



**HAL**  
open science

# Caractérisations thermodynamiques et spectrales de substances actives et d'excipients entrant dans la fabrication de médicaments issus de la contrefaçon : étude du potentiel de détection de ces substances par spectroscopie térahertz miniaturisée

Frédéric Rosa

## ► To cite this version:

Frédéric Rosa. Caractérisations thermodynamiques et spectrales de substances actives et d'excipients entrant dans la fabrication de médicaments issus de la contrefaçon : étude du potentiel de détection de ces substances par spectroscopie térahertz miniaturisée. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. Université Sorbonne Paris Cité, 2016. Français. NNT : 2016USPCB167 . tel-04483961

**HAL Id: tel-04483961**

**<https://theses.hal.science/tel-04483961>**

Submitted on 29 Feb 2024

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

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

# **THESE**

Présentée Par

**Frédéric Rosa**

pour obtenir le grade de docteur de l'Université Paris Descartes

**Spécialité : Chimie-Physique**

**Caractérisations thermodynamiques et spectrales de substances actives  
et d'excipients entrant dans la fabrication de médicaments issus de la  
contrefaçon. Etude du potentiel de détection de ces substances par  
spectroscopie térahertz miniaturisée.**

Soutenue le 30 Novembre 2016 devant le jury composé de :

Pr. Jérémie Soulestin	Ecole des mines de Douai	Rapporteur
Pr. Nouredine Ghermani	Université Paris Sud	Rapporteur
Pr. Sylvie Michel	Université Paris Descartes	Examineur
Dr. Bernd Fischer	Institut de Saint-Louis	Examineur
Dr. Jesus Ayala-Sanmartin	Université Pierre et Marie Curie	Examineur
Dr. Philippe Espeau	Université Paris Descartes	Directeur

Thèse réalisée au sein de l'Unité de Technologies Chimiques et Biologiques pour la Santé,

CNRS UMR8258, Inserm U1022



## Remerciements

---

Cette thèse a été réalisée au sein de la Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Paris Descartes, dans l'Unité de Technologies Chimiques et Biologiques pour la Santé (CNRS UMR8258, Inserm U1022) et financée grâce à l'Agence Nationale de la Recherche. Je leur en suis très reconnaissant et les en remercie.

Je souhaite tout d'abord remercier le Pr. Jérémie Soulestin et le Pr. Nouredine Ghermani d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse ainsi que le Pr. Sylvie Michel, le Dr. Bernd Fischer et le Dr. Jesus Ayala-Sanmartin qui ont tous accepté d'évaluer et de discuter de ce travail de thèse.

Je remercie évidemment grandement mon directeur de thèse, Philippe Espeau, pour la confiance qu'il m'a accordé depuis maintenant de nombreuses années, de mon premier stage jusqu'à cette thèse, mais également pour ses conseils, son soutien et sa disponibilité.

Je tiens également à remercier chaleureusement Yohann Corvis qui a toujours su être de bons conseils et d'un grand aide au quotidien lorsque le besoin s'en faisait sentir.

Un grand merci également aux membres de l'Institut de recherche de Saint-Louis et notamment à Lionel Merlat qui a permis ma venue au sein de leur laboratoire pour réaliser les analyses térahertz nécessaires à ma thèse et à Sebastian Engelbrecht et Dejan Simicic pour leur accueil au sein de l'ISL ainsi que pour leur aide et leur savoir-faire en matière d'analyse térahertz.

Je voudrais également remercier toutes les personnes qui ont eu l'occasion de collaborer sur cette thèse : Philippe Négrier de l'Université de Bordeaux pour son aide, son temps et son expertise en matière de diffraction des rayons X, Hanh Dufat de l'Université Paris Descartes pour sa gentillesse et sa collaboration au sein du projet ANR, Nicolas Guiblin de l'Ecole

Centrale de Paris pour son aide dans la réalisation des analyses en diffraction des rayons X sur monocristaux, Serge Bouaziz de l'Université Paris Descartes qui a permis la réalisation des analyses de RMN et enfin Sophie Dufay de l'Agence Générale des Equipements et Produits de Santé (AGEPS) pour les tests de Karl Fischer.

Je remercie également Nathalie Mignet et toute l'équipe VICT de l'Unité pour leur accueil, leur aide et leur bonne humeur.

Enfin, un énorme merci à mes amis et ma famille qui ont toujours été là dans les bons et les mauvais moments. Merci à Jordan, Thomas, Zelda et Titia qui sont toujours là même quand on n'a pas trop le temps de se voir. Merci à mes parents qui ont toujours cru en moi et qui m'ont toujours poussé à aller plus loin. Merci également à la belle-famille et à Marie et Stéphane qui m'ont permis de devenir le parrain de la petite Lise. Un dernier merci à Laura pour tous les moments que l'on a partagé et qu'il nous reste à partager.

# Sommaire

---

Remerciements.....	
Sommaire.....	
Introduction.....	1
1. Contexte .....	1
2. Projet .....	2
3. Objectifs de la thèse .....	3
Références.....	7
Chapitre 1 : Notions fondamentales.....	9
1.1 L'état solide et la structure cristalline .....	10
1.2 Thermodynamique .....	15
1.3 Notion de polymorphisme.....	17
1.3.1 Définition .....	18
1.3.2 Stabilité relative entre deux polymorphes.....	19
1.3.3 Notions d'énantiotropie et de monotropie .....	21
1.4 Chiralité et diagrammes de phases entre énantiomères.....	27
1.4.1 Chiralité.....	28
1.4.2 Diagrammes de phases entre énantiomères .....	30
Références.....	35
Chapitre 2 : Techniques et méthodes d'analyse.....	37
2.1 L'analyse thermique.....	38
2.1.1 L'analyse enthalpique différentielle .....	38
2.1.2 La thermogravimétrie.....	41

2.1.3	La thermo-microscopie .....	44
2.2	Diffraction des rayons X .....	44
2.2.1	Diffraction des rayons X sur poudres .....	46
2.2.2	Diffraction des rayons X sur monocristal .....	49
2.3	Technologie térahertz .....	50
	Références .....	56
	Chapitre 3 : Etude des capacités de détection de la technologie térahertz.....	59
	Partie I : Le paracétamol .....	61
I.1	Présentation .....	61
I.2	Etude du paracétamol par analyse thermique.....	63
I.2.1.	Propriétés thermodynamiques connues.....	63
I.2.2.	Nouvelles propriétés thermodynamiques.....	65
I.3	Etude du paracétamol par Térahertz.....	69
I.4	Conclusion.....	74
	Références.....	75
	Partie II : La caféine.....	76
II.1	Présentation .....	76
II.2	Propriétés thermodynamiques .....	77
II.3	Isolement de chacune des formes.....	79
II.4	Analyse Térahertz de la caféine .....	82
II.5	Conclusion.....	85
	Références.....	86
	Partie III : Le chlorhydrate de sibutramine monohydraté.....	87
III.1	Présentation .....	87
III.2	Comportement à la chaleur de la sibutramine .....	89
III.3	Structure cristalline du chlorhydrate de sibutramine monohydraté .....	92
III.4	Méthodes de préparation des différentes formes hypothétiques .....	94
III.4.1	Méthode de sublimation.....	95

III.4.2	Méthode de recristallisation par évaporation lente .....	97
III.4.3	Méthode de déshydratation au four.....	99
III.4.4	Méthode de broyage.....	100
III.4.5	Recristallisation à partir d'une des deux formes.....	101
III.4.6	Résumé des résultats obtenus.....	102
III.5	Sublimation du chlorhydrate de sibutramine monohydraté.....	103
III.6	Résolution par Rayon X des formes anhydres .....	107
III.6.1	Structure cristalline de la forme anhydre A .....	107
III.6.2	Structure cristalline de la forme anhydre B .....	109
III.6.3	Comparaison des deux formes énantiomères anhydres .....	113
III.7	Thermodynamique des deux formes conglomérat et racémique.....	116
III.8	Comparaison des formes anhydre et hydratée en térahertz.....	118
III.9	Conclusion.....	119
	Références.....	120

Chapitre 4 : Structures cristallines et propriétés thermodynamiques de la p-synéphrine et de la phénolphtaléine .....

	123	
Partie I : La p-synéphrine.....	124	
I.1	Présentation .....	124
I.2	Structure cristalline .....	126
I.3	Propriétés thermodynamiques .....	131
I.4	Comparaison des analyses sous flux d'air et d'azote.....	138
I.5	Propriétés Térahertz .....	139
I.6	Conclusion.....	140
	Références.....	141
Partie II : La phénolphtaléine.....	143	
II.1	Présentation .....	143
II.2	Propriétés thermodynamiques .....	144
II.3	Proportion de dégradation .....	149
II.4	Structure cristalline .....	152



II.5	Spectre térahertz.....	153
II.6	Conclusion.....	154
	Références.....	155

	Synthèse, conclusions et perspectives.....	157
1.	Synthèse des résultats obtenus .....	157
2.	Conclusions .....	158
3.	Perspectives.....	159
	Références.....	161

# Introduction

## 1. Contexte

En France, en 2013, 7,6 millions de produits contrefaits ont été saisis par la douane. Parmi ces produits contrefaits, la plus grande majorité (1,3 millions de produits) provient de la contrefaçon de médicaments [Cour des comptes 2015]. La circulation des produits de contrefaçons pharmaceutiques est devenue un problème majeur dans les pays développés. En effet, la lutte contre la prolifération de ces produits est d'autant plus compliquée qu'il est difficile de quantifier et de détecter leur existence. Les produits qui sont considérés comme des produits de contrefaçon sont les produits utilisés sous un nom commercial connu ou inconnu sans autorisation. Ces produits peuvent présenter plusieurs anomalies comme l'absence de substance active, une quantité insuffisante ou excessive de substance active ou même l'utilisation d'une autre substance active que celle indiquée [Dussol A. 2009]. Les mêmes anomalies peuvent également être présentes en ce qui concerne les excipients. Les personnes qui se retrouvent confrontées à des produits de contrefaçon peuvent mettre leur santé, voire leur vie, en danger. En effet, ces produits de contrefaçon peuvent être inutiles, par l'absence de substance active, ou très dangereux, par la présence de produits toxiques en lieu et place de la substance active saine.

Le développement du commerce sur internet est l'une des raisons qui a permis d'augmenter la circulation des produits pharmaceutiques issus de la contrefaçon. La possibilité d'acheter des produits moins chers et sans prescription médicale sur internet a facilité la croissance des produits contrefaits. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 10 % des médicaments circulant dans le monde sont des contrefaçons, ce chiffre peut monter à 30% en Asie, Afrique et Amérique du Sud [d'après Criminalité

Pharmaceutique]. Afin de lutter contre cette prolifération, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ainsi que les institutions nationales et internationales (douanes, polices, organismes de santé nationaux, ...) se sont réunies en un réseau appelé International Medicinal Products Anti-Counterfeit Taskforce (IMPACT) afin de pouvoir échanger leurs expertises et leurs informations dans la lutte contre les contrefaçons. Depuis 2009, la France, de par l'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé (ANSM), participe à l'opération PANGAEA lancée par Interpol contre le commerce illégal de produits de contrefaçons pharmaceutiques sur internet. Cette lutte a permis, en 2015, de déceler environ 20,7 millions de produits contrefaits [d'après Opération Pangea].

## **2. Projet**

Actuellement, la lutte contre les contrefaçons pharmaceutiques nécessite l'envoi des produits saisis par la douane, aux frontières ou dans les aéroports, à des laboratoires afin que les produits soient analysés. Le projet AlyPOTEC, financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), dans lequel s'inscrivent ces travaux de thèse, a pour but de développer un appareil portatif utilisant la technologie térahertz capable de détecter les contrefaçons sur les lieux mêmes de contrôle. Déjà utilisée dans divers domaines de la sécurité, les ondes térahertz ont la particularité d'avoir un fort pouvoir pénétrant permettant de visualiser ce qui se trouve derrière tout type de matériaux tels que du carton, du plastique ou du bois. Cette particularité est un avantage incontestable de la technologie térahertz vis-à-vis des autres techniques de détection habituellement utilisées dans la détection des produits de contrefaçon puisqu'elle va permettre de réduire considérablement le temps d'analyse dans la mesure où le temps de préparation des échantillons devient inexistant. En effet, pour les techniques

utilisées habituellement comme l'infrarouge, la chromatographie ou la résonance magnétique nucléaire (RMN), il est nécessaire d'enlever l'objet d'étude de son emballage pour être analysé à partir de ces techniques alors que, pour la technologie térahertz, l'échantillon peut être directement étudié dans son emballage. L'idée est donc d'utiliser cette technologie pour caractériser, directement au travers de l'emballage, le produit présent et ainsi détecter la présence ou non de produits contrefaits.

En térahertz, comme pour l'infrarouge, l'identification d'un produit se fait par comparaison entre le spectre obtenu et un spectre de référence. Afin d'obtenir ces spectres de référence, il est nécessaire d'établir une base de données avec tous les produits susceptibles d'être présents dans les produits de contrefaçon. Néanmoins, l'élaboration de cette base de données est une tâche complexe puisque les produits pharmaceutiques existent sous différentes formes solides et, selon chacune de ces formes, la biodisponibilité n'est pas la même. Il y a donc des risques de toxicité en fonction de la forme solide utilisée. Il est donc important que cette base de données contienne toutes les informations des produits pharmaceutiques selon qu'ils existent par exemple sous forme de polymorphes, de substances anhydres et/ou hydratées mais aussi de verres.

### **3. Objectifs de la thèse**

Comme dit précédemment, une base de données de spectres térahertz doit être établie afin de pouvoir par la suite identifier un produit analysé. Il est essentiel de pouvoir répertorier tous les spectres térahertz d'un produit. En effet, un produit peut présenter plusieurs polymorphes et, dans ce cas, tous les spectres térahertz de ces polymorphes doivent être connus afin de pouvoir identifier, au sein d'un produit contrefait, la présence ou non du bon polymorphe.

Pour les produits pouvant exister sous forme anhydre ou hydratée, le problème est le même, il faut connaître tous les spectres térahertz des différentes formes pour pouvoir statuer sur la nature de la substance active au sein du produit contrefait. Pour obtenir ces différents spectres, l'analyse thermique est utilisée pour authentifier la forme solide étudiée. Grâce à cette technique, il est donc possible de caractériser et d'isoler un polymorphe donné, une forme anhydre ou hydratée, afin d'associer par la suite un spectre térahertz au bon polymorphe, à la bonne forme solide au sens large, d'une substance.

L'objectif de la thèse est double :

- Fournir et identifier les bonnes formes solides pour l'obtention d'un spectre térahertz en vue de créer une base de données.
- Caractériser par analyses thermiques et diffraction des rayons X sur poudres la plupart des composés d'étude car, comme nous allons le voir, il y a un manque évident de données thermodynamiques et structurales. Et pourtant, certains de ces composés sont connus depuis plusieurs années.

Les produits le plus souvent retrouvés dans les contrefaçons de produits pharmaceutiques sont les produits contre l'obésité, les produits contre le dysfonctionnement érectile ainsi que les compléments alimentaires. Les produits choisis pour cette étude sont donc en rapport avec ces domaines. Ils peuvent être soit des substances actives soit des excipients que l'on retrouve dans les produits de contrefaçon. Le choix se fait ensuite par rapport à leur composition, leur comportement à la chaleur et les connaissances existantes au niveau de l'analyse thermique pour chacun des composés. Les produits ciblés dans cette étude sont donc les suivants :

- Le paracétamol et la caféine qui sont deux produits dont les propriétés physico-chimiques sont bien connues [Espeau P. 2005] [Pinto S.S. 2006]. Le paracétamol présente pas moins de trois polymorphes et la caféine deux polymorphes. Concernant le paracétamol,

il est assez facile d'obtenir cette substance à l'état de verre. En plus de l'obtention des signatures térahertz des différentes phases, l'objectif ici est aussi d'étudier la capacité de l'analyse térahertz à pouvoir visualiser différents types de transitions comme la transition vitreuse ou la transition solide-solide de la caféine.

- La p-synéphrine est une substance qui peut être trouvée en association avec la caféine notamment dans des brûleurs de graisse comme par exemple Adipokill®. Cette association est cependant à risques notamment au niveau cardiaque. Cette substance se trouve également dans les compléments alimentaires de contrefaçons. Ses propriétés physico-chimiques sont mal connues, comme le montre par exemple les données très variées relatives à son point de fusion [Bergmann E.D. 1951][Asscher M. 1949], mais également, sa structure cristalline n'a jamais été résolue.

- Le chlorhydrate de sibutramine monohydratée et la phénolphtaléine sont deux autres produits que l'on peut retrouver seuls ou en association dans des contrefaçons de produits amincissants [Vaysse J. 2010]. Le premier est un produit utilisé dans la lutte contre l'obésité. Auparavant commercialisé sous le nom Sibutral®, il est dorénavant interdit à la vente et se retrouve donc sur le marché de la contrefaçon [Site European Medicines Agency]. Du fait que ce produit peut exister sous forme hydratée et sous forme anhydre, l'intérêt de l'étude ici est de voir si ces différentes formes d'une même substance peuvent être différenciées par l'analyse térahertz. Le second produit, la phénolphtaléine, est catégorisé comme laxatif. Il est présent dans les produits de contrefaçon en tant qu'excipient. Dans la littérature, il n'existe quasiment pas de données concernant ses propriétés physico-chimiques notamment vis-à-vis de ses caractéristiques de fusion. Comme pour la p-synéphrine, l'analyse thermique va permettre d'affiner certaines de ses propriétés physico-chimiques.

Après avoir détaillé les notions fondamentales nécessaires à la compréhension des différents phénomènes physico-chimiques mis en évidence dans ces travaux puis les méthodes d'analyses utilisées, les différentes substances présentées ci-dessus seront étudiées par analyses thermiques et térahertz. Concernant le chlorhydrate de sibutramine monohydratée, la p-synéphrine et la phénolphtaléine, leurs caractéristiques thermodynamiques telles que leur point de fusion, de déshydratation, ..., mais aussi leurs différents états solides seront étudiés plus en détails du fait du manque évident de données dans la littérature.

## Références

Cour des comptes, L'action de la douane dans la lutte contre les fraudes et trafics (2015)  
23.

A. Dussol, Le médicament générique, *Que sais-je ?*, ed. Puf 3875 (2009)

Site Interpol : Criminalité pharmaceutique, consulté le 01/08/2016 :  
[www.interpol.int/fr/Criminalit%C3%A9/Criminalit%C3%A9-pharmaceutique](http://www.interpol.int/fr/Criminalit%C3%A9/Criminalit%C3%A9-pharmaceutique/Criminalit%C3%A9-pharmaceutique)

Site Interpol : Opération Pangea, consulté le 01/08/2016 : [www.interpol.int/fr/Crime-areas/Pharmaceutical-crime/Operations](http://www.interpol.int/fr/Crime-areas/Pharmaceutical-crime/Operations)

Y. Corvis, P. Négrier, S. Massip, J.-M. Leger, P. Espeau, Insights into the crystal structure, polymorphism and thermal behavior of menthol optical isomers and racemates, *CrystEngComm*, 14(20) (2012) 7055-7064.

Y. Corvis, N. Guiblin, P. Espeau, Phase Behavior and Relative Stability of Malonamide Polymorphs, *J. Phys.Chem. B*, 118(7) (2014) 1925-1931.

P. Espeau, R. Céolin, J.-L. Tamarit, M.-A. Perrin, J.-P. Gauchi, F. Leveiller, Polymorphism of Paracetamol: Relative Stabilities of the Monoclinic and Orthorhombic Phases Inferred from Topological Pressure-Temperature and Temperature-Volume Phase Diagrams *J. Pharm. Sci.*, 94(3) (2005) 524-539.

Site de l'European Medicines Agency, consulté le 19/05/2016 :  
[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/referrals/Sibutramine/human\\_referral\\_000219.jsp&mid=WC0b01ac0580024e9a&murl=menus/regulations/regulations.jsp](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/referrals/Sibutramine/human_referral_000219.jsp&mid=WC0b01ac0580024e9a&murl=menus/regulations/regulations.jsp)



E. D. Bergmann, M. Sulzbacher, A new synthesis of 1-(m- and p-hydroxyphenyl)-2-methylaminoethanol (m- and p-sympathol), *J. Org. Chem.*, 16 (1951) 84–89.

M. Asscher, A new synthesis of  $\omega$ -amino- $\rho$ -hydroxyacetophenones and their reduction to the corresponding amino ethanols, *Recl. Trav. Chim. Pay. B.*, 68 (1949) 960–968.

J. Vaysse, S. Balayssac, V. Gilard, D. Desoubdzanne, M. Malet-Martino, R. Martino, Analysis of adulterated herbal medicines and dietary supplements marketed for weight loss by DOSY 1 H-NMR, *Food Addit. Contam.*, 27(7) (2010) 903-916.

## **Chapitre 1 : Notions fondamentales**

1.1	L'état solide et la structure cristalline .....	10
1.2	Thermodynamique .....	15
1.3	Notion de polymorphisme.....	17
1.3.1	Définition .....	18
1.3.2	Stabilité relative entre deux polymorphes.....	19
1.3.3	Notions d'énantiotropie et de monotropie .....	21
1.4	Chiralité et diagrammes de phases entre énantiomères.....	27
1.4.1	Chiralité.....	28
1.4.2	Diagrammes de phases entre énantiomères .....	30
1.4.2.a	La solution solide.....	31
1.4.2.b	Le conglomerat .....	32
1.4.2.c	Le racémate ou composé racémique.....	33
	Références.....	35

Dans ce chapitre, les différentes notions fondamentales nécessaires à la compréhension des études thermiques et térahertz sont explicitées. Après la brève explication concernant la notion d'état solide et de la structure cristalline d'une substance ainsi que la définition des différents termes et notions de thermodynamique, le polymorphisme et ses propriétés thermodynamiques sont abordés. Par la suite, la notion de chiralité et les diagrammes pouvant en résulter sont expliqués.

## 1.1 L'état solide et la structure cristalline

La notion d'état solide est une notion importante dans ces travaux puisque les substances pharmaceutiques sont la plupart du temps sous forme solide. L'état solide est un des trois états de la matière avec l'état gazeux et l'état liquide. Il se caractérise par un volume et une forme propre, c'est-à-dire que ces deux propriétés ne varient pas quel que soit le récipient qui contient le solide.

Un édifice solide est maintenu grâce à différents types de liaisons : les liaisons intramoléculaires (forces de covalence et forces ioniques) et les liaisons intermoléculaires (forces de van der Waals et liaison hydrogène) [Bauer M. 2004a].

Les forces intramoléculaires présentent une énergie de liaison supérieure aux forces intermoléculaires, elles assurent donc l'association des atomes dans une même molécule tandis que les forces intermoléculaires sont des forces électrostatiques qui agissent sur les phénomènes de répulsion et d'attraction des particules entre-elles.

Les forces de covalence se caractérisent par le partage, entre deux atomes, des électrons de leurs couches externes. Ces liaisons sont de type directionnelles, les molécules liées par covalence ont donc des angles de liaisons spécifiques. La formation d'une liaison covalente s'apparente notamment à une cristallisation.

Les forces ioniques résultent de l'attraction électrostatique entre des ions de signes contraires, elle a le plus souvent lieu dans une molécule formée d'un élément de la catégorie des non-métaux et d'un métal. Cette liaison est notamment présente dans les cristaux ioniques tels que les sels.

Les forces de van der Waals sont des forces de type électromagnétiques faibles qui peuvent s'exercer entre des molécules neutres.

La liaison hydrogène s'explique grâce à l'électronégativité des atomes constituant une molécule. Elle implique :

- Un atome d'hydrogène d'une molécule qui, de par sa liaison covalente avec un atome plus électronégatif, va posséder une charge positive partielle
- Un atome électronégatif (par exemple oxygène, azote, fluor) d'une autre molécule qui va posséder une charge négative partielle

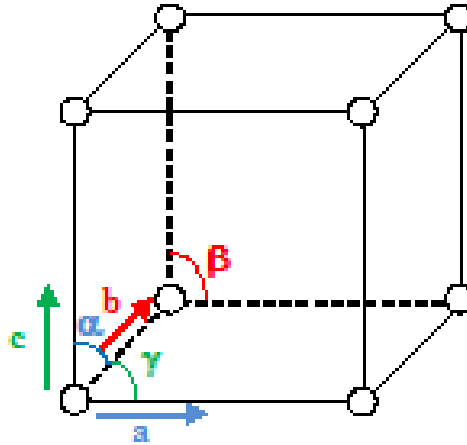
Ces deux atomes établissent alors des liaisons par pont hydrogène. L'énergie de ces liaisons reste inférieure aux forces intramoléculaires mais est plus importante que celle des forces de van der Waals. Ces liaisons jouent un rôle important dans la stabilité des formes cristallines.

Un solide peut exister principalement sous deux états différents :

- Un état amorphe (ou vitreux) correspondant à un état désordonné avec un ordre à courte distance, comme dans les liquides.
- Un état cristallin correspondant à un état tridimensionnellement ordonné.

Les solides cristallins sont formés par la répétition périodique en 3D et à l'infini d'une unité élémentaire identique appelée motif atomique. Cette unité élémentaire est la plus petite association d'atomes permettant, par répétition périodique, de reconstituer la structure cristalline d'un cristal. Ce motif est constitué d'un ou plusieurs atomes, ions ou molécules en fonction du cristal. La répétition pouvant se faire par translation dans les trois directions de l'espace. Ces trois axes sont appelés a, b et c. La maille élémentaire est donc définie par la longueur de ses arêtes (a, b et c), les angles entre les différents axes ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ) ainsi que par

la nature, le nombre et les positions des atomes constituant cette maille. Par convention,  $\alpha$  désigne l'angle entre b et c,  $\beta$  l'angle entre a et c et  $\gamma$  l'angle entre a et b (figure 1.1).



**Figure 1.1 :** Représentation d'une maille triclínique avec 1 nœud par maille.

Il existe sept systèmes cristallins fondamentaux définis par leurs métriques de mailles (Tableau 1.1). Ces systèmes caractérisent les différentes formes géométriques que peuvent avoir les mailles. Lorsque les mailles sont constituées de plus d'un nœud, et que donc des atomes sont situés au centre de la maille ou au milieu des faces, les systèmes sont déclinés de cinq autres manières afin de former les quatorze réseaux de Bravais. Ces cinq modes sont définis de la façon suivante :

P : réseau primitif (un nœud à chaque sommet)

I : réseau centré (un nœud au centre de la maille)

F : réseau à faces centrées (un nœud au centre de chacune des faces)

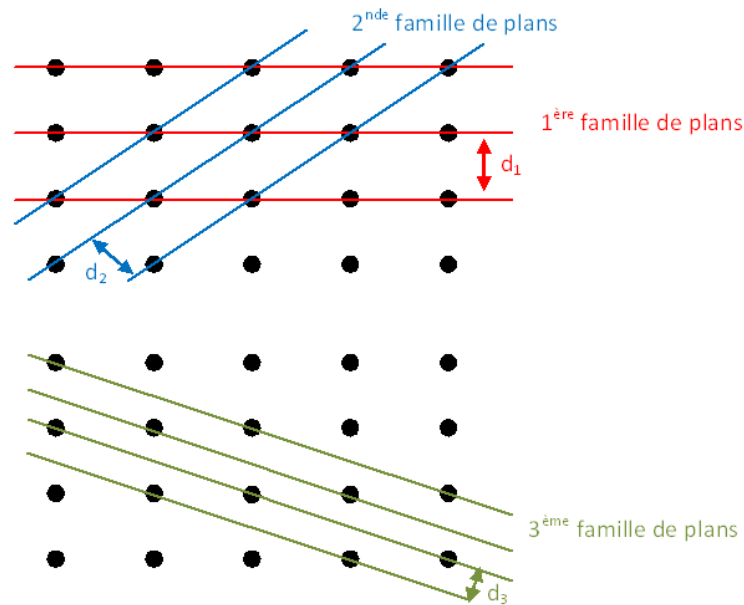
A ou B ou C : réseau à bases centrées (un nœud au centre de deux faces opposées)

R : Forme primitive du système rhomboédrique (un nœud à chaque sommet, P)

**Tableau 1.1 :** Tableau résumant les caractéristiques des 14 réseaux de Bravais (d'après Bauer 2004)

Système	Caractéristiques métriques des mailles	Réseaux de Bravais	Symbole
Cubique	3 axes égaux à angle droit $a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Simple	P
		Cube centré	I
		Faces centrées	F
Quadratique (ou tétragonal)	3 axes à angle droit $a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Simple	P
		Centré	I
Orthorhombique	3 axes inégaux à angle droit $a \neq b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Simple	P
		Centré	I
		Bases centrées	C
Rhomboédrique	3 axes égaux également inclinés : $a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$	Simple	R
Hexagonal	2 axes coplanaires égaux à $120^\circ$ . Le 3 <sup>e</sup> axe à angle droit $a = b \neq c$ $\alpha = \beta = 90^\circ \quad \gamma = 120^\circ$	Simple	P
Monoclinique	3 axes inégaux : $a \neq b \neq c$ $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$	Simple	P
		Bases Centrées	C
Triclinique	3 axes inégaux $a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$	Simple	P

Dans chaque structure cristalline, il est possible de définir des plans réticulaires. Un plan réticulaire est un plan passant par, au minimum, trois nœuds non colinéaires de la maille (Figure 1.2). Il existe une infinité de plans qui sont caractérisés par leur indice de Miller (qui s'écrit par exemple 100, 001, 010, ...) ainsi que par la distance entre deux plans consécutifs d'une même famille ( $d$ ). La distance entre les plans suivant une même direction ne dépend que des paramètres ( $a$ ,  $b$  et  $c$ ) ainsi que de la géométrie de maille. De cette façon, il est possible de remonter aux paramètres de maille et à sa géométrie en mesurant les distances entre les plans réticulaires, c'est le rôle de la diffraction des rayons X.



**Figure 1.2 :** Représentation d'un exemple de familles de plans

Lorsque des rayons X sont envoyés sur un cristal, celui-ci diffracte les rayons qui sont ensuite captés par un détecteur. Il en résulte un diffractogramme des rayons X qui présente l'intensité du faisceau en fonction de l'angle  $2\theta$ . Chaque pic obtenu correspond à une famille de plans réticulaires. En fonction de leur position selon  $\theta$ , il est alors possible de déterminer la distance entre les plans réticulaires et ainsi remonter aux paramètres de maille et à sa géométrie.

## 1.2 Thermodynamique

Afin d'étudier et de comprendre les propriétés thermodynamiques des substances étudiées, il est nécessaire de définir certains termes.

Premièrement, l'énergie d'un système, déterminée à pression constante, s'appelle l'enthalpie  $H$ . C'est une fonction d'état qui s'exprime par :

$$H = U + PV$$

où  $U$  est l'énergie interne du système,  $V$  le volume du système et  $P$  la pression exercée sur le système. Dans les cas étudiés ici, les processus physico-chimiques subis par un composé chimique tels que les transitions de phases s'effectuent à pression constante. La variation d'enthalpie entre l'état initial et final du système,  $\Delta H$ , correspond alors à la quantité de chaleur libérée ou absorbée [Voet D. 2004]. Une réaction peut être définie en fonction des mouvements de chaleur entre le système et le milieu extérieur. Ces mouvements se traduisent par une enthalpie positive ou négative. En effet, si  $\Delta H$  est supérieure à zéro, le système absorbe de la chaleur et la réaction est dite endothermique, si  $\Delta H$  est inférieure à zéro, le système libère de la chaleur et la réaction est dite exothermique. A l'échelle moléculaire, lorsque la température varie, l'enthalpie traduit la chaleur absorbée ou libérée pour respectivement rompre ou former des liaisons intra ou intermoléculaires [Brittain H.G. 2008].

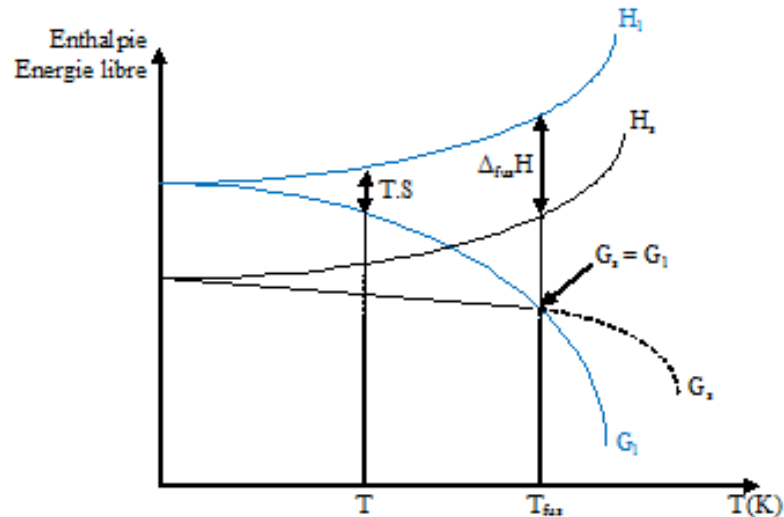
Une autre fonction d'état importante est l'entropie (notée  $S$ ). Elle permet de mesurer le degré de désordre d'un système. En effet, plus les éléments d'un système sont désordonnés et plus l'entropie du système est élevée.



Connaissant  $H$  et  $S$ , il est alors possible de calculer l'énergie libre de Gibbs  $G$ . L'énergie de Gibbs est l'énergie du système qui dépend de la température  $T$  et de la pression  $P$  :

$$G(P, T) = H(P, S) - T.S(T)$$

La figure 1.3 montre la dépendance des variables de l'équation en fonction de la température à une pression donnée. Ces courbes montrent qu'à la température de fusion, l'enthalpie libre d'un solide est égale à celle de sa forme liquide et que  $\Delta_{\text{fus}}H$  (enthalpie de fusion) correspond à l'écart entre la courbe correspondant à l'enthalpie du solide et celle correspondant à l'enthalpie du liquide à la température de fusion. A cette température, le système est à l'équilibre,  $G_s = G_l$  et  $\Delta G = 0$ .



**Figure 1.3 :** Evolution de l'enthalpie libre ( $G$ ) et de l'enthalpie ( $H$ ) en fonction de la température à une pression donnée.

$H_s$  et  $H_l$  : enthalpies du solide et du liquide,  $G_s$  et  $G_l$  : enthalpies libres du solide et du liquide,  $\Delta_{\text{fus}}H$  et  $T_{\text{fus}}$  : enthalpie et température de fusion

Néanmoins, ces diagrammes énergie-température restent critiquables car ce sont des diagrammes théoriques faisant abstraction de la vapeur. Ils sont donc expérimentalement faux. Ces diagrammes restent cependant « quotidiennement » utilisés dans le développement pharmaceutique car ils permettent de décrire un système en donnant des images simples des énergies conventionnelles. Expérimentalement, lors d'une fusion, l'équilibre se fait entre le solide, le liquide et le gaz (point triple de fusion). Pour se positionner dans le cas décrit dans le diagramme énergie-température précédent et n'obtenir qu'un équilibre entre le solide et le liquide, il faudrait empêcher la vapeur de se former. Pour cela, il serait nécessaire de former un système où il n'existe aucun vide permettant à la vapeur de se former. Dans un cas expérimental, le vide cité précédemment n'est pas réalisé et il y a donc formation de la vapeur. L'enthalpie libre de vapeur vient alors se rajouter aux enthalpies libres du solide et du liquide et, lors de la fusion, il y a alors égalité entre ces trois enthalpies libres (G).

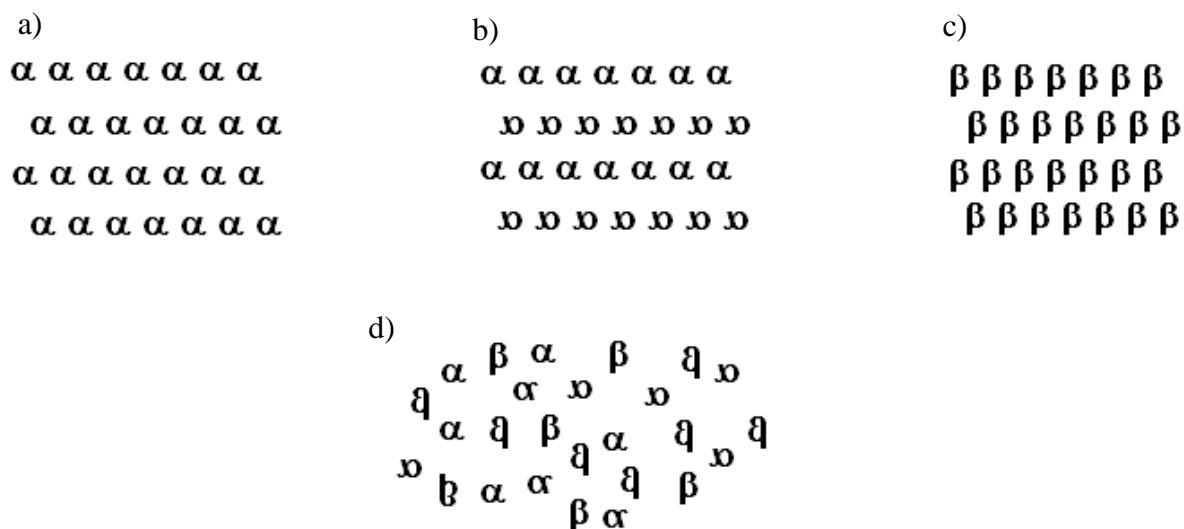
### **1.3 Notion de polymorphisme**

Le polymorphisme est une propriété qui concerne un grand nombre des molécules utilisées dans le domaine pharmaceutique [Giron D. 1994]. En effet, les différences de propriétés physico-chimiques entre les différents polymorphes induisent des changements parfois importants en termes de stabilité, de dissolution, de granulométrie ou encore de biodisponibilité. Dans un tel contexte, un grand intérêt est porté par l'industrie pharmaceutique à l'étude du polymorphisme des différents principes actifs et de leur comportement.

### 1.3.1 Définition

Le polymorphisme tire son nom des racines grecques anciennes qui signifie « plusieurs formes ». La première étude mentionnant le polymorphisme date du XVIII<sup>ème</sup> siècle où Klaproth observa la cristallisation sous deux différentes formes du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) : l'aragonite et la calcite. Quelques années plus tard, l'étude du carbone par H. Davy montra que le graphite et le diamant étaient deux formes différentes du carbone en phase solide [Bauer M. 2005]. Ce n'est en revanche que dans les années 1960 que paraît la définition publiée par McCrone : « le polymorphisme de tout élément ou composé est son aptitude à cristalliser sous plus d'une espèce de cristaux distincts » [Brittain H. G. 2009].

Le concept de polymorphisme peut être introduit par la notion d'empilement que l'on trouve facilement dans la littérature [Bauer M. 2004b]. Néanmoins, le polymorphisme d'empilement décrit une situation dans laquelle les molécules sont rigides. Dans le cas des molécules utilisées dans le domaine pharmaceutique, on parle de polymorphisme de conformation dans lequel les molécules sont flexibles et peuvent adopter différentes conformations. Les différents modèles de polymorphisme de conformation sont illustrés figure 1.4, dans tous ces modèles, une seule et même molécule organique est utilisée. Les figures 1.4a et 1.4b correspondent à des solides cristallins différents malgré qu'ils soient composés de la même molécule organique ayant la même conformation. Ces deux structures ne diffèrent donc l'une de l'autre que par l'empilement des molécules. La figure 1.4c possède le même système d'empilement que la figure 1.4a néanmoins ces deux structures cristallines se différencient par la conformation de la molécule organique qui diffère entre les deux cas. Le dernier modèle (figure 1.4d) représente le solide dans son état amorphe. Dans ce cas, l'arrangement des molécules est aléatoire sans distinction entre les différentes conformations de la molécule.



**Figure 1.4 :** Différentes formes de polymorphisme de conformation.

$\alpha$  et  $\beta$  : symbolisent la même molécule mais sous deux conformations différentes.

### 1.3.2 Stabilité relative entre deux polymorphes

L'étude thermodynamique des polymorphes d'une même substance va permettre d'établir la stabilité relative de ces différentes formes polymorphes.

Prenons l'exemple de deux polymorphes  $\alpha$  et  $\beta$  d'une même substance. Pour connaître la stabilité relative des polymorphes et le sens de la transformation entre les deux polymorphes, il convient de calculer la variation d'énergie libre  $\Delta G$  :

$$\Delta G_{\alpha\beta}(T) = \Delta H_{\alpha\beta}(T) - T \cdot \Delta S_{\alpha\beta}(T)$$

Avec:

$$\Delta H_{\alpha\beta} = \Delta H_{\beta} - \Delta H_{\alpha}$$

$$\Delta S_{\alpha\beta} = \Delta S_{\beta} - \Delta S_{\alpha}$$

$$\Delta G_{\alpha\beta} = \Delta G_{\beta} - \Delta G_{\alpha}$$

Pour qu'un polymorphe soit plus stable qu'un autre, il faut que son énergie de Gibbs soit inférieure à celle de l'autre polymorphe. Dans notre cas, si  $\Delta G_{\alpha\beta} > 0$  alors cela signifie que le polymorphe  $\alpha$  possède une énergie libre inférieure à celle du polymorphe  $\beta$  et qu'il est donc le polymorphe le plus stable.

Rappelons que  $G$  dépend de la température et de la pression. La projection de  $G$  dans le plan pression-température permet alors d'obtenir les diagrammes de phases d'un constituant. Ces diagrammes donnent, en fonction de la température et de la pression, les domaines de stabilité des différentes formes polymorphes d'un constituant auxquels s'ajoutent les domaines de stabilité du liquide et de la vapeur.

Si, pour une pression donnée, on représente l'évolution de  $G$  pour les deux polymorphes, en fonction de la température. On obtient alors les diagrammes Energie-température. On peut également représenter sur ces diagrammes la variation de l'enthalpie  $H$  avec la température.

En fonction de la température ou de la pression, deux cas peuvent se présenter :

1- un des deux polymorphes peut se transformer, de manière stable, en l'autre polymorphe sous l'effet de la température ou de la pression.

2- aucune transformation physique n'aura lieu entre les deux polymorphes.

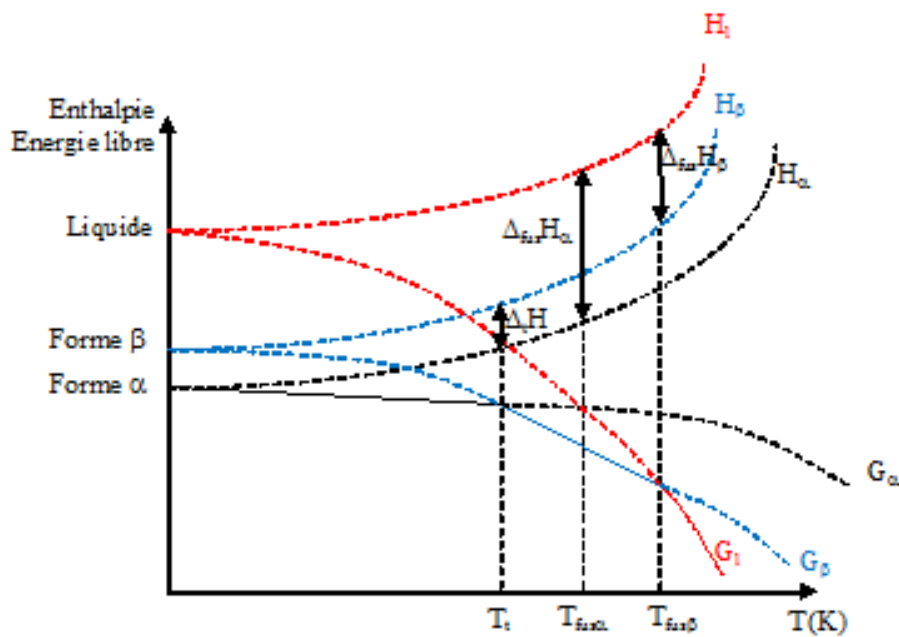
Il est important de bien comprendre que les diagrammes énergie-température sont établis pour une pression donnée. Lorsque cette pression est modifiée, le système peut adopter un autre comportement et, dans ce cas, le diagramme énergie-température sera modifié.

### 1.3.3 Notions d'énantiotropie et de monotropie

Reprenons le cas d'une substance pouvant exister à l'état solide sous forme  $\alpha$  et  $\beta$ . Dans l'hypothèse où la forme  $\alpha$  est stable à température ambiante, si l'on chauffe la forme  $\alpha$ , celle-ci peut subir une transition solide-solide à la température de transition  $T_t$  pour former la forme  $\beta$  stable pour  $T > T_t$ . Si l'on part de la forme  $\beta$  stable à  $T > T_t$  et que l'on refroidit le système, la forme  $\beta$  peut alors se transformer à nouveau en forme  $\alpha$ . La transformation est alors renversable et on parlera ici de relation énantiotrope entre les deux polymorphes.

Pour une pression donnée, le diagramme représentant l'évolution de l'enthalpie libre et de l'enthalpie en fonction de la température montre que les courbes d'énergie libre des formes  $\alpha$  et  $\beta$  se coupent à la température  $T_t$  (Figure 1.5). Les formes  $\alpha$  et  $\beta$  ont la même énergie libre en ce point et sont en équilibre :  $G_\alpha = G_\beta$ , soit encore  $\Delta G_{\alpha\beta} = 0$ . Puis la forme  $\alpha$  se transforme en forme  $\beta$ . En augmentant la température, la courbe d'enthalpie libre de la forme  $\beta$  va croiser celle du liquide, ce qui correspond à la température de fusion de la forme  $\beta$ . Ce diagramme permet également de voir quelles sont les températures et enthalpies de fusion de la forme  $\alpha$  dans le cas où elle existerait sous forme métastable dans le domaine de stabilité de la forme  $\beta$ .

A cette même température d'équilibre,  $H_\beta > H_\alpha$  et donc par conséquent  $S_\beta > S_\alpha$  puisque, à l'équilibre  $\Delta H = T \cdot \Delta S$



**Figure 1.5 :** Evolution de l'enthalpie libre (G) et de l'enthalpie (H) en fonction de la température à pression constante des formes polymorphes  $\alpha$  et  $\beta$  dans le cas d'un comportement énantiotrope.

$G_\alpha$ ,  $G_\beta$  et  $G_l$  : Enthalpies libres de la forme  $\alpha$ , de la forme  $\beta$  et du liquide

$H_\alpha$ ,  $H_\beta$  et  $H_l$  : enthalpie de la forme  $\alpha$ , de la forme  $\beta$  et du liquide

$\Delta_t H$  et  $T_t$  : enthalpie et température de transition entre la forme  $\alpha$  et la forme  $\beta$

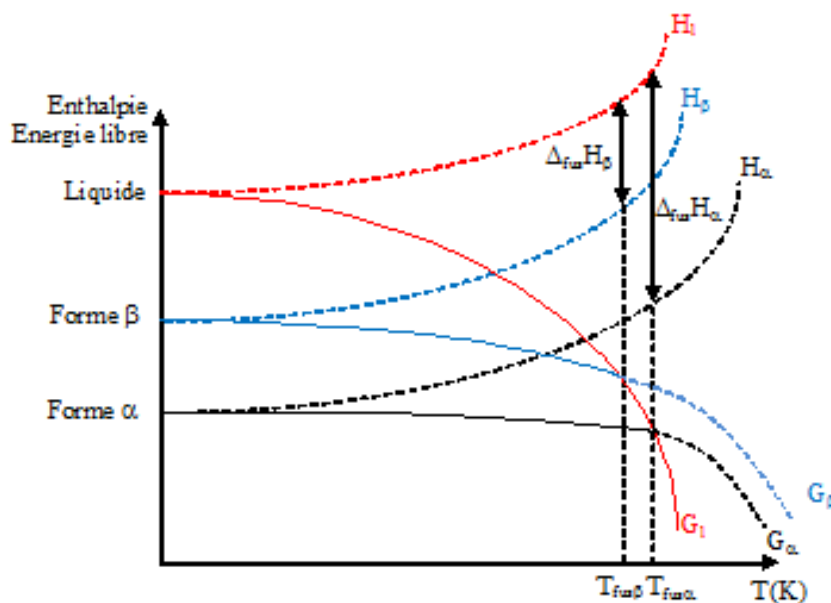
$\Delta_{\text{fus}} H_\alpha$  et  $T_{\text{fus}\alpha}$  : enthalpie et température de fusion de la forme  $\alpha$  dans le cas où elle existerait dans le domaine de température de la forme  $\beta$

$\Delta_{\text{fus}} H_\beta$  et  $T_{\text{fus}\beta}$  : enthalpie et température de fusion de la forme  $\beta$

On voit bien, d'après ces courbes, qu'en dessous de la température de transition, le polymorphe  $\alpha$  est le plus stable ( $G_\alpha < G_\beta$ ) tandis qu'au-dessus de cette température, le polymorphe  $\beta$  est le polymorphe le plus stable puisque  $G_\beta < G_\alpha$ .

Chaque polymorphe possède donc son propre domaine de stabilité. Ainsi, à une température  $T$  pour une pression  $P$  donnée, il n'existe qu'un polymorphe stable. L'autre polymorphe est alors dit métastable.

Lorsqu'il n'existe aucune transformation stable d'une forme polymorphe vers l'autre forme, mais que les deux formes polymorphes existent réellement, on parle alors de monotropie. Dans ce cas, la forme ayant l'énergie libre la plus faible est stable sur tout le domaine de température jusqu'à sa fusion. L'autre forme est alors métastable sur tout le domaine. Dans tout le domaine d'existence de l'état solide, les courbes d'énergie libre des deux formes ne se croisent jamais (figure 1.6).



**Figure 1.6 :** Evolution de l'enthalpie libre (G) et de l'enthalpie (H) en fonction de la température à pression constante des formes polymorphes  $\alpha$  et  $\beta$  dans le cas d'un comportement monotrope.

$G_\alpha$ ,  $G_\beta$  et  $G_l$  : Enthalpies libres de la forme  $\alpha$ , de la forme  $\beta$  et du liquide

$H_\alpha$ ,  $H_\beta$  et  $H_l$  : enthalpie de la forme  $\alpha$ , de la forme  $\beta$  et du liquide

$\Delta_{\text{fus}}H_\alpha$  et  $T_{\text{fus}\alpha}$  : enthalpie et température de fusion de la forme  $\alpha$

$\Delta_{\text{fus}}H_\beta$  et  $T_{\text{fus}\beta}$  : enthalpie et température de fusion de la forme  $\beta$



Comme dit précédemment, la relation entre deux polymorphes d'un système peut se décrire en fonction de la température et de la pression (diagrammes pression-température). D'après la littérature, il existe quatre diagrammes d'état pression-température pouvant traduire ces cas (figure 1.7) [Bakhuis Roozeboom H. W. 1901].

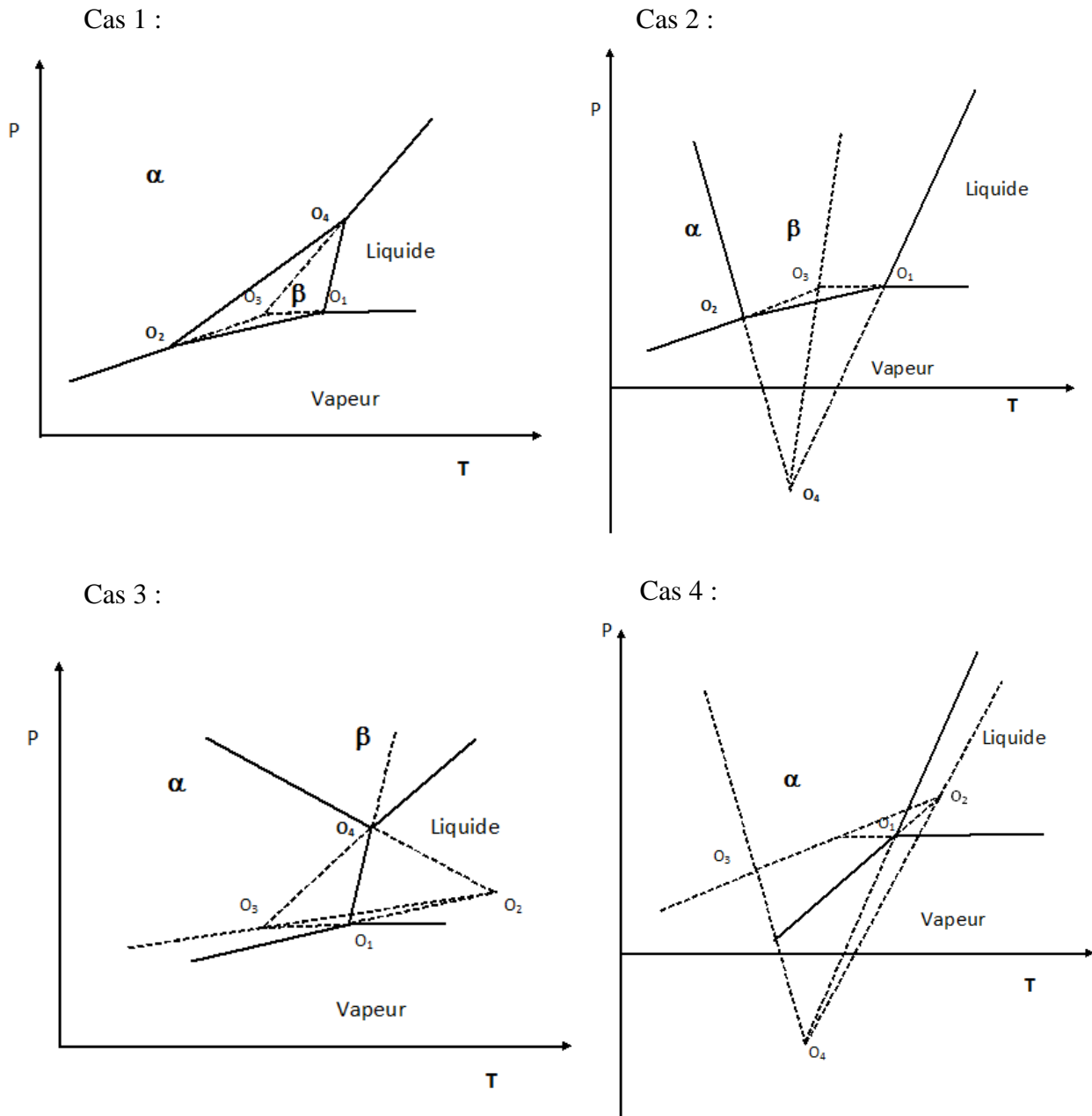
Le premier cas (Cas 1 Figure 1.7) est un cas où, dépendant de la pression exercée sur le système, ce dernier peut se comporter de manière énantiotrope ou monotrope. Lorsque l'on se place à une pression basse située entre les pressions correspondant aux points triples  $O_2$  et  $O_4$ , la forme  $\alpha$  est alors stable à basse température. Lorsque la température est augmentée, une transition solide-solide entre la forme  $\alpha$  et la forme  $\beta$  a alors lieu. Puis, si l'on continue à chauffer, la forme  $\beta$  va alors fondre. Si l'on se place cette fois à une pression élevée située au-dessus du point triple  $O_4$ , le système a alors un comportement monotrope. En effet, la forme  $\alpha$  passe directement à l'état liquide sans transiter en forme  $\beta$  lorsque l'on chauffe.

Pour le deuxième cas (Cas 2, figure 1.7), on remarque que quelle que soit la pression  $P$  exercée sur le système, lorsque celui-ci est sous forme  $\alpha$ , la forme  $\alpha$  est toujours stable à basse température et la forme  $\beta$  devient stable à plus haute température. On parle alors de comportement énantiotrope. Comme décrit précédemment, la forme  $\alpha$  peut donc se transformer en forme  $\beta$ . Cette transition étant réversible et les deux formes ayant chacune un domaine de stabilité, le système a alors un comportement énantiotrope.

Le troisième cas (cas 3, figure 1.7) est, comme le premier cas, un cas où le système peut avoir un comportement énantiotrope ou monotrope en fonction de la pression exercée sur le système. Pour une pression située entre les points triple  $O_1$  et  $O_4$ , la forme  $\alpha$  est stable à basse température. Lorsque l'on chauffe, cette forme passe directement à l'état liquide sans transiter en une autre forme. Le système a donc un comportement monotrope qui peut être assimilé au premier cas lorsque l'on se place à haute pression. Si, par contre, on exerce une pression

située au-dessus du point triple  $O_4$ , la forme stable  $\alpha$  va transiter en forme  $\beta$  qui, ensuite va fondre lorsque l'on continue à chauffer. Chaque forme a donc son propre domaine de stabilité, le système a alors un comportement énantiotrope.

Le quatrième cas (cas 4, figure 1.7) est un cas de monotropie absolue puisque, quel que soit la pression  $P$  exercée au-dessus du point triple  $O_1$ , seule la forme  $\alpha$  est stable tandis que la forme  $\beta$  n'a aucun domaine de stabilité. La transition solide-solide n'est alors pas réversible et ne peut se faire que de la forme métastable vers la forme stable. La forme  $\alpha$  passe donc directement à l'état liquide sans transiter en une autre forme, le système a ainsi un comportement monotrope.



**Figure 1.7 :** Les quatre diagrammes d'état pression-température possibles dans le cas d'un dimorphisme.

Ligne pointillée : prolongation métastable des courbes stables d'équilibre entre deux phases (lignes pleines).

Il existe quatre règles thermodynamiques développées par Burger et Ramberger [Burger 1979a][Burger 1979b] qui permettent de différencier les comportements monotrope et énantiotrope d'un système. Néanmoins, deux règles sont le plus souvent utilisées :

- Règle sur les enthalpies de transition : Deux polymorphes ont un comportement énantiotrope si la transition solide-solide entre ces deux polymorphes est endothermique. De même, deux polymorphes ont un comportement monotrope si la transition solide-solide entre ces deux polymorphes est exothermique.

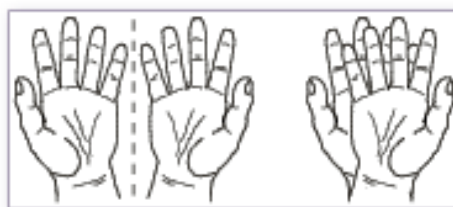
- Règle sur les enthalpies de fusion : si le polymorphe ayant la température de fusion la plus haute a également l'enthalpie de fusion la plus élevée, alors les deux polymorphes ont un comportement monotrope. En revanche, si ce polymorphe, possédant la température de fusion la plus haute, a l'enthalpie de fusion la plus faible alors les deux polymorphes ont un comportement énantiotrope.

## **1.4 Chiralité et diagrammes de phases entre énantiomères**

La notion de chiralité a été évoquée pour la première fois par Pasteur dans la deuxième moitié du XIX<sup>e</sup> siècle [Gargaud M. 2003]. Pasteur avait perçu cette notion grâce à ses études sur les fermentations du vin.

### 1.4.1 Chiralité

La chiralité est une notion répandue dans le domaine de la chimie mais qui se retrouve également dans la vie de tous les jours. Le terme « chiralité » est utilisé pour désigner la capacité d'exister sous deux formes optiquement inversées, appelées énantiomères. Ainsi, des molécules peuvent être chirales mais également nos mains ou nos pieds. Un objet est dit chiral s'il est l'image miroir d'un autre objet et non superposable, il ne possède alors pas de symétrie (Figure 1.8).

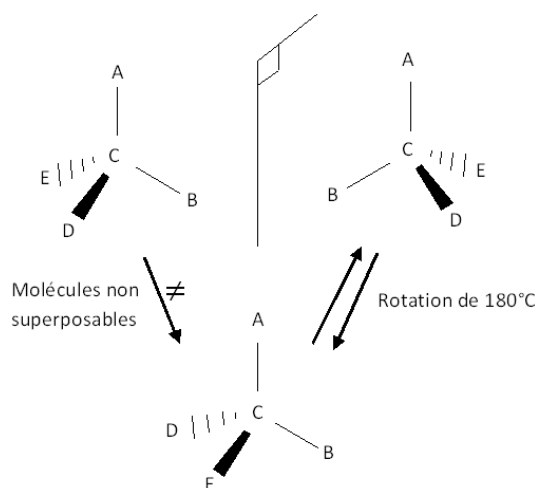


**Figure 1.8 :** Main gauche image de la main droite à travers un miroir mais les deux mains ne sont pas superposables

Dans le domaine pharmaceutique, la notion de chiralité et d'énantiomères est très importante. En effet, l'utilisation de molécules chirales est répandue dans ce domaine. Beaucoup de médicaments ne sont constitués que d'un des deux énantiomères d'une molécule. Des études ont montré que l'effet du mélange racémique était moins important que celui de l'énantiomère le plus efficace tandis que le second énantiomère pouvait avoir des effets secondaires plus ou moins graves [Thall E. 1996].

Au niveau des molécules, un carbone asymétrique possédant ainsi quatre substituants différents peut donner lieu à deux stéréoisomères en fonction de l'arrangement des substituants (Figure 1.9). Les stéréoisomères sont qualifiés d'énantiomères. Les deux

énantiomères peuvent être différenciés par leur pouvoir rotatoire. Si le plan de polarisation de la lumière est dévié vers la gauche, l'énantiomère est dit *lévogyre* et si la déviation est vers la droite, l'énantiomère est dit *dextrogyre*. Néanmoins, les propriétés physiques de deux énantiomères restent les mêmes, à savoir qu'ils ont le même point de fusion, la même masse, la même solubilité ou encore la même structure cristalline.



**Figure 1.9 :** Deux molécules énantiomères (image de l'une par rapport à l'autre) et non superposables. (A, B, D et E sont quatre groupements différents portés par C)

Cahn, Ingold et Prelog ont établi en 1966 des règles permettant d'homogénéiser la nomenclature des énantiomères [Cahn R.S. 1966]. Cette nomenclature porte sur la configuration absolue des énantiomères. Pour un atome asymétrique, la configuration absolue peut être R (*rectus*) ou S (*sinister*) selon la disposition des substituants. Si les substituants peuvent être lus par priorité décroissante (d'après les règles de Cahn, Ingold et Prelog) dans le sens des aiguilles d'une montre, la configuration absolue est R, si la lecture se fait dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, la configuration absolue est S. Hormis la nomenclature R/S, il existe deux autres types de nomenclature qui sont utilisés pour différencier les énantiomères : la nomenclature D/L et la nomenclature +/- . Néanmoins, ces

deux types de nomenclature ne seront pas détaillés ici car elles ne sont pas utilisés dans ces travaux.

Lorsqu'il n'existe pas de forces physiques asymétriques fortes, les deux énantiomères (R et S) sont produits en égale quantité. Le mélange est alors appelé « racémique ». La lumière polarisée n'est, dans ce cas, pas déviée puisque le mélange comporte la même quantité de substance déviant la lumière polarisée vers la droite que vers la gauche. La mesure du pouvoir rotatoire permet de connaître la teneur de chaque énantiomère dans un échantillon.

### **1.4.2 Diagrammes de phases entre énantiomères**

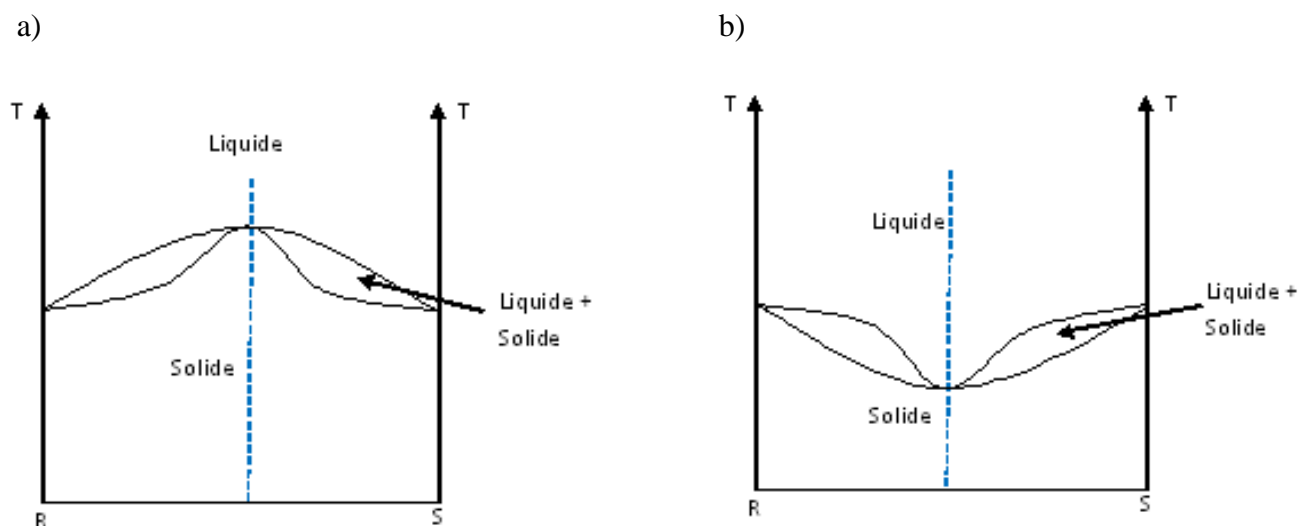
Comme dit précédemment, les propriétés physico-chimiques des deux énantiomères sont les mêmes. Dans ce cas, pour deux énantiomères permettant d'obtenir des équilibres hétérogènes, les diagrammes de phases décrivant ces équilibres sont symétriques par rapport à la composition équimolaire.

Dans le cadre de ces travaux, l'étude sera limitée aux systèmes binaires de couple d'énantiomères. Le produit, représenté par une molécule contenant un carbone asymétrique, peut se trouver soit sous la forme des énantiomères purs R ou S, soit sous la forme d'un mélange 50/50 des deux énantiomères. Dans le cas où le produit se trouve dans un mélange 50/50 des deux énantiomères, il existe trois situations différentes. La première situation est le cas correspondant à la solution solide aussi appelée pseudoracémate lorsque les énantiomères sont en mélange 50/50. Dans ce cas, les deux énantiomères sont miscibles à l'état solide. La seconde situation où les deux énantiomères sont en mélange 50/50 correspond au conglomérat où cette fois la miscibilité des deux énantiomères à l'état solide est nulle. Pour finir, la dernière situation est celle du racémate qui est un composé défini en proportion 50/50

de chaque énantiomère caractérisé par une structure cristalline où les deux énantiomères coexistent.

### 1.4.2.a La solution solide

La solution solide est un cristal homogène dont l'intégration des deux énantiomères est subie sans modification importante. Sa composition et ses propriétés sont alors intermédiaires à celles des constituants purs. Il existe deux cas de formation de solution solide : la solution solide par insertion et la solution solide par substitution. Un couple d'énantiomères peut alors former une solution solide qui peut être soit à minimum soit à maximum (Figure 1.10). La solution solide est dite complète si les énantiomères se répartissent aléatoirement sur tout le domaine de composition ( $x = 0$  à  $x = 1$ ). Dans le cas contraire, c'est une solution solide partielle.



**Figure 1.10 :** Diagrammes de phases pour un système binaire d'énantiomères dans le cas d'une solution solide. a) Solution solide à maximum b) Solution solide à minimum

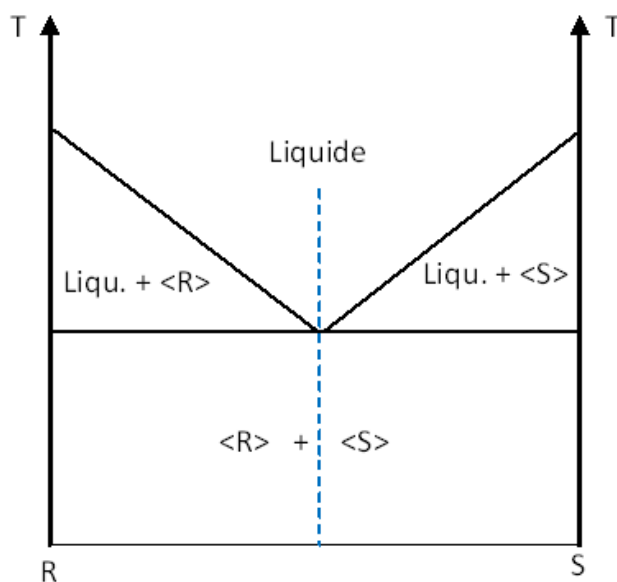
( --- ) Composition 50/50 appelée pseudoracémate.



Les diagrammes montrent qu'il existe une composition pour laquelle la solution solide fond à température constante, comme un corps pur. Cette composition correspond au mélange 50/50 des deux énantiomères et la solution solide est alors appelée dans ce cas pseudoracémate.

### 1.4.2.b Le conglomérat

Lorsque deux énantiomères sont non miscibles à l'état solide, ils donnent généralement naissance à un diagramme à eutexie (figure 1.11). La composition eutectique correspond alors au mélange équimolaire des deux énantiomères, que l'on nomme conglomérat.



**Figure 1.11 :** Diagramme de phases à eutexie entre deux énantiomères.

( --- ) Composition 50/50 : conglomérat

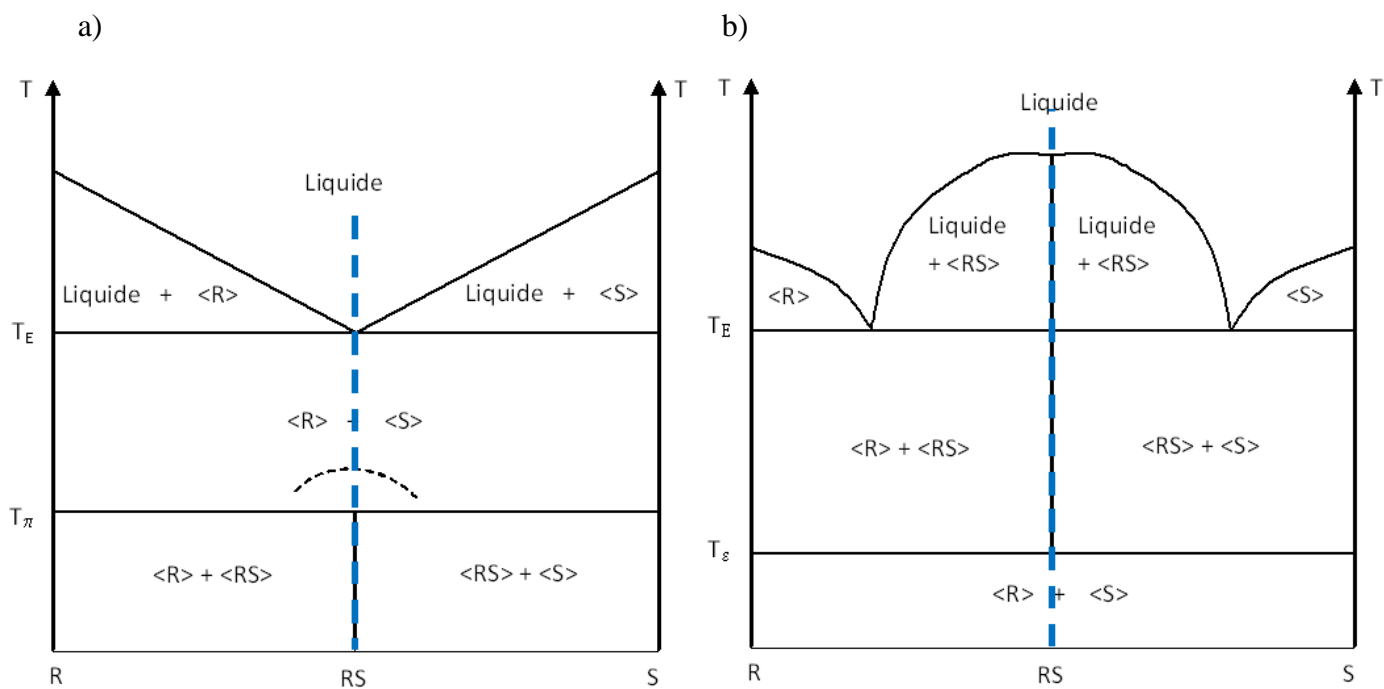
Parmi les mélanges racémiques, seulement 5 à 10% sont susceptibles de donner un conglomérat. La plupart (environ 85%) cristallise dans un réseau appartenant à seulement deux groupes d'espace :  $P2_12_12_1$  et  $P2_1$  [Brock C.P. 1994].

### 1.4.2.c Le racémate ou composé racémique

Les mélanges constitués à 50/50 des deux énantiomères peuvent aussi cristalliser sous forme de composé racémique (90 à 95% des cas). Ces composés forment un composé défini de stœchiométrie 1:1 du mélange équimolaire d'énantiomères.

A titre d'exemple, deux diagrammes de phases d'un couple d'énantiomères pouvant cristalliser, à la composition 50/50, sous la forme d'un composé racémique sont représentés figure 1.12. Le composé racémique peut alors avoir différents comportements selon que sa température de fusion est au-dessus ou en-dessous de celle du conglomérat. Selon le cas, le composé racémique peut avoir les deux comportements suivants :

- subir une transition solide-solide de type péritectoïde et se décomposer en conglomérat à  $T_\pi$  (figure 1.12a)
- cristalliser à partir du conglomérat grâce à une transition solide-solide de type eutectoïde à  $T_e$  (figure 1.12b)



**Figure 1.12 :** Diagrammes de phases pour un système d'énantiomères. a) Composé racémique stable sous  $T_\pi$  se décomposant par transition de type péritectoïde b) Conglomerat stable sous  $T_\varepsilon$  se cristallisant en composé racémique par transition de type eutectoïde

( --- ) Composition à 50/50 des deux énantiomères

## Références

M. Bauer, Cristallisation et polymorphisme – Description du phénomène, *Techniques de l'ingénieur*, (2004a) référence AF3640.

M. Bauer, Cristallisation et polymorphisme – Physico-chimie du polymorphisme, *Techniques de l'ingénieur*, (2004b) référence AF3641.

D. Voet, J. G. Voet, Biochemistry, *John Wiley & Sons*, (2004).

H. G. Brittain, Preformulation in solid dosage oral form. Developing a profile of the active pharmaceutical ingredient, *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, (2008).

D. Giron, Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates, *Thermochim. Acta*, 248 (1994) 1-59.

M. Bauer, Polymorphismes Origine et méthodes d'études, *Techniques de l'ingénieur*, (2005) référence P1097.

H. G. Brittain, Polymorphism in Pharmaceutical Solids, *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 192 (2009).

H. W. Bakhuis Roozeboom, Die heterogenen Gleichgewichte vom Standpunkte der Phasenlehre. Erstes Heft: Die Phasenlehre—Systeme aus einer Komponente. *Braunschweig, Germany: Vieweg.*, (1901) 183–189. A. Burger, R. Ramberger, On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystal, i. theory of thermodynamics rules, *Mikrochim. Acta*, II (1979a) 259-271.

A. Burger, R. Ramberger, On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystal, ii. Applicability of thermodynamics rules, *Mikrochim Acta*, II (1979b) 259-271.

M. Gargaud, Les traces du vivant, *Presses universitaires de Bordeaux*, (2003) 89.

E. Thall, When drugs molecules look in the mirror, *J. Chem. Educ.*, 73 (1996) 481-484.

R. S. Cahn, C. Ingold, V. Prelog, Specification of molecular chirality, *Angew. Chem. Int. Edit.*, 5 (1966) 385-415.

C. P. Brock, J. D. Dunitz, Towards a grammar of crystal packing, *Chem. Mater.*, 6 (1994) 1118-11.

## **Chapitre 2 : Techniques et méthodes d'analyse**

2.1	L'analyse thermique.....	38
2.1.1	L'analyse enthalpique différentielle .....	38
2.1.2	La thermogravimétrie.....	41
2.1.3	La thermo-microscopie .....	44
2.2	Diffraction des rayons X .....	44
2.2.1	Diffraction des rayons X sur poudres .....	46
2.2.2	Diffraction des rayons X sur monocristal .....	49
2.3	Technologie térahertz.....	50
	Références.....	56

Ce chapitre présente les différentes techniques utilisées dans ces travaux. Ces techniques sont brièvement expliquées ainsi que les types d'appareils et les différents paramètres utilisés.

## 2.1 L'analyse thermique

L'analyse thermique est une méthode consistant en l'analyse de différents paramètres physiques d'une substance tels que la pression, la masse, l'élasticité, la déformation ou encore le flux de chaleur en fonction de la température ou du temps. Dans ce travail, trois techniques ont principalement été utilisées :

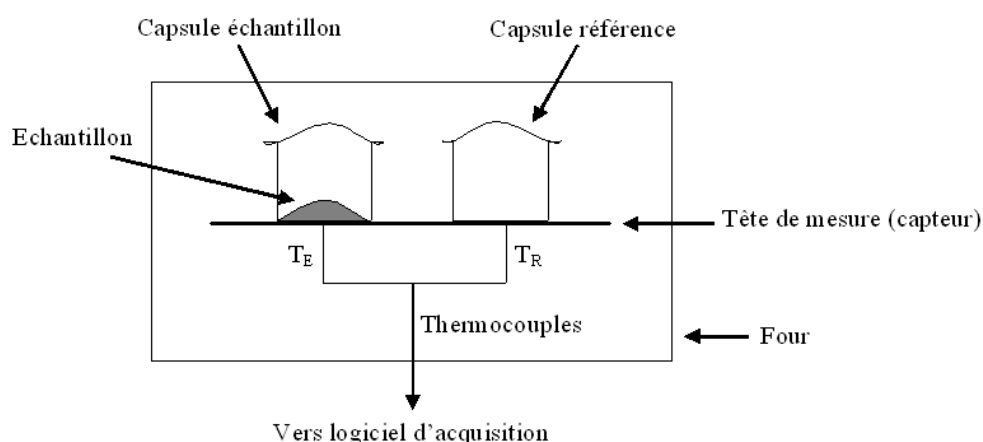
- L'analyse enthalpique différentielle qui consiste en la mesure du flux de chaleur en fonction de la température
- La thermogravimétrie qui consiste en la mesure de la masse en fonction de la température
- La thermomicroscopie qui permet de faire subir des rampes de températures tout en visualisant directement les changements subits par le composé

Ces trois techniques vont donc être développées plus en détail dans cette partie

### 2.1.1 L'analyse enthalpique différentielle

L'analyse enthalpique différentielle ou differential scanning calorimetry en anglais (l'abréviation DSC sera majoritairement utilisée dans ce travail) est, comme son nom l'indique, une méthode différentielle. Cela signifie que son comportement est étudié en comparaison avec celui d'une référence, cette référence étant alors un corps inerte. Cette mesure permet une augmentation de la sensibilité de la méthode par rapport à une mesure directe (ou absolue) du comportement. L'échantillon que l'on veut étudier est placé dans une capsule d'aluminium sertie ou non selon l'étude. Dans le cas d'une analyse différentielle, une seconde capsule d'aluminium contient un corps de référence qui doit être inerte vis-à-vis de

la température dans la gamme étudiée. Dans notre cas, la capsule de référence est vide. Les capsules sont ensuite placées sur les deux cellules de chauffes à thermocouples qui composent l'enceinte adiabatique de l'analyseur à flux de chaleur (Figure 2.1). L'acquisition des données se faisant de manière simultanée et par comparaison pour l'échantillon et la référence, le système doit être symétrique afin qu'ils reçoivent la même quantité de chaleur.

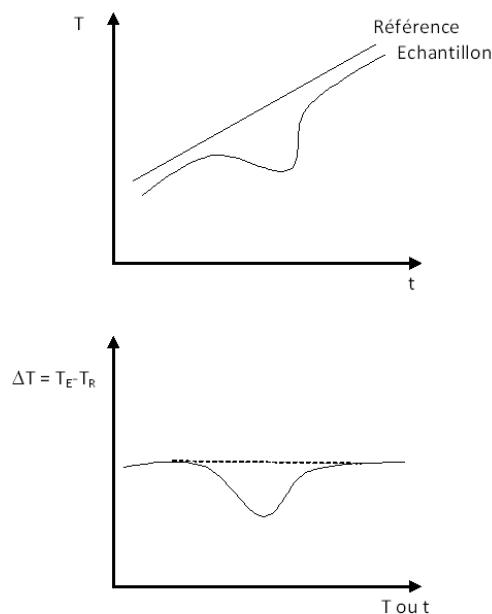


**Figure 2.1 :** Schéma d'une DSC à flux de chaleur

Deux DSC de type DSC 822° (Mettler Toledo S.A.) ont été utilisées, dont une étant équipée d'un passeur d'échantillon. Ces analyseurs ont une gamme de température pouvant aller de  $-80^{\circ}\text{C}$  à  $700^{\circ}\text{C}$ . Différentes rampes de températures peuvent alors être programmées avec différentes vitesses de chauffe. L'influence des vitesses de chauffe sur le flux de chaleur et la température mesurée est éliminée grâce à l'association de la technologie utilisée dans le capteur à thermocouples multiples avec le four de la DSC et le système de calibration de l'échantillon appelé Tau Lag [T. Kehl 1991]. Ces rampes de températures (évolution de la température en fonction du temps) sont simultanément appliquées sur l'échantillon ainsi que sur la référence. La différence de température ( $|\Delta T|$ ) est alors mesurée entre l'échantillon



( $T_E$ ) et la référence ( $T_R$ ) (Figure 2.2). Celle-ci reste constante dans le cas où l'échantillon ne subit aucun changement d'état (solidification, évaporation, liquéfaction, ...), en revanche, lorsque l'échantillon subit une transformation, sa température évolue différemment de celle de la référence. On obtient alors une augmentation de la différence de température ( $|\Delta T|$ ) entre l'échantillon et la référence, la fin de la transformation se traduit par un retour à une différence de température constante (retour à la ligne de base).



**Figure 2.2 :** Traitement du signal DSC par différence entre la température échantillon et la température référence ( $\Delta T$ )

Le résultat d'une analyse DSC se présente sous la forme d'un thermogramme donnant la variation du flux de chaleur (exprimé en milliwatt) en fonction de la température. A partir de ce thermogramme DSC, il est possible d'obtenir deux paramètres physico-chimiques importants que sont la température et l'enthalpie de réaction. Par convention, la température est prise à l'onset du pic tandis que l'enthalpie mise en jeu dans la réaction est proportionnelle à la surface du pic. L'enthalpie sera d'autant plus précise que l'échantillon

sera pesé avec précision. Afin d'obtenir ces données, les appareils ont été étalonnés en température et en énergie par deux composés dont les propriétés thermodynamiques sont connues qui sont l'indium et le zinc.

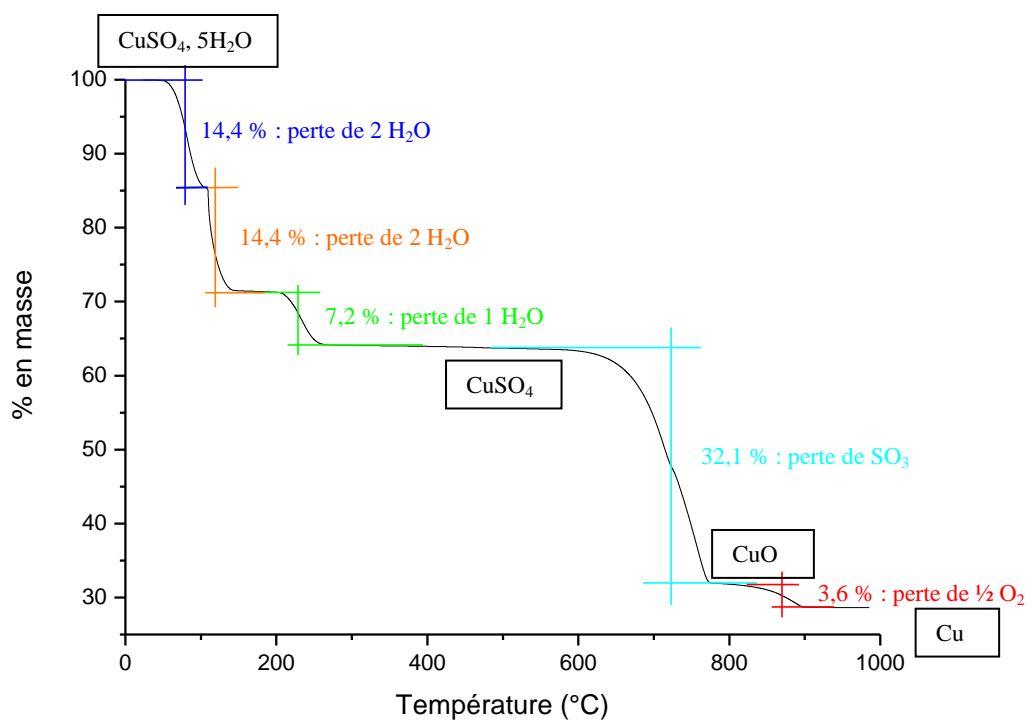
Les composés peuvent présenter deux types de réactions, les réactions exothermiques et les réactions endothermiques. Les réactions exothermiques sont des réactions qui se caractérisent par un dégagement de chaleur, dans ces réactions se retrouvent notamment la cristallisation ou l'oxydation. Les réactions endothermiques sont caractérisées par une absorption de la chaleur ce qui est le cas pour, par exemple, la fusion ou la déshydratation. Par convention, dans ces travaux, les pics exothermiques seront représentés par un signal pointant vers le haut tandis que les pics endothermiques seront représentés par un signal pointant vers le bas.

L'analyse DSC peut donc être utilisée dans des domaines d'application variés comme la mesure de la pureté d'un produit, l'étude de polymorphisme, de diagramme de phases ou encore de stabilité.

### **2.1.2 La thermogravimétrie**

Contrairement à l'analyse enthalpique différentielle, l'analyse thermogravimétrique (ATG ou TGA en anglais) est une mesure directe. D'après la définition établie par l'ICTAC (International Confederation of Thermal Analysis and Calorimetry), l'analyse thermogravimétrique est la mesure de la variation de masse d'un échantillon lorsqu'il est exposé à un régime de température [Hill O. J.]. L'échantillon placé dans une capsule d'aluminium sertie et percée est alors placé directement sur un fléau horizontal qui permet d'obtenir la masse de l'échantillon. Deux analyseurs de type TGA/DSC1 de chez Mettler

Toledo ont été utilisés dans ces travaux. Ces appareils ont une gamme de température d'analyse allant de la température ambiante à 1100°C et différentes vitesses de chauffe peuvent être appliquées. La sensibilité de la balance de ces appareils est de 0,1µg pour des masses de l'ordre de quelques milligrammes. Dans le cas des appareils de type TGA/DSC, les deux techniques d'analyses sont réalisées simultanément. Néanmoins, dans notre cas, les appareils ne sont utilisés que pour leur analyse thermogravimétrique. Les thermogrammes DSC présentés dans ces travaux ainsi que l'association entre les phénomènes thermiques et les pertes de masses visibles en DSC et ATG proviennent des appareils DSC présentés au paragraphe précédent et non des appareils TGA/DSC.



**Figure 2.3 :** Thermogramme ATG du sulfate de cuivre pentahydraté

Les thermogrammes ATG se présentent sous la forme d'un graphe illustrant le pourcentage de masse de l'échantillon en fonction de la température. Les variations de masse sont alors représentées par un « saut » ou une « marche » dont la hauteur correspond à la quantité de masse perdue (Figure 2.3). Comme il est possible de le voir sur le thermogramme ATG du sulfate de cuivre pentahydraté, lorsque l'on chauffe le composé, celui-ci présente plusieurs « sauts » caractéristiques d'une perte de masse. Il y a tout d'abord trois pertes de masse qui ont lieu successivement et qui présentent une quantité de masse perdue de 14,4 % et 7,2 %. Ces pourcentages correspondent à la perte respectivement de deux et une molécule d'eau et donc à la déshydratation du sulfate de cuivre pentahydraté. Au-dessus de 600 °C, deux nouvelles pertes de masse apparaissent avec une quantité de masse perdue de 32,1 % pour le premier saut et 3,6 % pour le second. Le pourcentage de perte de masse obtenu pour le premier saut correspond à la perte du trioxyde de soufre, le composé se retrouve alors sous la forme d'oxyde de cuivre. La dernière perte équivalente à la perte d'une demi-molécule de dioxygène permet d'obtenir le composé cuivre. Ces pertes de masse peuvent alors être associées à différents phénomènes comme une perte de solvant, une sublimation ou un produit de dégradation volatil. L'association à un de ces phénomènes se fait d'une part par la nature de l'échantillon étudié et d'autre part par l'analyse des thermogrammes DSC. L'utilisation de ces deux techniques en simultané et dans des conditions identiques (rampes et vitesses de chauffe) permet de comprendre correctement le comportement d'un échantillon vis-à-vis de la chaleur.

### **2.1.3 La thermo-microscopie**

La thermo-microscopie est une technique de microscopie optique couplée à une cellule de chauffe permettant d'observer les phénomènes subits par un échantillon en fonction de la température. Cette cellule de chauffe permet de reproduire les rampes et les vitesses de chauffe utilisées lors des analyses thermiques courantes (ATG et DSC) afin d'observer et comprendre un phénomène visible dans les thermogrammes ATG et/ou DSC. Grâce à cette méthode, il est possible de visualiser par exemple un changement de forme cristalline ou encore la sublimation d'un échantillon. Pour enregistrer l'évolution de l'échantillon en fonction de la température, des photos sont prises toutes les deux secondes par une caméra numérique de type Moticam 2500 de chez Motic installée sur le microscope et reliée à un ordinateur. L'échantillon est placé, sans préparation préalable, sur une lame introduite dans la cellule de chauffe. La cellule de chauffe est ensuite placée sous le microscope et contrôlée par ordinateur. Le microscope utilisé est un microscope SMZ 168 TL de chez Motic et la cellule de chauffe est de type LTS420 de chez Linkam Scientific. Celle-ci permet d'étudier l'échantillon avec différentes vitesses de chauffe allant de  $0,01^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  à  $50^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  sur une gamme de température comprise entre  $-196^{\circ}\text{C}$  et  $420^{\circ}\text{C}$ .

## **2.2 Diffraction des rayons X**

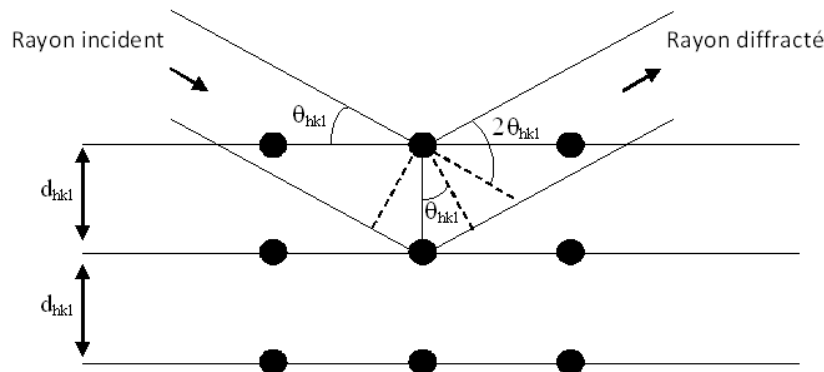
La diffraction des rayons X est une technique utilisée depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle. Elle est, au début, utilisée dans la détermination de la structure des cristaux. Cette méthode est utilisée notamment sur des matériaux présentant les caractéristiques de l'état cristallin (arrangement périodique et ordonné des atomes). Entre autres, elle permet de distinguer un

produit amorphe d'un produit cristallisé. La diffraction des rayons X permet de déterminer la structure d'un nouveau composé, d'identifier une phase cristallisée parmi d'autres grâce aux données préalablement récoltées mais aussi d'évaluer la pureté d'un composé ou le degré de cristallinité. D'un point de vue quantitatif, il est possible grâce à cette technique d'obtenir les paramètres de maille ( $a, b, c, \alpha, \beta, \gamma$ ) ou de déterminer les positions des atomes et le groupe d'espace. Il est également possible de suivre l'évolution d'un composé en fonction de différents paramètres comme la température ou le taux d'humidité et ainsi observer les transitions de phases. Cette technique est donc utile pour ces travaux afin d'identifier des polymorphes d'une même substance. Dans ces travaux, deux techniques seront utilisées, la diffraction des rayons X sur poudre et la diffractions des rayons X sur monocristal.

Le principe de la diffraction des rayons X réside sur le modèle d'un solide cristallin considérant qu'il est constitué de plans parallèles séparés entre eux par une distance caractéristique ( $d$ ). Les atomes constituant ces plans permettent de diffuser le rayonnement incident. Plus il y a d'atomes sur un plan et plus la diffusion sera intense. Afin d'obtenir un phénomène de diffraction, il est nécessaire que le rayonnement incident engendre, par diffusion sur les atomes des plans, une interférence constructive. Cette interférence n'a lieu que dans les conditions de la loi de Bragg. Dans un groupe donné de plans caractérisés par un indice de Miller ( $hkl$ ) et séparés par une distance  $d_{hkl}$ , chaque plan, constitué d'atomes, diffuse la lumière incidente. Pour des interférences constructives, l'angle formé par le rayonnement incident avec les plans doit être égal à celui formé par le rayonnement diffracté avec les plans (Figure 2.4). Ce phénomène a lieu lorsque pour une valeur d'angle  $\theta$ , l'écart entre les rayons diffractés par des plans successifs ( $d_{hkl}$ ) correspond à un nombre entier positif  $n$  (appelé ordre de diffraction) de longueur d'onde  $\lambda$ . Ceci se traduit par la loi de Bragg :

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

La diffraction d'ordre  $n$  sur les plans  $(h\ k\ l)$ , dont la distance inter-réticulaire est égale à  $d_{hkl}$ , est équivalente à la diffraction d'ordre 1 sur les plans  $(nh\ nk\ nl)$ , dont la distance inter-réticulaire est égale à  $d_{hkl}/n$ .



**Figure 2.4 :** Diffraction des rayons X par une famille de plans, selon la loi de Bragg. Le rayon incident ayant une longueur d'onde  $\lambda$

### 2.2.1 Diffraction des rayons X sur poudres

La diffraction des rayons X sur poudres permet de caractériser et d'identifier la forme solide d'un composé et notamment les composés pharmaceutiques lorsqu'il n'est pas possible d'obtenir des monocristaux exploitables. Il est donc possible à partir de cette méthode de retrouver les paramètres de maille d'un réseau cristallin. Le principe réside sur le fait qu'une poudre est constituée de plusieurs petits cristaux du composé chimique appelés cristallites. L'hypothèse est que, parmi ces petits cristaux, il en existe certains dont l'orientation permet d'obtenir une diffraction selon la loi de Bragg quel que soit l'angle  $\theta$ . Dans le cas de la diffraction des rayons X sur poudre, les rayons sont diffractés en forme de cônes de

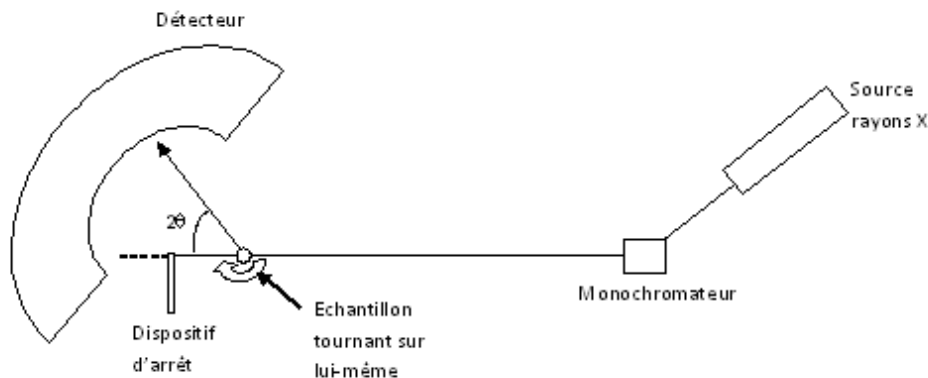
révolution dont l'axe est confondu avec celui du faisceau incident. Le sommet de ces cônes forme un angle de  $2\theta$ .

Il existe différents types de montages pour la diffraction des rayons. Dans ces travaux, le montage suit celui de Debye-Scherrer qui fonctionne en transmission. Le diffractomètre est composé d'une source à rayons X, d'un monochromateur, d'un dispositif d'arrêt du faisceau diffracté et d'un détecteur courbe de  $120^\circ$  (Figure 2.5). La source génère des rayons X grâce au bombardement d'électrons à forte vitesse sur une cible métallique. Afin de créer et d'accélérer des électrons, une haute tension est nécessaire entre une anode et une cathode. Cette haute tension va créer un flux d'électrons se propageant de la cathode vers l'anode (cible). En arrivant sur la cible, le courant d'électron est freiné par les atomes de l'anode ce qui crée un dégagement de chaleur et un faisceau de rayons X. Les rayons X utilisés dans ces travaux proviennent de la raie monochromatique  $K\alpha_1$  du cuivre sélectionnée par le monochromateur mais d'autres composés chimiques peuvent être utilisés comme le molybdène ou le cobalt. Le faisceau est ensuite dirigé vers l'échantillon qui se trouve dans un capillaire de Lindemann ayant un diamètre de 0,5mm. L'échantillon est alors placé sur une tête goniométrique pour être réglé perpendiculairement à l'axe du faisceau afin de pouvoir visualiser tous les plans possibles de la structure cristalline de l'échantillon et de limiter ainsi les orientations préférentielles des cristallites lorsque l'échantillon est mis en rotation à l'aide d'un moteur. L'échantillon dévie alors le faisceau en un cône de sommet  $2\theta$ . Les données sont alors acquises et traitées par le détecteur courbe de  $120^\circ$  et le système d'acquisition.

Les diffractogrammes ont été enregistrés sur un diffractomètre INEL équipé d'un détecteur CPS 120 utilisant une longueur d'onde monochromatique  $\text{Cu } K\alpha_1$  ( $\lambda = 1,5406\text{\AA}$ ). Cette longueur d'onde a été isolée par un monochromateur en quartz focalisant le faisceau. Le détecteur est constitué de 4096 canaux enregistrant des angles compris entre  $4$  et  $120^\circ$  avec un intervalle de  $0,029^\circ$ . Il a été étalonné par un étalonnage externe à partir du



Na<sub>2</sub>Ca<sub>2</sub>Al<sub>2</sub>F<sub>14</sub> (NAC) en mélange avec du bécénate d'argent. Chaque canal a été converti en un angle de diffraction.



**Figure 2.5 :** Schéma d'un dispositif de diffraction à rayons X

Le résultat de ces données se présente sous la forme d'un diffractogramme traçant l'intensité du faisceau renvoyé par l'échantillon selon la loi de Bragg en fonction de l'angle  $2\theta$ . A partir de ce diffractogramme, il est possible de connaître la nature de la phase, le type de réseau cristallin ou encore le contenu de la maille élémentaire. L'intensité des pics ( $I$ ) diffractés est liée à la densité électronique et permet d'obtenir la position des atomes dans la maille.

Les données sont ensuite traitées grâce au logiciel Materials Studio Modeling 5.5 [d'après le site Accelrys A]. Ce logiciel est utilisé pour la résolution de la structure cristalline d'un composé en appliquant différentes méthodes d'affinement sur le diagramme de diffraction des rayons X sur poudre obtenu. La première méthode utilisée dans ces travaux est la méthode de Pawley. Cette méthode permet d'obtenir les paramètres de la maille cristalline ainsi qu'une proposition de groupe d'espace grâce à un affinement global du diffractogramme. On pointe un certain nombre de pics sûrs (généralement entre 20 et 30° en

2 $\theta$ ) puis une recherche de solution est réalisée à partir du module X-Cell [Neumann M. A. 2003] intégré au logiciel. Ces pics sont généralement ceux situés aux plus petits angles car ils sont souvent uniques et permettent donc d'obtenir, en général, une solution plus fiable. L'affinement par la méthode de Pawley est alors effectué par le logiciel et permet d'affiner la maille, les profils de raies, le bruit de fond, le décalage de zéro et l'asymétrie des pics s'il y en a. On crée ensuite la molécule et on la minimise grâce au module forcite [d'après le site Accelrys B] afin d'obtenir une représentation probable de la molécule. La molécule minimisée est alors intégrée dans la maille trouvée afin de réaliser une recherche de la position et de l'orientation de la molécule ainsi que des orientations préférentielles par une méthode de recuit simulé en utilisant le module powder solve [d'après le site Accelrys C]. Si nécessaire, on peut aussi demander à ce que certaines torsions de la molécule puissent être modifiées lors de la recherche. Une fois que l'on obtient un facteur de fiabilité faible, on peut utiliser la deuxième méthode d'affinement qui est la méthode de Rietveld. Dans cette méthode, l'intensité des pics est aussi prise en compte grâce au positionnement de la molécule. Elle permet d'affiner la position de la molécule dans la maille, les torsions, les orientations préférentielles et un facteur d'agitation thermique global pour la molécule. Tous ces paramètres se rajoutent à ceux affinés par la méthode de Pawley.

### **2.2.2 Diffraction des rayons X sur monocristal**

La diffraction des rayons X sur monocristal réside sur le principe des interférences constructives. Un cristal est constitué d'atomes ordonnés dans un réseau périodique. Lorsqu'un faisceau lumineux de rayons X arrive sur le cristal, le faisceau est diffracté pour former des interférences constructives. La position et l'intensité de ces interférences

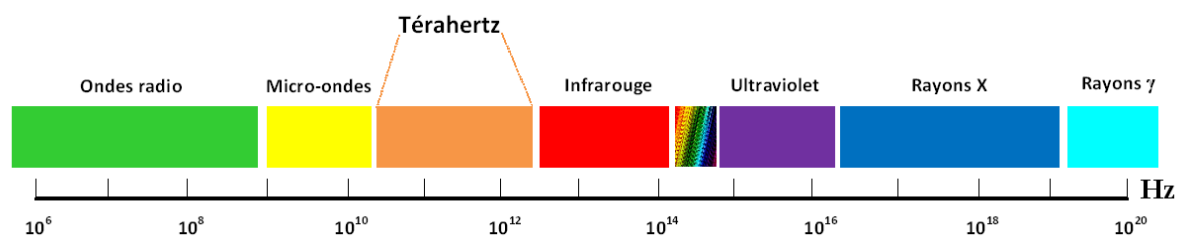
permettront d'obtenir les paramètres de la maille et la position des atomes respectivement. A partir de ces données, les paramètres de maille et le groupe d'espace de la structure cristalline sont alors déterminés.

Les diagrammes de diffraction des rayons X sur monocristal ont été enregistrés sur un diffractomètre Bruker D8 Venture équipé d'un détecteur CDD Photon 100 en mode shutterless. La longueur d'onde utilisée est la longueur d'onde  $K\alpha$  du molybdène ( $\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$ ). Les données ont été enregistrées entre 2.95 et 38.72 degrés en  $2\theta$ . La résolution et l'affinement des structures ont été réalisés grâce aux programmes respectivement SIR2002 et JANA 2006[Burla M. C. 2003] [Petricek V. 2014]. SIR2002 est un programme permettant la résolution de la structure d'un composé à partir de différentes méthodes incorporées dans le programme. Cette résolution sert de point de départ à la résolution de la structure du composé grâce au logiciel JANA2006 qui va alors permettre d'obtenir la position d'atomes et de traiter les paramètres de déplacement atomique. JANA2006 est un logiciel qui permet de réaliser toutes sortes des tâches liées à la résolution de structures mais également de lancer d'autres programmes comme SIR2002.

### 2.3 Technologie térahertz

Les ondes térahertz également appelées infrarouge lointain sont situées entre les micro-ondes et les ondes infrarouges. Leur domaine de fréquence se situe donc entre environ 100 et 6000GHz et donc à des longueurs d'ondes comprises entre 3mm et 50 $\mu$ m. (Figure 2.4). L'intérêt de l'utilisation de cette technologie provient justement de son domaine de fréquence. Les ondes térahertz sont non ionisantes et *a priori* inoffensives pour les organismes vivants. Elles possèdent également, comme les micro-ondes, un fort pouvoir

pénétrant leur permettant de traverser des matériaux minces, tels les vêtements, le bois ou encore le plastique. Ces particularités permettent déjà de trouver cette technologie dans divers domaines comme la sécurité où cette technologie est utilisée pour la détection d'armes, d'explosifs ou de drogues ainsi que dans les scanners corporels utilisés dans les aéroports en remplacement des scanners à rayons X plus nocifs pour l'organisme [Mounaix P. 2010]. Cette technologie reste néanmoins limitée par la présence d'eau ou de métaux qui provoquent une forte absorbance dans le domaine de fréquence des térahertz. Cette limitation peut devenir un atout lorsque l'on veut étudier la présence d'eau ou de métaux dans un composé ou son taux d'humidité [Gallot G. 2008].



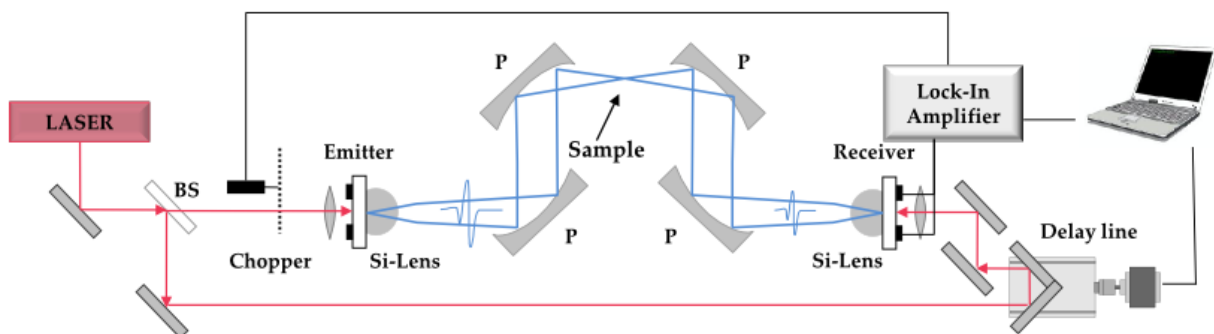
**Figure 2.4 :** Bande de fréquence des ondes radios ( $10^6$  Hz) jusqu'aux rayons  $\gamma$  ( $10^{20}$  Hz)

La technologie térahertz est une technologie en plein essor. En effet, les premiers gros travaux sur cette technologie n'ont pu débuter qu'à partir des années 70 grâce à la transformée de Fourier. Néanmoins, par manque de sources satisfaisantes, les travaux ont été entravés jusqu'à l'apparition de nouvelles sources dans les années 1980 [Han P. 2000]. La technique principalement utilisée pour la caractérisation est la spectroscopie térahertz dans le domaine temporel développée au cours de la même décennie que ces nouvelles sources [Smith P.R. 1988] [Fattinger C. 1988].

Pour utiliser la technologie térahertz, il faut que l'objet étudié ait une réponse dans le domaine térahertz, c'est-à-dire que les différentes parties de l'objet soient plus ou moins transparentes ou réfléchissantes afin que l'on puisse les discriminer. Pour que le rayonnement issu de l'objet atteigne le détecteur, celui-ci doit être placé dans un milieu transparent. L'interaction entre la matière et les ondes térahertz provient des photons térahertz. L'énergie des photons térahertz est comprise entre 0,4 et 40 meV. C'est une énergie très faible, plus faibles que celles impliquées dans la transitions des états électroniques des atomes ou des molécules ( $\approx 1\text{eV}$ ) ou que les énergies de vibration moléculaire (40 - 100meV) [Coutaz J.-L. 2007]. Les ondes térahertz ne sont donc capables d'exister que pour des résonances de faible intensité. Pour la matière solide, la principale excitation existant aux fréquences térahertz sont les vibrations collectives du cristal (phonons). Chaque fois qu'une résonance a lieu, l'onde térahertz est absorbée et le matériau est opaque. La plupart des vibrations intramoléculaires sont attendues à des nombres d'ondes supérieurs à  $200\text{cm}^{-1}$  tandis que l'on trouve les vibrations collectives du cristal à des nombres d'ondes inférieurs [Zeitler J. A. 2007]. Lorsque ces résonances sont assez étroites d'un point de vue spectral, le spectre représente la signature spécifique de l'objet. Il est ainsi possible d'imager un objet dans le domaine térahertz.

Le dispositif utilisé pour la spectroscopie térahertz dans le domaine temporel est schématisé dans la figure 2.5. Le laser délivre des impulsions de l'ordre de 100 femtosecondes qui sont divisées par le diviseur de faisceau (BS : Beamsplitter). Les faisceaux divisés sont orientés pour l'un, dans le trajet émetteur (bleu) et pour l'autre, dans le trajet récepteur (rouge). Le chemin émetteur est de telle sorte qu'il est égal au chemin récepteur afin que le récepteur se déclenche en même temps que le faisceau émetteur arrive sur le récepteur. Un courant électrique qui varie en fonction du champ électrique appliqué par l'impulsion laser est alors mesuré. La ligne de retard (delay line) permet de modifier le

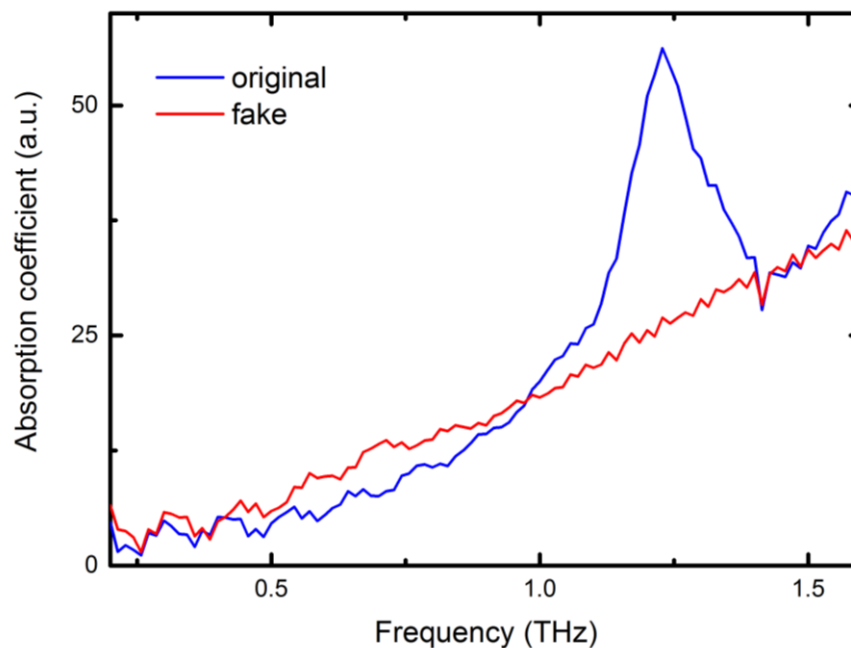
chemin de réception par rapport au chemin d'émission afin d'obtenir le meilleur courant possible. Dans le chemin émetteur, le faisceau est dévié par des lentilles à base de silicium (Si-Lens) et dévié par des miroirs. L'échantillon est alors placé au point de focalisation du faisceau. Le faisceau est ensuite de nouveau dévié par des miroirs pour être focalisé, cette fois, sur le récepteur. Le récepteur mesure alors un courant de l'ordre de quelques nA, il est donc nécessaire d'ajouter un amplificateur qui peut être programmé pour amplifier uniquement des signaux modulés à une certaine fréquence. La modulation des signaux est le rôle du hacheur (chopper) placé dans le chemin émetteur. Le retard entre les impulsions envoyées par le laser peut être modifié et ainsi il est possible de mesurer le profil temporel du champ électrique de l'onde. La transformée de Fourier joue alors un rôle important pour le passage au domaine fréquentiel.



**Figure 2.5 :** Schéma du dispositif de spectroscopie térahertz dans le domaine temporel utilisé.

En ce qui concerne l'échantillon, celui-ci nécessite une préparation au préalable qui consiste à le presser sous forme de pastille d'environ 1mm d'épaisseur. Pour cela, le produit est parfois mélangé avec du Polyéthylène Glycol qui aide à la formation et au maintien de la pastille. Dans ces travaux, l'analyse térahertz est également utilisée pour une mesure en fonction de la température. Dans ce cas, l'échantillon est directement placé dans un système hermétique reproduisant l'espace utilisé pour une pastille. Le spectre d'absorption est alors

obtenu et présente l'absorption de l'échantillon en fonction de la fréquence (Figure 2.6). L'absorption est donnée en unité arbitraire car il faut connaître exactement l'épaisseur de l'échantillon or elle n'est pas toujours exactement la même sur toute sa surface. De plus, lorsque les analyses sont réalisées en fonction de la température, l'épaisseur de l'échantillon est inconnue.



**Figure 2.6 :** Exemple de spectre térahertz. Comparaison entre un produit pharmaceutique original (bleu) et une contrefaçon (rouge).

Pour les analyses térahertz, le laser utilisé est un laser Toptica FemtoFiber Pro NIR dont la longueur d'onde d'émission est de 780nm. Les caractéristiques de ce laser donnent une puissance moyenne de 140 mW, un taux de répétition des impulsions de 80 MHz et une largeur d'impulsion inférieure à 100 fs. Les émetteurs et détecteurs sont des antennes photoconductrices de type Menlo Tera 8.1. En ce qui concerne la cellule de chauffe, celle-ci est un porte échantillon en cuivre fabriqué à l'Institut Saint-Louis (figure 2.7). La poudre est

placée dans un petit espace situé derrière des supports en téflon à travers lesquels il est possible d'effectuer une mesure térahertz. L'un contient donc l'échantillon à étudier et l'autre, utilisé comme référence, est vide. Le porte échantillon est alors relié à un appareil de chauffage de type Julabo F25-ME pouvant aller jusqu'à 200 °C.



**Figure 2.7 :** Porte échantillon utilisé lors des mesures en fonction de la température en spectroscopie térahertz.



## Références

T. Kehl, G. Van der Plaats, US Patent 5.033.866, (1991).

O. J. Hill, For better thermal analysis and calorimetry, 3<sup>rd</sup> edition ICTAC (1991).

Site Accelrys A: Materials Studio, consulté le 02/02/2017:

<http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-materials-studio/>

M. A. Neumann, X-Cell: a novel indexing algorithm for routine tasks and difficult cases, *J. Appl. Cryst.*, 36 (2003) 356-365.

Site Accelrys B : Forcite, consulté le 02/02/2017 :

[http://accelrys.com/products/datasheets/ms\\_forcite.pdf](http://accelrys.com/products/datasheets/ms_forcite.pdf)

Site Accelrys C : Powder Solve, consulté le 02/02/2017 : <http://accelrys.com/resource-center/case-studies/powder-solve.html>

M. C. Burla, M. Camalli, B. Carrozzini, G. Cascarano, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, SIR2002 : the program, *J. Appl. Cryst.*, 36 (2003) 1103.

V. Petricek, M. Dusek, L. Palatinus, Crystallographic computing system JANA2006: general features, *Z. Kristallogr.*, 229(5) (2014) 345-352.

P. Mounaix, Le nouveau monde des ondes térahertz, *Pour la Science*, 389 (2010).

G. Gallot, Rayonnement térahertz. Intérêt et application l'étude des systèmes biologiques, *Spectra Analyse*, 263 (2008).

P. Han, X. C. Zhang, Time-domain spectroscopy targets the farinfrared, *Laser Focus World*, 36 (2000) 117.

P. R. Smith, D. H. Auston, M. C. Nuss, Subpicosecond photoconducting dipole antennas, *IEEE J. Quant. Electron.*, 24 (1988) 255.

C. Fattinger, D. Grischkowsky, Point source terahertz optics, *Appl. Phys. Lett.*, 53 (1988) 1480.

J.-L. Coutaz, F. Garet, G. Gaborit, L. Duvillaret, Potentialité des ondes térahertz en imagerie, *REE*, 9 (2007) 1-10.

J. A. Zeitler, P. F. Taday, D. A. Newnham, M. Pepper, K. C. Gordon, T. Rades, Terahertz pulsed spectroscopy and imaging in the pharmaceutical setting – a review, *J. Pharm. Pharmacol.*, 59 (2007) 209-223.



## **Chapitre 3 : Etude des capacités de détection de la technologie térahertz**

Partie I : Le paracétamol .....	61
I.1 Présentation .....	61
I.2 Etude du paracétamol par analyse thermique.....	63
I.2.1. Propriétés thermodynamiques connues.....	63
I.2.2. Nouvelles propriétés thermodynamiques.....	65
I.3 Etude du paracétamol par TéraHertz.....	69
I.4 Conclusion.....	74
Références.....	75
Partie II : La caféine.....	76
II.1 Présentation .....	76
II.2 Propriétés thermodynamiques .....	77
II.3 Isolement de chacune des formes.....	79
II.4 Analyse TéraHertz de la caféine .....	82
II.5 Conclusion.....	85
Références.....	86
Partie III : Le chlorhydrate de sibutramine monohydraté .....	87
III.1 Présentation .....	87
III.2 Comportement à la chaleur de la sibutramine .....	89
III.3 Structure cristalline du chlorhydrate de sibutramine monohydraté .....	92
III.4 Méthodes de préparation des différentes formes hypothétiques .....	94
III.4.1 Méthode de sublimation.....	95
III.4.2 Méthode de recristallisation par évaporation lente .....	97
III.4.3 Méthode de déshydratation au four.....	99
III.4.4 Méthode de broyage.....	100
III.4.5 Recristallisation à partir d'une des deux formes.....	101
III.4.6 Résumé des résultats obtenus.....	102
III.5 Sublimation du chlorhydrate de sibutramine monohydraté.....	103
III.6 Résolution par Rayon X des formes anhydres .....	107

III.6.1	Structure cristalline de la forme anhydre A .....	107
III.6.2	Structure cristalline de la forme anhydre B .....	109
III.6.3	Comparaison des deux formes énantiomères anhydres .....	113
III.7	Thermodynamique des deux formes conglomérat et racémique.....	116
III.8	Comparaison des formes anhydre et hydratée en térahertz.....	118
III.9	Conclusion.....	119
	Références.....	120

Ce premier chapitre présente l'étude des capacités de détection de la technologie térahertz à travers l'étude de trois substances qui sont le paracétamol, la caféine et le chlorhydrate de sibutramine monohydratée présentés brièvement dans l'introduction. Ces trois substances sont d'abord étudiées et caractérisées par analyse thermique et diffraction des rayons X afin d'étudier leurs propriétés thermodynamiques ainsi que leurs états solides (structures cristallines).

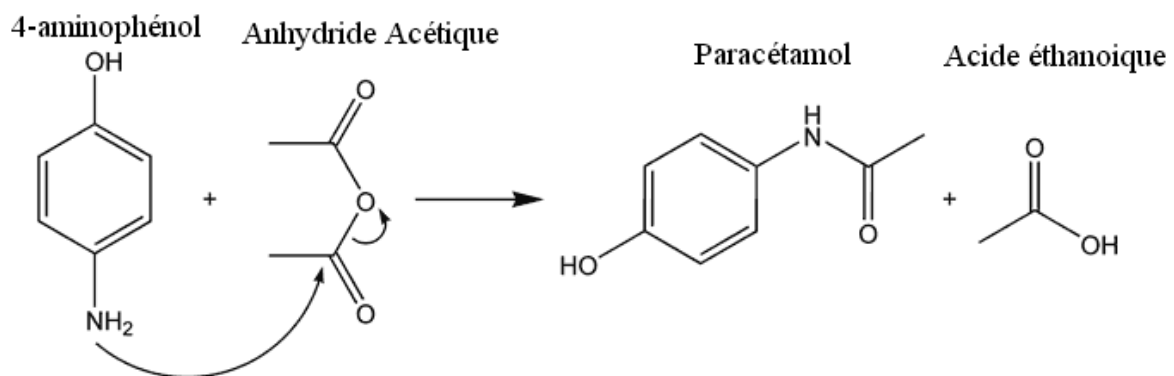
## **Partie I : Le paracétamol**

La première partie de ce chapitre va permettre de démontrer différentes possibilités d'utilisation de la technologie térahertz. Comme expliqué dans l'introduction, le paracétamol a été choisi comme exemple car c'est un composé dont les propriétés physico-chimiques ont été correctement identifiées dans la littérature. Grâce à cette connaissance, il va être plus facile d'associer un résultat en analyse térahertz à un phénomène ou à une forme cristalline en particulier. Après une brève présentation du paracétamol, la deuxième partie reprendra les résultats de la littérature sur le comportement à la chaleur du paracétamol ainsi que des différents polymorphes existants afin de démontrer quel serait l'intérêt de la technologie térahertz. De nouveaux résultats obtenus en analyse thermique seront aussi développés. La dernière partie montrera les résultats obtenus en térahertz grâce au paracétamol.

### **I.1 Présentation**

Le paracétamol, ou acétaminophène, est une substance synthétique obtenue par acylation du 4-aminophénol par l'anhydride acétique (Figure 3.1). Il est couramment utilisé dans le traitement des douleurs dont l'intensité peut varier de faible à modérée ainsi que de la fièvre. On retrouve cette substance active notamment dans les spécialités pharmaceutiques de type antalgiques (médicaments contre la douleur) ou de type antipyrétiques (médicaments contre la fièvre). Ses propriétés curatives ont été découvertes en 1894 où l'hypothèse que le paracétamol était un métabolite actif avait été émise par Treufel et Hinsberg. Ce n'est en revanche que dans les années 1950 que ces hypothèses ont été confirmées par les études menées par Lester et Greenberg à l'université de Yale et celles de Flinn et Brodie à

l'université de Columbia. [Chast F. 2002]. L'intérêt de ce principe actif est sa capacité à n'avoir que très peu d'effets secondaires, il reste néanmoins très dangereux voir mortel en cas de surdosage [Dart R.C. 2002]. Le paracétamol peut être administré sous différentes formes galéniques ce qui induit une bonne connaissance de ses propriétés physico-chimiques. Son comportement à la chaleur et ses différents polymorphes ont déjà été mis en évidence et sont donc maintenant bien connus [Espeau P. 2005]. Dans l'idée de connaître les différentes utilisations possibles de la technologie térahertz, le paracétamol se présente comme un sujet d'étude très intéressant de par ses propriétés physico-chimiques.



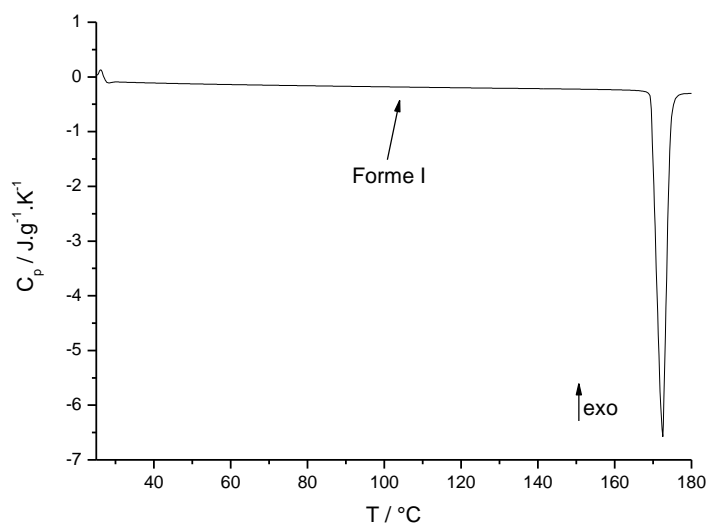
**Figure 3.1** : Réaction de synthèse du paracétamol

## I.2 Etude du paracétamol par analyse thermique

Afin d'expliquer les propriétés thermodynamiques du paracétamol, de nouvelles analyses thermiques ont été réalisées en analyse enthalpique différentielle (DSC).

### I.2.1. Propriétés thermodynamiques connues

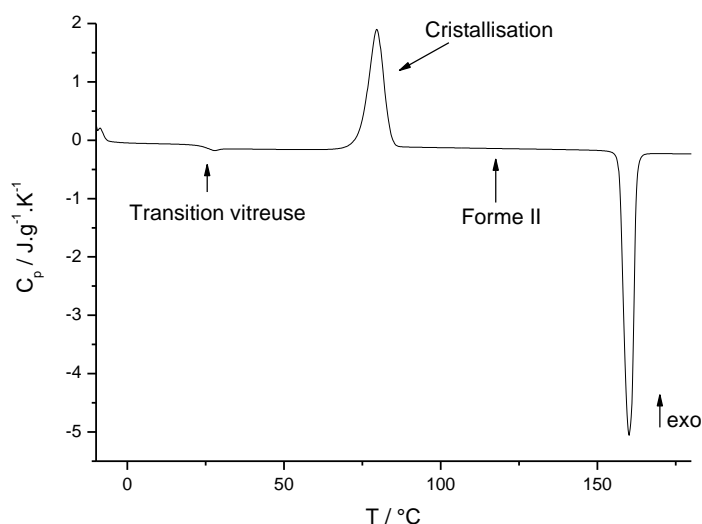
Une première analyse DSC à  $10\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$  de la forme commerciale du Paracétamol montre un pic endothermique caractéristique de la fusion du composé à  $168,8 \pm 0,4\text{ °C}$  avec une enthalpie de fusion de  $182,2 \pm 0,5\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$  (Figure 3.2). En se reportant aux résultats publiés précédemment [Espeau P. 2005], ces données correspondent à la fusion de la forme I du paracétamol ( $T_{\text{fus}} = 442,3\text{ K}$  ou  $T_{\text{fus}} \approx 169,15\text{ °C}$  et  $\Delta_{\text{fus}}H = 191,44\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ ).



**Figure 3.2 :** Thermogramme DSC de la forme commerciale (forme I) du paracétamol.



D'après la publication, une deuxième forme du paracétamol existe lorsque l'on réalise une trempe à température ambiante juste après la fusion de la forme I. Une nouvelle analyse DSC est alors réalisée après la trempe et différents phénomènes sont visibles sur le thermogramme DSC (Figure 3.3). Aux alentours de  $23,1 \pm 0,6$  °C, un changement de ligne de base est visible, caractéristique d'une transition vitreuse, c'est-à-dire du passage de la forme vitreuse à la forme liquide. Ensuite, un pic exothermique à  $75,3 \pm 1,1$  °C peut être attribué à la cristallisation du composé fondu. Son enthalpie de cristallisation étant alors de  $124,2 \pm 1,3$  J.g<sup>-1</sup>. Comme pour le thermogramme précédent, on obtient ensuite un pic endothermique caractéristique d'une fusion à  $156,2 \pm 0,7$  °C avec une enthalpie de fusion correspondante de  $175,8 \pm 1,3$  J.g<sup>-1</sup>. La température de fusion étant différente, on a alors affaire ici à la deuxième forme du paracétamol publiée précédemment [Espeau P. 2005]. En effet, ces résultats sont en accord avec la littérature.



**Figure 3.3 :** Thermogramme DSC de la fusion de la forme II du paracétamol obtenu après trempe de la forme fondue.

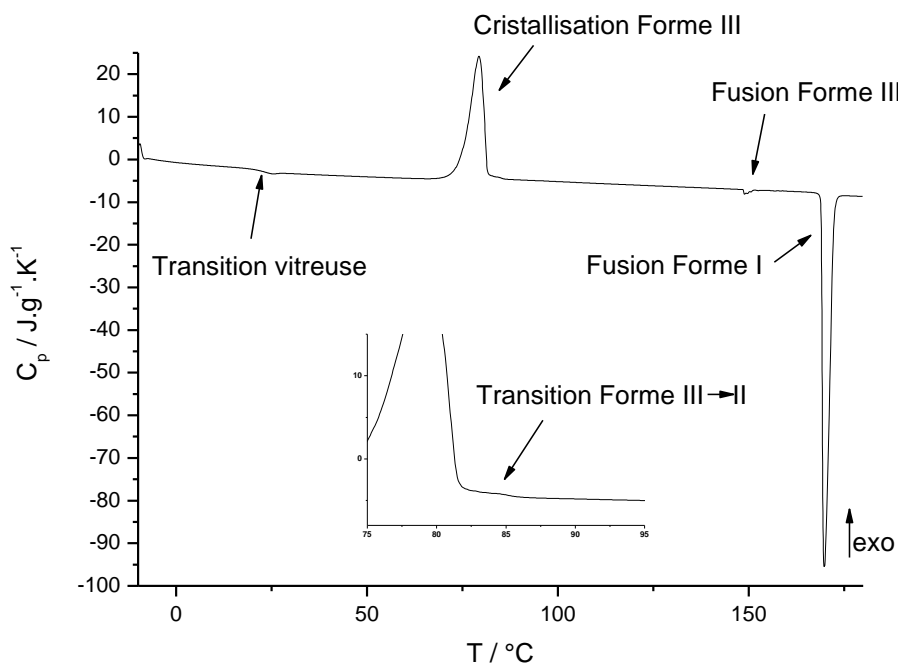
Le paracétamol possède donc deux formes solides correctement identifiées et qui peuvent être assez facilement obtenues. Ces deux formes se comportent de manière monotrope l'une par rapport à l'autre. Le comportement à la chaleur du paracétamol a également été correctement analysé et celui-ci montre que le paracétamol présente une transition vitreuse ainsi qu'une cristallisation. Ces deux aspects permettent de positionner le paracétamol comme un candidat idéal pour des analyses préliminaires en térahertz. Grâce au paracétamol, il va être possible de connaître le potentiel de la technologie térahertz pour détecter les transitions de phases et principalement la transition vitreuse.

### **I.2.2. Nouvelles propriétés thermodynamiques**

Certaines analyses thermiques n'ont pas mené au thermogramme décrit à la figure 3.3. En effet, certains essais n'ont pas abouti à l'unique observation de la cristallisation et fusion de la forme II mais ont révélé des phénomènes qui n'ont pas été observés dans l'article cité précédemment. Ces observations aléatoires ont à chaque fois eu lieu après la phase de trempe du paracétamol fondu lorsque l'on chauffe de nouveau en DSC le paracétamol qui se trouve alors sous forme vitreuse.

Le premier phénomène est visible sur un thermogramme DSC réalisé à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  jusqu'à  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  à partir de la forme vitreuse (Figure 3.4). Le début du thermogramme est identique aux analyses précédentes et à la littérature. La transition vitreuse aux alentours de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , température légèrement inférieure à la précédente due à la vitesse de chauffe ( $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  au lieu de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) est donc toujours visible et est en accord avec la littérature [Espeau P. 2005]. Vient ensuite le pic de cristallisation du paracétamol à  $74,86\text{ }^{\circ}\text{C}$  avec une enthalpie de  $131,34\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ . Contrairement aux analyses précédentes, un petit pic exothermique

est visible juste après la cristallisation à environ 86 °C (Figure 3.4 Zoom). Le pic de cristallisation à environ 74 °C ne correspond alors pas à la cristallisation de la forme II comme indiqué dans l'article de P. Espeau mais à la cristallisation de la forme III [Perrin M.-A. 2009][Di Martino P. 1997]. Il serait alors suivi d'une transition solide-solide entre la forme III et la forme II du paracétamol (transformation partielle). Cette transition donne un signal également exothermique car métastable et peut avoir lieu entre 102 et 140 °C [Perrin M.-A. 2009][Gaisford S. 2010], néanmoins, dans notre cas, cette transition a lieu aux alentours de 83 °C. Une autre différence par rapport aux études précédentes est visible après cette transition. En effet, à la place de la fusion de la forme II comme vu précédemment, on trouve un pic endothermique à une température de 148,55 °C (donc inférieure à la fusion de la forme II) et avec une enthalpie de 1,68 J.g<sup>-1</sup>. Ce pic correspond à la fusion d'un résidu de la forme III du paracétamol d'après la littérature [Gaisford S. 2010]. Ce pic de fusion de la forme III est alors suivi par un autre pic endothermique à 168,96 °C avec une enthalpie de fusion de 179,37 J.g<sup>-1</sup> qui correspond à la fusion de la forme I. Etant donné l'enchaînement des phénomènes, la fusion de la forme II aurait été plus logique et l'on pourrait croire que le pic considéré comme la fusion de la forme III pourrait alors être un pic de transition entre les formes II et I comme reporté dans la littérature [Di Martino P. 1997]. Néanmoins, d'après les règles développées par Burger et Ramberger décrites dans le chapitre 1, lorsque deux polymorphes ont un comportement monotrope, la transition solide-solide serait exothermique et serait situé dans un domaine de température où le paracétamol est fondu [Espeau P. 2005]. Le pic à 148 °C correspond donc bien à la fusion de la forme III. De ce fait, l'hypothèse de la transition II vers I reportée dans la littérature est donc erronée.

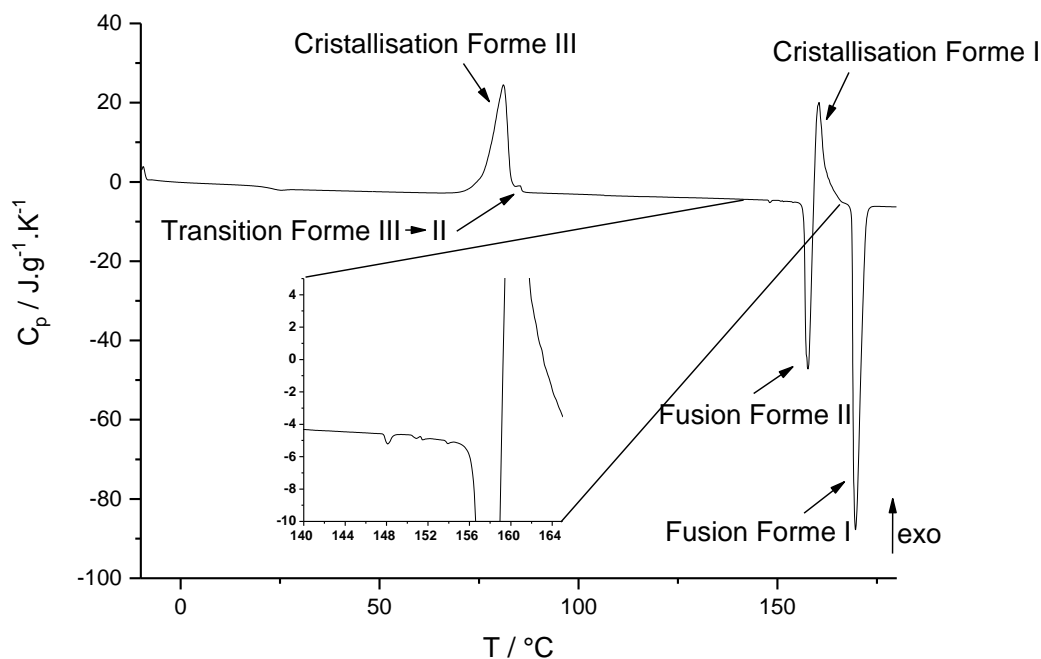


**Figure 3.4 :** Thermogramme DSC présentant la transition III-II et la fusion de la forme III du paracétamol.

Zoom du thermogramme sur la gamme de température comprise entre 75 et 95 °C montrant la transition III-II.

Certaines expériences DSC menées dans les mêmes conditions que précédemment ont parfois conduit de manière aléatoire à des événements thermiques jusque-là non reportés dans la littérature (Figure 3.5). Ces événements ne résultent pas d'une modification du protocole expérimental et n'ont été obtenus qu'une seule fois. L'analyse DSC a été réalisée comme les autres entre -10 °C et 180 °C avec une vitesse de chauffe de 10 °C.min<sup>-1</sup>. Comme précédemment, la transition vitreuse et le pic de cristallisation en forme III sont toujours visibles. La transition de la forme III vers la forme II est également toujours visible à 84 °C avec une enthalpie de 0,95 J.g<sup>-1</sup>. Toujours en chauffant, on observe la fusion de cette forme II (156,61 °C) suivie d'un pic exothermique correspondant à la cristallisation de la forme I à partir du paracétamol fondu. La confirmation que l'on est bien en présence de la forme I est obtenue par le pic endothermique qui se situe à 168,67 °C avec une enthalpie associée de 173,93 J.g<sup>-1</sup>. Dans la partie zoomée de la figure 3.5, un petit pic endothermique est visible

aux alentours de 148 °C, celui-ci correspond comme précédemment à la fusion d'un résidu de la forme III du paracétamol.



**Figure 3.5 :** Thermogramme DSC montrant la fusion-cristallisation de la forme II en forme I du paracétamol. Zoom du thermogramme sur la gamme de température compris entre 140 et 164 °C.

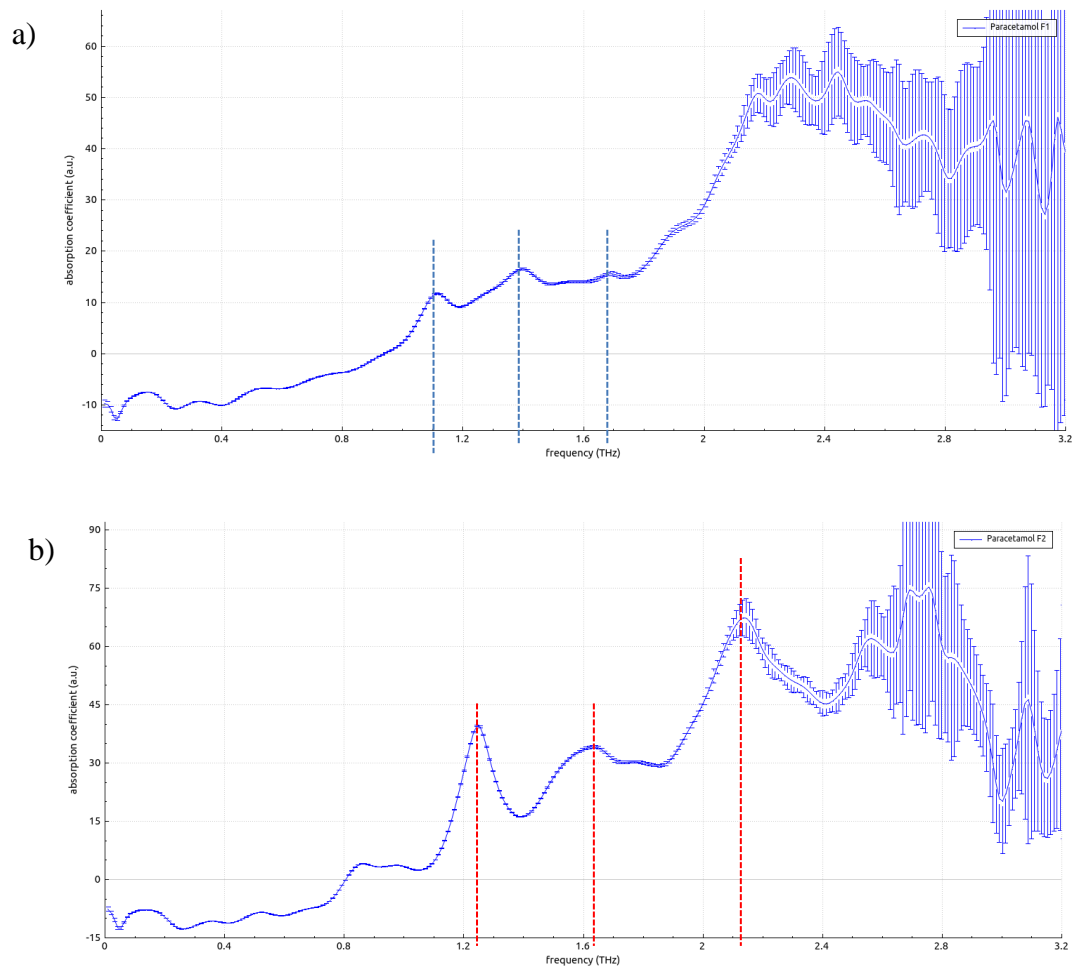
Ce phénomène aléatoire n'a jamais été reporté dans la littérature jusqu'à présent. Ceci s'explique cependant d'après le diagramme de phase de la littérature [Espeau P. 2005]. En effet, lorsque le paracétamol est fondu à partir de sa forme II, il se retrouve alors à l'état liquide (métastable) à des températures où il devrait normalement être sous forme I solide (stable).

Ces deux derniers thermogrammes observés montrent que le comportement global du paracétamol, et notamment le domaine de stabilité de la forme III dans le diagramme pression-température, reste à étudier.

### **I.3 Etude du paracétamol par TéraHertz**

L'analyse thermique a donc permis d'obtenir des données précises et des connaissances nécessaires à l'utilisation de la technologie térahertz pour des études préliminaires sur des composés organiques présentant des transitions de phases ainsi que différentes formes cristallines.

Afin de réaliser les analyses térahertz, l'échantillon de poudre utilisé doit être pressé sous forme de pastille en mélange avec du polyéthylène glycol dont l'épaisseur est d'environ 1mm. Pour analyser les deux différentes formes du paracétamol, on a utilisé la forme commerciale pour étudier la forme I. Quant à la forme II, elle a été réalisée à partir de la DSC grâce à la méthode décrite précédemment et consistant à faire une trempe après la fonte de la forme I. Les spectres térahertz obtenus représentent le coefficient d'absorption des deux formes en fonction de la fréquence (Figure 3.6). Pour chacun des deux spectres, il est possible de voir qu'il existe trois pics caractéristiques de chaque forme. Pour la forme I, trois pics se distinguent à environ 1,1 ; 1,4 et 1,7 THz. Ces trois pics sont alors différents de ceux caractéristiques de la forme II (environ 1,2 ; 1,6 et 2,1 THz). Ces résultats montrent la capacité de la technologie térahertz à être utilisée pour la différenciation de polymorphes. Cette capacité est importante notamment lors d'opération de contrôle de contrefaçons où un grand nombre de composés présentent différentes formes cristallines aux propriétés physico-chimiques distinctes et qui impliquent donc des changements parfois importants du composé, le rendant dangereux pour la santé.

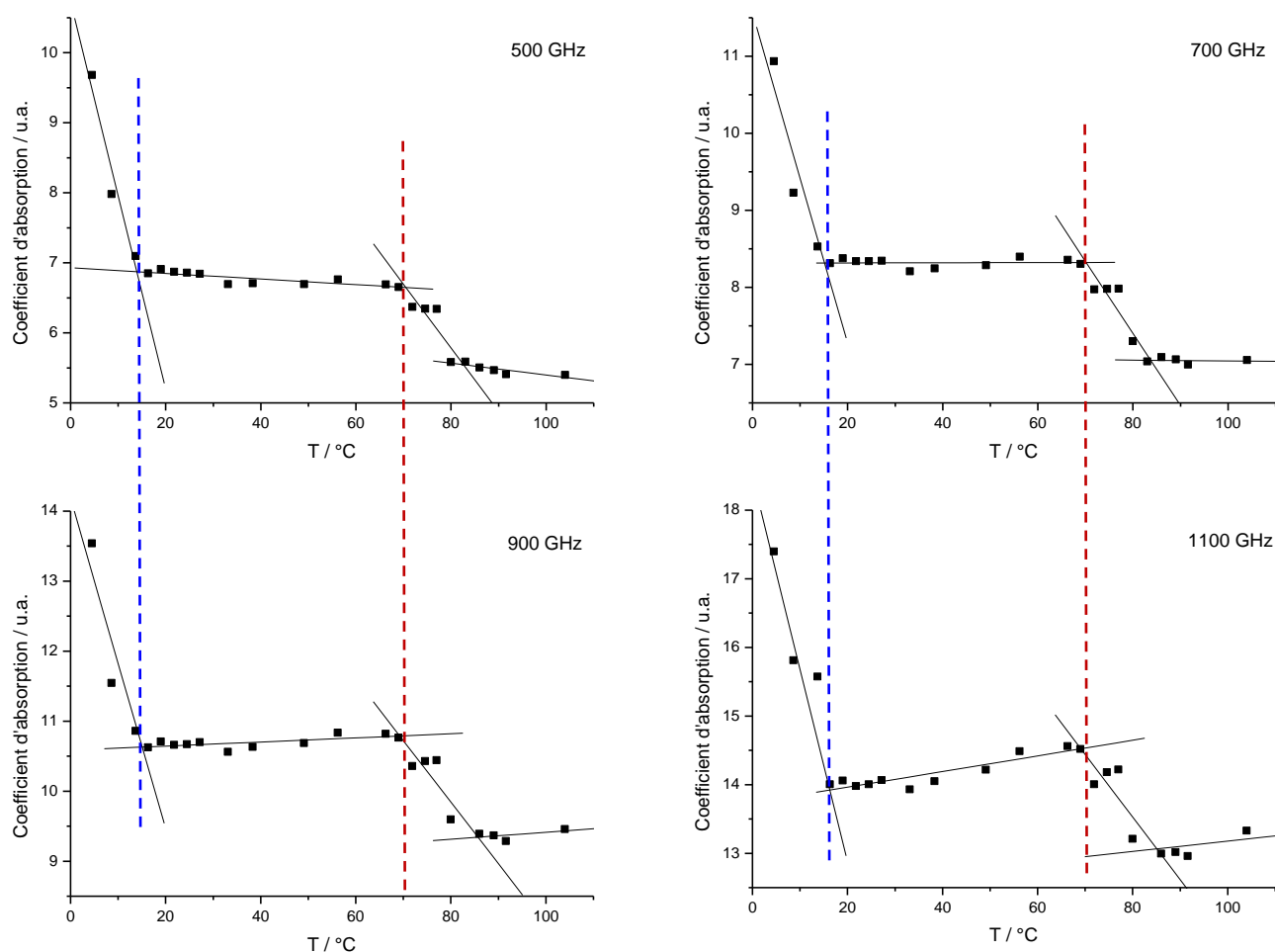


**Figure 3.6 :** Spectres térahertz des formes I (a) et II (b) du paracétamol. Les traits pointillés représentent les pics caractéristiques de chaque forme.

La deuxième question que l'on se pose maintenant sur la technologie térahertz est de savoir s'il est possible de visualiser les transitions de phase comme on peut les voir en analyse thermique. L'étude du comportement à la chaleur avec la technologie térahertz a déjà été menée par une équipe anglaise [Sibik J. 2014]. Cette publication montre que des transitions peuvent être visibles grâce à la technologie térahertz. Les auteurs traitent notamment de la cristallisation en forme III du paracétamol à 335 K et de deux transitions solide-solide à 375 K (transition III-II) et 455 K (transition II-I). Cette dernière transition

n'est pas visible en DSC mais serait alors peut-être visible en térahertz. Néanmoins, la température évoquée de 455 K (environ 182 °C) est supérieure à la fusion du paracétamol que ce soit en forme I ou II, ce résultat semble donc incohérent avec les données connues du paracétamol. Les auteurs présentent donc également une cristallisation de la forme III à partir du composé amorphe, cette cristallisation ne peut avoir lieu sans une transition vitreuse préalable. Cette transition vitreuse permettrait de passer du composé vitreux à sa forme liquide. A partir de ce liquide, en effet, une cristallisation de la forme III serait possible. Les auteurs ne présentent donc pas la transition vitreuse du paracétamol reportée dans la littérature [Espeau P. 2005] et au point I.2.1. Afin de pallier à ce manque, des études térahertz sont réalisées afin d'étudier la capacité de cette technologie vis-à-vis de la transition vitreuse. D'après la littérature [Sibik J. 2014], les transitions sont visibles en traçant la courbe correspondant au coefficient d'absorption en fonction de la température pour une fréquence choisie. Pour observer les transitions, il faut, comme vu pour l'analyse thermique, partir de la forme vitreuse du paracétamol. Pour cela, le paracétamol commerciale (forme I) est monté en température dans un four jusqu'à la fonte de la forme I. La matière fondue est alors trempée dans la glace puis installée dans le dispositif d'analyse térahertz. Le paracétamol est alors chauffé de 5 °C jusqu'à 105 °C et un spectre est enregistré pour certaines températures.





**Figure 3.7 :** Coefficient d'absorption du paracétamol à 500, 700, 900 et 1100 GHz en fonction de la température. La ligne bleue en pointillés indique la température de la transition vitreuse et la ligne rouge en pointillés indique la température de cristallisation de la forme II.

A partir des spectres enregistrés, on peut tracer le coefficient d'absorption du paracétamol à une fréquence donnée en fonction de la température. On peut voir que quelle que soit la fréquence étudiée, les phénomènes restent les mêmes (Figure 3.7). Tout d'abord, une baisse du coefficient d'absorption a lieu jusqu'à atteindre une valeur constante. L'intersection de ces deux phénomènes nous donne alors une température d'environ 15 °C. En reprenant les résultats de la littérature, on s'aperçoit que cette valeur est proche de la température de

transition vitreuse tout en étant légèrement inférieure (25 °C) [Espeau P. 2005]. Lorsque l'on réalise une DSC, la vitesse de chauffe est contrôlée et fixée à 10 °C.min<sup>-1</sup>, ce qui n'est pas le cas pour l'analyse térahertz. En effet, la vitesse de chauffe est bien inférieure pour l'analyse térahertz étant donné que l'enregistrement d'un spectre prend en moyenne une heure et que la température est augmentée manuellement après chaque enregistrement. Sachant qu'elle est augmentée le plus souvent par pas de 5 °C, la vitesse de chauffe en térahertz peut s'apparenter à une vitesse moyenne de 0,07 °C.min<sup>-1</sup>. D'après la littérature [Moynihan C.T. 1974], la température de transition vitreuse dépend de la vitesse de chauffe, la faible vitesse de chauffe obtenue pour l'analyse térahertz permet d'expliquer pourquoi la température est donc inférieure à la littérature et de confirmer que ce phénomène visualisé en analyse térahertz correspond bien à la transition vitreuse du paracétamol. Une seconde baisse du coefficient d'absorption intervient aux alentours de 70 °C. Puisque le paracétamol est à l'état liquide après la transition vitreuse, cette baisse de coefficient correspond à la cristallisation du paracétamol. Ceci se confirme par la température de cristallisation donnée dans la littérature qui correspond à celle trouvée ici. Ces résultats sont donc en accord avec les propriétés physico-chimiques données dans la littérature [Espeau P. 2005]. Après cette seconde baisse du coefficient d'absorption, un retour à une valeur constante a lieu. L'intersection de ces deux phénomènes a lieu aux alentours de 85 °C et correspondrait alors à la transition solide-solide entre les formes III et II du paracétamol aperçue en analyse DSC (Figure 3.4). Après avoir démontré que l'analyse térahertz permettait de différencier différents polymorphes, il est ici démontré que l'analyse térahertz permet aussi d'identifier les transitions vitreuses et les cristallisations.

## **I.4 Conclusion**

Il vient d'être démontré que, comme l'analyse thermique, l'analyse térahertz peut différencier différents polymorphes d'un même composé ainsi qu'identifier les transitions vitreuses et les cristallisations. Les études thermiques ont permis de se rendre compte qu'il reste des aspects sur le comportement à la chaleur du paracétamol encore à étudier, et notamment d'établir le domaine de stabilité relative de la forme III par rapport aux formes solides I et II déjà répertoriées.

## Références

- F. Chast, Histoire contemporaine des médicaments, *La découverte poche*, Note 42 (2002).
- R. C. Dart, A. R. Erdman, K. R. Olson, G. Christianson, A. S. Manoguerra, P. A. Chyka, E. M. Caravati, P. M. Wax, D. C. Keyes, A. D. Woolf, E. J. Scharman, L. L. Booze, W. G. Troutman, Acetaminophen poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management, *Clin Toxicol (Phila)*, 44(1) (2006) 1–18.
- P. Espeau, R. Céolin, J.-L. Tamarit, M.-A. Perrin, J.-P. Gauchi, F. Leveiller, Polymorphism of Paracetamol: Relative Stabilities of the Monoclinic and Orthorhombic Phases Inferred from Topological Pressure-Temperature and Temperature-Volume Phase Diagrams, *J. Pharm. Sciences*, 94(3) (2005) 524-539.
- M.-A. Perrin, M. A. Neumann, H. Elmaleh, L. Zaske, Crystal structure determination of the elusive paracetamol Form III, *Chem. Commun.*, (2009) 3181–3183.
- P. Di Martino, P Conflant, M. Drache, J.-P Huvenne, A.-M. Guyot-Hermann, Preparation and physical characterization of forms II and III of paracetamol, *J. Thermal Anal.*, 48 (1997) 447-458.
- S. Gaisford, A. B. M. Buanz, N. Jethwa, Characterisation of paracetamol form III with rapid-heating DSC, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 53 (2010) 366–370.
- J. Sibik, M. J. Sargent, M. Franklin, J. A. Zeitler, Crystallization and Phase Changes in Paracetamol from the Amorphous Solid to the Liquid Phase, *Mol. Pharmaceutics*, 11 (2014) 1326-1334.
- C. T. Moynihan, A. J. Easteal, J. Wilder, J. Tucker, Dependence of the Glass Transition Temperature on Heating and Cooling Rate, *J. Phys. Chem*, 78(26) (1974) 2673-2677.

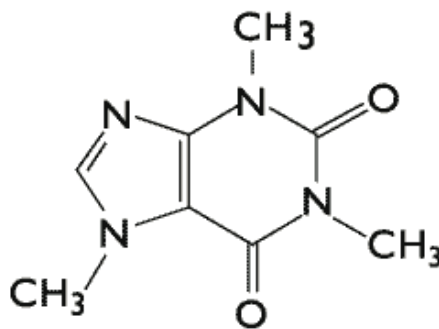
## **Partie II : La caféine**

Dans cette deuxième partie du chapitre 3, l'étude de la caféine avec la technologie térahertz va permettre d'améliorer les connaissances sur le potentiel de cette technologie. En effet, la caféine est, comme le paracétamol, un composé dont les caractéristiques physico-chimiques ont déjà été reportées et sont donc bien connues. Ces caractéristiques permettent d'avoir un angle d'analyse différent que celui recherché avec l'étude du paracétamol. Après une brève présentation de la caféine en terme notamment d'effet sur le corps humain, ses propriétés physico-chimiques seront rappelées et ses différentes formes isolées. Pour finir, les résultats obtenus en analyse térahertz seront étudiés.

### **II.1 Présentation**

La caféine, dont la formule brute est  $C_8H_{10}N_4O_2$  (figure 3.8), est un composé que l'on trouve naturellement dans la nature dans différentes espèces de plantes. Elle est notamment extraite des graines de caféier mais on la trouve aussi dans le grain de thé, cacao ou guarana. La caféine jouerait un rôle de pesticide naturel dans ces différentes plantes pour les protéger des insectes [Frischknecht P.M. 1986]. Bien qu'étant consommé depuis toujours par les hommes, sa découverte et sa synthèse datent de 1819 par Friedlieb Ferdinand Runge [Weinberg B. A. 2001]. L'effet principal de la caféine est la stimulation du système nerveux central. A un degré moindre, la caféine est aussi un stimulant du cœur et des sécrétions gastriques [Bolton S. 1981]. En revanche, contrairement au paracétamol, de nombreux effets secondaires peuvent être causés par la caféine, principalement au niveau du système nerveux

central (sommolence, soif, anxiété, confusion) mais elle peut aussi provoquer une accélération du rythme cardiaque, des problèmes respiratoires ainsi que gastro-intestinaux. Une dépendance liée à la caféine peut aussi apparaître lors d'une surconsommation de ce stimulant [Medline Plus]. La caféine est un principe actif couramment trouvé dans les contrefaçons de médicaments mais aussi de compléments alimentaires [d'après le site ANSM]. Sa présence dans les contrefaçons ainsi que ses propriétés physico-chimiques bien connues sont des éléments importants pour l'étude du potentiel de la technologie TéraHertz.



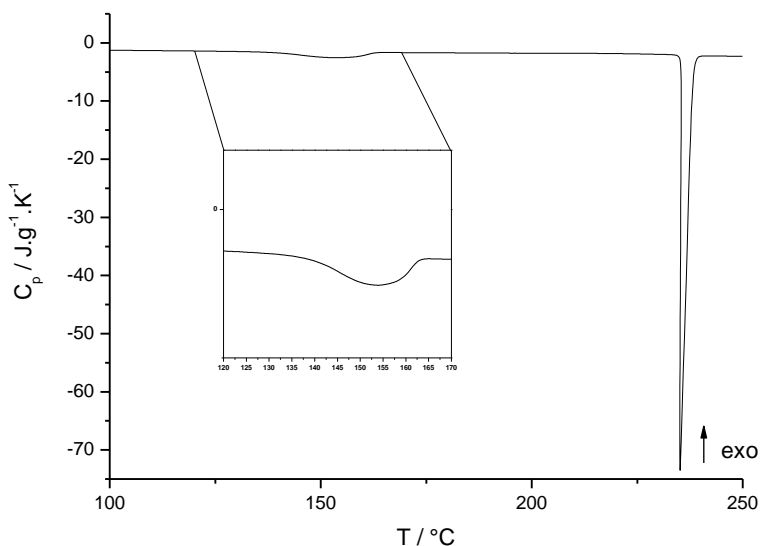
**Figure 3.8 :** Structure moléculaire de la caféine.

## II.2 Propriétés thermodynamiques

De nouvelles analyses enthalpiques différentielles (DSC) ont été réalisées afin d'expliquer les propriétés physico-chimiques de la caféine et de comprendre pourquoi la caféine est un bon principe actif pour l'étude du potentiel de la technologie térahertz.

La caféine présente deux formes polymorphes bien connues, la forme II à basse température et la forme I à haute température. Ces deux formes solides sont énantiotropes l'une de l'autre. L'analyse DSC à 5 °C.min<sup>-1</sup> (Figure 3.9) réalisée sur la caféine montre deux

pics endothermiques. Le premier pic correspond à la transition de la forme II de la caféine en forme I. Cette transition a lieu à  $140,1 \pm 0,3$  °C avec une enthalpie de transition de  $2,8 \pm 0,2$  kJ.mol<sup>-1</sup>. Il est à noter que la caféine commerciale présente un mélange des formes I et II dans une proportion inconnue et non uniquement la forme stable à basse température (forme II). D'après la littérature, il est possible de connaître ce pourcentage grâce à son enthalpie de transition [Pinto S.S. 2006]. En effet, les auteurs fournissent une droite reliant le pourcentage de forme II de la caféine et l'enthalpie de transition. D'après celle-ci, la caféine commerciale utilisée possède donc 69% de forme II. En ce qui concerne la température de transition, celle-ci est en accord avec celle donnée par la littérature qui est de 141 °C [Decroix A.-A. 2009]. Le deuxième pic correspond lui à la fusion de la forme I et a lieu à  $235,7 \pm 0,3$  °C pour une enthalpie associée de  $21,1 \pm 0,8$  kJ.mol<sup>-1</sup>, ces résultats sont également en accord avec ceux de la littérature [Pinto S.S. 2006].

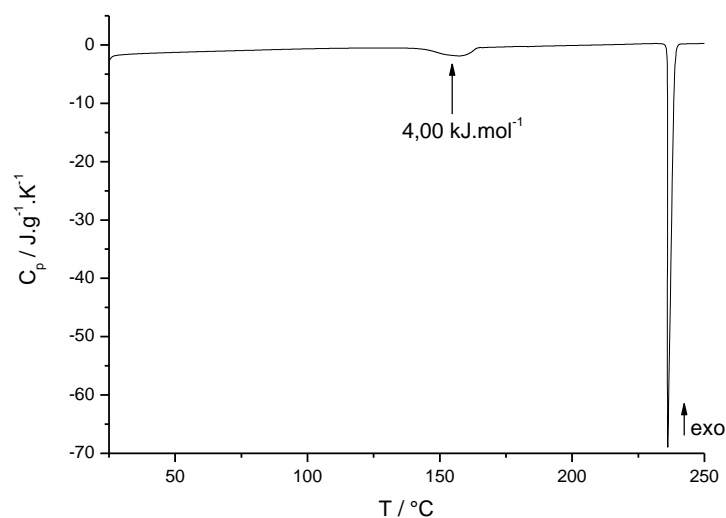


**Figure 3.9 :** Thermogramme DSC de la caféine commerciale.

### **II.3 Isolement de chacune des formes**

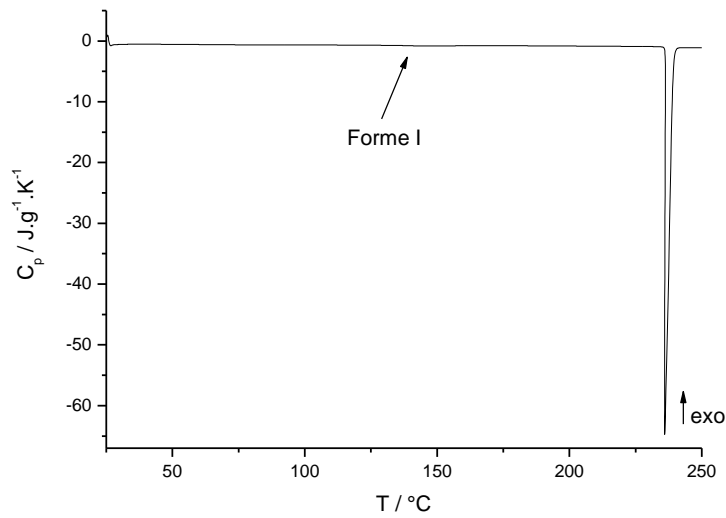
Puisque les deux formes de la caféine se trouvent en mélange dans la caféine commerciale, il faut pouvoir séparer les deux formes afin de pouvoir les étudier avec l'analyse térahertz. Pour purifier la caféine commerciale et donc n'obtenir que la forme stable à basse température, la caféine est placée au four pendant deux semaines à 100 °C. Après la première semaine, une analyse DSC a été réalisée à 5 °C.min<sup>-1</sup>. Les deux pics endothermiques caractéristiques de la transition solide-solide entre les formes II et I et de la fusion de la forme I sont alors toujours présents. On s'intéresse ici aux données du pic de transition et notamment l'enthalpie de transition qui nous permet de connaître quel est le pourcentage de forme II présent. Après une semaine au four, la température de transition est de 143,56 °C et son enthalpie de 3,5 kJ.mol<sup>-1</sup>. En reprenant la courbe de la littérature [Pinto S.S. 2006], cette enthalpie correspond à un pourcentage de 85% de forme II de la caféine. Il y a donc bien une croissance de la forme II par rapport au mélange commercial. La caféine est donc laissée au four une semaine supplémentaire et de nouveau analysée par DSC. Le thermogramme DSC présente alors toujours les deux pics endothermiques avec cette fois une température de transition de 143,60 °C et une enthalpie de transition de 3,9 kJ.mol<sup>-1</sup> (figure 3.11). On obtient alors avec cette enthalpie un pourcentage de 99% de forme II. Après cette transition, le pic de fusion de la forme I est toujours présent. Des essais ont été menés sur une plus longue période afin d'augmenter encore ce pourcentage sans que celui-ci n'ait été augmenté.





**Figure 3.11 :** Thermogramme DSC réalisé à  $5 \text{ }^{\circ}C.\text{min}^{-1}$  de la caféine obtenue après recuit pendant deux semaines à  $100 \text{ }^{\circ}C$

Après avoir obtenu la forme II, l'objectif était de transformer totalement la forme II en forme I afin de n'être qu'en présence de cette dernière. Pour cela, la caféine commerciale a été placée dans le four pendant 19 heures à  $200 \text{ }^{\circ}C$ , ceci dans l'idée que toute la forme II de la caféine se transforme, grâce à la transition solide-solide, en forme I. Une nouvelle analyse DSC effectuée à  $5 \text{ }^{\circ}C.\text{min}^{-1}$  est réalisée après ces 19 heures (Figure 3.12). Contrairement aux précédentes analyses, il n'y a qu'un pic endothermique présent sur le thermogramme, celui de la fusion de la forme I. Ceci signifie que toute la caféine présente sous forme II s'est transformée en forme I lorsqu'elle était dans le four, la caféine étant totalement sous forme I, il n'y a plus de transition solide-solide entre les deux formes. La température de fusion de la forme I est donc de  $235,9 \pm 0,3 \text{ }^{\circ}C$  avec une enthalpie de fusion de  $20,8 \pm 0,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ , comme précédemment, ces résultats restent en accord avec ceux de la littérature [Pinto S.S. 2006]



**Figure 3.12 :** Thermogramme DSC de la caféine placée 19 h à 200 °C

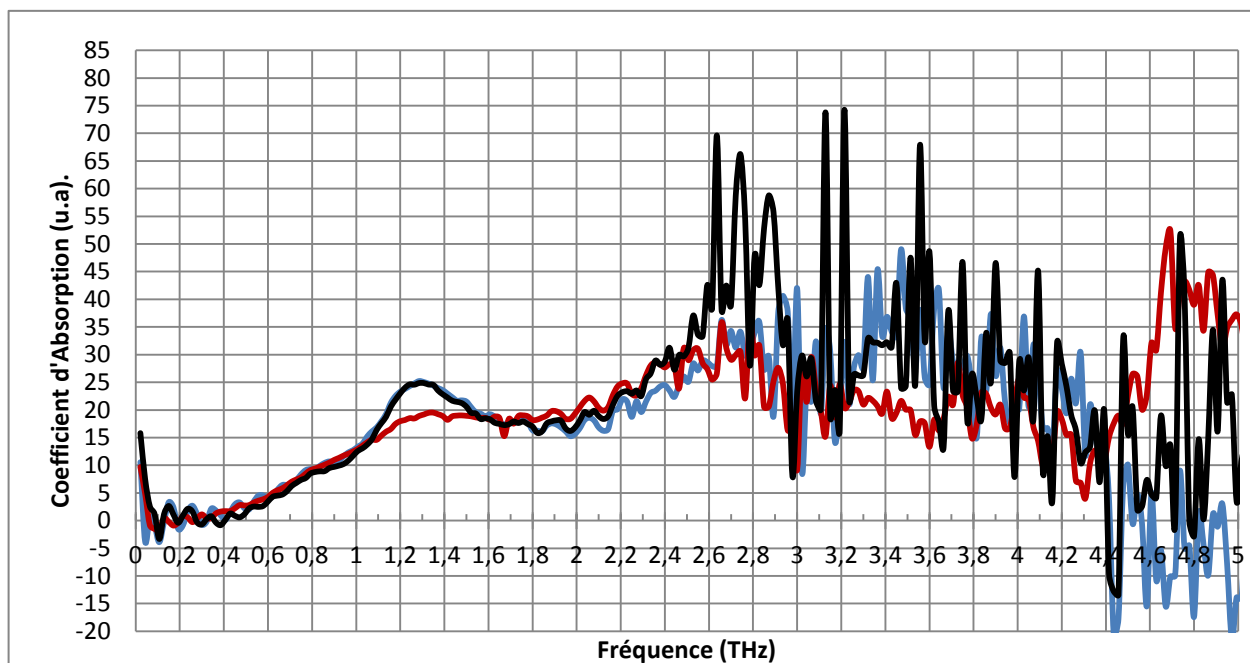
Dans l'objectif de voir quelles sont les possibilités de détection qu'offre la technologie térahertz, la caféine s'inscrit comme un complément intéressant du paracétamol de par sa transition solide-solide qui est une transition peut visible pour le paracétamol et dont l'obtention n'est pas systématique. Sachant que la technologie térahertz permet donc de visualiser les transitions vitreuses et les cristallisations, sa capacité à visualiser les transitions solide-solide va être étudiée.

## II.4 Analyse Térahertz de la caféine

Dans un premier temps, puisque la caféine présente deux formes polymorphes et qu'il est possible de les isoler, des analyses térahertz sont donc réalisées sur les deux formes de la caféine ainsi que sur la caféine commerciale afin de voir si, comme pour le paracétamol, il y a des différences entre les différents spectres.

Pour les analyses térahertz, la caféine préparée pendant deux semaines au four sera utilisée pour la forme II, pour la forme I, ce sera la caféine préparée pendant 19 heures à 200 °C et enfin pour le mélange des deux formes, la caféine commerciale. Pour chaque échantillon, la poudre est pressée sous forme de pastille en mélange avec du polyéthylène glycol puis analysée par térahertz, les résultats sont donnés sous forme de spectres présentant le coefficient d'absorption en fonction de la fréquence (Figure 3.13). Jusqu'à environ 2,2 THz, la forme II (courbe noire) et la forme commerciale (courbe bleue) de la caféine présentent chacune un spectre térahertz très proche l'un de l'autre, ceci s'explique par une présence majoritaire de la forme II par rapport à la forme I dans la caféine commerciale. Après 2,2 THz, le spectre est trop bruité et il n'est donc pas possible de confirmer si cette similitude continue sur des fréquences plus élevées ou non. La forme II et par conséquent la forme commerciale de la caféine sont caractérisées par un pic aux alentours de 1,3 THz. La forme I représentée par la courbe rouge présente des similitudes avec la forme II sur la gamme de fréquence comprise entre 0 et 2,2 THz. Néanmoins, le spectre térahertz de la forme I présente un pic à environ 1,35 THz et avec un coefficient d'absorption inférieur à celui de la forme II. Ce pic étant légèrement décalé au niveau de la fréquence on peut supposer qu'il s'agit d'un pic caractéristique de la forme I de la caféine. Les limites de fréquences imposées par l'appareillage ne nous permettent pas d'obtenir des résultats satisfaisants sur une plus grande

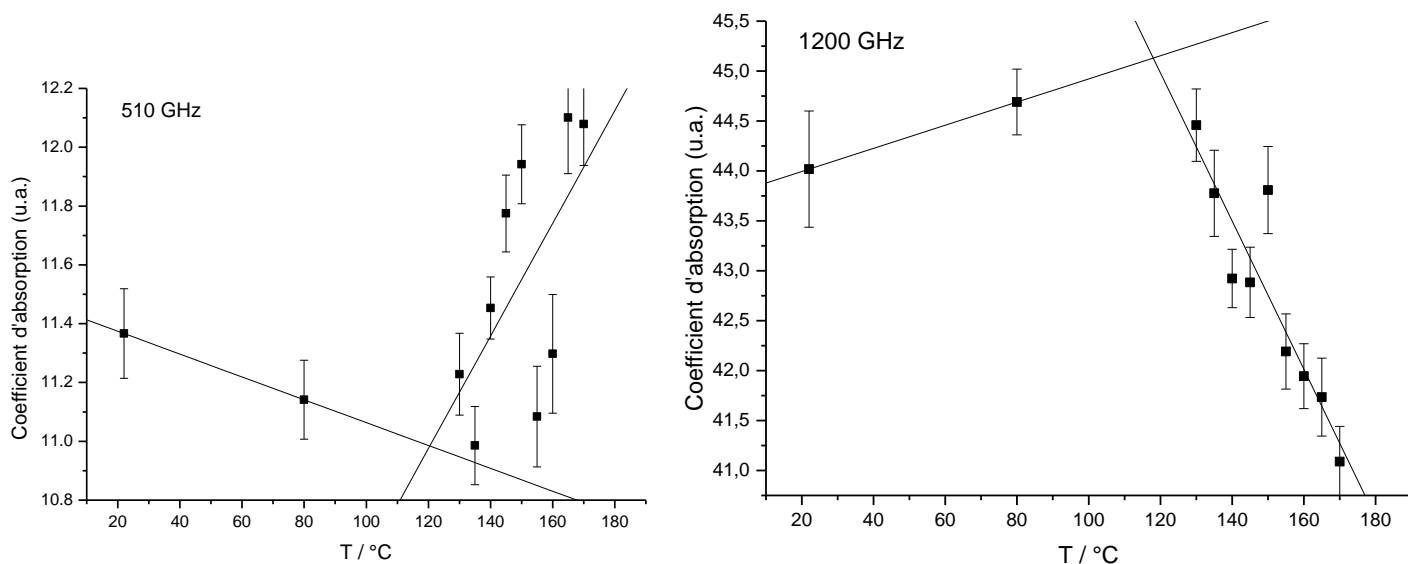
gamme de fréquence et ainsi mieux différencier les spectres. Une meilleure différenciation des spectres permettrait une meilleure comparaison entre les différentes formes.



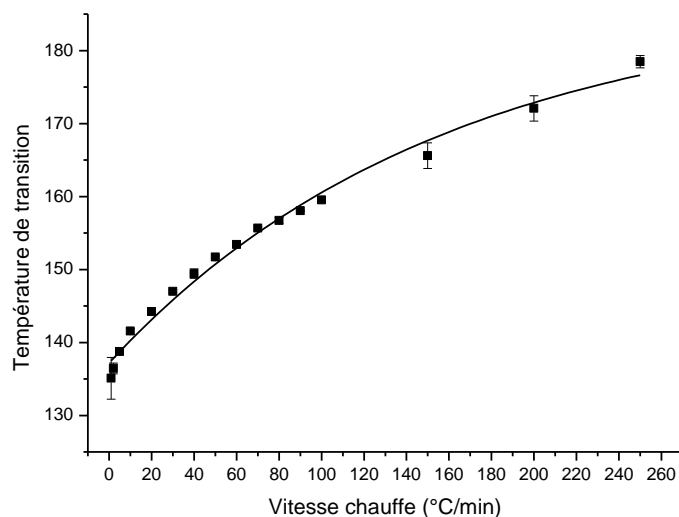
**Figure 3.13 :** Spectres térahertz de la caféine commerciale (courbe bleue), de la forme II de la caféine (courbe noire) et de la forme I de la caféine (courbe rouge).

L'un des intérêts de la caféine étant sa transition solide-solide entre la forme II stable à basse température et sa forme I stable à haute température, l'étude de ce phénomène est réalisée en analyse térahertz en utilisant la même technique que celle utilisée pour la détection de la transition vitreuse ou de la cristallisation du paracétamol. La caféine est donc introduite dans le dispositif d'analyse térahertz, la température est augmentée manuellement de 22 à 170 °C en enregistrant un spectre à certaines températures et notamment tous les 5 °C entre 130 et 170 °C puisque la température de transition de la caféine se situe dans cette gamme de température. A partir de ces spectres, comme pour le paracétamol, le coefficient d'absorption est relevé pour chaque température à certaines fréquences données. Les graphes reliant le coefficient d'absorption à la température sont alors tracés pour les fréquences

suivantes : 510 et 1200 GHz (Figure 3.14). Ces graphes montrent un changement significatif de la pente du coefficient d'absorption à une certaine température. En effet, lorsque l'on trace une droite pour chacune des deux pentes, on s'aperçoit que les deux droites se croisent à une température d'environ 120 °C. D'après ce qui a été vu précédemment sur les analyses térahertz, ce changement de pente indique une transition, or d'après les analyses thermiques sur la caféine, la transition solide-solide intervient aux alentours de 140°C. Un écart qui s'explique par la dépendance de la transition solide-solide envers la vitesse de chauffe de l'analyse. En effet, d'après la littérature, la température de transition solide-solide de la caféine dépend de la vitesse de chauffe [A.-A. Decroix 2009]. Le graphe démontrant que la température de transition solide-solide dépend de la vitesse de chauffe a été tracée (Figure 3.15). Le graphe montre qu'à faible vitesse (ici, 2 °C.min<sup>-1</sup>) la température de transition a alors lieu à 135 °C au lieu de 140 °C environ pour les analyses à 10 °C.min<sup>-1</sup>. L'analyse térahertz s'effectuant à une vitesse moyenne d'environ 0,07 °C.min<sup>-1</sup> comme calculée précédemment, la température de transition solide-solide de la caféine pourrait donc bien avoir lieu à une température de 120 °C. Ceci signifie que l'intersection des droites du coefficient d'absorption en fonction de la température correspond donc bien à la transition solide-solide de la caféine.



**Figure 3.14 :** Coefficient d'absorption du paracétamol à 510 et 1200 GHz en fonction de la température.



**Figure 3.15 :** Evolution de la température de transition solide-solide de la caféine en fonction de la vitesse de chauffe

## II.5 Conclusion

L'analyse thermique a permis de consolider les données physico-chimiques de la caféine et d'isoler les deux formes solides de la caféine. La transition solide-solide entre ses deux polymorphes a ainsi pu être mise en évidence par spectroscopie térahertz.

## Références

P. M. Frischknecht, J. Ulmer-Dufek and T. W. Baumann, Purine alkaloid formation in buds and developing leaflets of *coffea arabica*: expression of an optimal defense strategy ?, *phytochemistry*, 25(3) (1986) 613-616.

B. A. Weinberg, B. K. Bealer, *The world of Caffeine*, Routledge (2002).

S. Bolton, G. Null, Caffeine: Psychological Effects, Use and Abuse, *Orthomolecular Psychiatry*, 10(3) (1981) 202–211.

Site web Medline Plus, consulté le 09/05/2016 : <http://web.archive.org/web/20070223063601/http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/uspdi/202105.html>

Site web ANSM Santé, consulté le 09/05/2016 : <http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Vente-de-medicaments-sur-Internet-Point-d-information>

S. S. Pinto, H. P. Diogo, Thermochemical study of two anhydrous polymorphs of caffeine, *J. Chem. Thermodynamics*, 38 (2006) 1515–1522.

A.-A. Decroix, Stabilité physique et désordre orientationnel dans un cristal à usage thérapeutique : la caféine, *Thèse d'université*, Lille 1 (2009).

### **Partie III : Le chlorhydrate de sibutramine monohydraté**

Cette dernière partie du chapitre 3 va permettre d'étudier les capacités de détection de l'analyse térahertz vis-à-vis-à-vis des composés hydratés. Contrairement aux précédents composés, le chlorhydrate de sibutramine monohydraté ne possède pas de propriétés physico-chimiques clairement caractérisées. La partie commencera par la présentation du composé puis viendra une analyse détaillée de ses caractéristiques physico-chimiques ainsi qu'un descriptif des méthodes utilisées afin d'isoler les différentes formes possibles. La partie se terminera par l'analyse térahertz des formes hydratée et anhydre.

#### **III.1 Présentation**

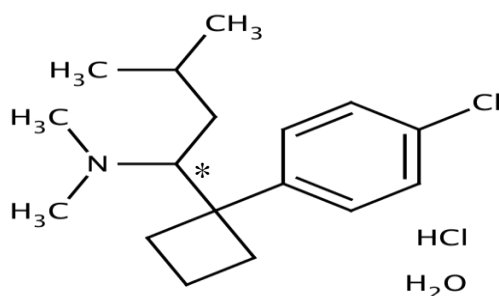
Le chlorhydrate de sibutramine monohydraté ou chlorhydrate N-(1-(4-chloro phenyl cyclobutyl)-3-methylbutyl)-N-N-dimethyl amine monohydraté est une substance active utilisée notamment dans le traitement de l'obésité. L'abréviation sibutramine sera majoritairement utilisée dans la suite. La sibutramine permet, lors de son utilisation, de diminuer l'appétit et provoque notamment un effet de satiété [Higgs S. 2010]. Comme beaucoup de substances actives, la sibutramine possède plusieurs effets secondaires qui peuvent être dans certains cas très graves. Les effets secondaires principalement constatés sont des risques cardiovasculaires, des fibroses, un déclin de la fertilité mais aussi de graves effets négatifs sur la thyroïde et le fonctionnement du foie [Zhou Y.-H. 2012][Oberholzer H. M. 2015][Saleh Bin Bisher A. 2010][Borges C. S. 2013]. Comme indiqué dans l'introduction, la sibutramine a été commercialisée en France sous le nom de Sibutral® et Reductil® en



Europe mais son autorisation de mise sur le marché a été suspendue en 2010 par l'agence européenne de médecine [d'après le site European Medicines Agency]. Les causes de ce retrait sont, entre autres, un rapport trop faible entre les bienfaits et les risques liés à la consommation de cette substance active. Elle reste en revanche commercialisée notamment aux Etats-Unis et au Canada. A cause de cette interdiction, la sibutramine est de plus en plus utilisée dans les produits de contrefaçons.

La sibutramine se présente sous une forme racémique causée par la présence d'un carbone hybridé  $sp^3$  composé de 4 groupements différents dont un groupement amine secondaire (Figure 3.16). Bien que seule la forme racémique soit commercialisée, on rencontre la sibutramine sous ses formes énantiomères (R-sibutramine et S-sibutramine) et en mélange équimolaire des deux énantiomères.

Après analyse de la littérature, il ressort que les données thermodynamiques de la sibutramine sont confuses et imprécises notamment en ce qui concerne le point de fusion de la forme anhydre mais également sur les caractéristiques de déshydratation de la forme hydratée. L'intérêt ici est de voir si la technologie térahertz est suffisamment sensible pour pouvoir différencier les formes hydratées des formes anhydres de la sibutramine.



**Figure 3.16 :** Structure moléculaire du chlorhydrate de sibutramine monohydraté (\* : carbone asymétrique)

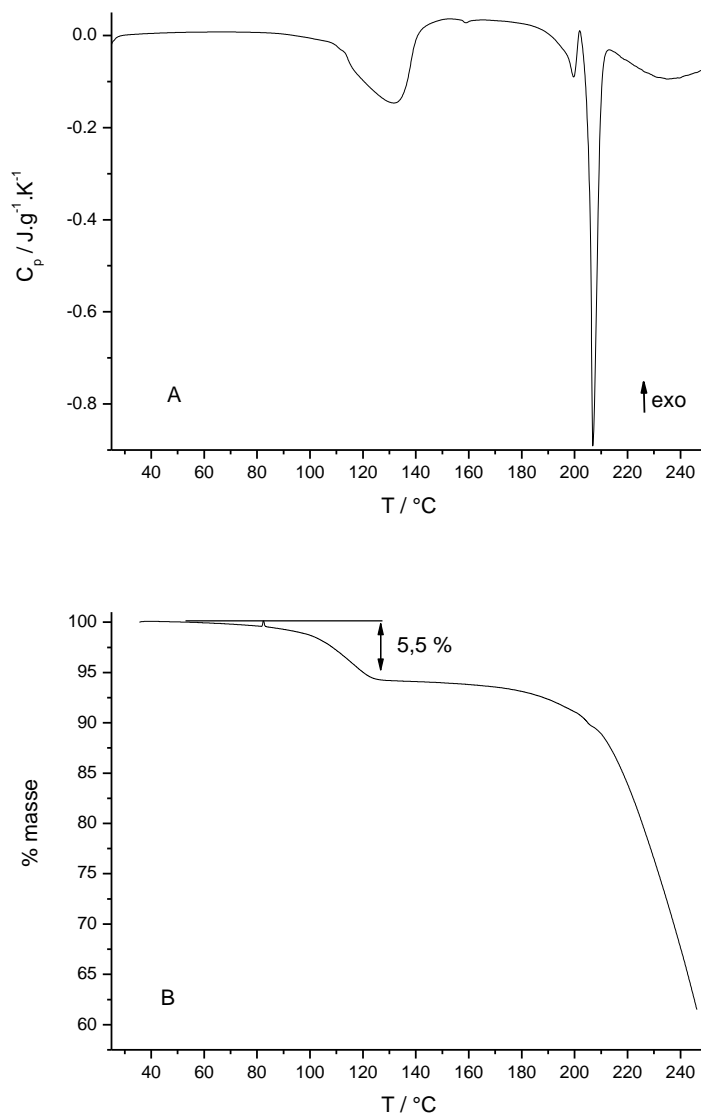
### III.2 Comportement à la chaleur de la sibutramine

Comme dit précédemment, la littérature présente des caractéristiques de fusion imprécises. En effet, différents auteurs présentent des thermogrammes DSC et/ou ATG de la sibutramine monohydratée. La plupart des publications présentent une courbe DSC comportant une déshydratation comprise entre 96 et 115 °C avec une enthalpie de déshydratation associée qui varie de 70 à 96 J.g<sup>-1</sup>. Cette déshydratation est suivie de la fusion du chlorhydrate de sibutramine anhydre dont la température de fusion varie entre 188 et 197 °C pour une enthalpie de fusion associée de 91 à 97 J.g<sup>-1</sup> [Nicolás-Vázquez I. 2014][Ravikirian A. 2013][Oliveira P.R. 2010][Pajzderska A. 2012][Maccaroni E. 2008]. Un des auteurs présente en revanche une étude supplémentaire sur la sibutramine déshydratée au four avant l'analyse thermique. Le thermogramme DSC de la sibutramine anhydre présente alors un pic de fusion à 195,11 °C, l'enthalpie de fusion associée n'étant pas donnée dans ce cas. [Maccaroni E. 2008]

Une première analyse thermique a été réalisée sur le chlorhydrate de sibutramine monohydraté commercial. Les analyses DSC et ATG ont été réalisées à 5 °C.min<sup>-1</sup>. Le thermogramme DSC présente un premier pic endothermique à environ 100 °C correspondant à la déshydratation de la sibutramine comme vu dans les précédentes publications (Figure 3.17A). Cette déshydratation est confirmée par l'analyse ATG réalisée en parallèle de l'analyse DSC qui présente une perte de masse d'environ 5,5 % de la masse totale initialement présente. Ce résultat correspond au pourcentage de masse d'une molécule d'eau présente dans le chlorhydrate de sibutramine monohydraté (Figure 3.17B). L'enthalpie de déshydratation associée à ce phénomène est de 41,2 ± 2,8 kJ par mole d'eau. Ce résultat a

alors été comparé aux résultats de la littérature pour voir s'il est en accord avec l'enthalpie généralement associée à une perte de molécule d'eau. La littérature rapporte une enthalpie de déshydratation pour des molécules présentant des cavités internes de 45,5 kJ par mole d'eau pour le dichlorhydrate de quinacrine dihydraté [Rotival R. 2011] et entre 50 et 63 kJ par mole d'eau pour la b-cyclodextrine hydratée [Bilal M. 1995] et le cucurbiturile hydraté [Germain P. 1998]. Notre résultat est légèrement inférieur aux données relevées dans la littérature mais reste en accord avec celles-ci.

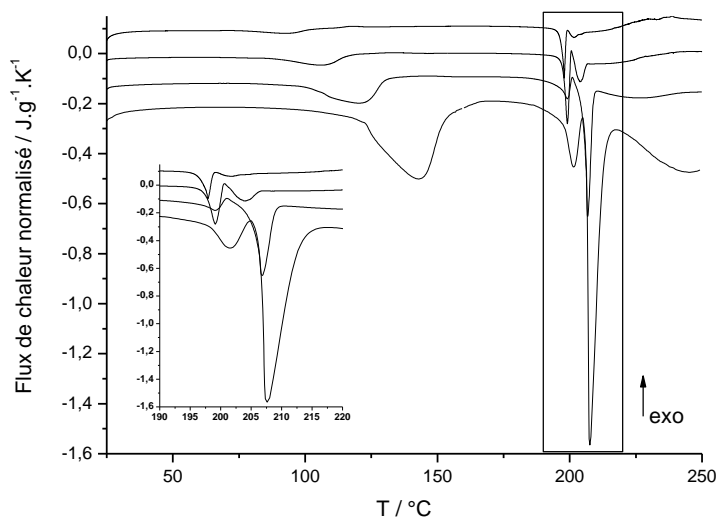
Après la déshydratation, le chlorhydrate de sibutramine alors anhydre présente deux pics endothermiques à environ 194 et 205 °C. Ces deux pics correspondent donc à la fusion de la forme anhydre. Ces résultats ne correspondent alors pas aux résultats précédemment cités où il n'existait qu'un pic de fusion de la forme anhydre compris entre 188 et 197 °C. D'après ces températures, le pic de fusion obtenu dans la littérature correspondrait au premier pic de fusion obtenu dans ces travaux (Figure 3.17A). Après la fusion de la forme anhydre, l'analyse DSC, de par le large pic endothermique obtenu après le pic de fusion, et l'analyse ATG, de par la perte de masse après 210 °C, montrent que le produit se dégrade.



**Figure 3.17 :** Thermogrammes DSC (A) et ATG (B) du chlorhydrate de sibutramine monohydratée à 5 °C.min<sup>-1</sup>.

Afin de comprendre à quoi correspondent ces deux pics de fusion, différentes analyses ont été réalisées notamment des analyses DSC à différentes vitesses de chauffe. D’après les résultats obtenus en modifiant la vitesse de chauffe, une variation de l’intensité des pics de fusion peut être observée (Figure 3.18). En effet, lorsque la vitesse de chauffe augmente, le

deuxième pic de fusion (initialement obtenu à 205 °C) augmente par rapport au premier pic. Grâce à cette observation, l'hypothèse émise est que chaque pic correspond à la fusion d'une forme anhydre différente du chlorhydrate de sibutramine.

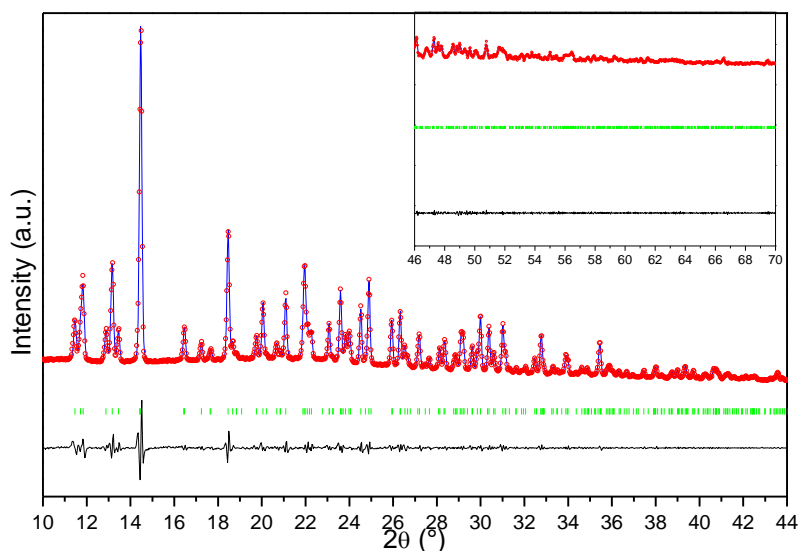


**Figure 3.18 :** Thermogrammes DSC du chlorhydrate de sibutramine monohydraté à obtenus 1, 2, 5 et 20 °C.min<sup>-1</sup> (de haut en bas) avec zoom sur la gamme de température entre 190 °C et 220 °C.

### III.3 Structure cristalline du chlorhydrate de sibutramine monohydraté

Etant donné les différences importantes entre la littérature et les analyses menées dans ces travaux, le diagramme de diffraction des rayons X sur poudre du chlorhydrate de sibutramine monohydraté commercial a été réalisé à température ambiante afin de confirmer que le produit étudié est bien identique à celui de la littérature. Le diffractogramme après affinement de Pawley ainsi que la comparaison des paramètres de maille sont visibles dans la figure 3.19

et le tableau 3.1. Le groupe d'espace ainsi que les paramètres de maille sont alors en accord avec la littérature [Chen Y. 2005] ce qui signifie que les produits utilisés sont identiques et que dans ce cas les différences observées précédemment ne peuvent s'expliquer par une différence cristallographique de la forme commerciale hydratée.



**Figure 3.19 :** Affinement de Pawley des données de diffraction des rayons X sur poudres du chlorhydrate de sibutramine monohydraté obtenu à température ambiante. Le zoom correspond à l'échelle de données comprises entre  $46^\circ$  et  $70^\circ$  grossie 15 fois. Ligne bleue : diffractogramme expérimental, cercles rouges vides : diffractogramme calculé, barres vertes verticales : positions des pics de diffraction, ligne noire : diffractogramme résiduel.

**Tableau 3.1 :** Tableau comparatif des paramètres de maille du chlorhydrate de sibutramine monohydraté obtenus à partir du spectre de diffraction des rayons X sur poudres et de la résolution sur monocristal

	[Chen Y. 2005]	Cette étude
	monocristal	poudre
température	294 K	294 K
Syst. cryst.	orthorhombique	orthorhombique
Groupe d'espace	Pbcn	Pbcn
Dimensions de la maille élémentaire	a = 13,442(3)	a = 13.4088(12)
	b = 9,374(2)	b = 9,3919(8)
	c = 30,110(7)	c = 30,100(3)
volume ( $\text{\AA}^3$ )	3794,0	3790,6(10)
Z(Z')	8(1)	8(1)

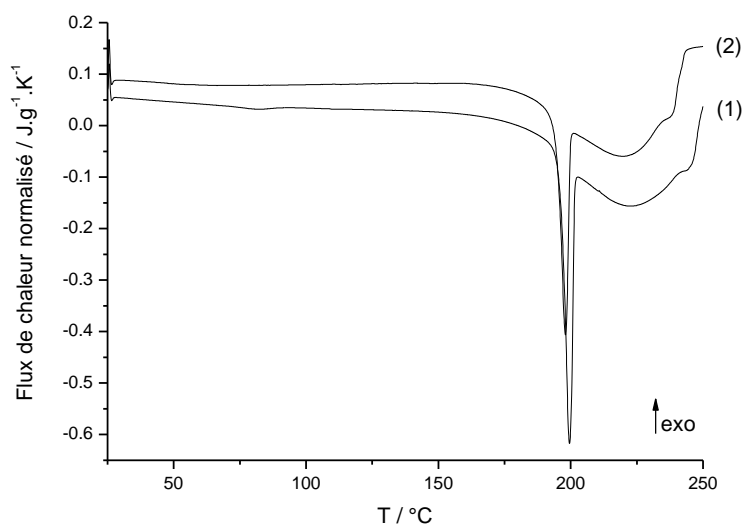
### III.4 Méthodes de préparation des différentes formes hypothétiques

Afin d'étudier l'hypothèse de l'existence de différentes formes anhydres du chlorhydrate de sibutramine, différentes méthodes de préparation ont été utilisées afin d'isoler chacune des formes. Ces méthodes et leurs résultats sont présentés dans les paragraphes suivants.

### III.4.1 Méthode de sublimation

La première méthode utilisée consiste à placer la sibutramine au four dans des tubes où l'extrémité est placée à température ambiante afin d'obtenir des cristaux de sibutramine par sublimation. Deux tubes ont été placés dans des fours, le premier contenant la sibutramine commerciale monohydratée, le second de la sibutramine anhydre déshydratée par DSC. L'idée serait que la sibutramine monohydratée cristalliserait par sublimation sous une forme anhydre différente que le ferait la sibutramine anhydre déshydratée par DSC. Après quelques jours placés dans les fours, les cristaux sont alors prélevés et analysés par DSC à  $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figure 3.20). Les résultats montrent tout d'abord que les cristaux correspondent bien à de la sibutramine anhydre puisque le pic de déshydratation normalement présent à environ  $100\text{ °C}$  n'apparaît plus pour ces deux produits. Un pic endothermique est alors visible dans les deux cas. Pour les cristaux obtenus à partir de la sibutramine monohydratée, le pic se situe à  $196,55\text{ °C}$  et présente une enthalpie de  $32,99\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . En ce qui concerne les cristaux obtenus à partir de la sibutramine déshydratée par DSC, le pic endothermique est obtenu à  $195,04\text{ °C}$  avec une enthalpie associée de  $25,40\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Ces pics endothermiques correspondent donc à la fusion de la sibutramine anhydre et peuvent être associés au premier pic de fusion obtenu lors de l'analyse DSC de la sibutramine monohydratée commerciale. Le fait que les températures de fusion des deux cristaux soient proches permet de supposer que les cristaux obtenus sont les mêmes dans les deux cas.





**Figure 3.20 :** Thermogrammes DSC réalisés à  $5\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$  sur des cristaux de chlorhydrate de sibutramine monohydratée (1) et de chlorhydrate de sibutramine anhydre (2).

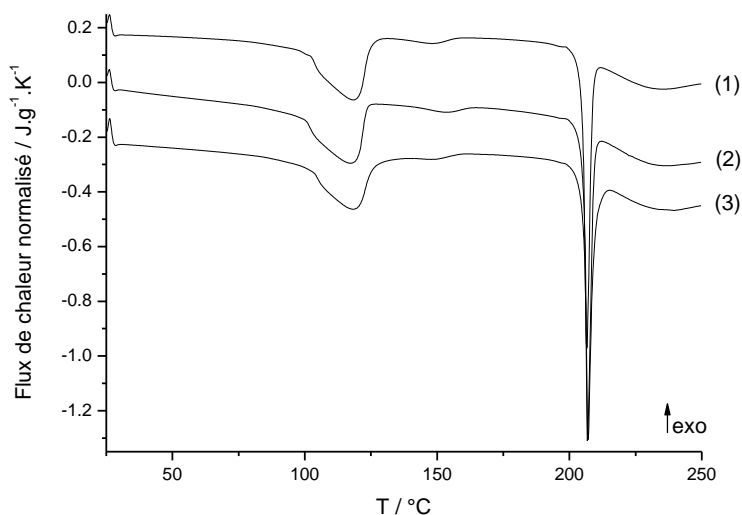
Les cristaux obtenus à partir de la sibutramine monohydratée et la sibutramine anhydre ont été analysés par diffraction des rayons X sur monocristal afin de vérifier si ceux-ci ont la même forme cristalline ou s'il s'agit des deux formes différentes recherchées. Les résultats de la diffraction des rayons X nous donnent un groupe d'espace P21/n et des paramètres de maille qui sont les suivants :  $a = 7,3145(1)\text{ Å}$  ;  $b = 25,4537(2)\text{ Å}$  ;  $c = 9,7471(2)\text{ Å}$  ;  $\beta = 101,6733(1)\text{ °}$ . Ces résultats sont identiques pour les différents cristaux obtenus et confirment l'hypothèse que la méthode de sublimation ne permet d'obtenir qu'une forme cristalline du chlorhydrate de sibutramine anhydre. Les paramètres de maille et le groupe d'espace obtenus sont en accord avec la forme cristalline anhydre de la littérature [Maccaroni E. 2008]. Cette forme anhydre sera appelée forme anhydre A.

### III.4.2 Méthode de recristallisation par évaporation lente

Cette seconde méthode consiste à utiliser la technique de recristallisation par évaporation lente. Pour cette technique, la sibutramine commerciale est tout d'abord déshydratée par DSC à différentes vitesses de chauffe et jusqu'à différentes températures. Les quatre vitesses et températures choisies sont :  $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  jusqu'à  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  et jusqu'à  $135\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  jusqu'à  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  et jusqu'à  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ces vitesses et ces températures ont été choisies afin de se placer, d'une part, juste après la déshydratation de la sibutramine, et d'autre part, un peu plus loin en terme de température de la fin de la déshydratation. La sibutramine alors déshydratée est dissoute dans du méthanol anhydre et laissée à température ambiante soit à l'air libre soit sous cloche afin d'être sous atmosphère anhydre jusqu'à l'évaporation totale du méthanol anhydre. Une fois le méthanol anhydre évaporé, les échantillons obtenus sont analysés par DSC. De toutes ces préparations, seulement trois ont un intérêt dans notre cas. Les trois échantillons retenus sont ceux où la sibutramine monohydratée a été déshydratée à  $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  jusqu'à  $135\text{ }^{\circ}\text{C}$  puis dissoute et laissée recristalliser à l'air libre et sous cloche et celle déshydratée à  $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  jusqu'à  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  et laissée recristalliser à l'air libre.

En effet, lorsqu'on étudie les thermogrammes DSC de ces trois échantillons, deux pics endothermiques sont alors visibles (Figure 3.21). Le premier à environ  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  qui correspond à la déshydratation de la sibutramine monohydratée, ce pic permet de voir que la sibutramine s'est réhydratée lors de la recristallisation que ce soit à l'air libre ou sous la cloche. Le second pic intervient à une température de  $205,0 \pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$  avec une enthalpie associée de  $27,8 \pm 0,6\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Ce pic est caractéristique d'une fusion et correspond donc à la fusion de la forme anhydre de la sibutramine. Néanmoins, les données obtenues sont différentes de celles précédemment obtenues par sublimation et notamment une différence de température de fusion de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Cette différence étant trop grande pour être dans l'erreur possible des

appareils, on peut alors penser être en présence de la deuxième forme anhydre représentée lors de l'analyse de la sibutramine monohydratée commerciale par le deuxième pic de fusion. Cette nouvelle forme anhydre supposée sera appelée forme anhydre B. Un troisième pic endothermique est visible à  $139,6 \pm 3,6$  °C avec une enthalpie associée de  $2,6 \pm 1,0$  kJ.mol<sup>-1</sup>. Ce pic ressemble de par sa forme à un pic de transition. Néanmoins, à ce stade de l'étude, il n'est pas possible de confirmer cette hypothèse. Celle-ci sera étudiée dans la suite de ces travaux.



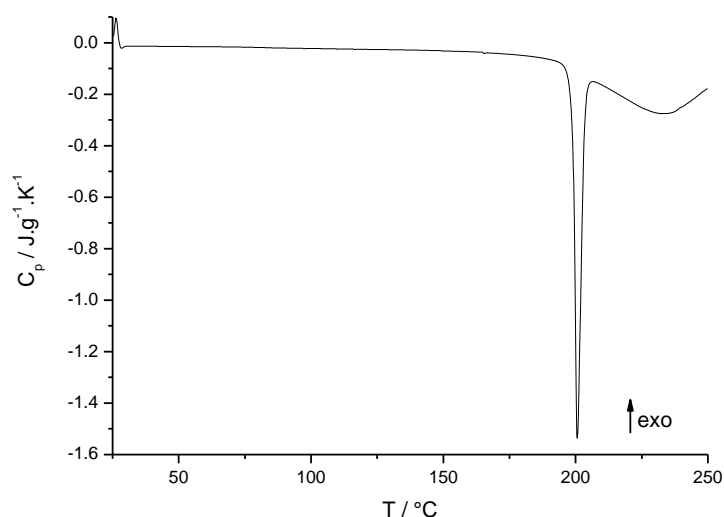
**Figure 3.21 :** Thermogrammes DSC, réalisés à 1 °C.min<sup>-1</sup>, du chlorhydrate de sibutramine monohydratée déshydraté jusqu'à :

- 110 °C puis recristallisé par évaporation lente dans le méthanol anhydre à l'air libre (1)
- 135 °C puis recristallisé par évaporation lente dans le méthanol anhydre à l'air libre (2)
- 135 °C puis recristallisé par évaporation lente dans le méthanol anhydre sous cloche (3)

Malheureusement, nous n'avons pas réussi à reproduire ces analyses. Les protocoles expérimentaux d'obtention de la deuxième forme de la sibutramine devront donc être approfondis.

### III.4.3 Méthode de déshydratation au four

Cette troisième méthode a été de déshydrater la sibutramine au four pendant plusieurs jours. En effet, la sibutramine monohydratée commerciale est placée au four à 120°C afin d'être déshydratée puis recuite pendant plusieurs jours. Après ces quelques jours, une analyse DSC est réalisée à 10 °C.min<sup>-1</sup> (Figure 3.22). Le large pic endothermique de déshydratation n'apparaît pas dans cette analyse ce qui signifie que l'on se trouve bien avec un produit recuit anhydre. Un unique pic endothermique caractéristique de la fusion est visible à 198,8 ± 0,2 °C pour une enthalpie de fusion de 38,8 ± 1,6 kJ.mol<sup>-1</sup>. Ce pic peut donc être associé au premier pic de fusion de la sibutramine anhydre obtenu lors de l'analyse DSC de la sibutramine monohydratée commerciale et donc la forme anhydre A.

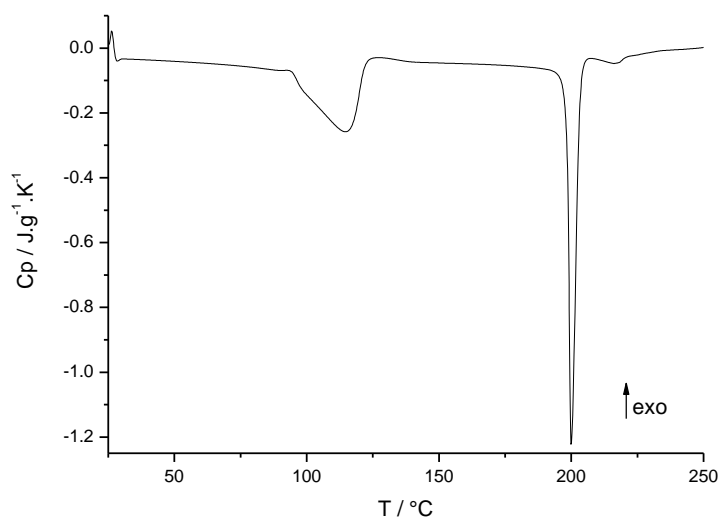


**Figure 3.22 :** Thermogramme DSC du chlorhydrate de sibutramine déshydraté au four à 120 °C (vitesse de chauffe : 10 °C.min<sup>-1</sup>)

Des analyses effectuées quelques jours plus tard après l'avoir laissé à l'air libre montrent une très bonne stabilité de cette forme anhydre qui ne se réhydrate pas à l'humidité ambiante.

### III.4.4 Méthode de broyage

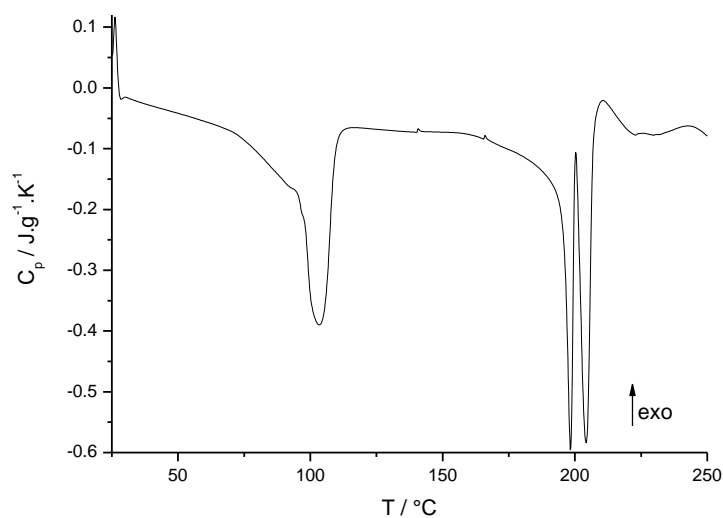
Une autre méthode a été utilisée afin d'isoler les différentes formes anhydres possibles de la sibutramine. Cette méthode consiste simplement à broyer la sibutramine monohydratée commerciale dans un mortier avant de l'analyser par DSC (Figure 3.23). Le thermogramme DSC présente tout d'abord un pic de déshydratation à environ 100 °C démontrant que le broyage n'a pas déshydraté la sibutramine. En continuant de chauffer, un pic endothermique est visible à 198,17 °C avec une enthalpie associée de 36,56 kJ.mol<sup>-1</sup>. Ces données correspondent à la fusion de la sibutramine anhydre obtenue au four. Cette sibutramine correspond donc à la forme anhydre A.



**Figure 3.23 :** Thermogramme DSC du chlorhydrate de sibutramine monohydraté broyé (vitesse de chauffe : 10 °C.min<sup>-1</sup>).

### III.4.5 Recristallisation à partir d'une des deux formes

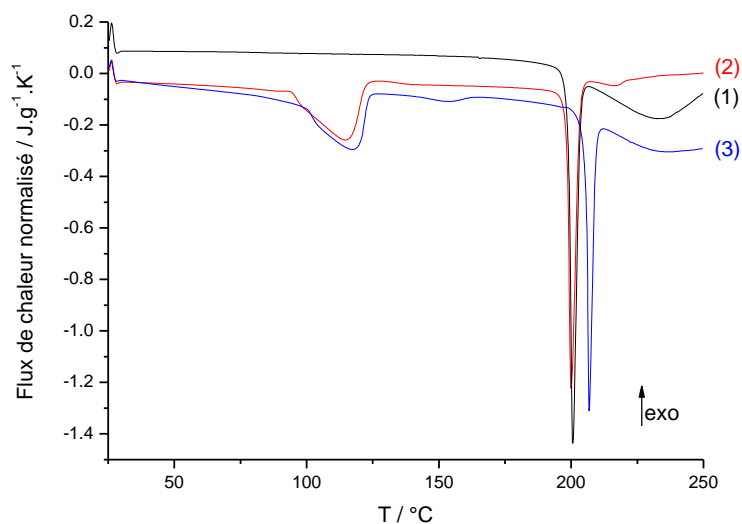
D'après les précédentes méthodes utilisées, il a été possible d'isoler les deux formes anhydres supposées de la sibutramine. En revanche, la forme anhydre qui fond à une température plus haute et obtenue par recristallisation par évaporation lente de solvant est plus difficile à obtenir contrairement à l'autre forme qui est facilement obtenue au four et stable. Dans le but d'améliorer l'obtention et la stabilité de cette forme anhydre B, une dernière méthode est testée. Celle-ci consiste à recristalliser la forme anhydre de la sibutramine obtenue au four par évaporation lente de solvant. La sibutramine anhydre est donc dissoute dans du méthanol anhydre puis laissée à l'air libre jusqu'à évaporation totale du solvant. Une analyse DSC est alors réalisée à  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figure 3.24). Le thermogramme DSC présente alors un pic de déshydratation à environ  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  signifiant que la recristallisation de la forme anhydre dans le méthanol anhydre a donné lieu à une réhydratation de la sibutramine. On retrouve ensuite les deux pics de fusion des deux formes anhydres hypothétiques de la sibutramine en proportion quasi-similaire ce qui signifie que cette méthode ne permet pas d'obtenir exclusivement la forme anhydre B souhaitée en partant de la forme anhydre A.



**Figure 3.24 :** Thermogramme DSC réalisé à  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  du chlorhydrate de sibutramine préparé au four puis recristallisé par évaporation lente dans du méthanol anhydre.

### III.4.6 Résumé des résultats obtenus

En résumé, grâce à différentes méthodes, il est possible d'obtenir deux pics de fusions à deux températures de fusion différentes pour la sibutramine anhydre à partir de la forme hydratée (Figure 3.25 (2) et (3)) et d'isoler l'une des formes sous forme anhydre à température ambiante (Figure 3.25 (1)). Ces résultats poussent à croire que l'hypothèse formulée précédemment sur l'existence de deux formes anhydres du chlorhydrate de sibutramine est possible et que les résultats obtenus à la figure 3.16 ne sont pas un artefact. La différence de température de fusion entre les deux pics obtenus à partir de la forme commerciale et les pics de fusion de chaque forme pris séparément peut être expliquée par l'effet de mélange entre les deux formes anhydres qui abaisse la température de fusion.



**Figure 3.25 :** Thermogrammes DSC obtenus à  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  du chlorhydrate de sibutramine anhydre recuit au four (1), du chlorhydrate de sibutramine hydraté broyé (2) et recristallisé dans le méthanol anhydre à température ambiante (3)

Afin de confirmer que ces deux formes anhydres sont bien différentes, elles vont faire l'objet d'une analyse par diffraction des rayons X sur poudre.

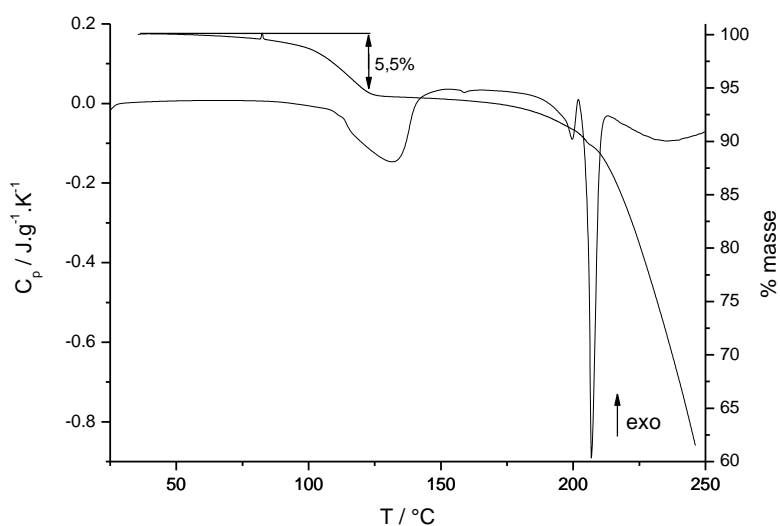
### III.5 Sublimation du chlorhydrate de sibutramine monohydratée

A partir des premiers résultats obtenus sur le chlorhydrate de sibutramine monohydraté, lorsqu'on superpose les thermogrammes ATG et DSC, une petite perte de masse est visible avant et en même temps que la fusion de la sibutramine anhydre à partir d'environ  $175^{\circ}\text{C}$  (Figure 3.26).

Cette perte de masse d'environ 4% peut être due à deux phénomènes : la sublimation ou la dégradation. Le phénomène de sublimation peut être vu notamment à l'œil nu ou au



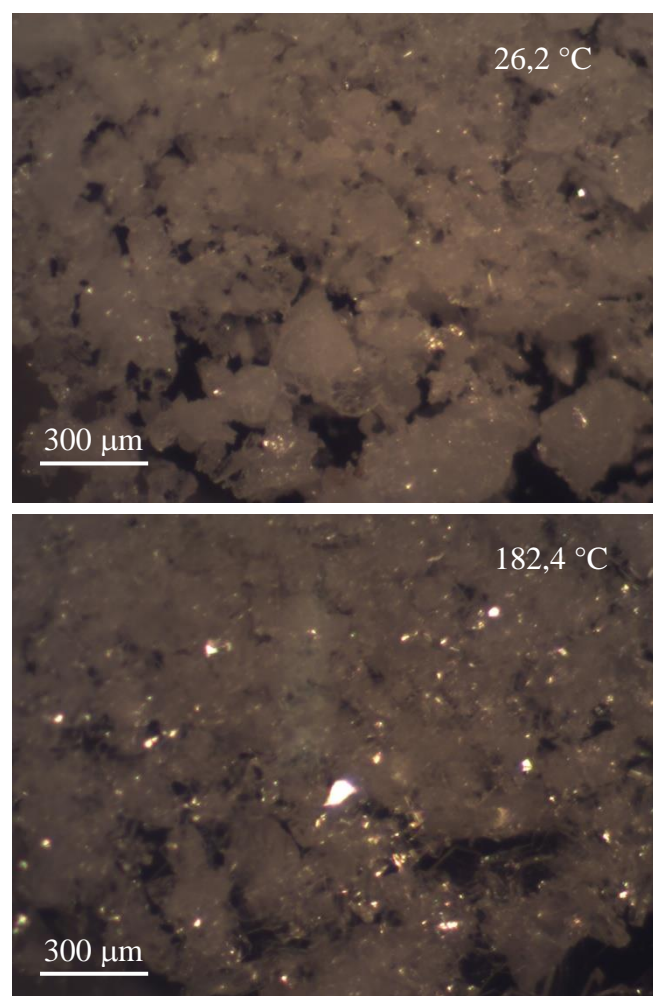
microscope. Lorsque le produit, initialement déposé dans un récipient en verre fermé sur le dessus, est chauffé sur plaque chauffante, il passe à l'état de gaz qui, au contact du verre, va se condenser. Afin d'étudier le phénomène de sublimation, la technique de thermomicroscopie a été utilisée. Un premier test a été réalisé sur le chlorhydrate de sibutramine monohydraté mais celui-ci, à cause de la déshydratation du produit, n'a pas permis de déterminer si la condensation visible au microscope était due à la déshydratation ou à la sublimation du produit. Etant donné qu'une des formes anhydres du chlorhydrate de sibutramine est facilement obtenue (forme A préparée au four), on va utiliser cette forme pour déterminer quel type de phénomène a lieu à partir de 175°C.



**Figure 3.26 :** Thermogrammes DSC et ATG du chlorhydrate de sibutramine hydraté réalisés à 5 °C.min<sup>-1</sup>.

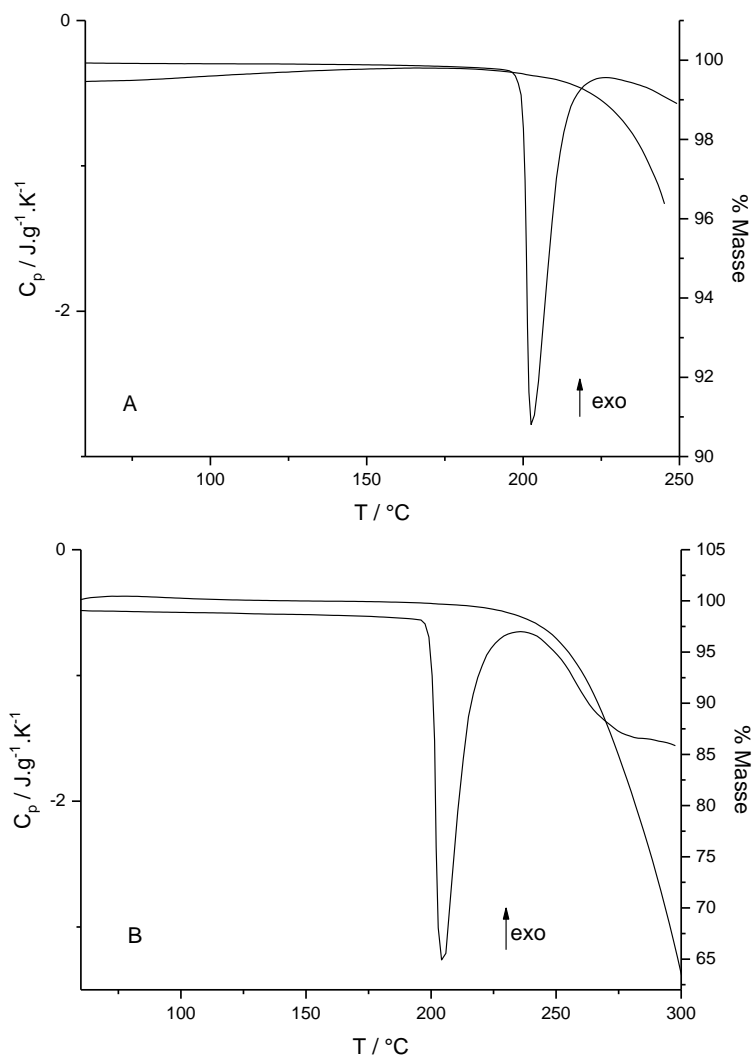
La sibutramine anhydre est alors étalée sur une lame de microscope puis recouverte d'une lamelle en verre. La lame est ensuite introduite dans une cellule de chauffe qui va permettre de réaliser une rampe de température à la vitesse souhaitée à partir de la température ambiante, comme pour les analyses ATG ou DSC. Ici, la cellule de chauffe réalise une rampe de 25 °C à 210 °C à raison de 10 °C.min<sup>-1</sup> et des photos sont prises toutes les 2 secondes

grâce à une caméra. L'analyse des photos montre que l'augmentation de la température provoque un dépôt sur la lamelle supérieure à partir d'environ 140 °C (Figure 3.27). A 26,2 °C, la poudre est bien visible au microscope tandis qu'à environ 182 °C, la poudre de sibutramine est moins visible à cause de la sublimation du produit qui s'est déposé sur la lamelle supérieure. Ce phénomène a lieu avant la fusion de la sibutramine et continue jusqu'à sa fusion. La perte de masse visible en ATG correspond donc à la sublimation et l'évaporation du chlorhydrate de sibutramine.



**Figure 3.27 :** Photos prises au microscope optique lors de l'analyse par thermomicroscopie du chlorhydrate de sibutramine hydraté (T = 26,2 °C et 182,4 °C).

Le phénomène de sublimation (plus particulièrement la quantité de produit sublimé) dépend de la vitesse de chauffe ce qui signifie que si l'on augmente la vitesse de chauffe, la sublimation va subir un décalage vers les hautes températures et ne va donc plus avoir lieu avant et pendant la fusion. Afin de vérifier l'hypothèse faite sur la sublimation de la sibutramine, la sibutramine anhydre de forme A est alors analysée par DSC et ATG à différentes vitesses de chauffe et les thermogrammes sont comparés entre eux (Figure 3.28). A  $60\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , la perte de masse s'effectue toujours en même temps que la fusion, en revanche, elle a bien été décalée vers les hautes températures en comparaison aux analyses thermiques réalisées à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . En augmentant encore la vitesse de chauffe, on se rend compte qu'à  $100\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , la perte de masse de 4 % observée à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  n'est plus visible en même temps que la fusion de la sibutramine. De plus, ce phénomène de perte de masse ne peut être attribué à une dégradation car la température de fusion obtenue pour le premier pic endothermique ne varie pas en fonction de la vitesse de chauffe. Or, lorsque la fusion a lieu simultanément avec la dégradation du composé, la température « apparente » de fusion augmente avec la vitesse de chauffe [Corvis Y. 2013].



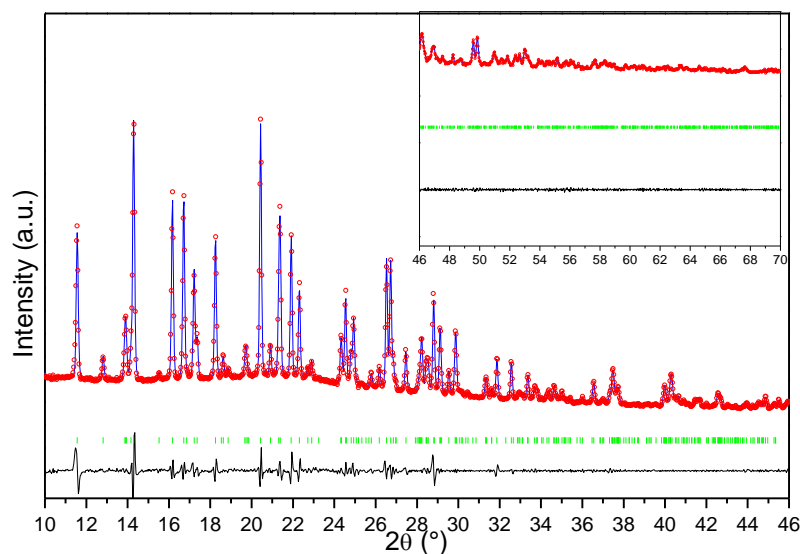
**Figure 3.28 :** Thermogrammes DSC et ATG du chlorhydrate de sibutramine anhydre obtenus à  $60\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (A) et  $100\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (B).

## III.6 Résolution par Rayon X des formes anhydres

### III.6.1 Structure cristalline de la forme anhydre A

La forme anhydre de la sibutramine appelée forme anhydre A est la forme obtenue par recuit à  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant quelques jours au four. Cette forme anhydre a été analysée par rayon X à haute résolution à température ambiante. Les résultats obtenus sont alors comparés à la

littérature [Maccaroni E. 2008]. La structure cristalline déterminée dans la littérature a été réalisée sur monocristal obtenu par sublimation/décomposition de la forme monohydratée de la sibutramine à 190 °C. Le diffractogramme obtenu après affinement de Pawley et la comparaison des paramètres de maille sont reportés dans la Figure 3.29 et le Tableau 3.2 respectivement. Les résultats montrent alors que le groupe d'espace ainsi que les paramètres de maille sont en cohérence avec ceux de la littérature, cela signifie que la forme anhydre A correspond à la forme anhydre reportée dans la plupart des articles de la littérature. Les résultats obtenus permettent d'identifier la structure cristalline de la forme anhydre A comme la structure correspondant à un racémique avec une maille constituée de deux molécules sous la conformation R et de deux molécules sous la conformation S.



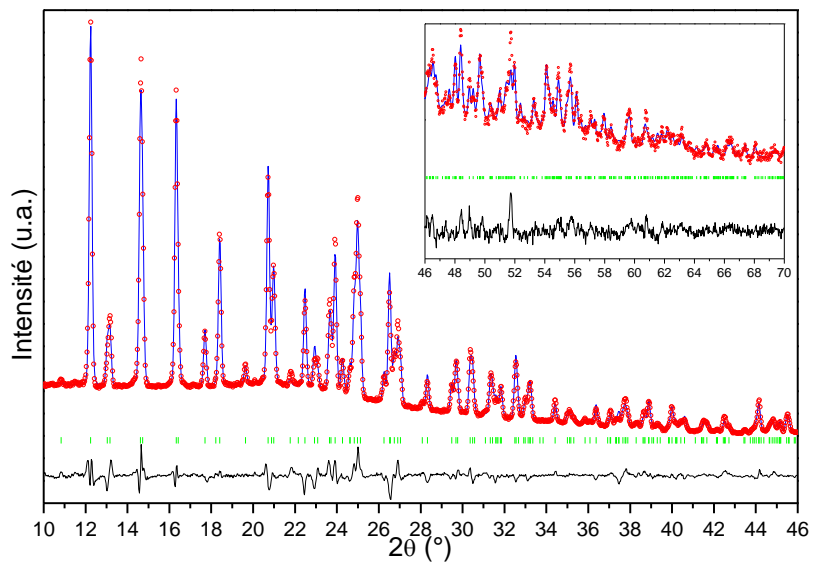
**Figure 3.29 :** Affinement final par la méthode de Pawley du diagramme de diffraction des rayons X de la forme anhydre A du chlorhydrate de sibutramine obtenue à 21 °C. Le zoom correspond à l'échelle de données entre 46 et 70 ° grossie 15 fois. En bleu : diffractogramme expérimental, cercles rouges vides : diffractogramme calculé, barres vertes verticales : positions des pics de diffraction, ligne noire : diffractogramme résiduel.

**Tableau 3.2 :** Tableau comparatif des paramètres de maille de la forme anhydre A du chlorhydrate de sibutramine. Résultats obtenus à partir du spectre de poudres (ce travail) et ceux obtenus à partir du monocristal

	[Maccaronni E. 2008]	Cette étude
	monocristal	poudre
température	293 K	294 K
Syst. cryst.	monoclinique	monoclinique
Groupe d'espace	P2 <sub>1/n</sub>	P2 <sub>1/n</sub>
Dimensions de la maille élémentaire	a = 7,321(2)	a = 7,3206(8)
	b = 25,456(2)	b = 25,475(3)
	c = 9,750(3)	c = 9,765(1)
Angle (deg)	$\beta = 101,60(2)$	$\beta = 101,559(6)$
volume (Å <sup>3</sup> )	1779,9(8)	1784,2(6)
Z	4	4

### III.6.2 Structure cristalline de la forme anhydre B

Comme pour la forme anhydre A, un diagramme de diffraction des rayons X sur poudre à température ambiante est réalisé pour la forme anhydre B. Le diagramme de diffraction indique que la structure cristalline de la forme anhydre B correspond à un système monoclinique cristallisant dans le groupe d'espace P2<sub>1</sub>. Les paramètres de maille obtenus sont alors a = 12,0282(19) Å, b = 9,0364(15) Å, c = 8,1578(11) Å et  $\beta = 90,601(9)^\circ$  (Tableau 3.3). L'affinement du diffractogramme par la méthode de Rietveld ainsi que la minimisation de l'énergie grâce au champ de force de Dreiding du module Materials Studio Forcite permettent d'obtenir une valeur de fiabilité finale Rwp de 4,36 % (Figure 3.30).



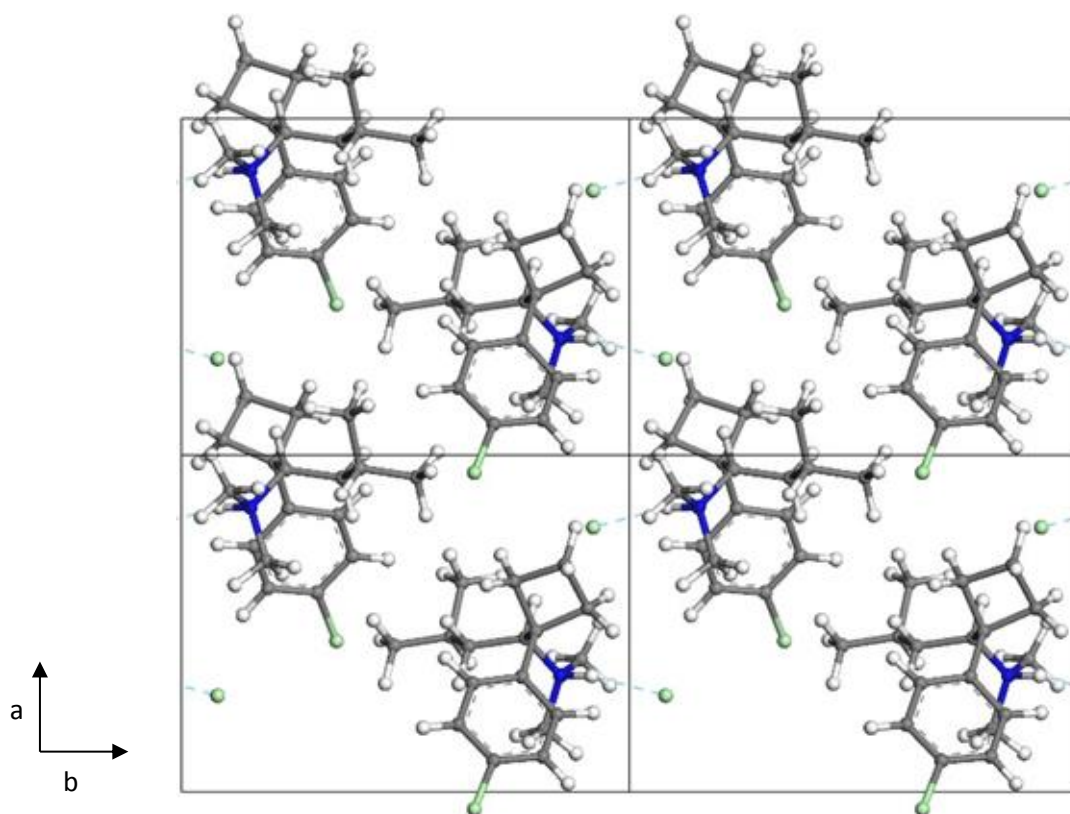
**Figure 3.30 :** Affinement final par la méthode de Rietveld du diagramme de diffraction des rayons X de la forme anhydre B du chlorhydrate de sibutramine obtenue à 21 °C. Le zoom correspond à l'échelle de données entre 46 et 70 ° grossie 15 fois. En bleu : diffractogramme expérimental, cercles rouges vides : diffractogramme calculé, barres vertes verticales : positions des pics de diffraction, ligne noire : diffractogramme résiduel.

**Tableau 3.3 :** Résultats de l'affinement de Rietveld obtenus sur la forme anhydre B du chlorhydrate de Sibutramine.

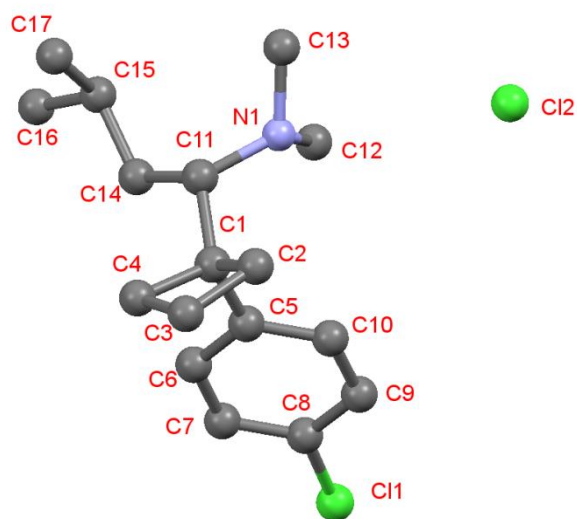
Formule	$C_{17}H_{27}NCl_2$	
Masse molaire ( $g\ mol^{-1}$ )	316.3	
température	295(1) K	
Longueur d'onde	1,540562 Å	
Syst. cryst.	Monoclinique	
Groupe d'espace	$P\ 2_1$	
Dimensions de la maille élémentaire	longueur (Å)	a = 12,0282(19)
		b = 9,0364(15)
		c = 8,1578(11)
	angle (deg.)	$\beta = 90,601(9)$
volume ( $\text{Å}^3$ )	886,6(2)	
Z(Z')	2(1)	
Dx ( $g\ cm^{-3}$ )	1,185	
Rp	0,0315	
Rwp	0,0436	

Deux molécules sont présentes dans la maille élémentaire, l'une d'entre elles étant indépendante (Figure 3.31). L'unité asymétrique et la numérotation des atomes sont données dans la figure 3.32. La structure cristalline révèle qu'un seul énantiomère est présent dans la maille élémentaire contrairement à la forme anhydre A où les deux énantiomères étaient présents sous forme racémique. La structure est maintenue grâce à quatre liaisons hydrogènes notamment entre l'amine secondaire (N1) et l'atome de chlore libre (Cl2). Les paramètres des liaisons hydrogènes sont donnés dans le tableau 3.4.





**Figure 3.31 :** Structure cristalline de la forme B du chlorhydrate de sibutramine anhydre (vue selon l'axe c).



**Figure 3.32 :** Unité asymétrique du chlorhydrate de sibutramine anhydre et numérotation des atomes.

**Tableau 3.4 :** Distances et angles des liaisons intermoléculaires au sein de la structure cristalline de la forme anhydre B du chlorhydrate de sibutramine

D	H	A	D - H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (deg.)	symétrie
N1	H1	Cl2	1,041(5)	2,098(7)	3,060(7)	152,6(5)	i
C10	H10	Cl2	1,025(5)	2,803(7)	3,749(7)	153,5(4)	i
C11	H11	Cl2	1,098(9)	2,763(8)	3,800(8)	157,4(4)	ii
C13	H13A	Cl2	1,099(11)	2,610(9)	3,593(9)	148,5(4)	ii

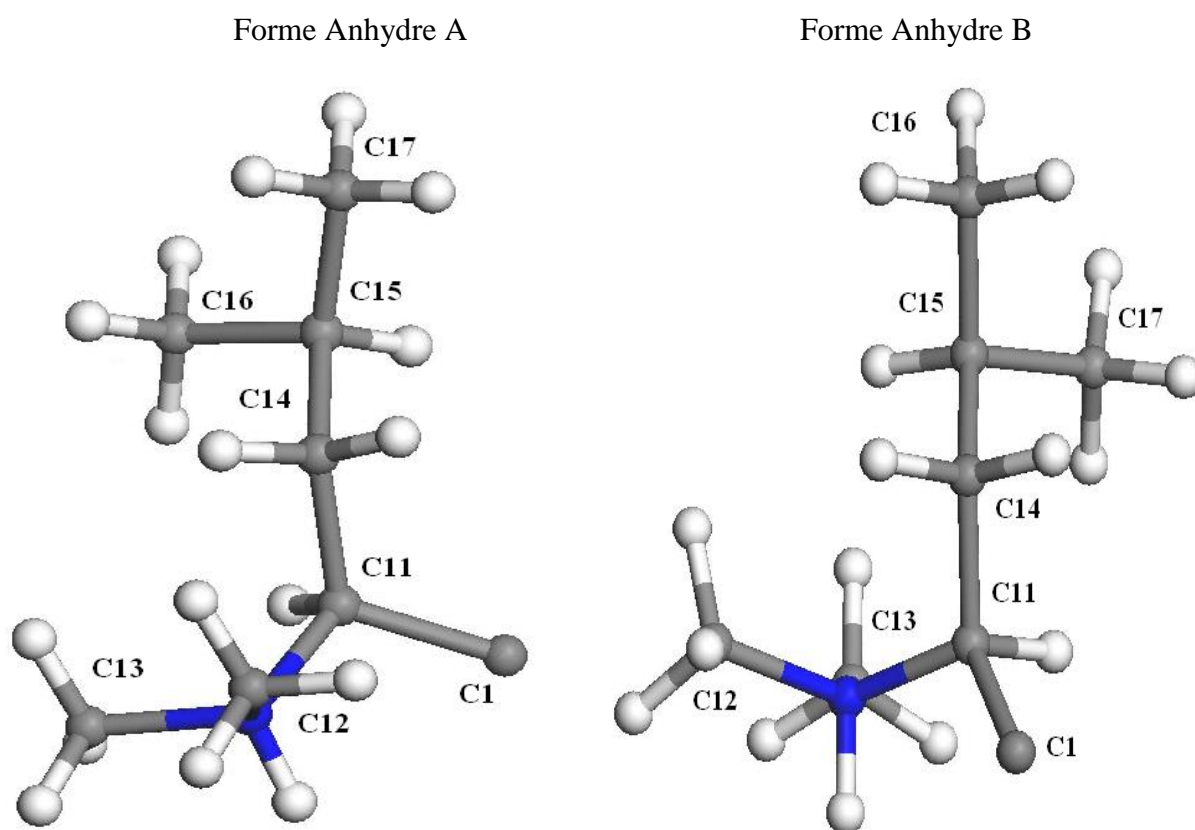
L'incertitude estimée des angles et distances des liaisons hydrogènes sont des incertitudes standard.

Le composé racémique initialement présent lors de la déshydratation du chlorhydrate de sibutramine est donc transformé en conglomérat. Lorsque l'on compare les valeurs des paramètres de maille, la distance b est divisée par deux par rapport à l'autre forme anhydre (forme A). Ce résultat confirme donc la séparation des deux formes en un conglomérat.

### III.6.3 Comparaison des deux formes énantiomères anhydres

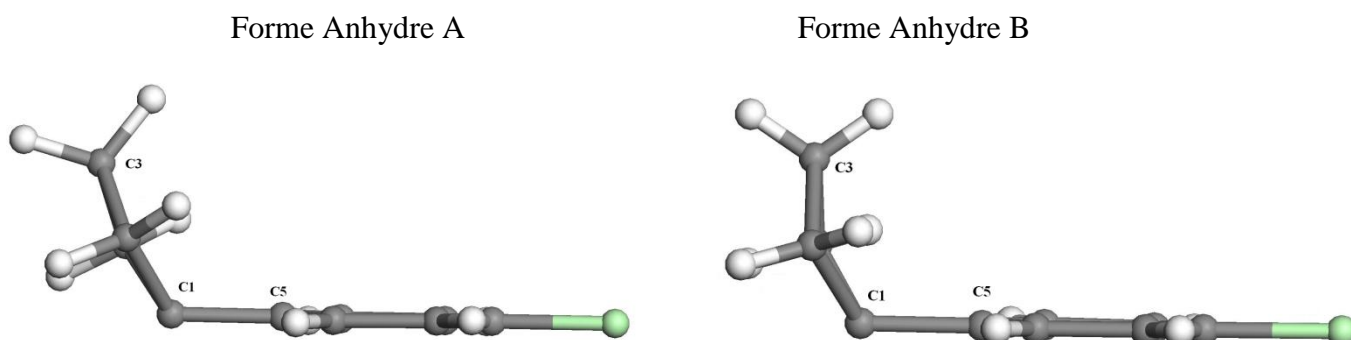
Etant donné les résultats précédents, il est alors possible de comparer les conformations moléculaires des deux formes énantiomères anhydres. Chacune des deux formes proviennent d'un côté, de la forme anhydre A du chlorhydrate de sibutramine se trouvant sous la forme

d'un racémique et de l'autre, de la forme anhydre B du chlorhydrate de sibutramine se trouvant sous la forme d'un conglomérat. Les principales différences de conformation entre les deux énantiomères proviennent principalement du groupe amine et du groupe isobutyle. En effet, les carbones C16 et C17 des groupes méthyles effectuent une rotation de  $180^\circ$  autour du carbone C15 dans l'énantiomère de la forme anhydre B par rapport à l'énantiomère de la forme anhydre A. De même pour les carbones C12 et C13 qui effectuent une rotation d'environ  $90^\circ$  par rapport à l'azote (Figure 3.33 a et Tableau 3.5). En revanche, en ce qui concerne le groupement phényle, sa conformation reste quasiment plane dans les deux cas et aucun changement majeur n'est visible (Figure 3.33 b).



**Figure 3.33 (a) :** Conformation moléculaire des formes anhydres A et B du chlorhydrate de sibutramine.

Partie de la molécule contenant l'amine secondaire et le groupe isobutyle.



**Figure 3.33 (b) :** Conformation moléculaire des formes anhydres A et B du chlorhydrate de sibutramine.

Partie de la molécule contenant le groupe phényle et le groupe cyclobutane.

**Tableau 3.5 :** Angles de torsion des formes anhydres A et B du chlorhydrate de sibutramine.

Angles de torsion	Anhydre A	Anhydre B
C1-C11-C14-C15	82,6	161,0
C11-C14-C15-C16	72,0	-178,9
C11-C14-C15-C17	-165,7	-58,3
C5-C1-C11-C14	55,4	62,7
C5-C1-C11-N1	-72,9	-68,9
C5-C1-C2-C3	-91,6	-103,1
C12-N1-C11-C14	38,6	-37,8
C13-N1-C11-C14	-86,1	93,4

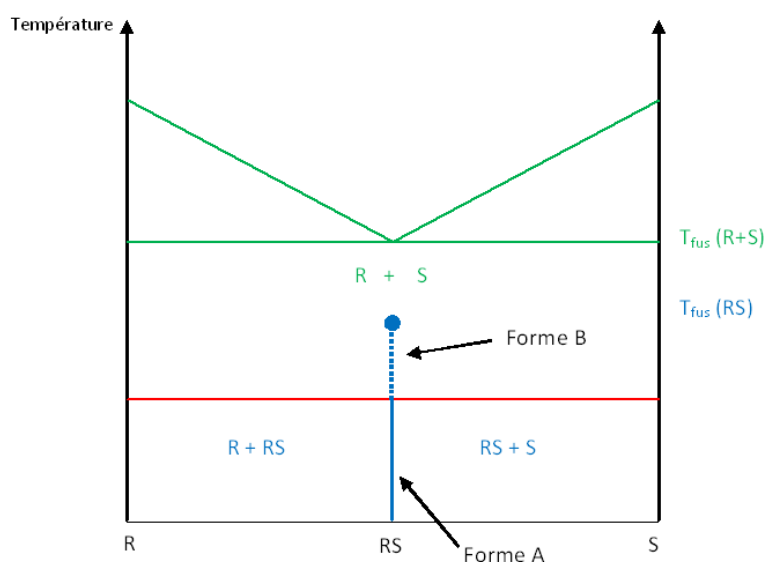
L'incertitude estimée des angles sont des incertitudes standard.

La conformation moléculaire des deux formes anhydres du chlorhydrate de sibutramine montre que le groupe cyclobutane de la forme anhydre B possède une forme moins plane que dans la forme anhydre A. En effet, l'angle entre les carbones C2-C3-C4 et C1-C2-C4 est égal à 30,3 ° pour la forme anhydre A et 13,8 ° pour la forme anhydre B, de même pour l'angle entre les carbones C1-C2-C3 et C1-C4-C3 qui est égal à 30,4 ° pour la forme anhydre A et 14,6 ° pour la forme B.

### **III.7 Thermodynamique des deux formes conglomérat et racémique**

L'existence de deux formes différentes du chlorhydrate de sibutramine anhydre permet de mieux comprendre certains phénomènes visibles en DSC. En effet, l'hypothèse concernant l'existence d'une éventuelle transition a été émise lors de la recristallisation par évaporation lente (paragraphe III.4.2). En DSC, un pic était alors visible à  $139,6 \pm 3,6$  °C avec une enthalpie associée de  $2,6 \pm 1,0$  kJ.mol<sup>-1</sup>. D'après les résultats obtenus, ce pic correspond alors à la transition de la forme racémique de la sibutramine anhydre en conglomérat. Si cette transition a lieu, cela signifie qu'au-dessus de cette température, le conglomérat devient alors plus stable que le racémique. Un composé stable fond à une température plus élevée qu'un composé métastable. Les résultats montrent bien que le conglomérat, qui est alors sous forme stable, fond à une température plus élevée que le racémique, qui est sous forme métastable (205 °C pour le conglomérat, 198,8 °C pour le racémique). En ce qui concerne les enthalpies de fusion, le conglomérat a une enthalpie de fusion inférieure à celle du racémique (27,8 contre 38,8 kJ.mol<sup>-1</sup>). Le racémique étant composé à quantité égale d'énantiomères R et S, le conglomérat, provenant de la transition du racémique, appartient au même système chirale

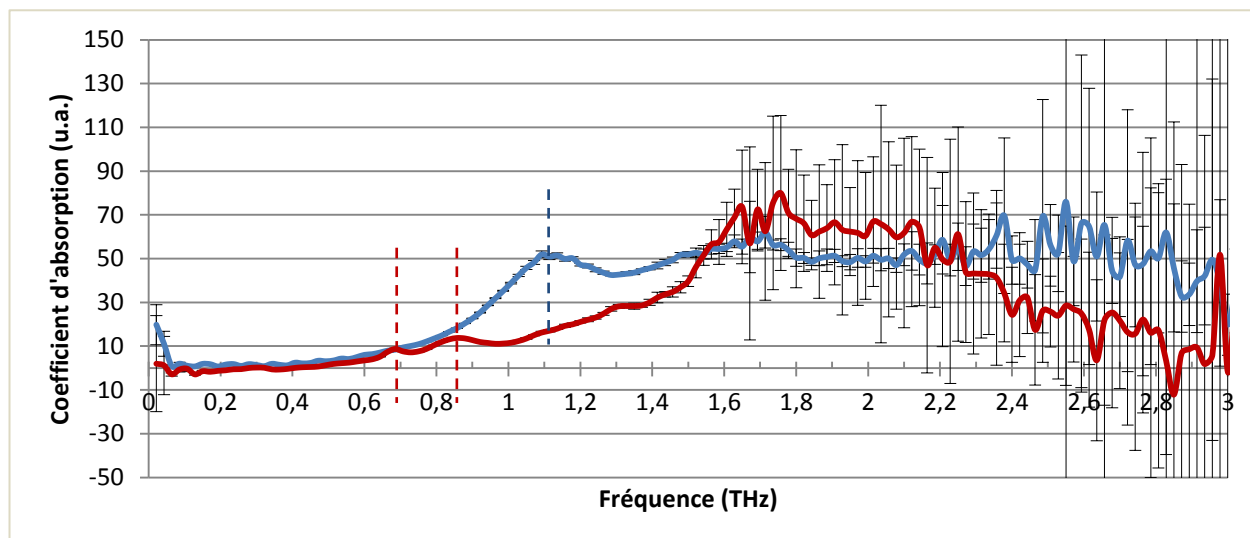
composé également d'une quantité égale d'énantiomères R et S. Dans ce cas, où la température du racémique est inférieure à celle du conglomérat, le racémique peut présenter dans son comportement une transition péritectoïde. Ce phénomène a été présenté dans le chapitre 1. Dans le cas où le composé racémique n'a pas totalement transité en conglomérat, celui-ci persiste à haute température et est alors sous forme métastable (cas de la forme commerciale du chlorhydrate de sibutramine). Cette forme métastable va alors fondre à une température inférieure à celle du conglomérat avec une enthalpie de fusion supérieure (Figure 3.34). Dans certains cas, la partie liquide, après la fusion du racémique, peut cristalliser sous la forme du conglomérat juste avant la fusion de celui-ci [Levkin P. A. 2004]. Ce phénomène peut être supposé dans notre cas au vu de certaines courbes DSC (Figure 3.18). Cette relation entre le conglomérat et le racémique d'un composé est un des rares cas reportés dans la littérature avec celui du 1,1'-binaphtyl [Wilson K. R. 1975].



**Figure 3.34 :** Diagramme de phases entre les énantiomères R et S, le racémate RS et le conglomérat du chlorhydrate de sibutramine anhydre.

### III.8 Comparaison des formes anhydre et hydratée en térahertz

Outre le fait que le chlorhydrate de sibutramine monohydraté soit une substance utilisée dans les contrefaçons de médicaments malgré ses nombreuses contre-indications, l'un des principaux intérêts de l'étude de cette substance est l'existence d'une forme hydratée. En effet, cela va permettre de voir si l'analyse térahertz est capable ou non de différencier deux substances ne se distinguant uniquement que par la présence d'une molécule d'eau. Pour la forme anhydre, le chlorhydrate de sibutramine monohydraté commercial a été déshydraté par DSC jusqu'à 130 °C puis la poudre récupérée n'est alors pas pressée sous forme de pastille car la quantité de produit présente dans une capsule DSC est trop faible pour permettre la formation d'une pastille mais introduite dans une cellule afin d'être analysée en térahertz. En ce qui concerne la forme hydratée, c'est le chlorhydrate de sibutramine monohydraté commercial qui est utilisé sous forme, cette fois, de pastille mélangé avec du polyéthylène glycol. Bien que la préparation des deux échantillons soit différente, celle-ci n'a pas d'impact sur le spectre térahertz. Les spectres sont enregistrés à température ambiante puis comparés (Figure 3.35). Jusqu'à 2 THz, les spectres sont exploitables tandis qu'au-dessus, les spectres sont trop bruités pour considérer que les pics visibles sont bien caractéristiques d'une forme. Les deux spectres sont clairement identifiables, en effet, la sibutramine hydratée présente un pic caractéristique aux alentours de 1,1 THz tandis que la sibutramine anhydre présente, elle, deux pics qui lui sont caractéristiques. Les deux pics se situent donc à environ 0,7 et 0,85 THz. Ces résultats signifient que les formes anhydre et hydratée d'une molécule présentent des spectres térahertz distincts qui peuvent donc être détectées et différenciées grâce à la technologie térahertz.



**Figure 3.35 :** Spectres térahertz du chlorhydrate de sibutramine hydraté (courbe bleue) et du chlorhydrate de sibutramine anhydre (courbe rouge)

### III.9 Conclusion

Grâce à l'analyse thermique et à la diffraction des rayons X sur poudres, nous avons pu montrer que les deux formes anhydres observées du chlorhydrate de sibutramine correspondent au conglomérat et à la forme racémique des deux énantiomères R et S. Les différents essais de préparation des formes ont démontré la possibilité d'obtenir les deux formes séparément. Néanmoins aucune méthode de préparation du conglomérat n'a été reproductible, ce qui suggère des études plus poussées afin de comprendre le moyen d'obtention du conglomérat et ainsi pouvoir l'obtenir plus aisément. Grâce à l'analyse térahertz, il sera alors possible de différencier, au sein d'un échantillon contenant de la sibutramine, les formes anhydres des formes hydratées du fait de la différence notable entre les spectres térahertz des différentes formes.



## Références

S. Higgs, A. J. Cooper, N. M. Barnes, Reversal of sibutramine-induced anorexia with a selective 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist, *Psychopharmacology*, 214 (2011) 941-947.

Y.-H. Zhou, X.-Q. Ma, C. Wu, J. Lu, S.-S. Zhang, J. Guo, S.-Q. Wu, X.-F. Ye, J.-F. Xu, J. He, Effect of anti-obesity drug on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Plos One*, 7(6) (2012) e39062.

H. M. Oberholzer, C. van der Schoor, M. J. Bester, Sibutramine, a serotonin–norepinephrine reuptake inhibitor, causes fibrosis in rats, *Environ. Toxicol. Phar.*, 40 (2015) 71–76.

A. Saleh Bin Bisher, The physiological alterations induced by Sibutramine anti-obesity drug on the functions of the thyroid gland and the liver: An experimental study on Wistar rats, *Indian J. Sci. Technol.*, 3(12) (2010) 1129-1133.

C. S. Borges, G. Missassi, E. S. A. Pacini, L. Ri. A. Kiguti, M. Sanabria, R. F. Silva, T. P. Banzato, J. E. Perobelli, A. S. Pupo, W. G. Kempinas, Slimmer or fertile ? Pharmacological mechanisms involved in reduced sperm quality and fertility in rats exposed to the anorexigen sibutramine, *Plos One*, 8(6) (2013) e66091.

Site de l'European Medicines Agency, consulté le 19/05/2016 : [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/referrals/Sibutramine/human\\_referral\\_000219.jsp&mid=WC0b01ac0580024e9a&murl=menus/regulations/regulations.jsp](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/referrals/Sibutramine/human_referral_000219.jsp&mid=WC0b01ac0580024e9a&murl=menus/regulations/regulations.jsp)

I. Nicolás-Vázquez, J. Hinojosa Torres, J. Cruz Borbolla, R. Miranda Ruvalcaba, J. M. Aceves-Hernández, Orlistat interaction with sibutramine and carnitine. A physicochemical and theoretical study, *J. Mol. Struct.*, 1062 (2014) 1–12.

A. Ravikiran, M. Arthanareeswari, P. Kamaraj, Ch. Praveen, K.V Pavan, Dehydration kinetics of sibutramine hydrochloride monohydrate, *Chem Sci Trans.*, 2(S1) (2013) S288-S294.

P. R. Oliveira, H. K. Stulzer, L. S. Bernardi, S. H. M. Borgmann, S. G. Cardoso, M. A. S. Silva, Sibutramine hydrochloride monohydrate thermal behavior, decomposition kinetics and compatibility studies, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 100 (2010) 277–282.

A. Pajzderska, D. M. Chudoba, J. Mielcarek, J. Wasicki, Calorimetric, FTIR and <sup>1</sup>H NMR measurements in combination with DFT calculations for monitoring solid-state changes of dynamics of sibutramine hydrochloride, *J. Pharm. Sci.*, 101(10) (2012) 3799–3810.

E. Maccaroni, E. Alberti, L. Malpezzi, N. Masciocchi, C. Pellegatta, Crystal Chemistry of Sibutramine : Thermal, Diffractometric and Spectroscopic Characterization, *J. Pharm. Sci.*, 97(12) (2008) 5229–5239.

R. Rotival, P. Espeau, Y. Corvis, F. Guyon, B. Do, Determination of quinacrine dihydrochloride dihydrate stability and characterization of its degradants, *J. Pharm. Sci.*, 100(8) (2011) 3223-3232.

M. Bilal, C. de Brauer, P. Claudy, P. Germain, J. M. Létoffé,  $\beta$ -Cyclodextrin hydration: a calorimetric and gravimetric study, *Thermochim. Acta*, 249 (1995) 63-73.

P. Germain, J. M. Létoffé, M. P. Merlin, H. J. Buschmann, Thermal behaviour of hydrated and anhydrous Cucurbituril A DSC, T.G. and calorimetric study in temperature range from 100 to 800K, *Thermochim. Acta*, 315 (1998) 87-92.

Y. Chen, H.-W. Zhou, J.-Z. Chen, Crystal structure of *N*-(1-(1-(*p*-chlorophenyl)cyclobutyl)-3-methylbutyl)-*N,N*-dimethylamine hydrochloride monohydrate, (C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>NCl)Cl.H<sub>2</sub>O, *Z. Kristallogr.*, 220 (2005) 513-514.

Y. Corvis, M.-C. Menet, P. Negrier, M. Lazerges, P. Espeau, The role of stearic acid in ascorbic acid protection from degradation : a heterogeneous system for homogeneous thermodynamic data, *New J. Chem.*, 37(3) (2013) 761–768.

P. A. Levkin, E. Schweda, H.-J. Kolb, V. Schuriga, R. G. Kostyanovskyc, Solid-phase racemic compound–conglomerate transformation of 2,3 : 6,7-dibenzobicyclo [3.3.1] nona-2,6-diene-4,8-dione, *Tetrahedron: Asymmetry*, 15 (2004) 1445–1450.

K. R. Wilson, R. E. Pincock, Thermally Induced Resolution of Racemic 1,1'-Binaphthyl in the Solid State, *J. Am. Chem. Soc.*, 97(6) (1975) 1474-1478.

## **Chapitre 4 : Structures cristallines et propriétés thermodynamiques de la p-synéphrine et de la phéno lphthaléine**

Partie I : La p-synéphrine.....	124
I.1 Présentation .....	124
I.2 Structure cristalline .....	126
I.3 Propriétés thermodynamiques .....	131
I.4 Comparaison des analyses sous flux d'air et d'azote .....	138
I.5 Propriétés Téraherz .....	139
I.6 Conclusion.....	140
Références.....	141
Partie II : La phéno <p>lphthaléine.....</p>	143
II.1 Présentation .....	143
II.2 Propriétés thermodynamiques .....	144
II.3 Proportion de dégradation .....	149
II.4 Structure cristalline .....	152
II.5 Spectre téraherz.....	153
II.6 Conclusion.....	154
Références.....	155

Dans ce dernier chapitre, la caractérisation de l'état solide de la p-synéphrine et la phéno

lphthaléine

 sont menées. Comme indiqué dans l'introduction, ces deux substances n'ont que très peu de données en ce qui concerne leurs propriétés thermodynamiques mais également leur structure cristalline. L'étude de celles-ci est donc primordiale pour connaître au mieux ces deux substances. La technologie téraherz est moins développée dans ce chapitre car les produits ne présentent ni polymorphisme ni phénomène de déshydratation.

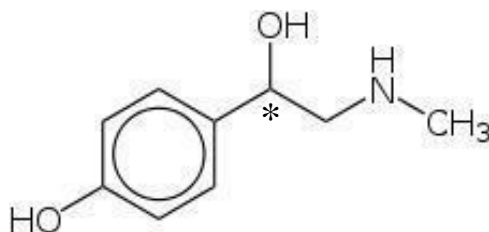
## Partie I : La p-synéphrine

Dans cette première partie, les propriétés physico-chimiques de la p-synéphrine seront étudiées en détail. En effet, ses propriétés tant cristallines que thermodynamiques sont très peu développées dans la littérature et il est important d'avoir ces données pour une substance utilisée dans le domaine pharmaceutique. Après une présentation de la p-synéphrine, sa structure cristalline sera déterminée et ses propriétés thermodynamiques étudiées. Pour finir, le spectre térahertz sera alors établi et permettra ainsi d'étoffer la base de données.

### I.1 Présentation

La p-synéphrine,  $C_9H_{13}NO_2$ , est un alcaloïde que l'on trouve naturellement dans différentes plantes et plus particulièrement dans celles de type *citrus* [Arbo M. D. 2008]. Il existe trois isomères de positions de la p-synéphrine qui dépendent du groupement phénol : la *para*-synéphrine, la *mé*ta-synéphrine et l'*ortho*-synéphrine. La m-synéphrine, parfois appelée phényléphrine sous sa conformation R, peut se trouver en mélange avec la p-synéphrine dans les plantes de type *citrus aurantium*. La m-synéphrine est notamment utilisée dans la prise en charge de l'hypotension et fait partie des décongestionnants les plus utilisés [Allison D. B. 2005]. L'o-synéphrine quant à elle ne se trouve pas naturellement dans les *citrus aurantium* comme pour les autres isomères de la synéphrine. Dans ces travaux, nous nous intéresserons plus particulièrement à la p-synéphrine ou 4-[1-hydroxy-2-(méthylamino) éthyl] phénol. La p-synéphrine a des effets proches de la caféine et de l'éphédrine : augmentation de la pression artérielle et du rythme cardiaque. Grâce à ses effets, elle devient le principal substitut à

l'éphédrine lorsque celle-ci fut bannie par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux : Food and Drug Administration. La p-synéphrine est principalement présente dans les produits amincissants dont le marché est en plein essor. On retrouve donc de plus en plus de produits de contrefaçons contenant de la p-synéphrine. Malgré ses effets bénéfiques, la p-synéphrine présente aussi un risque accru de cardiotoxicité en présence d'autres stimulants [Rossato L. G. 2011]. Des effets secondaires tels qu'une toxicité subchronique ainsi qu'une diminution de l'activité locomotrice peuvent également être visibles [Arbo M. D. 2009]. La p-synéphrine se présente sous la forme d'un racémique dont la chiralité est due à un carbone hybridé  $sp^3$  composé de 4 groupements différents (Figure 4.1). On peut donc trouver chacun des deux énantiomères de la p-synéphrine séparément, la configuration S (dextrogyre) ainsi que la configuration R (lévogyre), ou les deux énantiomères en mélange équimolaire. Néanmoins, il n'existe que très peu de données concernant l'état solide de la p-synéphrine, sa structure cristalline n'ayant jamais été reportée.



**Figure 4.1** : Structure moléculaire de la p-synéphrine. (\* : carbone asymétrique)

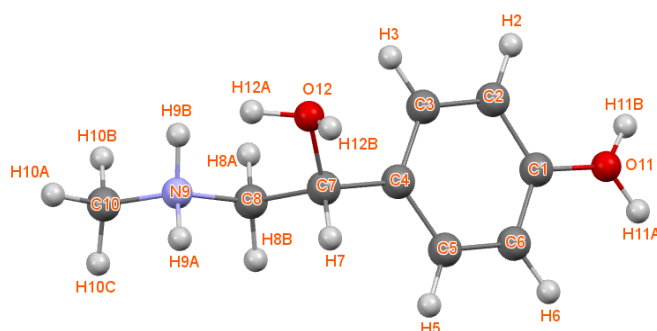
## I.2 Structure cristalline

Pour la première fois, la structure cristalline a été déterminée à température ambiante à partir du diffractogramme de rayons X sur poudres. Il en découle que la p-synéphrine cristallise dans une structure monoclinique de groupe d'espace  $P2_1/c$ . Ses paramètres de maille sont alors  $a = 8,8504 \pm 0,0011 \text{ \AA}$ ,  $b = 12,1166 \pm 0,0015 \text{ \AA}$ ,  $c = 9,7820 \pm 0,0011 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 122,551 \pm 0,2^\circ$  et le nombre de motifs dans la maille est  $Z = 4$ . L'unité asymétrique est dans ce cas, pour un groupe d'espace centrosymétrique, une unique molécule indépendante ( $Z' = 1$ ) (Figure 4.2). La réflexion et translation par rapport à l'axe  $c$  s'explique par le fait que le composé est un composé racémique. L'affinement du diagramme de diffraction aux rayons X est réalisé grâce à la méthode de Rietveld. L'accord entre les diagrammes de diffraction expérimental et calculé est estimé à l'aide du facteur de fiabilité  $R_{wp}$ . L'affinement final par la méthode de Rietveld donne un facteur de fiabilité  $R_{wp}$  égal à 6,98 % (Figure 4.3). La densité  $D_x$  obtenue pour la p-synéphrine à température ambiante est alors de  $1,256 \pm 0,001 \text{ g.cm}^{-3}$ . Les paramètres obtenus pour la structure cristalline de la p-synéphrine sont regroupés dans le tableau 4.1.

**Tableau 4.1 :** Résultats de l'affinement de Rietveld pour la p-synéphrine

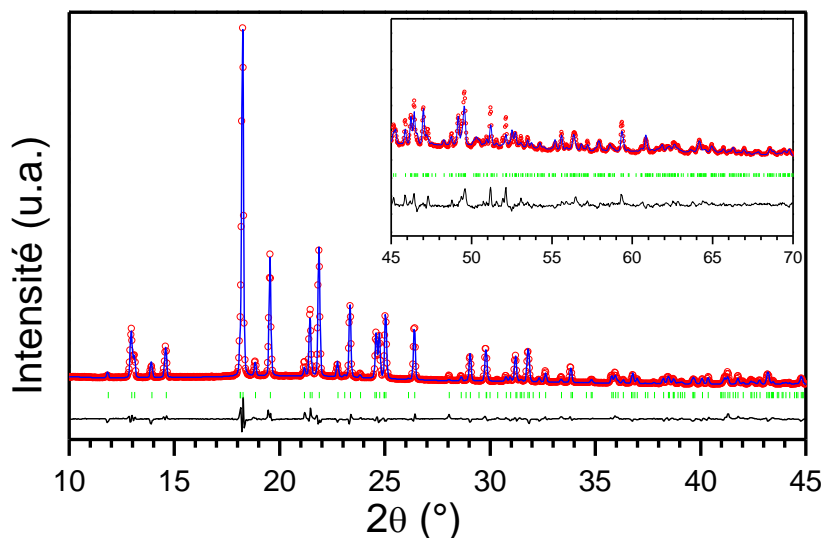
Formule	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>
Masse molaire (g mol <sup>-1</sup> )	167,21
température	294 K
Longueur d'onde	1,540562 Å
Syst. cryst.	Monoclinique
Groupe d'espace	P 2 <sub>1</sub> /c
Dimensions de la maille élémentaire	a = 8,8504 ± 0,0011
	b = 12,1166 ± 0,0015
	c = 9,7820 ± 0,0011
angle (deg.)	β = 122,551 ± 0,002
volume (Å <sup>3</sup> )	884,21 ± 0,19
Z(Z')	4(1)
Dx (g cm <sup>-3</sup> )	1,256 ± 0,001
Rp	0,0481
Rwp	0,0698

Les incertitudes estimées sur les paramètres de maille sont les incertitudes standards. L'incertitude standard sur la température est estimée à  $\Delta T = \pm 0,1$  K



**Figure 4.2 :** Unité asymétrique de la p-synéphrine avec numérotation des atomes

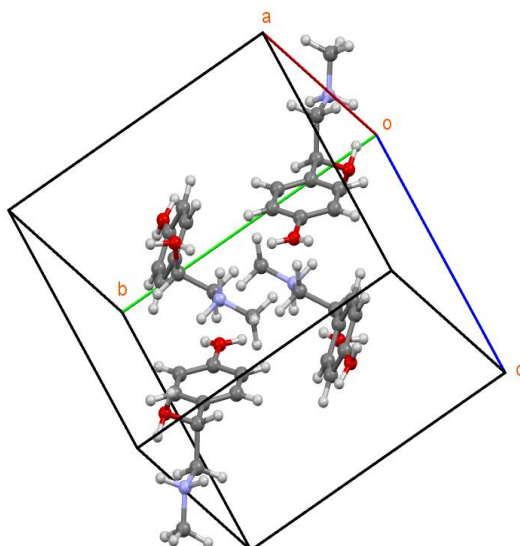




**Figure 4.3 :** Affinement final par la méthode de Rietveld du diagramme de diffraction des rayons X à 21 °C.

Le zoom correspond à l'échelle comprise entre 45 et 70 ° grossie 15 fois. En bleu : diffractogramme expérimental, cercles rouges vides : diffractogramme calculé, barres verticales vertes : position des pics de diffraction, ligne noire : diffractogramme résiduel.

L'affinement par la méthode de Rietveld a ainsi permis d'obtenir la structure cristalline de la p-synéphrine (Figure 4.4). La figure 6.2 montre un désordre dans le positionnement de l'hydrogène du groupe hydroxyle (O11) et celui de l'amine secondaire (N9). Ce désordre conduit à un coefficient d'occupation de 0,5 pour chaque atome hydrogène cité. Chacune des positions créent une liaison hydrogène dans le cristal (Tableau 4.2)



**Figure 4.4 :** Maille élémentaire de la p-synéphrine

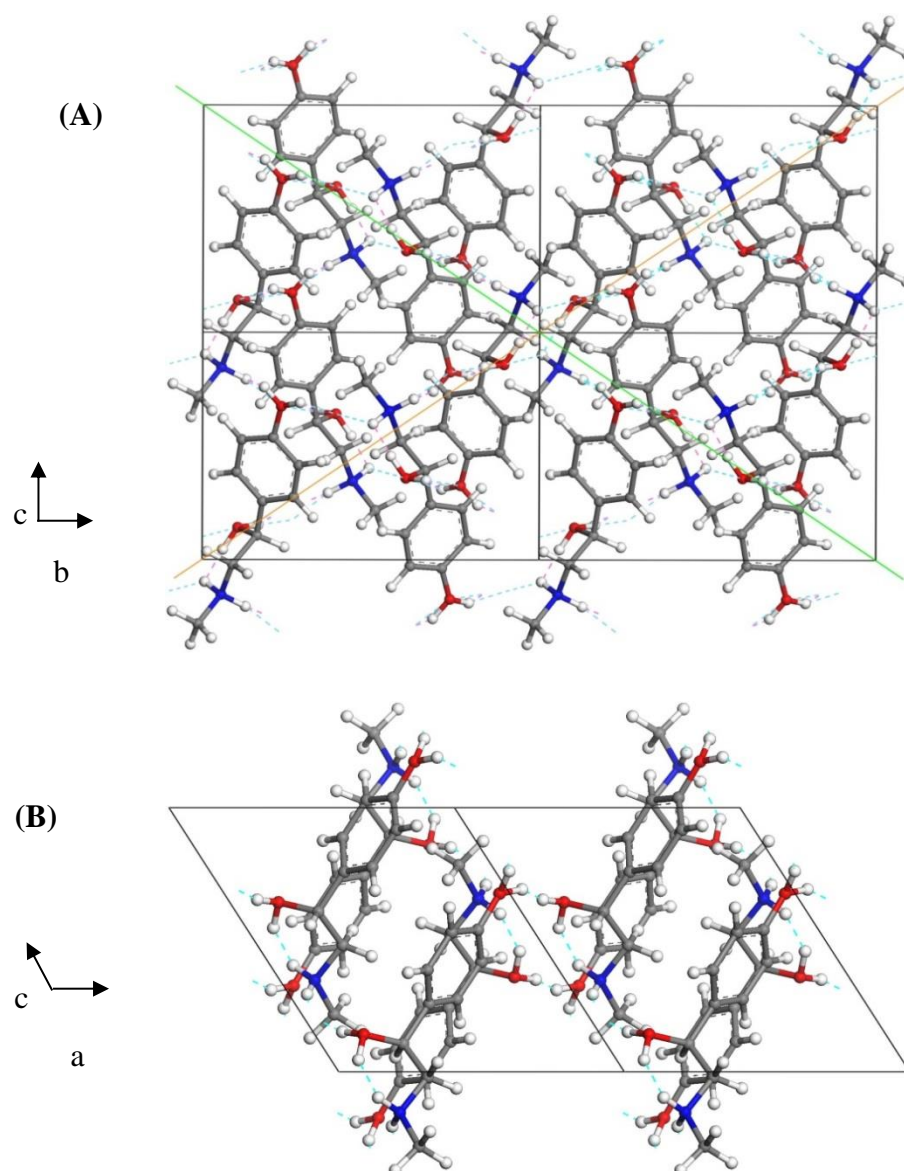
**Tableau 4.2 :** Angles et distances des liaisons hydrogène inter et intra moléculaires.

D	H	A	D - H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (deg.)	symétrie
N9	H9A	O11	1,007 ± 0,005	1,644 ± 0,005	2,638 ± 0,005	168,2 ± 0,5	(a)
N9	H9B	O12	1,006 ± 0,006	2,429 ± 0,006	3,290 ± 0,006	143,2 ± 0,4	(b)
O11	H11A	O12	0,981 ± 0,007	1,867 ± 0,006	2,808 ± 0,006	159,8 ± 0,5	(c)
O11	H11B	N9	0,980 ± 0,006	1,723 ± 0,006	2,638 ± 0,005	153,9 ± 0,5	(d)
O12	H12B	O11	0,980 ± 6	1,831 ± 0,007	2,808 ± 6	174,9 ± 0,5	(e)
N9	H9B	O12	1,006 ± 0,006	2,344 ± 0,006	2,748 ± 0,006	102,8 ± 0,4	(f)
O12	H12A	N9	0,981 ± 0,005	2,080 ± 0,006	2,748 ± 0,006	123,7 ± 0,5	(f)

(a)  $x-1, y, z-1$ ; (b)  $-x, 1-y, 1-z$ ; (c)  $1+x, \frac{1}{2}-y, \frac{1}{2}+z$ ; (d)  $1+x, y, 1+z$ ; (e)  $x-1, \frac{1}{2}-y, z-\frac{1}{2}$  (f)  $x, y, z$

L'incertitude estimée des angles et distances des liaisons hydrogène sont des incertitudes standards.

La structure est maintenue grâce à cinq liaisons hydrogènes intermoléculaires dirigées selon les plans  $[0 \bar{1} 1]$  et  $[0 1 1]$  (Figure 4.5). L'affinement a aussi révélé l'existence de deux liaisons hydrogènes intramoléculaires existantes via N9 et O12. Cette interaction est due au coefficient d'occupation de 0,5 de l'hydrogène de l'amine secondaire et du groupe hydroxyle.



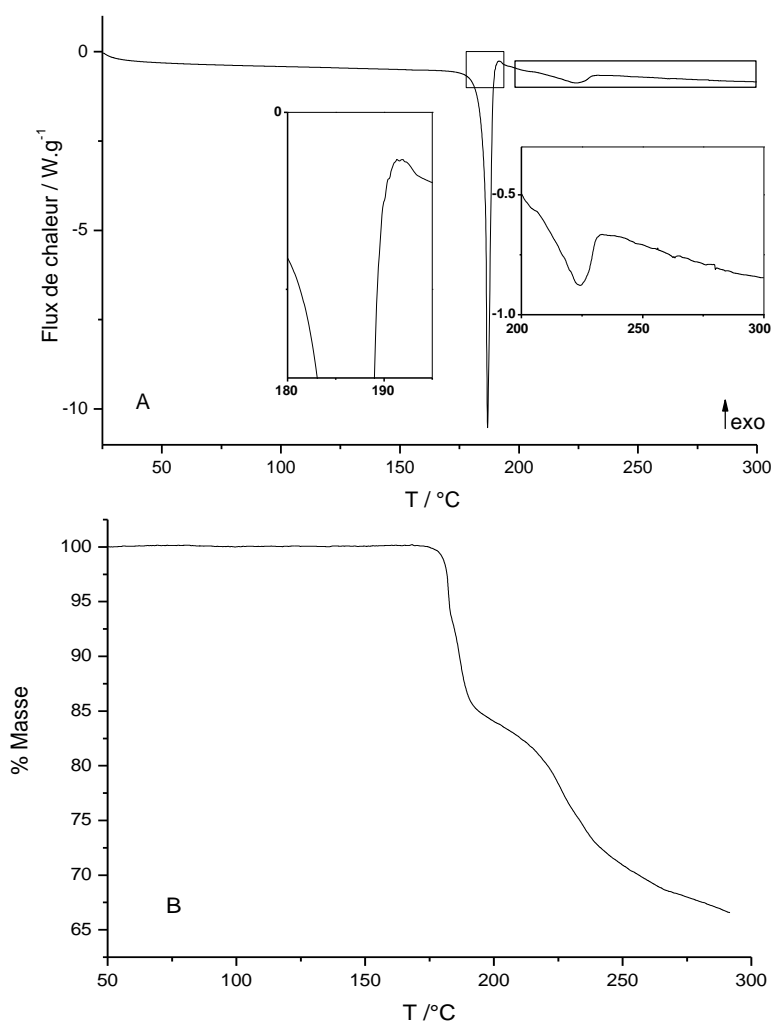
**Figure 4.5 :** Visualisation des liaisons hydrogène au sein du réseau cristallin de la p-synéphrine. Visualisation selon l'axe a (A) et b (B)

### I.3 Propriétés thermodynamiques

D'un point de vue thermodynamique, il existe quelques données reportées précédemment sur les caractéristiques de fusion de la p-synéphrine. Ces données présentent néanmoins des différences. Certains auteurs présentent une température de fusion de 184-185 °C [Ehrismann O. 1927] [Bergmann E. D. 1951] tandis qu'une autre publication présente une température de fusion de 186-187 °C durant laquelle il y aurait, simultanément, une dégradation de la p-synéphrine [Asscher M. 1949]. Cependant ces articles ne font pas référence à la technique utilisée pour mesurer ces informations ni à l'enthalpie de fusion de la p-synéphrine. Une étude récente a été réalisée par DSC à 10 °C.min<sup>-1</sup>, les résultats rapportent une température de fusion de 190,53 °C avec une enthalpie de fusion de 99,7 kJ.mol<sup>-1</sup> [Pobudkowska A. 2015]. Néanmoins, dans ce cas-là, les auteurs visualisent que la fusion et la dégradation de la p-synéphrine se passe simultanément. Par conséquent, l'enthalpie proposée dans cet article est la somme de la chaleur de fusion ainsi qu'une partie de la chaleur de dégradation, elle ne correspond donc pas uniquement à la chaleur de fusion.

Afin de comprendre cet écart de température entre les différentes publications et de vérifier s'il y a bien un phénomène de fusion-dégradation lorsque l'on chauffe la p-synéphrine, des analyses DSC et ATG ont été réalisées sur la p-synéphrine commerciale. La p-synéphrine est utilisée sans préparation et incorporée dans une capsule scellée et percée. Une première analyse DSC est réalisée à 5 °C.min<sup>-1</sup> en parallèle d'une analyse ATG (Figure 4.6). Cette analyse DSC présente un pic endothermique à environ 180 °C qui correspond à la fusion de la p-synéphrine (Figure 4.6 A). A la même température, une perte de masse d'environ 17 % de la masse totale initialement présente peut être observée sur l'analyse ATG réalisée en parallèle dans les mêmes conditions (Figure 4.6 B). La fusion d'un composé ne présente normalement aucune perte de masse en ATG, cette perte de masse ne peut être donc

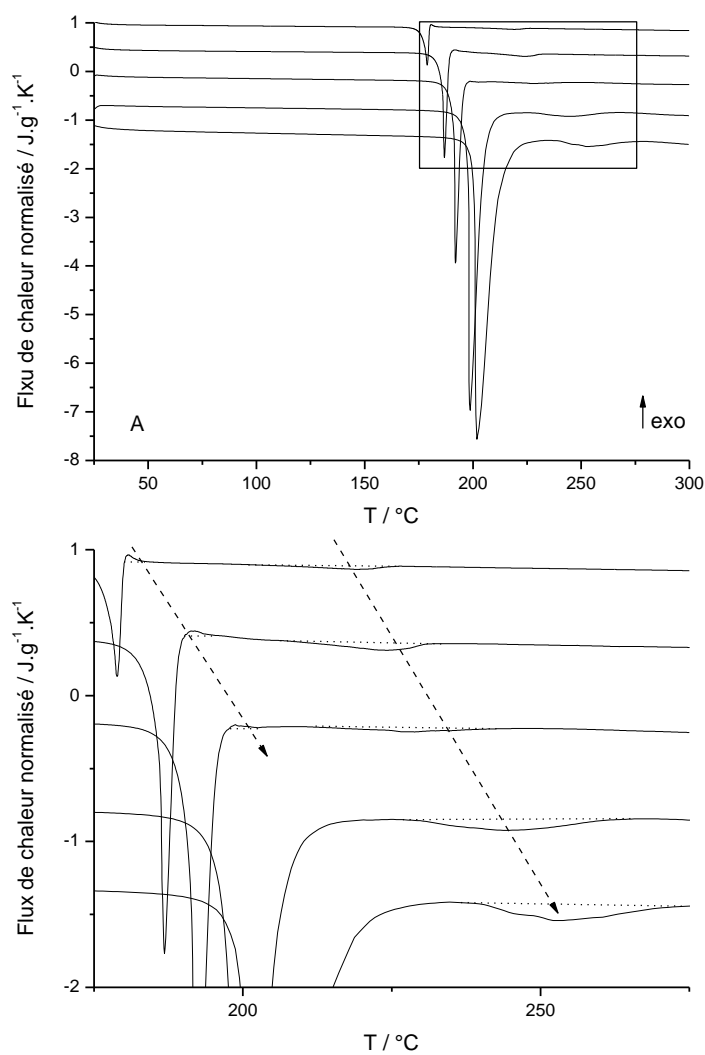
due qu'à la dégradation de la p-synéphrine. La p-synéphrine fait donc l'objet d'un phénomène de fusion-dégradation. Ce phénomène peut être confirmé par la pente abrupte du retour à la ligne de base après la fusion de la p-synéphrine qui est caractéristique d'une dégradation (Figure 4.6 zoom). Après la fusion-dégradation, la p-synéphrine continue d'être dégradée par la chaleur, ceci est visible en DSC par les pics endothermiques entre 200 et 300 °C ainsi que par la perte continue de masse visible en ATG après 200 °C.



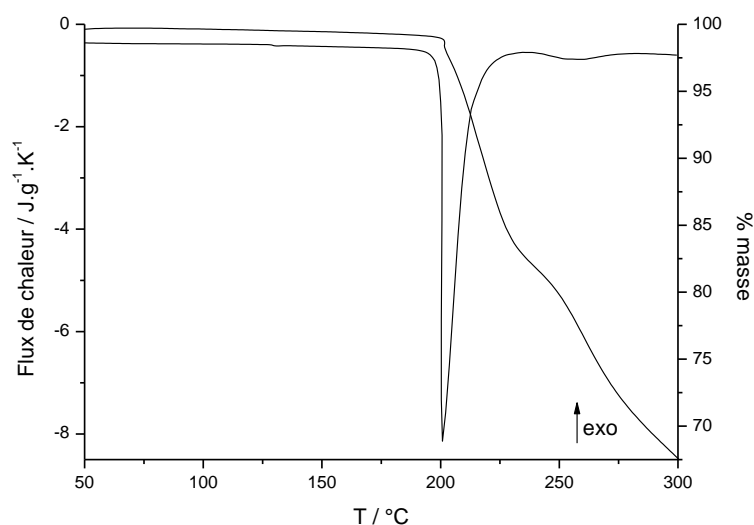
**Figure 4.6 :** Thermogrammes DSC (A) et ATG (B) de la p-synéphrine réalisés à 5 °C.min<sup>-1</sup>. Les zooms de la figure A montrent la dégradation du produit entre 180 et 300 °C.

Il a été démontré dans la littérature que le phénomène de fusion-dégradation peut être évité en utilisant une substance qui va jouer le rôle de protecteur pour le produit qui dégrade à la fusion [Corvis Y. 2013]. Cette protection va alors permettre au produit ciblé par le phénomène de fusion-dégradation de fondre sans se dégrader. Cette technique a été utilisée sur la p-synéphrine en prenant comme substance protectrice l'acide stéarique ou encore le s-ibuprofène. Ces essais n'ont pas mené à des résultats satisfaisants. D'après cette même publication, le phénomène de fusion-dégradation dépend de la vitesse de chauffe. La dégradation qui a lieu en même temps que la fusion d'une substance chimique peut alors être décalée et avoir lieu à une température plus élevée lorsque l'on augmente la vitesse d'analyse [Pinheiro G. F. M. 2002][Hurta M. 2004]. Ce procédé est alors utilisé sur la p-synéphrine pour isoler le phénomène de fusion et obtenir une température et une enthalpie de fusion plus correcte. Des analyses DSC et ATG ont été menées sur la p-synéphrine commerciale avec des vitesses de chauffe allant de 2 à 100 °C.min<sup>-1</sup> (Figure 4.7). Lorsqu'on augmente la vitesse de chauffe, on observe alors une disparition de la pente abrupte suite à la fusion de la p-synéphrine, le petit pic exothermique qui suit ce retour à faible vitesse disparaît à haute vitesse de chauffe (Figure 4.7 B). Un déplacement du pic endothermique de dégradation vers les hautes températures est également observé. Ce pic devient plus important lorsqu'on augmente la vitesse de chauffe car la dégradation qui a lieu en même temps que la fusion lorsque la vitesse de chauffe est faible s'est déplacée et s'ajoute à la dégradation qui a lieu après la fusion de la p-synéphrine à haute vitesse de chauffe. Le déplacement de la dégradation vers les hautes vitesses de chauffe et la disparition du phénomène de fusion-dégradation sont confirmés par les analyses ATG réalisées à différentes vitesses de chauffe qui montrent également un déplacement vers les hautes vitesses de chauffe de la perte de masse. La perte de masse visible en ATG à 60 °C.min<sup>-1</sup> a lieu juste après le pic endothermique visible en DSC à la même vitesse, ce qui signifie qu'à cette vitesse il n'y a

plus de dégradation lors de la fusion et qu'on a donc le pic réel de fusion de la p-synéphrine (Figure 4.8).



**Figure 4.7 :** (A) Thermogrammes DSC à 2, 5, 10, 30 et 50 °C.min<sup>-1</sup> (de haut en bas). (B) Zoom des courbes DSC (A) en mettant en évidence les effets caractéristiques de la dégradation. Les flèches montrent le déplacement de la dégradation vers les hautes températures.

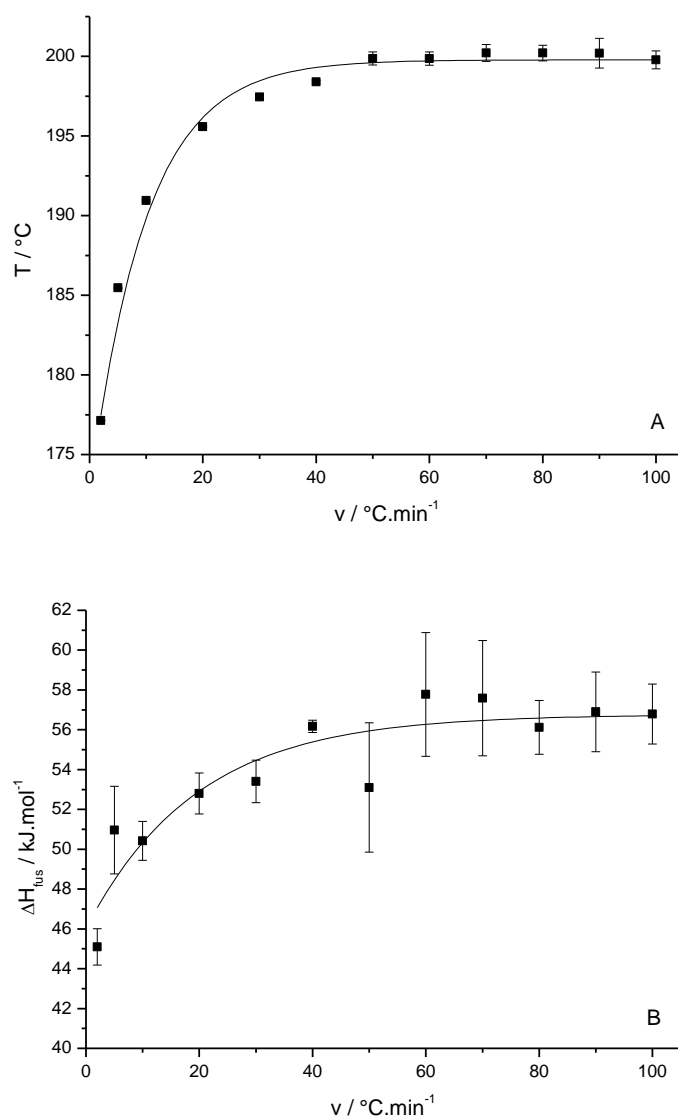


**Figure 4.8 :** Thermogrammes DSC et ATG de la p-synéphrine à 60 °C.min<sup>-1</sup>.

A partir de ces résultats, la température de fusion est reportée sur un graphe en fonction de la vitesse de chauffe (Figure 4.9 a). On observe alors une augmentation de la température de fusion jusqu'à atteindre un plateau à  $199,8 \pm 1,3$  °C pour les vitesses de chauffe élevées. Cette température est alors supérieure aux températures précédemment relevées [Ehrismann O. 1927][Bergmann E. D. 1951][Asscher M. 1949][Pobudkowska A. 2015]. Le même graphe est tracé pour l'enthalpie de fusion (Figure 4.9 b). Comme pour la température de fusion, l'enthalpie de fusion atteint un plateau pour les vitesses de chauffe élevées. L'enthalpie est alors de  $57 \pm 3$  kJ.mol<sup>-1</sup>. Cette valeur est différente de celle reportée dans la littérature (99,7 kJ.mol<sup>-1</sup>) [Pobudkowska A. 2015]. Cette différence peut s'expliquer par le fait que les conditions expérimentales ne sont pas les mêmes. En effet, dans notre cas, la capsule utilisée en DSC est percée tandis que dans le cas de la littérature, la capsule est hermétiquement fermée et non percée. Le gaz formé par la dégradation de la p-synéphrine va alors rester dans la capsule non percée en mélange avec la p-synéphrine non dégradée. Lors d'une analyse en montée en température, la pression dans la capsule va alors augmenter et la nature et le



nombre de phases en équilibre ne seront alors pas les mêmes que lors de l'analyse de la p-synéphrine sous forme solide seule sans forme gazeuse. Ceci provoque donc une augmentation de l'enthalpie de fusion dans le cas d'une capsule hermétiquement scellée en comparaison à une capsule ouverte ou percée.



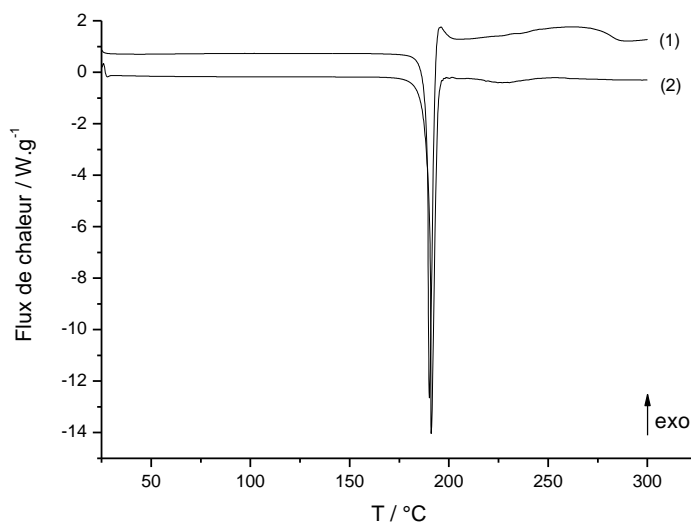
**Figure 4.9 :** Courbes représentant l'évolution de la température (A) et de l'enthalpie de fusion (B) de la p-synéphrine en fonction de la vitesse de chauffe en DSC.

L'augmentation de l'enthalpie de fusion par rapport à celle obtenue à faible vitesse de chauffe s'explique par le fait que l'enthalpie obtenue à faible vitesse correspond à la somme de l'enthalpie de fusion ainsi que de l'enthalpie de dégradation. L'enthalpie de fusion étant une valeur positive et l'enthalpie de dégradation étant une valeur négative, lorsqu'on élimine le phénomène de dégradation en le déplaçant vers les hautes températures, l'enthalpie de dégradation associée à la fusion diminue et donc l'enthalpie de fusion augmente. Cette enthalpie de fusion ainsi que la température peuvent être considérées comme les véritables caractéristiques de fusion de la p-synéphrine. En effet, de précédentes études ont montré que pour un produit qui dégrade à la fusion, les valeurs obtenues à une vitesse de chauffe élevée sont en accord avec les valeurs obtenues par l'étude d'un système binaire entre la vitamine C et l'acide stéarique, ce dernier jouant le rôle de protecteur de la dégradation pour la vitamine C.

La dégradation pouvant être considérée comme une impureté faisant baisser les valeurs de fusion de la p-synéphrine, il est question de savoir si l'impureté du produit joue un rôle sur les valeurs finalement obtenues pour la p-synéphrine. La p-synéphrine utilisée indique un taux de pureté de 98 % en plus de cela, un test de Karl-Fischer a été réalisé sur la p-synéphrine révélant un taux d'humidité de 0,7 %. D'après de précédentes publications, le faible taux d'impureté de 2 % peut provoquer une légère variation des données de fusion. Cette variation pouvant aller de 0,2 % à 0,5 % dans le cas d'une solution solide et dans le cas d'un mélange physique, respectivement [Stolk R. 1997][Corvis Y. 2012]. Etant donné l'incertitude des mesures, cette variation reste acceptable et donc, ni l'impureté, ni le taux d'humidité n'influent sur les données de fusion précédemment obtenues.

#### I.4 Comparaison des analyses sous flux d'air et d'azote

Les analyses précédemment montrées ont toutes été réalisées sous flux d'air. Néanmoins, les premiers essais à faible vitesse sur la p-synéphrine ont, eux, été réalisés sous flux d'azote. Une comparaison a été réalisée entre les thermogrammes DSC de la p-synéphrine sous flux d'azote et sous flux d'air à  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figure 4.10). La courbe sous flux d'air présente très clairement un pic exothermique juste après la fusion de la p-synéphrine bien plus important que pour l'analyse DSC sous flux d'azote. Les caractéristiques des pics de fusion présentent alors des disparités notamment d'un point de vue de l'enthalpie. L'enthalpie de fusion obtenue sous flux d'azote est égale à  $47,94\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  tandis que l'enthalpie de fusion obtenue sous flux d'air est égale à  $46,95\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Ces résultats s'expliquent par le fait que la dégradation est un phénomène qui est catalysé par la présence d'oxygène. Lorsque l'analyse s'effectue sous un flux d'air, l'oxygène de l'air réagit avec la dégradation de la p-synéphrine qui accentue le phénomène, la dégradation est alors plus importante sous flux d'air et donc l'enthalpie de fusion diminue puisque l'enthalpie de dégradation est une valeur négative comme expliquée précédemment. En ce qui concerne la température de fusion des deux pics, l'analyse sous flux d'azote présente une température de fusion de  $189,82\text{ }^{\circ}\text{C}$  tandis que l'analyse sous flux d'air présente une température de fusion de  $188,58\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Comme vu précédemment, l'existence d'un phénomène de fusion-dégradation abaisse la température de fusion d'un composé. L'analyse sous flux d'air augmente le phénomène de dégradation lors de la fusion, ce qui augmente l'abaissement de la température de fusion. Ce phénomène explique donc l'écart de température entre l'analyse sous flux d'azote et celle sous flux d'air.



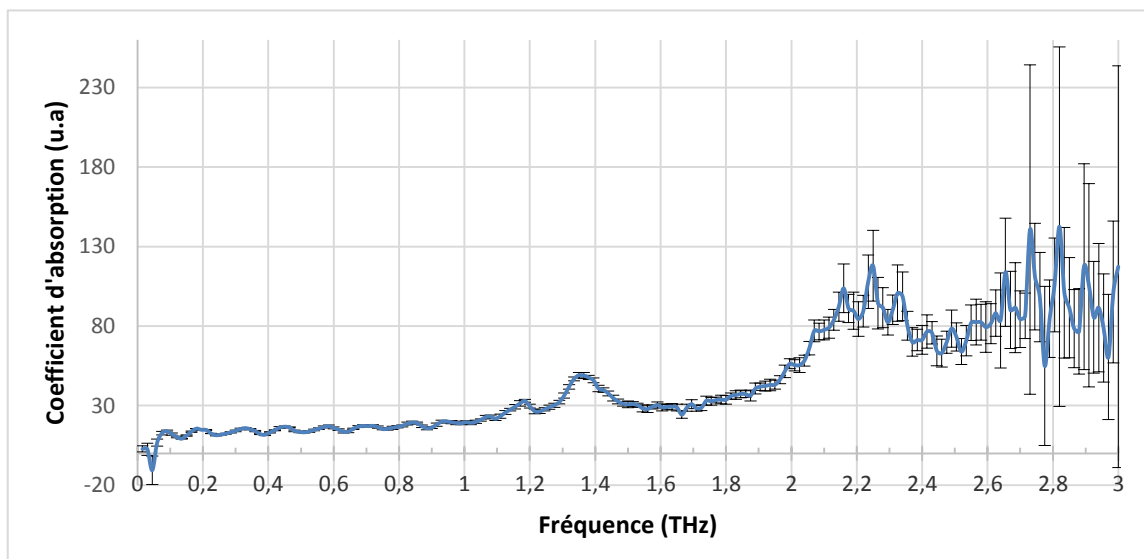
**Figure 4.10 :** Thermogrammes de la p-synéphrine. Comparaison des analyses DSC réalisées sous flux d'air (1) et sous flux d'azote (2) à la vitesse de 10 °C.min<sup>-1</sup>.

## I.5 Propriétés TéraHertz

Contrairement aux produits étudiés au chapitre précédent, la p-synéphrine n'offre pas d'intérêt particulier quant à l'étude du potentiel de la technologie térahertz pour les composés pharmaceutiques. En revanche, il reste intéressant d'avoir le spectre caractéristique de ce produit étant donné qu'il fait partie des principaux produits trouvés dans les contrefaçons et que son intérêt risque de continuer de grandir au vu de l'augmentation du marché des produits amincissants.

La p-synéphrine est utilisée sans préparation et analysée par spectroscopie térahertz. Pour l'analyser en térahertz, la p-synéphrine est mélangée à du polyéthylène glycol et pressée afin d'en obtenir une pastille. Le spectre d'absorption de la p-synéphrine est obtenu à température ambiante (Figure 4.11). On peut alors voir que la p-synéphrine présente deux pics qui lui sont

caractéristiques, un pic à 1,2 THz et un autre à 1,4 THz. Ces pics vont donc permettre de reconnaître la présence ou non de la p-synéphrine dans des produits de contrefaçons.



**Figure 4.11** : Spectre térahertz d'absorption de la p-synéphrine

## I.6 Conclusion

Grâce à l'analyse thermique et à la méthode consistant à augmenter la vitesse de chauffe, les caractéristiques physico-chimiques et notamment les caractéristiques de fusion de la p-p-synéphrine ont été obtenues. Ces résultats pourraient être complétés dans le futur avec des analyses en Flash DSC. Cette technique, permettant d'atteindre des vitesses de plusieurs milliers de Kelvin par minute, permettrait de déplacer la dégradation vers des températures bien supérieure aux températures citées précédemment et de confirmer les caractéristiques de fusions obtenues dans ces travaux. Les résultats obtenus en analyse térahertz ne permettent pas d'étudier les capacités de détection de cette technologie mais permettent d'ajouter la p-synéphrine dans une base de données qui sera utile pour la détection des contrefaçons.

## Références

M. D. Arbo, E. R. Larentis, V. M. Linck, A. L. Aboy, A. L. Pimentel, A. T. Henriques, E. Dallegrave, S. C. Garcia, M. B. Leal, R. P. Limberger, Concentrations of p-synephrine in fruits and leaves of Citrus species (Rutaceae) and the acute toxicity testing of Citrus aurantium extract and p-synephrine, *Food Chem. Toxicol.*, 46 (2008) 2770–2775.

D. B. Allison, G. Cutter, E. T. Poehlman, D. R. Moore, S. Barnes, Exactly which synephrine alkaloids does *citrus aurantium* (bitter orange) contain?, *Int. J. Obes.*, 29 (2005) 443-446.

L. G. Rossato, V. M. Costa, R. P. Limberger, M. de L. Bastos, F. Remião, Synephrine: from trace concentrations to massive consumption in weight-loss, *Food Chem. Toxicol.*, 49 (2011) 8–16.

M. D. Arbo, G. C. Schmitt, M. F. Limberger, M. F. Charão, Â. M. Moro, G. L. Ribeiro, E. Dallegrave, S. C. Garcia, M. B. Leal, R. P. Limberger, Subchronic toxicity of Citrus aurantium L. (Rutaceae) extract and p-synephrine in mice, *Regul. Toxicol. Pharm.*, 54 (2009) 114–117.

O. Ehrismann, An adrenaline-like preparation, *Deut. Med. Wochenschr.*, 53 (1927) 1263.

E. D. Bergmann, M. Sulzbacher, A new synthesis of 1-(m- and p-hydroxyphenyl)-2-methylaminoethanol (m- and p-sympathol), *J. Org.Chem.*, 16 (1951) 84–89.

M. Asscher, A new synthesis of  $\omega$ -amino- $\rho$ -hydroxyacetophenones and their reduction to the corresponding amino ethanols, *Recl. Trav. Chim. Pay. B.*, 68 (1949) 960–968.

A. Pobudkowska, B. A. Jurkowska, M. A. Wiatrowski, *Fluid Phase Equilib.*, 406 (2015) 209–216.

Y. Corvis, M.-C. Menet, P. Negrier, M. Lazerges, P. Espeau, The role of stearic acid in ascorbic acid protection from degradation: a heterogeneous system for homogeneous thermodynamic data, *New J. Chem.*, 37(3) (2013) 761–768.

G. F. M. Pinheiro, V. L. Lourenço, K. Iha, Influence of the heating rate in the thermal decomposition of HMX, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 67 (2002) 445–452.

M. Hurtta, I. Pitkänen, J. Knuutinen, Melting behaviour of d-sucrose, d-glucose and d-fructose, *Carbohydr. Res.*, 339 (2004) 2267–2273.

R. Stolk, F. Rajabalee, M. H. G. Jacobs, P. Espeau, D. Mondieig, H. A. J. Oonk, Y. Haget, The RI-liquid equilibrium in the ternary system n-pentadecane + n-hexadecane + n-heptadecane. calculation of liquidus surface and thermal windows comparison with experimental data, *CALPHAD.*, 21(3) (1997) 401–410.

Y. Corvis, P. Espeau, Incidence of chirality on the properties of mixtures containing an amide type anesthetic compound, *Thermochim. Acta*, 539 (2012) 39–43.

## Partie II : La phénolphtaléine

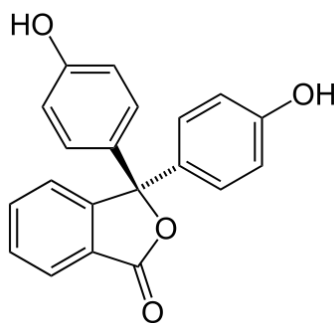
Cette seconde partie porte sur la phénolphtaléine, composé très peu utilisé sous forme solide mais plutôt sous forme liquide. De par sa faible utilisation sous forme solide, ses données physico-chimiques sont quasi-inexistantes. La phénolphtaléine est donc un composé intéressant à étudier d'un point de vue physico-chimique. Après une brève présentation de la phénolphtaléine, nous présenterons dans une deuxième partie ses propriétés physico-chimiques obtenues principalement par analyses thermiques. L'analyse structurale est ensuite discutée pour finir par l'analyse térahertz de la phénolphtaléine.

### II.1 Présentation

La phénolphtaléine ou 3,3-bis(4-hydroxyphényl)-1-(3H)-monobenzofuranone est principalement connue pour son utilisation en tant qu'indicateur coloré du pH. En effet, pour un pH compris entre 8 et 12, la phénolphtaléine prend une couleur rose à fuchsia grâce à l'ouverture de son cycle lactone et à la perte d'une molécule d'eau. Dans cette situation, la phénolphtaléine est utilisée sous forme liquide. L'autre utilisation qui va nous intéresser dans ces travaux est sa présence, notamment sous forme d'excipient, dans les contrefaçons. En effet, la forme solide de la phénolphtaléine est parfois trouvée en mélange dans les compléments alimentaires provenant de la contrefaçon. Ses propriétés bénéfiques n'ont pas été démontrées en revanche, plusieurs effets néfastes ont été reportés dans la littérature [Artymowicz R. J. 1997][De Wulf M. 2005][Bolgert M. 1954][Richard 1954]. Hormis le fait que la phénolphtaléine soit utilisée dans les produits de contrefaçons, son intérêt vient du fait



que les données sur ses propriétés thermodynamiques n'ont été que peu reportées auparavant ce qui signifie que tout le travail d'analyse thermique autour de cette molécule reste à faire. Néanmoins, une étude a déjà été menée d'un point de vue cristallographique démontrant l'existence de deux molécules cristallographiquement inéquivalentes [Fitzgerald L. J. 1998]

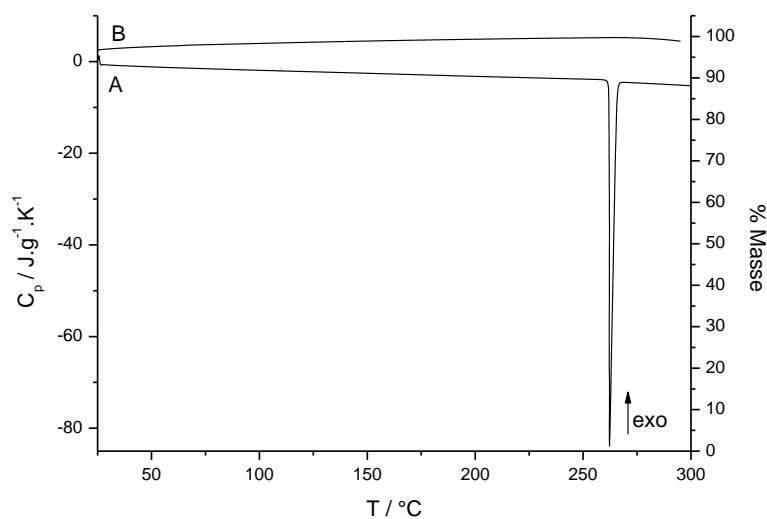


**Figure 4.12 :** Structure moléculaire de la Phénolphtaléine

## II.2 Propriétés thermodynamiques

Comme précisé précédemment, la phénolphtaléine ne présente aucun résultat dans la littérature d'un point de vue de l'analyse thermique. Dans ce cas, il est nécessaire de faire une analyse DSC et ATG afin de voir quel est le comportement de ce produit à la chaleur. Les analyses ont été réalisées à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figure 4.13). Le thermogramme DSC présente uniquement un pic fin exothermique aux alentours de  $262\text{ }^{\circ}\text{C}$  correspondant à la fusion du composé. Ce pic fin ne s'accompagne, en ATG, d'aucune perte de masse. Ceci permet de conclure que le composé ne dégrade pas à la fusion, mais également que la sublimation et la vaporisation du composé peuvent être négligées. L'analyse DSC a été reproduite à cinq reprises afin d'obtenir une valeur moyenne et un écart type mathématiquement correct. Ainsi, la température de fusion de la phénolphtaléine peut être évaluée à  $262,31 \pm 0,15\text{ }^{\circ}\text{C}$  avec une

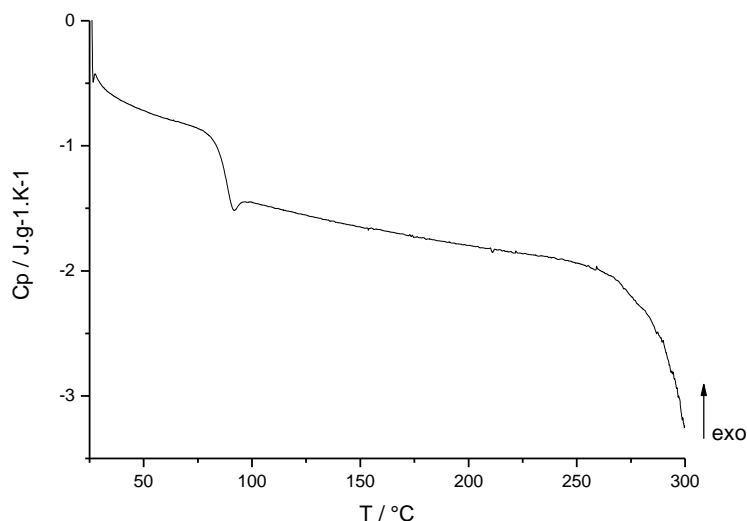
enthalpie de fusion associée de  $45,66 \pm 0,52 \text{ kJ.mol}^{-1}$ . Nous n'avons relevé dans la littérature qu'un seul ensemble de données relatives à la fusion de la phénolphtaléine. Ainsi la température de fusion a été trouvée égale à  $260,85 \text{ }^\circ\text{C}$  et l'enthalpie de fusion à  $51,07 \text{ kJ.mol}^{-1}$  [Grantscharova E. 1984]. Ces valeurs restent cependant éloignées de nos résultats expérimentaux.



**Figure 4.13 :** Thermogrammes DSC (A) et ATG (B) de la phénolphtaléine obtenus à  $5 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$

Afin de déceler d'éventuels polymorphes de la phénolphtaléine, diverses analyses thermiques ont été réalisées. La phénolphtaléine a notamment été chauffée de la même manière que précédemment mais immédiatement refroidie à température ambiante après sa fusion. A partir de là, une nouvelle analyse DSC a été réalisée à  $5 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$  (Figure 4.14). On peut voir dans ce thermogramme un saut du flux de chaleur à environ  $83 \text{ }^\circ\text{C}$ . Ce saut est caractéristique d'une transition vitreuse comme il est possible de le voir pour le paracétamol. Cette transition vitreuse signifie qu'après la trempe à température ambiante, la phénolphtaléine se trouve alors sous forme vitreuse. En chauffant, la forme vitreuse transite en forme liquide aux alentours de  $83 \text{ }^\circ\text{C}$ . Après cette transition, aucun autre phénomène

n'apparaît sur le thermogramme DSC hormis un phénomène de dégradation aux alentours de 275 °C. La phénolphtaléine reste donc sous forme liquide au-dessus de 83 °C. Néanmoins, étant donné ces résultats, et vu ce que nous avons observé pour le paracétamol, on pourrait s'attendre à ce que la phénolphtaléine recristallise sous une forme solide métastable.

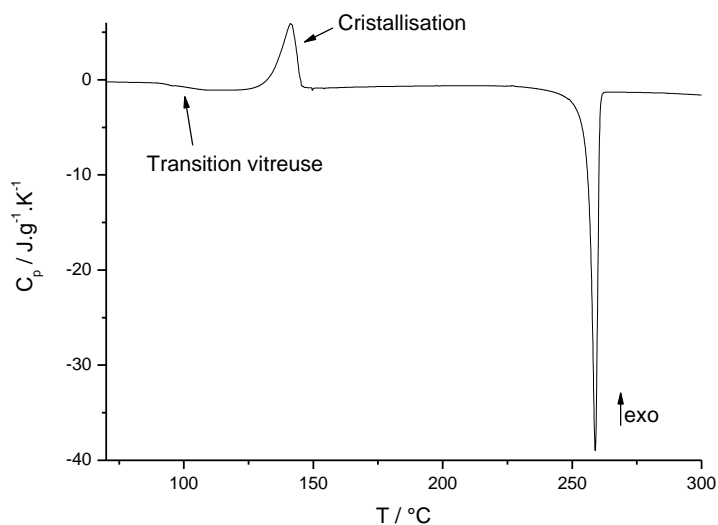


**Figure 4.14 :** Thermogramme DSC réalisé à 5 °C.min<sup>-1</sup> de la phénolphtaléine après trempe à température ambiante du produit fondu.

Dans le but de permettre à la phénolphtaléine de cristalliser, après la trempe, l'échantillon est gardé plusieurs mois à température ambiante dans son creuset DSC. Après plusieurs mois, la phénolphtaléine est alors retirée de l'intérieur de la capsule par grattage et insérée dans une nouvelle capsule afin de l'analyser en DSC. Le thermogramme DSC révèle alors de nouveaux pics (Figure 4.15). Premièrement, on retrouve le pic de transition vitreuse aux alentours de 89 °C. Ensuite, un pic exothermique représente cette fois-ci la cristallisation de la phénolphtaléine, ce pic intervient aux alentours de 133 °C avec une enthalpie de cristallisation de 16,5 kJ.mol<sup>-1</sup>. Après la cristallisation de la phénolphtaléine, un nouveau pic endothermique est visible à 256,2 °C. Ce pic, associé à une enthalpie de 41,9 kJ.mol<sup>-1</sup>, n'est suivi d'aucun autre pic et représente donc la fusion de la phénolphtaléine. La température de

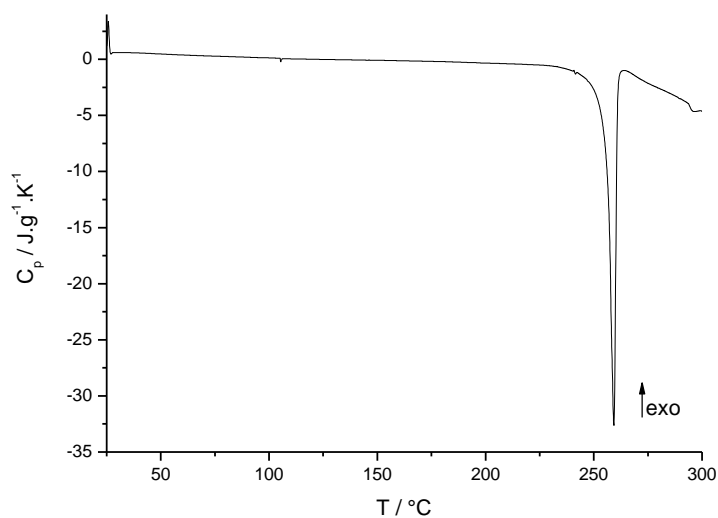
fusion obtenue est inférieure de 6°C de la température de fusion précédemment obtenue. On peut donc émettre l'hypothèse d'un nouveau polymorphe de la phénolphtaléine. Curieusement, il existe dans la littérature des données similaires à celles obtenues ici [Grantscharova 1984]. En effet, d'après la littérature, il existe une transition vitreuse à 74,85 °C. Cette température est inférieure à celle obtenue dans ces travaux, mais néanmoins l'article ne précise pas les conditions de vitesse utilisées pour cette analyse. Si la vitesse est inférieure à celle utilisée ici (5 °C.min<sup>-1</sup>), il est alors logique que la température de transition vitreuse obtenue dans la littérature, qui rappelons-le dépend de la vitesse de chauffe, soit inférieure à celle trouvée ici. Ensuite, l'article rapporte une transition à 137,85 °C avec une enthalpie associée de 22,61 kJ.mol<sup>-1</sup>. Ces résultats sont proches de ceux obtenus pour le pic de cristallisation. Ceci indique que la transition décrite dans l'article correspond à une cristallisation. Pour finir, une température de fusion de 260,85 °C avec une enthalpie de fusion associée de 51,07 kJ.mol<sup>-1</sup> sont évoquées dans l'article. Contrairement aux études réalisées ici, ces résultats sont plus proches des caractéristiques de fusion de la phénolphtaléine commerciale, comme relatée ci-dessus.

Cette seconde forme que nous soupçonnons pourrait être une des deux formes reportées dans la littérature [Fitzgerald L. J. 1998]. Cet article présente deux formes cristallographiquement indépendantes de la phénolphtaléine appelées forme A et B et chacune d'elles étant liées à quatre molécules de son type grâce aux liaisons hydrogènes.



**Figure 4.15 :** Thermogramme DSC obtenu à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  de la phénolphtaléine après trempe et recuit de plusieurs mois à température ambiante.

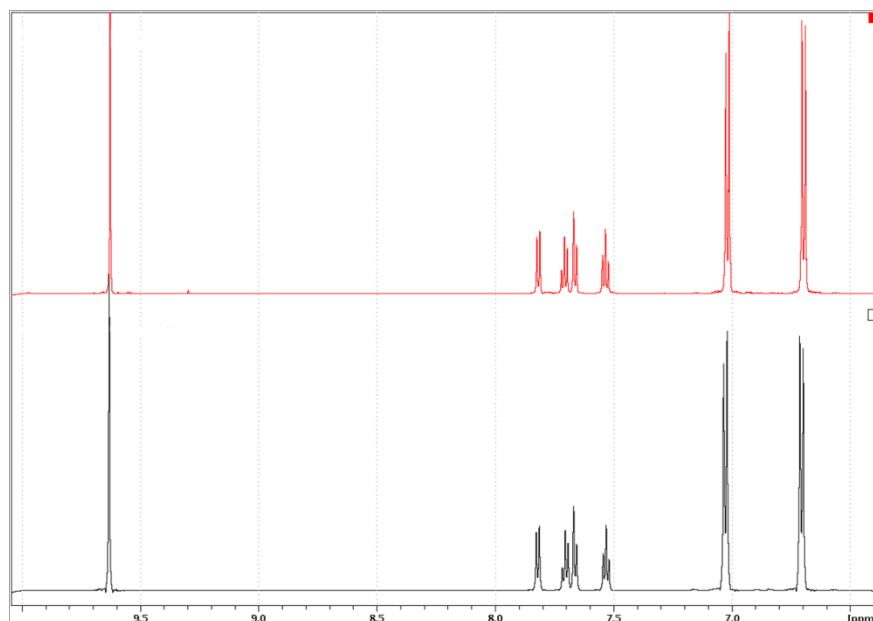
Afin de confirmer l'existence d'une seconde forme cristalline, il a fallu isoler cette forme afin de pouvoir la différencier par diffraction des rayons X sur poudres. La phénolphtaléine commerciale a alors été placée au four à  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$  jusqu'à sa fonte totale. Lorsque la phénolphtaléine est alors sous forme liquide, elle est retirée du four et trempée à température ambiante jusqu'à vitrification de la phénolphtaléine liquide. Une fois qu'elle se trouve sous forme vitreuse, la phénolphtaléine est replacée au four à  $160\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant trois jours. Cette température ayant été choisie dans le but de correspondre à la température de cristallisation de l'hypothétique seconde forme et forcer cette cristallisation. Après ces quelques jours au four, la phénolphtaléine est récupérée et introduite dans une capsule afin d'être analysée par DSC. L'analyse DSC de la phénolphtaléine réalisée à  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  présente alors un seul pic fin endothermique (Figure 4.16). Ce pic a lieu à  $259,1 \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  avec une enthalpie associée de  $41,6 \pm 0,2\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Ces caractéristiques correspondent donc à la seconde forme supposée de la phénolphtaléine ce qui signifie que cette forme a été isolée grâce à la préparation au four décrite précédemment.



**Figure 4.16 :** Thermogramme DSC obtenu à  $5^{\circ}C \cdot min^{-1}$  de la phénolphtaléine recuite au four à  $160^{\circ}C$ .

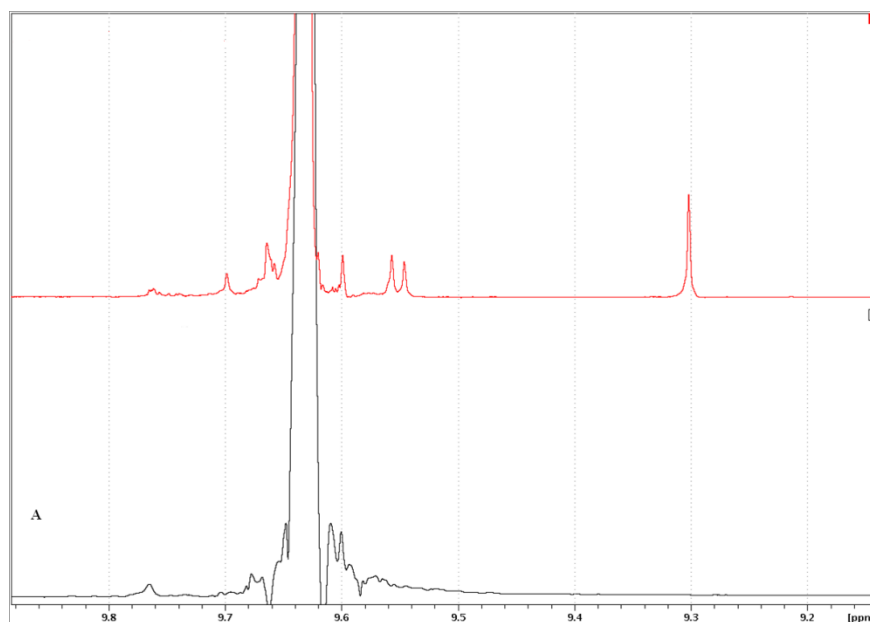
### II.3 Proportion de dégradation

Cette seconde forme apporte un nouveau problème. En effet, la fusion puis recristallisation de la phénolphtaléine présente une poudre jaunie. Cette couleur indique une dégradation probable de la phénolphtaléine. Au vu de cette constatation, il est important de connaître le pourcentage de dégradation. En effet, l'abaissement de température constaté ne pourrait en fait n'être que le résultat d'un mélange de phénolphtaléine dégradée et non dégradée. Pour cela, des analyses RMN ont été menées sur la phénolphtaléine commerciale ainsi que sur la phénolphtaléine recristallisée dans le four. Dans les deux cas, la phénolphtaléine est dissoute dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) puis analysée en RMN. Les spectres RMN obtenus montrent que les deux produits sont identiques avec le nombre de protons attendus (Figure 4.17).

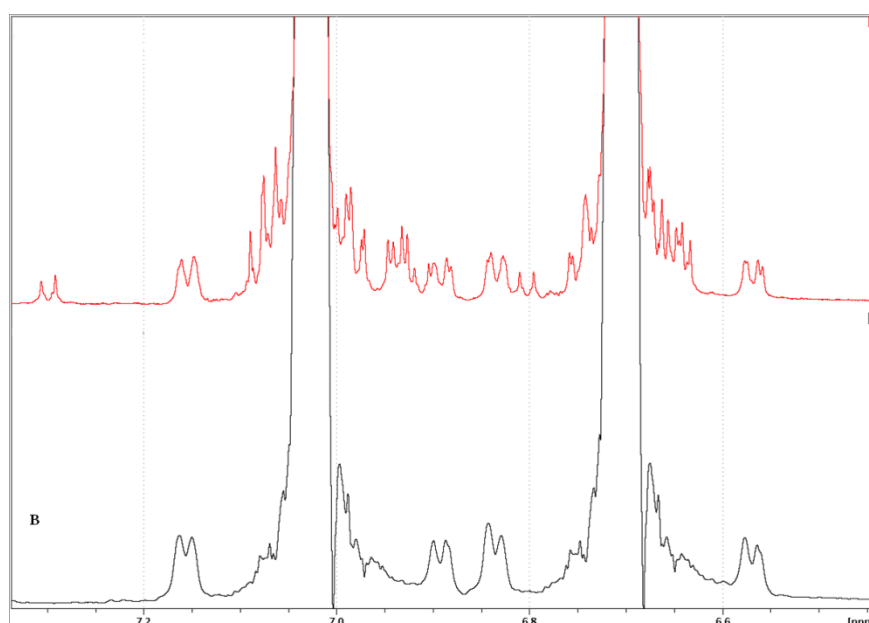


**Figure 4.17 :** Comparaison des spectres RMN de la phénolphtaléine commerciale (spectre noir) et de la phénolphtaléine préparée au four à 160 °C (spectre rouge)

En revanche, des impuretés sont visibles dans le spectre de la phénolphtaléine recuite au four, alors qu'elles ne sont pas visibles dans le spectre de la forme commerciale. Lorsque l'on zoome notamment sur la zone entre 9,1 et 9,9 ppm, on peut apercevoir un pic présent à 9,3 ppm dans la phénolphtaléine recuite au four tandis qu'il n'est pas présent dans la phénolphtaléine commerciale (Figure 4.18 A). Ces impuretés sont également visibles sur la zone entre 6,45 et 7,35 ppm où l'on voit plusieurs pics en plus dans le spectre de la phénolphtaléine préparée au four. Ces pics sont notamment visibles à 6,65 ; 6,8 ; 6,95 et 7,30 ppm (Figure 4.18 B). Sachant donc que cette impureté existe, l'écart entre les deux températures de fusion peut être causé par cette impureté. En revanche, cette impureté est en proportion de l'ordre de 1/200ème par rapport à la phénolphtaléine ce qui serait très peu pour être un facteur de modification de la température de fusion de la phénolphtaléine.



**Figure 4.18 (A) :** Zoom des spectres RMN de la phénolphtaléine commerciale et la phénolphtaléine préparée au four entre 9,1 et 9,9ppm



**Figure 4.18 (B) :** Zoom des spectres RMN de la phénolphtaléine commerciale et la phénolphtaléine préparée au four entre 6,45 et 7,35ppm



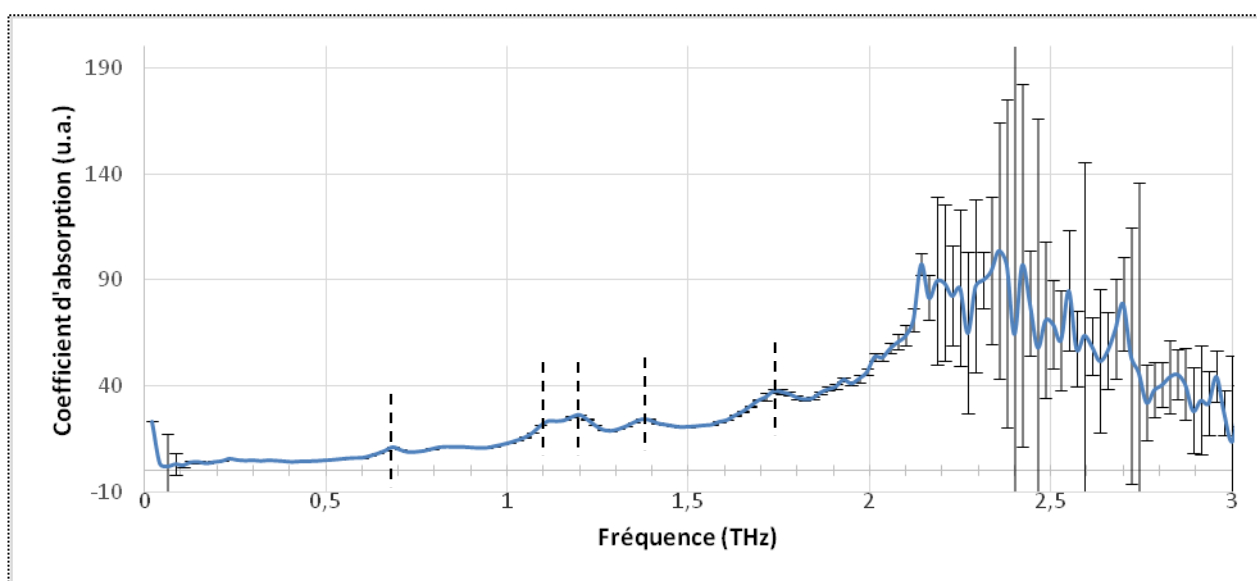
## II.4 Structure cristalline

Afin de vérifier si la phénolphtaléine préparée au four et ayant une température de fusion inférieure à la phénolphtaléine commerciale représente bien une autre forme cristalline de la phénolphtaléine, des analyses de diffraction des rayons X sur poudre ont été réalisées sur les deux produits. Tout d'abord, la phénolphtaléine commerciale a été analysée par diffraction des rayons X. Les résultats obtenus, après l'affinement par la méthode de Pawley, montrent que la phénolphtaléine cristallise sous forme orthorhombique de groupe d'espace  $Pna2_1$ . Les paramètres de maille alors obtenus sont  $a = 19,3158(7) \text{ \AA}$  ;  $b = 14,8413(9) \text{ \AA}$  et  $c = 11,3789(7) \text{ \AA}$ . Ces résultats sont alors en accord avec la littérature [Fitzgerald L. J. 1998]. L'étude de la phénolphtaléine préparée au four a mené à une structure cristalline identique. La phénolphtaléine préparée au four cristallise donc sous forme orthorhombique de groupe d'espace  $Pna2_1$  et de paramètres  $a = 19,3231(5) \text{ \AA}$  ;  $b = 14,8509(5) \text{ \AA}$  et  $c = 11,3746(5) \text{ \AA}$ . Ces résultats montrent donc que les deux formes supposées différentes à cause de leur différence de température de fusion sont en fait la même forme. L'écart entre les deux températures de fusion n'est donc pas lié à un éventuel polymorphisme de la phénolphtaléine mais probablement dû à la présence d'impuretés obtenues par la dégradation de la phénolphtaléine après sa fusion.

## II.5 Spectre térahertz

L'intérêt de l'analyse térahertz sur ce produit est le même que pour la p-synéphrine. En effet, étant donné qu'il n'existe qu'une forme cristalline et qu'il n'existe pas de transition ou de déshydratation pour cette molécule, l'intérêt est d'avoir le spectre térahertz de la phénolphtaléine pour l'ajouter à une base de données des produits utilisés dans les contrefaçons et ainsi pouvoir le détecter dans celles-ci.

Comme pour la p-synéphrine, la phénolphtaléine commerciale est utilisée sans préparation hormis le mélange avec le polyéthylène glycol et la compression en pastille afin d'être insérée dans le dispositif térahertz et analysée à température ambiante. Le spectre térahertz de la phénolphtaléine présente donc plusieurs pics qui sont alors des pics caractéristiques de la phénolphtaléine (Figure 4.19). Ces pics se retrouvent donc environ à 0,7 ; 1,1 ; 1,2 ; 1,4 et 1,75 THz et vont permettre de reconnaître la présence ou l'absence de phénolphtaléine dans l'analyse de contrefaçons.



**Figure 4.19 :** Spectre térahertz de la phénolphtaléine commerciale

## **II.6 Conclusion**

Bien que les analyses thermiques réalisées ont laissé supposer l'existence d'une seconde forme solide de la phéno

lphthaléine, la diffraction des rayons X a montré que les deux formes supposées de la phéno

lphthaléine étaient les mêmes et que les différences observées sur les points de fusion provenaient de l'impureté créée par la dégradation du produit. Comme pour la caféine, le spectre térahertz de la phéno

lphthaléine permet d'étoffer la base de données des produits pharmaceutiques trouvés régulièrement dans les produits de contrefaçons.

## Références

R. J. Artymowicz, A. L. Childs, L. Paolini, Phenolphthalein-induced toxic epidermal necrolysis, *Ann. Pharmacother.*, 31(10) (1997) 1157-1159.

M. De Wulf, H. Ceuppens, B. Gheysens, N. Inderadjaja, Destroyed lung due to aspiration of phenolphthalein, *Acta chir. Belg.*, 105(5) (2005) 545-547.

M. Bolgert, M. Le Sourd, J. Tabernat, Toxicoderma probably caused by phenolphthalein of the poikiloderma of Civatte type ; actual cure, *B. Soc. Fr. Dermatol. Sy.*, 61(5) (1954) 514-515.

Richard, Cernea, Lortat-Jacob, Dioudonnat, Garlopeau, Oral and genital manifestations in phenolphthalein intolerance, *Rev. Stomatol.*, 53(10) (1952) 832-839.

L. J. Fitzgerald, R. E. Gerkin, Phenolphthalein and 3',3''-Dinitrophenolphthalein, *Acta Cryst.*, C54 (1998) 535-539.

E. Grantscharova, I. Avramov, I. Gutzow, Thermodynamic behavior of amorphous and crystalline phenolphthalein, *Dokl. Bolg. Akad. Nauk*, 37 (1984) 1521-1523.



# Synthèse, conclusions et perspectives

## 1. Synthèse des résultats obtenus

Les différentes substances étudiées ici ont été caractérisées par analyses thermiques afin de déterminer avec précision leur comportement à la chaleur et notamment leurs caractéristiques de fusion. Grâce à la diffraction des rayons X, principalement sur poudres, l'état solide a pu être également étudié et caractérisé. Ces connaissances sont nécessaires afin d'établir la correspondance entre une forme solide particulière et un spectre térahertz donné.

D'un point de vue connaissance de l'état solide des différents composés étudiés ici, on retiendra que dans beaucoup de cas, il n'y a aucune connaissance des caractéristiques thermiques de ces composés ainsi qu'aucune caractérisation structurale. Nous avons donc, pour la plupart des composés ciblés pour cette étude, entrepris ce travail de caractérisation.

Pour le chlorhydrate de sibutramine monohydraté, la technologie térahertz a montré qu'elle pouvait différencier la forme anhydre de la forme hydratée. L'analyse thermique a alors permis de « fabriquer » la bonne forme (anhydre ou hydratée) pour l'analyse térahertz. Grâce au couplage de l'analyse thermique et de la diffraction des rayons X, nous avons pu mettre en évidence un comportement à la déshydratation dépendant des conditions expérimentales. Ainsi, selon ces conditions, le composé racémique hydraté se déshydrate pour donner place à un composé racémique anhydre ou un conglomérat. Le racémate se transforme alors en conglomérat selon une réaction péritectoïde [Rosa F. 2016a]. Grâce à l'analyse thermique, la stabilité relative entre le racémique anhydre et le conglomérat a pu être établie en fonction de la température.

La p-synéphrine a la particularité de dégrader à la fusion. De ce fait, il est très difficile d'obtenir par DSC les caractéristiques de fusion du produit, une méthode consistant à augmenter la vitesse de chauffe en analyse thermique a été développée. En utilisant cette méthode, il a été confirmé, dans ce travail, que l'analyse thermique pouvait permettre de déplacer la dégradation vers les hautes températures grâce à une analyse à vitesse de chauffe élevée. Grâce à cette méthode, les caractéristiques vraies de fusion ont pu être obtenues. De plus, la structure cristalline de la p-synéphrine a pour la première fois été résolue [Rosa F. 2016b]. En parallèle, le spectre térahertz de la p-synéphrine a été enregistré afin de servir par la suite de spectre de référence de cette substance.

Quant à la phénolphtaléine, ses caractéristiques de fusion ont été affinées. Dans un premier temps, nous avons soupçonné l'existence d'un autre polymorphe de la phénolphtaléine car un pic de fusion à plus basse température et à plus basse enthalpie avait été obtenu par analyse thermique. Cet abaissement du point de fusion était en fait tout simplement dû à la présence d'impuretés de dégradation en faible quantité. L'hypothèse de l'existence de cette seconde forme solide a été définitivement rejetée grâce à l'appui de la diffraction des rayons X.

## **2. Conclusions**

En vue de développer un prototype de la technologie térahertz afin d'améliorer la détection des produits de contrefaçons, la technologie térahertz a démontré ici tout son potentiel vis-à-vis des produits pharmaceutiques. Le choix précis des composés étudiés a permis de valider la capacité de l'analyse térahertz à détecter différentes transitions comme les transitions vitreuses, solide-solide ainsi que les cristallisations. Néanmoins, ces travaux

ont prouvé que l'analyse thermique reste une méthode essentielle dans la compréhension des phénomènes subis par un composé à la chaleur. Celle-ci a été utilisée en soutien de l'analyse térahertz afin d'étudier les caractéristiques solides des composés et d'isoler ou de « fabriquer » chacune des formes. Grâce à ces connaissances, il a été possible d'associer un spectre térahertz à une forme donnée préalablement caractérisée. D'autres méthodes en association avec celles-ci, comme la résonance magnétique nucléaire mais surtout la diffraction des rayons X, ont été utilisées ici afin de compléter certaines connaissances sur les propriétés thermodynamiques de certains composés.

Ces travaux ont également permis de montrer que certains produits utilisés dans le domaine pharmaceutique ont un manque d'informations sur leurs propriétés physico-chimiques (structure cristalline, caractéristiques de fusion, ...). Ces données sont pourtant importantes notamment d'un point de vue de la stabilité physico-chimique de la substance mais aussi pour la mise en forme du principe actif dans le but d'obtenir un médicament.

### **3. Perspectives**

Le principal objectif de ce projet est de terminer le développement du prototype basé sur la technologie térahertz. Ce prototype pourrait permettre de réaliser des essais en situation réelle et de confirmer le potentiel de cette technologie vis-à-vis de l'amélioration de la détection de contrefaçons des produits pharmaceutiques.

Les produits pharmaceutiques, y compris ceux issus de la contrefaçon sont, dans la majorité des cas, constitués par l'association d'une substance active et d'un (ou des) excipient(s). Si des interactions spécifiques apparaissent entre la substance active et un excipient, le signal térahertz de la substance active sera alors modifié par rapport à celui de la



substance pure. Il sera donc primordial d'étudier les interactions à l'état solide entre la substance active et l'excipient majoritaire du produit contrefait. Ceci passera par l'établissement du diagramme de phases entre ces deux entités. Si des interactions spécifiques sont alors mises en évidence, il faudra voir si elles induisent des modifications significatives du spectre térahertz de la substance pure. Si tel est le cas, ces modifications de spectres devront alors être intégrées à la base de données afin d'augmenter la capacité de détection par technologie térahertz.

Les produits issus de la contrefaçon sont à chaque fois plus nombreux, ce qui implique une augmentation et surtout une diversification des substances contenues dans ces produits. C'est pourquoi il est nécessaire de continuer également à développer la caractérisation des différentes substances par la technologie térahertz afin d'augmenter et mettre à jour régulièrement la base de données permettant d'identifier ces substances.

## Références

F. Rosa, P. Negrier, P. Espeau, Racemic compound and conglomerate of anhydrous sibutramine hydrochloride: a rare case of relative stability, *CrystEngComm*, 18 (2016a) 6903-6907.

F. Rosa, P. Négrier, Y. Corvis, P. Espeau, Crystal structure determination and thermal behavior upon melting of p-synephrine, *Thermochim. Acta*, 632 (2016b) 18-22.