. Franz, *Investigation into migrational and sensorial changes of packaging plastics caused by ionising irradiation*. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 2000. **96**(11): p. 423-430.
123. Welle, F., A. Mauer, and R. Franz, *Migration and sensory changes of packaging materials caused by ionising radiation*. Radiation Physics and Chemistry, 2002. **63**(3-6): p. 841-844.
124. Stoffers, N.H., J.P.H. Linssen, R. Franz, and F. Welle, *Migration and sensory evaluation of irradiated polymers*. Radiation Physics and Chemistry, 2004. **71**(1-2): p. 203-206.
125. Jeon, D.H., G.Y. Park, I.S. Kwak, K.H. Lee, and H.J. Park, *Antioxidants and their migration into food simulants on irradiated LLDPE film*. LWT - Food Science and Technology, 2007. **40**(1): p. 151-156.
126. Chytiri, S., A.E. Goulas, A. Badeka, K.A. Riganakos, D. Petridis, and M.G. Kontominas, *Determination of radiolysis products in gamma-irradiated multilayer barrier food packaging films containing a middle layer of recycled LDPE*. Radiation Physics and Chemistry, 2008. **77**(9): p. 1039-1045.
127. Hussein, F. and R. Daniels, *Influence of formulation variables and primary packaging materials on the denaturation and enzymatic activity of lysozyme*. 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 2006.

128. Saunier, J., C.A. Chodur, L. Larbes, O. Mrad, and N. Yagoubi, *Using cycloolefin copolymers as pharmaceutical or cosmetic storage material. I. A study of adjuvant migration and of polymer ageing*. Journal of Applied Polymer Science, 2007. **104**(1): p. 585-593.
129. Ansari, I.A. and A.K. Datta, *An Overview of Sterilization Methods for Packaging Materials Used in Aseptic Packaging Systems*. Food and Bioproducts Processing, 2003. **81**(1): p. 57-65.
130. Haji-Saeid, M., M.H.O. Sampa, and A.G. Chmielewski, *Radiation treatment for sterilization of packaging materials*. Radiation Physics and Chemistry, 2010. **76**(8-9): p. 1535-1541.
131. Morrissey, R.F. and C.M. Herring, *Radiation sterilization: past, present and future*. Radiation Physics and Chemistry, 2002. **63**(3-6): p. 217-221.
132. Woo, L. and C.L. Sandford, *Comparison of electron beam irradiation with gamma processing for medical packaging materials*. Radiation Physics and Chemistry, 2002. **63**(3-6): p. 845-850.
133. Chapiro, A., *Chemical modifications in irradiated polymers*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 1988. **32**(1-4): p. 111-114.
134. Charlesby, A., *Atomic Radiation and Polymers*. International Series of Monographs on Radiation Effects in Materials. 1960: Pergamon Press.
135. Charlesby, A. and N. Moore, *Comparison of gamma and ultra-violet radiation effects in polymethyl methacrylate at higher temperatures*. The International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 1964. **15**(12): p. 703-708.
136. Davenas, J., I. Stevenson, N. Celette, S. Cambon, J.L. Gardette, A. Rivaton, and L. Vignoud, *Stability of polymers under ionising radiation: The many faces of radiation interactions with polymers*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2002. **191**(1-4): p. 653-661.
137. Buchalla, R., C. Schuttler, and K.W. Bogl, *Effects of ionizing radiation on plastic food packaging materials: a review. I. Chemical and physical changes*. Journal of food protection 1993. **56**(11): p. 991-997.
138. Partridge, R.H., *Electron Trapping and Hydrogen-Atom Reactions in Irradiated Polyethylene*. Journal of Chemical Physics, 1970. **52**(3).
139. Goldman, M., R. Gronsky, R. Ranganathan, and L. Pruitt, *The effects of gamma radiation sterilization and ageing on the structure and morphology of medical grade ultra high molecular weight polyethylene*. Polymer, 1996. **37**(14): p. 2909-2913.
140. Streicher, R.M., *Sterilization and long-term aging of medical-grade UHMWPE*. Radiation Physics and Chemistry. **46**(4-6, Part 1): p. 893-896.
141. CAMBON, S., *Etude de mecanisme de degradation radiochimique d'un elastomere de type EPDM*, in *UFR de recherche scientifique et technique 2001*, BLAISE PASCAL: CAEN.
142. Azuma. Keiko, Hirata. Takashi, Tsunoda. Hirota, Ishitani. Takasuke, and Tanaka. Yoshikazu, *Identification of the volatiles from low density polyethylene film irradiated with an electron beam*. Agricultural and biological chemistry 1983. **47**(4): p. 855-860.
143. Rojas Gante, C.D. and B. Pascat, *Effects of B-ionizing radiation on the properties of flexible packaging materials*. Packaging Technology and Science, 1990. **3**(2): p. 97-115.
144. Azuma, K., T. Hirata, T. Ishitani, Y. Tanaka, and H. Tsunoda, *Effects of the conditions for electron beam irradiation on the amounts of volatiles from irradiated polyethylene film*. Agricultural and biological chemistry, 1984. **48**(8): p. 2009-2015.
145. Azuma, K., Y. Tanaka, T. Hirata, T. Ishitani, and H. Tsunoda, *Effects of film variety on the amounts of carboxylic acids from electron beam irradiated polyethylene film*. Agricultural and biological chemistry, 1984. **48**(8): p. 2003-2008.
146. Fintzou, A.T., A.V. Badeka, M.G. Kontominas, and K.A. Riganakos, *Changes in physicochemical and mechanical properties of [gamma]-irradiated polypropylene syringes as a function of irradiation dose*. Radiation Physics and Chemistry, 2006. **75**(1): p. 87-97.
147. Fintzou, A.T., A.V. Badeka, M.G. Kontominas, M.R. Stahl, and K.A. Riganakos, *Changes in physicochemical and mechanical properties of electron-beam irradiated polypropylene syringes as a function of irradiation dose*. Radiation Physics and Chemistry, 2007. **76**(5): p. 841-851.

148. Fintzou, A.T., M.G. Kontominas, A.V. Badeka, M.R. Stahl, and K.A. Riganakos, *Effect of electron-beam and gamma-irradiation on physicochemical and mechanical properties of polypropylene syringes as a function of irradiation dose: Study under vacuum*. Radiation Physics and Chemistry, 2007. **76**(7): p. 1147-1155.
149. Topas, *Topas advanced polymer*. www.topas.com.
150. Reichardt, C., *Solvents and solvent effects in organic chemistry*. Hardcover Updates and Enl ed. 2003: Wiley VCH Verlag GmbH. 653.
151. CEA. *Le microscope à force atomique (AFM), simple et polyvalent*. 2008; Available from: <http://www.cea.fr/technologies/les-microscopes/le-microscope-a-force-atomique-afm-simple-et>.
152. Allen, D.W., M.R. Clench, A. Crowson, D.A. Leathard, and R. Saklatvala, *Characterisation of electron beam generated transformation products of irganox 1010 by particle beam liquid chromatography-mass spectrometry with on-line diode array detection*. Journal of Chromatography A, 1994. **679**(2): p. 285-297.
153. Cerrada, M.L., I. Hermida, R. Benavente, J. Ressia, and E.M. Vallés, *Branching and rheological behavior after electron irradiation in metallocene ethylene-co-norbornene copolymers*. Polymer Testing, 2011. **30**(1): p. 35-42.
154. Šećerov, B., M.T.M. Cincović, S. Popović, Z. Nedić, and Z. Kačarević-popović, *Characterization of Gamma Irradiated Ethylene-Norbornene Copolymer using FTIR, UV-Vis and DSC Techniques*. Polymer Bulletin, 2008. **60**(2): p. 313-322.
155. Kačarević-Popović Zorica M., Š.B., Marinović-Cincović Milena T., Nedić Zoran, Jovanović Slobodan M., *Modification of ethylene-norbornene copolymer by Gamma irradiation*. Hemijska industrija, 2006. **60**: p. 311.
156. Fallgatter, M.B. and M. Dole, *The Radiation Chemistry of Polyethylene. VII. Polyene Formation I*. The Journal of Physical Chemistry, 1964. **68**(7): p. 1988-1997.
157. Nakade, K., Y. Nagai, and F. Ohishi, *Photodegradation of some ethylene-norbornene random copolymers*. Polymer Degradation and Stability, 2010. **95**(12): p. 2654-2658.
158. Saunier, J., C. Aymes Chodur, B. Leclerc, L. Larbes, and N. Yagoubi, *Using COC as pharmaceutical or cosmetic storage material. II. Effect of electron beam radio-sterilization*. Journal of Applied Polymer Science, 2008. **109**(3): p. 1829-1839.
159. Saito, O., *Statistical theories of cross-linking*. The radiation chemistry of macromolecules, ed. M. Dole. Vol. 1. 1972, New York: Academic Press.
160. Yao, Z., S.-j. Liu, F. Lv, and K. Cao, *Determination of Mark-Houwink parameters of ethylene-norbornene copolymers and molecular characteristics estimation*. Journal of Applied Polymer Science, 2008. **109**(6): p. 4010-4014.
161. Allen, D.W., D.A. Leathard, and C. Smith, *The effects of gamma irradiation on the fate of hindered phenol antioxidants in food contact polymers. Analytical and 14C-labelling studies*. International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry, 1991. **38**(5): p. 461-465.
162. Bourges, F., G. Bureau, and B. Pascat, *Effects of electron beam irradiation on commercial polypropylene: Kinetic study of antioxidant degradation*. Packaging Technology and Science, 1992. **5**(4): p. 197-204.
163. Magonov, S.N., V. Elings, and M.H. Whangbo, *Phase imaging and stiffness in tapping-mode atomic force microscopy*. Surface Science, 1997. **375**(2-3): p. L385-L391.
164. Nathawat, R., A. Kumar, N.K. Acharya, and Y.K. Vijay, *XPS and AFM surface study of PMMA irradiated by electron beam*. Surface and Coatings Technology, 2009. **203**(17-18): p. 2600-2604.
165. Nathawat, R., A. Kumar, V. Kulshrestha, M. Singh, V. Ganesan, D.M. Phase, and Y.K. Vijay, *Surface modification study of low energy electron beam irradiated polycarbonate film*. Applied Surface Science, 2007. **253**(14): p. 5985-5991.
166. Güven, O., A. Alacakir, and E. Tan, *An atomic force microscopic study of the surfaces of polyethylene and polycarbonate films irradiated with gamma rays*. Radiation Physics and Chemistry, 1997. **50**(2): p. 165-170.

167. Švorčík, V., E. Arenholz, V. Hnatowicz, V. Rybka, R. Öchsner, and H. Ryssel, *AFM surface investigation of polyethylene modified by ion bombardment*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 1998. **142**(3): p. 349-354.
168. Roy, S., C.Y. Yue, Y.C. Lam, Z.Y. Wang, and H. Hu, *Surface analysis, hydrophilic enhancement, ageing behavior and flow in plasma modified cyclic olefin copolymer (COC)-based microfluidic devices*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2010. **150**(2): p. 537-549.
169. Bhattacharyya, A., Klapperich, C.M., *Mechanical and chemical analysis of plasma and ultraviolet-ozone- surface treatments for thermal bonding of polymeric microfluidic devices*, in *The Royal Society of Chemistry*. 2007. p. 876-882.
170. Hwang, S.-J., M.-C. Tseng, J.-R. Shu, and H. Her Yu, *Surface modification of cyclic olefin copolymer substrate by oxygen plasma treatment*. Surface and Coatings Technology, 2008. **202**(15): p. 3669-3674.
171. Nikolova, D., E. Dayss, G. Leps, and A. Wutzler, *Surface modification of cycloolefinic copolymers for optimization of the adhesion to metals*. Surface and Interface Analysis, 2004. **36**(8): p. 689-693.
172. Pireaux, J.J., R. de Meulemeester, E.M. Roberfroid, C. Grégoire, M. Chtaïb, Y. Novis, J. Riga, and R. Caudano, *Excimer laser ($\lambda = 193$ nm) versus Al K α X-ray damages on polymer surfaces: an XPS (core and valence levels) analysis of polytetrafluoroethylene, polypropylene and polyethylene*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 1995. **105**(1-4): p. 186-191.
173. Majumder, P.S. and A.K. Bhowmick, *Surface-and bulk-properties of EPDM rubber modified by electron beam irradiation*. Radiation Physics and Chemistry, 1999. **53**(1): p. 63-78.
174. Żenkiewicz, M., M. Rauchfleisz, J. Czupryńska, J. Polański, T. Karasiewicz, and W. Engelgard, *Effects of electron-beam irradiation on surface oxidation of polymer composites*. Applied Surface Science, 2007. **253**(22): p. 8992-8999.
175. Żenkiewicz, M., M. Rauchfleisz, and J. Czupryńska, *Comparison of some oxidation effects in polyethylene film irradiated with electron beam or gamma rays*. Radiation Physics and Chemistry, 2003. **68**(5): p. 799-809.
176. Wetzel, C., J. Schönfelder, W. Schwarz, and R.H.W. Funk, *Surface modification of polyurethane and silicone for therapeutic medical technics by means of electron beam*. Surface and Coatings Technology, 2010. **205**(5): p. 1618-1623.
177. Pascu, M., C. Vasile, and M. Gheorghiu, *Modification of polymer blend properties by argon plasma/electron beam treatment: surface properties*. Materials Chemistry and Physics, 2003. **80**(2): p. 548-554.
178. Teodoru, S., Y. Kusano, N. Rozlosnik, and P.K. Michelsen, *Continuous Plasma Treatment of Ultra-High-Molecular-Weight Polyethylene (UHMWPE) Fibres for Adhesion Improvement*. Plasma Processes and Polymers, 2009. **6**(S1): p. S375-S381.
179. Földes, E., A. Tóth, E. Kálmán, E. Fekete, and á. Tomasovszky-Bobák, *Surface changes of corona-discharge-treated polyethylene films*. Journal of Applied Polymer Science, 2000. **76**(10): p. 1529-1541.
180. Briggs, D. and N. Fairley, *XPS of chemically modified low-density polyethylene surfaces: observations on curve-fitting the C 1s spectrum*. Surface and Interface Analysis, 2002. **33**(3): p. 283-290.
181. Lesiak, B., J. Zemek, J. Houdkova, P. Jiricek, and A. Jóźwik, *XPS and XAES of polyethylenes aided by line shape analysis: The effect of electron irradiation*. Polymer Degradation and Stability, 2009. **94**(10): p. 1714-1721.
182. Briggs, D., D.M. Brewis, R.H. Dahm, and I.W. Fletcher, *Analysis of the surface chemistry of oxidized polyethylene: comparison of XPS and ToF-SIMS*. Surface and Interface Analysis, 2003. **35**(2): p. 156-167.
183. Beamson, G., D.T. Clark, J. Kendrick, and D. Briggs, *Observation of vibrational asymmetry in the high resolution monochromatized XPS of hydrocarbon polymers*. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 1991. **57**(1): p. 79-90.

184. Briggs, D. and G. Beamson, *XPS studies of the oxygen 1s and 2s levels in a wide range of functional polymers*. Analytical Chemistry, 1993. **65**(11): p. 1517-1523.
185. Briggs, D. and G. Beamson, *Primary and secondary oxygen-induced C1s binding energy shifts in x-ray photoelectron spectroscopy of polymers*. Analytical Chemistry, 1992. **64**(15): p. 1729-1736.
186. Calliari, L., M. Filippi, N. Laidani, G. Gottardi, R. Bartali, V. Micheli, and M. Anderle, *The Role of Hydrogen in the Electronic Structure of Amorphous Carbon: An Electron Spectroscopy Study* Carbon, G. Messina and S. Santangelo, Editors. 2006, Springer Berlin / Heidelberg. p. 447-463.
187. Lee, J.W., T.H. Kim, S.H. Kim, C.Y. Kim, Y.H. Yoon, J.S. Lee, and J.G. Han, *Investigation of ion bombarded polymer surfaces using SIMS, XPS and AFM*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 1997. **121**(1-4): p. 474-479.
188. Tóth, A., T. Bell, I. Bertóti, M. Mohai, and B. Zelei, *Surface modification of polyethylene by low keV ion beams*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 1999. **148**(1-4): p. 1131-1135.
189. Tóth, A., T. Ujvári, I. Bertóti, E. Szilágyi, T. Keszthelyi, and A. Juhász, *Fast atom beam treatment of ultra-high molecular weight polyethylene*. Surface and Interface Analysis, 2004. **36**(8): p. 1041-1043.
190. Mähl, S., M. Neumann, B. Schneider, V. Schlett, and A. Baalman, *Analysis of XPS valence band spectra of polymers using a density-functional theory based calculation of model oligomers*. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 1999. **37**(1): p. 95-103.
191. Buncick, M.C., D.E. Thomas, K.S. McKinny, and M.S. Jahan, *Structural changes of ultra-high molecular weight polyethylene exposed to X-ray flux in X-ray photoelectron spectroscopy detected by valence band and electron spin resonance spectroscopy*. Applied Surface Science, 2000. **156**(1-4): p. 97-109.
192. Brun, C., M. Fromm, F. Berger, P. Delobelle, J. Takadom, E. Beche, A. Chambaudet, and F. Jaffiol, *Modifications of polypropylene surface properties by He+ ion implantation*. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 2003. **41**(11): p. 1183-1191.
193. Barakat, H., C. Aymes-Chodur, J. Saunier, and N. Yagoubi, *Effect of electron beam radio sterilization on cyclic olefin copolymers used as pharmaceutical storage materials*. Radiation Physics and Chemistry, (0).
194. Burkert, S., M. Kuntzsch, C. Bellmann, P. Uhlmann, and M. Stamm, *Tuning of surface properties of thin polymer films by electron beam treatment*. Applied Surface Science, 2009. **255**(12): p. 6256-6261.
195. Marian ENKIEWICZ, PIOTR RYTLEWSKI, JOANNA CZUPRYŃSKA, JULIAN POLAŃSKI, TOMASZ KARASIEWICZ, and W.O. ENGELGARD, *Contact angle and surface free energy of electron-beam irradiated polymer composites*. Polimery, 2008. **53**(6).
196. Svorcik, V., V. Rybka, V. Hnatowicz, M. Novotna, and M. Vognar, *Electron-Beam Modification of Polyethylene and Polystyrene*. Journal of Applied Polymer Science, 1997. **64**(13): p. 2529-2533.
197. M.E.R. Shanahan, K.S., *Kinetics of Triple Line Motion during Evaporation*, in *Contact Angle, Wettability and Adhesion*, K.L. Mittal, Editor. 2009.
198. Shanahan, M.E.R., *Simple Theory of "Stick-Slip" Wetting Hysteresis*. Langmuir, 1995. **11**(3): p. 1041-1043.
199. Żenkiewicz, M., *Effects of electron-beam irradiation on wettability and surface free energy of a polypropylene film*. International Journal of Adhesion and Adhesives, 2005. **25**(1): p. 61-66.
200. Nosonovsky, M. and B. Bhushan, *Cassie-Wenzel Wetting Regime Transition, Multiscale Dissipative Mechanisms and Hierarchical Surfaces*. 2008, Springer Berlin Heidelberg. p. 153-167.
201. Bico, J., U. Thiele, and D. Quéré, *Wetting of textured surfaces*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2002. **206**(1-3): p. 41-46.

202. de Gennes, P.G., F. Brochard-Wyart, D. Quéré, and A. Reisinger, *Capillarity and wetting phenomena : drops, bubbles, pearls, waves*. 2004, New York [etc.]: Springer.
203. Patankar, N.A., *Transition between Superhydrophobic States on Rough Surfaces*. Langmuir, 2004. **20**(17): p. 7097-7102.
204. Alberti, G. and A. DeSimone, *Wetting of rough surfaces: a homogenization approach*. Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Science, 2005. **461**(2053): p. 79-97.
205. C. Ishino¹, K.O.a.D.Q., *Wetting transitions on rough surfaces*. Europhys. Lett. , 2004. **68**(3): p. 419-425.
206. Hay, K.M., M.I. Dragila, and J. Liburdy, *Theoretical model for the wetting of a rough surface*. Journal of Colloid and Interface Science, 2008. **325**(2): p. 472-477.
207. Ashutosh Shastri, M.J.C.a.K.F.B., *ENGINEERING SURFACE ROUGHNESS TO MANIPULATE DROPLETS IN MICROFLUIDIC SYSTEMS*, in *18th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, 2005. MEMS 2005. .* 2005. p. 694 - 697
208. Cassie, A.B.D. and S. Baxter, *Wettability of porous surfaces*. Transactions of the Faraday Society, 1944. **40**: p. 546-551.
209. Wenzel, R.N., *RESISTANCE OF SOLID SURFACES TO WETTING BY WATER*. Industrial & Engineering Chemistry, 1936. **28**(8): p. 988-994.
210. Illum, L. and H. Bundgaard, *Sorption of drugs by plastic infusion bags*. International Journal of Pharmaceutics, 1982. **10**(4): p. 339-351.
211. Noh, D., K. Park, H. Chun, C. Park, J. Jang, and Y. Ahn, *Compatibility of diazepam with polypropylene multilayer infusion container*. Macromolecular Research, 2009. **17**(7): p. 516-521.
212. Kambia, N.K., T. Dine, T. Dupin-Spriet, B. Gressier, M. Luyckx, F. Goudaliez, and C. Brunet, *Compatibility of nitroglycerin, diazepam and chlorpromazine with a new multilayer material for infusion containers*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005. **37**(2): p. 259-264.
213. Gandek, T.P., T.A. Hatton, and R.C. Reid, *Batch extraction with reaction: phenolic antioxidant migration from polyolefins to water. 2. Experimental results and discussion*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 1989. **28**(7): p. 1036-1045.
214. Gandek, T.P., T.A. Hatton, and R.C. Reid, *Batch extraction with reaction: phenolic antioxidant migration from polyolefins to water. 1. Theory*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 1989. **28**(7): p. 1030-1036.
215. Francis Rouessac, A.R., *Chromatographie d'exclusion stérique*, in *ANALYSE CHIMIQUE: Methodes et techniques instrumentales modernes*, DUNOD, Editor. 1998: paris.

RESUME :

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier l'effet de la stérilisation par électrons accélérés sur les copolymères d'oléfinés cycliques (COC), utilisés comme conditionnement de produits pharmaceutiques, ainsi que son impact sur les interactions avec des formulations pharmaceutiques. Grâce à la méthodologie analytique adoptée qui a fait appel à différentes techniques de caractérisation, telles que la chromatographie d'exclusion stérique, la chromatographie liquide haute performance à polarité de phases inversée, la spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier, la microscopie à force atomique et les mesures d'angles de contact, nous avons pu mettre en évidence différents types de modifications dans le volume et sur la surface du matériau après stérilisation ainsi qu'après vieillissement.

La modification principale du dans la masse du matériau, observée à la dose réglementaire de stérilisation (25 kGy), est la scission des chaînes du polymère, qui s'accompagne de la création de composés de faible masse molaire, donc de migrants potentiels risquant d'influencer la sécurité d'emploi des COC. En effet, certains de ces composés ont été retrouvés avec une concentration relativement importante dans les solutions de mise en contact avec les COC stérilisés, et notamment en solution aqueuse. Toutefois, l'étude préliminaire de toxicité a montré l'absence de cytotoxicité des extractibles obtenus à la dose de la stérilisation.

Les modifications relatives à la surface des COC radio-stérilisés sont, quant à elles, de deux natures : physique avec une augmentation de la rugosité de surface et chimique avec la formation de produits d'oxydation polaires ; ces deux types de modifications conduisent à l'augmentation de la mouillabilité de surface. Cependant dans certains cas, notamment après vieillissement, ces modifications sont relativement faibles, même à des doses supérieures à celle préconisée pour la stérilisation, ce qui peut être corrélé à l'absence de l'effet de l'irradiation sur le comportement des COC vis-à-vis des solutions médicamenteuses. En effet, aucune variation de la sorption des principes actifs choisis n'a été montrée entre les COC irradiés et non irradiés vieillis.

Mots clés :

Copolymères d'oléfinés cyclique (COC), stérilisation, électrons accélérés, scission, oxydation, chromatographie liquide haute performance à polarité de phases inversée, chromatographie d'exclusion stérique, spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier, rugosité de surface, mouillabilité, composés de faible masse molaire, vieillissement, compatibilité, interactions, sorption, migration, toxicité.

Ecole Doctorale :Innovation Thérapeutique : Du fondamental à l'Appliqué

Pôle :Pharmacotechnie et Physico-chimie Pharmaceutique

Laboratoire d'accueil : Matériau et Santé EA401
Faculté de Pharmacie de l'Université Paris sud 11, Châtenay-Malabry

Directeur de thèse :Najet YGOUBI

Encadrant de thèse :Caroline Aymes-Chodur et Johanna Saunier