



**HAL**  
open science

# Cristallisation d'un sel pharmaceutique : Développement de méthodologies d'étude

Thibaud Detoisien

► **To cite this version:**

Thibaud Detoisien. Cristallisation d'un sel pharmaceutique : Développement de méthodologies d'étude. Génie des procédés. Aix-Marseille III, 2010. Français. <NNT : >. <tel-02003175>

**HAL Id: tel-02003175**

**<https://hal.science/tel-02003175v1>**

Submitted on 1 Feb 2019

**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.



HAL Authorization

# **THESE**

pour obtenir le grade de :

Docteur en Physico-Chimie et Génie des Procédés

De l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III  
Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme

<p><b><u>Cristallisation d'un sel pharmaceutique : Développement de méthodologies d'étude</u></b></p>
---

Présentée par :

**Thibaud DETOISIEN**

A Soutenir publiquement le mercredi 2 juin 2010 devant le jury suivant :

Rapporteurs :	Pr. Marc DESCAMPS Pr. Édouard PLASARI	Université Lille I Université Nancy I
Examineurs :	Pr. Elisabeth BADENS Dr. Pascal TAULELLE	Université Aix-Marseille III Oril industrie, Bolbec
Directeurs de thèse :	Dr. Stéphane VEESLER Dr. Didier COLSON Pr. Jean Paul KLEIN	CINaM-CNRS Marseille Université Lyon I Université Lyon I



## **THESE**

pour obtenir le grade de :

Docteur en Physico-Chimie et Génie des Procédés

De l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III  
Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme

<p><b><u>Cristallisation d'un sel pharmaceutique : Développement de méthodologies d'étude</u></b></p>
---

Présentée par :

**Thibaud DETOISIEN**

A Soutenir publiquement le mercredi 2 juin 2010 devant le jury suivant :

Rapporteurs :	Pr. Marc DESCAMPS Pr. Édouard PLASARI	Université Lille I Université Nancy I
Examineurs :	Pr. Elisabeth BADENS Dr. Pascal TAULELLE	Université Aix-Marseille III Oril industrie, Bolbec
Directeurs de thèse :	Dr. Stéphane VEESLER Dr. Didier COLSON Pr. Jean Paul KLEIN	CINaM-CNRS Marseille Université Lyon I Université Lyon I



Présidence de l'université

Marc PENA  
Thérèse CHETAÏL

Président de l'université  
Secrétaire générale

Les vice-présidents statutaires

Bruno HAMELIN  
Michel LANNOO  
Dominique VIRIOT  
Florian MARTIN

Vice-président du Conseil d'Administration  
Vice-présidence du Conseil Scientifique  
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire  
Vice-président étudiant

Les vice-présidents délégués

Serge AGOSTINELLI  
Paul DJONDANG  
Richard GHEVONTIAN  
Hervé ISAR  
André JEAN  
Joseph PINI  
Mireille CANALIS  
Luc CHARRIN  
Basile SIRCOGLOU

Chargé des systèmes d'information  
Chargé des relations internationales  
Chargé des affaires juridiques, statutaires et sociales  
Chargé des finances, du patrimoine et des moyens  
Chargé des relations interuniversitaires  
Chargé des sciences sociales  
Chargé du soutien à l'étudiant  
Chargé du secteur Sciences et Technologies  
Chargé de l'insertion professionnelle et de la formation à vie

Les directeurs des composantes d'enseignement

Gilbert ORSONI  
Jean-Marc PONS  
Jean-Pierre CENTI  
Robert FOUCHET  
Richard GHEVONTIAN  
Patrick ROUSSEAU  
Michel GAUCH  
Christian DUVAL

UFR de Droit et de Science Politique  
UFR des Sciences et Techniques  
UFR d'Economie Appliquée  
Institut de Management Public et Gouvernance Territoriale  
Institut d'Etudes Françaises pour Etudiants Etrangers  
Institut d'Administration des Entreprises  
Institut Universitaire de Technologie  
Institut d'Etudes Politiques



## Remerciements

*Cette thèse a été réalisée au Centre Interdisciplinaire de Nanosciences de Marseille CINaM-CNRS situé sur le campus de Luminy. Je remercie le docteur Claude Henry, directeur du CINaM, pour m'avoir accueilli pendant 3 ans au sein de son laboratoire. Je pense aussi au professeur Hatem Fessi, directeur du LAGEP pour l'accueil lors de mes différents séjours à Lyon-Villeurbanne.*

*J'exprime ma gratitude à Oril industrie et les laboratoires Servier pour le montage de ce projet entre Bolbec, Marseille et Lyon. Je leur suis reconnaissant pour m'avoir pu faire accéder aux ressources des différents laboratoires ainsi que pour leur soutien financier. Je nomme ici toutes les personnes d'Oril industrie qui ont participé à leur manière à ce projet : les docteurs Lucile Vaysse-Ludot, Rodolphe Tamion, Pascal Taulelle et Gwenaël Servant ainsi que Joël Teston et Sébastien Mathieu.*

*J'exprime toute ma reconnaissance aux professeurs Édouard Plasari, de l'Université Nancy I, et Marc Descamps, de l'Université Lille I, pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail. J'adresse également mes remerciements au professeur Élisabeth Badens, de l'Université Aix-Marseille III, qui me fait l'honneur de participer au jury de soutenance.*

*Je tiens à apporter mes plus chaleureux remerciements à mon directeur de thèse, le docteur Stéphane Veessler, directeur de recherches au CINaM-CNRS de Marseille Luminy. Stéphane, tu n'imagines pas comme je suis admiratif de tes connaissances scientifiques. Je suis profondément reconnaissant de ton soutien et de ton encadrement pendant ces 3 années. Tes qualités humaines font de toi un directeur de thèse hors pair.*

*Je ne pourrai aussi oublier l'appui de mes 2 autres directeurs de thèse : le professeur Jean-Paul Klein, de l'Université Lyon I et du docteur Didier Colson, chef du département Génie Chimique – Génie des Procédés de l'IUT A Université Lyon I. Leur aide pendant cette période de thèse, au cours des réunions avec Oril industrie ou à l'IUT, ainsi que pour la correction du rapport final, m'a été grandement précieuse, je les en remercie sincèrement.*

*Je remercie particulièrement le personnel du CINaM pour leur aide au quotidien : les docteurs Serge Nitsche et Damien Chaudanson du service de Microscopie électronique qui m'ont aidé à obtenir de superbes clichés de mes échantillons ; le docteur Vasile Heresanu du service Rayons X pour son aide précieuse sur les études réalisées au SWAXS ; le docteur Thirounavou Bactivelane pour l'appui technique sur les appareils utilisés au laboratoire ; Nathalie Ferté, Jean-Pierre Astier et le docteur Romain Grossier*

pour l'ambiance au jour le jour au laboratoire et Gilles Artaud de l'atelier du CINaM pour avoir répondu très vite à nos demandes. Enfin, un grand merci à Manuel Ildefonso pour la bonne ambiance au laboratoire ces derniers mois.

Je tiens à remercier les équipes du LAGEP qui ont fait que c'était toujours un grand plaisir pour moi de venir à Lyon-Villeurbanne tant l'ambiance de travail y est agréable. Merci au docteur Emilie Gagnière pour sa bonne humeur, aux docteurs François Puel, Denis Mangin, Alain Rivoire et Jean Marc Galvan pour leur aide quotidienne, et enfin à Jean Pierre Valour dont l'ingéniosité n'a d'égale que sa disponibilité.

J'exprime toute ma reconnaissance au docteur Michel Giorgi au spectropôle de St Jérôme pour les analyses structurales sur monocristaux, au docteur Gérard Pèpe pour avoir réalisé en très peu de temps et dans l'urgence une prédiction sur une structure de notre produit d'études, ainsi qu'aux docteurs Gabriel Canard et Pierre Vanloot de l'IUT Chimie de Marseille pour notre collaboration sur l'utilisation de l'analyse thermogravimétrique à l'IUT. Je pense aussi au docteur Philippe Deniard, chargé de recherches à l'institut Jean Rouxel CNRS de Nantes, pour son accueil et son aide au sujet de l'exploitation des résultats de diffraction des poudres.

Je remercie la société Mettler Toledo pour avoir organisé le concours académique Mettler qui m'a permis de remporter un appareil DSC-1, particulièrement utile pour réaliser une grande partie de ma thèse concernant les analyses thermiques au CINaM.

J'ai une pensée sincère pour les stagiaires qui ont travaillé avec moi, Maxime Forite et Charly Rogeon de l'IUT Génie Chimique de Lyon-Villeurbanne, Marine Arnoux et Manon Cirotteau de l'IUT Chimie de Marseille. Je tiens à les remercier pour la confiance instaurée entre nous, leur soif d'apprendre et leur désir de s'investir autant dans un projet qui leur était étranger au début. Je leur souhaite la plus grande réussite dans leur poursuite d'étude et dans leur projet professionnel.

La rédaction du manuscrit de thèse est à mon sens, aussi l'occasion de faire un point sur ses années de formation. J'ai donc une pensée pour les personnes suivantes qui m'ont marqué au cours de ces années : Pierre Krempf, enseignant de physique en classes préparatoires à CPE Lyon ; le docteur Mamadou Traoré, directeur des études à CPE Lyon ; le docteur Krishnamurthy Shanmuganandamurthy, manager de projets au Centre de Recherche et Technologie de Rhodia à Cranbury, NJ, USA ; le docteur Daniel Schweich, directeur de recherches au laboratoire de Génie des Procédés Catalytiques ; le docteur Philippe Marchal de Bluestar Silicones ; les docteurs Bruno Baillon et Xavier Lubeigt de l'unité de développement de procédés de Sanofi-aventis à Sisteron. Ils ont tous fait preuve, à leur manière, d'excellence dans la communication de leur savoir, et je le pense, des fois, de leur passion.

# ***Sommaire***

*La phrase la plus excitante à entendre en sciences, celle qui  
annonce de nouvelles découvertes, n'est pas « Eurêka »  
(j'ai trouvé !) mais plutôt « Tiens, c'est marrant ».*

*Isaac Asimov*



---

Remerciements	p.7
Sommaire	p.9
Introduction	p.17
Chapitre I : Bibliographie	p.21
<b>I. Notion de cristallisation en solution</b>	<b>p.23</b>
I.1. Généralités	p.23
I.1.1. La solubilité	p.23
I.1.2. La sursaturation	p.26
I.2. La nucléation	p.27
I.2.1. La nucléation primaire homogène	p.28
I.2.2. La nucléation primaire hétérogène	p.30
I.2.3. La nucléation secondaire	p.31
I.2.4. L'ensemencement et l'amorçage	p.32
I.2.5. Diagramme de phase et nucléation	p.32
I.3. La croissance des cristaux	p.34
I.4. Le murissement d'Ostwald	p.37
I.5. L'agglomération	p.37
I.6. La cristallisation avec additifs ou impuretés	p.37
<b>II. Le polymorphisme</b>	<b>p.39</b>
II.1. Les différents types de polymorphisme	p.39
II.2. Formation et stabilité des polymorphes	p.40
II.3. Règles de Burger	p.42
II.4. Cas des hydrates et solvates	p.42
II.5. Le polymorphisme dans l'industrie pharmaceutique	p.43
<b>III. Cristallographie</b>	<b>p.44</b>
III.1. Notions de cristallographie	p.44
III.2. L'état amorphe	p.47
III.3. Les défauts cristallins	p.47
III.4. Morphologie et faciès	p.48
III.5. Prédiction de la morphologie cristalline	p.48

---

<b>IV. Les sels pharmaceutiques</b>	<b>p.49</b>
IV.1. Equilibres acido-basiques en solution aqueuse	p.49
IV.2. Sels et coefficients d'activité	p.51
IV.3. Solubilité des sels en milieu aqueux	p.53
IV.3.1. Le produit de solubilité	p.53
IV.3.2. Profil de solubilité d'un acide faible	p.54
IV.3.3. Profil de solubilité d'une base faible	p.55
IV.3.4. Profil de solubilité d'une dibase faible	p.56
IV.3.5. Le $\text{pH}_{\text{max}}$	p.57
IV.4. Solubilité dans les solvants non aqueux	p.58
IV.4.1. Caractéristiques des solvants organiques	p.58
IV.4.2. Calcul de l'échelle des $\text{pK}_a$ d'un solvant à un autre	p.59
IV.5. Notes sur les modèles de prédiction de la solubilité	p.60
<b>V. Méthode pour le choix du sel</b>	<b>p.63</b>
V.1. Effet du contre ion sur la solubilité du sel	p.63
V.2. Effet de la nature du sel sur le point de fusion	p.64
V.3. Effet de la nature du sel sur l'hygroscopicité	p.65
V.4. Effet du sel sur la nature du solide	p.65
V.5. Spécificité des chlorhydrates	p.66
V.6. Actions à entreprendre pour modifier les propriétés d'un sel	p.67
V.7. Approche méthodique pour le choix du sel	p.68
<b>VI. Les étapes du développement pharmaceutique</b>	<b>p.69</b>
<b>VII. Conclusions</b>	<b>p.70</b>
<b>Chapitre II :</b>	
<b>Matériels et méthodes</b>	<b>p.71</b>
<b>I. Mesure de la solubilité par ajouts successifs</b>	<b>p.73</b>
<b>II. La microscopie avec cellule à effet Peltier</b>	<b>p.75</b>
II.1. Principe de l'effet Peltier	p.76
II.2. Caractérisation entre polariseurs croisés	p.76
II.3. Le montage avec cellules multipuits à effet Peltier	p.77
II.4. La diffusion du soluté en condition statique	p.78
<b>III. Méthodes de caractérisation des solides</b>	<b>p.80</b>
III.1. La diffraction des poudres par rayons X	p.80
III.2. L'analyse de monocristaux par rayons X	p.82

---

III.3. L'analyse calorimétrique différentielle	p.83
III.3.1. Principe et intérêt	p.84
III.3.2. Mesures qualitatives	p.85
III.3.3. Mesures quantitatives	p.85
III.3.4. Relation entre enthalpie de fusion et de dissolution	p.86
III.4. Observation de la fusion dans un capillaire	p.87
III.5. La thermogravimétrie	p.87
III.6. La microscopie électronique à balayage	p.88
III.7. La microscopie à force atomique	p.89
<b>IV. Les réacteurs de cristallisation</b>	<b>p.90</b>
IV.1. Le réacteur du CINaM	p.90
IV.2. Notes sur les prises de photos <i>ex situ</i>	p.91
IV.3. Le réacteur du LAGEP	p.92
IV.4. Calcul à partir de la vitesse d'agitation	p.93
<b>V. Les mesures <i>in situ</i></b>	<b>p.95</b>
V.1. Les mesures FBRM avec la sonde Lasentec®	p.95
V.2. La sonde vidéo <i>in situ</i>	p.96
V.3. Suivi du pH dans le réacteur	p.98
V.4. La diffusion des rayons X aux petits et moyens angles	p.100
<b>VI. Choix du produit d'études</b>	<b>p.101</b>
VI.1. Analyses préliminaires	p.101
VI.2. Choix du TD901	p.102
VI.3. Autres produits chimiques	p.103
<b>VII. Conclusions</b>	<b>p.104</b>
<b>Chapitre III :</b>	
<b>Résultats et discussions</b>	<b>p.105</b>
<b>I. Caractérisation des solides, base et sel</b>	<b>p.107</b>
I.1. Caractérisation des phases par DRX, photos MEB	p.107
I.2. Analyses thermiques	p.109
I.2.1. Analyse de la base	p.109
I.2.2. Analyse du sel	p.111
I.3. Approfondissement des résultats DSC	p.114
I.3.1. Analyse de la base	p.115
I.3.2. Analyse du sel	p.116

<b>II. Développement d'une méthode de criblage polymorphique</b>	<b>p.119</b>
II.1. Détails de la méthode	p.119
II.2. Résultats sur le TD901	p.123
II.2.1. Solubilités	p.123
II.2.2. Faciès et transformations	p.125
II.2.3. Comparaison des clichés de poudre	p.119
II.2.4. Apports de la DSC et de la TG aux résultats	p.134
II.2.5. Photos MEB	p.140
II.3. Conclusions	p.142
<b>III. Solubilité de la base et du sel TD901</b>	<b>p.144</b>
III.1. Détermination de la solubilité de la base	p.144
III.1.1. Solubilité de la base dans les mélanges Eau/EtOH	p.144
III.1.2. Solubilité du sel dans un mélange ternaire et thermodynamique : Discussion	p.147
III.1.3. Recristallisation du solide	p.149
III.2. Détermination de la solubilité du sel	p.151
III.2.1. Solubilité du sel dans Eau/EtOH	p.151
III.2.2. Solubilité de la base dans un mélange ternaire et thermodynamique : Discussion	p.147
III.2.3. Recristallisation du solide	p.153
III.3. Solubilité en fonction du pH	p.154
III.3.1. Mesure du pH couplée à la solubilité	p.154
III.3.2. Courbe de solubilité théorique en fonction du pH	p.155
III.4. Conclusions	p.157
<b>IV. Recherche de la structure du TD901</b>	<b>p.158</b>
IV.1. Recherches et analyse des monocristaux de base	p.158
IV.1.1. Nucléation et croissance de monocristaux dans une cellule Peltier	p.158
IV.1.2. Nucléation et croissance de monocristaux par évaporation	p.160
IV.1.3. Obtention de la structure de la base	p.163
IV.1.4. Analyse AFM des monocristaux de base	p.165
IV.1.5. Analyse quantitative de la cristallinité en DSC	p.166
IV.2. Recherches et analyse des monocristaux du sel	p.167
IV.2.1. Recherche de monocristaux en solution	p.167
IV.2.2. Recherche de monocristaux par évaporation	p.169
IV.2.3. Détermination par modélisation moléculaire	p.170
IV.3. Conclusions	p.173
<b>V. Etudes du procédé de cristallisation</b>	<b>p.174</b>
V.1. Mesure de la limite de zone métastable	p.175
V.1.1. Mesures en réacteur agité	p.175

V.1.2. Comparaisons avec d'autres conditions	p.176
V.2. Recherche d'une phase anhydre pendant le procédé de cristallisation par analyse de la suspension au cours du procédé	p.178
V.3. Détection de la nucléation et recherche d'une transition anhydre → hydrate dans un appareil à diffusion des rayons X aux petits et moyens angles	p.180
V.4. Suivi du pH pendant la cristallisation	p.181
V.5. Suivi de la suspension au cours du procédé	p.183
V.5.1. Cristallisation par relargage	p.185
V.5.2. Cristallisation par nucléation primaire	p.187
V.5.3. Cristallisation par précipitation du sel	p.191
V.5.4. Cristallisation par ensemencement	p.194
V.5.5. Changement des paramètres pour la cristallisation par ensemencement	p.198
A. Modification de la vitesse d'agitation	p.198
B. Modification de la vitesse de refroidissement	p.200
C. Modification de la quantité de semence	p.201
D. élévation de la température d'ensemencement	p.203
E. Augmentation de la durée de l'isotherme	p.205
F. Ensemencement à 70°C combiné à d'autres changements de variable	p.206
V.6. Conclusions	p.208

## Conclusions générales p.209

## Références Bibliographiques p.215

## Annexes p.229

A. Représentation 3D des 32 classes cristallines	p.231
B. Les 230 groupes d'espace cristallographiques	p.232
C. Propriétés physiques de quelques solvants	p.233
D. Quelques exemples de sels courants et $pK_a$	p.234
E. Enthalpies d'excès pour le mélange Eau + (x) Ethanol	p.235
F. Nombre de puissance en fonction du Reynolds	p.236
G. Intrapolation / Extrapolation des vitesses d'agitation	p.236
H. Synthèse sur 9 produits Oril – partie 1	p.237
I. Synthèse sur 9 produits Oril – partie 2	p.238
J. Fiche de sécurité simplifiée de la base TD901	p.239

---

K. Analyses TG de la base préalablement séchée à 60°C	p.240
L. Analyses TG du sel préalablement séchée à 60°C	p.240
M. Analyses DSC du sel, cycles de chauffage/refroidissement	p.241
N. Solubilité du sel TD901 dans différents solvants (Oril industrie)	p.241
O. Photos MEB des différentes phases polymorphiques	p.242
P. Clichés DRX des phases I, B et L	p.246
Q. Structure cristalline de la forme J	p.246
R. Détermination de la morphologie de la forme J par BFDH	p.247
S. Recherche de l'absorbance maximale du sel pour les mesures UV	p.247
T. Clichés DRX des cristaux de base obtenus par évaporation	p.248
U. Méthode d'ajustement du volume dans les cellules Peltier	p.249
V. Cliché de poudre de la structure du sel TD901 / GENMOL	p.250
W. Clichés de poudre des suspensions	p.251
<b>Nomenclature</b>	<b>p.253</b>
<b>Résumés</b>	<b>p.258</b>

# ***Introduction***

*Des rayons chargés de bouteilles étiquetées faisaient deviner  
que la pharmacie y occupait plus de place que la science.  
Honoré de Balzac (Le médecin de campagne, 1833)*



La formation d'un sel d'un principe actif pharmaceutique (API) permet de modifier les caractéristiques physico-chimiques d'un principe actif comme sa stabilité et sa biodisponibilité. Les sels représentent aujourd'hui plus de deux tiers des APIs sur le marché pharmaceutique mondial. Les molécules en développement sont de plus en plus complexes et engendrent des procédés de synthèse et de génération du solide difficiles à maîtriser. Parmi ceux-ci, la cristallisation des sels reste relativement peu étudiée à cause des multiples paramètres jouant sur la solubilité du produit. Alors que classiquement, le travail autour des problèmes de cristallisation s'effectue en jouant sur la nature du solvant, la concentration du soluté, la température et l'hydrodynamique ; la cristallisation des sels nécessite de travailler sur de nouveaux facteurs comme le pH pour avoir une connaissance optimale de la solubilité du produit. La précipitation liée à réaction de salification est un procédé supplémentaire à considérer pour cristalliser un principe actif salifié.

Le développement pharmaceutique nécessite pendant les dix à quinze années de développement d'un produit jusqu'au dépôt d'un dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché, de produire régulièrement une quantité croissante de produit pour les besoins des études cliniques, galéniques, toxicologiques... Pour cela, produire dans des conditions reproductibles des cristaux avec des propriétés d'usage satisfaisantes est une nécessité afin de ne pas être confronté à des problèmes d'industrialisation pendant l'extrapolation des procédés. Typiquement, la formation de cristaux à faciès aciculaire n'est pas souhaitée dans les procédés industriels car ils sont responsables d'un grand nombre de problèmes tout au long de la chaîne du traitement du solide humide, en commençant par une mauvaise filtration. Il est admis en général que ces cristaux n'ont pas de faces à croissance lente perpendiculairement à la direction longitudinale. Cependant, le choix du système à cristalliser sel/solvant peut être fixé très tôt dans le développement pharmaceutique, la marge de manœuvre autour du procédé de cristallisation est alors mince pour améliorer les propriétés d'usage de la phase cristalline ciblée de l'API.

Afin de répondre aux problématiques industrielles liées au développement des sels pharmaceutiques, Oril industrie (développement et production chimique des laboratoires Servier) a financé en début 2007 cette thèse autour des objectifs suivants :

- Faire le point et comprendre les équilibres chimiques en solution pendant et après l'étape de salification de l'API. Peser l'importance du facteur pH sur les équilibres chimiques et les équilibres thermodynamiques du soluté en suspensions (solubilité en milieu aqueux et en milieu non aqueux)
- Proposer une méthode optimisée de criblage des conditions de cristallisation de l'API afin d'élargir le choix des conditions de cristallisation avec des propositions argumentées (faciès, solubilité, phase, taille des cristaux)
- Etudier et comprendre les procédés de cristallisation extrapolables d'un sel dans un réacteur agité de laboratoire
- Proposer une méthodologie globale pour aborder le développement de la cristallisation d'un API
- Collaborer avec deux laboratoires académiques complémentaires pour travailler sur les aspects fondamentaux de la cristallisation au Centre Interdisciplinaire de Nanosciences de Marseille Luminy (CINaM) et sur la cristallisation en réacteur agité au Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés de Lyon Villeurbanne (LAGEP)

Pour répondre à ces problématiques, le manuscrit est articulé en quatre parties :

Tout d'abord, une première partie concerne le travail bibliographique qui a été fait en amont des premières expériences. Ce travail s'articule autour des notions essentielles à connaître sur la cristallisation (nucléation, croissance, agglomération...), les bases de cristallographie et le polymorphisme et ses enjeux pour l'industrie pharmaceutique. Un accent important est porté aux équilibres chimiques pour la formation des sels en général puis sur l'impact des conditions de pH sur la solubilité des APIs salifiés. Cette théorie nous permet de comprendre les raisons du choix d'un sel plutôt que d'un autre. Ainsi, un rappel sur les étapes du développement pharmaceutique prend un rôle important pour prendre du recul sur ce travail de thèse.

À la suite de la bibliographie est présentée la partie "matériels et méthodes" reprenant l'ensemble des méthodes utilisées au CINaM et au LAGEP. La complémentarité des deux laboratoires prend toute son importance pour proposer des méthodes de travail sur la cristallisation à différentes échelles : du microlitre au millilitre au CINaM et la centaine de millilitres au LAGEP. L'utilisation de microscopes équipés de platines Peltier mono ou multi puits permet de suivre la cristallisation dans des vials de 1 mL pour effectuer un travail en amont sur la cristallisation en réacteur agité homothétique. La caractérisation des poudres *ex situ* est réalisée à l'aide d'un appareil de diffraction des rayons X, d'un appareil de calorimétrie à balayage, d'un appareil thermogravimétrique, d'un microscope électronique à balayage, d'un microscope à force atomique. Des outils *in situ* (sonde FBRM et sonde de visualisation de la suspension) nous permettent de comprendre les mécanismes de cristallisation au cours du procédé.

Le choix de la molécule d'étude est alors discuté pour expliquer l'intérêt de travailler sur un produit emblématique des problèmes rencontrés pour l'industrialisation des procédés : sel chlorhydrate (sel le plus fréquemment choisi par les industries pharmaceutiques), base soluble dans l'éthanol et insoluble dans l'eau, sel soluble dans l'eau et peu dans l'éthanol, phase du sel développée par Oril industrie cristallisant sous forme d'aiguilles et posant des problèmes à la filtration.

Suit après une partie importante concernant les résultats et la discussion de ces résultats. L'analyse simple de la phase de la base et du sel soumis à des changements de température nous révèle que les aiguilles du sel sont des hydrates faciles à déshydrater, ce qui n'était pas connu au début de l'étude. Une méthode est ensuite présentée pour mener à bien un criblage polymorphique complet nous permettant en plus de connaître la solubilité du sel dans 32 solvants et une quinzaine de mélanges de solvants. Cette méthode répond au problème de l'obtention d'un maximum d'informations tirées d'un criblage à partir d'un minimum de produit à consommer, le tout en un minimum de temps à passer sur l'étude pour répondre aux contraintes de l'industrie pharmaceutique. La mesure complète des solubilités de la base et du sel dans les mélanges éthanol/eau nous permet, d'une part, de réaliser de nombreux essais de cristallisation de monocristaux afin de comparer les structures cristallines des deux éléments et, d'autre part, de mieux comprendre et piloter les procédés de cristallisation du sel en réacteur agité homothétique. La méthode choisie pour l'étude de la cristallisation dans des conditions extrapolables à plus grande échelle consiste à discuter des principaux procédés réalisables (nucléation primaire par refroidissement, précipitation, relargage, évaporation, ensemencement) et de jouer sur les différentes variables pour le meilleur procédé (l'ensemencement) pour comprendre l'impact de ces variables sur les mécanismes de cristallisation de l'API salifiée.

Enfin, en conclusion, est proposé un schéma concernant la méthodologie globale développée au cours de ce doctorat. Il reprend les points importants qu'il semble essentiel d'utiliser très tôt dans le développement d'une nouvelle phase d'un sel pharmaceutique.

# *Chapitre I :*

# *Bibliographie*

*Quand une science est à bout d'arguments, elle élargit son vocabulaire.*

*Jacques Deval*



La cristallisation est un changement d'état qui conduit, à partir d'une phase liquide ou gazeuse, à un solide appelé cristal, de structure régulière et organisée. La maîtrise d'un procédé de cristallisation nécessite des connaissances assez variées :

- Thermodynamiques (équilibre de phases)
- Cinétiques (nucléation et croissance de la phase cristalline)
- En génie chimique (transfert de matière et de chaleur)
- Industrielles (géométrie des cristallisoirs)

Globalement, on ne distingue que trois types de cristallisation, selon que celle-ci a lieu :

- En phase gazeuse (condensation pour le zirconium et les chlorures d'aluminium)
- En bain fondu (cristallisation des métaux et alliages, produits ultra purs (silicium) par fusion de zone)
- En solution (la plus courante dans l'industrie chimique)

## I. Notion de cristallisation en solution

Le phénomène de cristallisation est un déplacement vers un état d'équilibre sous des conditions de température, de pression et de concentration particulières. La force motrice de ce phénomène dépend de l'écart par rapport à ces conditions. Pour comprendre au mieux les notions de cristallisation en solution, il est important tout d'abord de rappeler quelques définitions fondamentales de solubilité et de sursaturation. Une partie importante de ce travail bibliographique est rédigée avec l'aide de l'article de Roland Boistelle [BOISTELLE, 85].

### I.1. Généralités

#### I.1.1. La solubilité

La solubilité, notée  $C_s$ , d'un soluté dans un solvant est la quantité maximale de soluté qu'il est possible de dissoudre dans une quantité donnée de solvant sous des conditions de température, de pression et de pH définies. Cela correspond à un équilibre thermodynamique entre le soluté et le solvant. Tant que la concentration  $C_i$  du soluté dans le solvant est inférieure à  $C_s$ , le soluté sera dissous; au-delà, la solution va relarguer l'excès de soluté sous forme solide pour que la concentration tende vers la concentration d'équilibre  $C_s$ .

Thermodynamiquement, la solubilité est atteinte quand le potentiel chimique du soluté  $i$  est le même dans la phase solide et dans la phase liquide [MESPLEDE 00].

$$\mu_i^{liq} - \mu_i^{sol} = 0 \quad [\text{Eq. 1}]$$

Respectivement, le potentiel chimique dans la solution saturée et le potentiel chimique du solide qui cristallise sont :

$$\mu_i^{liq} = \mu_i^{\circ liq} + RT \ln a_i^{liq} \quad [\text{Eq. 2}] \quad \mu_i^{sol} = \mu_i^{\circ sol} + RT \ln a_i^{sol} \quad [\text{Eq. 3}]$$

- $\mu_i^{liq}$  potentiel chimique du soluté  $i$  dans le liquide (en  $\text{J.mol}^{-1}$ )
- $\mu_i^{\circ liq}$  potentiel chimique du soluté  $i$  à pression standard pour le liquide (en  $\text{J.mol}^{-1}$ )
- $\mu_i^{sol}$  potentiel chimique du soluté  $i$  dans le liquide (en  $\text{J.mol}^{-1}$ )
- $\mu_i^{\circ sol}$  potentiel chimique de référence du soluté  $i$ , solide à pression standard (en  $\text{J.mol}^{-1}$ )
- $R$  la constante des gaz parfaits (en  $\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) et  $T$  la température (en  $\text{K}$ )
- $a_i^{liq}$  activité du soluté dans la phase liquide
- $a_i^{sol}$  activité du soluté dans la phase solide

A partir des équations [Eq. 1] et des équations [Eq. 2] et [Eq. 3], nous pouvons écrire à l'équilibre que la composition d'une solution est fixe pour des conditions particulières de température et de pression:

$$\mu_i^{\circ, sol} - \mu_i^{\circ, liq} = RT \ln \frac{a_i^{liq}}{a_i^{sol}} \quad [\text{Eq. 4}]$$

Ainsi, à l'équilibre, la variation d'un de ces paramètres va entraîner une modification de la solubilité du soluté  $i$ . Henry Le Chatelier, en 1884 a exprimé ce phénomène par la loi générale de modération dans le cadre d'un déplacement d'équilibre: “*Lorsque les modifications extérieures apportées à un système physico-chimique en équilibre provoquent une évolution vers un nouvel état d'équilibre, l'évolution s'oppose aux perturbations qui l'ont engendrée et en modère l'effet.*”

L'expression générale de la solubilité en fonction de la température du milieu, à pression constante a été donnée par Guggenheim. Elle relie la solubilité  $C_s$  (en moles de soluté par litre de solvant) et la température en fonction de la variation d'entropie de la phase liquide et de la phase solide, respectivement  $S_{liq}$  et  $S_{sol}$ :

$$\left( \frac{\partial C_s}{\partial T} \right)_{P, sat} = \left( \frac{S_{liq} - S_{sol}}{\partial \mu_i^{liq} / \partial C_s} \right)_{T, P} \quad [\text{Eq. 5}]$$

Dans la plupart des cas, le système évolue vers une phase plus condensée, l'entropie de la phase solide est inférieure à celle de la phase liquide, la différence entropique est positive et provoque une augmentation du terme de gauche de [Eq. 5]. Autrement dit, la solubilité croît avec la température, on parle d'une solubilité "directe". La courbe de solubilité  $C_s=f(T)$  est croissante, la partie sous la courbe est une zone de sous-saturation où aucun cristal ne peut croître. En zone sursaturée, les cristaux peuvent croître. On note tout de même qu'il existe des systèmes où la différence d'entropie des phases liquides et solides est négative, on parle d'une solubilité “inverse”, en l'occurrence pour l'aprotinine [VEESLER 04] et quelques petites molécules comme le sulfate de chrome III.

Le solvant et le soluté peuvent créer entre eux des interactions solvant-soluté de différents types : ion-dipôle, dipôle-dipôle, van der Waals ou hydrogène. Ces interactions sont responsables de la dissolution du soluté dans le solvant. On comprend alors que la nature du solvant (polaire ou apolaire, protique ou aprotique, ionique ou non ionique...) aura une importance majeure sur la solubilité du soluté. On parle d'une règle "like dissolves like" pour faire comprendre qu'une molécule riche en groupements -OH aura une solubilité aqueuse importante et une solubilité dans un solvant organique plus faible. Au contraire, un soluté riche en liaisons C-C aura une plus grande solubilité dans un alcane.

De manière pratique, la linéarité des points de solubilité est préférée pour permettre une meilleure interprétation de ces points pour les traiter avec les régressions linéaires statistiques classiques et en tirer des valeurs thermodynamiques. Lorsque les solutions ont un comportement idéal (Rapport de la concentration d'une solution à son activité égal à 1), à pression et température constante et sans transition de phase, l'équation 5 devient [GRANT 84]:

$$\frac{d \ln a_i^{sat}}{dT} = \frac{\Delta H_i}{RT^2} \quad [\text{Eq. 6}]$$

- $a_i^{sat}$  l'activité du soluté  $i$  à saturation (solubilité) par rapport à son état standard
- $\Delta H_i$  l'enthalpie molaire partielle du soluté en solution (en  $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$ )

$$\text{En général } a_i^{sol} = a_i^{sat} = \gamma_i^{sat} \cdot C_s \quad [\text{Eq. 7}]$$

L'activité  $a_i^{\text{sol}}$  représente l'activité du soluté solide qui est en équilibre avec la solution saturée dans laquelle  $C_s$  est la concentration de soluté à l'équilibre (saturation).  $\gamma_i^{\text{sat}}$  est le coefficient d'activité du soluté. L'équation 6 s'écrit de manière plus classique :

$$\frac{d \ln C_s}{dT} = \frac{\Delta H_i^*}{RT^2} \quad [\text{Eq. 7}]$$

Avec  $\Delta H_i^*$  l'enthalpie molaire partielle apparente de la solution :

$$\Delta H_i^* = \Delta H_i \left( \frac{d \ln C_s}{da_i} \right)_{T,P} \quad [\text{Eq. 8}]$$

Dans le cas d'une solution idéale,  $(d \ln C_s / d \ln a_i)_{T,P} = 1$  [HOLLENBECK 80]

Dans son article, Grant émet l'hypothèse que  $\Delta H_i^*$  varie de manière linéaire en fonction de la température au lieu d'être indépendant de cette température :

$$\Delta H_i^* = a + bT \quad [\text{Eq. 9}]$$

Des équations 7 et 9, on obtient :  $\frac{d \ln C_s}{dT} = \frac{a}{RT^2} + \frac{b}{RT}$  [Eq. 10]

L'intégration de l'équation 10 donne :  $\ln C_s = -\frac{a}{RT} + \frac{b}{R} \ln T + c$  [Eq. 11]

L'équation 11 est la forme générale non linéaire de la variation de la solubilité en fonction de la température absolue dans le cas d'une solution non idéale. Les analyses des régressions linéaires entre  $\ln C_s$  et  $1/T$  d'un côté et  $\ln T$  de l'autre, permettent la quantification de la variation de la solubilité. Ces analyses donnent les valeurs des 3 inconnues a, b et c.

Si b dans l'équation 10 est considéré comme négligeable, cela signifie que  $\Delta H_i^*$  est indépendant de la température, l'équation 11 se simplifie pour donner la relation de van't Hoff [VAN'T HOFF 86] :

$$\ln C_s = -\frac{a}{RT} + c \quad [\text{Eq. 12}]$$

De l'équation de van't Hoff, il est possible de tirer des grandeurs thermodynamiques. L'évolution de la solubilité exprimée en fraction molaire X de la molécule en fonction de  $1/T$  est en principe une droite (solutions diluées idéales) dont la pente est  $a = \Delta H_d$  et l'ordonnée à l'origine est  $c = \Delta S_d/R$ . Par commodité, la fraction molaire est remplacée par la solubilité  $C_s$  [Eq. 12], ce qui n'affecte pas la valeur de  $\Delta H_d$  mais ne correspond plus à la valeur de  $\Delta S_d$  calculée.

Si a est négligeable dans l'équation 10, nous obtenons la relation de Hildebrand [HILDEBRAND 52] :

$$\ln C_s = \frac{b}{R} \ln T + c \quad [\text{Eq. 13}]$$

Les deux fonctions  $C_s = f(T)$  [Eq. 12] et [Eq. 13] sont apparues comme fournissant une bonne linéarité des points dans de nombreuses situations. La relation de van't Hoff est préférée des scientifiques pour un système solide/liquide où la solution est idéale [YALKOWSKY 81] même si Hildebrand a montré théoriquement que le tracé  $\ln C_s$  en fonction de  $\ln T$  peut fournir une meilleure régression linéaire.

Une cassure, ou non linéarité, de la courbe de solubilité traitée par l'équation de van't Hoff traduit en général la présence d'espèce polymorphe ou de solvates dans notre système.

Autrement, la non-linéarité du traitement de données est due à un écart important par rapport à l'idéalité de la solution de travail. Grant montre que cela est fréquent pour les molécules peu solubles dans l'eau (dans le cas du traitement de la solubilité aqueuse) ou pour une température d'études supérieure à 50°C. Vachon montre aussi que les paramètres d'enthalpie et d'entropie mesurés après traitement des données par la relation de van't Hoff sont particulièrement affectés par le traitement appliqué à la poudre (procédé de cristallisation, broyage) avant la mesure de la solubilité [VACHON 87]. Les observations de Vachon peuvent être imputées à un effet cinétique et non thermodynamique.

### I.1.2. La sursaturation

La force motrice de la cristallisation est la différence des potentiels chimiques d'une molécule du soluté dans respectivement les phases sursaturées et saturées. Cette force est caractéristique de la sursaturation, représentant l'écart à l'équilibre thermodynamique permettant de provoquer la nucléation.

$$\Delta\mu = k_B * T * \ln\left(\frac{C}{C_s}\right) \quad [\text{Eq. 14}]$$

- $\Delta\mu$  la force motrice en J
- $k_B$  la constante de Boltzmann ( $k_B = 1.38 * 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$ )

La différence de potentiel chimique caractérise donc la tendance d'un soluté à sortir d'une phase liquide pour former une phase solide. La sursaturation d'une solution est l'écart à la solubilité, elle s'exprime de plusieurs manières : Sursaturation absolue  $\Delta C$  [Eq. 15], Sursaturation relative  $\sigma$  [Eq. 16] ou par le rapport de sursaturation  $\beta$  [Eq. 17] :

$$\Delta C = C - C_s \quad [\text{Eq. 15}] \quad \sigma = \frac{C - C_s}{C_s} \quad [\text{Eq. 16}] \quad \beta = \frac{C}{C_s} = \sigma + 1 \quad [\text{Eq. 17}]$$

Les grandeurs  $\beta$  et  $\sigma$  ont l'intérêt d'être normées et adimensionnelles par rapport à la solubilité  $C_s$  afin de faciliter les comparaisons entre des systèmes différents. Alors qu'il est courant d'utiliser  $\Delta C$ , cette valeur est très dépendante des unités choisies, nous préférons travailler avec  $\beta$ . Une même valeur de  $\beta$  peut être obtenue à des températures différentes si la variation de la solubilité avec la température est importante. On note d'ailleurs que, de manière générale, les cinétiques sont plus élevées dans des conditions de forte concentration [PUÉL 05].

Ainsi, nous pouvons mieux définir la zone supérieure à une courbe de solubilité. Il existe une partie du diagramme de phase où le soluté est sursaturé en solution, mais la force motrice n'est pas assez grande pour pouvoir déclencher de soi-même la cristallisation : il s'agit de la zone sursaturée métastable. Cette zone est délimitée par une courbe de limite de zone métastable (LZM). Au-delà de la LZM, nous nous trouvons dans des conditions de sursaturation labile où la solution générera toujours des cristaux de manière spontanée.

Pour obtenir un produit cristallisé à partir d'une solution, il est nécessaire d'agir physiquement ou chimiquement sur la solution pour que la concentration du soluté dans la solution dépasse la solubilité. Cela peut être réalisé de différentes manières :

- Refroidissement (ou chauffage pour les solutés à solubilité inverse)
- Évaporation isotherme de solvant
- Relargage par ajout d'un tiers solvant
- Précipitation (réaction chimique entre deux composés solubles qui crée un produit insoluble)
- Modification du pH de la solution dans certains cas

Après ces considérations générales, plaçons-nous dans une situation telle que la formation des cristaux devienne possible par refroidissement de la solution [Fig. 1]. Quand on refroidit la solution initialement caractérisée par la température  $T_i$  et la concentration  $C_i$  (point M sur la figure 1), on se déplace sur une ligne horizontale et cela, aussi longtemps que les cristaux n'apparaissent pas. Après franchissement de la courbe de solubilité (ou courbe d'équilibre), les cristaux apparaissent brutalement à une température qui représente la limite de la zone métastable et qui correspond à une sursaturation initiale parfois très forte (une différence entre  $T_s$  et  $T_c$  de plus de  $10^\circ\text{C}$  n'est pas rare). Cette apparition brutale de cristaux se fait par nucléation primaire (NP). Une fois les cristaux nés, ils vont grossir (croissance – C) générer de nouveaux germes par chocs entre eux ou avec une paroi du cristalliseur, c'est dans ce cas, la nucléation secondaire (NS). Puis ils vont éventuellement s'agglomérer (A) ou se briser (B) et mûrir.

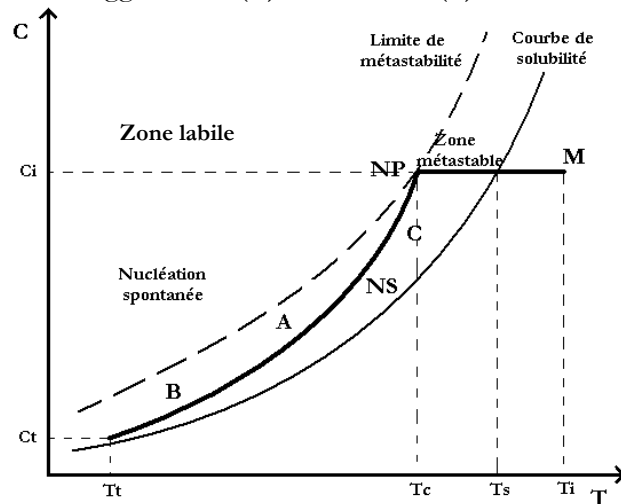


Figure 1 : Évolution de la concentration d'un soluté au cours d'une cristallisation par refroidissement

Une fois que la solution est sursaturée, le soluté peut nucléer dans un délai très variable selon les conditions du milieu : Concentration, sursaturation, nature et présence d'impuretés, géométrie du cristalliseur, etc. Il existe plusieurs types de nucléation dont nous allons définir les aspects fondamentaux dans les paragraphes suivants.

## I.2. La nucléation

Dans une solution sursaturée par rapport à un soluté, les molécules dissoutes dans le solvant diffusent de manière aléatoire, on parle de fluctuation locale de la densité. Parfois, ces molécules se rencontrent en nombre suffisant pour former des dépôts de germe ou "clusters" à partir desquels le cristal peut commencer à se former. Plusieurs types de nucléation peuvent avoir lieu :

- La nucléation primaire homogène, formation de germes dans le volume de la solution dépourvue de cristaux de la phase à nucléer
- La nucléation primaire hétérogène, formation de cristaux sur un support autre que des cristaux de la phase à faire nucléer (aspérités sur les parois, impuretés solides,...)
- La nucléation secondaire, nucléation de germes à partir de cristaux de soluté déjà présents dans la solution, par exemple à cause d'un ensemencement

Quand la sursaturation du soluté dans la solution est établie, on active le processus de nucléation du soluté. La nucléation met en jeu une énergie, appelée  $\Delta G$ , énergie libre de germination.

### I.2.1. La nucléation primaire homogène

Dans le cas où l'apparition des germes se fait dans un milieu où n'existe encore aucun cristal de la phase qui précipite, on parle de nucléation primaire. Elle est caractérisée par une sursaturation suffisante pour fournir l'énergie nécessaire à la formation de germes de taille critique, c'est-à-dire suffisamment gros pour être stables. Ces germes peuvent se former dans le volume de la solution, c'est la nucléation primaire homogène dont la théorie a été largement reprise par Chernov [CHERNOV 84]. Plus tard, Markov a étudié les mécanismes de la nucléation, et validé cette théorie, selon les mêmes principes que celui de la formation de gouttes de liquide dans une phase vapeur saturée [MARKOV 95].

Thermodynamiquement, la création d'un germe revient à la création d'un volume et d'une surface :

$$\Delta G = \Delta G_{vol} + \Delta G_{surf} \quad [\text{Eq. 18}]$$

La formation du volume entraîne un gain en énergie, mais nécessite de fournir une énergie antagoniste pour former la surface d'un germe. La solution, par la sursaturation apporte cette énergie. L'énergie libre d'activation de germination s'écrit aussi :

$$\Delta G = -n * k_B * T * \ln(\beta) + \sum S_i * \gamma_i \quad [\text{Eq. 19}]$$

- n le nombre de molécules dans le germe
- $S_i$  la surface de chaque face du germe (en  $\text{m}^2$ )
- $\gamma_i$  l'énergie interfaciale Cristal/Solution pour chaque face i ( $\text{J} \cdot \text{m}^{-2}$ )

Le caractère antagoniste du terme de volume et du terme de surface [Eq. 19] implique que le germe, qu'il soit bidimensionnel ou tridimensionnel, doit, pour continuer d'exister, dépasser une taille critique  $r^*$  [Fig. 2] au-delà de laquelle le germe devient stable et peut croître, ou en dessous de laquelle il va se dissoudre.

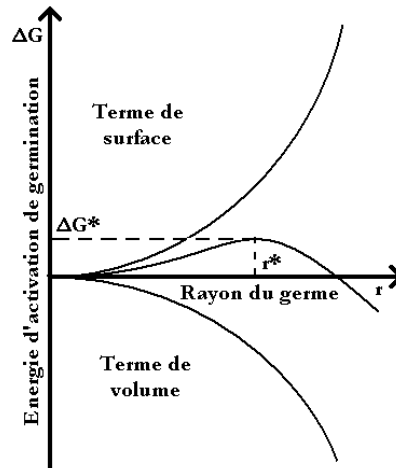


Figure 2 : Enthalpie libre d'activation de germination en fonction du rayon du germe

Si l'on suppose que le germe est sphérique, de rayon  $r$ , composé de molécules de volume  $\Omega$ , l'équation 19 s'écrit :

$$\Delta G = -\frac{4.\pi.r^3}{3.\Omega} * k_B * T * \ln(\beta) + 4.\pi.r^2.\gamma \quad [\text{Eq. 20}]$$

La taille critique  $r^*$  et l'énergie libre d'activation critique  $\Delta G^*$  correspondant à l'équilibre instable  $\delta\Delta G/\delta r=0$  s'écrivent :

$$r^* = \frac{2 * \Omega * \gamma}{k_B * T * \ln(\beta)} \quad [\text{Eq. 21}]$$

$$\Delta G^* = \frac{16 * \pi * \Omega^2 * \gamma^3}{3 * (k_B * T * \ln(\beta))^2} \quad [\text{Eq. 22}]$$

L'équation 21, également appelée "relation de Gibbs Thomson Freundlich" montre que la taille du germe critique  $r^*$  est d'autant plus petite que la température ou la sursaturation est grande ou que l'énergie interfaciale est petite. De même pour l'équation 22, l'enthalpie libre nécessaire à la formation du premier germe est d'autant plus petite que la température ou la sursaturation est grande.

La cinétique de nucléation primaire homogène consiste à déterminer la fréquence à laquelle des germes de taille critique intègrent une molécule de soluté et deviennent stables en solution. Le modèle cinétique dépend donc de la probabilité de rencontre entre les germes de taille critique et les molécules de soluté. Dans la littérature [KASHCHIEV 03] et [MERSMANN 01], la vitesse de nucléation est exprimée sous la forme suivante :

$$r_{\text{Nhom}} = A_{\text{hom}} * f(\beta) * \exp\left(-\frac{\Delta G^*}{k_B * T}\right) \quad [\text{Eq. 23}]$$

- $r_{\text{Nhom}}$  est la vitesse de nucléation primaire homogène (en Nombre.m<sup>-3</sup>.s<sup>-1</sup>)
- $A_{\text{hom}}$  est le facteur pré-exponentiel (en nombre.m<sup>-3</sup>.s<sup>-1</sup>)
- $f(\beta)$  le facteur lié à la sursaturation

Kashchiev a proposé deux expressions du facteur pré-exponentiel selon le type de mécanisme limitant (diffusion volumique ou intégration des molécules aux germes). Ces expressions sont données dans le tableau 1.

Auteur	Mécanisme Limitant	$A_{\text{hom}}$	$f(\beta)$
[KASHCHIEV 03]	Diffusionnel	$\frac{D_{AB} * C^* * N_a}{\Omega} \sqrt{\frac{k_B * T}{\gamma_i}}$	$\beta * \ln(\beta)$
	Intégration	$D_{AB} * C^* * N_a \left(\frac{4\pi}{3\Omega}\right) \sqrt{\frac{\gamma_i}{k_B * T}}$	$\beta$
[MERSMANN 01]	-	$\frac{3}{2} D_{AB} * (C^* * N_a)^{7/3} \sqrt{\frac{k_B * T}{\gamma_i}}$	$\beta^{7/3}$

Tableau 1 : Paramètres de cinétique de nucléation primaire homogène

- $N_a$  est le nombre d'Avogadro (6,022\*10<sup>23</sup> molécule.mol<sup>-1</sup>)
- $D_{ab}$  est la diffusivité du soluté dans le solvant (en m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>)

Si les auteurs divergent sur l'expression des différents facteurs, les expressions obtenues montrent toutes une forte non-linéarité de la vitesse de nucléation avec le degré de sursaturation. Cette très forte non-linéarité est à l'origine de l'existence de la limite de zone métastable, car en dessous d'une valeur critique de sursaturation, les formules donnent une valeur de  $r_{\text{Nhom}}$  quasi nulle.

### I.2.2. La nucléation primaire hétérogène

Si les germes se forment sur les parois du cristalliseur, sur l'agitateur ou sur des particules solides qui flottent dans la solution, la nucléation est dite primaire hétérogène. La différence entre ces deux types de nucléation primaire vient du fait que moins de molécules sont nécessaires pour former le germe critique qui est la calotte sphérique en nucléation hétérogène [PUEL 05].

Dans le cas d'un germe tridimensionnel, l'énergie nécessaire à la création des germes est diminuée par la présence de particules solides (impuretés). Cette diminution énergétique est directement liée à l'angle de contact  $\alpha$  entre le germe et le substrat (particule étrangère).

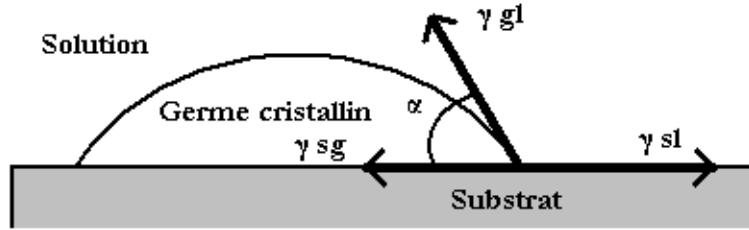


Figure 3 : Nucléation d'un germe tridimensionnel sur un substrat

- $\gamma_{gl}$  est la tension interfaciale germe / solution (en  $J.m^{-2}$ )
- $\gamma_{sl}$  est la tension interfaciale substrat / solution (en  $J.m^{-2}$ )
- $\gamma_{sg}$  est la tension interfaciale substrat / germe (en  $J.m^{-2}$ )
- $\alpha$  est l'angle de contact substrat / germe (en rad)

A partir de l'équation 22 et de l'équation de Young [Eq. 24], on définit un facteur de réduction d'énergie  $f_{het}$  compris entre 0 et 1 tel que :

$$\gamma_{sl} = \gamma_{gs} + \gamma_{gl} \cdot \cos(\alpha) \quad [Eq. 24]$$

$$f_{het} = \frac{(2 + \cos(\alpha))(1 - \cos(\alpha))^2}{4} \quad [Eq. 25]$$

$$\Delta G_{het}^* = f_{het} \cdot \Delta G^* \quad [Eq. 26]$$

Comme le facteur de réduction énergétique est inférieur à 1, la barrière énergétique de nucléation primaire hétérogène est plus petite que l'énergie libre de germination pour une nucléation homogène. On en déduit que sa limite de zone métastable sera elle aussi plus faible. Toutefois, si  $\alpha \sim 180^\circ$ , le mécanisme est assimilé à la nucléation primaire homogène. Si  $\alpha \sim 0^\circ$ , il s'agit de nucléation bidimensionnelle. Dans ce cas, on assimile le germe à un disque de hauteur équivalente au diamètre moléculaire  $d_m$  [KAISHCHEV 03] (figure 4).

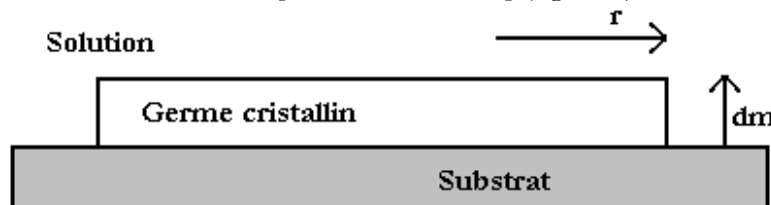


Figure 4 : Nucléation d'un germe bidimensionnel sur un substrat

Là aussi, la barrière énergétique à franchir pour provoquer la germination est inférieure à l'énergie libre de nucléation primaire homogène. La vitesse de nucléation primaire hétérogène est équivalente à [Eq. 23] à l'exception du facteur préexponentiel ( $A_{het}$  au lieu de  $A_{hom}$ ). Selon Mersmann [MERSMANN 01] la valeur de  $A_{het}$  est directement proportionnelle à la surface de substrat par unité de volume.

### I.2.3. La nucléation secondaire

Au contraire de la nucléation primaire, la nucléation secondaire de contact n'existe qu'en solution et peut agir dès les très faibles sursaturations puisqu'elle est lancée à partir de cristaux de l'espèce présente en solution. Les interactions entre particules favorisent le décrochement de ces nouveaux cristaux (micro attrition), qui viennent alors peupler la suspension de plus fines particules. Comme pour la nucléation primaire hétérogène, le germe critique aura besoin d'un nombre de molécules moins important que celui nécessaire à la nucléation primaire homogène. De Jong exprime la cinétique de nucléation secondaire par l'expression suivante [DE JONG 84] :

$$r_{Nsec} = K \cdot \varepsilon^h \cdot \Delta C^i \cdot C_m^j \quad [\text{Eq. 27}]$$

- $r_{Nsec}$  la fréquence de nucléation secondaire (en Nombre.m<sup>-3</sup>.s<sup>-1</sup>)
- K est une terme dépendant de la vitesse et de la nature de l'agitation ainsi que la température
- $\varepsilon$  est l'énergie transmise par l'agitateur (en W.kg<sup>-1</sup>)
- $C_m$  est la concentration massique des cristaux en suspension (kg.m<sup>-3</sup>)
- i, j et h sont des exposants

Les valeurs des exposants i, j et h de l'équation 27, calculées par analyse dimensionnelle, sont respectivement entre 0,5 et 4, 0,5 et enfin entre 0 et 1. Ces nombres dépendent du matériau cristallisé ainsi que des conditions hydrodynamiques dans le réacteur. Dans sa publication, De Jong montre que le type d'agitateur a une influence du simple au quadruple sur la constante K.

La nucléation secondaire surfacique est un phénomène qui nécessite aussi de franchir une barrière énergétique pour avoir lieu. L'augmentation de la sursaturation génère des surfaces rugueuses en raison de l'apparition de germes bidimensionnels [MERSMANN 01]. De nouveaux germes peuvent apparaître sur les premiers conduisant à la formation de dendrites [DIRKSEN 91]. La seconde étape du mécanisme est le détachement des nucléis. Élodie Verdurand a montré que le détachement des nucléis est précédé d'une croissance imparfaite des cristaux de semence à forte sursaturation [VERDURAND 05]. De plus, le niveau de sursaturation doit être suffisant pour assurer la survie des nucléis [MERSMANN 01]. Du point de vue thermodynamique, Mersmann se calque sur l'équation 22 et calcule l'énergie libre de formation d'un germe :

$$\Delta G_{surf}^* = \frac{\pi \cdot \gamma^3 \cdot d_{inter} \cdot d_m}{k \cdot T_B \cdot \ln \beta} \quad [\text{Eq. 28}]$$

- $\Delta G_{surf}^*$  est l'enthalpie libre critique d'activation surfacique (en J.mol<sup>-1</sup>)
- $d_{inter}$  est la distance intermoléculaire (en m)
- $d_m$  est le diamètre moléculaire (en m)

Mersmann inclut alors un facteur d'efficacité E relatif au détachement et à la survie des nucléis secondaires pour le calcul de la cinétique de nucléation secondaire surfacique  $r_{Nsurf}$ . La densité de surface disponible de cristaux  $a_c$  (en m<sup>2</sup>.m<sup>-3</sup>) intervient également dans la relation suivante :

$$r_{Nsurf} = E \cdot a_c \cdot \frac{D_{AB}}{d_m^4} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G_{surf}^*}{k_B \cdot T}\right) \quad [\text{Eq. 29}]$$

### I.2.4. L'ensemencement et l'amorçage

Nous séparerons ici les phénomènes d'ensemencement et d'amorçage qui ne correspondent pas aux mêmes mécanismes de nucléation :

- L'amorçage est l'introduction de cristaux entre la solubilité et la limite de la zone métastable. Ces cristaux provoquent une nucléation primaire hétérogène à leur contact. Il n'est pas nécessaire d'utiliser comme amorce du produit à cristalliser pour provoquer la nucléation primaire hétérogène, un corps étranger au produit peut la provoquer.
- L'ensemencement est l'introduction des cristaux, en quantité suffisante, de la phase que l'on cherche à cristalliser. Si la vitesse de croissance est élevée, la semence se mettra à croître et la nucléation pourra être évitée.

L'ensemencement est une opération d'introduction de cristaux de taille généralement calibrée dans une solution sursaturée. Le but est d'ensemencer dans la zone métastable pour favoriser la croissance de la semence en évitant la nucléation primaire et ainsi contrôler la granulométrie. Si la semence est introduite sous forme sèche, les nucléis sont des débris cristallins formés à la surface des cristaux de semence.

L'ensemencement est couramment utilisé car il permet d'éviter le blindage des réacteurs et d'assurer un meilleur contrôle de la taille des particules. En admettant l'absence de nucléation et en écrivant alors l'égalité du nombre de particules entre le début (semence) et la fin de l'opération, on obtient [PUÉL 03]:

$$\frac{M_f}{M_s} = \left( \frac{d_f}{d_s} \right)^3 \quad [\text{Eq. 30}]$$

- $M_s$  est la masse de semence introduite (en kg)
- $M_f$  est la masse finale de cristaux obtenus (en kg)
- $d_s$  est la taille des particules de semence (en m)
- $d_f$  est la taille finale des particules (en m)

L'équation 30 est par contre très limitée dans son utilisation, car elle n'est valable qu'en absence totale de nucléation, ce qui n'est presque jamais le cas.

### I.2.5. Diagramme de phase et nucléation

Beckmann insiste dans un article sur le fait que la nucléation est d'abord une fonction de la sursaturation avant d'être dépendante de la technique de cristallisation. On réalise alors l'importance de connaître le diagramme de phases du soluté à cristalliser [BECKMANN 99]. Il est possible de situer sur un diagramme de phase  $C=f(T)$  les différentes zones de nucléation en plus de la courbe de solubilité. La zone sursaturée peut être divisée en 4 parties sur la figure 5.

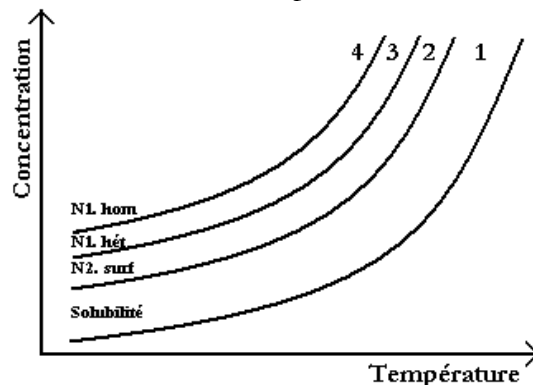
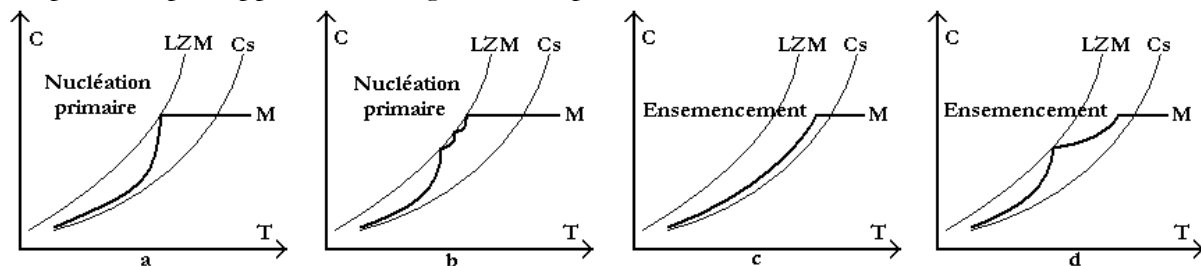


Figure 5 : Limites de zone métastable des mécanismes de nucléation

- La zone 1 : les nucléis ne peuvent se former que par nucléation secondaire de contact, dès qu'il y a des cristaux présents en suspension. La cinétique de germination est peu intense et maîtrisée. C'est aussi la zone de prédilection de l'ensemencement et du fonctionnement des cristalliseurs industriels. Ici, les autres mécanismes de nucléation sont inactifs.
- La zone 2 : toujours en présence de cristaux, la sursaturation est suffisante pour que la nucléation secondaire surfacique se produise. Cette dernière est alors dominante devant la nucléation secondaire de contact toujours en cours. Il n'y a toujours pas de germination primaire.
- La zone 3 : la nucléation primaire hétérogène se développe et complète la production de germes. Les nucléations primaires hétérogène et secondaire surfacique dominent par leur cinétique la production de germes. Il faut atteindre cette zone pour créer les premiers germes en solution si aucun ensemencement n'est réalisé en début de cristallisation.
- La zone 4 : les germes se forment très majoritairement par nucléation primaire homogène. Ce mécanisme est tellement intense qu'il masque en général tous les autres mécanismes qui existent toujours.

Savoir qu'il existe plusieurs limites de zone métastable selon le mécanisme de nucléation est important, mais de manière classique, la connaissance de la LZM de nucléation primaire homogène par rapport à la courbe de solubilité est suffisante. Ainsi, selon l'éloignement de point de fonctionnement par rapport à la courbe de solubilité et sa proximité de la LZM, nous pouvons piloter de manière théorique un procédé de cristallisation par refroidissement. La figure 6 reprend quelques exemples de pilotage d'un procédé avec une concentration de soluté connue  $M$  à haute température, par rapport à son diagramme de phase.



- a : Cristallisation non ensemencée, à vitesse élevée de croissance
- b : Cristallisation non ensemencée, à faible vitesse de croissance et refroidissement trop rapide
- c : Cristallisation avec ensemencement, à vitesse élevée de croissance
- d : Cristallisation avec ensemencement, à faible vitesse de croissance et refroidissement trop rapide, ou bien cristallisation avec ensemencement insuffisant

Figure 6 : Évolution de la concentration du soluté en phase liquide lors d'une opération de cristallisation discontinue

En figure 6-a, la nucléation primaire fait apparaître les cristaux lorsque la concentration de soluté en solution atteint la limite de la zone métastable. Ces cristaux croissent en consommant la sursaturation créée par la poursuite du refroidissement. La vitesse de croissance est essentielle, si elle est élevée, la concentration du soluté en solution se rapproche de la solubilité. Si elle est trop lente ou que le refroidissement est trop rapide, alors le soluté disponible n'est plus entièrement consommé par la croissance et la concentration du soluté en solution évolue jusqu'à toucher à nouveau la limite de zone métastable pour une autre nucléation primaire [fig 6-b]. Le risque de toucher une limite plus basse, celle de la nucléation secondaire existe même. La limite de zone métastable étant dépendant de l'agitation, de la température et de la présence d'impuretés, il est nécessaire d'ensemencer pour maîtriser le phénomène de nucléation [fig 6-c] et d'éviter après de refroidir trop vite, ce qui provoquerait une nucléation primaire [fig 6-d] synonyme de la présence de deux populations de cristaux en fin de cristallisation.

### I.3. La croissance des cristaux

Lorsque le germe a dépassé une taille critique, il se met à croître et cette croissance durera tant que le milieu restera sursaturé. La croissance cristalline est régie par le transport des molécules de soluté vers la surface du cristal (diffusion) et par leur intégration au sein de la structure cristalline. Le cristal est toujours limité par des faces planes F (Flat), les faces rugueuses en escalier S (Step) ou en crans K (Kink) [fig. 7], chacune de ces faces ayant une vitesse de croissance différente. Les faces S et K ont tendance à disparaître rapidement. Les faces F peuvent croître selon deux mécanismes :

- Par germination bidimensionnelle Fa (cristal parfait)
- Par dislocation Fb, création de surfaces hélicoïdales (formation de gradins, dislocation vis)

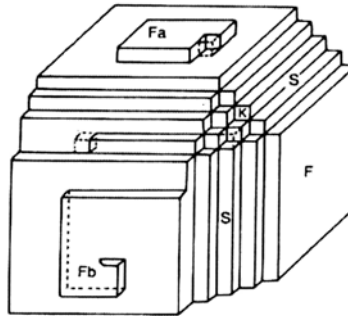


Figure 7 : Représentation schématique des différentes faces d'un cristal [PUEL 05]

Les dislocations vis sont générées par un cisaillement dans une partie limitée du cristal. On dit que la dislocation émerge sur la face du cristal [fig. 8]. Cette face n'est plus tout à fait plane, mais plutôt hélicoïdale. Les molécules de soluté qui s'adsorbent sur cette face sont piégées le long du gradin où elles trouvent des sites de croissance. Le gradin va alors s'enrouler autour du point d'émergence de la dislocation, au point de former une spirale de croissance [fig. 9].

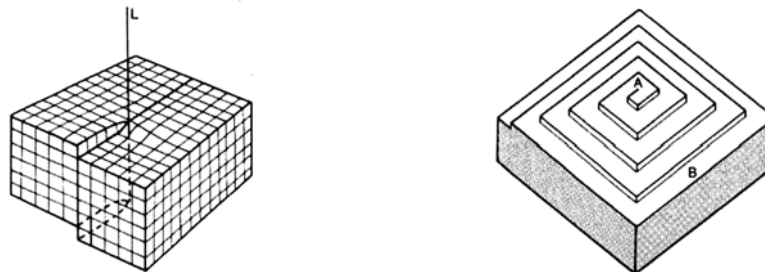


Figure 8 : Schéma d'une dislocation vis Figure 9 : Spirale de croissance polygonale [PUEL 05]

Dans les modèles souvent utilisés, la croissance est résumée en une étape de diffusion et une étape d'intégration. La vitesse de croissance est alors égale à la vitesse de l'étape limitante. Selon le cas, on parle de régime limitant. La croissance cristalline est schématisée en figure 10.

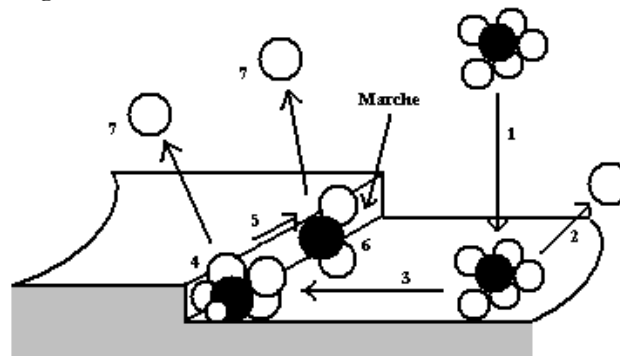


Figure 10 : Étapes de la croissance cristalline

- 1 : Diffusion de la molécule entourée du solvant à travers la couche limite
- 2 : Adsorption à la surface du cristal
- 3 : Diffusion à la surface du cristal
- 4 : Attachement à une marche
- 5 : Diffusion dans la marche
- 6 : Libération totale ou partielle du solvant (désolvatation)
- 7 : Intégration au réseau cristallin

Plusieurs modèles décrivent précisément le mécanisme d'intégration, dont le modèle BCF (Burton, Cabrera et Franck) [BURTON 51]. À faible sursaturation, la vitesse de croissance est proportionnelle au carré de la sursaturation alors que la vitesse devient linéaire vis-à-vis de la sursaturation quand celle-ci croît [AQUILANO 01]. Ce modèle prend en compte la diffusion du soluté et l'intégration des molécules au réseau cristallin comme étant deux résistances au transfert de matière en série selon le modèle du film [NYVLT 71] [fig. 11]. À l'approche du cristal, les molécules de soluté traversent une couche de diffusion d'épaisseur  $\delta_d$  et une couche d'adsorption d'épaisseur  $\delta_a$ . La concentration du soluté entre ces 2 couches est la concentration à l'interface Cristal/solution  $C_i$  et la concentration sur la surface du cristal est la solubilité, concentration d'équilibre  $C_s$ .

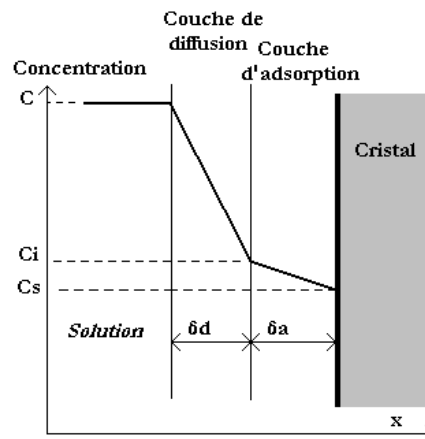


Figure 11 : Profil de concentration vers la surface d'un cristal selon le modèle du film

La diffusion du soluté dans la couche limite qui entoure le cristal est régie par la loi de Fick avec  $J_d$  la densité du flux molaire par diffusion (en  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [LIETO 98]:

$$J_d = -D_{AB} \cdot \frac{\partial C}{\partial x} \quad [\text{Eq. 31}]$$

Si l'on considère que le gradient de concentration dans la couche de diffusion est linéaire, on peut écrire avec  $k_d$  le coefficient de transfert de matière (en  $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) :

$$k_d = \frac{D_{AB}}{\delta_d} \quad [\text{Eq. 32}] \quad \text{et} \quad J_d = k_d \cdot (C - C_i) \quad [\text{Eq. 33}]$$

La diffusivité du soluté peut se calculer par la corrélation de Wilke et Chang [WILKE 55]

$$D_{AB} = 7,4 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{T \cdot \sqrt{\varphi_B \cdot MM_B}}{\mu_B \cdot V_A^{0,6}} \quad [\text{Eq. 34}]$$

- $\varphi_B$  est le facteur d'association du solvant
- $MM_B$  est la masse molaire du solvant (en  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
- $\mu_B$  est la viscosité dynamique du solvant (en  $\text{cp}_0$ )
- $V_A$  est le volume molaire du soluté en diffusion (en  $\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ )

Le calcul du coefficient de transfert de matière  $k_d$  se fait à l'aide de corrélations établies avec l'analyse dimensionnelle à base des nombres de Sherwood, de Schmidt et de Reynolds (particulaire). Le coefficient  $k_d$  intervient dans le nombre de Sherwood qui caractérise le transfert de matière convectif par rapport à la diffusion moléculaire ( $d$  étant une dimension caractéristique de la particule en mètres) :

$$Sh = \frac{k_d \cdot d}{D_{AB}} \quad [\text{Eq. 35}]$$

Le nombre de Reynolds particulaire est caractéristique de l'écoulement de la solution autour de la particule [MERSMANN 01] :

$$Re_p = 0,139 \cdot \left(\frac{\varepsilon \cdot L^4}{\nu^3}\right)^{4/9} \cdot \left(\frac{N_a \cdot d_a^2}{\nu}\right)^{0,133} \quad [\text{Eq. 36}]$$

- $\varepsilon$  est la puissance d'agitation par unité de masse de suspension (en  $\text{W} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
- $N_a$  est la vitesse de rotation de l'agitateur (en  $\text{tr} \cdot \text{s}^{-1}$ )
- $d_a$  est le diamètre de l'agitateur (en m)
- $\nu$  est la viscosité cinématique de la suspension (en  $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ). On rappelle que la viscosité cinématique est le rapport de la viscosité dynamique sur la masse volumique.

Le nombre de Schmidt caractérise l'aptitude de la solution à transférer le soluté :

$$Sc = \frac{\nu}{D_{AB}} \quad [\text{Eq. 37}]$$

Il existe plusieurs modèles pour relier ces nombres adimensionnels [SCHWEICH 01]. Nous retiendrons 2 variantes. Herndl et Mersmann donnent une corrélation pour des particules solides de taille supérieure à  $50\mu\text{m}$  [HERNDL 72]:

$$Sh = 2 + 0,6 \cdot Re_p^{1/2} \cdot Sc^{1/3} \quad [\text{Eq. 38}]$$

Armenante et Kirwarn ont affiné cette relation pour des particules plus petites que  $35\mu\text{m}$  [ARMENANTE 89]:

$$Sh = 2 + 0,52 \cdot Re_p^{0,52} \cdot Sc^{1/3} \quad [\text{Eq. 39}]$$

Plus le coefficient  $k_d$  est élevé, moins le mécanisme de croissance est limité par l'étape diffusionnelle, mais plutôt par l'intégration des molécules au réseau cristallin.

En partant du modèle du film, Nyvlt calcule la vitesse linéaire de croissance  $G$ , définir comme la variation de la taille du cristal  $L$  au cours du temps [Nyvlt 71] :

$$G = \frac{dL}{dt} = \frac{\phi_s}{3 \cdot \rho_i \cdot \phi_v} \cdot k_g \cdot (C - C_s)^g \quad [\text{Eq. 40}]$$

- $\rho_i$  est la masse volumique du cristal (en  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ )
- $k_g$  et  $g$  sont respectivement le coefficient et l'ordre cinétique global de croissance
- $\phi_s$  et  $\phi_v$  sont les facteurs de forme surfacique et volumique

### I.4. Le murissement d'Ostwald

Le murissement d'Ostwald intervient à l'équilibre du système entre les cristaux et la solution, c'est un phénomène isotherme et à masse cristallisée constante. Il met en jeu la variation de la solubilité avec la taille des cristaux. La loi de Gibbs-Thomson-Ostwald-Freundlich exprime cette variation, en émettant l'hypothèse que les particules considérées sont sphériques [BARONNET 82] :

$$\ln\left(\frac{C_s(L)}{C_s}\right) = \frac{4 \cdot \sigma_{sl} \cdot MM_a}{\rho_i \cdot R \cdot T \cdot L^*} \quad [\text{Eq. 41}]$$

- $C_s(L)$  : Concentration critique (en mol.L<sup>-1</sup>)
- $\sigma_{sl}$  : Énergie libre de surface (en J.m<sup>-2</sup>)
- $L^*$  : Rayon critique du cristal en m)
- $MM_a$  : Masse molaire du soluté (en g.mol<sup>-1</sup>)

Cette expression montre que les petites particules sont plus solubles que les grandes. Ainsi, à l'équilibre, les petits cristaux (<1µm, sinon cinétique trop lente) vont avoir tendance à se dissoudre et à favoriser la croissance des plus grosses particules, par apport de soluté supplémentaire. On parle alors de sursolubilité des petits cristaux [PUDEL 05].

### I.5. L'agglomération

L'agglomération est un phénomène de collage de petites particules entre elles, afin de former de plus grosses particules. Le processus d'agglomération [Fig.12] met en jeu la rencontre puis la collision, l'association puis la consolidation de plusieurs cristaux [MERSMANN 01]. Deux types d'agglomération peuvent intervenir :

- L'agglomération primaire, concernant les particules plus petites que 1µm.
- L'agglomération secondaire, qui s'applique à de plus grosses particules, induite soit par le mouvement brownien des particules, soit par les forces de cisaillement dues aux conditions d'agitation ou à la géométrie du réacteur.

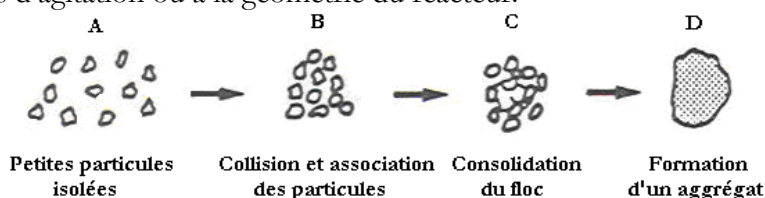


Figure 12 : Représentation schématique des différents stades de l'agglomération [PUDEL 05]

### I.6. La cristallisation avec additifs ou impuretés

En chimie fine, la présence d'impuretés chimiques pendant une étape du procédé ou même dans le produit final est classique. Un des rôles du chimiste organicien, du chimiste analytique et de l'ingénieur procédés est de réduire au mieux la présence de ces impuretés de l'ordre de la centaine de ppm jusqu'à une valeur nulle. Pour l'industrie pharmaceutique, le taux d'impuretés chimiques doit être drastiquement faible et les valeurs maximales sont imposées dans la monographie du principe actif pour une demande de mise sur le marché. En général, plus la molécule organique est complexe, plus le nombre d'impuretés est important. Les impuretés peuvent avoir aussi un effet sur la cristallisation, en général inhibiteur, mais théoriquement aussi catalyseur d'un mécanisme de nucléation ou de croissance. S'il est difficilement pensable d'ajouter volontairement un sous-produit ou un additif dans un procédé de fabrication d'un principe actif, il peut être important d'en étudier les effets au laboratoire à des fins préventives.

Davey retrace l'histoire des études réalisées à ce sujet [DAVEY 91]. Buckley a tout d'abord publié l'intérêt de modifier la croissance de sels comme les nitrates de potassium et de sodium, le chlorure de sodium ou encore le sulfate d'ammonium. Weissbuch a introduit en 1985 la notion d'additif sur mesure ou "tailor made" avec une approche structurale [WEISSBUCH 01]. Il décrit une méthode qui permet de choisir au mieux un additif selon la structure du soluté à cristalliser. Les additifs sont des molécules qui agissent sur les faces du cristal par adsorption ou désorption sur une face [fig. 13].

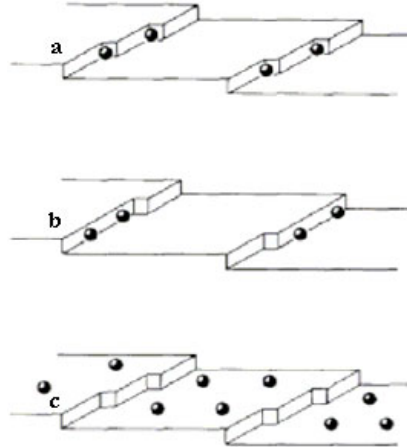


Figure 13 : Adsorption d'additifs sur un cran(a), un escalier(b) ou une face plane(c)[CAILLET 06]

Il est courant de dire que la première impureté ou additif est le solvant car il se trouve à l'interface soluté / cristal. Ces molécules (impuretés ou additifs) peuvent s'incorporer dans la structure cristalline conduisant à la formation d'un hydrate ou d'un solvate (notions définies plus loin dans le manuscrit), peuvent modifier la morphologie et le faciès cristallin voire contrôler la phase qui va apparaître (mécanisme cinétique), d'où l'importance du choix du solvant. La littérature est riche d'exemples où une impureté modifie grandement la qualité cristalline des cristaux attendus. Les exemples suivants illustrent la diversité des résultats obtenus :

- Pfeffer et Boistelle ont étudié l'effet des additifs sur la morphologie et le faciès de l'acide adipique [PFEFFER 96]
- Garnier a pu modifier le faciès des cristaux de  $\beta$ -lactose en réduisant la vitesse de croissance d'une face avec l'addition de  $\alpha$ -lactose [GARNIER 02]
- La cinétique de dissolution d'un énantiomère du chlorhydrate de méthionine a été réduite avec l'action d'un additif [ZBAIDA 00]
- Garcia observe une modification de la cinétique de transition de l'irbesartan en présence d'acide adipique et de dodécyl ammonium [GARCIA 00]
- Une seule fois, un additif a permis d'augmenter la vitesse de croissance d'une face du triphosphate de sodium hexahydraté avec un peu de dodécylbenzène sulphonate de sodium [TROOST 68]
- Rarement, le soluté lui-même joue le rôle d'additif et modifie la cristallisation, on parle de "self-poisoning" pour l' $\alpha$ -glycine [TOWLER 04] et l' $\alpha$ -resorcinol [WEISSBUCH 06]

En fait, l'adsorption d'une substance sur un germe ou cristal peut théoriquement aboutir à une augmentation de la fréquence de nucléation et de la cinétique de croissance, en revanche on ne l'observe jamais. Il suffit d'une quantité infime d'impuretés ou d'additifs pour retarder, voire empêcher la nucléation et la croissance. Lors de l'ajout d'une plus grande quantité d'impuretés, la nucléation primaire hétérogène est favorisée et l'on peut quelques fois observer une augmentation de la cinétique de nucléation du fait du changement de mécanisme.

## II. Le polymorphisme

Le polymorphisme (mot d'origine grecque signifiant "plusieurs formes") peut être défini par l'aptitude d'une molécule donnée à exister à l'état solide, suivant une même structure primaire (enchaînement atomique), sous différentes structures cristallines. Autrement dit, une même espèce chimique peut exister sous différentes formes solides avec des mailles cristallines différentes. Lorsque le phénomène s'adresse à un seul élément chimique, on parle de variété allotropique. L'exemple le plus connu d'espèces allotropiques est le cas du carbone, avec le graphite (réseaux de plans d'atomes de carbone formant une maille hexagonale ou rhomboédrique) et le diamant (tétraèdres arrangés dans une maille cubique).

Avant tout, distinguons le polymorphisme du pseudo-polymorphisme (abus de langage fréquent). Le pseudo-polymorphisme concerne l'inclusion dans la structure cristalline d'une quantité stœchiométrique au soluté de molécules de solvant, créant une entité bien différente de celle de départ, il ne s'agit plus de la même phase. Si le solvant est de l'eau, on parle de produit hydraté et s'il s'agit de solvant organique, on parle de solvate. Par exemple, étant donné que chimiquement, le soluté A trihydraté  $[A, 3H_2O]$  n'est plus le même produit que le soluté anhydre  $[A]$ , on ne peut les comparer en terme de structure cristalline : il ne s'agit pas des mêmes phases et ne peuvent être considérées intrinsèquement comme polymorphes.

Deux polymorphes d'une même molécule ont une structure différente ce qui a pour effet d'attribuer des propriétés physiques différentes (température de fusion, solubilité, etc) [PUDEL 04]. Il faut faire très attention au fait que les cristaux de deux polymorphes n'ont pas forcément des faciès différents. De la même manière, des cristaux au faciès différents peuvent cacher la même structure cristalline (la différence de faciès pouvant provenir de la méthode avec laquelle le soluté a été cristallisé). L'obtention des clichés de poudre par diffraction des rayons X est la méthode d'analyse la plus discriminante pour juger du polymorphisme [VEESLER 05].

### II.1. Les différents types de polymorphisme

En ce qui concerne les molécules organiques, on distingue couramment deux types de polymorphisme :

- Le polymorphisme de position. Les molécules peuvent avoir ici différentes positions dans la maille cristalline. C'est le cas de la DL-Méthionine [Fig. 14], qui présente une forme  $\alpha$  et une forme  $\beta$ , qui cristallisent dans un système monoclinique (respectivement 4 et 8 molécules dans la maille cristalline) [PUDEL 07].

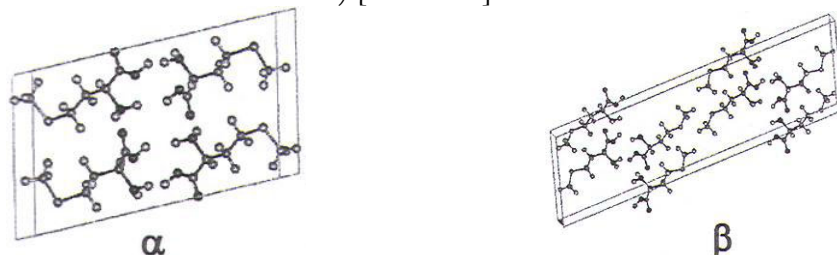


Figure 14 : Deux formes polymorphiques connues de la DL-Méthionine [PUDEL 07]

- Le polymorphisme de conformation. Les différents conformères d'une molécule solvatée peuvent entraîner différentes conformations de la molécule dans le réseau cristallin. C'est l'exemple de l'acide 2,6-dihydrobenzoïque [Fig. 15] [DAVEY 02], dont les deux conformères préférentiels cristallisent soit dans le système monoclinique (forme 1), soit dans le système orthorhombique (forme 2) à raison de 4 molécules par maille [RIGHINI 00].

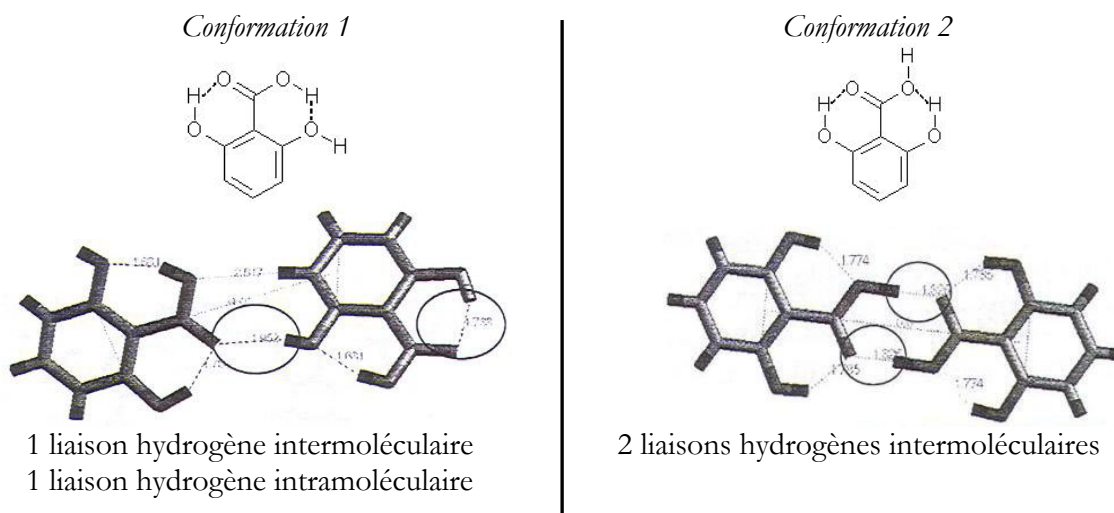


Figure 14 : Deux polymorphes de conformation de l'acide 2,6-di hydro benzoïque [PUDEL 07]

Les forces mises en jeu dans le polymorphisme des molécules organiques sont : les forces ioniques, les forces de Van der Waals ou les forces impliquées dans les liaisons hydrogènes (cas illustré précédemment avec l'acide 2,6-di hydro benzoïque).

## II.2. Formation et stabilité des polymorphes

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

$$v = c - \varphi_{ph} + 2 \quad [\text{Eq. 42}]$$

La variance  $v$  précise le nombre de facteurs qui peuvent faire varier un équilibre thermodynamique sans le détruire.  $c$  est le nombre de constituants du système,  $\varphi_{ph}$  le nombre de phases en présence et 2 les variables indépendantes que sont la température et la pression. Si  $c = 1$  et  $\varphi_{ph} = 2$ , le système n'a qu'un degré de liberté. Par conséquent, à pression constante, l'équilibre entre les polymorphes n'est possible qu'à une seule température. De la même manière, à température constante, il ne peut exister qu'à pression fixée. Comme  $v$  ne peut être négatif, pas plus de trois polymorphes ne peuvent être en équilibre simultanément.

Un système est dit monotropique si les courbes de solubilité de deux polymorphes ne se croisent pas. Un seul polymorphe est stable dans le domaine de température, celui avec la solubilité la plus basse. Le système est énantiotropique si les courbes de solubilité se croisent à une température appelée la température de transition  $T_t$ . Sur la figure 16-b, au dessous de  $T_t$ , la phase stable est la phase A, B est métastable. Au dessus de  $T_t$ , la phase stable est la phase B.

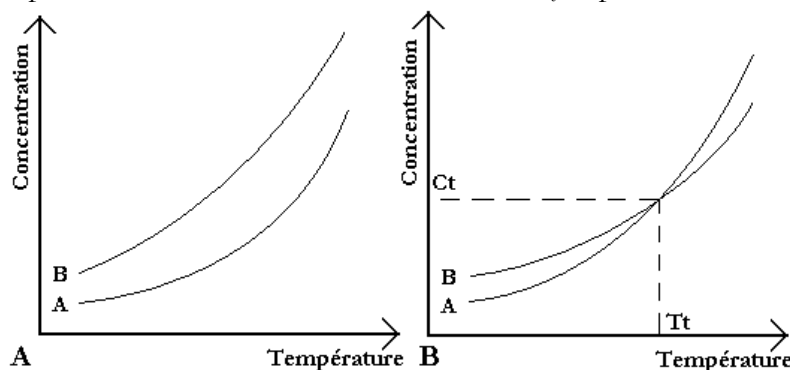


Figure 16 : Diagrammes de phase de systèmes monotropique (A) et énantiotropique (B)

En regardant les diagrammes de phases de la figure 16, il est possible de préparer les formes métastables des polymorphes soit par cristallisation rapide pour les systèmes monotropes, soit par changement de température pour les systèmes énantiotropes. La formation de solide métastable sera suivie par la transformation en composé le plus stable, puisque le système aura tendance à atteindre un état d'équilibre.

Le traitement des données de solubilité d'un système par la relation de van't Hoff [Eq. 12] permet de soupçonner la présence d'un système énantiotrope si la droite  $\ln(C_s)=f(1/T)$  a une coupure ou une cassure. Le croisement des 2 branches extrapolées se situe sur  $1/T_c$ .

Ostwald a énoncé une règle sur l'évolution d'un système chimique : Un système chimique ne tend pas directement vers l'état le plus stable mais l'état métastable qui lui est le plus proche [OSTWALD 97]. Cette règle est régulièrement vérifiée mais présente de nombreuses exceptions. Illustrons la cristallisation des phases instables par un exemple : Un soluté présente deux formes cristallines A et B, la solubilité de la forme A étant plus faible que celle de la forme B à la température  $T_N$ . Si l'on place à forte concentration  $C_i$  par rapport aux deux formes, les sursaturations respectives seront  $\beta_A=C_i/C_{sA}$  et  $\beta_B=C_i/C_{sB}$ , on s'attend alors à ce que la forme A cristallise puisque  $\beta_A > \beta_B$ . Cependant, la phase B cristallise en général la première.

Si l'on regarde de plus près l'équation 23 pour la vitesse de nucléation primaire homogène,  $r_B > r_A$  ne peut s'expliquer que dans deux cas :

- La phase B a une énergie interfaciale  $\gamma_B$  inférieure à  $\gamma_A$
- Le facteur cinétique  $K_B$  est supérieur à  $K_A$

Dans les deux cas, l'apparition de la phase B est facilitée au détriment de celle de la phase A. Une illustration a été réalisée pour montrer l'influence de l'énergie interfaciale [KLEIN 89] : si l'on a  $\beta_A=1,78$ ,  $\gamma_A=0,01 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$  et  $\beta_B=1,60$ ,  $\gamma_B=0,008 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$  alors  $J_A=4 \text{ m}^{-3}$  et  $J_B=2,4*10^7 \text{ m}^{-3}$ . La fréquence de nucléation augmente fortement pour une baisse très faible de l'énergie interfaciale. Ceci explique bien pourquoi une phase métastable peut cristalliser avant la phase stable, en dépit du fait qu'elle croît à une sursaturation plus faible que cette dernière. Le polymorphe B métastable se forme donc pour des raisons cinétiques. Les facteurs cinétiques qui imposent la nucléation l'emportent sur les facteurs thermodynamiques qui imposent l'équilibre final.

La métastabilité de la forme B dure aussi longtemps qu'un germe de la forme A n'apparaisse en solution. Quand la forme B croît, la concentration en soluté baisse jusqu'à l'équilibre  $C_{sB}$ . Dès qu'un germe de A se forme alors la concentration est inférieure à  $C_{sB}$  et le polymorphe B est condamné à se dissoudre, le soluté ainsi libéré sert à la croissance de la forme la plus stable, la forme A. La transformation de phase se fait par processus de dissolution-recristallisation.

La connaissance des diagrammes de phase du soluté est essentielle pour une bonne maîtrise du polymorphisme, l'exemple de l'Irbersartan pour deux de ses phases [VEESLER 03] est particulièrement riche d'enseignements. Une solution pour obtenir une forme cristalline particulière est l'ensemencement. Beckmann explique bien qu'en plus des avantages que présente l'ensemencement pour obtenir une distribution de cristaux particulière, l'ensemencement avec une phase choisie permet de piloter, à partir du diagramme de phases connu, le procédé afin de cristalliser seulement la phase métastable ou la phase stable (choix plus intéressant) [BECKMANN 00]. Threlfall rappelle avec insistance l'importance de la connaissance des diagrammes de phase pour un cas simple ou un soluté peut exister sous 2 formes polymorphiques dans un même solvant. Selon lui, la thermodynamique et les conditions de sursaturation sont plus importantes pour obtenir une forme particulière plutôt que de changer de solvant [THRELFALL 00].

### II.3. Règles de Burger

Pour distinguer au mieux les systèmes énantiotropiques des systèmes monotropiques, Burger et Ramberger [BURGER 79] ont énoncé plusieurs règles, qui d'après les auteurs correspondent à 99% des cas étudiés. Ces règles, connues sous le nom de Règles de Burger [Tableau 2], sont principalement les 2 suivantes :

- Si la transition entre 2 polymorphes est endothermique à une température donnée, le système est énantiotropique à la température considérée. Si la transition est exothermique, il ne peut y avoir de température de transition à une température inférieure. Cela peut avoir lieu pour un système monotropique, ou un système énantiotropique en dessous de sa température de transition.
- Dans un système énantiotropique, le polymorphe qui a le plus haut point de fusion a la plus faible enthalpie de fusion. Par contre, si le polymorphe à plus haut point de fusion a l'enthalpie de fusion la plus importante, le système est monotropique.

Monotropie	Enantiotropie
$T_t > T_{fA}$	$T_t < T_{fA}$
Forme A toujours stable	Forme A stable pour $T > T_t$ Forme B stable pour $T < T_t$
$C_{sA} < C_{sB}$	$C_{sA} < C_{sB}$ pour $T > T_t$ $C_{sA} > C_{sB}$ pour $T < T_t$
Transition irréversible	Transition réversible
Transition B vers A, exothermique	Transition B vers A, endothermique (possible si $T > T_t$ )
Densité A > Densité B	Densité A < Densité B
Pic Infra Rouge de A après B	Pic Infra Rouge de A avant B

Tableau 2 : Règles de Burger

Les études réalisées avec la calorimétrie différentielle à balayage permettent de déterminer facilement la température de fusion des solides et éventuellement de vérifier les règles de Burger par mesure des températures et des enthalpies de fusion.

### II.4. Cas des hydrates et solvates

Au moment de la cristallisation, des molécules de solvant ou d'eau peuvent s'intégrer de façon stœchiométrique vis-à-vis du soluté dans la maille cristalline. L'aptitude de l'eau et de nombreux solvants à offrir la possibilité de former une liaison hydrogène explique la fréquence d'obtention des solvates ou des hydrates. Un exemple connu d'hydrate est le sulfate de calcium, qui existe sous 2 formes anhydres  $\alpha$  et  $\beta$  (système orthorombique), une forme hémihydratée (bassanite, système monoclinique) et une forme dihydratée (gypse, système monoclinique). Les comportements des solvates et des polymorphes sont très proches, on parle ainsi de pseudo-polymorphisme car la phase chimique considérée n'est pas rigoureusement identique au départ. Par contre, l'équilibre des polymorphes est indépendant de la nature du solvant alors que celle-ci modifie l'équilibre des solvates. Bechtloff montre que la composition du solvant induit la transformation d'une forme solvatée vers une forme anhydre [BECHTLOFF 01].

L'étude des isothermes de sorption par absorption de vapeur saturante (études DVS) permet de détecter et d'affirmer l'existence de phases solvates ou hydrates d'un soluté avec l'observation de plateaux lors du tracé du suivi de la masse d'un échantillon en fonction de l'humidité ambiante [BAUER 04\_B]. Les méthodes de spectroscopies infrarouge et Raman sont

aussi efficaces pour détecter une transition anhydre → solvate ou solvate → solvate. Le départ des molécules de solvant provoquent un des 3 phénomènes suivants :

- Le départ des molécules se fait sans modification importante de la structure cristalline (cliché RX équivalent), on parle de solvate désolvaté isomorphe. Les cavités laissées par le départ du solvant sont susceptibles de recapturer les molécules de solvant.
- Le départ des molécules de solvant conduit à la destruction complète du réseau cristallin et donne naissance à une phase amorphe.
- Le départ des molécules provoque une transition solide/solide avec la création d'une nouvelle phase cristalline.

Les substances peuvent subir des processus d'hydratation/déshydratation en réponse à des changements d'environnement (mottage des engrais pendant le stockage). Les questions de solvates et d'hydrates sont essentielles au même titre que le polymorphisme classique pour l'industrie pharmaceutique.

## II.5. Le polymorphisme dans l'industrie pharmaceutique

Il n'est pas possible de prédire avec précision combien de formes polymorphiques un soluté chimique formera. Sachant que plus on cherche des polymorphes, plus on risque d'en trouver (selon le principe de McCrone), il est difficile de savoir jusqu'où arrêter les recherches. La découverte de formes polymorphiques pendant les dernières étapes du développement des principes actifs pharmaceutiques (API) a posé beaucoup de soucis ces dernières années aux entreprises pharmaceutiques. La découverte d'une phase polymorphique plus stable et plus intéressante implique de nouveaux essais cliniques, avec un travail important de cristallisation et de formulation afin de valider un procédé de synthèse. Ces travaux peuvent retarder la mise sur le marché de l'API et étant donné qu'il est intéressant de déposer au plus tôt un API sur le marché pour bénéficier d'une plus longue période de commercialisation alors que l'API a toujours son brevet protégé. La connaissance des différentes formes cristallines est désormais exigée pour le dépôt d'un dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) par les autorités de santé et de contrôle sanitaire (FDA aux Etats-Unis, AFSAPS en France, ...).

Les contraintes sont devenues de plus en plus fortes après un problème fréquemment cité dans les revues sur le polymorphisme dans l'industrie pharmaceutique : le polymorphisme du ritonavir (Nom commercial : Norvir). Molécule découverte en 1992 pour l'inhibition de l'alpha protéase du virus d'immunodéficience humaine (VIH), son importance était alors capitale pour une partie des traitements des personnes séropositives [CHEMBURKAR 00]. L'autorisation de mise sur le marché américain a été faite en décembre 1995 et son obtention en mars 1996. Le produit était formulé sous une capsule semi-solide. En 1998, des lots de production ont échoué les tests de dissolution de l'API dans la formulation, une grande part du ritonavir précipitant dans la formule semi-solide. Des études ont alors montré qu'une nouvelle forme plus stable, une forme nommée forme II, était apparue. Les essais de formulation de la forme II échouant, les laboratoires Abbott étaient sous pression alors qu'ils ne pouvaient plus fournir de stock de leur médicament. Le procédé a été adapté pour contrôler la cristallisation et n'obtenir que la forme II, avec une nouvelle formulation adaptée à cette forme cristalline. Les autorités américaines ont été conciliantes pour autoriser rapidement la nouvelle forme cristalline. Cette expérience illustre qu'ensemencer avec une forme cristalline métastable ne permet pas toujours d'obtenir la forme métastable en fin de cristallisation et qu'il est préférable de s'orienter vers le développement de la forme cristalline la plus stable. Le directeur de la section R&D procédés d'Abbott met alors en garde : *“Dealing with Polymorphism is Potentially Precarious Practice and the Proper way to Play this game is with Patience and Perseverance”* [CHEMBURKAR 00].

De grands groupes pharmaceutiques (Merck, Pfizer,...) utilisent des méthodes de criblage à haut débit dans les premières phases de développement d'un principe actif, elles permettent de préparer des cristaux (si possible) d'un soluté à partir de solvants différents. Un diffractomètre à rayons X balaye de manière automatique chaque essai pour détecter si les phases solides obtenues présentent un cliché de diffraction différent [KLINE 06] [MORISSETTE 04]. L'utilisation du dioxyde de carbone [BADENS 06] sous sa phase supercritique (point critique à 73,8 bars et 304,2 K, densité du fluide de 0,448 g.cm<sup>-3</sup>) permet de travailler avec un fluide aux propriétés physico-chimiques singulièrement différentes des solvants organiques, cela en fait un outil prometteur pour obtenir différentes formes cristallines d'un API. Edwards rapporte ainsi qu'il est possible de générer sélectivement trois formes connues de la carbamazépine en jouant sur les conditions d'atomisation avec du CO<sub>2</sub> supercritique [EDWARDS 01]. Des études récentes ont été menées pour évaluer l'influence des paramètres opératoires des procédés d'atomisation par CO<sub>2</sub> supercritique sur le contrôle des phases cristallines générées [BALTES 07].

### III. Cristallographie

L'analyse par diffraction des rayons X des monocristaux permet de déterminer la structure cristalline des molécules. La connaissance du positionnement tridimensionnel des molécules de soluté dans l'espace cristallin est importante pour comprendre le comportement des cristaux (leur préparation, leur stabilité, ...) et pour déposer un nouveau principe actif pharmaceutique sur le marché. Nous présentons dans cette partie quelques éléments de cristallographie avant d'expliquer ce qu'est l'état amorphe, la relation entre morphologie et faciès et la prédiction de structures cristallines à l'aide d'outils informatiques.

#### III.1. Notions de cristallographie

Les solides cristallins sont un assemblage de réseaux d'atomes, de molécules ou d'ions, qui présentent un ordre à grandes distances [FAURE 03]. Ici, tout atome, tout groupe d'atomes, molécules ou motifs cristallins sont répétés périodiquement, selon les trois directions de l'espace, on parle de tri périodicité. C'est la caractéristique fondamentale qui distingue l'état cristallin des autres états de la matière. Les cristaux de même espèce peuvent être de tailles différentes, mais les angles entre les faces équivalentes sont toujours constants (première loi de la cristallographie de Romé de L'isle). L'état cristallin présente de fortes notions de symétrie [BOISTELLE 96].

Dans un cristal, il est possible de distinguer un motif constitué par un groupe d'atomes. Ce motif se répète périodiquement par translation  $\vec{V} = u.\vec{a} + v.\vec{b} + w.\vec{c}$  où  $\vec{a}$ ,  $\vec{b}$ ,  $\vec{c}$  sont des vecteurs unitaires non coplanaires et u, v, w des nombres entiers [FAURE 03]. Interviennent ensuite des notions de nœuds de réseaux (points où l'on retrouve le même environnement électronique qu'au point d'origine), de maille (tout parallélépipède construit sur des vecteurs  $\vec{V}$ ) et de plan réticulaire (plan dont les intersections avec les trois axes parallèles aux vecteurs  $\vec{a}$ ,  $\vec{b}$ ,  $\vec{c}$  issus du nœud le plus proche sont distantes de ce nœud d'une fraction entière des paramètres a, b et c). La maille élémentaire est définie par un parallélépipède construit sur les 3 vecteurs  $\vec{a}$ ,  $\vec{b}$ ,  $\vec{c}$ . Il n'existe que sept systèmes cristallins construits sur des mailles élémentaires simples (ne contenant qu'un seul nœud par maille) : triclinique, monoclinique, orthorhombique, quadratique, rhomboédrique, hexagonal et cubique [BAUER 04\_A]. Si l'on compte les mailles multiples contenant plus d'un nœud, on peut dénombrer 14 réseaux dits réseaux de Bravais [Fig. 17], avec la nomenclature suivante :

- P : réseau primitif (un nœud par maille)
- C : réseau à faces centrées (2 nœuds par maille)
- I : réseau contenant des nœuds à l'intérieur (Volume centré, 2 nœuds par maille)
- F : réseau toutes surfaces centrées (4 nœuds par maille)
- R : système rhomboédrique qui peut présenter aussi le réseau P.

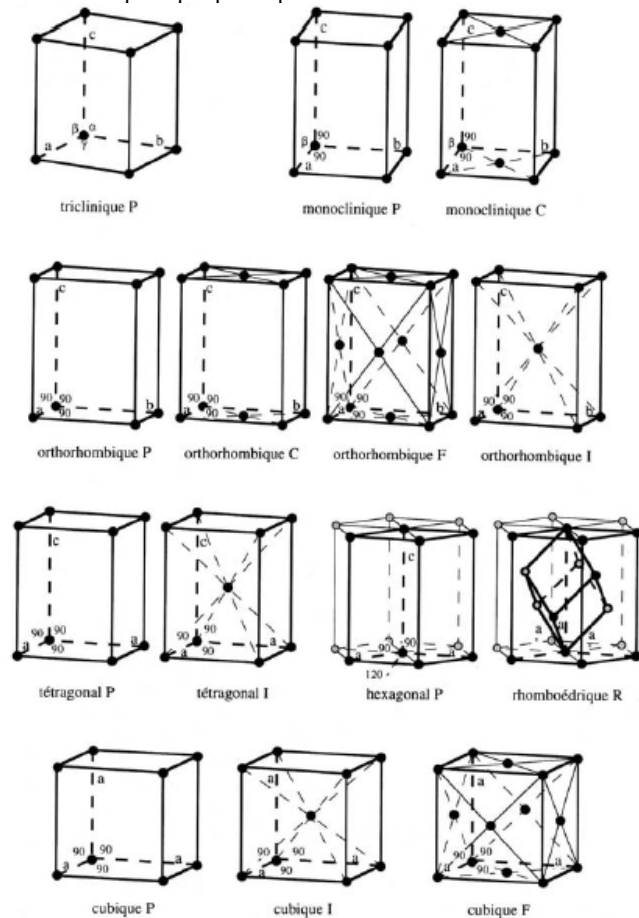


Figure 17 : Les 14 réseaux de Bravais

Il est montré que les réseaux doivent être invariants par rapport aux rotations  $A_n$  et aux roto-inversion  $I_n$ . Les groupes formés par des rotations et/ou des roto-inversions sont des groupes ponctuels [BOUCHET 09]. Ils décrivent la symétrie d'objets de dimensions finies (ce qui explique la symétrie macroscopique des cristaux). On appelle une classe cristalline les groupes ponctuels compatibles avec un réseau cristallin et donc formés par des opérations de rotation et/ou de roto-inversions et de leurs puissances. Les classes cristallines sont au nombre de 32 et sont données en annexe A. Elles sont en rapport avec la symétrie d'orientation.

La symétrie de disposition est quant à elle liée aux groupes d'espace. Ces groupes sont formés entièrement ou en partie par des translations dans l'espace tridimensionnel. À la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, les mathématiciens Fedorov et Schoenflies [BOUCHET 09] ont dénombré 230 groupes d'espace cristallographique. Pour cela, ils ont combiné les 32 groupes ponctuels avec les 14 réseaux de Bravais puis remplacé les axes de rotation et de roto-inversion par des axes hélicoïdaux et les miroirs par des plans de symétrie. L'ensemble des groupes d'espace est donné en annexe B, leur nom décrit les codes internationaux utilisés en cristallographie pour la symétrie (les groupes notés en gras dans l'annexe sont ceux qui peuvent être déterminés sans ambiguïté à partir de la symétrie du diffractogramme et des règles d'extinction).

Les structures cristallines sont enregistrées et référencées selon un ordre précis dans les tables internationales de cristallographie. La CSD (Cambridge Structural Database), accessible avec une licence disponible au CINaM, compte à elle seule en 2010 près de 500.000 structures de petites molécules. La répartition de ces structures par système cristallin permet de connaître le degré d'occurrence de chacun : Triclinique (22,3%), Monoclinique (53,4%), Orthorhombique (20,4%), Tetragonale (2,4%), Trigonal/rhomboédrique (1,1%), Hexagonale (1,2%) et cubique (0,5%). Statistiquement, les groupes d'espace les plus fréquents sont  $P2_{1/n}$  pour le système monoclinique et  $P2_12_12_1$  pour le système orthorhombique [ALLEN 02].

Les espèces polymorphiques, bien qu'étant chimiquement de même nature, n'ont pas les mêmes caractéristiques cristallines. L'exemple des formes I et II du paracétamol [Tableau 3] illustre bien ce propos : les systèmes cristallins sont différents, les paramètres de maille n'ont donc rien à voir [BAUER 04\_A].

Paracétamol	Forme I	Forme II
Formule Chimique	$C_8H_9NO_2$	$C_8H_9NO_2$
Système Cristallin	Monoclinique	Orthorhombique
Groupe d'espace	$P2_{1/n}$	Pbca
Paramètres de maille		
a (en $\text{\AA}^3$ )	7,0939	17,1657
b (en $\text{\AA}^3$ )	9,2625	11,7773
c (en $\text{\AA}^3$ )	11,6570	7,2120
$\beta$ (en $^\circ$ )	97,672	
Volume ( $\text{\AA}^3$ )	759,1	1458,0
Masse volumique (g.cm-3)	1,323	1,377

Tableau 3 : Caractéristiques structurales des formes 1 et 2 du Paracétamol

Enfin, nous pouvons introduire la notion des indices de Miller. Les indices (h, k, l) permettent de nommer une famille de plans réticulaires d'un cristal. Ils correspondent à l'inverse des longueurs découpées sur les axes par le premier plan de la famille qui ne contient pas l'origine de l'espace considéré. L'équation générale d'un plan d'une famille de plans réticulaires est :  $h.u+k.v+l.w-n=0$  avec n un nombre entier variable. Ces 3 indices permettent donc de calculer la distance séparant l'intersection de deux plans consécutifs. La figure 18 montre en bleu où le plan sectionne les axes par rapport aux paramètres de maille d'un système orthorhombique. La droite rouge est la perpendiculaire au plan passant par l'origine.

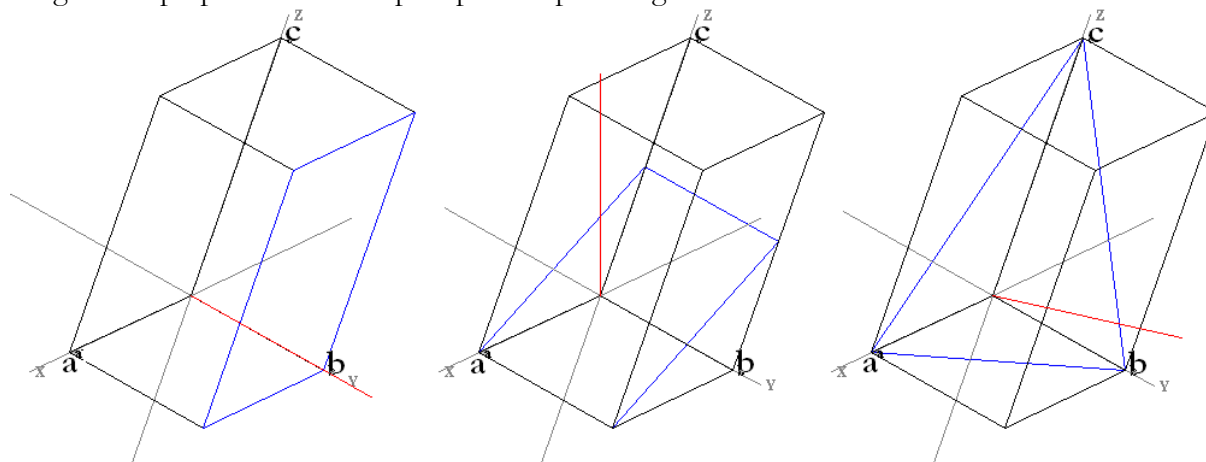


Figure 18 : Représentation respective des plans (0,1,0) (1,0,2) et (1,1,1) dans le cas particulier d'un système orthorhombique

### **III.2. L'état amorphe**

Les structures cristallines sont caractérisées par un ordre intermoléculaire à longue distance, typiquement supérieur à 1000Å. Un solide où n'existe qu'un ordre à courte distance est qualifié d'amorphe, les liaisons interatomiques y sont plus fortes que dans les liquides et assurent la rigidité de l'édifice, sans toutefois former un cristal. L'amorphe correspond à un état intermédiaire entre le cristal et le liquide. Dans la classification de Friedel, le type amorphe n'est caractérisé que par des propriétés scalaires et non par des propriétés vectorielles [BOISTELLE 96]. Le verre est l'exemple le plus connu de solide amorphe, la désorganisation de l'arrangement moléculaire explique pourquoi les vitraux vieillissent mal et coulent au fil du temps. La détermination du taux d'amorphe est essentielle dans l'industrie et en particulier pour la caractérisation physico-chimique des polymères. L'amorphe peut s'avérer intéressant dans le domaine pharmaceutique au cas où aucune phase cristalline de l'API ne présenterait pas une solubilité satisfaisante [BAUER 04\_A]. L'amorphe est à considérer comme une phase à part entière, avec des propriétés physico-chimiques différentes de celles d'une phase cristalline tout autant que deux phases polymorphiques peuvent avoir des propriétés physico-chimiques éloignées.

Il est possible de quantifier le taux de produit amorphe dans une poudre grâce à un appareil mesurant la vapeur de sorption parmi d'autres techniques. Si la diffraction des poudres par rayons X ne donne pas un résultat plus précis qu'à 10% près (l'amorphe est caractérisé par une ligne de base bombée sur un cliché RX), Giron utilise la microcalorimétrie pour quantifier à 1% près seulement la partie amorphe d'une poudre [GIRON 97]. Pour cela elle analyse un pic exothermique après une transition vitreuse, caractéristique de la cristallisation de la partie amorphe de l'API MKS 492. Aubuchon utilise la calorimétrie différentielle à balayage pour déterminer le saut de la ligne de base avant et après la température de transition vitreuse pour quantifier la partie amorphe du lactose [AUBUCHON 07]. L'obtention du solide par cristallisation trop rapide, lyophilisation ou dans un ballon évaporateur aboutit en général à une quantité importante d'amorphe, mais le traitement des poudres à la sortie du réacteur a une importance capitale sur la qualité cristalline du produit. L'agitation dans un filtre sécheur et la température de ce filtre, ou encore le broyage sont tout autant d'étapes où le cristal peut se transformer en amorphe ou encore en une autre phase cristalline. Descamps montre que le broyage en dessous de la température de transition vitreuse du lactose et de 2 APIs provoque une amorphisation importante. Le broyage au dessus de  $T_g$  pour le sorbitol provoque plutôt une transformation solide/solide [DESCAMPS 07].

### **III.3. Les défauts cristallins**

Un cristal ne peut être considéré comme une unité de base répétée à l'infini sans interruption. Il possède des défauts qui peuvent influencer les propriétés physico-chimiques du cristal. On différencie les classes de défauts selon les dimensions spatiales, dont:

- Les défauts provenant de la présence d'une substance étrangère dans le cristal. Ces défauts ponctuels qui correspondent à l'absence d'une molécule sur un site où elle devait être présente (lacune, défaut de Schottky) ou au contraire la présence d'une molécule supplémentaire dans la maille (défaut de Frenkel). Ces défauts sont représentés dans la figure 19 [MARCHAL 05] (dim. 0)
- Les défauts provenant des dislocations pendant la croissance cristalline, provenant d'un déplacement relatif d'un plan réticulaire par rapport à un autre. La dislocation coin résulte de l'insertion d'un demi-plan atomique supplémentaire dans la structure. La dislocation vis est due à un cisaillement dans le cristal [Fig. 8] (dim.1)
- Les défauts d'empilement, de dimension 2
- Les joints de grain, de dimension 3

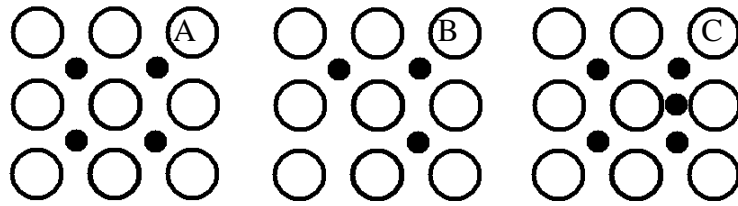


Figure 19 : Représentations d'une structure parfaite (a), d'une structure avec un défaut de Schottky (b) puis d'une structure avec un défaut de Frenkel (c)

### III.4. Morphologie et faciès

Il est important de bien choisir ses mots quand on parle de cristallisation. Ainsi, on rappellera que la morphologie d'un cristal est représentée par l'ensemble des faces qui peuvent apparaître au cours de sa croissance. Le faciès, ou habitus, d'un cristal est sa forme générale, qu'elle soit sous forme d'aiguilles, de baguettes, de plaquettes ou encore de cubes. La figure 20 permet de réaliser qu'à différentes échelles, on peut faire des conclusions différentes sur la forme d'un cristal. Les cristaux A et C sont très proches, en forme de bâtonnets, ils ont le même faciès. Mais à regarder de plus près, le cristal C a des faces terminales pyramidales, identiques au cristal B : ils ont la même morphologie alors que leur faciès est différent, car le cristal B ressemble plus à une plaquette.

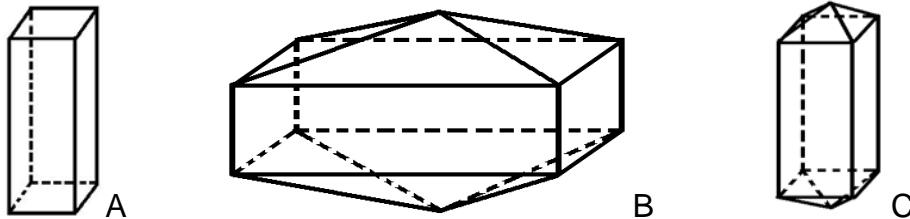


Figure 20 : Monocristaux A B et C

La forme de croissance est contrôlée par les cinétiques de croissance des faces. Fréquemment, certaines faces ne seront en fait pas visibles, car leur vitesse de croissance est trop élevée par rapport à celle de ses faces voisines, qui à terme, prédomineront [VEESLER 05]. On peut noter que la notion de faciès contient la notion de développement des faces.

### III.5. Prédiction de la morphologie cristalline

La croissance des cristaux est un phénomène cinétique contrôlé par la croissance des faces les plus lentes. Si l'on considère que les faces les plus lentes à croître, les faces planes (faces F sur la figure 7), se retrouvent seules sur la morphologie de croissance (sans défaut), les faces à considérer sur un cristal théorique sont seulement les faces F. À partir de là, la prédiction de la morphologie et du faciès cristallin détermine quelles sont les faces de type F (modèle BFDH) puis les vitesses de croissance relative de toutes les faces (modèle des Énergies d'attachement). Il faut bien réaliser que ces modèles fonctionnent comme si le cristal ne poussait pas dans un solvant, mais dans le vide. Pour cela, on fait abstraction pour le moment des conditions de cristallisation. La connaissance de la structure cristalline est bien entendu nécessaire avant de faire une prédiction.

- Le modèle BFDH (Bravais Friedel Donnay Harker) part de considérations géométriques (distance inter réticulaire  $d_{hkl}$ ) et des éléments de symétrie des groupes d'espace pour prédire une morphologie. Deux hypothèses sont effectuées pour cette prédiction, la première consiste à dire que les forces de cohésion dans le plan de clivage sont plus fortes que celles perpendiculaires à celui-ci et que ces forces sont les mêmes pendant la

croissance. La seconde hypothèse est que ces forces, pour une face, sont d'autant plus importantes que les plans réticulaires sont denses ( $d_{hkl}$  petit) [DONNAY 37].

- Le modèle des énergies d'attachement ( $E_{att}$ ) ne prend pas seulement en compte les caractéristiques géométriques, mais quantifie les interactions intermoléculaires pour prendre en compte la croissance des faces et prédire une morphologie cristalline [HARTMANN 80]. L'énergie d'attachement correspond à l'énergie dégagée lorsqu'une nouvelle couche est déposée sur le cristal. La vitesse de croissance relative à chaque face étant proportionnelle à cette énergie. La connaissance des critères géométriques régit par le modèle BFDH et ce modèle des énergies d'attachement permet, à partir des informations sur la maille cristalline, de prédire quelles sont les faces les plus probables à pousser [TAULELLE 07].

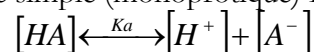
Ces modèles se différencient le fait que l'importance morphologique est proportionnelle à l'inverse de la distance inter réticulaire pour le modèle BFDH et l'inverse des énergies d'attachement pour le modèle  $E_{att}$ . Ces outils de prédiction sont intéressants à utiliser à partir du moment où l'on a pu obtenir une structure cristalline avec l'analyse d'un monocristal ou avec l'étude *ab initio* d'un cliché de poudres de bonne qualité.

## IV. Les sels pharmaceutiques

Il y a 30 ans, plus de deux tiers des APIs sur le marché étaient des sels, ou des électrolytes, c'est à dire des espèces chimiques présentes en solution aqueuse sous forme d'ions [BERGE 77]. Ce chiffre n'a fait qu'augmenter au cours des années à cause de la complexité croissante des molécules sortant de la recherche pharmaceutique. La formation d'un sel est un moyen de modifier les propriétés d'un principe actif de manière importante, en particulier la biodisponibilité. Celle-ci nécessite aussi une bonne connaissance des équilibres d'ionisation de la molécule pour envisager de contrôler au mieux la solubilité puis la cristallisation du sel.

### IV.1. Équilibres acido-basiques en solution aqueuse

Selon la théorie de Brönsted, les électrolytes sont séparés entre acides et bases, les acides étant des entités pouvant libérer un ou des protons, les bases pouvant accepter ces protons. La dissociation d'un acide organique simple (monoprotique) HA s'écrit [DUMAS 03]:



La constante d'équilibre  $K_a$  de cette réaction s'écrit :  $K_a = \frac{[H^+] * [A^-]}{[HA]}$  [Eq. 43] avec :

$$pK_a = -\log(K_a) \text{ [Eq. 44].}$$

Après dissolution de l'espèce acide HA dans un milieu aqueux, la concentration totale de l'espèce A, sous sa forme acide ou basique s'écrit :  $[A_T] = [AH] + [A^-]$  [Eq. 45]. Ainsi :

$$K_a * ([A_T] - [A^-]) = [H^+] * [A^-] \text{ [Eq. 46]} \quad \text{puis} \quad [A^-] = \frac{[K_a] * [A_T]}{K_a + [H^+]} \text{ [Eq. 47].}$$

Il est possible de définir les fractions d'espèces acides  $f_{HA}$  et ionisées  $f_{A^-}$  dans la solution :

$$f_{A^-} = \frac{[A^-]}{[A_T]} = \frac{K_a}{[H^+] + K_a} \quad \text{et} \quad f_{AH} = 1 - f_{A^-} = \frac{[AH]}{[A_T]} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \text{ [Eq. 48] et [Eq. 49]}$$

Dans le cas d'un acide fort,  $\text{pH} = -\log([\text{H}^+])$ , nous pouvons alors simplifier ces expressions par :

$$f_{A^-} = \frac{1}{1 + 10^{\text{pK}_a - \text{pH}}} \quad [\text{Eq. 50}] \quad \text{et} \quad f_{AH} = \frac{1}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_a}} \quad [\text{Eq. 51}]$$

La même démarche peut être effectuée pour un acide polyprotique, par exemple un diacide :

$$f_{H_2A} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_{a1} + \frac{K_{a1} * K_{a2}}{[\text{H}^+]}} \quad [\text{Eq. 52}] \quad ; \quad f_{HA^-} = \frac{K_{a1}}{[\text{H}^+] + K_{a1} + \frac{K_{a1} * K_{a2}}{[\text{H}^+]}} \quad [\text{Eq. 53}]$$

$$f_{A^{2-}} = \frac{K_{a1} * K_{a2}}{[\text{H}^+] + \left( [\text{H}^+] + K_{a1} + \frac{K_{a1} * K_{a2}}{[\text{H}^+]} \right)} \quad [\text{Eq. 54}]$$

Le diagramme de distribution des espèces  $f_i=f(\text{pH})$  est joint en figure 21 pour le *Valsartan*, API antihypertenseur, diacide avec  $\text{pK}_{a1} = 3,9$  et  $\text{pK}_{a2} = 4,73$  [STAHL 02].

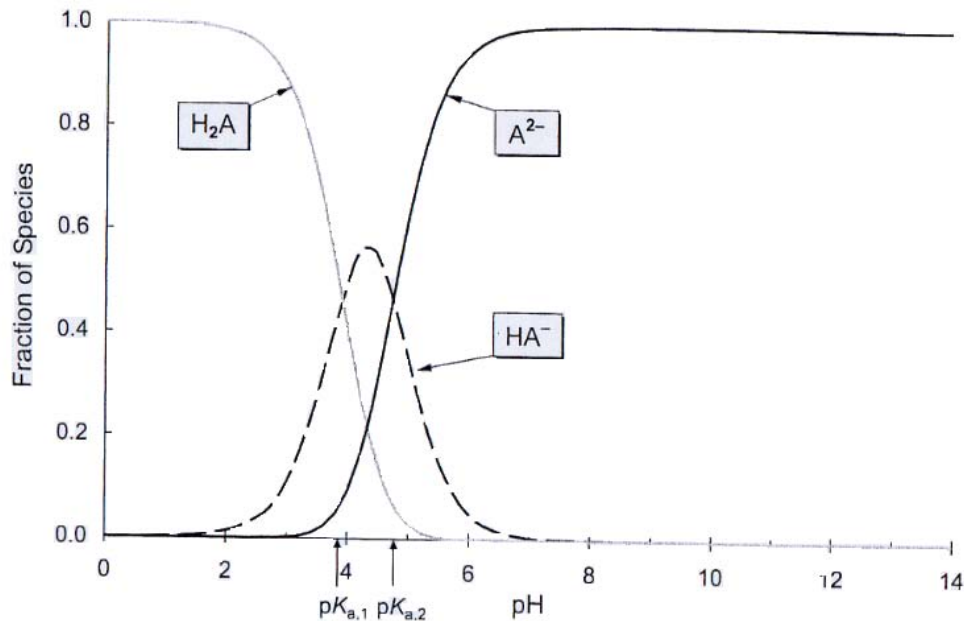
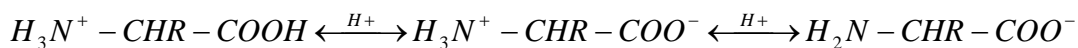


Figure 21 : Fraction d'espèce en fonction du pH : exemple d'un diacide, le *Valsartan* [STAHL 02]

Un raisonnement équivalent est applicable au cas où l'électrolyte contiendrait des groupes à la fois acides et basiques. Les espèces zwitterions sont des cas particuliers où la charge totale de la molécule est nulle alors que ses sites acides et basiques sont ionisés. Les zwitterions les plus connus sont les acides aminés :



La détermination du ou des  $\text{pK}_a$  d'un sel est réalisable par titrage du produit dissous dans l'eau avec un acide ou une base forte. Une liste de  $\text{pK}_a$  à 25°C dans l'eau pour à peu près 150 sels de principe actif est donnée dans "The extra pharmacopoeia" alors que Rived donne une liste de  $\text{pK}_a$  de produits organiques plus classiques à différentes températures [RIVED 98]. Enfin, le livre "pK<sub>a</sub> : prediction for organic acids and bases" s'avère être un outil particulièrement utile pour prédire grossièrement le  $\text{pK}_a$  d'une molécule à une température donnée voire dans un solvant donné [PERRIN 81]. Nous avons utilisé le logiciel MarvinSketch ®Chemaxon pour calculer le  $\text{pK}_a$  de nos molécules organiques en fonction de la température, en effet le  $\text{pK}_a$  étant calculé à partir de la concentration, il est aussi fonction des activités, et ainsi de la température comme c'est expliqué dans la partie suivante.

## IV.2. Sels et coefficients d'activité

En fait,  $\text{pH} = -\log(a_{\text{H}^+}) = -\log(\gamma_{\text{H}^+} * [\text{H}^+])$  [Eq. 54] où  $a_{\text{H}^+}$  est l'activité,  $\gamma_{\text{H}^+}$  le coefficient d'activité et  $[\text{H}^+]$  la concentration. Dans le cas où les solutions sont peu concentrées, le coefficient d'activité de  $\text{H}^+$  est voisin de 1, activité et concentration sont alors confondues.

L'activité d'une espèce ionique  $a_i$  dissoute s'obtient en calculant :  $a_i = \gamma_i * \frac{C_i}{C^0}$  [Eq. 55]

- $\gamma_i$  le coefficient d'activité du soluté  $i$
- $C^0$  la concentration standard (1 mol/L)

Le coefficient d'activité  $\gamma_i$  se calcule par l'intermédiaire de la force ionique  $I$  de la solution [BURGOT 06]:

$$I = \frac{1}{2} \sum_i (c_i * z_i^2) \quad [\text{Eq. 56}]$$

- $z_i$  est le nombre de charges portées par l'élément  $i$

La mise en solution d'un mono-chlorhydrate s'écrit :  $\text{BH}, \text{CL} \rightarrow \text{BH}^+ + \text{Cl}^-$

Donc la force ionique du produit dans l'eau est :

$$I = \frac{1}{2} \sum_i (c_i * z_i^2) = \frac{1}{2} (C * 1^2 + C * (-1)^2) = C \quad [\text{Eq. 57}]$$

La mise en solution d'un di-chlorhydrate s'écrit équation :  $\text{BH}_2, 2\text{CL} \rightarrow \text{BH}_2^{2+} + 2\text{Cl}^-$

Donc la force ionique du produit dans l'eau est :

$$I = \frac{1}{2} \sum_i (c_i * z_i^2) = \frac{1}{2} (C * 2^2 + 2C * (-1)^2) = 3C \quad [\text{Eq. 58}]$$

À partir de là, il est possible de calculer le coefficient d'activité moyen d'espèces ioniques dissoutes dans une solution aqueuse. Il existe plusieurs corrélations selon la concentration de la solution [MIOMANDRE 05] [ZEMAITIS 86] [BATES 73], données dans le tableau 4.

#	$-\log(\gamma)$	Validité	Auteurs
1	$A z_+z_- \sqrt{I}$	< 10 <sup>-3</sup> M	Debye-Hückel
2	$\frac{A z_+z_- \sqrt{I}}{1 + Ba\sqrt{I}}$	< 10 <sup>-2</sup> M	Debye-Hückel
3	$\frac{A z_+z_- \sqrt{I}}{1 + Ba\sqrt{I}} + B'I$	1 M	Hückel
4	$\frac{A z_+z_- \sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}}$	< 0,1 M	Güntelberg
5	$\frac{A z_+z_- \sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + B'I$	< 0,5 M	Guggenheim
6	$A z_+z_-  \left[ \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0,21 \right]$	< 0,2 M	Davies
7	$A z_+z_-  \frac{\sqrt{I}}{1 + 1,5\sqrt{I}}$	< 0,2 M	Scatchard

Tableau 4 : Différents modèles pour le calcul du coefficient d'activité

- A, B, B' sont les constantes dépendantes de T et  $\epsilon_r$
- a le rayon ionique de Debye en mètres

$$A = \frac{e^2 B}{8\pi\epsilon_r\epsilon_0 k_B T (\ln 10)} \quad [\text{Eq. 59}] \quad \text{et} \quad B = F \sqrt{\frac{2000}{\epsilon_r\epsilon_0 RT}} \quad [\text{Eq. 60}]$$

- e : Charge élémentaire  $e = 1,602 \cdot 10^{-19}$  A.s
- $\epsilon_0$  : Constante diélectrique (permittivité du vide)  $\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12}$  A<sup>2</sup>.s<sup>4</sup>.kg<sup>-1</sup>.m<sup>-3</sup>
- $\epsilon_r$  : Constante diélectrique du solvant considéré

$$A = 3,628 \cdot 10^{-6} \cdot \frac{B}{\epsilon_r} \cdot T = 0,522 \text{ mol}^{1/2} \cdot \text{L}^{-1/2} \text{ à } 20^\circ\text{C} \text{ dans l'eau } (\epsilon_r = 78,5)$$

$$B = 5,031 \cdot 10^{11} \sqrt{\frac{1}{\epsilon_r} \cdot T} = 3,316 \cdot 10^9 \text{ mol}^{1/2} \cdot \text{L}^{-1/2} \cdot \text{m}^{-1} \text{ à } 20^\circ\text{C} \text{ dans l'eau } (\epsilon_r = 78,5)$$

$\epsilon_r$  n'étant presque pas dépendant de la température dans la gamme des températures d'étude, nous considérons  $\epsilon_r$  comme constante pour le solvant considéré. Néanmoins, le calcul de B et de A devrait être fait pour chaque variation de température. En effet, dans l'eau, à 60°C :  $A = 0,431 \text{ mol}^{1/2} \cdot \text{L}^{-1/2}$  et  $B = 3,111 \cdot 10^9 \text{ mol}^{1/2} \cdot \text{L}^{-1/2} \cdot \text{m}^{-1}$ .

Nous utilisons pour le moment les coefficients d'activité pour les relations 1, 4, 6 et 7 [Tableau 4]. Notons au passage que Helen Jones a utilisé une relation du type 5 [Tableau 4] avec  $A=0,5$  et  $B'=-0,3$  sans préciser l'origine de ce choix [JONES 06]. Utilisons cette valeur de B' pour 20°C. Ces cinq corrélations sont utilisées pour relier le coefficient d'activité à la concentration du soluté jusqu'à 0,4 mol/L dans la figure 22.

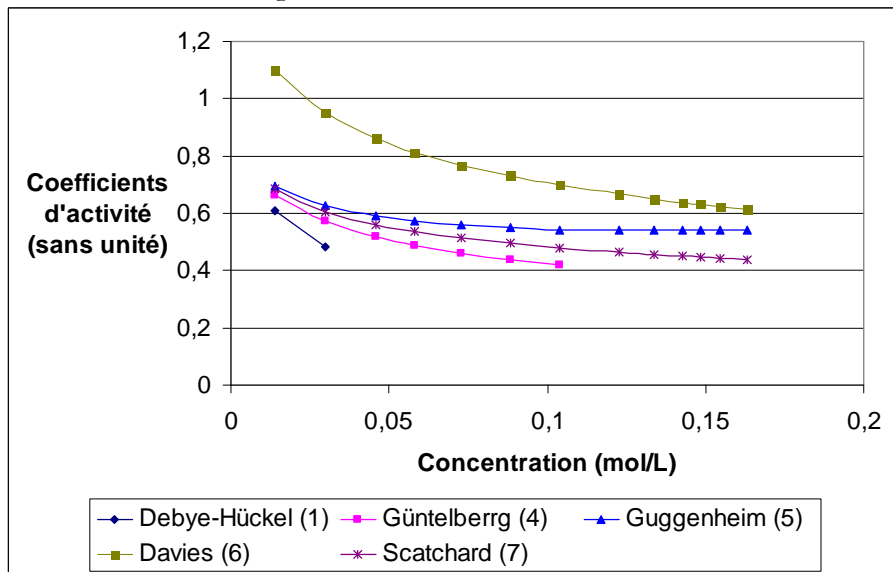


Figure 22 : Calcul du coefficient d'activité dans l'eau à 20°C

Les limites des concentrations étudiées sont bien sûr déterminantes pour le modèle choisi. Aussi, nous allons exclure le modèle de Davies, pas adapté aux concentrations faibles, surtout inférieures à 0,1 mol/L, ainsi que le modèle de Guggenheim, au coefficient d'activité croissant après 0,15 mol/L. Le modèle de Debye-Hückel, le plus simple, semble avoir un profil peu adapté aux concentrations supérieures à  $10^{-3}$  mol/L comme le domaine de validité le précisait. Les deux modèles restants ont des domaines de validité limités respectivement à 0,1 et 0,2 mol/L. Si nous travaillons à des concentrations supérieures, il serait bon de préférer le modèle de Scatchard (<0,2 mol/L) tout en gardant un regard critique sur ces valeurs.

### IV.3. Solubilité des sels en milieu aqueux

La solubilité d'un soluté dans un solvant est caractérisée par la nature de ce solvant ainsi que la température du milieu. L'utilisation d'un sel implique d'autres paramètres jouant sur la solubilité : le pH du milieu d'étude, le ou les  $pK_a$  de l'acide et de la base (couple principe actif / ion conjugué) ainsi que le produit de solubilité  $K_{sp}$  du sel. La connaissance de l'évolution de la solubilité en fonction du pH est essentielle pour des questions de biodisponibilité de l'API. Le pH de l'estomac étant très acide, ne considérer la stabilité du sel qu'au pH neutre de 7 serait une erreur importante [SERA]JUDDIN 84].

En pratique, la détermination des profils pH/solubilité se fait de la manière suivante : A une température donnée, une solution saturée d'acide libre, de base libre ou encore de sel est préparée dans de l'eau déminéralisée. Après addition d'une quantité connue d'acide fort ou de base forte, l'équilibre chimique est atteint après agitation, le pH de la suspension est mesuré et une partie de la phase liquide est prélevée pour titrage afin de connaître la solubilité. Les méthodes de calcul du pH sont très bien détaillées par Dumas [DUMAS 03].

Après avoir parlé du produit de solubilité, trois exemples simples de profils pH/solubilité tirés de la littérature seront présentés ci-dessous.

#### IV.3.1. Le produit de solubilité

Soit un solide ionique ( $C^+A^-$ ), pour se dissoudre, le soluté doit se disperser dans le solvant sous forme d'ions solvatés. Pour cela, les interactions entre les ions du soluté ( $C^+$  et  $A^-$ ) et les molécules plus ou moins polaires du solvant doivent être capables de briser la structure du cristal ionique. Le nombre de molécules solvatant un ion dépend de la charge de cet ion [BRISSET 05].

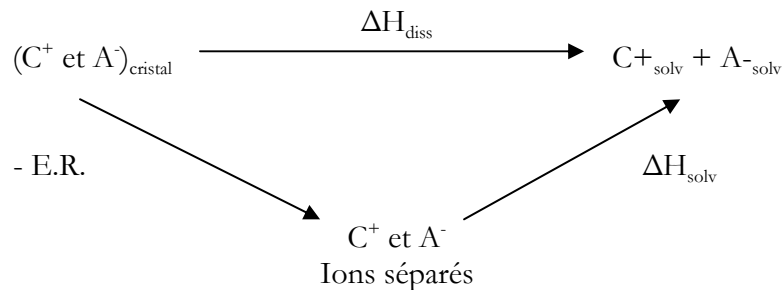


Figure 23 : Cycle thermodynamique de dissolution d'un solide ionique

Le schéma de la figure 23 permet de visualiser la relation entre l'enthalpie de dissolution  $\Delta H_{diss}$  du cristal à l'énergie réticulaire  $E.R.$  pour isoler les ions en milieu gazeux ainsi qu'à l'enthalpie de solvatation  $\Delta H_{solv}$ :

$$\Delta H_{diss} = \Delta H_{solv} - E.R. \quad [\text{Eq. 61}]$$

L'enthalpie de dissolution représente la compétition entre les liaisons à l'intérieur du solide ionique et les liaisons ion-solvant. Les phénomènes de cristallisation ou de dissolution dépendent de la variation d'enthalpie libre :

$$\Delta G_{diss} = \Delta H_{diss} - T * \Delta S_{diss} \quad [\text{Eq. 62}]$$

- Si  $\Delta G_{diss} > 0$ , il y a cristallisation
- Si  $\Delta G_{diss} < 0$ , il y a dissolution
- Si  $\Delta G_{diss} = 0$ , il y a un équilibre

Ainsi  $(C^+A^-) \leftrightarrow C^+_{solv} + A^-_{solv}$  où les espèces ioniques  $C^+_{solv}$  et  $A^-_{solv}$  coexistent avec le solide. La variation d'enthalpie libre est reliée aux concentrations des ions solvatés  $[A^-]$  et  $[C^+]$  par l'équation 63 avec  $[C+A^-] = 1$  (solide pur). A l'équilibre,  $\Delta G=0$  et la variation d'enthalpie libre standard  $\Delta G^0$  s'écrit selon l'équation 64 avec  $K_{sp}$  est le produit de solubilité:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \left( \frac{[A^-][C^+]}{[C+A^-]} \right) \quad [\text{Eq. 63}] \quad [A^-][C^+] = e^{\left(\frac{-\Delta G^0}{RT}\right)} = K_{sp} \quad [\text{Eq. 64}]$$

$$\text{Dans le cas général : } (A_a C_c) \leftrightarrow aA^{c-} + cC^{a+} \Rightarrow K_{sp} = [A^{c-}]^a [C^{a+}]^c \quad [\text{Eq. 65}]$$

Les équilibres de cristallisation-dissolution mettant en jeu des composés peu solubles sont fréquemment accompagnés de réactions secondaires (acide base dans notre cas) qui peuvent les déplacer dans un sens ou dans l'autre. Dans ce cas là, la solubilité est définie par la concentration totale du précipité qui est passé en solution, en contraste avec la solubilité intrinsèque d'un élément.

Le produit de solubilité est une fonction de la température et en réalité il s'exprime en fonction des activités et non des concentrations, en particulier dans les milieux concentrés. La correction par les coefficients d'activité peut s'avérer souvent nécessaire.

### IV.3.2. Profil de solubilité d'un acide faible

Le flurbiprofène [Fig. 24] est un acide faible avec un hydrogène labile au niveau de la fonction acide carboxylique. Il présente un comportement classique des mono acides vis-à-vis de son profil pH/solubilité. Ce produit est salifié avec de la soude pour faire un sel de sodium [WERMUTH 96].

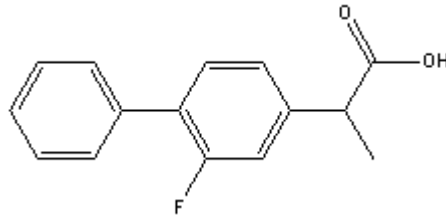


Figure 24 : Molécule du flurbiprofène

Le profil de solubilité, donné en figure 25, se compose de deux parties distinctes par la nature du solide présent à l'équilibre. Dans la première partie ( $\text{pH} < 7,3$ ), le solide présent dans la solution saturée est la forme acide de la molécule. La solubilité totale  $C_s$  du produit s'écrit :

$$C_s = [HA] + [A^-] = S_0 \left( 1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right) \quad [\text{Eq. 66}] \quad \text{avec } [A^-] = \frac{HA * K_a}{H^+} \quad [\text{Eq. 67}]$$

Où  $S_0$  est la solubilité intrinsèque de la forme acide,  $[HA]$  et  $[A^-]$  les concentrations des formes acides et ionisées en solution à l'équilibre et  $K_a$  la constante de dissociation de l'acide à température donnée. A partir du pH où le solide présent à l'équilibre est le sel et non plus l'acide, la solubilité est gouvernée en plus par le produit de solubilité  $K_{sp} = [Na^+][A^-]$  [Eq. 68] et la solubilité totale a pour expression :

$$C_s = \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) * \sqrt{K_{sp}} \quad [\text{Eq. 69}]$$

Le pH délimitant ces 2 parties s'appelle  $pH_{max}$  et est discuté dans la partie IV.3.5.

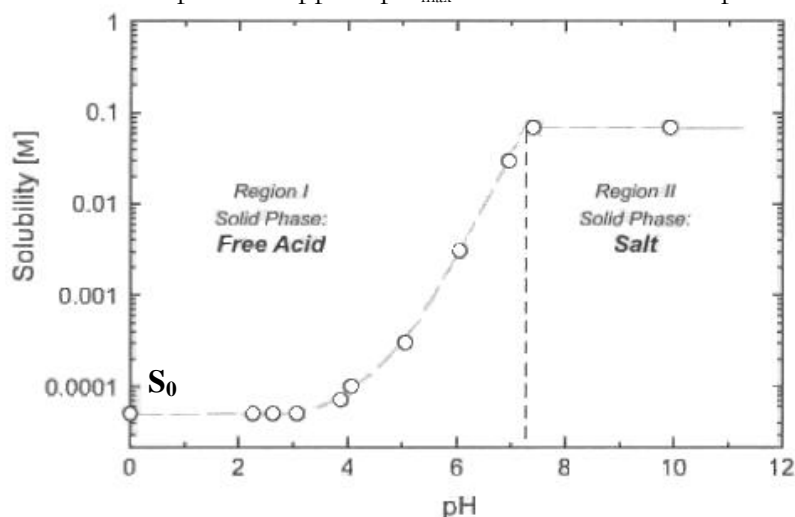


Figure 25 : profil pH/solubilité du Flurbiprofène [WERMUTH 96]

### IV.3.3. Profil de solubilité d'une base faible

Le dexoadrol est une base faible avec un site amine secondaire dont le doublet d'électrons peut attirer un proton et son contre-ion. La forme chlorhydratée du *Dexoadrol* [Fig. 26] est la forme commercialisée [WERMUTH 96].

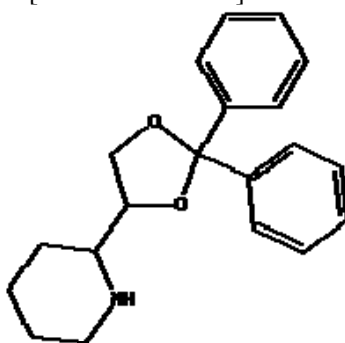


Figure 26 : Molécule du dexoadrol

Là aussi, le profil pH/solubilité présente deux parties séparées par le  $pH_{max}$  [Fig. 27]. Au dessus de  $pH=6,7$ , le solide à l'équilibre dans la solution saturée est la base libre. La solubilité totale s'écrit :

$$C_s = [BH^+] + [B] = S_0 \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) \quad [\text{Eq. 70}] \quad \text{avec} \quad K_a = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} \quad [\text{Eq. 71}]$$

Avec  $S_0$  la solubilité intrinsèque de la base libre. En dessous du  $pH_{max}$ , la solubilité est régie par le produit de solubilité :

$$C_s = \left( 1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right) * \sqrt{K_{sp}} \quad [\text{Eq. 72}] \quad \text{avec} \quad K_{sp} = [BH^+] * [Cl^-] \quad [\text{Eq. 73}]$$

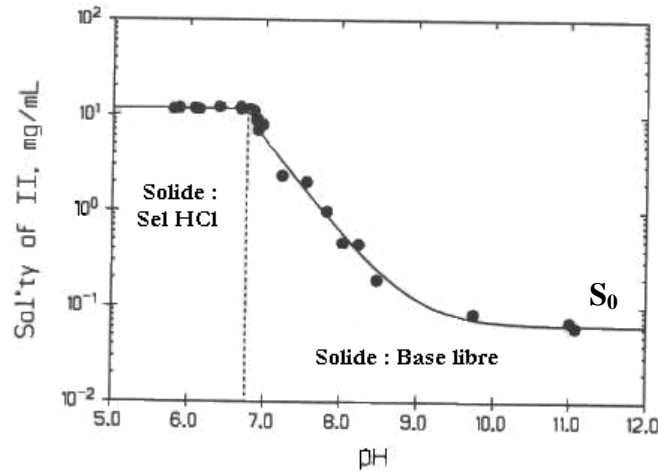
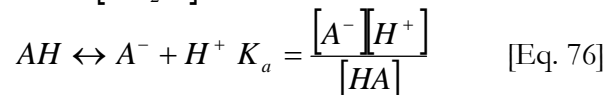
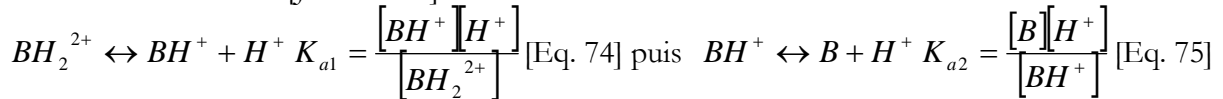


Figure 27 : profil pH/solubilité du dexoxadrol [WERMUTH 96]

Kramer montre pour plusieurs sels de chlorhydrate de monobase que la forme du profil Solubilité/pH est surtout sensible à la variation de solubilité de la base faible. La solubilité du chlorhydrate étant en fin de compte peu dépendante du pH [KRAMER 72]. Déplacer le profil de solubilité vers de plus hauts pH (afin d'avoir une solubilité importante aux bas pH) est souvent recherché, un travail sur le choix du sel (expliqué dans la figure 29) et sur la formulation du produit sont importants pour atteindre cet objectif.

#### IV.3.4. Profil de solubilité d'une dibase faible

Dans le cas théorique d'une molécule avec deux sites basiques que l'on désire salifier avec 2 molécules d'acide pour obtenir un sel de diacide  $[BH_2, A_2]$ , les équilibres chimiques s'expriment de la manière suivante [JONES 05]:



La réaction de salification pourrait s'écrire :  $B + 2AH \leftrightarrow 2A^- + BH_2^{2+} \leftrightarrow [BH_2, A_2]$

La solubilité totale vaut alors :  $C_s = [BH_2^{2+}] + [BH^+] + [B] = \frac{1}{2}([AH] + [A^-])$  [Eq. 77]

Le produit de solubilité est  $K_{sp} = [A^-]_{eq}^2 [BH_2^{2+}]_{eq}$  [Eq. 78]

A l'équilibre stœchiométrique :  $[BH_2^{2+}]_{eq} = \frac{1}{2}[A^-]_{eq} = S$  [Eq. 70] d'où  $K_{sp} = 4 * C_s^3$  [Eq. 79]

$$\text{Ainsi, } C_s = \left\{ \frac{1}{4} * K_{sp} * \left( \frac{K_{a1} * K_{a2}}{[H^+]^2} + \frac{K_{a1}}{[H^+]} + 1 \right) * \left( \frac{[H^+]}{K_a} + 1 \right)^2 \right\}^{1/3} \quad [\text{Eq. 80}]$$

La figure 28 est dessinée pour les valeurs particulières de  $pK_a$  de l'acide égale à 3, des  $pK_a$  de la dibase de 7 et 9 et  $K_{sp} = 0,1 \text{ mol}^3 \cdot \text{dm}^{-9}$  (ligne pleine). Elle permet de voir que la réduction du produit de solubilité à  $K_{sp} = 0,0001 \text{ mol}^3 \cdot \text{dm}^{-9}$  (ligne hachurée) rend le sel beaucoup moins soluble [JONES 05].

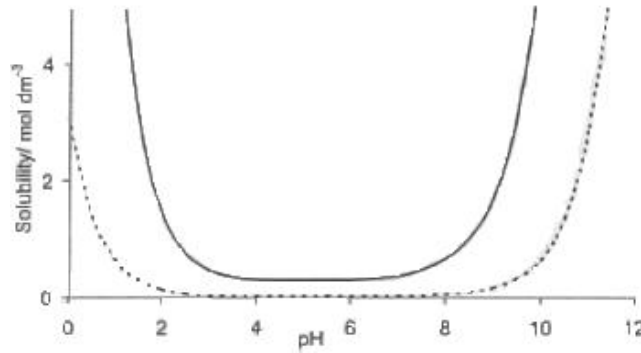


Figure 28 : profil pH/solubilité d'un sel de di-base [JONES 05]

Néanmoins, ces calculs doivent tous être corrigés par les activités pour plus de précision :

$$C_s = \left\{ \frac{1}{4} * K_{sp} * \left( \frac{K_{a1} * K_{a2}}{[H^+]^2 * \gamma_{H^+}} + \frac{K_{a1}}{[H^+] * \gamma_{H^+}} + 1 \right) * \left( \frac{[H^+] * \gamma_{H^+}}{K_a} + 1 \right)^2 \right\}^{1/3} \quad [\text{Eq. 81}]$$

Une méthode générale de calculs pour la solubilité d'une molécule à multiples sites acides ou multiples sites basiques est donnée par Sacchetti [SACCHETTI 00].

### IV.3.5. Le $pH_{\max}$

Le  $pH_{\max}$  définit la limite entre les domaines de stabilité des phases solides. La connaissance des équations  $S=f(pH)$  permet de calculer la valeur de  $pH_{\max}$ . Dans le cas d'un sel de base faible :

$$pH_{\max} = pK_a + \log \left( \frac{S_0}{\sqrt{K_{sp}}} \right) \quad [\text{Eq. 82}]$$

Ainsi, la modification du  $pH_{\max}$  peut se faire en jouant sur le  $pK_a$ , la solubilité intrinsèque ou le produit de solubilité [Fig. 29].

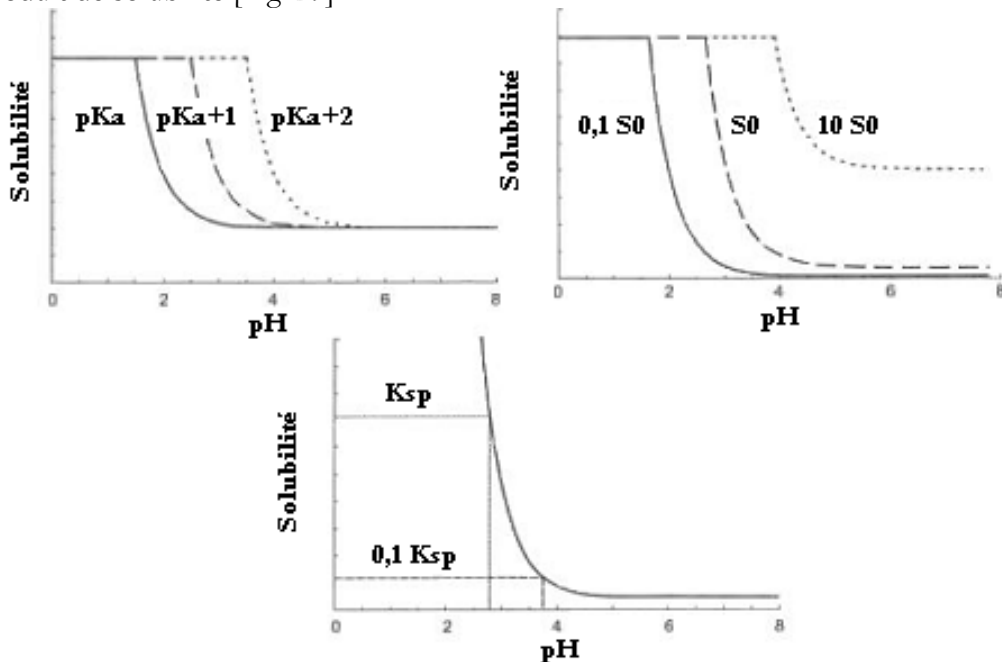


Figure 29 : Impact du  $pK_a$ , de  $S_0$  et du  $K_{sp}$  sur le  $pH_{\max}$

Une difficulté majeure pour déterminer la solubilité d'un sel est la conversion partielle du sel dans l'eau (hydrolyse) sous forme d'acide libre ou de base libre. Aussi, il est important de bien identifier quelle est la forme solide à l'équilibre pour interpréter les courbes pH/solubilité. D'autre part, si la solution contient des ions identiques aux ions formant le solide ionique (le contre ion en particulier), la solubilité du produit sera partiellement réduite par effet d'ions communs [SERAJUDDIN 85].

#### **IV.4. Solubilité dans les solvants non aqueux**

Alors que de nombreux travaux sur les sels ont été réalisés dans les milieux aqueux, les publications sont bien plus rares pour les milieux non aqueux, qui représentent majoritairement les solvants de cristallisation de principes actifs. Aussi, il est nécessaire de déplacer la théorie vue précédemment d'une échelle à une autre en termes de pH [DELCOURT 01].

Un solvant organique peut avoir une influence forte sur plusieurs points dont :

- L'augmentation de la solubilité de l'espèce non ionisée (espèce neutre, acide ou base libre)
- La réduction de la protonation de la molécule
- La réduction de la solubilité du sel formé

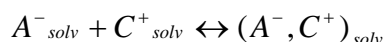
L'utilisation d'un solvant mixte (eau / solvant organique) permet d'augmenter le  $\text{pH}_{\text{max}}$  d'une espèce basique à cause de l'augmentation de la solubilité intrinsèque du produit. A l'inverse, le  $\text{pH}_{\text{max}}$  d'une espèce acide sera diminué dans un solvant mixte (également appelé système co-solvant). Néanmoins, ceci n'est vrai que si le  $\text{pK}_a$  de l'espèce considérée reste inchangé. En effet, l'utilisation d'un solvant organique peut modifier l'équilibre acido-basique, l'ionisation des molécules, en réduisant la constante diélectrique du solvant. Par exemple, les alcools réduisent la force des acides et des bases (réduction de 0,5 sur l'échelle des  $\text{pK}_a$  dans un milieu 60/40 MeOH/eau) [DELCOURT 01]. Une réduction des  $\text{pK}_a$  est encore plus forte avec l'utilisation de l'acétone ou de dioxane.

De plus, il faut prendre en compte le fait que le solvant peut aussi jouer sur l'ionisation du contre ion, par exemple, la formation du sel d'une forme basique avec un acide carboxylique réduit le  $\text{pK}_a$  de la base mais augmente en plus le  $\text{pK}_a$  de l'acide, rendant la réaction de salification plus difficile. En effet, plus l'écart de  $\text{pK}_a$  entre les couples acido-basiques est élevé, plus l'équilibre chimique acide/base se penche vers la formation du sel. Ainsi, tout effet bénéfique de l'utilisation d'un solvant sur la solubilité intrinsèque et le  $\text{pH}_{\text{max}}$  est mis en compétition par la réduction de l'ionisation de la molécule. Par contre, la réduction de la solubilité du sel formé dans un solvant organique peut s'avérer très utile pour aborder la cristallisation.

##### **IV.4.1. Caractéristiques des solvants organiques**

Les solvants organiques sont des liquides dont la constante diélectrique relative  $\epsilon$  varie dans un large domaine (de 2 pour le benzène à 165 pour la N-méthyle acétamide à 20°C). Du fait de leur faible taux d'auto-ionisation, ils conduisent peu le courant électrique. Leur cohésion est assurée par différents types de liaisons intermoléculaires (liaisons hydrogène, interaction dipôle-dipôle ou van der Waals) qui leur assurent un point de fusion et un point d'ébullition relativement bas : ils sont utilisables à température ambiante. Parmi les nombreuses constantes physico-chimiques qui les caractérisent, nous retiendrons en particulier la constante diélectrique  $\epsilon$  et la constante d'auto-ionisation ou d'autoprotolyse  $K_i$  (pour certains solvants). Des constantes pour quelques solvants sont données en annexe C [CHARLOT 63][RIVED 98].

Dans un solvant de constante diélectrique plus faible que l'eau, les ions s'associent de la manière suivante :



L'équilibre est régi par la constante d'association  $K_{\text{ass}}$  ou la constante de dissociation  $K_d$  :

$$K_{\text{ass}} = \frac{[A^-, C^+]}{[A^-][C^+]} = \frac{1}{K_{\text{diss}}} \quad [\text{Eq. 83}] \quad \text{et} \quad pK_{\text{diss}} = -\log K_d = \log K_{\text{ass}} \quad [\text{Eq. 84}]$$

Les constantes  $K_{\text{ass}}$  et  $K_d$  dépendent de la constante diélectrique du solvant, la charge, la taille et la concentration des ions. La distinction de AH de la paire d'ions  $A^-, H^+$  étant difficile, la constante d'acidité a pour expression :

$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH] + [A^-, H^+]} \quad [\text{Eq. 85}]$$

On définit  $pK_a = -\log K_a$  grandeur caractéristique du couple acide-base. La définition du pH dans un tel solvant (constante d'équilibre  $K_i$ ) est :  $pH = -\log[H^+_{\text{solvaté}}]$  [Eq. 86] où  $[H^+_{\text{solvaté}}]$  est la concentration des protons libres solvatés, non engagés dans les paires d'ions.

$$\text{La définition du pH neutre dans un tel solvant est : } pH = \frac{1}{2} pK_i \quad [\text{Eq. 87}]$$

Les zones d'acidité et de basicité se situent de part et d'autre de cette valeur. Par exemple, dans l'acide formique ( $pK_i = 6,2$ ) un pH de 4 correspond à un milieu basique. Un acide est dit fort dans un solvant donné s'il est complètement dissocié en  $H^+_{\text{solv}}$ , cette entité chimique est l'acide le plus fort pouvant exister dans ce solvant. Cependant le phénomène d'association ionique complique cette situation puisqu'une partie des  $H^+_{\text{solv}}$  se retrouve sous forme de paires : ainsi des acides totalement solvolysés peuvent se comporter en acide faible (acide perchlorique dans l'acide acétique). Le cas particulier des solvants amphiprotiques, dont HS, capables de prendre ou de céder un proton au soluté est discuté longuement par Delcourt [DEL COURT 01].

#### IV.4.2. Calcul de l'échelle des $pK_a$ d'un solvant à un autre

L'expression du  $pK_a$  met en jeu la solvolyse et l'association ionique :

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[A^-, H^+]} * \frac{[A^-, H^+]}{[AH] + [A^-, H^+]} = K_d * \alpha_i \quad [\text{Eq. 88}]$$

- $K_d$  est la constante de dissociation des paires d'ions
- $\alpha_i$  est la fraction solvolysée des formes de stœchiométrie AH

$$\text{D'où } pK_a = pK_d - \log \alpha_i \quad [\text{Eq. 89}]$$

$\alpha_i$  ne peut prendre des valeurs importantes que lorsque la solvolyse est efficace, c'est-à-dire lorsque le solvant est plutôt basique vis-à-vis de l'acide AH :  $\alpha_i$  est une mesure de la basicité du solvant. Lorsque l'on passe d'un solvant 1 à un solvant 2 (de l'eau à un solvant organique ou solvant mixte par exemple) [CHARLOT 63]:

$$pK_{a2} - pK_{a1} = pK_{d2} - pK_{d1} - (\log \alpha_2 - \log \alpha_1) \Rightarrow \Delta pK_a = \Delta pK_d - \Delta \log \alpha_i \quad [\text{Eq. 90}] \text{ et } [\text{Eq. 91}]$$

Il convient de considérer trois types de couples acide-base pour procéder à un changement d'échelle de  $pK_a$ .

- Couple dont la forme basique est moléculaire  $BH^+/B$  (type 1)

La forme basique B n'étant pas chargée, il n'y a pas de paire ( $B, H^+$ ), donc le terme d'association ionique n'a plus lieu d'exister :

$$\Delta pK_a = -\Delta \log \alpha_i \quad [\text{Eq. 92}]$$

- Couple dont la forme acide est moléculaire AH/A<sup>-</sup> (type 2)

La théorie de Bjerrum-Fuoss permet d'exprimer le pK<sub>a</sub> en fonction de la constante diélectrique :

$$\Delta pK_a = k \Delta \left( \frac{1}{\varepsilon} \right) - \Delta \log \alpha_i \quad [\text{Eq. 93}]$$

- Couple dont les deux formes sont anioniques (type 3)

$$\Delta pK_a = 2 * k * \Delta \left( \frac{1}{\varepsilon} \right) - \Delta \log \alpha_i \quad [\text{Eq. 94}]$$

Il est nécessaire de réaliser un calage des échelles. Pour placer les échelles de pK<sub>a</sub> l'une par rapport à l'autre, on choisit un couple acido-basique de type 1 pour lequel il n'y a pas de terme ΔpK<sub>d</sub> : les ordonnées pK<sub>a</sub> se trouveront sur une horizontale. Sur l'échelle verticale des pK<sub>a</sub> dans l'eau, on place le zéro puis le point représentatif de pK<sub>a</sub> (BH<sup>+</sup>/B) mesurée dans l'eau. Sur l'échelle verticale des pK<sub>a</sub> dans HS, on place sur la même horizontale le point représentatif de pK<sub>a</sub> (BH<sup>+</sup>/B) mesurée dans HS : on peut placer le 0 de cette deuxième échelle. On en déduit : -Δ log α<sub>i</sub> = pK<sub>a2</sub> - pK<sub>a1</sub> [Eq. 95] l'écart entre les zéros des deux échelles [Fig. 30].

Ensuite, il faut prendre en compte la constante diélectrique du solvant. On choisit un couple acido-basique de type 2 pour lequel  $\Delta pK_a = k \Delta \left( \frac{1}{\varepsilon} \right) - \Delta \log \alpha_i$  [Eq. 96]. On mesure le pK<sub>a</sub> de ce couple dans l'eau puis dans HS et on place les points représentatifs sur les deux axes verticaux : on peut en déduire la valeur numérique de  $\Delta pK_d = k \Delta \left( \frac{1}{\varepsilon} \right)$  [Eq. 97]. On en tire k qui est la pente de la droite joignant ces points. Une fois Δ log α<sub>i</sub> (terme relatif à la basicité relative des deux solvants) et k ou ΔpK<sub>d</sub> (terme relatif à l'association ionique) connus, on peut exprimer pK<sub>a2</sub> à partir de pK<sub>a1</sub> pour tout couple, sans nouvelle mesure expérimentale. Compte tenu des approximations faites, cette valeur n'est pas exacte mais constitue une bonne indication.

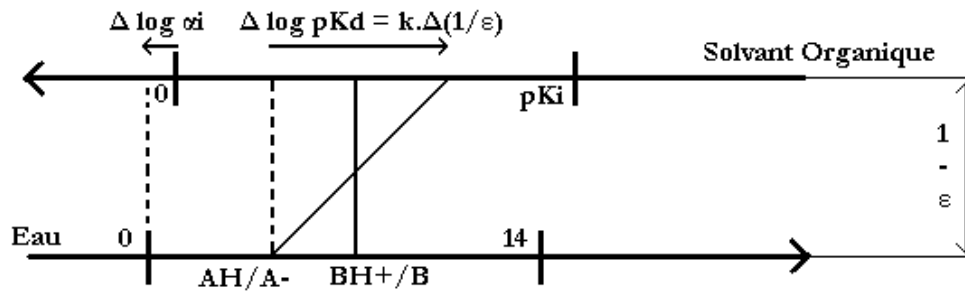


Figure 30 : Changement d'échelle de pKa

Le changement d'échelle du pH permet d'avoir un ordre d'idée sur les mesures en solvant organique par rapport à l'échelle connue dans l'eau [DELCOURT 01]. Il est à noter que Davey aborde à peine la notion de correction de l'échelle du pH pour comprendre le diagramme de phase et approcher la cristallisation d'un API [DAVEY 05].

Cette méthode est donnée à titre d'indication et de compréhension globale des échelles de pH dans les solvants organiques. Si elle n'a pas pu être appliquée pour ce travail de thèse, nous avons tout de même pu faire des suivis de pH dans l'éthanol.

#### **IV.5. Notes sur les modèles de prédiction de la solubilité**

La connaissance de la solubilité à différentes températures permet de travailler avec le diagramme de phase d'un soluté et de conduire au mieux un procédé de cristallisation. L'intérêt est donc réel pour les industries chimiques et pharmaceutiques [BRITT 04]. L'utilisation de modèles mathématiques, physiques ou thermodynamiques permet de prédire, dans des cas plus ou moins simples la courbe de solubilité d'un composé chimique en fonction de la température. Souvent, ces modèles ne tiennent pas compte de l'existence de différentes phases (polymorphiques, solvates, ...) d'où l'intérêt de faire attention à l'utilisation de ces outils. Ici est fait un état des lieux dans le domaine des modèles de prédiction de la solubilité. Retenons que le cas qui nous concerne sont les molécules électrolytiques dans un mélange solvant organique/eau.

La thèse de Lei Du Cuny [DU CUNY 06], reprend la comparaison de solubilités aqueuses de plusieurs principes actifs (aucun sel) en les comparant aux valeurs calculées par de nombreux logiciels à partir des valeurs calculées de l'électrotopologie, et les aires de surface moléculaire des groupes fonctionnels des molécules (modélisation mathématique des molécules). La thèse de Wassvik [WASSVIK 06], reprend le même principe, en s'arrêtant plus sur logP (logarithme du rapport des solubilités dans l'octanol et dans l'eau) et le traitement statistique des données. Les solubilités ne sont calculées que dans l'eau. Les 2 thèses sont concluantes sur l'efficacité des modèles pour des molécules organiques simples dissoutes dans l'eau. Filho et Rasmussen utilisent les modèles UNIQUAC (UNIversal QUAsi Chemical) et Debye-Hückel, qui utilisent la modélisation des coefficients d'activité, pour calculer la solubilité des sels minéraux dans des solvants mixtes. Malheureusement, cet article reste général et n'aborde pas le cas des molécules organiques [FILHO 00]. Au contraire, Espitalier étudie une molécule organique non salifiée, le kétoprofène [ESPITALIER 95], à l'aide du modèle UNIQUAC dans un mélange mixte, mais la question des sels organiques n'est pas abordée dans la littérature pour ce modèle. De plus le modèle UNIQUAC ne fait pas de la prédiction pure, il ne fait qu'interpoler à partir de quelques résultats existants [ESPITALIER 97]. Tantishaiyakul utilise la méthode des moindres carrés à partir de plusieurs descripteurs moléculaires pour prédire la solubilité aqueuse de sels organiques, en particulier différents sels du diclofénac [TANTISHAIYAKUL 04].

Mullins utilise la méthode COSMO-SAC (CONductor-like Screening MODEls – Segment Activity Coefficient) pour prédire les solubilités de principes actifs (non salifiés) dans un solvant pur ou un mélange de solvants. La méthode COSMO-SAC est basée sur des calculs de physique quantique. Ces résultats sont intéressants par rapport aux valeurs expérimentales et COSMO-SAC est régulièrement utilisé par certains laboratoires académiques. Néanmoins, c'est une méthode particulièrement complexe, moins facile d'approche que les modèles UNIQUAC et NRTL [MULLINS 08].

La société éditrice du logiciel de génie chimique / génie des procédés Aspen (Aspen Technology Inc.) travaille sur le développement de modèles évolués afin de répondre aux demandes de ses partenaires industriels. Aspen est un logiciel très complet pour dimensionner (entre autre) les installations de l'industrie chimique et pétrochimique. Les modèles de calculs thermodynamiques qui sont classiquement utilisés sont NRTL (Non Random Two Liquid), UNIFAC (UNIversal Functional Activity Coefficient) et UNIQUAC.

Le modèle NRTL-SAC (non random two liquid segment activity coefficient) permet de prédire la solubilité de molécules organiques dans des mélanges binaires de solvant. L'article de Kokitkar illustre l'utilisation avec succès de ce modèle pour la sélection d'un solvant afin de maximiser la solubilité du principe actif, tout en réduisant la quantité de solvant utilisée [KOKITKAR 08]. NRTL-SAC nécessite quelques valeurs expérimentales dans différents solvants pour faire ses calculs, mais aboutit dans l'exemple cité à des résultats très utiles pour le

développement du procédé. NRTL-SAC utilise la contribution des groupements chimiques pour calculer 4 facteurs : l'hydrophobie X, la polarité Y- et Y+ et l'hydrophilie Z [CHEN 04]. Le couplage de ces valeurs caractéristiques de la molécule d'étude aux valeurs du ou des solvants considérés (62 sont enregistrés dans la base) permet d'obtenir des diagrammes représentant la solubilité en fonction du ratio de solvant. La figure 31 compare les solubilités d'un API dans des ratios de solvants différents aux valeurs calculées à l'aide du modèle NRTL-SAC [CHEN 06\_A].

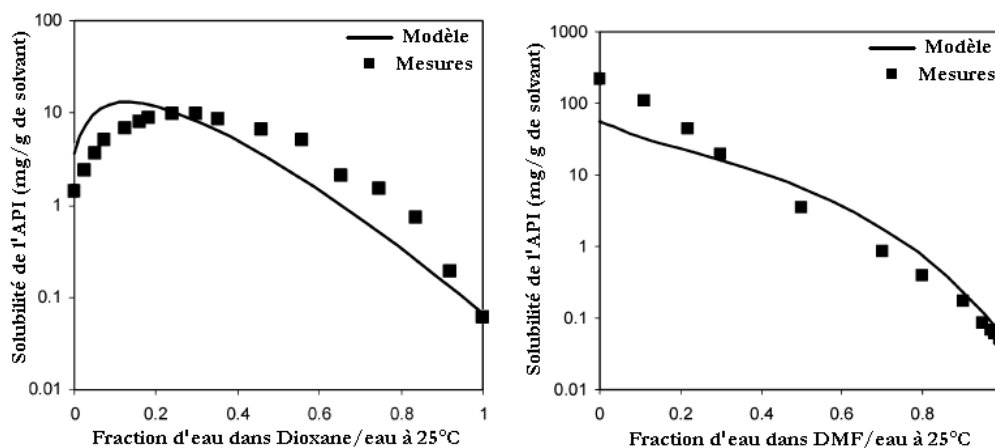


Figure 31 : Solubilité mesurée et prédite de la sulfadiazine dans les mélanges Dioxane/eau et DMF/eau

A partir d'essais sur plusieurs APIS, Tung décrit le modèle NRTL-SAC comme plus performant que COSMO-SAC grâce à des calculs mieux optimisés pour l'utilisation des solvants mixtes [TUNG 08]. NRTL-SAC s'étend aussi aux équilibres Liquide-Vapeur et Liquide-Liquide [TABORA 04].

Ces dernières années, a été développé le modèle eNRTL-SAC (electrolyte Non Random Two Liquid Segment Activity Coefficient). Ce modèle gère un facteur supplémentaire : le facteur électrolytique E [CHEN 05]. Il permet de traiter la solubilité des molécules organiques sous leur forme salifiée dans des mélanges binaires de solvant, ce qui est particulièrement intéressant pour les industries pharmaceutiques. La figure 32 montre, dans le cas du benzoate de sodium, que la solubilité calculée par le modèle est très satisfaisante par rapport aux valeurs expérimentales dans 10 solvants ou mélanges de solvant différent [CHEN 06\_B].

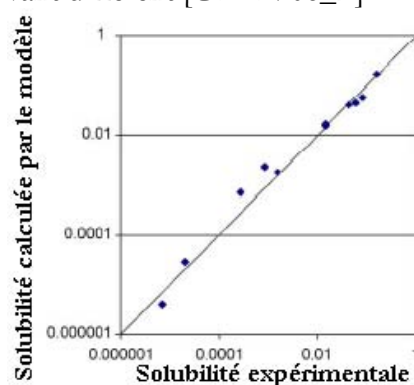


Figure 31 : Comparaison des solubilités expérimentales et calculées par eNRTL-SAC à 25°C du benzoate de sodium dans 10 solvants ou mélanges de solvant

Ce travail bibliographique montre l'importance donnée à la prédiction de la solubilité aqueuse des molécules pharmaceutiques, premier élément mesuré pour apprécier la biodisponibilité du produit avant son efficacité thérapeutique. La prédiction de la solubilité organique dans des mélanges mixtes n'est pas encore totalement mise au point mais le travail

exercé par les équipes qui développent le logiciel Aspen est prometteur. Ainsi, l'intérêt porté au développement des modèles de prédiction est suivi de près par les laboratoires pharmaceutiques comme Astrazeneca [CRAFTS 05] [BLACK 07] [WASSVIK 06], Eli Lilly [KOKITKAR 08], Merck [TABORA 04] et Roche [DU CUNY 06]. Le modèle eNRTL-SAC est clairement une excellente solution à utiliser dans le développement des APIs pour améliorer ses connaissances et accélérer la prise de décision dans le suivi de projet [BOLLAS 08].

## V. Méthode pour le choix du sel

Au-delà des considérations toxicologiques, le choix du sel s'avère très important pour la solubilité du produit dans le solvant de cristallisation et pour les caractéristiques physico-chimiques du solide. Choisir une forme salifiée permet de modifier un ensemble de propriétés mais il est difficile de trouver une forme en particulier qui permette de cibler une propriété sans en modifier d'autres. La première propriété recherchée étant une solubilité aqueuse supérieure à celle d'une molécule non salifiée. La cristallisation de l'API sous la forme d'un co-cristal est aussi une solution envisagée lors de son développement pharmaceutique [GAGNIERE 09]. La décision du choix du sel se fait selon plusieurs critères avec l'appui de différents spécialistes :

- Les chimistes discutent du rendement chimique, de la qualité cristalline, du polymorphisme, du coût et de la disponibilité de l'acide ou de la base conjuguée.
- Le groupe de formulation et de chimistes analytiques discute de l'hygroscopicité, de la stabilité, de la solubilité et de la processabilité du sel.
- Le groupe d'étude sur l'action métabolique du principe actif discute des aspects pharmacocinétiques et toxicologiques.

Est discuté dans cette partie l'effet que le changement du contre ion choisi pour le sel peut avoir sur les différentes propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, le point de fusion ou l'hygroscopicité du principe actif toutes importantes pour la biodisponibilité et la stabilité du médicament. Une approche méthodique est ensuite proposée pour choisir au mieux un contre ion.

### V.1. Effet du contre ion sur la solubilité du sel

La formation du sel d'un produit basique nécessite que le  $pK_a$  de l'acide conjugué soit suffisamment inférieur au  $pK_a$  de la base. L'utilisation d'acides minéraux comme HBr ( $pK_a = -8,0$ ) HCl ( $pK_a = -6,1$ ),  $H_2SO_4$  ( $pK_a = -3,0$ ) ou un acide sulfonique ( $pK_a < 2,0$ ) est propice à la préparation de sels de base faible avec un site amine de  $pK_a < 4,0$ . Des acides plus faibles comme l'acide acétique ou l'acide benzoïque ne permettraient pas de faire de tels sels. Il est conseillé d'avoir une différence de  $pK_a$  d'au moins 2 unités [STAHL 02]. Une liste de  $pK_a$  est donnée en l'annexe D du manuscrit. Le choix d'un acide faible ou fort, d'une base faible ou forte implique des méthodes de calcul du pH des solutions de sel différentes [Tableau 5]. On note que le  $pK_w$  est le  $pK_i$  de l'eau :

Sel	Equation
Acide faible / base forte	$pH = \frac{1}{2}(pK_a + pK_w + \log C)$
Base faible / acide fort	$pH = \frac{1}{2}(pK_a - \log C)$
Acide faible / base faible	$pH = \frac{1}{2}(pK_a(acide) + pK_a(base))$

Tableau 5 : Equations pour le calcul du pH d'une solution de sel

La solubilité du produit est assez dépendante du contre ion. La figure 33 suivante illustre parfaitement l'importance du contre ion pour la solubilité de différents sels de *Perfenadine* [STRENG 84].

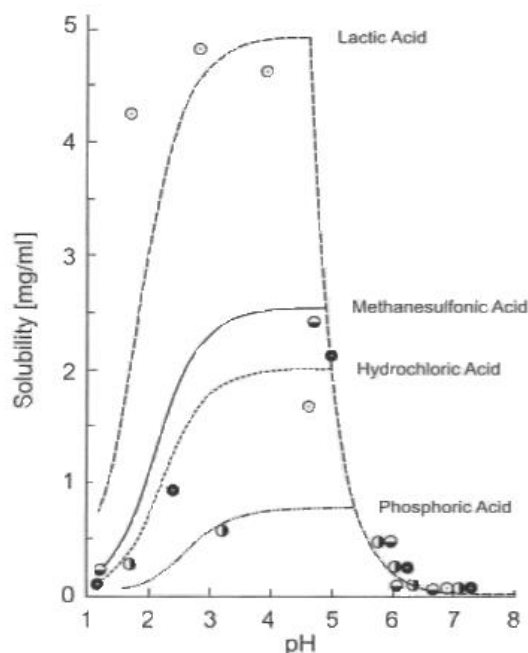


Figure 33 : Profils pH /solubilité de différents sels de *Perfenadine* [STAHL 02]

On se rend compte que le  $pH_{max}$  est légèrement déplacé et que la solubilité maximale du sel de *Perfenadine* varie du simple au sextuple. Cela peut s'expliquer par les équations décrites plus tôt dans le manuscrit.

Prenons un exemple pratique de la nécessité de fabriquer un sel : l'aspirine. L'acide acétylsalicylique est généralement vendu sous forme de comprimés, permettant au principe actif de se dissoudre dans l'estomac. Néanmoins, il existe des formulations en sachet qui permettent de dissoudre la molécule dans un verre d'eau pour une biodisponibilité (cinétique de l'action sur le métabolisme, relatif à la solubilité aqueuse) plus rapide. Ces formulations en sachet ne contiennent pas de l'acide acétylsalicylique mais son sel de D-Lysine. En effet, la dissolution de l'acide acétylsalicylique serait bien plus longue dans le verre d'eau.

## V.2. Effet de la nature du sel sur le point de fusion

Un accroissement de la température de fusion du solide est généralement accompagné d'une réduction de la solubilité. Les variations du point de fusion sont dépendantes du cation ou de l'anion conjugué. L'exemple qui suit, concerne un API à destinée antimalarial [STAHL 02] :

Sel	Point de fusion (1 atm, 0°C)	Solubilité (mg/mL)
Base libre	215	7,5
Chlorhydrate	331	13
Sulphate	270	20
Mésylate	290	300
2-hydroxyéthane sulphonate	251	620
L-lactate	192	925
DL-lactate	172	1850

Tableau 6 : Relation entre le sel, le point de fusion et la solubilité aqueuse d'un API [STAHL 02]

La stabilité des composés organiques à l'état solide est reliée à la force des liaisons dans la structure cristalline. Etant donné que les forces entre les molécules d'un cristal sont faibles en comparaison à l'énergie nécessaire pour casser les liaisons chimiques, la fusion du solide intervient avant que la dégradation du produit n'intervienne. On note aussi qu'à une température inférieure à la température de fusion, une couche semi-liquide se forme à la surface du solide, on peut parler de phase amorphe.

La température de fusion et la stabilité du produit sont aussi liées. Il existe de nombreux cas où le choix du sel s'est tourné vers un produit à haute température de fusion afin de ne pas avoir de soucis en ce qui concerne le stockage des produits. Les produits à basse température de fusion peuvent poser des problèmes pour le traitement galénique : mélange et compression. Ceux-ci ont tendance à s'agglomérer et avoir un comportement d'écoulement plastique. L'augmentation du point de fusion, réduit la solubilité dans tous les solvants mais améliore la stabilité du produit.

### **V.3. Effet de la nature du sel sur l'hygroscopicité**

Les sels solubles polaires ont une aptitude forte à être hygroscopiques à cause des interactions entre les liaisons hydrogènes et l'humidité ambiante. Plus est polaire l'acide ou la base conjuguée du sel, plus grande est la capacité du produit à absorber l'humidité, ce qui explique que les dichlorhydrates sont particulièrement hygroscopiques, plus en tout cas que les chlorhydrates [WERMUTH 96]. Aussi, l'hygroscopicité des matériaux cristallins dépend de la nature hydrophile ou hydrophobe des faces exposées à la surface du cristal. Il va de soi que si le solide est partiellement amorphe, il aura d'autant plus tendance à absorber l'eau car la phase amorphe réduit l'exposition des faces hydrophobes à l'humidité.

L'hygroscopicité du produit a un effet notoire sur la processabilité du solide. La formation d'hydrates peut entraîner un séchage difficile. Une mauvaise coulabilité, mesurable grâce à l'angle de talus, peut aussi être gênante.

### **V.4. Effet du sel sur la nature du solide**

La synthèse de différents sels d'une même molécule (à sites acides ou basiques) aboutit à des produits cristallisant de manières différentes. Il n'est pas rare d'observer que le sel A d'une molécule ne donne qu'une seule et même forme cristalline alors que son sel B présente de nombreuses formes polymorphiques. Il est utile de détecter au plus tôt les problèmes potentiels de polymorphisme des différents sels d'une molécule. Un exemple est donné dans la littérature : le développement d'une molécule basique A était prévue sous sa forme non salifiée, sa forme chlorhydrate ou sa forme methanesulfonate [Tableau 7].

	Base forme 1	Base forme 2	Chlorhydrate	Methanesulfonate
MM	272,74		309,20	367,84
Forme cristalline	aiguilles	bâtonnets	aiguilles	cubes
Point de fusion	247,1°C	non mesuré	non mesuré	222,2°C
Corrosion	-	-	très corrosif	peu corrosif

Tableau 7 : Propriétés du principe actif A [STAHL 02]

Le chlorhydrate a été éliminé de la sélection à cause des problèmes de corrosion puis à solubilité équivalente, la forme methanesulfonate a été préférée à la base car elle ne présente pas de forme polymorphique. La transition polymorphique entre les 2 formes cristallines de la base représentant un inconvénient sur la stabilité de la forme cristalline déclarée dans le dossier d'enregistrement du médicament.

### V.5. Spécificité des chlorhydrates

L'utilisation de l'acide chlorhydrique pour former des sels de molécules basiques est très répandue. Tout d'abord, elle s'explique par la bonne solubilité dans l'eau des sels de chlorhydrate [JOHDO 05]. Ensuite, le geste chimique à la paillasse est bien connu et maîtrisé, il faut dire que l'acide chlorhydrique étant un acide fort, le rendement de salification est particulièrement bon. Enfin, nous pourrions noter que c'est un produit chimique bien moins couteux que certains acides organiques [STAHL 02]. D'autre part, le mécanisme de la réaction de salification est simple, en voici un exemple [Fig. 34] sur un site basique qu'est une amine tertiaire :

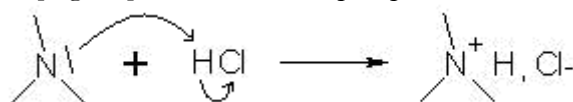


Figure 34 : Mécanisme de salification entre une amine et l'acide chlorhydrique

Les chlorhydrates représentent une grande partie des sels de molécules basiques. Des travaux ont estimé en 1977 que 43% des sels de base approuvés par la FDA étaient des chlorhydrates [BERGE 77]. Une étude similaire en 1994 montre que plus de 38% des sels pharmaceutiques sont des chlorhydrates (nombre plus grand si on l'estime par rapport aux sels de base). En 1994, parmi les sels de base, les sulfates représentent une part importante (6,8% de la totalité des sels) mais 4 à 5 fois moins que les chlorhydrates. Viennent ensuite les tartrates, les bromhydrates, acétates, maléates, mésylates et phosphate. Du côté des sels d'acides, les sels de sodium sont largement majoritaires (17,8% de la totalité des sels) avec quelques sels de potassium, de calcium, de zinc, d'olamine, de benzathine et de méglumine [JONES 06].

Néanmoins, l'utilisation de l'acide chlorhydrique peut être néfaste à l'obtention de certains sels : corrosion, produit de solubilité du sel, effet d'ion commun et hygroscopicité sont des facteurs qui ne font pas toujours des chlorhydrates le premier choix pour un sel. La dissolution des sels de chlorhydrate dans l'estomac peut être réduite par l'effet d'ion commun à cause de la forte concentration d'ions chlorures dans l'estomac [MIYAZAKI 80][MIYAZAKI 81]. Plusieurs travaux ont montré aussi que les sels de chlorhydrate ont parfois tendance à être plus hygroscopique que d'autres sels à cause de leur nature polaire, causant éventuellement une déliquescence. Ces problèmes sont encore plus marqués pour les sels de di-chlorhydrate comme vu précédemment. On note également que les sels de chlorhydrate ont une forte aptitude à former des cristaux sous forme d'aiguilles [MACCALMAN 93].

Les molécules basiques au  $pK_a$  faible sont souvent salifiées avec un acide fort tel que l'acide chlorhydrique. L'acidité peut atteindre un tel degré que les appareils métalliques en contact avec le produit tout le long de la chaîne de production du principe actif et de sa forme galénique sont sous le risque de corrosion. En particulier, les filtres sécheurs du solide ou les appareils de fabrication des comprimés sont sous la menace d'une usure rapide tout en engendrant la présence d'impuretés métalliques solubles dans le produit en faible quantité. Le potentiel corrosif d'un produit ne peut s'observer qu'en présence d'humidité pour faciliter la libération de la forme acide du produit. Le lien entre hygroscopicité et corrosion est donc évident. Les expériences ont montré que les produits en solution ayant un pH inférieur à 2,5 sont très corrosifs. Pour illustrer cela, une expérience est décrite [STAHL 02] : 5 à 10 mg de deux produits différents, un sel de methanesulfonate et un sel de chlorhydrate d'un même API sont déposés sur deux disques d'alliages en acier utilisés pour la compression en production galénique. L'exposition de la poudre sur le métal pendant une heure dans une atmosphère à 75% d'humidité aboutit à une attaque du métal [Fig. 34].

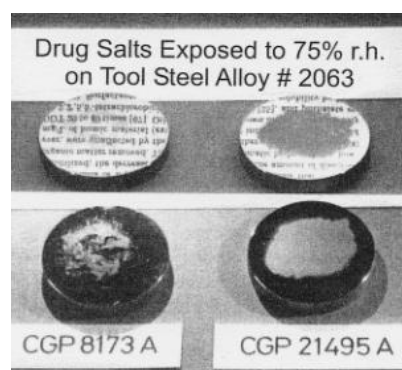


Figure 35 : Observation des surfaces métalliques après exposition de la poudre à 75% d'humidité [STAHL 02]

La compression des mélanges principe actif + excipients peut s'avérer techniquement impossible si les substances corrosives sont présentes en forte concentration. D'autre part, la présence de traces de métaux dans les comprimés peut accélérer la dégradation du produit. Pour éviter ces problèmes, il faut soit réduire le temps de contact du solide avec les surfaces métalliques, soit réduire les dosages par dilution avec les excipients.

### **V.6. Actions à entreprendre pour modifier les propriétés d'un sel**

Pour améliorer une propriété particulière d'un sel, Gould propose à partir d'études sur plusieurs APIs une démarche pour cibler une action en particulier [GOULD 86].

#### ➤ Réduction du point de fusion

Afin d'augmenter la solubilité, au risque de faire face à des problèmes de démixtion : utiliser des acides aliphatiques pour des bases aromatiques ou des acides organiques hautement substitués pour réduire la symétrie cristalline.

#### ➤ Augmentation du point de fusion

Pour réduire la solubilité et les problèmes de processabilité, favoriser les petits contre ions (Cl, Br,..), des anions aromatiques si la base est aromatique, ou encore des acides organique riches en groupes hydroxyles.

#### ➤ Réduction de la vitesse de dissolution

Pour fabriquer des produits à dissolution lente ou retardée, augmenter le point de fusion et l'hydrophobicité de l'anion conjugué.

#### ➤ Augmentation de la dissolution

Pour augmenter la biodisponibilité, réduire le  $pK_a$  de l'acide conjugué [HILFIKER 06], réduire le point de fusion, augmenter le taux d'hydroxylation de l'acide organique et, en cas d'effet d'ion commun, préférer un acide organique de faible poids moléculaire.

#### ➤ Augmentation de la stabilité

Réduire l'hygroscopicité en augmentant l'hydrophobicité de l'acide. Choisir plutôt un acide carboxylique qu'un acide minéral ou sulfonique. Utiliser un acide avec un  $pK_a$  supérieur pour augmenter le pH de la solution. Réduire la solubilité et augmenter la cristallinité en augmentant le point de fusion.

#### ➤ Réduction de la mouillabilité

Pour réduire l'hygroscopicité, augmenter l'hydrophobicité de l'anion conjugué.

- Augmentation de la biodisponibilité

Afin d'augmenter la biodisponibilité du produit, augmenter la polarité de l'anion conjugué, baisser le  $pK_a$  de l'acide, essayer de recristalliser le produit dans un autre solvant pour changer l'habitus, utiliser un acide organique riche en groupes hydroxyyles.

En fin de compte, la stabilité, la solubilité, le point de fusion et la mouillabilité des sels sont tous reliés. En Annexe D est fournie une liste de contre ions triés par classe chimique, avec leur  $pK_a$ .

### V.7. Approche méthodique pour le choix du sel

Il est proposé dans la littérature d'adopter une approche en quatre parties [Tableau 8] pour sélectionner le sel optimal [STAHL 02]. Le choix doit répondre aux problématiques suivantes :

- Le  $pK_a$  de la molécule à salifier permet il de réaliser facilement un sel ?
- La solubilité aqueuse est elle convenable ?
- Est-ce que le solide produit est cristallin ? (la phase amorphe peut poser des problèmes dans la processabilité du produit, réglementairement cela peut poser des soucis aussi)
- La toxicologie et la pharmacologie de l'ion conjugué et du sel formé sont elles acceptables ?
- Un des sels présente-t-il plus ou moins de polymorphes que le forme non salifiée ? (Cette question est difficile à répondre tôt dans le développement de la molécule)

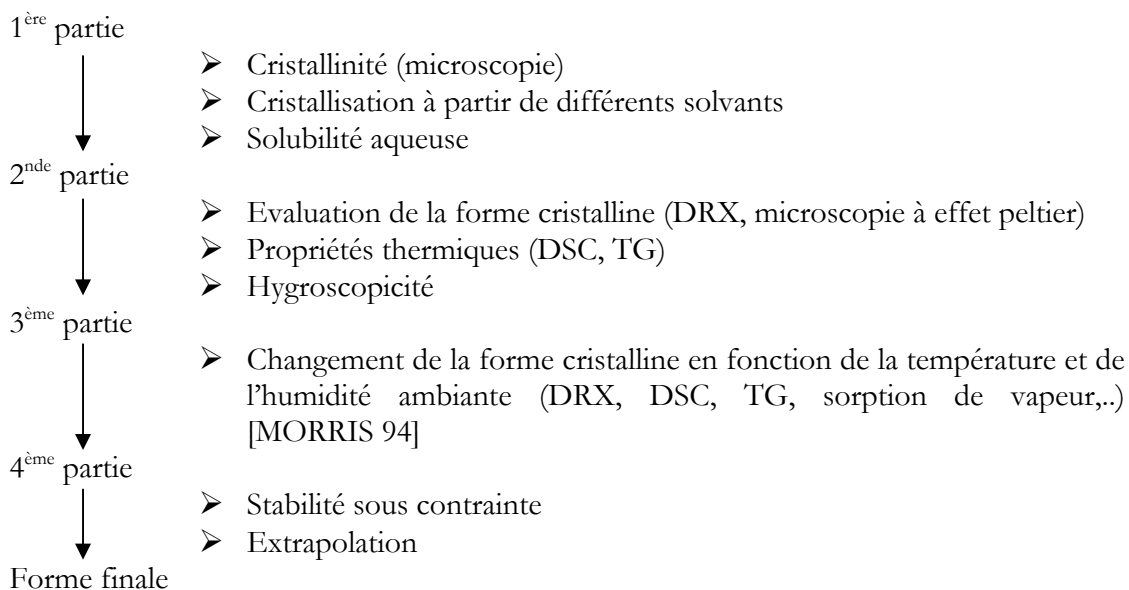


Tableau 8 : Approche par étapes pour la sélection d'un sel

Notons enfin que la formation d'un sel peut présenter un désavantage notoire : l'utilisation de contre ions à haute masse moléculaire peut augmenter la masse du principe actif de 20 à 50% [BASTIN 00]. Etant donné que certaines molécules présentent de mauvaises propriétés de coulabilité, le mélange final peut compter de 40 à 70% d'excipients en masse. Ainsi, cela nécessiterait de faire des comprimés de taille très importante ou de devoir augmenter le nombre de comprimés par prise. Il a été aussi noté que les sels, à cause de la complexité croissante des molécules, ont de plus en plus tendance à former des hydrates et des solvates.

## VI. Les étapes du développement pharmaceutiques

L'objectif des services de Recherche et Développement d'une industrie pharmaceutique est de découvrir, de développer, d'enregistrer et de mettre sur le marché des produits hautement innovants répondant à des besoins médicaux importants non satisfaits. La recherche « amont » est essentielle à la bonne santé de l'entreprise sur le long cours. Le nombre de molécules commercialisées par un groupe pharmaceutique est directement dépendant du dynamisme de la recherche, du budget qui lui est alloué et de la créativité de ses chercheurs. Aussi, il faut compter jusqu'à une quinzaine d'années pour qu'une molécule passe du stade de la découverte à la mise sur le marché. Lorsqu'une molécule entre en phase de développement, une équipe "projet" est constituée, rassemblant des représentants des fonctions appropriées (pharmacologues, cliniciens, chimistes, toxicologues, spécialistes des affaires réglementaires, spécialistes du marketing) qui vont collaborer pendant toute la durée de vie du projet [COSSERAT 03]. Le processus de développement est associé à 3 phases réglementaires de développement clinique.

### Phase I > Dose maximale tolérée

- Première administration chez l'homme sain
- Test sur une population de 50 à 100 personnes
- Dose de 1/1000 à 1/10 de la dose active chez l'animal

### Phase II > Efficacité thérapeutique

- Première administration chez l'homme malade, Etudes non comparatives
- Test sur une population de 100 à 1000 personnes
- II a => Efficacité thérapeutique sur un premier ensemble de malades
- II b => La dose maximale est optimisée

### Phase III > Confirmer l'efficacité, évaluer les risques, observer les effets secondaires

- Test sur une population de 500 à 3000 personnes
- Etudes comparatives

Le tableau 8 suivant résume les différentes étapes lors de la vie d'une molécule à partir de la découverte jusqu'à sa mise sur le marché. Pour une action thérapeutique ciblée, jusqu'à 10.000 molécules sont envisagées, puis ce nombre est réduit au fur et à mesure des phases, précliniques et cliniques pour ne conserver qu'une seule molécule (et parfois une molécule "backup"). L'unité de temps de la recherche est le quart de siècle [SERVIER 07], l'industrie est aussi soumise à la pression de commercialiser au plus tôt son produit pour bénéficier le plus longtemps possible de la protection de son API par son brevet.

RECHERCHE		DEVELOPPEMENT			NAISSANCE	VIE	
1 à 2 ans	1 à 2 ans	1 à 2 ans	6 à 8 ans			1 an	Permanent
Recherche des points de départ chimique	Optimisation	Evaluation préclinique in vitro chez l'animal	Evaluation clinique chez l'homme			Préparation et dépôt du dossier d'enregistrement du médicament	PRODUCTION
			Phase I	Phase II	Phase III		
.Conception .Synthèse .Screening	.Puissance .Sélectivité .Durée d'action	.Développement chimique .Pharmacologie analytiques .Stabilité .Sécurité .Galénique	.Tolérance et pharmacocinétique	.Activité biologique et recherche d'un effet thérapeutique	.Confirmation de l'effet thérapeutique et de la tolérance		Life Cycle Management
5000 à 10000 molécules		30	10	3	1 molécule		

Tableau 8 : La vie d'une molécule pour la pharmacie

## VII. Conclusions

Au plus le projet de développement d'un API avance, au plus la quantité à produire est importante pour satisfaire les besoins en essais cliniques et les différentes études de galénique, toxicologie, et de développement chimique. Il faut alors accompagner le projet au cours de l'extrapolation du procédé de synthèse et de cristallisation. On comprend qu'il est essentiel de faire au plus tôt de bons choix pour ne pas être embarrassé plus tard avec un mauvais procédé lorsque l'on travaille avec de gros volumes pour la synthèse de l'API. Un procédé peu robuste ou produisant des cristaux avec de mauvaises propriétés d'usage posera problème tôt ou tard. Par exemple, un mauvais faciès peut poser des problèmes importants au niveau industriel comme des aiguilles peuvent boucher un filtre sécheur [TRIFKOVIC 07]. Ainsi, il est important de détecter au plus tôt d'éventuels problèmes, à partir d'une quantité faible de produits et d'avancer par exemple au moment du choix du sel des propositions qui ont aussi un intérêt à prendre en compte, en plus, des éléments cliniques, pharmacologiques et toxicologiques [HIRSCH 78].

La cristallisation de l'API est une étape tout aussi importante que la synthèse chimique pour obtenir un produit chimique de qualité. Le choix du procédé (choix du milieu de synthèse et de cristallisation, choix du sel...) doit prendre compte des propriétés du solide : faciès, taille et stabilité de la phase cristalline de l'API.

Cette bibliographie a permis de reprendre les concepts nécessaires à la compréhension des phénomènes d'obtention du solide, en particulier pour les formes salifiées d'un API ; de la cristallographie et du polymorphisme. Le recul nécessaire sur les mécanismes de choix d'un sel plutôt qu'un autre et les étapes du développement pharmaceutique permet de mieux comprendre les enjeux d'une bonne étude préliminaire des différents choix auxquels une entreprise pharmaceutique est confrontée à des étapes clefs du développement.

Le criblage des formes salifiées pourrait être couplé à un criblage polymorphique pour choisir une forme appropriée de l'API [REMENAR 03]. Une étude complète sur les différentes phases, avec la connaissance des faciès, des solubilités aqueuses et des stabilités différentes, a toute son importance. C'est un enjeu, de connaître le maximum d'informations sur le comportement physico-chimique de l'API au début de son développement pour favoriser une bonne extrapolation du procédé. Nous allons effectuer dans la partie suivante une revue des différentes techniques utilisées pendant cette thèse pour étudier la cristallisation d'un API sous différentes échelles.

# ***Chapitre II :***

# ***Matériels et Méthodes***

*Le secret de toute méthode consiste à regarder  
avec soin dans toute chose ce qu'il y a de plus absolu.  
René Descartes (Les règles pour la direction de l'esprit)*



Il est présenté dans ce chapitre l'ensemble des méthodes utilisées pendant ces 3 années de doctorat au CINaM et au LAGEP. Nous commençons par expliquer dans le détail la méthode de mesure de solubilité la plus couramment utilisée au laboratoire, par observation de la dissolution ou non des ajouts successifs. Ensuite, nous nous intéressons à la microscopie optique et l'utilisation du contrôle de la température par effet Peltier. Les méthodes de caractérisation des poudres sont également expliquées : diffraction des rayons X ; analyse de la structure de monocristaux ; calorimétrie différentielle ; thermogravimétrie ; microscopie électronique à balayage et microscopie à force atomique. La présentation des réacteurs de cristallisation utilisés au LAGEP et au CINaM est aussi importante pour introduire la notion d'hydrodynamique en cristallisation. Enfin, les outils de mesures *in situ* utilisés pendant la thèse sont décrits : sonde FBRM et sonde vidéo *in situ* pour le réacteur du LAGEP ; mesure du pH pour le réacteur du CINaM ; diffusion des rayons X aux petits et moyens angles d'une suspension dans un capillaire sous température contrôlée.

De plus, une partie sera réservée à la présentation du produit d'études, le TD901 et la réflexion qui nous a menés à faire ce choix.

## I. Mesure de la solubilité par ajouts successifs

La solubilité d'un soluté dans un solvant à température donnée est une valeur thermodynamique mesurée à l'équilibre. L'établissement du diagramme de phases nécessite la mesure de la solubilité à plusieurs températures. La figure 36 montre schématiquement 3 méthodes de mesure de la solubilité.

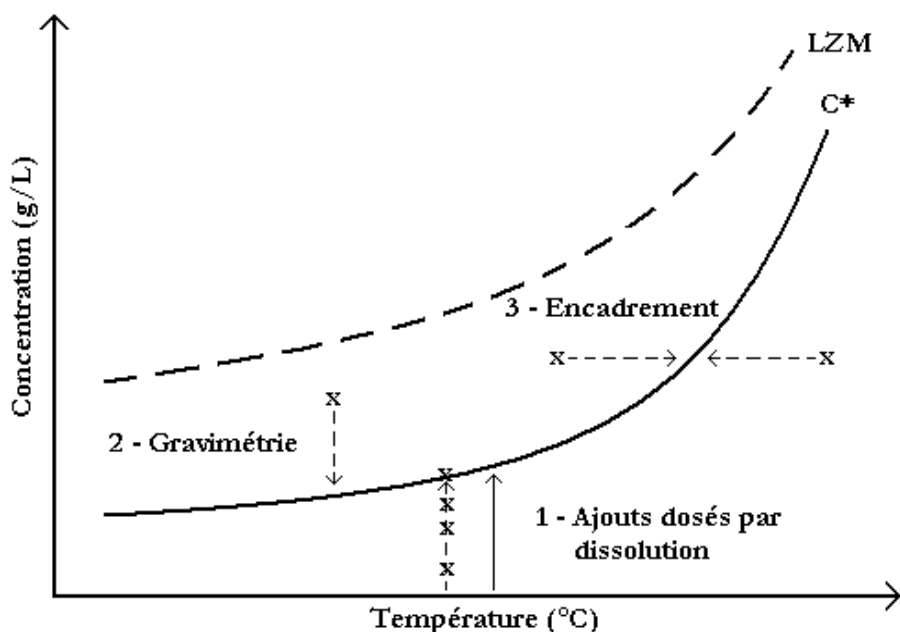


Figure 36 : Méthodes de mesure de la solubilité à l'aide du diagramme de phase

La première méthode, dite des "ajouts successifs", consiste en l'addition progressive de soluté dans une quantité connue de solvant à température constante. Une fois le soluté dissous (la solution est toujours sous-saturée, donc en dessous de la courbe de solubilité), une nouvelle quantité de soluté est ajoutée, et cela jusqu'à ce que le solide ne se dissolve plus. Plus les quantités de soluté ajoutées en fin de manipulation sont petites, plus la solubilité est précise puisqu'il s'agit d'un encadrement. La solubilité se calcule par l'équation 98.

$$C_s \text{ (g/L)} = \frac{\text{Masse totale de solide dissout (mg)}}{\text{Volume de solvant (mL)}} \quad [\text{Eq. 98}]$$

La patience doit être de rigueur pour bien effectuer cette méthode, car selon les cas, le soluté peut mettre un temps important pour se dissoudre, c'est à l'utilisateur de bien juger du moment où l'on peut considérer que la solubilité est atteinte. L'augmentation d'un degré de la température permettra de vérifier que l'on est bien à l'équilibre, même si les cinétiques de dissolution et le polymorphisme peuvent gêner l'appréciation de la solubilité.

La seconde méthode est celle de la gravimétrie. À température constante, on se place en conditions de sursaturation (masse de suspension connue), au dessus de la solubilité, en laissant le temps à la suspension d'atteindre l'équilibre thermodynamique, au niveau de la courbe de solubilité, puis de décantier. Le prélèvement d'une masse connue du liquide surnageant est ensuite évaporé dans une coupelle pesée au préalable. La quantité de solide restante dans la coupelle après évaporation permet de connaître la concentration à l'équilibre du soluté dans le solvant considéré, à température connue. La solubilité est obtenue par croissance.

$$C_s \text{ (g/L)} = \frac{\text{Masse coupelle après évaporation (mg)} - \text{Masse coupelle vide (mg)}}{\text{Volume de liquide prélevé (mL)}} \quad [\text{Eq. 99}]$$

La troisième méthode, par encadrement de la température, est réalisée à partir d'une concentration connue de soluté dans un volume également connu de solvant [BECKMANN 84]. La solution ou la suspension est placée dans une cellule à température contrôlée. S'il s'agit d'une suspension, l'augmentation progressive de la température permettra de dissoudre le solide une fois que l'on se place en conditions sous-saturées (à droite de la courbe de solubilité). S'il s'agit d'une solution, la détermination de la solubilité est bien complexe et nécessite beaucoup de patience sans forcer la nucléation trop rapidement ce qui permettrait de déterminer une limite de zone métastable et non la solubilité. Cette partie de la méthode n'est pas très rapide à utiliser, mais elle permet d'avancer par encadrement, ce qui est parfois utile pour vérifier un point sur une courbe de solubilité. Nous travaillons principalement au laboratoire avec la méthode des ajouts successifs dosés par dissolution. L'établissement d'une courbe de solubilité complète pouvant s'avérer parfois gourmande en soluté, nous avons dessiné et fait fabriquer des cellules doubles enveloppées nous permettant de travailler avec un volume de seulement 10mL [Fig. 37].



Figure 37 : Cellule double enveloppée de 10 mL pour la mesure de solubilité

Ces cellules sont posées sur un agitateur magnétique afin d'accélérer la dissolution du produit dans le solvant et d'atteindre l'équilibre thermodynamique plus rapidement. En fait, deux

cellules alimentées par un bain thermostaté sont montées en série afin de mesurer au plus précis la solubilité et éventuellement le pH dans une première cellule et la température dans la seconde [Fig. 38]. Cette seconde cellule ne contient uniquement que le solvant et une sonde PT100 pour faire une mesure et éventuellement corriger la température du bain si celle-ci est trop éloignée de la consigne. Selon, les cas, nous avons utilisé une sonde pH dans la première cellule pour faire en parallèle des additions une mesure du pH de la solution ou de la suspension.

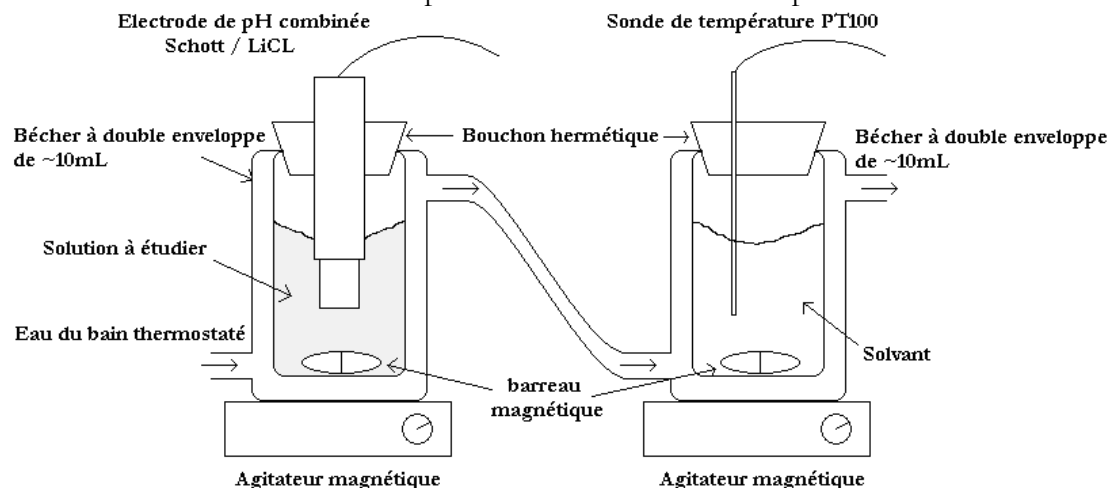


Figure 38 : Schéma du montage pour l'établissement des courbes de solubilité

La saturation est appréciée une fois que la solution reste troublée pendant plusieurs heures. Nous pouvons alors augmenter la température du bain thermostaté pour dissoudre la suspension dans la cellule et continuer les ajouts successifs à une température connue.

Pour établir les courbes de solubilité de nos produits, nous avons mesuré la solubilité à 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 35°C, 45°C, 55°C et 65°C, soit 8 points de mesure pour établir les courbes  $C_s = f(T)$ . L'exploitation des données doit être accompagnée d'un traitement sous la forme  $\ln(C_s) = f(1/T)$  pour retrouver la relation de van't Hoff [Eq. 12 et Eq. 100] et déterminer expérimentalement la valeur de l'enthalpie de dissolution du soluté [Eq. 101].

$$\ln S = A * \frac{1}{T} + B \quad [\text{Eq. 100}] \quad \text{avec} \quad A = -\frac{\Delta H_d}{R} \quad [\text{Eq. 101}] \quad \text{et} \quad B = \frac{\Delta S_d}{R} \quad [\text{Eq. 102}]$$

Le calcul de l'entropie de dissolution à pression atmosphérique [Eq. 102] à partir de l'ordonnée à l'origine de la droite est peu significatif. En effet, notre domaine d'étude [283.15 – 338.15] est très éloigné de 0 Kelvin où se lit le coefficient B de l'équation de van't Hoff. Il faudrait, de plus, exprimer l'entropie en calculant les fractions molaires.

## II. La microscopie avec cellule à effet Peltier

Le CINaM est équipé de nombreux microscopes optiques inversés, c'est-à-dire avec la source lumineuse en haut de l'échantillon et l'objectif en bas. Ces microscopes Nikon Eclipse TE 300, avec des objectifs x4 ou x10, sont reliés à des caméras CCD pour l'acquisition des images en temps réel [Fig. 39]. Un logiciel permet d'enregistrer les images à intervalles réguliers. L'utilisation d'un bloc Peltier sur le microscope inversé permet d'étudier dans un volume thermostaté, que l'on peut sceller pour l'étanchéité, le contenu d'une cellule. Des adaptateurs métalliques permettent de travailler avec des volumes divers : de 15  $\mu\text{L}$  à 2 mL.

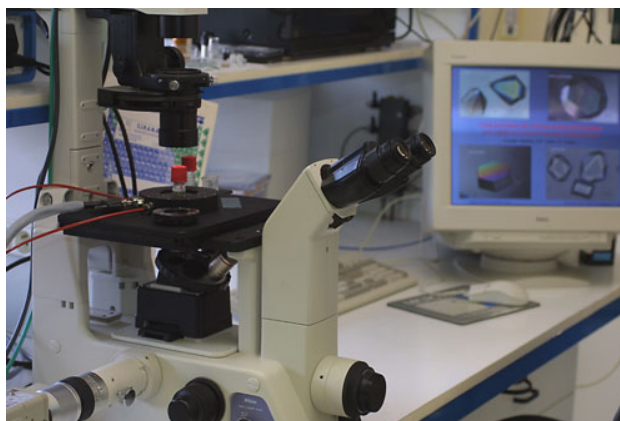
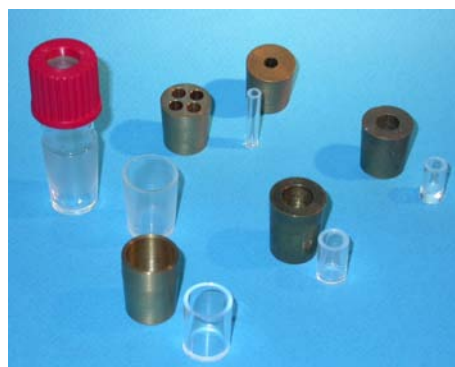
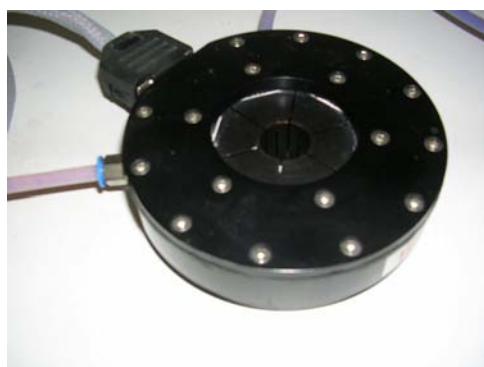


Figure 39 : Microscope optique inversé équipé d'une platine à effet Peltier

Le contrôle de la température et l'observation des phénomènes en solution à température connue sont essentiels à l'étude de la cristallisation en solution.

### II.1. Principe de l'effet Peltier

La platine Peltier [Fig. 40] permet d'obtenir une température désirée dans la cellule qu'elle entoure. Ceci est dû à l'effet du même nom : l'effet Peltier. Il s'agit d'un phénomène thermoélectrique, de déplacement de chaleur en présence d'un courant électrique. L'effet se produit dans des matériaux conducteurs de natures différentes liés par des jonctions. L'une des jonctions se refroidit légèrement quand l'autre se réchauffe. Cet effet a été découvert en 1834 par Jean Charles Peltier. Un module de commande permet d'alimenter ce système avec un courant spécifique à la température que nous lui avons programmé. Ces platines sont équipées d'un système de double enveloppe afin de refroidir ou réchauffer la platine avec de l'eau au cas où les températures imposées seraient respectivement chaudes ou froides.



Figures 40 et 41 : Photographies d'une platine Peltier et d'une cellule de 2 mL avec adaptateurs

Le plus classiquement, nous utilisons le monopuits avec des cellules de 2 mL [Fig. 41], ces cellules ont un fond optique parfaitement adapté à l'observation à l'aide d'un microscope.

### II.2. Caractérisation entre polariseurs croisés

La lumière est constituée d'une infinité d'ondes électromagnétiques. Chacune de ces ondes est caractérisée par une direction de propagation et une vibration. Certaines substances sont capables de favoriser un plan de vibration de sorte que les ondes de la lumière émergente vibrent toutes dans le même plan. On dit que cette lumière est polarisée. Pour faire de la microscopie en lumière polarisée, il faut deux filtres polariseurs. Le premier filtre est appelé le

polariseur. Il laisse passer seulement la lumière qui vibre dans une direction. Le deuxième filtre est appelé l'analyseur, il est placé sur le chemin de la lumière polarisée. Ce dernier filtre est tourné à  $90^\circ$  pour obtenir l'extinction complète de la lumière (loi de Malus). Cette configuration, appelée situation croisée, permet l'observation d'éléments capables de dévier le plan de la lumière polarisée les rendant ainsi visibles sur un fond noir [Fig. 42].

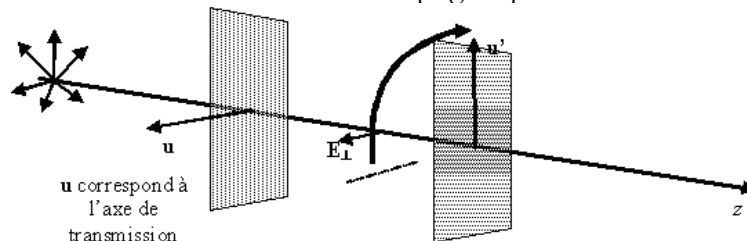


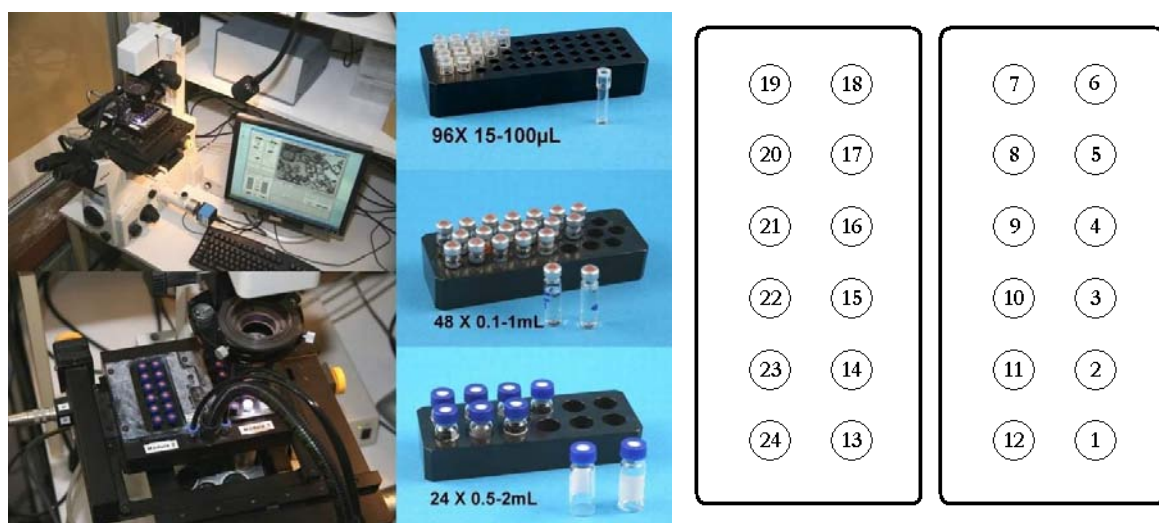
Figure 42 : Schéma de principe d'un polariseur croisé

L'interaction de la lumière avec certaines substances naturelles biréfringentes, notamment les matériaux cristallins de symétrie non cubique, induit une polarisation naturelle de la lumière. Ils apparaissent donc lumineux lorsqu'on provoque l'extinction de la lumière en utilisant un polariseur. Ce n'est pas le cas des matériaux monoréfringents (cristaux à symétrie cubique, amorphes et cristaux liquides).

L'anisotropie désigne l'aptitude d'un corps à ne pas avoir les mêmes propriétés physiques selon toutes les directions de l'espace. Cette méthode permet ainsi d'apprécier la cristallinité d'un échantillon solide à cause de l'anisotropie du matériau.

### II.3. Le montage avec cellules multipuits à effet Peltier

Depuis plusieurs années est développé au CINaM, avec la société ANACRISMAT, un montage de microscopie inversé avec un bloc Peltier multipuits [Fig. 43]. L'utilisation de cet appareil de microscopie est vraiment intéressante pour multiplier les essais, que ce soit dans un but statistique ou de recherche d'espèces polymorphiques. Un logiciel, basé sous LabVIEW, permet de programmer l'évolution de la température (rampes, paliers, sauts), ainsi que la fréquence des cycles de la platine motorisée en (X, Y) pour enregistrer une image de chaque puits à intervalles réguliers.



Figures 43 et 44 : Photos du multipuits, des blocs Peltier, des vials correspondantes et schéma et numérotation des 24 vials d'étude.

Les microscopes sont des Nikon Eclipse TE 2000-S et TE 2000-U. Des lingots permettent de travailler avec 2 séries de 12, 24 ou 48 cellules de tailles différentes, respectivement 2mL, 1mL et 100 $\mu$ L. Dans la réalité, l'addition précise d'une quantité de solide dans une cellule n'est vraiment pratique que dans le cas 2\*12 [Fig. 44]. Les 2 autres solutions sont envisagées si l'on charge des solutions. En ce qui nous concerne, les cellules utilisées sont de simples vials HPLC, de 1,8 mL avec un bouchon à vis. Il est raisonnable de ne pas dépasser 1mL pour que la hauteur de liquide dans la vial ne dépasse pas la hauteur du lingot.

#### II.4. La diffusion du soluté en condition statique

Le travail dans des vials ou des cellules de 2 mL est en condition statique, à moins de les agiter à la main pour accélérer une éventuelle dissolution ou améliorer une homogénéisation de la diffusion du soluté dans le volume.

Il est possible de faire des calculs sur la diffusion du soluté A dans tout le volume occupé par le solvant B. Considérons une vial de 1,8 mL placée dans le bloc Peltier (\*12) à 20°C, pour le soluté TD901 sous sa forme basique dans de l'éthanol. La diffusivité du soluté se calcule d'après l'équation 103 de Wilke et Chang [WILKE 55] et [REID 88] pour les solutions diluées, non électrolytiques. Cette relation est une adaptation de la relation Stokes Einstein.

$$D_{AB} = 7,4 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{T \cdot \sqrt{\varphi_B \cdot MM_B}}{\mu_B \cdot V_A^{0,6}} \quad [\text{Eq. 103}]$$

On précise les unités à utiliser pour cette corrélation :

- $D_{ab}$  la diffusivité du soluté dans le solvant (en  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
- T la température du milieu (en K)
- $\varphi_B$  est le facteur d'association du solvant (valeur thermodynamique), sans unité
- $MM_B$  est la masse molaire du solvant (en  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
- $\mu_B$  est la viscosité dynamique du solvant (en  $\text{cp}_o$ , avec  $1 \text{cp}_o = 10^{-3} \text{Pa} \cdot \text{s} = 10^{-3} \text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )
- $V_A$  est le volume molaire du soluté en diffusion (en  $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ )

On note aussi que le calcul de la diffusion des solutés électrolytiques se calcule par l'équation de Nernst Haskell [REID 88] :

$$D_{AB} = \frac{RT \cdot [(1/n_+) + (1/n_-)]}{F^2 \cdot [(1/\Lambda_+^\circ) + (1/\Lambda_-^\circ)]} \quad [\text{Eq. 104}]$$

- F est la constante de Faraday (96.485  $\text{C} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
- $n_{+/-}$  est la valence respective du cation et de l'anion
- $\Lambda_{+/-}^\circ$  est la conduction ionique limite (en  $\text{mS} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ )

Le facteur d'association et la viscosité dynamique de l'éthanol sont respectivement de 1,5 et de 1,20 centipoise [WILKE 55]. Le TD901 a pour formule brute  $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ , soit une masse molaire de 361,44  $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ . La relation de Traube [AKERS 91] est une formule empirique écrite en 1899 qui calcule le volume molaire du soluté, où  $V_A(\text{C}_v\text{H}_w\text{N}_x\text{S}_y\text{O}) = 13 + 9.9v + 3.1w + 1.5x + 15.5y + 5.5$  pour chaque oxygène carbonyle + 2.3 pour chaque oxygène alcoolique + 0.4 pour chaque oxygène carboxyle [Eq. 105]. Ces formules empiriques sont peu adaptées dès que la molécule contient des cycles carbonés et que le solvant est non aqueux.

On peut calculer le volume molaire  $V_{mol}$  (en  $m^3 \cdot mol^{-1}$ ) d'une manière plus classique à partir de la masse molaire du soluté et de la masse volumique apparent du solide  $\rho_{sol}$ , estimé en moyenne à  $1500 \text{ Kg} \cdot m^{-3}$  (typiquement la mesure de la densité apparente à l'aide d'un picnomètre est entre  $1400$  et  $1600 \text{ Kg} \cdot m^{-3}$ ):

$$V_{mol} = \frac{4}{3} * \pi * \left( \frac{1}{2} * d_{mol} \right)^3 * N_a = \frac{4}{3} * \pi * \left( \frac{1}{2} * \sqrt[3]{\frac{MM_B}{\rho_{sol} * N_a}} \right)^3 * N_a = \frac{\pi}{6} * \frac{0,3614}{1500} = 125,6 \text{ cm}^3 \cdot mol^{-1} \quad [\text{Eq. 106}]$$

Cette valeur du volume molaire permet de calculer avec la relation de Wilke et Chang la diffusivité du soluté TD901 dans l'éthanol (classiquement entre  $10^{-8}$  et  $10^{-10} \text{ m}^2 \cdot s^{-1}$ ).

$$D_{AB}(S33138) = 7,4 \cdot 10^{-8} * \frac{293,15 * \sqrt{1,5 * 361,4}}{1,20 * (125,6)^{0,6}} = 2,316 * 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot s^{-1} = 2,316 * 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot s^{-1} \quad [\text{Eq. 107}]$$

La solubilité à  $20^\circ\text{C}$  de la base TD901 dans l'éthanol est de  $20,3 \text{ g/L}$ , soit  $56,16 \text{ mol} \cdot m^{-3}$ . Une fois que le soluté est dissous, à l'équilibre, et dans des conditions statiques, il diffuse dans l'intégralité du volume du solvant. On aura précisé avant de faire ces calculs de diffusion que l'on ne considère pas la convection naturelle thermique, car on est beaucoup plus dense en bas qu'en haut de la vial.

Si l'on applique la loi de Fick [Eq. 31] entre 2 plans infinis à notre vial cylindrique dont la hauteur de liquide pour un volume de  $1\text{mL}$  est de  $L = 1,3 \text{ cm}$ , le flux molaire maximal de soluté entre la base de la vial et le niveau supérieur du liquide est :

$$J_d = -D_{AB} * \frac{\delta C}{\delta z} = -2,316 * 10^{-9} * \frac{56,16}{0,013} = -1,00 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot m^{-2} \cdot s^{-1} \quad [\text{Eq. 108}]$$

Au signe près, l'équation de Fick au 2<sup>nd</sup> ordre lie l'évolution temporelle de la concentration au flux de matière dans l'espace considéré.

$$\frac{\delta C}{\delta t} = \frac{\delta J_d}{\delta z} = -D_{AB} \frac{\delta^2 C}{\delta z^2} \quad [\text{Eq. 109}]$$

Si nous faisons l'hypothèse que la diffusion ne se fait que dans une dimension entre deux plans infinis (base de la vial et niveau supérieur du liquide) et que le facteur de diffusion  $D_{AB}$  est constant dans tout le volume, la solution de l'équation [Eq. 109] est du type "fonction erreur" :

$$C(z,t) = C(0,0) \cdot \text{erfc}\left(\frac{z}{2\sqrt{D_{AB} \cdot t}}\right) \quad [\text{Eq. 110}] \quad \text{avec} \quad \text{erf}(u) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^u e^{-\xi^2} d\xi \quad [\text{Eq. 111}]$$

Une autre manière d'exploiter cette équation est de considérer deux plans séparés d'une distance finie. Nous effectuons l'hypothèse que la partie contenant initialement le soluté ( $h = 2 \text{ mm}$ ) est toujours homogène et donc que  $C(0,t)$  diminue jusqu'à la concentration finale. La concentration finale  $C_f$  dans l'ensemble du volume de la vial est de  $56,16 \text{ mol} \cdot m^{-3}$ . On réduit par un facteur de  $56,16$  cette concentration et on définit une concentration initiale réduite  $C_0$  telle que  $C_0 = C_f \cdot (h+L)/h = 7,5 \cdot C_f$ . L'équation 112 relie la concentration à tout niveau de la vial  $z$  et au temps  $t$  à partir duquel le soluté est dissous et commence à diffuser [BOTTON 04].

$$C(z,t) = C_f \left[ 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \left( \cos\left(\frac{n * \pi * z}{L}\right) \exp\left(\frac{-\pi * n^2 * D_{ab} * t}{L^2}\right) \right) \right] \quad [\text{Eq. 112}]$$

On trace pour chaque niveau  $z$  de la vial la courbe de l'évolution de la concentration au cours du temps dans la figure 45 grâce à la discrétisation de la seconde loi de Fick.

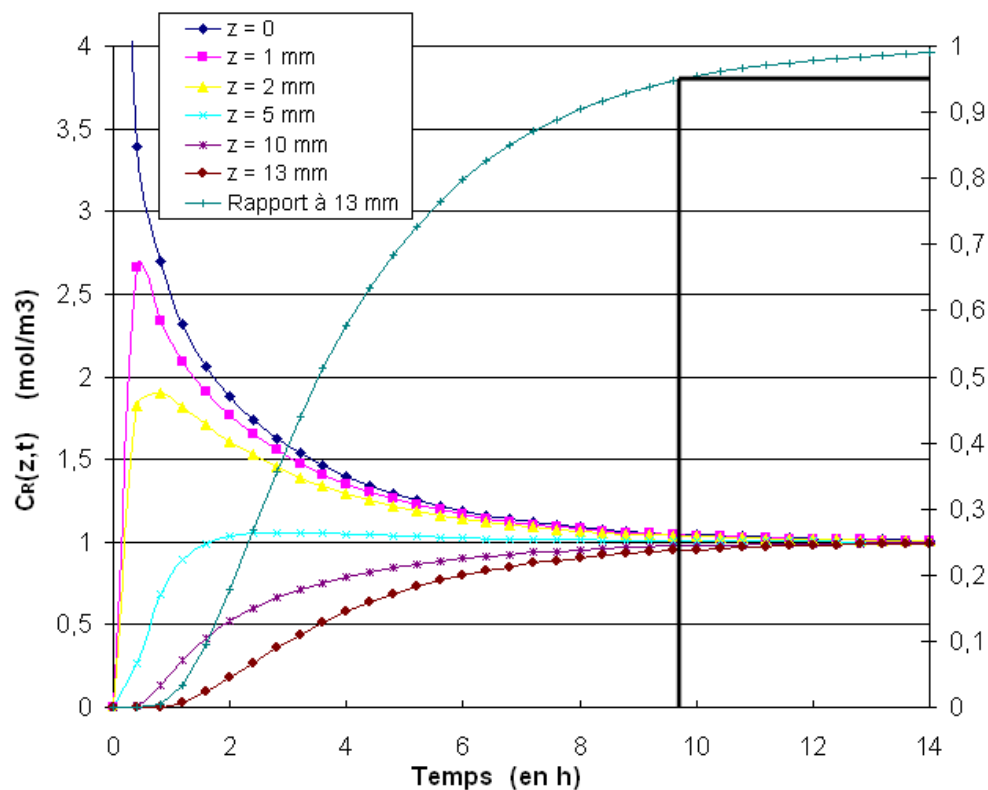


Figure 45 : Calcul de la Concentration entre 2 plans séparés de 13 mm

On regarde particulièrement la courbe correspondant au niveau supérieur du volume à 1,3 cm puis on note le moment où la concentration est à 95% de la concentration finale homogène. Cette détermination se fait sur la feuille de calcul pour 8 heures et 35 minutes. Ce temps important d'homogénéisation montre qu'il faut considérer les mesures en conditions statiques avec soin. Il faut aussi réaliser que les effets de bord ne sont pas pris en compte. Cependant, ce calcul donne un bon ordre de grandeur des limitations d'utilisation des études en conditions statiques une fois que le solide est dissous.

### III. Méthodes de caractérisation des solides

Désormais, nous allons aborder une série de méthodes d'analyse importantes permettant de caractériser les poudres et les cristaux après tous nos essais de cristallisation.

#### III.1.La diffraction des poudres par rayons X

La diffraction des poudres par les rayons X (DRX) est une propriété caractéristique des ondes électromagnétiques. La DRX résulte de l'interaction de ces ondes avec le nuage électronique des cristaux du produit à analyser. Tout atome placé dans un faisceau de rayons X de longueur d'onde  $\lambda$ , diffuse cette radiation dans toutes les directions. Si l'on considère une famille de plans réticulaires (hkl) d'une structure cristalline bien définie [Fig. 46], séparés par une distance inter réticulaire  $d_{hkl}$ , faisant un angle  $\theta$  avec le faisceau incident, l'intensité diffractée dans une direction  $2\theta$  par rapport au faisceau incident, sera maximale si la loi de Bragg est respectée :

$$n * \lambda = 2 * d_{hkl} * \sin(\theta) \quad [\text{Eq. 113}] \quad (n \text{ étant l'ordre de diffraction})$$

Cette loi régit la diffraction des RX dans un milieu cristallin. La mesure va consister à faire varier l'angle d'incidence  $\theta$  du rayonnement X monochromatique et de récolter le signal diffracté. Un diffractogramme correspond donc à une représentation de la variation de l'intensité en fonction de l'angle  $2\theta$ .

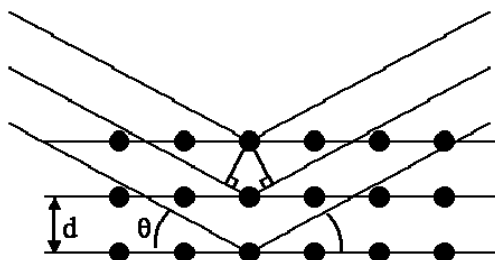
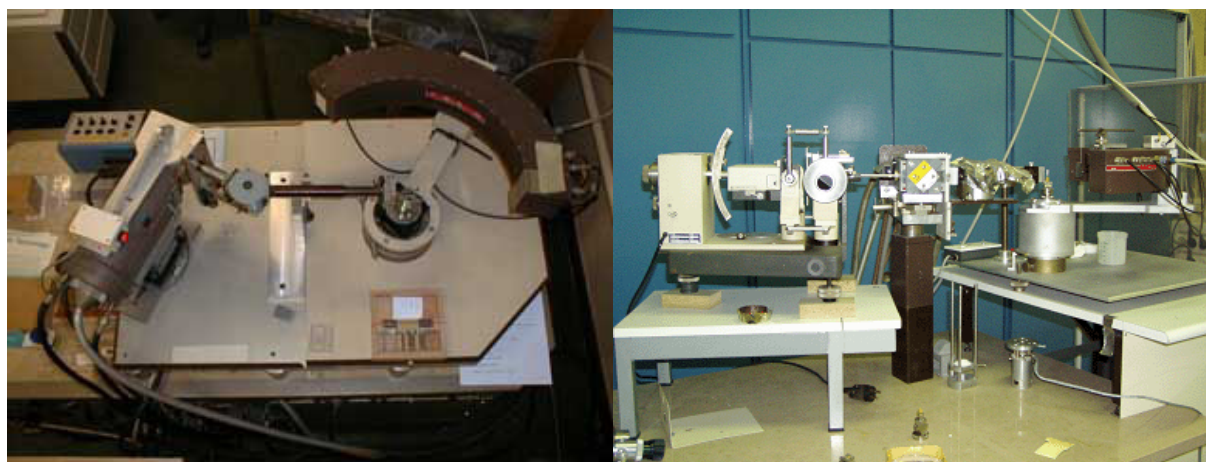


Figure 46 : Plans atomiques d'un cristal séparés de  $d_{hkl}$

Le diffractomètre utilisé au CINaM est du type Debye Scherrer de marque INEL XRG 3000 [Fig. 47 et 48]. Le générateur de rayons X a une anode en Cuivre (longueur d'onde de 1,54 Å) suivie à la sortie du générateur d'un monochromateur de quartz et d'un collimateur. La particularité majeure de l'appareil est son détecteur CPS120 à localisation d'impulsions. C'est un détecteur courbe de  $2\theta = 120^\circ$  composé de 4096 petites cellules placées derrière une fenêtre en Beryllium qui agissent comme des détecteurs propres représentant chacune  $\sim 0,03^\circ$  de l'espace 2D-Courbé. La localisation du courant d'avalanche est faite grâce à la ligne à retard (comparaison du temps que met l'impulsion pour aller de chaque côté du détecteur).

Le générateur émet un signal toutes les secondes pendant une durée fixée par l'utilisateur (classiquement 20 minutes, soit 1200 secondes), la poudre placée dans un capillaire de 0,7mm de diamètre diffracte le faisceau incident et par ionisation de gaz, les différentes cellules de l'arc émettent un signal pour signifier à l'informatique si elles ont été touchées par un rayon diffracté ou pas [DENIARD 09]. L'intensité se mesure ainsi par coups pour chaque cellule, autrement dit pour chaque angle de l'arc de diffraction. Une déviation des résultats de 9/1000 de degré peut être attendue pour une mesure de routine avec l'appareil. Il est important de faire des calibrations régulières du détecteur [DENIARD 91].



Figures 47 et 48 : Diffractomètre INEL du CINaM

Tout au long de l'analyse, le capillaire tourne sur son axe afin de pallier éventuellement à quelques problèmes d'orientation préférentielle des cristaux, ce qui peut se voir sur le cliché de poudres par des différences d'intensité des pics par rapport aux autres.

Nous utilisons au laboratoire les logiciels Windif<sup>®</sup> pour l'acquisition des données, Peakoc<sup>®</sup> pour l'indexation et Winplot<sup>®</sup> pour l'affichage des résultats, ainsi que MS Excel<sup>®</sup>. Nous avons utilisé pour les derniers mois de travail la Suite FullProf (libre de droits) qui est une solution

complète pour l'exploitation des résultats. Les logiciels libres ConvX et PowDLL Converter sont utiles pour transformer le format des fichiers et les utiliser sous des logiciels propriétaires, ce qui est utile pour faire des comparaisons de clichés enregistrés avec des appareils différents.

L'analyse par DRX est sans doute l'outil le plus puissant pour étudier une structure cristalline, et ainsi différencier les polymorphes ou solvates d'un même produit. Le diffractogramme d'une poudre fournit trois types d'informations :

- La position angulaire des pics de diffraction, fonction de la géométrie et de la taille de la maille cristalline.
- L'intensité des pics de diffraction, qui dépend de la nature et de l'arrangement des atomes ainsi que de l'orientation des particules.
- La forme des pics de diffraction qui est fonction de l'élargissement lié à l'instrument, des dimensions des particules et des contraintes.

D'autre part, un diffractogramme sans pic, mais sous forme d'un halo est significatif d'un produit amorphe. Il est possible de savoir plus rapidement si un produit est amorphe ou cristallin avec l'utilisation de polariseurs croisés (hors cristaux à symétrie cubique).

À partir de diffractogrammes, il est possible d'indexer les pics pour déterminer les paramètres et affiner les structures pour effectuer une exploitation plus riche du diffractogramme si celui-ci est de qualité. La méthode de Rietveld est basée sur un modèle mathématique qui permet de faire de la quantification pour un mélange de phases à partir de paramètres globaux (caractéristiques du diffractomètre, fond continu) et de paramètres dépendant des phases (position des pics de Bragg, forme et largeur des réflexions, Intensité des pics) [BORDET 09\_A].

Il est également possible d'approcher une structure cristalline d'un échantillon de poudre si le diffractogramme est de très bonne qualité (pureté chimique, pics fins). On parle de détermination *ab initio*. Pour cela, l'indexation des pics permet de déterminer les paramètres de maille, l'indexation des intensités permet éventuellement d'obtenir une structure à affiner par des modèles mathématiques complexes. [BORDET 09\_B].

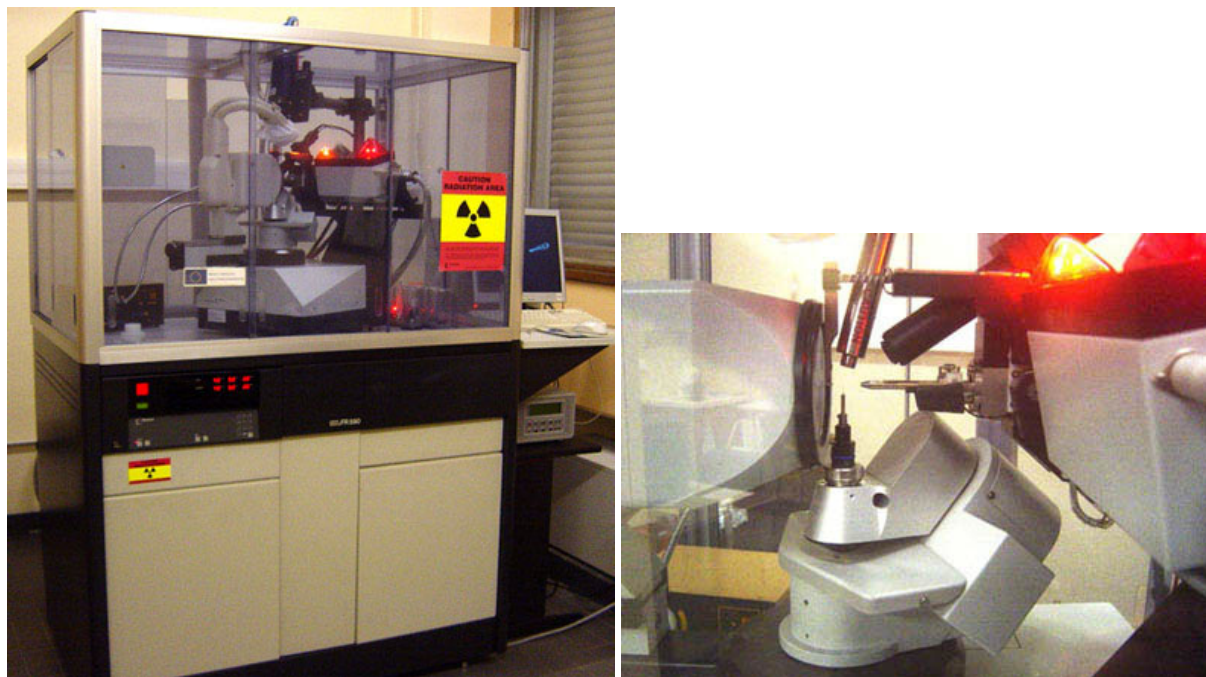
Autrement, l'analyse complète d'une structure cristalline se fait à partir d'un échantillon monocristallin avec un appareil de diffraction par rayons X spécifique.

### **III.2. L'analyse de monocristaux par rayons X**

Une fois que nous avons pu obtenir au moins un monocristal d'une phase particulière (50 $\mu$ m de longueur minimum sur les 3 dimensions) il est possible de le faire analyser au spectropôle de Saint Jérôme. L'appareil est un diffractomètre Bruker-Nonius (générateur FR590 et anode au Molybdène) [Fig. 49] équipé d'un goniomètre 4 cercles et détecteur 2D Kappa CCD [Fig. 50].

Cette technique repose sur l'enregistrement des intensités diffractées par un monocristal soumis à un rayonnement X dans toutes les directions de l'espace. La durée moyenne des mesures est de moins de 2 heures, même avec un cristal de quelques centièmes de millimètres. Les informations obtenues permettent de déterminer la structure cristalline, la position et la conformation de la molécule dans la maille, ainsi que l'empilement cristallin.

L'exploitation au laboratoire des données structurales (maille cristalline, groupe d'espace, coordonnées des atomes) en .cif se fait avec le logiciel Mercury<sup>®</sup>.



Figures 49 et 50 : Diffractomètre Bruker-Nonius, goniomètre 4 cercles et capteur CCD Kappa

### **III.3. L'analyse calorimétrique différentielle**

Lauréat du concours académique Mettler [METTLER 08], j'ai gagné un appareil DSC-1 (~45 k€) équipé d'un four et d'un Intracooler permettant de travailler entre  $-100^{\circ}\text{C}$  à  $500^{\circ}\text{C}$ , d'un passeur automatique d'échantillons et d'un capteur haute sensibilité HSS7 (~3 k€/capteur) [Fig. 51]. J'ai ensuite réalisé la mise en route de l'appareil et rédigé les guides de fonctionnement destinés à tous les utilisateurs après avoir fait un tour d'ensemble des variables de mesure et de leur impact sur la qualité de mesure. J'ai aussi écrit un guide complet pour la calibration de l'appareil.



Figure 51 : Photo de l'appareil DSC1 Mettler Toledo

### III.3.1. Principe et intérêt

La DSC (Differential Scanning Calorimetry) est un appareil de Calorimétrie Différentielle à Balayage. Elle sert à étudier les transitions thermiques d'un matériau en enregistrant les changements enthalpiques que subissent un échantillon et une référence [Fig. 52] inerte quand ils sont soumis à une variation de température. Elle permet à la fois une mesure quantitative et une mesure qualitative avec l'utilisation du principe de la compensation de puissance. La différence de puissance entre deux boucles de contrôle, nécessaire au respect de l'égalité de température entre l'échantillon et la référence, correspond au signal calorimétrique [Eq. 114] :

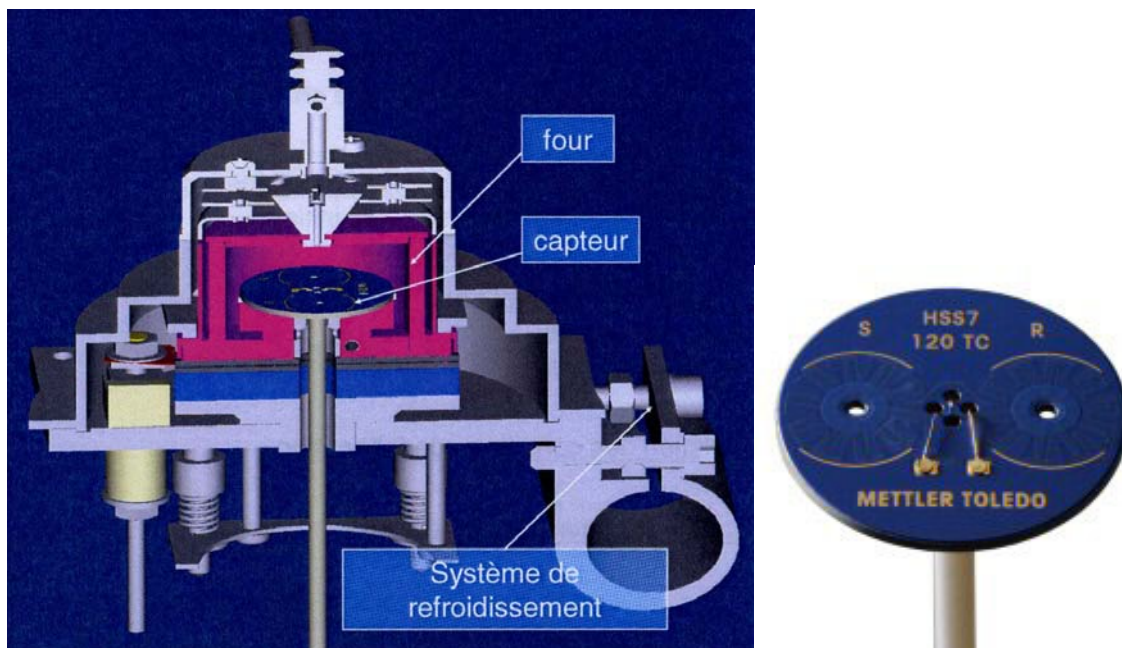
$$\frac{dH}{dt} = \frac{dQ_{ech}}{dt} - \frac{dQ_{réf}}{dt} \quad [\text{Eq. 114}]$$

Cette grandeur sera tracée en fonction de la température ou du temps. Ce système permet donc de mesurer l'énergie d'un phénomène, en Joules, en plus de la température à laquelle il se produit. La mesure que la DSC effectue est la valeur du flux thermique nécessaire pour que la température de l'échantillon augmente ou diminue à une vitesse choisie. Ce flux thermique est directement proportionnel à la capacité calorifique du matériau à une température donnée.

$$\frac{dH/dt}{dT/dt} = \frac{dH}{dT} = C_p \quad [\text{Eq. 115}]$$

- $dH/dt$  : Flux de chaleur ( $J.s^{-1}$ )
- $dT/dt$  : Vitesse de chauffe ( $K.s^{-1}$ )
- $C_p$  : Capacité calorifique ( $J.K^{-1}$ )

Le capteur HSS7 [Fig. 53] de l'appareil est un capteur céramique avec 120 thermocouples répartis sur 3 couches qui augmentent la sensibilité et diminuent le bruit à quelques centaines de nano watts pour offrir des performances proches d'une  $\mu$ DSC [METTLER 09].



Figures 52 et 53 : Représentation d'une tête d'analyse de DSC et Photo d'un capteur HSS7 [METTLER 09]

### III.3.2. Mesures qualitatives

Si un matériau soumis à une température se réorganise, il a gagné assez d'énergie pour entrer dans des arrangements ordonnés : l'état cristallin. Il expulse alors de la chaleur, la cristallisation est ici exothermique ( $\Delta H_c$  négatif) [Fig. 54]. Si on continue à chauffer le matériau, la chaleur peut conduire à son démantèlement, c'est une transition thermique : la fusion ( $\Delta H_f$  négatif) [Fig. 55]. Il prend l'énergie fournie par le système, la fusion est endothermique.

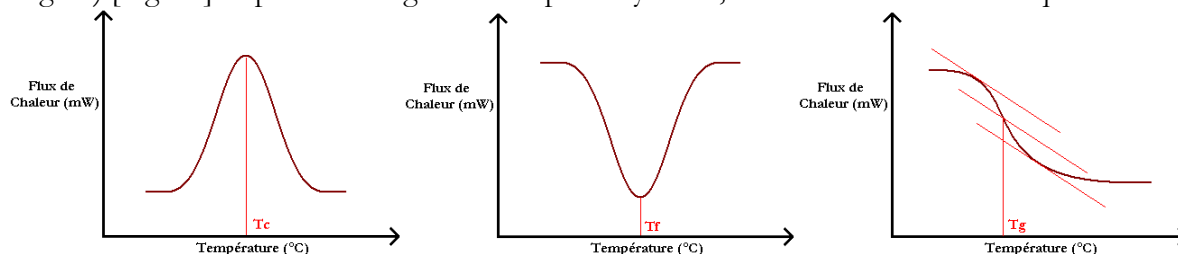


Figure 54, 55 et 56 : Principe calorimétrique d'une cristallisation, d'une fusion et d'une transition vitreuse

Dans le cas où au cours du chauffage, le signal calorimétrique subit une chute, il se passe au cœur du matériau une réorganisation structurale appelée transition vitreuse [Fig. 56]. La capacité calorifique du matériau varie ainsi que ses propriétés mécaniques (coefficient de dilatation, module d'élasticité...) Très utilisée pour étudier les matières plastiques, elle peut être utile dans certains cas pour les poudres organiques afin de détecter une quantité importante de produit amorphe dans l'échantillon. On utilise le point de demi-vitrification pour définir  $T_g$ . Il a été montré qu'en général,  $T_g$  est proche de  $\sim 1,6 * T_f$  ( $T$  en Kelvin) [CHAREYRON 03].

Techniquement, la mesure d'un point de fusion à l'aide du logiciel STARE<sup>®</sup> de Mettler Toledo se fait en choisissant une zone d'intégration et un type de ligne de base (plate, courbée...). La température de fusion correspond à  $T_{onset}$  (là où débute le phénomène) qui en fait la coupure de la ligne de base à la première tangente du pic. L'appareil peut déterminer une température au sommet du pic ou encore une température extrapolée à l'intersection des deux tangentes quand le pic n'est pas symétrique.

Nous pouvons jouer sur une multitude de paramètres pour jouer sur la qualité des mesures en DSC parmi lesquels : la calibration, la soustraction de la courbe à blanc pour l'exploitation, le perçage du couvercle, l'atmosphère du four, le type de creuset, la quantité de produits, la gamme de température, la vitesse de chauffe, le broyage du solide avant analyse, le séchage du solide et l'utilisation d'allers-retours en température. Parfois, les analyses sont réalisées sous balayage d'un gaz comme l'air ou un gaz inerte (l'azote ou l'argon) pour éviter toute réaction du matériau à étudier avec l'atmosphère du four.

### III.3.3. Mesures quantitatives

La pureté chimique d'un API peut être mesurée par DSC. La température de fusion est abaissée par la présence d'impuretés. Si l'on connaît la température et l'enthalpie de fusion de l'API 100% pur, la mesure de la température de fusion d'un mélange  $T_{fm}$  permet de calculer la fraction molaire d'impuretés  $x_i$  par la relation de van't Hoff simplifiée [Eq. 116] [CHAREYRON 03] :

$$T_{fm} = T_f - \frac{R * T_f^2}{\Delta H_f} * x_i \quad [\text{Eq. 116}]$$

Pour un échantillon de PET (Polyéthylène Téréphtalate), l'enthalpie de fusion d'un échantillon 100% cristallin est de 145 J.g<sup>-1</sup>. Si un échantillon de PET contient une partie non cristalline, on observera une cristallisation autour de ~145°C avant la fusion de l'échantillon à ~240°C. La pureté cristalline de l'échantillon  $\chi$  se calcule à l'aide de l'équation 117 [METTLER 09]:

$$\chi = \frac{\Delta H_f - \Delta H_c}{\Delta H_f(100\%)} \quad [\text{Eq. 117}]$$

La mesure de la pureté cristalline d'un API peut également être approchée avec la mesure de l'enthalpie de fusion de l'échantillon, faut-il encore connaître la valeur de référence d'un échantillon 100% cristallin.

Si, dans la littérature nous avons vu que la DSC était un outil couramment utilisé pour mesurer la pureté chimique d'un API dans l'industrie [GIRON 99], elle l'est beaucoup moins pour évaluer la pureté cristalline. Enfin, nous avons relevé que la DSC pouvait être une solution pour mesurer la solubilité du soluté dans un solvant comme la protéine lysozyme dans l'eau [LU 03]. Ces mesures nécessitent un travail important en amont pour travailler avec des suspensions ou des solutions dans les creusets DSC.

### III.3.4. Relation entre enthalpie de fusion et de dissolution

Comme la DSC permet de mesurer précisément l'enthalpie de fusion d'un API et que nous pouvons extrapoler l'enthalpie de dissolution de cet API dans un solvant grâce aux équations 12 et 101, nous nous intéressons à une relation thermodynamique entre ces deux valeurs [VEESLER 97].

La variation d'enthalpie de la réaction de dissolution,  $\Delta H_{\text{dis}}$ , d'un composé est égale à la chaleur de la réaction de dissolution à pression constante, au signe près.  $\Delta H_{\text{dis}}$  représente une quantité différentielle, un changement d'enthalpie quand 1 mole de soluté est ajoutée à un volume infini d'une solution presque saturée. Dans une solution idéale diluée, les fonctions thermodynamiques comme les volumes, les entropies et les enthalpies partielles sont égales à leurs valeurs à dilution infinie, soit  $H^1 = H^1_{\infty}$ .

La dissolution d'un composé n'a lieu que si les liaisons de type solvant-solvant et soluté-soluté (dans le cristal) peuvent être remplacées par des liaisons solvant-soluté. Selon le type de liaison créée ou rompue, la réaction de dissolution sera endothermique ou exothermique, l'enthalpie de dissolution est fonction du solvant. L'enthalpie de dissolution est reliée à l'enthalpie de fusion  $\Delta H_f$ , à la capacité calorifique entre le solide et le liquide  $\Delta C_p$ , et un terme d'excès d'enthalpie  $\Delta H^E$  selon l'équation 118 :

$$\Delta H_{\text{diss}} = \Delta H_f + \Delta C_p * (T - T_{\text{fus}}) + \Delta H^E \quad [\text{Eq. 118}]$$

L'excès d'enthalpie  $\Delta H^E$  contient un terme de mélange (solvant-soluté) et un terme relié à l'état de dissociation du soluté. En annexe E est donné un tableau complet pour les valeurs de l'enthalpie d'excès dans les mélanges Eau + Ethanol à différentes températures [LARKIN 75]. L'utilisation de ces valeurs sera importante pour l'exploitation des données thermodynamiques,

### III.4. Observation de la fusion dans un capillaire

À l'aide d'un appareil Electrothermal Digital 9100 [Fig. 57], il est possible d'observer dans un capillaire de 1mm de diamètre le comportement d'un échantillon solide soumis à une haute température. L'intérieur du four pouvant contenir 3 capillaires, à température contrôlée, est observable par un dispositif optique. Ainsi, il est aisé de déterminer la température de fusion d'une poudre. Cet appareil est proche, dans son principe, d'un banc Kofler. C'est un outil complémentaire à la DSC et à la thermogravimétrie.



Figure 57: Appareil Electrothermal Digital 9100

### III.5. La thermogravimétrie

Nous avons établi un contact avec l'IUT de Chimie de Marseille pour mettre en fonctionnement un nouvel appareil non utilisé à l'IUT et faire des analyses sur nos produits. Cet appareil de thermogravimétrie TGQ4000 de marque Perkin Elmer [Fig.58] repose sur un principe simple : une microbalance est placée dans un four et l'appareil enregistre l'évolution de la masse d'un échantillon au cours du temps pendant que le four impose une température (rampes, paliers, sauts) à l'échantillon.

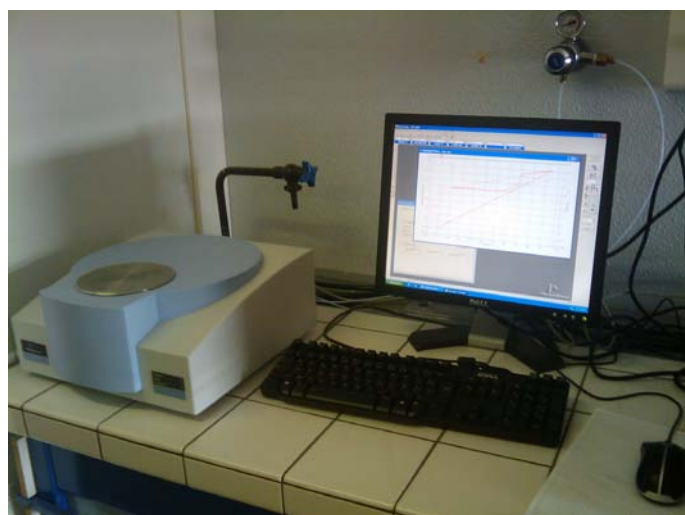


Figure 58: Appareil TGA4000 Perkin Elmer de l'IUT Chimie de Marseille

Les températures balayées par le four vont de 40°C à 900°C à la vitesse désirée. La température finale est très élevée, ce qui est inutile pour l'analyse de poudres organiques, mais cela permet de faire une pyrolyse de suite après l'analyse pour nettoyer le godet en céramique.

### III.6. La microscopie électronique à balayage

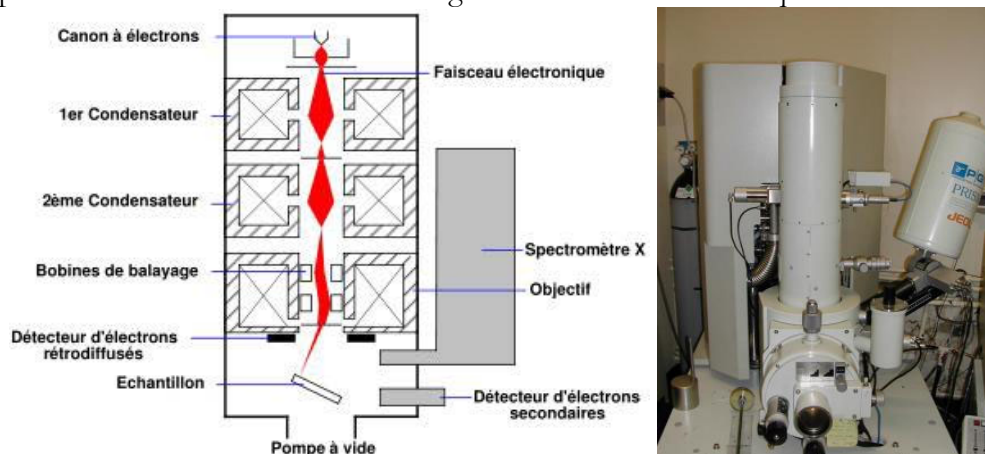
Le CINaM dispose d'un microscope électronique à balayage (MEB, SEM en anglais pour Scanning Electron Microscope) haute résolution Jeol JSM-6320F, dont une photo est jointe en figure 59. La résolution de cet appareil est de 1,2 nm sous 15kV et de 2,5 nm sous 1kV. Le grandissement va de \*25 à \*2000 en mode résolution moyenne et de \*500 à \*650000 en mode haute résolution.



Figure 59 : Photographie du MEB Jeol JSM-6320F

Un microscope électronique à balayage est essentiellement composé d'un canon à électrons et d'une colonne électronique dont la fonction est de produire une sonde électronique fine sur l'échantillon, d'une platine porte-objet permettant de déplacer l'échantillon dans les trois directions et de détecteurs permettant de détecter et d'analyser les rayonnements émis par l'échantillon. En outre, l'appareil doit nécessairement être équipé d'un système de pompes à vide. L'un des avantages du rayonnement électronique est sa faible longueur d'onde, qui permet d'obtenir une excellente résolution associée [KOCIAC 07].

La figure 60 illustre le schéma de principe d'un MEB : une sonde électronique fine (faisceau d'électrons) est projetée sur l'échantillon à analyser. L'interaction entre la sonde électronique et l'échantillon génère des électrons secondaires, de basse énergie qui sont accélérés vers un détecteur d'électrons secondaires qui amplifie le signal. À chaque point d'impact correspond un signal électrique. L'intensité de ce signal électrique dépend à la fois de la nature de l'échantillon au point d'impact qui détermine le rendement en électrons secondaires et de la topographie de l'échantillon au point considéré. Il est ainsi possible, en balayant le faisceau sur l'échantillon, d'obtenir une cartographie de la zone balayée. Dans les MEB modernes [Fig. 61], la cartographie d'électrons secondaires est enregistrée sous forme numérique.



Figures 60 et 61: Schéma et photographie du MEB équipé d'un détecteur de rayons X

La nature de l'échantillon est importante, elle doit pouvoir réfléchir les électrons. Nos échantillons étant tous des poudres, ils sont isolants. Or, seuls les échantillons conducteurs réfléchissent naturellement les électrons. Ainsi, nous devons métalliser nos échantillons, posés sur des plots métalliques, par un dépôt d'or. Cette manipulation se fait rapidement grâce à un phénomène d'arc plasma dans une cloche sous vide poussé, avec une base dorée [Fig. 62 et 63].



Figure 62 et 63 : Métalliseur Jeol et sa cloche d'évaporation

### III.7. La microscopie à force atomique

La microscopie à force atomique permet d'observer l'état de surface des cristaux. Cette technique donne une représentation tridimensionnelle de la surface de l'objet, on parle de topographie. Elle permet de déterminer les propriétés physico-chimiques de l'échantillon (nature des faces, mécanismes de croissance...). S'il est possible d'étudier des cristaux en suspension, nous n'avons travaillé uniquement avec des cristaux secs, collés à un plot avec un scotch double face.

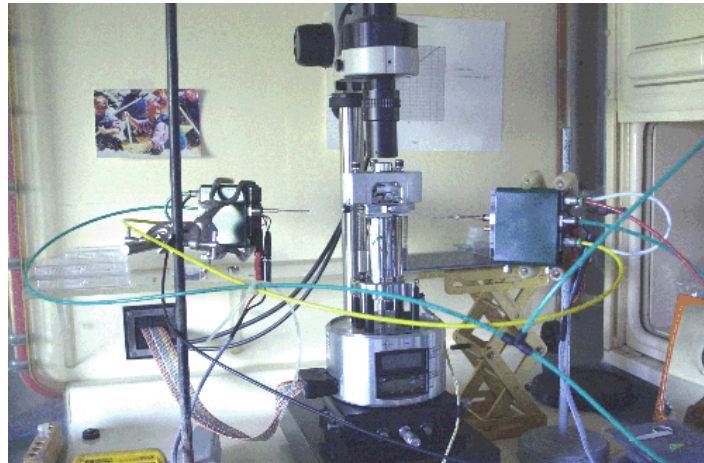


Figure 64 : Microscope à force atomique

Ce microscope est un Nanoscope III [Fig. 64], équipé d'un scanner de 12 ou de 120  $\mu\text{m}$  avec une pointe en  $\text{Si}_3\text{Na}_4$ . Le principe est basé sur la détection des forces interatomiques entre les atomes de l'échantillon et ceux de la pointe du microscope. Les forces exercées sur la pointe augmentent quand celle-ci s'approche de la surface du cristal [Fig. 65]. En fonction de cette distance, différentes forces interviennent, comme les forces à grande distance (supérieures à 1 nm) : les forces capillaires, électrostatiques et de van der Waals ; puis les forces à courte distance, inférieures à 1 nm de type Coulombiennes.

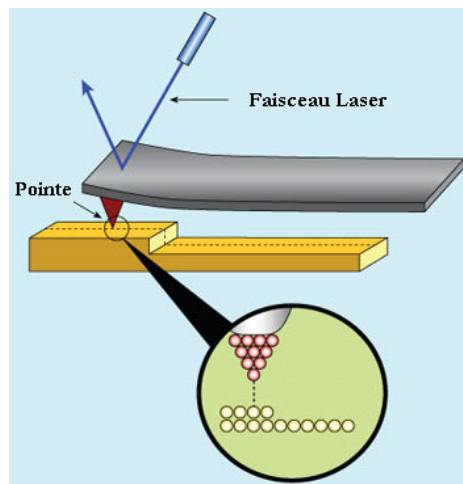


Figure 65 : Schéma de fonctionnement d'une pointe d'AFM

Le balayage de la surface de l'échantillon est réalisé par une pointe associée à un micro levier dont la constante de raideur est très faible et la fréquence de résonance élevée. Les déplacements dans les trois directions de l'espace de l'échantillon sont contrôlés par trois céramiques piézoélectriques (sensibilité inférieure à 1 nm/V). Les déplacements de la pointe sont mesurés grâce à un laser focalisé à l'extrémité du levier. La réflexion de celui-ci sur un photodétecteur constitué de quatre cellules photoélectriques permet de détecter les mouvements de la pointe à la surface de l'échantillon.

#### IV. Les réacteurs de cristallisation

Nous avons utilisé pendant les 3 années de thèse deux réacteurs de petite taille (100 à 140mL de volume utile), avec des dimensions les plus proches possible des caractéristiques homothétiques. Ces réacteurs ne sont pas rigoureusement les mêmes et permettent des suivis différents : pH et photos *ex situ* pour le réacteur du CINaM, suivi FBRM et vidéo *in situ* pour le réacteur du LAGEP.

##### IV.1. Le réacteur du CINaM

Nous avons mis en place au CINaM, même si ce n'est pas la vocation première du laboratoire que d'aborder des problèmes d'hydrodynamique, un montage complet pour faire de la cristallisation dans un réacteur agité. Notre réacteur a un diamètre interne de 60 mm et une hauteur totale de 120 mm. Sa double enveloppe est alimentée par de l'eau thermostatée par un bain de marque Huber. Le contrôle et l'acquisition de la température interne du réacteur se font par informatique via le logiciel propriétaire SpyControl Evaluation®. Après de nombreux essais, nous avons optimisé notre système pour pallier à quelques problèmes :

- L'agitateur et les contrepales ont été recouverts d'un matériau pour protéger de l'attaque de l'acide chlorhydrique sur l'acier. Pour cela, l'entreprise APS Aquitaine a utilisé un revêtement Halar Ectfe qui est un polymère fluoré offrant une bonne combinaison entre la résistance chimique et de bonnes résistances mécaniques [Fig. 66].
- Nous avons dessiné et fait refaire par un verrier le ciel de notre réacteur pour plusieurs raisons : tout d'abord pour éviter quelques problèmes d'étanchéité à la fermeture du réacteur. Ensuite, pour réduire la distance entre les cols rôdés et le cœur du réacteur, nous avons opté pour une solution peu courante de faire fabriquer un ciel quadricol avec 2 cols de 14 mm rentrants dans le réacteur et non sortants de celui-ci. Le troisième col est un col classique de 14 mm pour le condenseur et le quatrième est un col de type GL 22 [Fig.

67]. Ceci permet de plonger correctement des sondes de longueur limitée (pH, conductimétrie) au cœur de la suspension, dans des conditions satisfaisantes d'étanchéité. Enfin, comme notre réacteur est petit, l'encombrement autour de la tige d'agitation est important pour pouvoir utiliser les 4 cols en même temps. Nous avons dessiné des accessoires coudés ou allongés pour travailler dans de bonnes conditions et faire en sorte que le liquide de l'ampoule de coulée tombe dans le cœur du réacteur, sans couler sur la paroi [Fig. 68].



Figures 66, 67 et 68 : Photos de l'agitateur métallique et des contrepales avant et après recouvrement par un polymère protecteur, du ciel du réacteur et des accessoires en verres

Le multimètre 4 canaux / pH-mètre de marque Eutech est relié à un ordinateur pour enregistrer les données à intervalles de temps constants. Pour l'exploitation, il est aisé de coupler le suivi de la température (consigne, température du bain, température du réacteur) et le suivi du pH. L'ensemble est placé sous dans une table/boîte, que l'on peut fermer avec une sortie aspirante pour travailler en sécurité [Fig. 69].



Figure 69 : Photo du montage au laboratoire

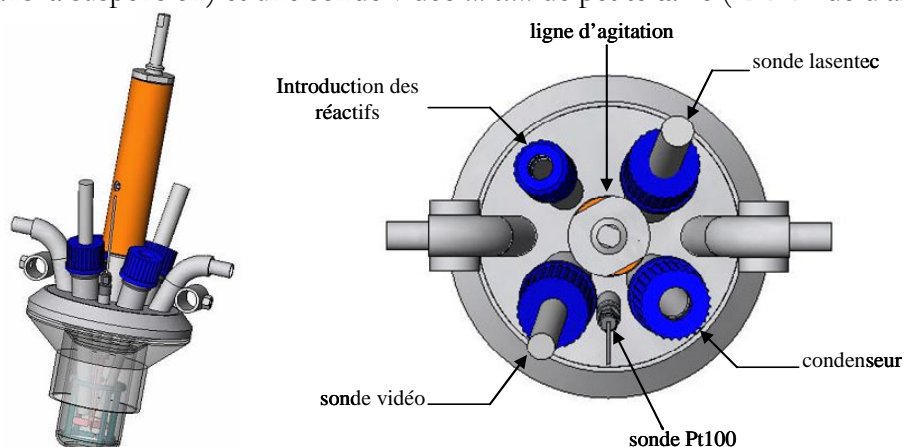
#### **IV.2. Notes sur les prises de photos *ex situ***

La prise de photos au microscope optique, pour des particules sèches sur une lame de verre n'est pas toujours adaptée l'obtention de photos de qualité. L'idéal est de recouvrir les échantillons solides d'une goutte d'huile de paraffine et d'une lamelle de verre. Dans ces conditions, la paraffine n'interagit pas avec l'échantillon et celui-ci ne bougera pas, ce qui permet de revenir plus tard sur la lame de verre pour une autre observation.

L'observation du prélèvement d'un peu de suspension dans un réacteur agité est à faire avec soin. En effet, le solvant s'évapore rapidement et en dépit du recouvrement de la goutte de suspension sur une lame par une lamelle de verre, le solvant a tendance à migrer vers les extrémités de la lame, nous n'avons en général qu'un peu moins d'une minute pour enregistrer une série d'images. Enfin, selon les cristaux, le départ de solvant peut dénaturer totalement le faciès en suspension : un oursin d'aiguilles se transforme en une sorte de boule mal définie au moment où le solvant s'évapore.

### IV.3. Le réacteur du LAGEP

Le LAGEP est équipé d'un réacteur de 100mL dans lequel il est possible d'utiliser une sonde FBRM Lasentec de petite taille (14 mm de diamètre en partie haute, 8 mm en partie basse, plongée dans la suspension) et une sonde vidéo *in situ* de petite taille (12 mm de diamètre).



Figures 70 et 71 : Vue en 3D de l'ensemble du réacteur et du couvercle [GAGNIERE 09]

Ce réacteur de petite taille [Fig. 70] a été récemment monté par les équipes du LAGEP pour travailler avec de très faibles quantités de soluté afin de pallier à une contrainte courante dans le développement pharmaceutique. Le couvercle de ce réacteur est un couvercle plat en Inox 316L, thermostaté par circulation interne de fluide caloporteur (en série sur la double enveloppe de la cuve). Ce couvercle est principalement constitué de 6 éléments [Fig. 71] :

- Piquage pour le condenseur à reflux (Ø diamètre de 10 mm)
- Piquage pour l'introduction des réactifs (Ø diamètre de 10 mm)
- Piquage pour la sonde de température PT100 (Ø diamètre de 1,6 mm)
- Passage de sonde pour la sonde vidéo *in situ* (Ø diamètre de 12 mm)
- Passage de sonde pour la sonde FBRM (Ø diamètre de 14 mm)
- Ligne d'agitation composée en partie haute, d'un arbre en inox dans le guide d'agitation à roulement avec garniture mécanique pour l'étanchéité, et en partie basse, d'un mobile et d'un arbre d'agitation en verre monté sur un manchon d'accouplement en inox vissé sur l'arbre moteur.

La conception a été réalisée à partir de dessins industriels 3D et d'une maquette, afin de définir précisément les positions des piquages pour que les 2 sondes ne soient pas en contact avec l'arbre d'agitation, la paroi interne du cristalliseur ou les contre-pales. La cuve en verre du réacteur [Fig. 72], conçue par VS Technologie, possède une double enveloppe chicanée par un serpentin, à entrée et sortie tangentielles de fluide caloporteur. Étant donné le nombre d'éléments importants à introduire dans le réacteur, la cuve est élargie en partie haute du couvercle. La zone réactionnelle de 100mL se situe dans la partie inférieure et vérifie le critère de dimensionnement Hauteur de liquide = Diamètre = 50,4 mm.

L'agitateur est une hélice de type Mixel TT [Fig. 74], il a un diamètre de 30,24 mm. Sur le manchon en acier inox est collée la tige en verre, parfaitement centrée. La fragilité de cet agitateur est importante, il faut l'utiliser avec grand soin lors de l'ouverture et de la fermeture du réacteur.



Figures 72, 73 et 74 : Photos de la cuve, des contrepaies et de l'agitateur en verre

Les images des figures 75 et 76 permettent de voir quel est l'encombrement des sondes FBRM, vidéo *in situ* et de température dans le réacteur sans contrepaies respectivement pour 100mL de suspension non agitée puis 125mL de suspension agitée (on devine l'emplacement de la sonde vidéo par la source lumineuse au cœur de la suspension sur la figure 76).



Figures 75 et 76 : Photos des 3 sondes dans le réacteur, avant et pendant l'agitation

#### **IV.4. Calculs à partir de la vitesse d'agitation**

La figure 77 montre un schéma d'un réacteur homothétique répondant aux cotes diamètre interne du réacteur = hauteur de liquide ( $T = H$ ) et diamètre de l'agitateur =  $0,6 * \text{le diamètre interne du réacteur}$  ( $D = 0,6 * T$ ). Les mesures sur nos 2 réacteurs [Tableau 9] respectent ces règles. Le réacteur du CINaM est à peine plus grand que celui du LAGEP.

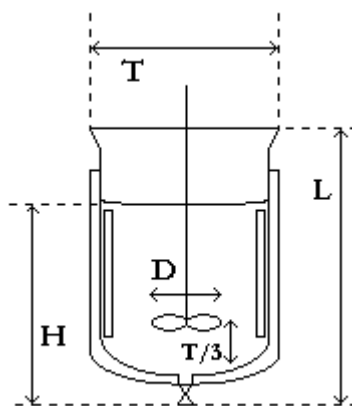


Figure 77 : Schéma d'un réacteur homothétique

Dimensions	Réacteur CINaM	Réacteur LAGEP
Hauteur du volume utile H	60 mm	50,4 mm
Hauteur du réacteur L	120 mm	90 mm
Diamètre interne du réacteur T	60 mm	50,4 mm
Diamètre de l'agitateur D	36 mm	30,24 mm

Tableau 9 : Dimensions des 2 réacteurs

Les agitateurs sont des hélices à 3 pales à profil mince du type Mixel TT [ROUSTAN 91]. On précise avant toute chose que les dimensions de l'agitateur du CINaM ne sont pas parfaites car la longueur des pales est gênée par l'épaisseur importante de la tige d'agitation, le recouvrement d'une couche de polymère n'ayant pas amélioré la minceur du profil.

On calcule le nombre de Reynolds [Eq. 119] dans un réacteur agité pour 2 valeurs d'agitation différentes [Tableau 10]. Celui-ci nous indique grâce à l'abaque  $N_p = f(Re)$  jointe en annexe F que nous travaillons en régime turbulent ( $Re > 3000$ ) et nous pouvons en tirer le nombre de puissance  $N_p$  de l'agitateur.

$$Re = \frac{\rho * N * D^2}{\mu} \quad [Eq. 119] \quad P = N_p * \rho * N^3 * D^5 \quad [Eq. 120] \quad V_{bp} = \pi * N * D \quad [Eq. 121]$$

Nos deux références bibliographiques [ROUSTAN 91] et [LIETO 98] nous précisent que le nombre de puissance en agitation turbulente d'une hélice du type Mixel TT est égal à 1. À partir de là, nous calculons la puissance dispersée par l'agitateur [Eq. 120], la puissance dispersée par unité de masse et la vitesse en bout de pale [Eq. 121].

Pour ces calculs, nous avons fait utilisé la masse volumique et la viscosité de l'éthanol à 20°C (respectivement 791 kg.m<sup>-3</sup> et 1,20 Kg.m<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>), ce n'est pas probablement le cas car nous travaillons dans un solvant EtOH/Eau 90/10 avec une quantité non négligeable d'API, ceci a un impact certain sur la masse volumique (plus élevée) et la viscosité, mais notre approche est qualitative et a pour objectif de proposer des ordres de grandeur. Le rapport puissance par unité de masse se fait sur la base de 100mL d'éthanol. Nous avons utilisé deux vitesses d'agitation : 450 rpm et 650 rpm. Les résultats sont donnés dans le tableau 10.

	CINaM - 1	CINaM - 2	LAGEP - 1	LAGEP - 2
Vitesse d'agitation N(en trs.min <sup>-1</sup> )	450	650	450	650
Diamètre de l'agitateur (en m)	0,036	0,036	0,03024	0,03024
Nombre de Reynolds Re	6047	9254	4520	6530
Nombre de Puissance N <sub>p</sub>	1	1	1	1
Puissance dispersée P (en W)	0,020	0,060	0,008	0,025
Puissance / U. de masse (en W.kg <sup>-1</sup> )	0,255	0,768	0,106	0,321
Vitesse en bout de pale V <sub>bp</sub> (en m.s <sup>-1</sup> )	0,84	1,22	0,71	1,02

Tableau 10 : Calculs des nombres de Reynolds et de la puissance dispersée P

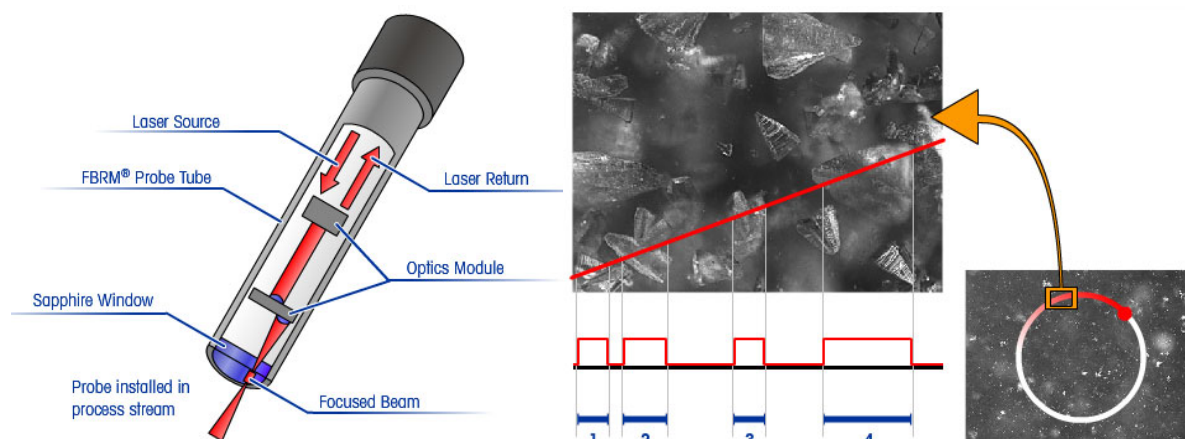
On observe bien dans les résultats de puissance dispersée que le diamètre est à une puissance élevée (puissance 5) car la différence *a priori* minime entre les diamètres des agitateurs a un impact fort sur la puissance dissipée. Il en est de même pour la vitesse d'agitation (à la puissance 5 pour le calcul de la puissance dispersée). Typiquement, la puissance par unité de masse doit être comprise entre 0,3 et 0,5 W.kg<sup>-1</sup> pour une bonne agitation en cristallisation. Par ce simple calcul, on réalise alors que 450 rpm est une valeur un peu faible pour le réacteur du LAGEP et juste acceptable pour le réacteur du CINaM. Cependant, nous sommes limités par la fragilité des installations, qui vibrent beaucoup si l'agitation est trop forte. En annexe G, est donné brièvement quelques conseils pour intrapoler/extrapoler les vitesses d'agitation entre deux réacteurs homothétiques, équipés du même type d'agitateur.

## V. Les mesures *in situ*

Le réacteur du LAGEP permet de faire en même temps des mesures dans le milieu réactionnel avec la sonde FBRM et une sonde de visualisation *in situ*, en plus de la température. Le suivi *in situ* réalisé au CINaM concerne quelques essais de mesure du pH de la solution puis de la suspension agitée. L'utilisation de l'appareil de diffusion des rayons X aux petits et moyens angles peut être assimilée dans notre cas à une mesure *in situ* étant donné que nous avons cherché à reproduire les conditions types du procédé de cristallisation.

### V.1. Les mesures FBRM avec la sonde Lasentec®

La sonde FBRM Lasentec® est un appareil de réflectance laser (Focused Beam Reflectance Measurement) commercialisé par Mettler Toledo. Le modèle original est muni d'une sonde de 24 mm de diamètre, relié à un boîtier de commande électronique. Un filet d'air comprimé permet d'actionner un module optique afin de faire tourner l'émission laser [Fig. 78]. L'air est préalablement filtré afin de ne pas encrasser le système. Un modèle plus récent de sonde avec un diamètre de 12 mm est adapté aux petits réacteurs. La rotation du système optique se fait par un système de roulement à billes. L'émission laser est concentrée sur un plan focal parallèle à l'extrémité de la sonde et détecte ou non si une particule se trouve dans le champ d'analyse. La rotation du faisceau permet de balayer toute la zone à proximité du bout de la sonde [Fig. 79].



Figures 78 et 79 : Principe de mesure d'une sonde FBRM, mesure d'une corde de particule

Une sonde FBRM permet de compter le nombre de particules dans le champ de mesure ainsi que l'évolution au cours du temps d'une distribution en longueur de cordes. Les mesures avec cet appareil sont reproductibles et la comparaison quantitative des résultats pour un même réacteur sont possibles si les mesures ont été faites dans les mêmes conditions d'étalonnage. Cette technologie fournit deux types de mesures au cours du temps : un comptage du nombre de particules dans le champ de mesure, ainsi que l'évolution d'une distribution en nombre de longueurs de cordes. Les mesures sont en général très reproductibles.

Un souci de l'appareillage est qu'il mesure en fait des longueurs de corde et non des tailles de particules. Si les cristaux sont du type sphérique, ce qui est mesuré peut être assimilé à une distribution de taille de particules [LANGSTON 01], mais dès que les cristaux ont un faciès à deux ou trois dimensions caractéristiques, le traitement statistique des résultats est à prendre avec beaucoup de recul [WORLITSCHKEK 03]. Cela est d'autant plus vrai pour des cristaux aciculaires car la notion de corde d'aiguille a peu de sens physique.

Cependant, la réflectance laser est utilisée abondamment pour étudier, voire contrôler un procédé. L'analyse FBRM a permis de suivre la transition polymorphique du D-mannitol de sa forme  $\delta$  à sa forme  $\beta$  [O'SULLIVAN 03] ou encore la formation du solvate de l'acide L-Glutamique [SCHÖLL 06]. Monnier a pu utiliser l'appareillage pour optimiser la séparation d'isomères Z/E et détecter la présence de solvates plus stables que le polymorphe recherché [MONNIER 01\_A][MONNIER 01\_B]. La sonde permet de détecter, au même titre qu'une sonde turbidimétrique, la nucléation primaire et ainsi d'établir la limite de zone métastable afin de mettre au point une procédure d'ensemencement [TÄHTI 99]. Abu Bakar se sert de la FBRM pour contrôler son procédé de cristallisation par addition d'antisolvant et de solvant afin de se placer idéalement sur son diagramme de phases pour obtenir une distribution de taille de particules particulière [ABU BAKAR 09].

## **V.2. La sonde vidéo *in situ***

La sonde de visualisation *in situ* est développée depuis des années au LAGEP par les Docteurs Jean Marc Galvan et Alain Rivoire. Immergée dans la suspension en cours d'agitation, elle permet d'enregistrer des images de bonne qualité en temps réel. Cette sonde est un outil d'analyse puissant pour observer et analyser les mécanismes liés à la cristallisation voire des phénomènes de séparation liquide/liquide (démixtion).

Le principe de la sonde de visualisation *in situ* est schématisé dans la figure 80. Une fibre optique assure le transport de la lumière, dans un fourreau métallique, à la tête de sonde sur un

hublot en verre. Le volume de mesure, constitué d'un entrefer réglable à travers lequel passe la suspension est illuminé par transmittance par une lumière blanche continue acheminée par fibre optique. La lumière transmise au travers de la suspension passe par un système de lentilles optiques pour être récoltée sur une caméra CCD. L'ensemble des images est obtenu par acquisition numérique. Un logiciel d'acquisition comme VirtualDub (licence libre) enregistre les images pour en faire des films. Typiquement, nous travaillons avec des films de 24 images par seconde, de taille 480\*640 pixels. Sachant qu'un pixel représente 2,09  $\mu\text{m}$  de longueur réelle, la résolution de l'appareillage permet de visualiser des particules dont la taille est supérieure à 10 ou 15  $\mu\text{m}$ . Malheureusement, les images deviennent inexploitable quand la concentration de solide dans la suspension est trop importante (de 5 à 10% selon les modèles étudiés).

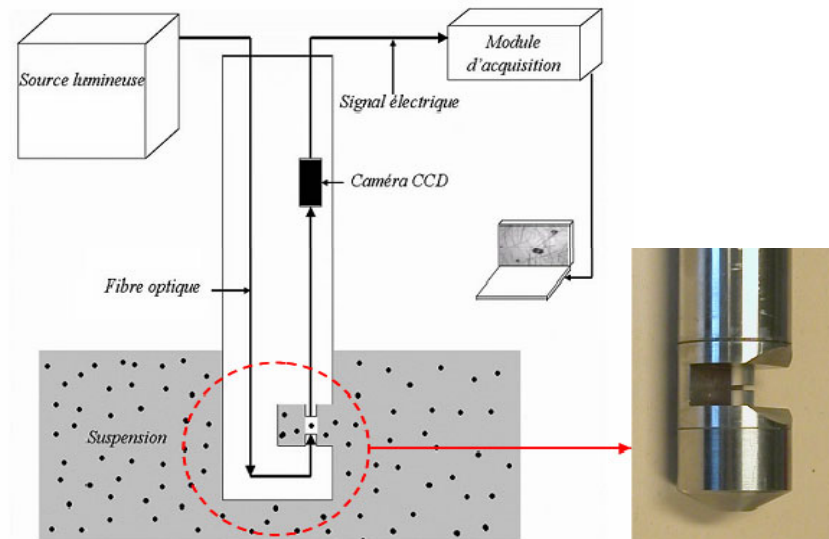


Figure 80 : Principe de mesure d'une sonde de visualisation in situ

La sonde de visualisation *in situ* est en développement et les prototypes sont en constante amélioration. Originellement, la sonde utilisée au LAGEP a un diamètre de 24 mm, mais depuis moins d'un an, une sonde de 14 mm de diamètre, adaptée aux petits réacteurs, est utilisable au laboratoire [Fig 81].



Figure 81 : Sonde vidéo in situ de 12mm de diamètre

Cet outil est vraiment intéressant car il permet de ne pas faire de prélèvements ex situ pour faire des photographies au microscope et donne de suite une idée de l'état de la suspension dans le réacteur. Les vidéos obtenues sont de bonne qualité, avec une lumière homogène sur tout le cadre de la vidéo et il est possible d'extraire facilement une image d'une vidéo pour un rapport écrit. La complémentarité de cet outil avec la sonde FBRM est évidente pour permettre de mieux comprendre ce que lit la sonde FBRM (par exemple l'apparition d'une nouvelle population

crystalline dont non seulement la taille de particule est différente, mais aussi le faciès). Les perspectives d'utilisation de la sonde sont grandes et un projet de traitement statistique des images est en cours afin de mesurer au cours du procédé une distribution de taille de particules [PRESLES 09]. Les modèles mathématiques actuels sont toutefois limités par la concentration de la suspension (au-delà de 5 à 10% de suspension) et le faciès des cristaux (les cristaux aciculaires posent problème).

### V.3. Suivi du pH dans le réacteur

La mesure de pH au cours du procédé peut s'avérer intéressante étant donné que nous travaillons avec des sels organiques, les équilibres acido-basiques sont essentiels. Il est nécessaire de comprendre les mécanismes derrière une mesure de pH afin de mieux appréhender son travail, en particulier pour des conditions originales (mesures dans les solvants). Le pH est le cologarithme de l'activité des ions  $H^+$  dans la solution de mesure. Il se détermine par la mesure d'une différence de potentiel entre 2 électrodes particulières placées dans la solution. Le pH-mètre faisant office de voltmètre à très haute résistance d'entrée, il mesure une tension directement liée à la loi de Nernst [Eq. 122 et 123] [Fig. 82] (intensité nulle pendant la mesure) :

$$E = E^{\circ} + \frac{2,3 * R * T}{n * F} * \log(a_{H^+}) \quad [\text{Eq. 122}] \quad \text{ou encore} \quad \Delta E = a * pH + b \quad [\text{Eq. 123}]$$

➤ a et b sont déterminés à l'étalonnage

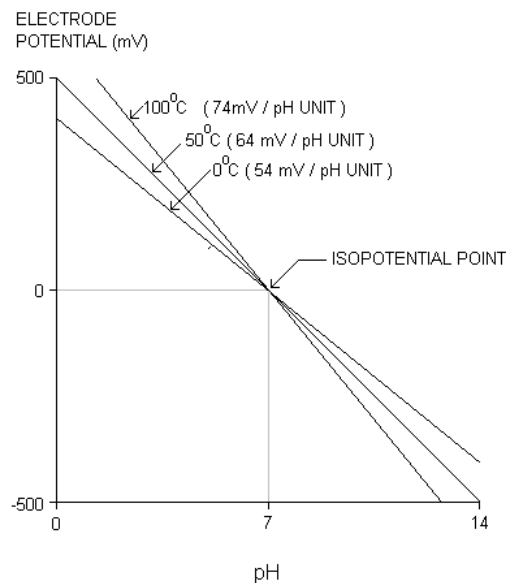


Figure 82 : Droites de réponse  $E = f(\text{pH})$  à différentes températures

L'électrode de mesure est nommée électrode de verre. Elle est caractérisée en son bout par une bulle formée d'une membrane en verre très spécifique, recouverte d'une couche de gel hydraté. La structure de la silice, avec ce gel permet de laisser passer seulement certains ions. Les ions  $H^+$  de la solution s'arrêtent en surface de la membrane, mais provoquent un déplacement des  $Na^+$ , par diffusion, que mesure une électrode en argent ou en calomel ( $Hg_2Cl_2$ ) (cathode). La solution de remplissage de cette électrode est classiquement du KCl saturé avec HCl 0,1 mol/L. L'électrode de référence (anode) consiste en une électrode en calomel plongée dans un électrolyte, en général KCl. Une jonction, parfois une pastille poreuse au bout de l'électrode, permet d'effectuer un pont salin entre les 2 électrodes en diffusant une solution saline dans l'échantillon à hauteur de quelques microlitres par heure. L'ensemble se comporte comme une cellule galvanique où le pont salin (tube en U dans un montage de Galvan) est remplacé par un

flux d'ions venus de la solution électrolytique (classiquement  $K^+$ ). On comprend la nécessité de remplir régulièrement l'électrode de référence de solution électrolytique.

Désormais, les 2 électrodes sont réunies dans un seul tube, on parle d'électrode combinée. Il existe d'autres modèles d'électrode "simple", les électrodes IFSET (transistor à effet de champ) permettent souvent de mesurer la température du milieu et de faire une correction de pH automatique. Ces électrodes n'utilisent pas d'électrolyte sous forme de solution, mais sous forme de gel.

Notons un point particulièrement important : la solubilité du chlorure de potassium dans l'eau est élevée alors qu'elle est très faible dans les solvants organiques. On réalise alors que l'établissement du pont salin est très mauvais dans les alcools et explique en partie la difficulté de mesurer le pH d'une solution organique. On choisira plutôt d'utiliser comme électrolyte du chlorure de lithium dans de l'éthanol, plus soluble dans les solvants organiques comme les alcools. Autre point à considérer pour la mesure du pH dans les solvants organiques : la dissociation des acides et des bases dans les solvants organiques s'effectue de la même manière que dans l'eau [Eq. 124] et [Eq. 125] :

$$\alpha_{AH} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a} \quad [\text{Eq. 124}] \quad \text{et} \quad \alpha_{A^-} = \frac{K_a}{[H^+] + K_a} \quad [\text{Eq. 125}]$$

Par contre, les valeurs de  $pK_a$  d'un acide varient selon le solvant utilisé. Prenons le cas de l'acétone, il est moins apte à stabiliser un proton en solution que l'eau. Les molécules d'acétone sont dipolaires avec une charge négative sur l'oxygène. Un atome d'hydrogène peut s'associer sur cette position, mais moins facilement qu'avec l'eau pour former  $H_3O^+$ . Ainsi, les acides seront moins prêts à se dissocier dans l'acétone que dans l'eau et ont des  $pK_a$  plus élevés [Fig. 83]. Les bases sont moins touchées car la forme ionisée constitue un ion plus gros avec une plus faible densité de charge.

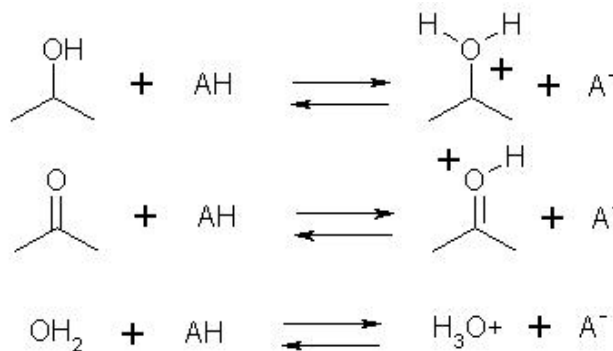


Figure 83 : Équilibre d'un acide dans l'isopropanol, l'acétone, l'eau

En tant que solvant, les alcools ont tous des propriétés légèrement différentes, comme le cologarithme de la constante de dissociation  $pK_i$ . Une partie de l'annexe C donne les valeurs de  $\epsilon$  et de  $pK_i$  pour les mélanges alcools/eau. Nous utilisons un appareil de mesure Eutech cyberscan PCD6500 et une sonde Schott N6480 eth au Chlorure de Lithium pour mesurer le pH dans les solutions/suspensions éthanoliques [Fig. 84].



Figure 84: Sonde pH-métrique Schott

#### V.4. La diffusion des rayons X aux petits et moyens angles

Le dispositif SWAXS (Small and Wide Angle X rays Scattering) commercialisé par HECUS M. BRAUN est arrivé au CINaM fin janvier 2008 [Fig. 85]. La particularité de ce dispositif réside dans son système de collimation du faisceau : il permet d'obtenir un faisceau linéaire, très propre, avec une largeur minimale d'environ 250 $\mu$ m. Ceci permet d'atteindre des résolutions importantes avec un dispositif compact (60cm contre plus de 250 cm pour un dispositif SAXS habituel avec trois fentes). Le signal peut être mesuré jusqu'à 0.07° en 2 $\theta$ , ce qui permet d'analyser des objets avec des tailles comprises entre 1.5 nm et 120 nm, on utilise un tube RX - Cu ( $\lambda = 0.154$  nm). Le signal est enregistré à l'aide d'un détecteur linéaire couvrant les angles 0° à 7° (étude des macromolécules) et un autre couvrant le domaine 18°-27° en 2 $\theta$  (étude de la nucléation et de la cristallisation). Les échantillons à étudier (volume requis 50  $\mu$ l) peuvent se présenter sous forme de solution ou de poudre et sont disposés dans des capillaires de 1mm de diamètre [Fig. 86]. La température de l'échantillon est réglée entre 5 et 70°C à l'aide d'un dispositif à effet Peltier.

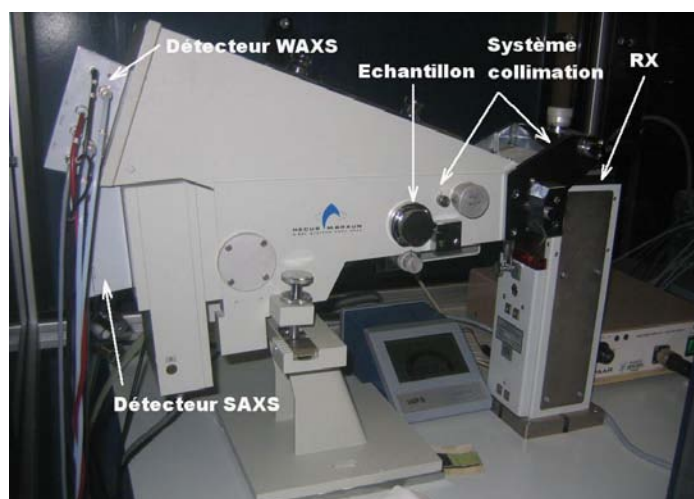


Figure 85 : Équipement SWAXS du CINaM

L'appareil est couramment utilisé pour étudier les solutions de macromolécules, mais pas encore pour les petites molécules. Il nous a semblé intéressant d'utiliser les cellules capillaires sous forme de récipient étanche pour une suspension. Étant donné qu'il est possible de contrôler la température de la cellule, nous envisageons d'observer des phénomènes de nucléation et de transformation de phase *in situ*, par analyse SWAXS.



Figure 86 : Cellule capillaire pour étude SWAXS

## VI. Choix du produit d'études

Le choix d'une molécule "modèle" pour le travail de thèse est important. Il faut que le produit soit le plus représentatif des APIs sortis du développement industriel des laboratoires Servier, que ce soit au niveau de la molécule et du choix de sel, ou des problèmes rencontrés au niveau industriel à cause de mauvaises propriétés d'usage (faciès en aiguilles, provoquant des problèmes à la filtration de la suspension).

Pour ces raisons, Oril industrie a ciblé 9 produits salifiés sous la forme d'un chlorhydrate (mono ou poly chlorhydrates), cristallins et si possible avec un faciès aciculaire. Nous avons cherché parmi ces 9 solutions, un produit "modèle" respectant le schéma du tableau 11 qui soit le plus représentatif de ce que nous avons vu dans la bibliographie.

	Base	Sel
Solubilité aqueuse	Faible	Élevée
Solubilité organique	Élevée	Faible

Tableau 11 : Conditions de solubilité recherchées

En plus des raisons scientifiques, des questions plus terre-à-terre, sur la disponibilité des produits (base et sels) ainsi que sur les procédures chimiques de salification et éventuellement de retour à la forme basique non salifiée, ont été levées pour chaque molécule afin de travailler le plus librement possible au laboratoire, sans contrainte de limitation par la quantité de produits. Toutes les molécules étudiées au CINaM ont vu leur développement arrêté, que ce soit au début ou au milieu de la thèse, pour des raisons propres aux laboratoires Servier à propos de l'efficacité de ces APIs.

### VI.1. Analyses préliminaires

Pour chacun des 9 produits, nous avons conduit une batterie d'analyses simples :

Observation du faciès et appréciation de la cristallinité des échantillons.

- Images enregistrées au microscope optique
- Images MEB (grandissements, \*25, \*100, \*300, \*500, \*700, \*1000, \*2000)
- Analyse DRX pour détecter si l'échantillon est amorphe

Mesure des solubilités dans l'eau et dans quelques solvants organiques. Analyse de la phase pour détecter de manière précoce l'existence de phases différentes

- Mesure des solubilités par ajouts successifs dans 10mL de solvant. Les solvants testés sont l'eau, le méthanol, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone, l'heptane, le toluène et le chloroforme
- Analyse DRX des échantillons solides récupérés après mesure des solubilités et refroidissement à 10°C des suspensions puis filtration.

Regards sur la chimie, les procédés utilisés et la mise à disposition des produits

- Modélisation du ou des pKa par le logiciel MarvinSketch®
- Détermination du pKa par dosage acido-basique
- Inventaire sur la disponibilité des produits, base et sel, sur les procédés de salification et essais de retour base au laboratoire

En annexes H et I est donné de manière très synthétique un aperçu des résultats généraux de ces analyses.

## VI.2. Choix et présentation du TD901

La molécule, renommée TD901 pour les besoins de confidentialité du manuscrit, correspond le plus au modèle recherché : la solubilité de son sel est importante dans l'eau et plus faible dans l'éthanol. Au contraire, sa base est bien soluble dans l'éthanol et pas du tout dans l'eau. C'est un monochlorhydrate dont la phase fournie par Oril présente un faciès aciculaire, qui nous intéresse d'autant plus, car représentatif des solides dont les propriétés d'usage posent problème à l'industriel (problèmes de filtration). Enfin, c'est un produit dont les quantités mises à disposition par Oril industrie, sous sa forme basique sont suffisantes pour compléter un travail de thèse dans un petit réacteur de cristallisation.

Le TD901, (N-4-[2-[(3aS,9bR)-8-cyano-1,3a,4,9b-tetrahydro[1]-benzopyranol[3,4-c]pyrrol-2(3H)-yl]-ethyl]phenylacetamide), est une molécule en développement au moment du début de la thèse, sortie du département de psychopharmacologie de Croissy des Laboratoires Servier. C'est une molécule potentiellement intéressante pour le traitement de la schizophrénie. Son mécanisme d'action est détaillé dans [MILLAN M.J. 08\_A], c'est un antagoniste préférentiel des récepteurs de la dopamine D<sub>3</sub> au lieu de l'ensemble des récepteurs de la dopamine D<sub>2</sub> et D<sub>3</sub>. En cela, le TD901 se différencie des neuroleptiques classiques comme l'halopéridol. Les études réalisées in vivo ont donné des résultats satisfaisants dans un premier temps [MILLAN M.J. 08\_B]. Le TD901 préserve les fonctions cognitives et présente des propriétés antipsychotiques à des doses bien inférieures aux modèles provoquant la catalepsie [MILLAN M.J. 08\_C]. Une feuille de sécurité simplifiée du produit est donnée en annexe J.

La molécule [Fig. 87] présente 2 sites acido-basiques principaux. Une amine tertiaire, susceptible de capter un proton et un site amide avec un hydrogène labile sous des conditions très basiques. Le site amide peut aussi former un sel avec HCl, mais des conditions de pH inférieures à zéro. Ainsi, la réaction du TD901 avec un acide chlorhydrique forme un mono chlorhydrate dont le proton H<sup>+</sup> est attaché au site azoté de l'amine tertiaire au cœur de la molécule [Fig. 88].

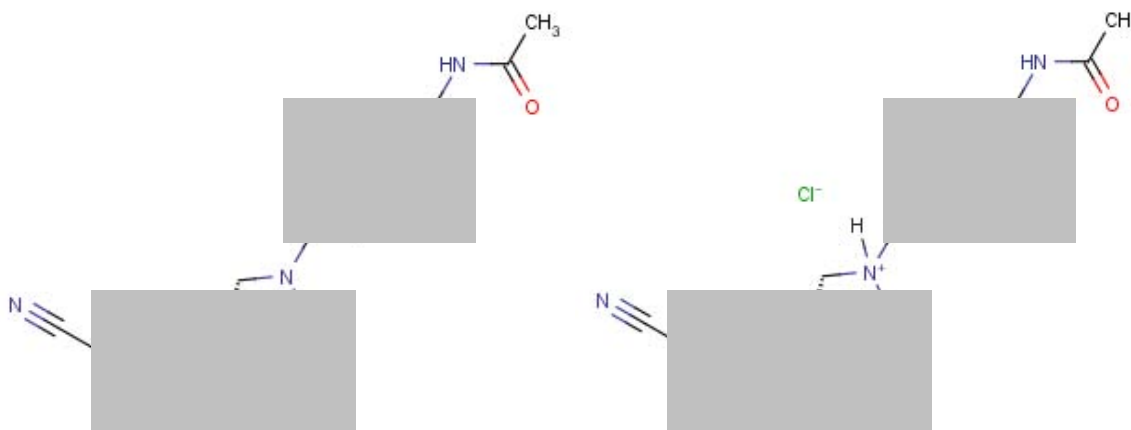


Figure 87 et 88 : Formules développées de la base (MM = 361,4 g.mol<sup>-1</sup>) et du chlorhydrate (MM = 397,9 g.mol<sup>-1</sup>) de TD901

À 20°C, sur l'échelle de pH [0 -14] dans l'eau, la répartition des espèces du TD901 en fonction du pH est donnée sur la figure 89. Le pK<sub>a</sub> de l'amine tertiaire qui nous concerne particulièrement est de 8,25 à 20°C.

Sur le procédé utilisé par Oril industrie, la base est dissoute dans de l'éthanol et l'acide chlorhydrique, dilué dans l'eau, est coulé à 73°C pour la réaction acido-basique. A partir de là est conduit le procédé de cristallisation du sel de TD901.

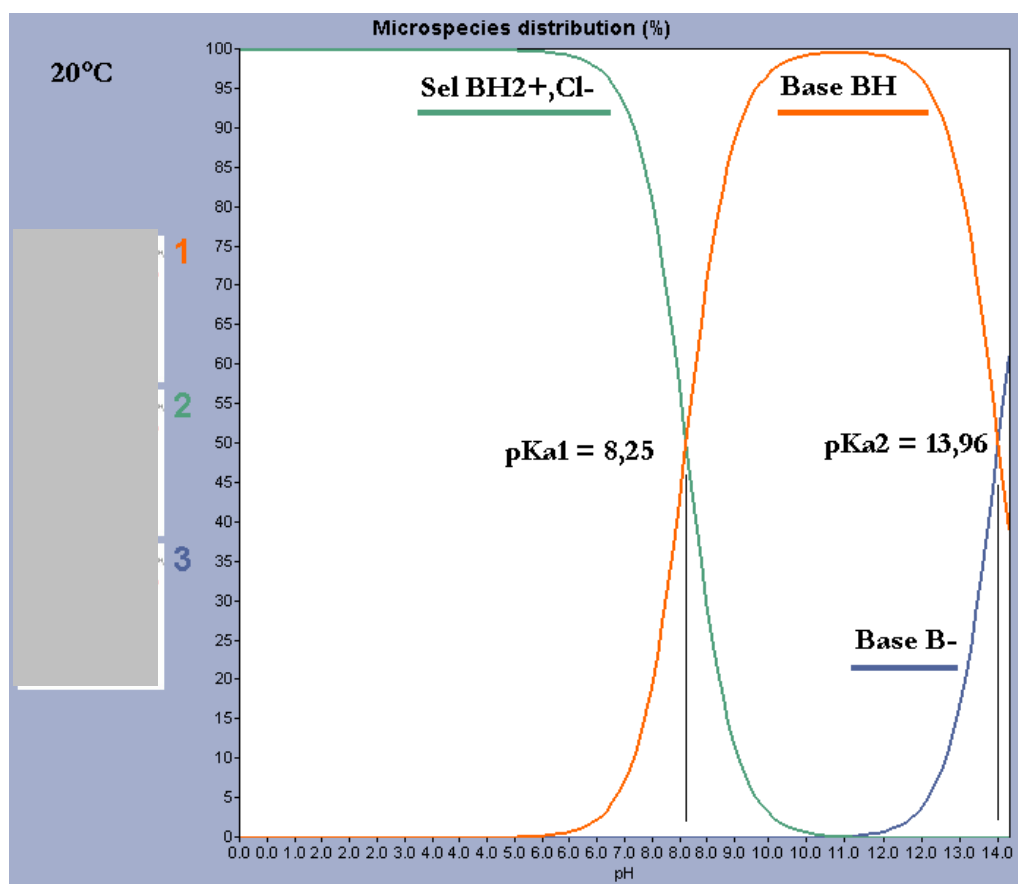


Figure 89 : Courbes  $f_{\text{BH}_2^+}$ ,  $f_{\text{BH}}$ ,  $f_{\text{B}^-} = f(\text{pH})$  à 20°C

Comme nous ne travaillerons que dans des conditions plutôt acides, nous ne nous intéresserons qu'au premier pK<sub>a</sub>. Nous notons sur le tableau 12 et la figure 90 l'évolution du pK<sub>a</sub> prédit par MarvinSketch<sup>®</sup> en fonction de la température, qui nous sera utile car la salification du TD901 se fait à chaud.

Température (°C)	pK <sub>a</sub>
0	8,79
10	8,51
15	8,38
20	8,25
25	8,13
30	8,01
35	7,89
40	7,78
45	7,67
50	7,57
55	7,47
60	7,37
65	7,27
70	7,18
73	7,13

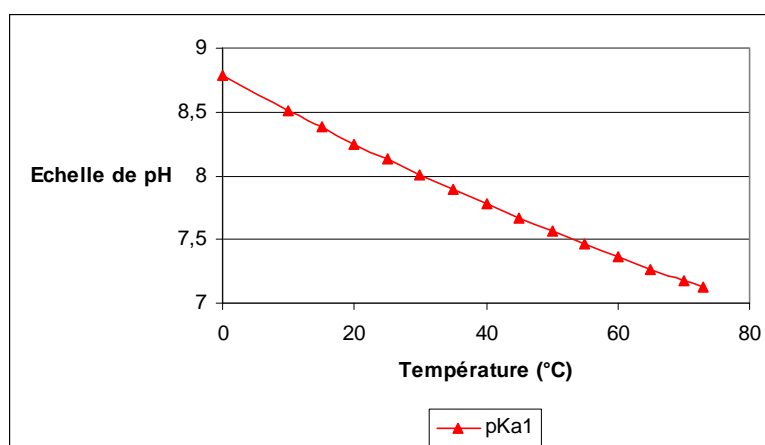


Tableau 12 et Figure 90 : pK<sub>a</sub> dans l'eau de l'amine tertiaire en fonction de la température

### VI.3. Autres produits chimiques

Nous tenons particulièrement à ce que le solvant utilisé pour nos études se rapproche de l'éthanol technique d'Oril industrie, anhydre. Or l'éthanol absolu à ~99% contient des traces d'eau. Nous avons eu des difficultés, en particulier pour des raisons douanières et administratives

à recevoir de l'éthanol au laboratoire et nous nous sommes portés vers la solution d'un mélange Éthanol/ Isopropanol à 95/5 % v/v (Référence Alfa Aesar 33361) [Tableau 13].

	Éthanol technique Oril industrie	Ethanol laboratoire CINaM
Origine	Distillerie Hauguel	Alfa Aesar
Éthanol	~96%	~95%
Eau	-	-
Isopropanol (IPA)	~1%	~5%
Autres	~2,5% essence C	-

Tableau 13 : Éthanol choisi pour nos expériences

Pour des raisons de simplicité, à chaque fois que nous dirons Éthanol, nous sous-entendrons "Éthanol 95% + Isopropanol 5%". Il faut bien comprendre, que l'introduction de l'isopropanol pourrait rajouter une variable à nos problèmes, mais étant donné que le ratio EtOH/IPA restera toujours constant, nous nous permettrons cet abus de langage. L'acide chlorhydrique 37% utilisé est de marque Normapur VWR – Prolabo Référence 20252.290)

## VII. Conclusions

Nous avons présenté dans cette partie l'ensemble des techniques mises en œuvre au cours du travail de thèse. L'intérêt est de voir le travail de la cristallisation à des échelles différentes :

- Le travail au CINaM part du cristal (fabrication des monocristaux et même modélisation) à la suspension dans quelques millilitres de solvant (microscopie avec contrôle de la température par effet Peltier, mesure des solubilités) et exceptionnellement plus (suivi pH dans un réacteur). Les méthodes d'analyse du solide sont disponibles au laboratoire.
- Le travail au LAGEP se base sur des volumes plus importants, à partir de la centaine de millilitres. Les outils de suivi in situ permettent de mieux travailler autour du procédé de cristallisation pour chercher à analyser, comprendre, adapter et piloter un procédé.

Le choix de la molécule d'étude est primordial pour que le travail de thèse, dans la compréhension des phénomènes et l'amélioration d'un procédé, soit adaptable aux situations les plus fréquemment rencontrées par Oril industrie. Le choix de travailler sur un chlorhydrate s'explique avant tout par des raisons statistiques : il s'agit du sel le plus fréquemment utilisé pour le développement des APIs par les groupes pharmaceutiques et le groupe Servier en particulier. Avoir à faire à une phase qui cristallise sous forme d'aiguilles est d'autant plus intéressant que ses propriétés d'usage posent problèmes sur les procédés de traitement du solide après la cristallisation. Pour ce projet de thèse particulier en collaboration CINaM – LAGEP – Oril industrie, il était important de travailler sur un produit représentatif des problèmes rencontrés par l'industriel pour aborder la problématique multi-échelle de la cristallisation des sels, et non une molécule "originale", le TD901 a donc été notre choix.

# ***Chapitre III :***

# ***Résultats et Discussions***

*Si la science ne s'intéresse pas aux choses délirantes,  
elle risque fort de passer à côté de choses intéressantes.*

*Antoine Labeyrie*



L'approche globale de ce travail réside dans la compréhension des enjeux qu'impose avant tout un choix de sel (travail bibliographique) et un choix de solvant pour l'établissement d'un procédé. L'impact de ces choix est capital sur la qualité cristalline, les propriétés d'usage des poudres et l'industrialisation du procédé. Cette partie du manuscrit est dédiée à la présentation des expériences et des résultats qui nous permettront de discuter et de conclure sur l'utilité de mener ces expériences, y compris d'avoir un regard fondamental sur le "crystal engineering", le plus tôt possible au cours du développement d'un API pour une entreprise pharmaceutique.

Pour ce projet de thèse particulier, le choix de sel a déjà été fait par l'entreprise. Par contre les connaissances, au moment de la thèse ne font pas part de l'existence de phases différentes de ce chlorhydrate. Il est supposé que les lots fournis par Oril industrie sont, pour la base et pour le sel, des phases anhydres. Les rapports d'analyse chimique précisent que nos lots ont une pureté supérieure à 99,9 %. Nous nommons à partir de là, la phase du sel fourni par Oril, la phase A.

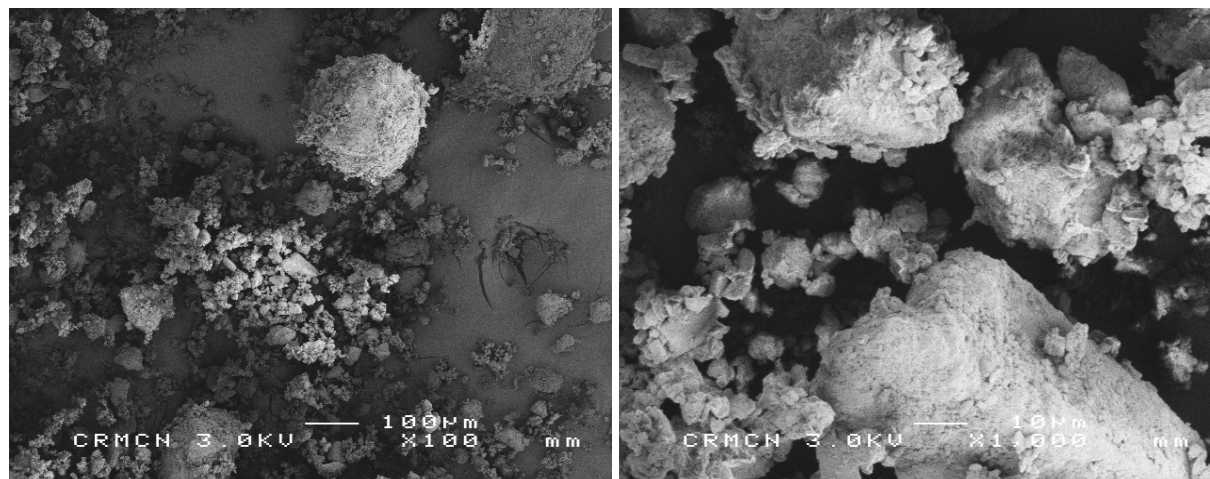
La présentation des résultats d'expériences dans ce manuscrit ne reflète pas l'ordre chronologique de l'obtention de ceux-ci. Ils s'organisent selon la manière suivante, avec pour objectif de proposer une méthodologie :

- Caractérisation de la base et du chlorhydrate fournis par Oril industrie
- Optimisation d'une méthode de recherche de phases polymorphiques, avec l'acquisition de données supplémentaires sur la solubilité et le faciès de l'API
- Mesure complète de la solubilité de la base et du sel dans un binaire éthanol/eau
- Recherche de la structure de la base et du sel
- Travaux autour d'un procédé de salification et de cristallisation par ensemencement, utilisation d'outils de suivi in situ dans un réacteur agité homothétique

## I. Caractérisation des solides, base et sel

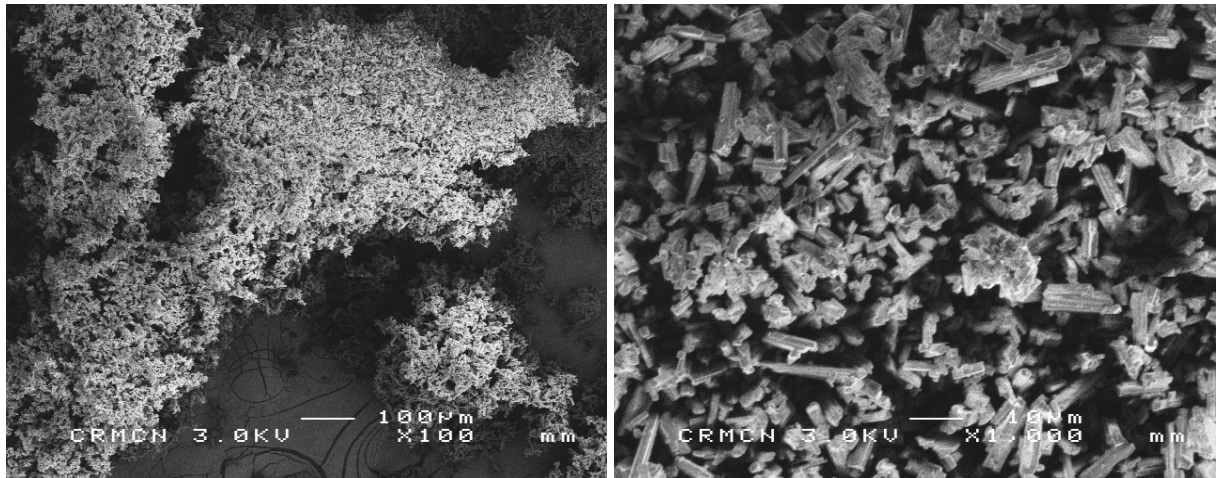
### I.1. Caractérisation des phases par DRX, photos MEB

La base TD901 pourrait être considérée comme un intermédiaire réactionnel étant donné que la forme chimique finale recherchée à la fin du procédé est celle du chlorhydrate. Ainsi, la qualité physique du produit n'est en soi pas si importante à l'exception des propriétés d'usage ayant une influence sur la filtration et le traitement du solide au niveau industriel. Le lot #851351/003 fourni par Oril est un échantillon non broyé, avec de fortes aptitudes à l'agglomération. Des photos prises au MEB illustrent cette observation dans les figures 90 et 91. Il est moyennement hygroscopique, il faut le conserver à l'abri de l'humidité.



Figures 90 et 91 : Photos MEB de la base (lot usine), \*100 et \*1000

L'échantillon de sel du lot #851391B016 est, quant à lui, broyé. On observe qu'il s'agit de fines aiguilles [Fig. 93] pas plus longues que 15  $\mu\text{m}$ , s'agglomérant très facilement [Fig. 92].



Figures 92 et 93 : Photos MEB du sel (lot usine), \*100 et \*1000

Les résultats d'analyse des poudres (temps d'analyse de 20 minutes) par la diffraction des rayons X sont caractéristiques d'échantillons bien cristallins. Les lignes de base ne sont pas bombées. Ces clichés présentent aussi des pics de diffraction bien définis et fins [Fig. 94]. L'autre observation à faire est de les comparer tous les deux. Étant donné qu'il ne s'agit pas de la même phase chimique, et ainsi pas de la même phase cristalline, les pics d'un cliché ne se retrouvent pas sur l'autre.

#### Superposition clichés DRX

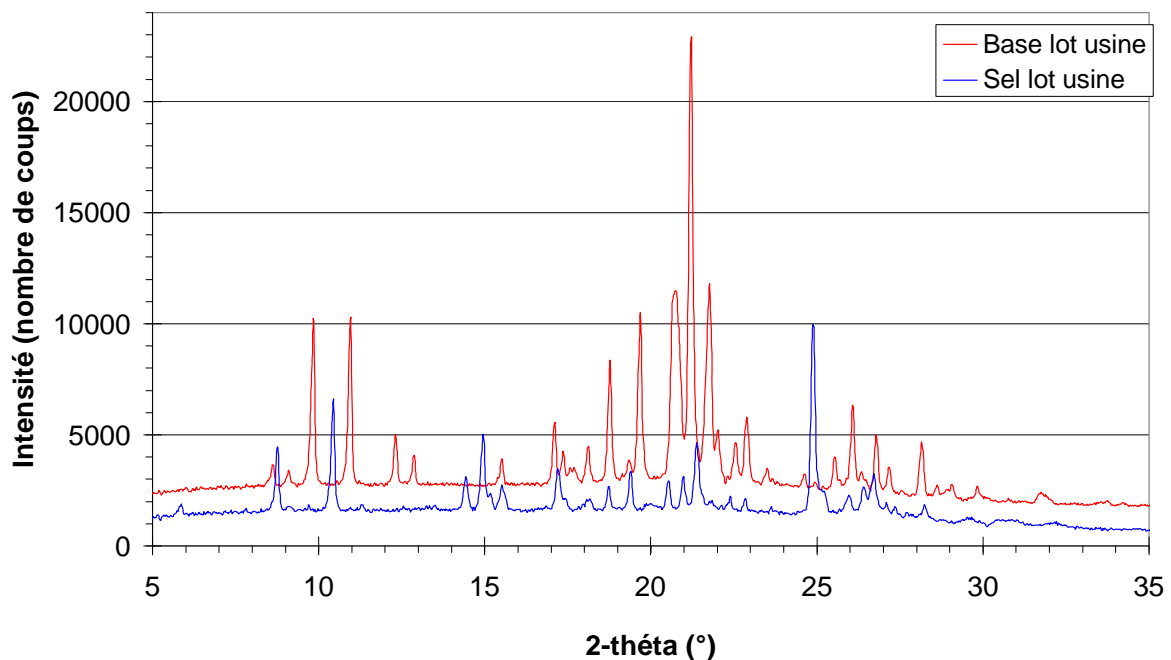


Figure 94 : Clichés DRX de la base et du sel TD901 – lots usine

Une liste des pics principaux pour chaque cliché est donnée dans le Tableau 14 afin de pouvoir comparer les résultats présentés tout au long de ce manuscrit.

2θ (en °) de la base	2θ (en °) du sel	2θ (en °) de la base	2θ (en °) du sel	2θ (en °) de la base	2θ (en °) du sel	2θ (en °) de la base	2θ (en °) du sel
9°85	5°91	17°10	15°54	21°22	20°99	25°57	26°01
10°96	8°75	18°12	17°25	21°77	21°40	26°09	26°44
12°32	10°43	18°76	18°76	22°03	22°41	26°82	26°73
12°90	14°44	19°68	19°39	22°59	24°90	27°20	28°30
15°54	14°93	20°76	20°55	22°85	25°22	28°15	

Tableau 14 : Pics de diffraction principaux de la base et du sel – lots usine

## I.2. Analyses thermiques

L'analyse thermique des poudres est riche d'enseignement. Elle permet d'en savoir plus sur leurs propriétés et leur stabilité. Nous abordons ici les résultats en 2 temps : la base TD901 puis son chlorhydrate.

### I.2.1. Analyse de la base

La détermination des paramètres de mesure en DSC a été longue et fastidieuse pour travailler avec des conditions satisfaisantes : Chauffe de 25 à 250°C à 10°C.min<sup>-1</sup>, creuset en aluminium de 40µm, couvercle du creuset percé finement, 3 à 5mg de produit non broyé dans le creuset. L'atmosphère du four n'est pas balayée par un filet d'azote sec comme il est parfois nécessaire. La figure 95 montre un enregistrement DSC pour la base. Ce thermogramme présente une ligne de base plutôt plate et un unique endotherme, bien défini, avec un pic fin.

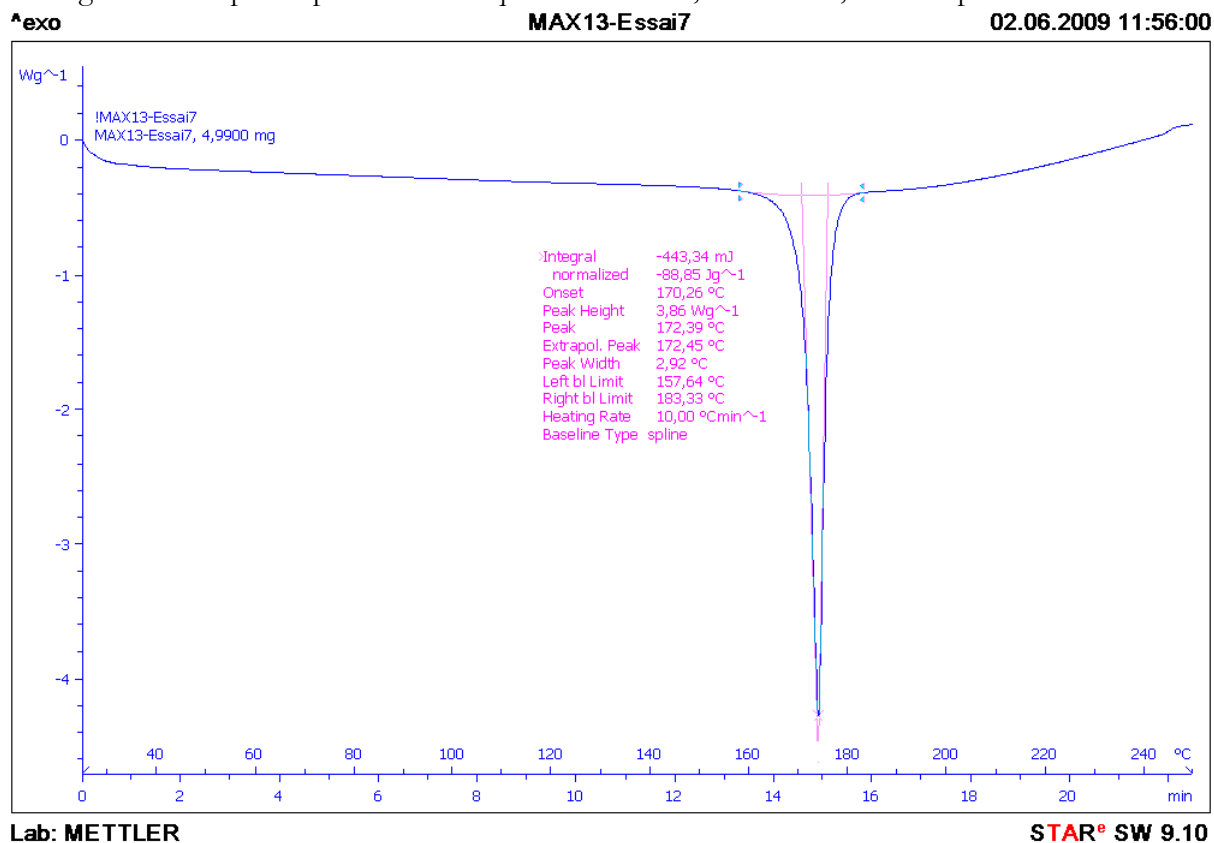


Figure 95 : Analyse DSC de la base

L'ouverture du creuset après 250°C montre que le produit est complètement dégradé et carbonisé, ce qui ne laisse aucun doute sur le fait que cet endotherme soit représentatif de la fusion du produit. La qualité du pic, sa largeur et sa hauteur, est dépendante de facteurs cinétiques. Nous pourrions regarder  $T_{\text{onset}}$ , comme la température du début de phénomène de fusion. Ici,  $T_{\text{onset}} = 170,26^\circ\text{C}$  et l'enthalpie de fusion est de  $-88.85 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ . Notons de suite que l'échantillon de base, s'il est placé un moment à l'air libre (plusieurs heures), capte un peu d'humidité ambiante, ce qui s'observe par de petits endothermes de libération de l'eau de surface autour de 100°C.

L'analyse thermogravimétrique de la base, de 40 à 500°C, montre que la poudre perd de 60°C à 120°C près de ~2% de sa masse initiale [Fig. 96], de manière assez étalée. À partir de 280°C, l'échantillon voit sa masse chuter fortement car la dégradation commence à produire des  $\text{CO}_x$  et  $\text{NO}_x + \text{H}_2\text{O}$  qui s'échappent du four.

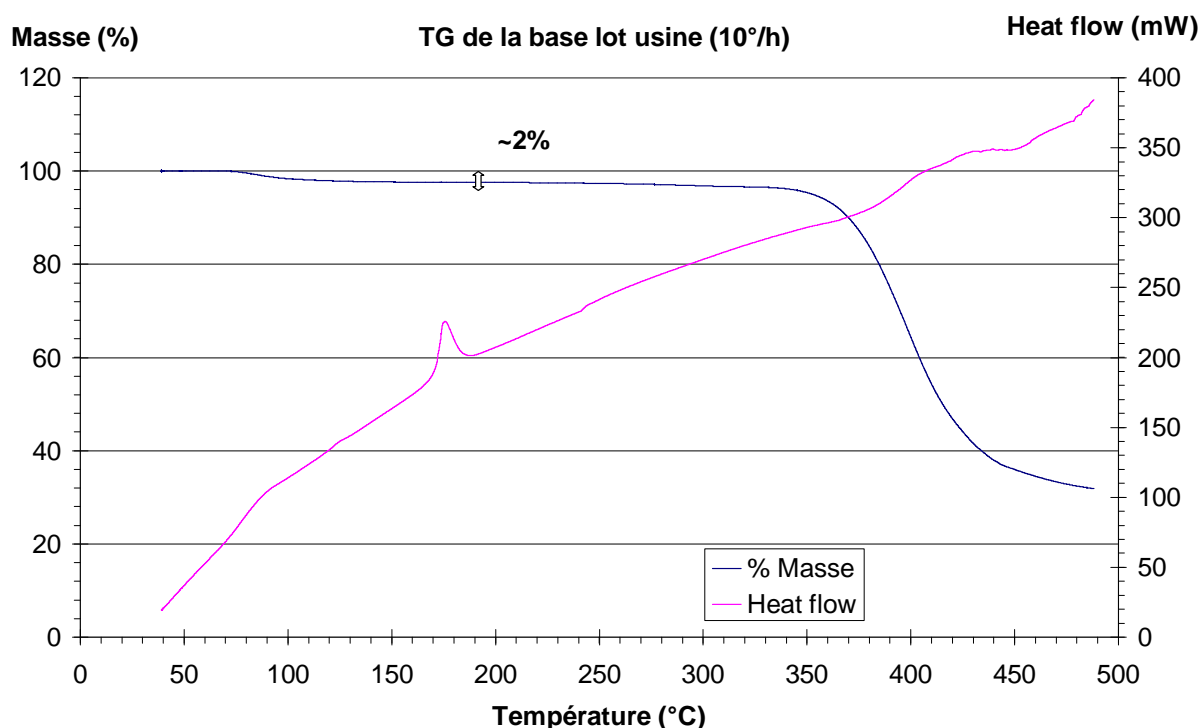


Figure 96 : Analyse TG de la base – lot usine

Pour comprendre l'origine de ces 2% de perte de masse, nous avons fourni en annexe K, un résultat d'analyse TG d'un échantillon de base, préalablement séché à 60°C pendant 2 heures. L'absence de perte de masse montre que ces 2% ne sont probablement dus qu'à de l'eau de surface, absorbée par les propriétés hygroscopiques de la molécule de base TD901.

Notons en plus que la mesure approximative de l'évolution de la chaleur dégagée ou emmagasinée par l'échantillon par l'appareil montre aussi un endotherme net pour une fusion débutant à 170°C.

Nous considérons alors que la base est bien anhydre, avec de fortes aptitudes hygroscopiques. Des analyses DRX de la base, avant et après séchage à 60°C et 120°C, n'ont pas montré de deuxième phase.

## I.2.2. Analyse du sel

L'analyse DSC d'un lot usine de sel est beaucoup plus riche en endothermes [Fig. 97]. Un premier endotherme, très large, s'étend de 30°C à 140°C. L'enthalpie du premier phénomène est de  $-126,30 \text{ J.g}^{-1}$ . Un second endotherme à 181,74°C est très net. Enfin, un dernier pic à 208,68°C a un épaulement gauche important. A conditions de mesure égales, il est arrivé que l'épaulement soit suffisamment dégagé pour que nous considérions ce phénomène par un endotherme à part entière. Malheureusement, les mesures à vitesse de chauffe plus lente que  $10^\circ\text{C}$  n'ont pas permis de séparer plus clairement ces 2 endothermes. Nous nous intéressons dans cette partie avant tout au premier endotherme. L'exploitation et la compréhension des derniers endothermes sont réalisées dans la partie II.3.1 des résultats.

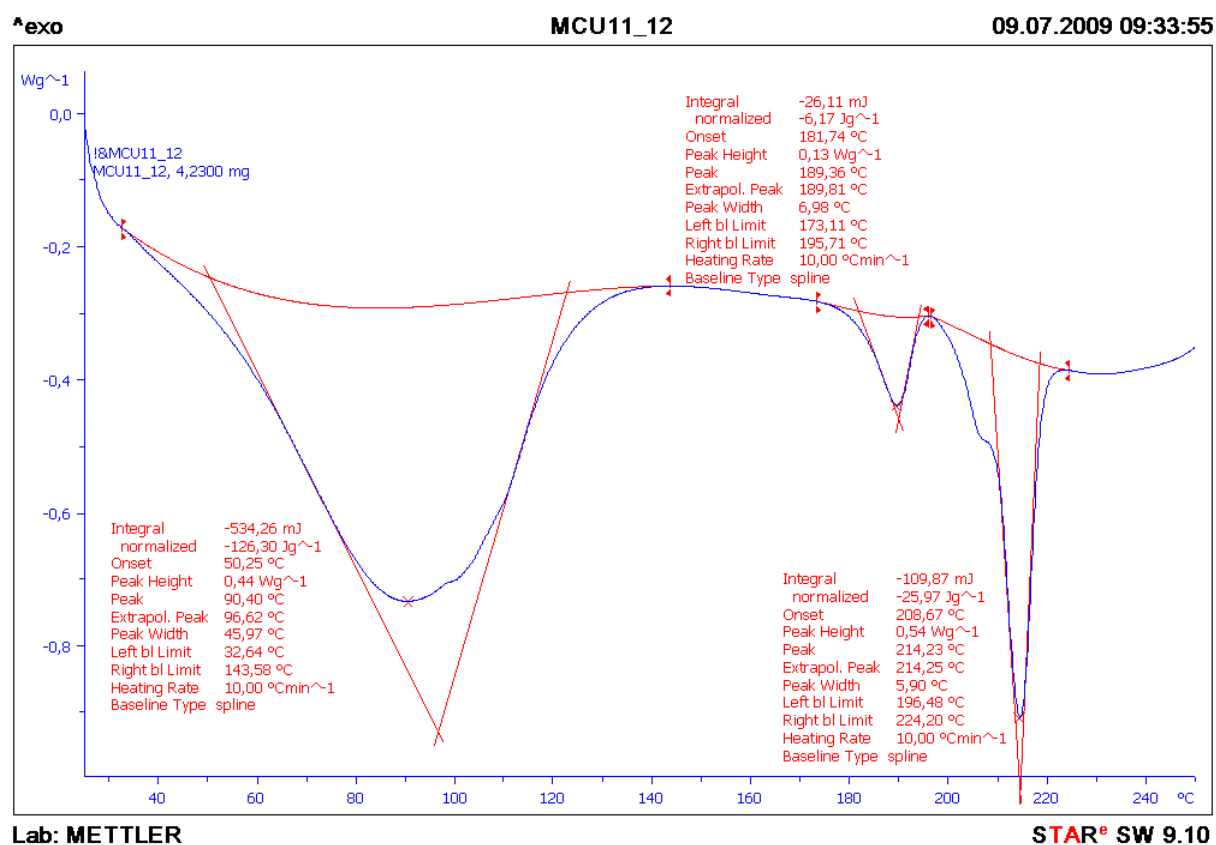


Figure 97 : Analyse DSC du sel

Le dégagement de chaleur du premier endotherme étant très probablement lié au départ de molécules d'eau de la structure cristalline, nous calculons la masse théorique qu'occuperait une quantité stœchiométrique de molécules d'eau dans la structure d'un chlorhydrate de TD901 ( $M = 397,9 \text{ g.mol}^{-1}$ ) dans le cas d'un héli hydrate, d'un mono hydrate, d'un sesqui hydrate et d'un di hydrate [Tableau 15].

Si l'enthalpie du premier phénomène correspond bien au départ de l'eau de structure, nous pouvons chiffrer l'énergie correspondante grâce à l'enthalpie de vaporisation de l'eau à pression atmosphérique ( $-2257 \text{ J.g}^{-1}$ ) en rapportant cette valeur à la part d'eau dans la molécule. La valeur calculée dans la dernière ligne du tableau 15 correspond ainsi à l'énergie théorique de vaporisation des molécules d'eau de la structure du sel 33138,  $x \text{ H}_2\text{O}$ .

	Sel, 0,5 H <sub>2</sub> O	Sel, 1 H <sub>2</sub> O	Sel, 1,5 H <sub>2</sub> O	Sel, 2 H <sub>2</sub> O
MM de l'eau pour 1 molécule de base (g.mol <sup>-1</sup> )	9	18	27	36
MM de la phase hydrate (g.mol <sup>-1</sup> )	406,9	415,9	424,9	433,9
% MM eau / MM totale	2,2	4,	6,	8,3
$\Delta H_v$ (J.g <sup>-1</sup> )	-49,65	-97,05 J.g <sup>-1</sup>	-142,19 J.g <sup>-1</sup>	-187,33 J.g <sup>-1</sup>

Tableau 15 : Calculs de la part de la masse molaire de l'eau pour une molécule de sel S3318

La valeur énergétique du premier endotherme, de  $-126,30 \text{ J.g}^{-1}$  se situe entre les valeurs théoriques pour la déshydratation d'un mono hydrate et d'un sesqui hydrate, théoriquement pour un rapport de masse molaire de 5,5%.

L'analyse TG du sel corrobore parfaitement cette observation. La figure 98 montre un départ franc, entre 50°C et 100°C, de 5,57% de la masse initiale de l'échantillon.

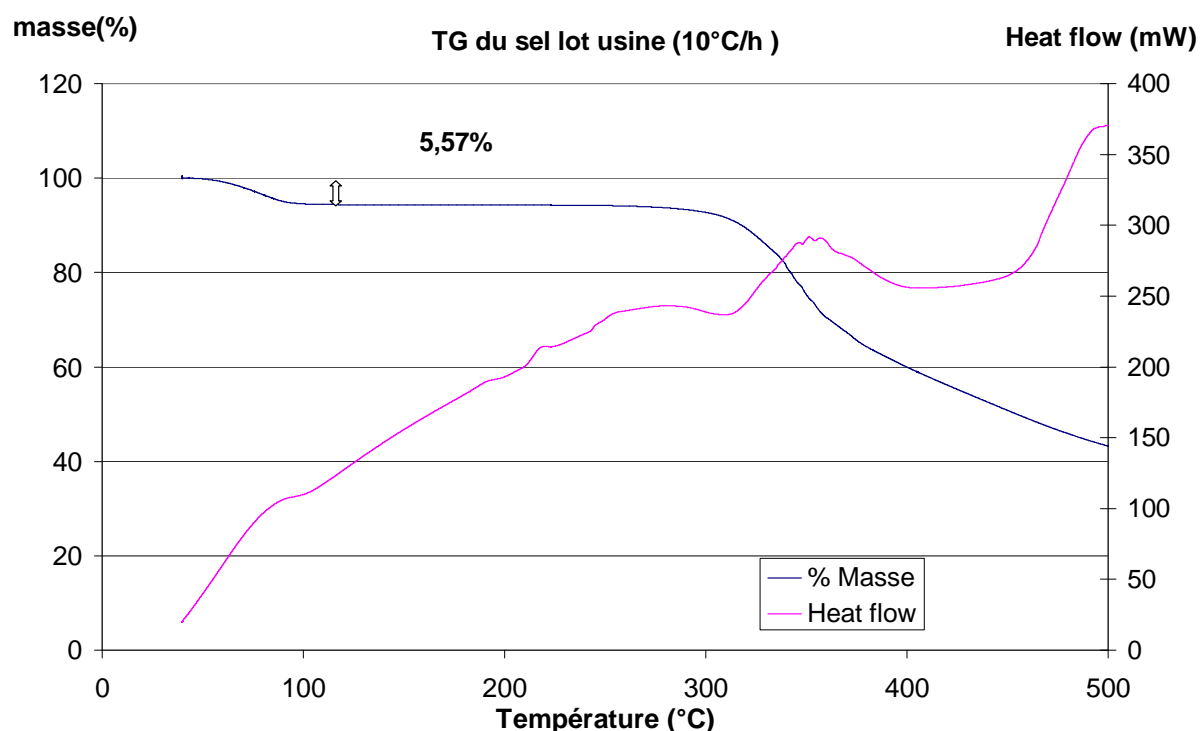


Figure 98 : Analyse TG du sel – lot usine

Nous retrouvons en DSC et en TG, la même valeur de perte de masse. L'analyse TG d'un échantillon séché à 60°C est fournie en annexe L. La perte de masse avant 100°C n'est pas parfaitement nulle, mais beaucoup plus faible que pour la base [Fig. 96], elle est proche de ~1%. Cela montre qu'en dépit du séchage préalable, la molécule recapte très rapidement des molécules d'eau de l'atmosphère ambiante, que ce soit dans sa structure et peut être en surface.

La qualité du séchage et le temps avant la mesure en DSC ou en TG est primordiale pour la quantification du départ d'eau pendant le chauffage. Nous avons choisi de donner en figure 96 une mesure sur un échantillon ayant eu le temps d'absorber de l'humidité pendant une demi-journée dans sa capsule percée. Si avec la DSC, nous imposons à un échantillon de sel un aller-retour de 25°C à 150°C puis de 150°C à 25°C avant de repartir immédiatement pour une analyse

jusqu'à 250°C à 10°C.min<sup>-1</sup>, le premier endotherme ne réapparaît pas pendant la 2<sup>nd</sup>e chauffe et les autres pics entre 150 et 220°C ne bougent pas [Annexe M].

Pour mieux comprendre la vitesse à laquelle la poudre séchée reprend l'humidité au sein de sa structure, nous avons suivi après séchage pendant 2 heures à 60°C la masse d'un échantillon de masse conséquente (une dizaine de grammes) sous atmosphère et température ambiante dans un cristalliseur de grand diamètre pour bien étaler la poudre. Cette expérience a aussi été faite pour un séchage plus long et une température de 120°C, pour des résultats équivalents.

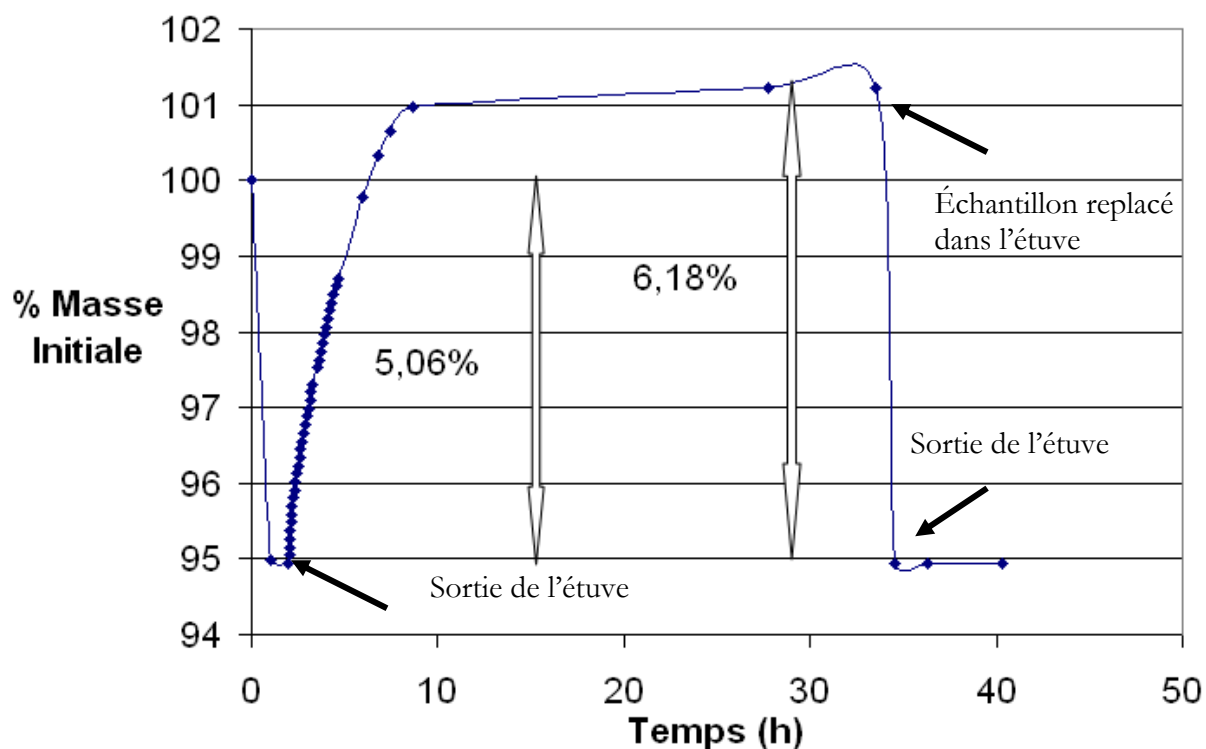


Figure 99 : Suivi de la masse d'un échantillon de sel à la sortie de l'étuve à 60°C

Les résultats de la figure 99 montrent que le séchage à 60°C fait perdre 5,06% de la masse à la poudre, qu'elle reprend en seulement 5 heures. L'exposition prolongée à atmosphère ambiante lui fait même gagner de la masse en plus par rapport à la masse placée dans l'étuve en début d'expérience. Cela montre une nouvelle fois qu'en plus d'une quantité d'eau de structure, l'échantillon est particulièrement hygroscopique et capte de l'eau en surface.

Au regard des résultats tirés de l'exploitation TG et DSC nous pourrions être amenés à penser qu'il s'agit d'un sesqui hydrate (TD901, HCl, 1,5H<sub>2</sub>O) non hygroscopique, mais comme les valeurs de prise de masse sont toujours en dessous des 6,3% théoriques du sesqui hydrate, nous émettrons l'hypothèse qu'il s'agit d'un mono hydrate avec de fortes aptitudes hygroscopiques pour capter de l'eau en surface. L'analyse Karl Fisher de cet échantillon n'aurait donné que la quantité d'eau totale contenue dans l'échantillon, mais des analyses plus poussées de mesure de sorption de vapeur (DVS) permettraient d'être plus catégorique. Enfin, la détermination structurale à partir d'un mono cristal de chlorhydrate TD901 serait le juge de paix pour trancher sur la structure exacte du produit.

Si la masse du produit et sa structure évoluent au cours du temps après le séchage, il est intéressant de réaliser des clichés de poudre d'un échantillon de sel et de le comparer au cliché de la poudre séchée à 60 et 120°C ainsi qu'aux clichés de ces échantillons refroidis et placés sous atmosphère ambiante à la sortie de l'étuve pendant une demi-journée.

Nous avons pris soin de préparer les capillaires et de placer la poudre dans l'étuve, dans son capillaire. Pour les échantillons analysés à chaud, la tulipe des capillaires a été fermée à chaud avec un bruleur à la sortie de l'étuve pour éviter que trop d'humidité vienne s'absorber dans la poudre.

L'ensemble des clichés est donné dans la figure 100. La première remarque à faire entre les clichés du sel de départ (courbe noire) du sel chauffé à 60°C puis refroidi (courbe rose) du sel chauffé à 120°C puis refroidi (courbe verte claire) est que les clichés sont rigoureusement les mêmes. Les cycles de chauffage et de refroidissement à 60 °C ou à 120°C ne dégradent pas et ne changent pas la structure initiale.

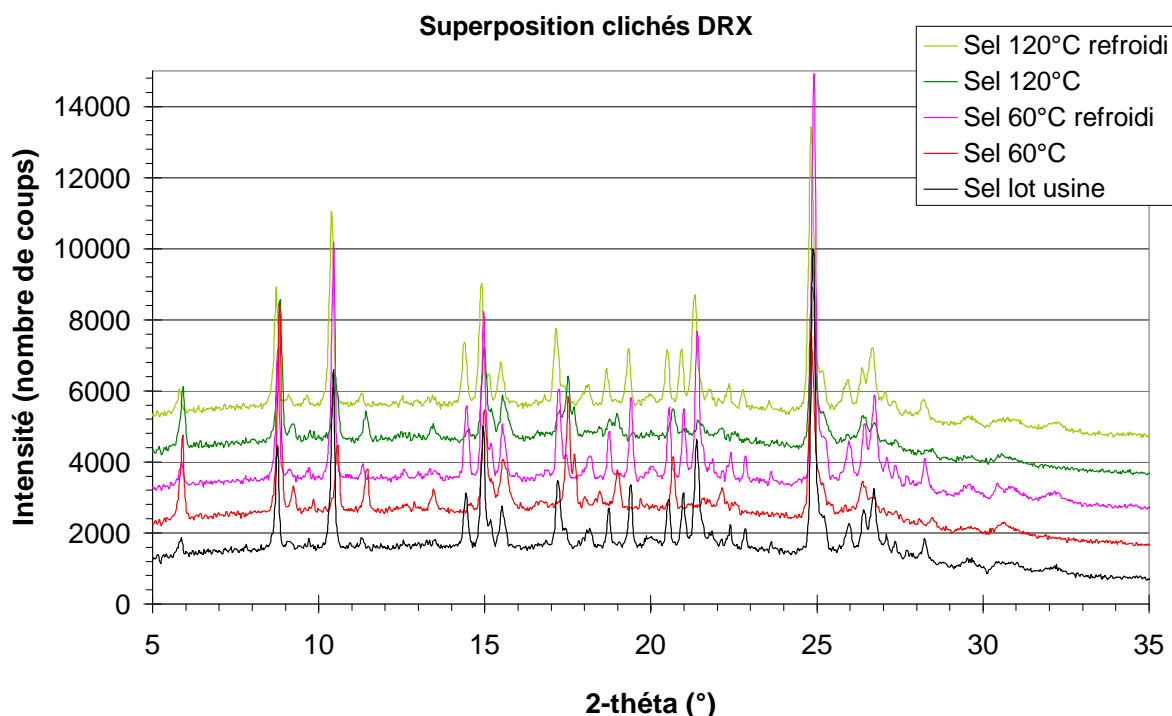


Figure 100 : Clichés DRX du sel, lot usine, séché à 60°C et 120°C, ainsi qu'après refroidissement

Par contre, les clichés des échantillons chauffés à 60°C (courbe rouge) et 120°C (courbe verte foncée) et analysés de suite après la sortie de l'étuve sont quelque peu différents du cliché de la phase A du sel. Si quelques-uns des plus grands pics de diffraction sont toujours présents et parfois à peine décalés ( $8^{\circ}75$ ,  $10^{\circ}43$ ,  $14^{\circ}93$ ,  $15^{\circ}54$ ,  $24^{\circ}90$ ,  $25^{\circ}22$ ), d'autres sont absents ( $14^{\circ}44$ ,  $17^{\circ}25$ ,  $18^{\circ}76$ ,  $19^{\circ}39$ ,  $20^{\circ}55$ ,  $20^{\circ}99$ ,  $21^{\circ}40$ ,  $22^{\circ}41$ ,  $26^{\circ}01$ ,  $26^{\circ}44$ ,  $26^{\circ}73$ ,  $28^{\circ}30$ ), beaucoup plus intenses ( $5^{\circ}91$ ,  $11^{\circ}45$ ) ou même non présents pour le cliché du sel de départ ( $13^{\circ}48$ ,  $17^{\circ}51$ ,  $17^{\circ}71$ ,  $19^{\circ}02$ ,  $20^{\circ}67$ ,  $26^{\circ}44$ ).

Nous avons sans doute réussi à isoler pour les analyses DRX la phase anhydre obtenue après déshydratation de la phase A, mono hydratée.

### **I.3. Approfondissement des résultats DSC**

Les résultats obtenus par DSC pour la base et surtout pour le sel peuvent être approfondis afin d'avoir une meilleure compréhension des phénomènes et de faire une meilleure interprétation des résultats.

### I.3.1. Analyse de la base

Pour la base, nous avons réalisé un aller-retour en température juste après la fusion du produit. À 185°C, la température du four est abaissée à 100°C à raison de 10°C.min<sup>-1</sup> puis élevée de manière classique à 250°C [Fig. 101].

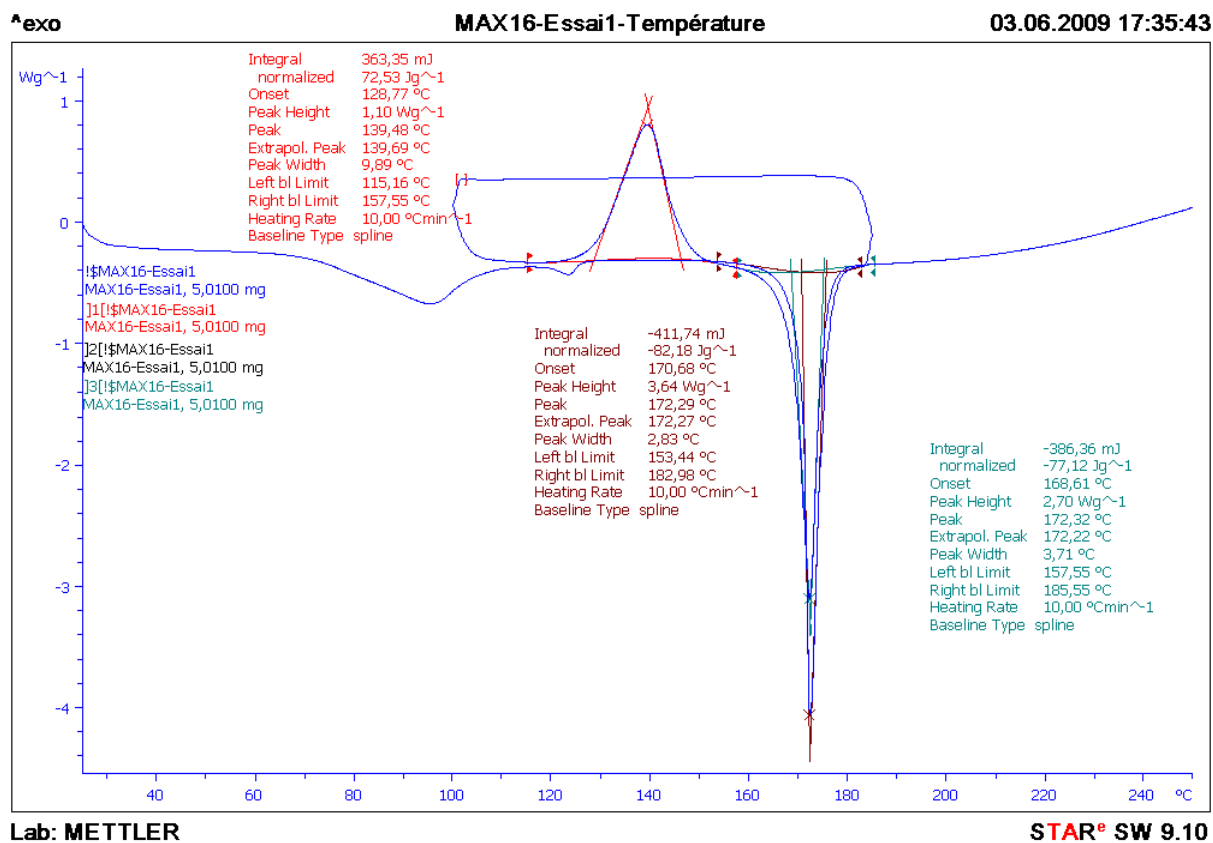


Figure 101 : Exemple d'aller-retour en température pour la base

Nous observons sur l'enregistrement DSC que le produit recristallise non pas pendant le refroidissement, mais pendant la seconde phase de chauffage (bel exotherme débutant à 128,77°C). Par analogie avec la chimie des polymères, nous pourrions nommer ce phénomène une cristallisation froide. La cinétique d'analyse est très importante pour cette observation. Nous n'avons pas observé de recristallisation pendant le refroidissement après fusion à plus basse température (25°C), ni à vitesse de refroidissement plus lente (2°C.min<sup>-1</sup>) ou plus rapide (20°C.min<sup>-1</sup>), mais seulement pendant la seconde phase de chauffe.

La reproductibilité quantitative de la fusion n'est pas parfaite : enthalpie de fusion de -88,18 J.g<sup>-1</sup> à -77,12 J.g<sup>-1</sup> après un cycle) ; température de début de fusion de 168,61°C à 170,68°C. Ces légères différences peuvent s'expliquer par la dégradation chimique du produit de suite après la première fusion. Le rôle du transfert thermique en DSC a sans doute rôle dans cette observation car une fois fusionné, le produit est sous forme liquide dans le creuset. La seconde fusion du produit, recristallisé sur l'ensemble de la surface, est soumise à un transfert thermique un peu différent que pour la première où le solide est simplement déposé, de manière hétérogène sur la surface du creuset (moins bonne conduction de la chaleur du creuset aux cœurs des cristaux).

Notons une dernière fois que dans le cas de cet échantillon, nous observons 2 endothermes (~25 J.g<sup>-1</sup>), un principal avant 100°C et un petit avant 120°C. Ils sont caractéristiques d'un échantillon ayant capté de l'humidité par hygroscopie (en opposition à un

échantillon plus sec [Fig. 95]). Le départ de l'eau est parfois étalé au-delà de 100°C car la cinétique du phénomène dépend des forces d'attachement entre la molécule d'API et les molécules d'eau. Il n'est pas rare non plus que le phénomène se fasse en deux temps, comme c'est le cas sur la figure 101.

### I.3.1. Analyse du sel

L'enregistrement DSC de la phase A du sel [Fig. 97] montre 2 endothermes à 181,74°C et 208,67°C (endotherme épaulé à sa gauche). Nous avons à faire à 2 plusieurs phénomènes distincts et non une simple fusion. L'intérêt est ici d'essayer de comprendre à quoi correspond chacun de ces endothermes : dismutation du sel ; fusion ; mauvaise qualité chimique du lot usine ; transformation solide/solide,...?

Pour cela, nous avons commencé chauffer des échantillons de sels à la même vitesse de 10°C.min<sup>-1</sup> jusqu'à différentes températures. L'ouverture des creusets après analyse permet de comprendre dans quel état se trouve notre poudre [Fig. 102].



Figure 102 : Photo des creusets DSC, différentes température de fin d'analyse

La poudre originellement de couleur blanche, commence juste à peine à devenir brune à 200°C. A 210°C, elle est brune avec l'impression qu'elle a fusionnée et recristallisée. Au-delà, il ne s'agit que de produit liquide caramélisé et dégradé.

L'observation de la fusion dans un capillaire placé dans un four à température contrôlée (Electrothermal Digital 9100) ne montre absolument pas de modification de la couleur ni de l'aspect de la poudre avant 208°C. Seulement à 207°C, celle-ci commence à jaunir et devient de plus en plus foncée jusqu'à 213°C où le produit est en train de fusionner. Dès 215°C, le produit sous sa forme liquide se dégrade (couleur brune intense). Ces observations sont reproductibles sur plusieurs échantillons. L'endotherme à 181,74°C ne met donc pas en jeu une fusion.

Malheureusement, le chauffage à vitesse plus lente ne permet pas de séparer correctement l'épaulement du dernier endotherme. Les 2 bosses sont intégrées ensemble pour l'exploitation à -25,97J.g-1 pour un phénomène débutant à 208,67°C, dont le pic est à 214,23°C. Nous pouvons affirmer qu'il s'agit de l'endotherme de fusion du sel.

Nous avons cherché, de manière intensive, à l'aide d'allers-retours en température, à recristalliser la forme tout juste fusionnée, comme pour la base, sans aucun succès. Nous avons

multiplié les essais en repoussant les bornes des allers-retours à des températures basses pour le refroidissement, entre les endothermes (198°C et 208°C) pour les températures hautes, le tout à des vitesses de chauffe et de refroidissement très diverses. L'annexe M illustre en cela le fait qu'après la déshydratation du produit, la ligne de base dès 25°C est parfaitement rectiligne. La figure 103 est un autre exemple où nous nous sommes arrêtés à 198°C, redescendu à 150° puis nous avons repris la chauffe classique (nous avons fait des essais où nous avons refroidi à 25°C). Ce cycle ne change en rien la mesure du dernier endotherme.

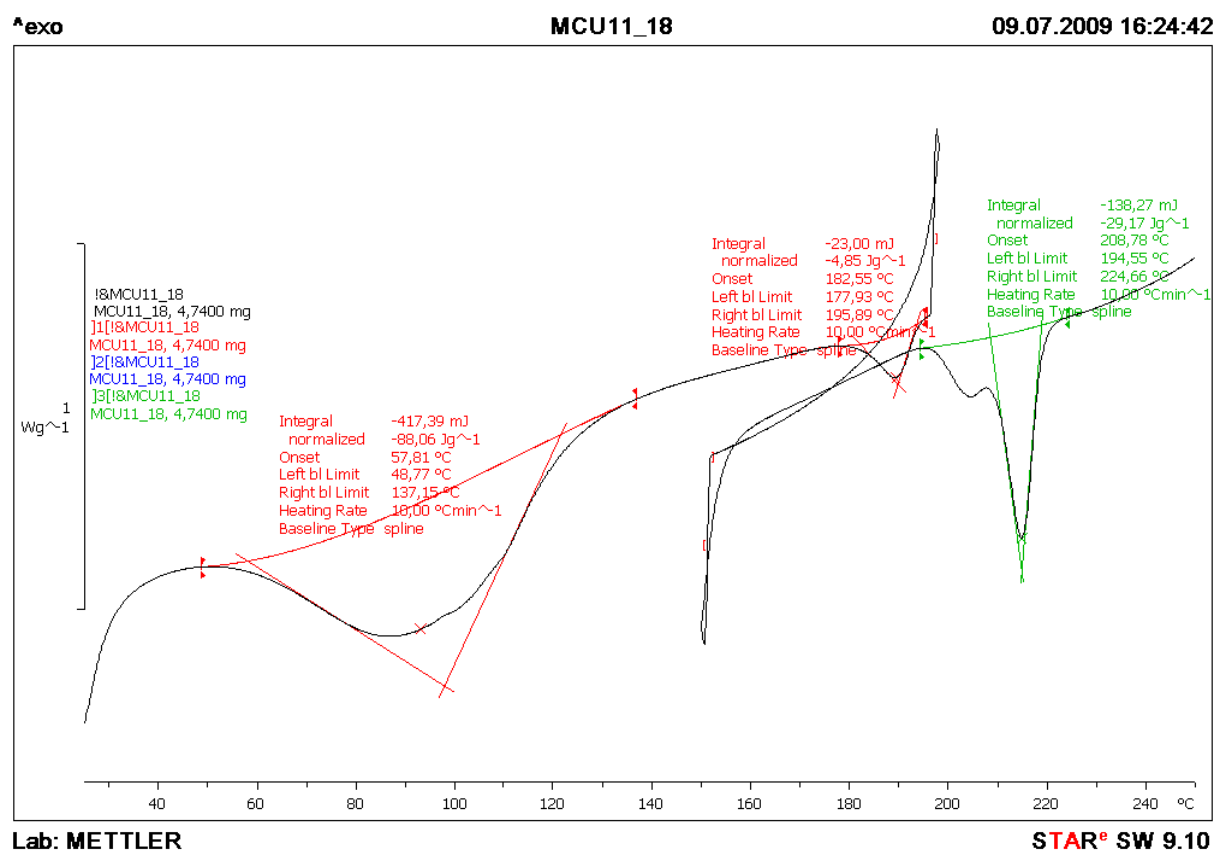


Figure 103 : Exemple d'aller-retour en température pour le sel

Nous nous sommes arrêtés entre les 2 pics, à 198°C pour analyser la phase par DRX ainsi qu'après 208°C, au niveau de l'épaule. Les clichés de DRX sont joints avec celui de la phase anhydre, chauffée à 120°C, dans la figure 104.

Le produit chauffé dès l'endotherme à 181,74°C perd sa cristallinité. Seuls 4 pics, plutôt larges subsistent par rapport à la phase anhydre (5°91, 8°75, 14°93 et 24°90) et la ligne de base est particulièrement bombée (phase amorphe). Chauffer au-delà (208°C) fait disparaître 3 des 4 pics, seul celui à 24°90. La dégradation cristalline et sans doute chimique est déjà importante.

L'analyse de la phase à 198°C ne permet pas de dire que l'endotherme débutant à 181,74°C correspond à une transition solide/solide, nous nous serions d'ailleurs attendu à un exotherme après pour suivre un schéma classique de fusion, cristallisation puis fusion de la nouvelle phase. Nous ne pouvons non plus penser que cet endotherme est dû à une autre phase chimique car les résultats d'analyse font état d'une pureté de 99,9%.

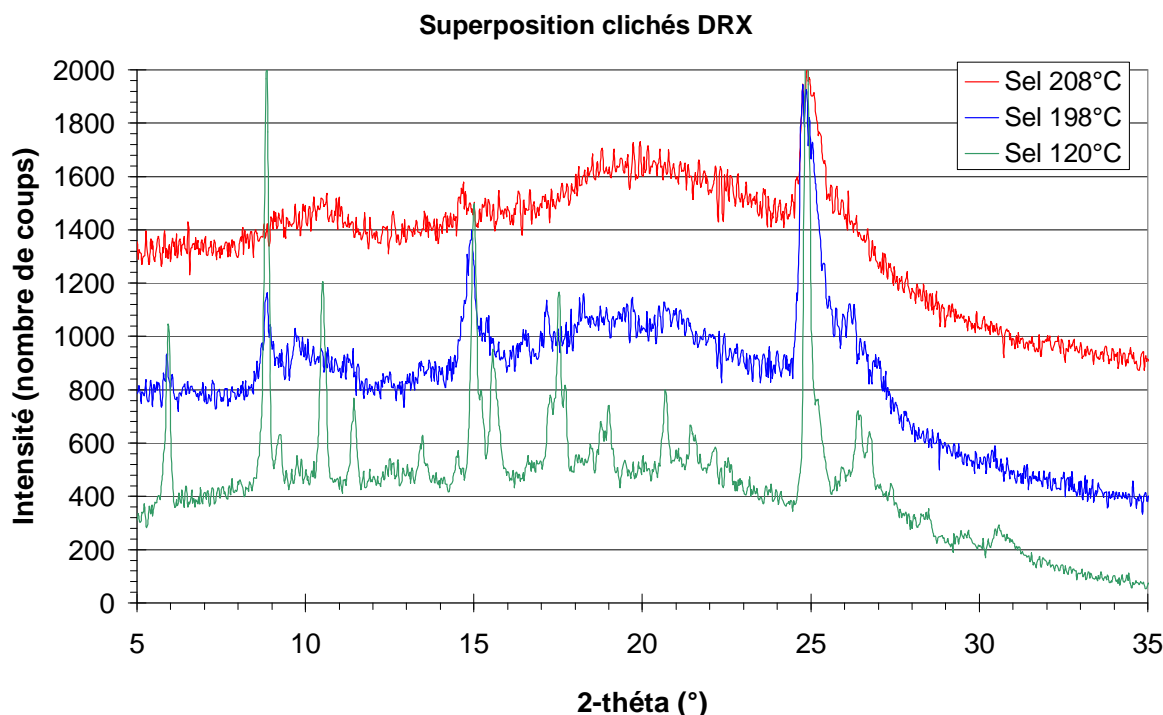


Figure 104 : Photo des creusets DSC, différentes températures de fin d'analyse

Enfin, nous pouvons émettre l'hypothèse que l'endotherme à 181,74°C correspond à la réaction chimique de dismutation du sel en sa base et l'acide chlorhydrique. La fusion observée après n'aurait rien à voir avec la fusion du sel, mais d'un sous-produit. La température de fusion de la base étant inférieure, l'hypothèse de la simple dismutation du sel suivie d'une fusion de la base n'est pas bonne. En plus, l'enthalpie de vaporisation de HCl à pression atmosphérique est de 443,38 J.g<sup>-1</sup>, soit 40,67 J.g<sup>-1</sup> pour une molécule d'acide chlorhydrique par molécule de base S33139. Cette valeur est trop importante par rapport à ce que nous mesurons pour que nous mesurons en fait la vaporisation d'HCl.

Il est difficile de conclure parfaitement sur l'origine de cet endotherme et de l'épaulement. Ce phénomène rend notre poudre plus amorphe, mais l'observation dans un capillaire de la poudre soumise à 180-200°C ne donne aucune indication.

Nous avons cherché à mieux comprendre les caractéristiques de la base et du sel fournis par Oril industrie. Bien que le choix du sel soit déjà fixé au moment où nous avons commencé à travailler dessus, ainsi que le choix du solvant pour le procédé de cristallisation, nous avons cherché à optimiser une méthode de criblage polymorphique complète pour détecter de nouvelles phases et choisir à partir des informations (solubilité, faciès, phase) un solvant adapté.

## II. Développement d'une méthode de criblage polymorphique

Nous sommes équipés au laboratoire d'un microscope inversé équipé d'une platine pour montage Peltier multipuits pour contrôler la température. Nous avons développé une approche permettant d'emmagasiner un maximum de données lors du criblage. La mesure par encadrement des solubilités, l'observation des faciès cristallins et de leur évolution en suspension et l'analyse des phases solides par DRX puis par DSC et TG peuvent être englobées dans un seul projet autour de cet appareil. Il faut comprendre que nous avons modifié notre approche au fur et à mesure, aussi nous présentons ici une méthode finie et destinée à tout nouvel utilisateur du multipuits, écrite après un bilan sur toutes nos expériences. À quelques détails près, elle diffère des résultats présentés (choix des températures et des solvants). Une première explication de la méthode est donnée dans la littérature [DETOISIEN 09]. Elle est mieux détaillée dans ce manuscrit, avec une représentation plus complète des résultats sur notre molécule d'étude (Solubilité, faciès, clichés DRX) mais aussi une caractérisation des formes trouvées par l'analyse thermique (DSC, TG).

### II.1. Détails de la méthode

L'intérêt d'un criblage polymorphique, pour toutes les raisons expliquées dans la bibliographie, peut être encore plus important s'il est complété par d'autres informations sur la phase analysées. La seule analyse par DRX des phases obtenues dans différents solvants est bien entendu intéressante, mais l'accompagner de données de solubilité à différentes températures et d'images des faciès cristallins est un point clé pour réussir un choix de procédé de cristallisation. Le chimiste cherchera souvent à avoir une différence de solubilité importante entre une haute et une basse température dans son réacteur pour profiter d'un meilleur rendement. Aussi l'industriel préférerait éviter un faciès aciculaire.

Enfin, comprenons bien que les contraintes de quantité de matière première imposées par le développement pharmaceutique sont fortes car les quantités disponibles d'un API pour de telles études sont très faibles lors des premières étapes de développement. L'enjeu de la méthode est aussi de travailler avec peu de matière et obtenir un maximum d'informations en un minimum de temps possible. En annexe N est donné l'ensemble des informations qu'Oril avait à disposition sur la solubilité et les phases du TD901 au moment où nous avons commencé le projet de thèse.



Figure 105 : Photo du montage multipuits pour 24 vials

Le matériel utilisé, déjà présenté, est un microscope à multipuits Peltier [Fig. 105] qui permet de multiplier les essais, contrôler la température du milieu et prendre des photos régulièrement pour suivre les phénomènes, la nucléation et l'évolution du faciès des cristaux. Des lingots permettent de travailler avec 2 séries de 12, 24 ou 48 cellules de tailles différentes. Dans la réalité, l'addition précise d'une quantité de solide dans une cellule n'est vraiment facile que dans le cas 2\*12. Les cellules alors utilisées sont des vials HPLC de marque WATERS, de 1,8 mL avec un bouchon à vis. Il est raisonnable de ne pas dépasser 1,4 mL pour que la hauteur de liquide dans la vial ne dépasse pas la hauteur du lingot thermostaté.

Nous proposons de travailler avec une liste de 32 solvants purs [Tableau 16], de classes chimiques les plus variées possible et couramment utilisés en développement chimique :

Solvant aqueux (1)	$\text{H}_2\text{O}$ Eau
Alcools et cétones (8)	 Méthanol    Ethanol    Isopropanol    Acétone    Ether de Pétrole Butanol    Pentanol    MéthylisobutylCétone (MIBC)
Alcane et alcènes (5)	 Hexane    Cyclohexane    MethylCyclohexane    Toluène    o-xylène
Esters (2)	 Acétate d'éthyle    Acétate de butyle
Ethers (7)	 Diéthylether    Diisopropylether    MethylTertioButylEther(MTBE) p-Dioxan    TetraHydroFurane (THF) DiméthoxyEthane (Glyme)    TriethyleneGlycolDimethylEther (Triglyme)



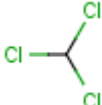
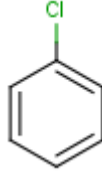
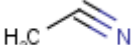
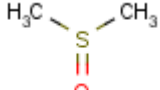
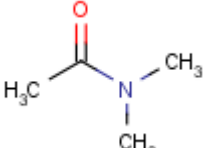
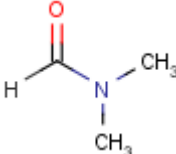
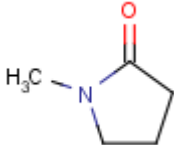
Chlorés (4)	 DichloroEthane	 DichloroMéthane	 Chloroforme	 Chlorobenzène
Azotés et sulfurés (5)	 Acétonitrile	 DiMethylSulfoxyde (DMSO)	 DiMethylFormamide (DMF)	
	 DiMethylAcétamide (DMAC)	 N-MethylPyrrolidone (NMP)		

Tableau 16 : Liste de 32 solvants proposés pour l'étude

En plus de ces 32 solvants, nous utiliserons des mélanges. Le nombre de mélanges choisis (tous à 50% v/v) est dépendant du nombre d'essais que l'on doit refaire et de ce que nous voulons étudier en particulier. Dans un premier temps, nous avons utilisé les mélanges 50/50 de solvants suivants avec de l'eau :

- Toluène, Dichlorométhane, Éthanol, Acétate d'éthyle, Méthanol, Diisopropylether, Acétonitrile, DMAC, Acétone, DMF, Hexane, THF, Chloroforme

Après plusieurs révisions, la méthode optimisée, que nous proposons, est la suivante :

- Préparer 24 vials avec 5mg de produit
- Ajouter dans chaque vial 1mL de solvant (la concentration est alors de 5g/L)
- Fermer les vials, les stabiliser à 20°C, prendre des photos de chaque puits régulièrement
  - Si le produit ne se dissout pas, laisser la vial en place
  - Si le produit se dissout, préparer 5 autres milligrammes de soluté, sortir la vial, l'ouvrir, ajouter le solide et replacer la vial dans le multipuit
    - Si le solvant dissout très rapidement le soluté, éventuellement, rajouter plus de soluté que 5mg à chaque addition
    - Continuer l'opération jusqu'à ce que toutes les vials contiennent du produit non dissous
- Monter la température à 40°C (rampe 5°C/h), prendre des photos régulièrement
  - Noter quelles sont les vials où le soluté s'est dissous et reprendre la même méthode que précédemment pour atteindre la sursaturation
    - À partir de 40°C, il est nécessaire de sortir les vials et de les laisser refroidir à température ambiante avant les additions de soluté. Le peu de temps où celles-ci sont ouvertes pour l'addition du solide peut fausser les manipulations à cause de l'évaporation et présente un risque pour le manipulateur. (Toutes les additions se font néanmoins sous hotte aspirante par mesure de sécurité)
- Continuer la procédure pour 60°C
- Monter la température à 65°C pour essayer de dissoudre le soluté dans certaines vials
- Descendre la température à 10°C à 1°C/h et prendre des photos régulièrement pour observer la nucléation dans les vials où le soluté est dissous à 65°C

De manière schématique, la mesure de la solubilité dans 4 solvants A, B, C, D peut être décrite par la figure 106, qui montre bien l'encadrement par pas de la solubilité.

Le soluté a une solubilité inférieure à 5 g/L dans le solvant D, même à 65°C. Dans le solvant C, la solubilité du soluté est entre 5 et 10 g/L à partir de 40°C, mais reste inférieure à 10 g/L à 65°C. Pour les solvants A et B, la solubilité est importante, l'encadrement des valeurs de solubilité à 3 températures se fait en connaissance de la masse de soluté ajouté pour obtenir la saturation et de la masse pour l'avant-dernière addition de solide.

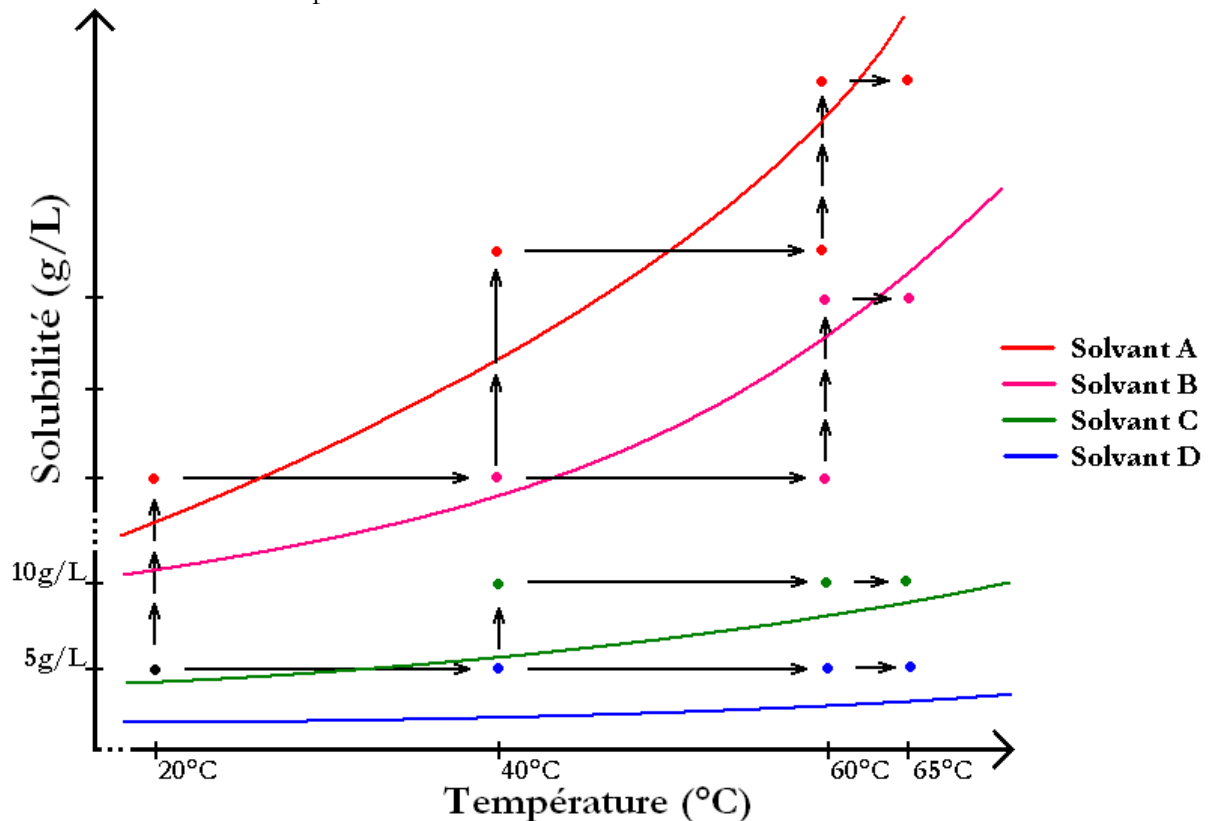


Figure 106 : Exemple de courbes de solubilité déterminées par encadrement à 20, 40 et 60°C.

Le refroidissement est volontairement lent, pour favoriser la croissance au détriment de la nucléation. Une fois à 10°C, le contenu des vials est filtré sur filtre millipore (téflon hydrophobe, 0.2micromètre FG) et séché une nuit à 60°C. Enfin, est préparé l'échantillonnage dans les capillaires pour analyses DRX.

L'ensemble de la procédure, dans des conditions optimales où le manipulateur utilise cette technique comme une routine prend 5 jours pour la mesure des solubilités, un week-end pour le refroidissement et 2 à 3 jours pour récupérer et préparer le solide, ce que l'on peut faire en même temps que le début d'une nouvelle série de mesures de solubilité. La figure 107 montre la durée de manipulation pour une série complète de 24 essais.

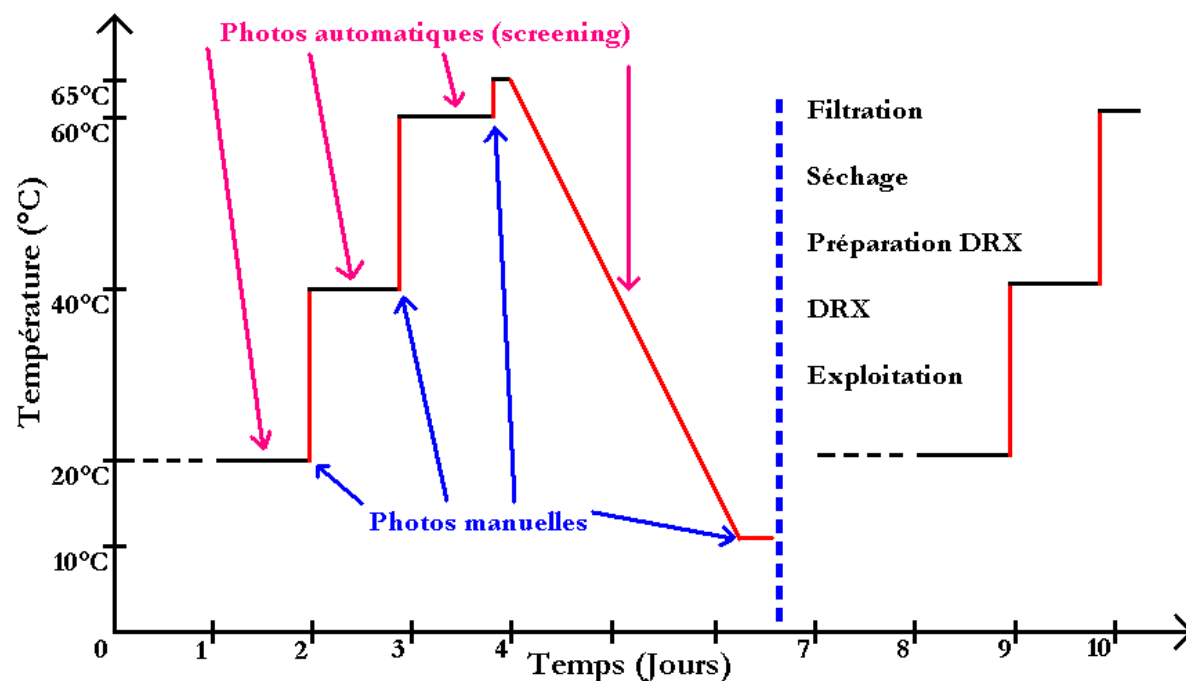


Figure 107 : Temps passé pour une série de 24 vials

Sachant que l'on désire enchaîner 3 séries de 24 essais, un mois de travail (4 à 5 semaines de travail) permet de faire une étude complète avec une synthèse de tous les résultats. Le choix des solvants, y compris des mélanges pour la seconde et la troisième série est à adapter en fonction des quantités de solide récupérées et des besoins d'observer une nouvelle fois un phénomène. Nous différencions sur la figure 105, la prise de photos manuelles de la prise automatique. Comme il se peut que les cristaux ne soient pas dans le même plan pour toutes les vials, une série de photos avec une mise au point manuelle, adaptée à chaque puits est préférée une fois que le contenu des vials est saturé pour chaque température.

## II.2. Résultats sur le TD901

Précisons ici que les résultats sont donnés pour l'adaptation de cette méthode au chlorhydrate TD901, nous avons utilisé de l'heptane au lieu de la NMP. La première série de mesures s'est faite pour 30, 40, 50, 60 et 70°C au lieu de 20, 40 et 60°C alors que nous travaillions encore sur les détails de la méthode. L'encadrement des solubilités est accompagné par une série de photos enregistrées par le microscope optique, l'exploitation des résultats DRX, TG, DSC et quelques images prises au microscope électronique.

### II.2.1. Solubilités

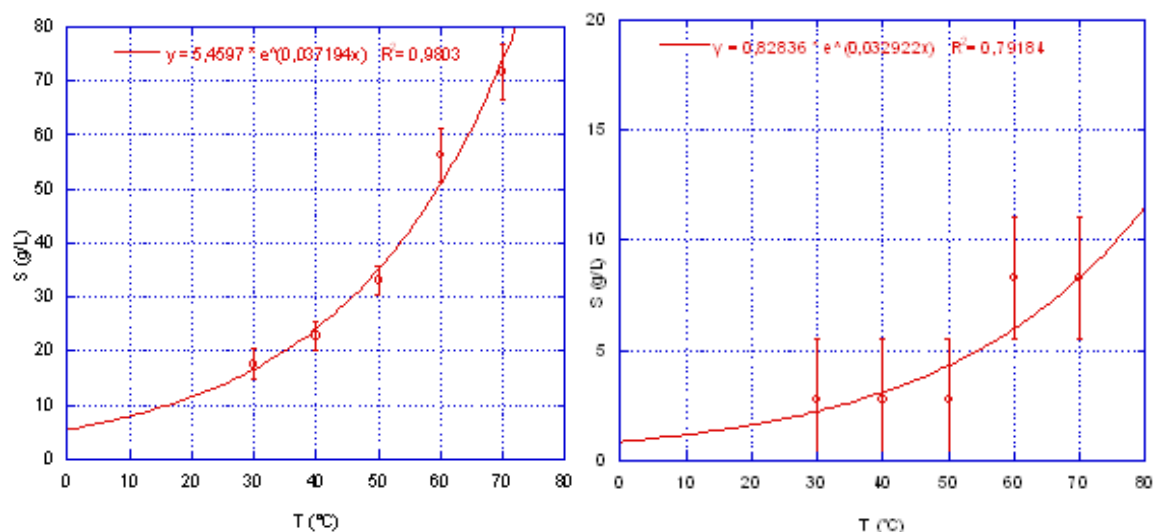
Les résultats par encadrement sont donnés dans le tableau 17. Tous les mélanges sont effectués pour 50/50 (v/v). D'une série à une autre, nous avons décidé de refaire des essais avec plus de matière au départ (nécessité pour faire une analyse DRX), réduisant le nombre de mélanges étudiés.

Nom	Solubilité à 20°C (g/l) (S)	Solubilité à 30°C (g/l) (S)	Solubilité à 40°C (g/l) (S)	Solubilité à 50°C (g/l) (S)	Solubilité à 60°C (g/l) (S)	Solubilité à 70°C (g/l) (S)
Eau		15<S<20	20<S<25	30<S<35	55<S<60	65<S<75
Ethanol		S<5	S<5	S<5	5<S<10	10<S<15
Isopropanol		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Méthanol		5<S<11	5<S<11	5<S<11	11<S<15	15<S<21
Butanol		S<5	S<5	S<5	5<S<11	5<S<11
Pentanol		S<5	S<5	S<5	S<5	5<S<10
Acétone		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
MIBC		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Dioxan	S<5		S<5		S<5	
Hexane		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Heptane	S<5		S<5		S<5	
Cyclohexane	S<5		S<5		S<5	
MéthylCyclohexane		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Toluène		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Xylène		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Acétate d'éthyle		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Acétate de butyle		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Diéthyléther		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Diisopropyléther		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Ether de pétrole	140<S<160		320<S<360		500<S<520	
MTBE		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Glyme	S<5		S<5		S<5	
Triglyme	S<5		S<5		S<5	
Dichloroéthane		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Dichlorométhane		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Chloroforme	S<5		S<5		S<5	
Chlorobenzène		S<5	S<5	S<5	S<5	S<5
Acétonitrile	S<5		S<5		S<5	
DMSO		250<S<265	250<S<265	265<S<335	265<S<335	335<S<355
DMF		5<S<10	5<S<10	10<S<16	16<S<21	21<S<33
THF	S<5		S<5		S<5	
DMAC	10<S<15		15<S<30		15<S<30	
Eau + Toluène	5<S<10		5<S<10		5<S<10	
Eau + CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	5<S<10		5<S<10		5<S<10	
Eau + Ethanol	15<S<25		25<S<50		80<S<120	
Eau + Acétate d'éthyle	S<5		S<5		S<5	
Eau + Methanol	15<S<25		25<S<40		40<S<70	
Eau + DMF	30<S<40		210<S<245		495<S<525	
Eau + Hexane	5<S<10		5<S<10		5<S<10	
Eau + Diisopropylether	5<S<10		5<S<10		5<S<10	
Eau + THF	230<S<255		430<S<470		845<S<875	
Eau + Acétonitrile	380<S<400		795<S<805		1175<S<1220	
Eau + DMAC	S<5		65<S<85		300<S<340	
Eau + Acétone	160<S<190		160<S<190		335<S<385	
Eau + Chloroforme	S<5		S<5		S<5	

Tableau 17 : Encadrement de la solubilité du TD901

La comparaison des résultats du tableau 17 à l'annexe N est rassurante car les valeurs données par l'entreprise à 20°C rentrent dans les encadrements mesurés au CINaM. Dans les cas où la température d'ébullition du solvant est faible (éther, ..) la valeur d'encadrement à 60°C a forcément peu d'intérêt physique, mais il faut savoir qu'à 40 et à 60°C, les vials sont sorties des blocs pour refroidir un peu et éviter que le solvant s'évapore trop quand on ouvre les vials pour les remplir.

A titre d'exemples, sont données dans les figures 108, 109 et 110 les courbes de solubilité mesurées par encadrement respectivement dans l'eau, le butanol et le DMF. Nous avons ajusté les données par une exponentielle passant par les encadrements de la solubilité aux températures d'étude.



Figures 108 et 109 : Courbes de solubilité du TD901 dans l'eau et dans le butanol

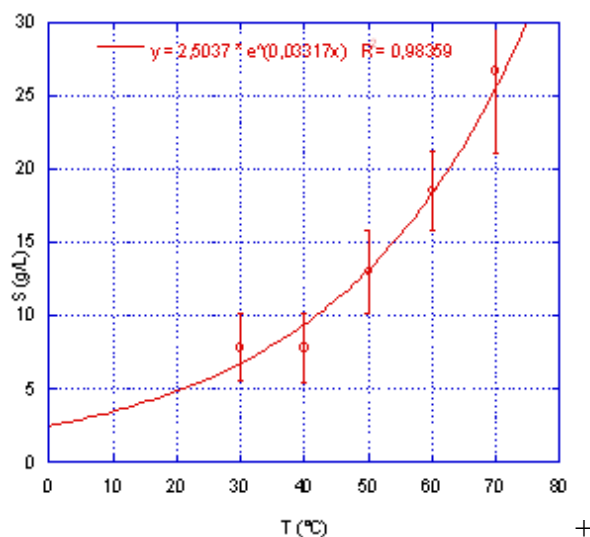


Figure 110 : Courbe de solubilité du TD901 dans le DMF

Sur l'ensemble des 32 solvants, on peut noter que le produit est soluble à 60°C dans les solvants suivants : Eau, Ethanol, Méthanol, Butanol, Ether de pétrole, DMSO, DMF, DMAC. Les mélanges 50/50 (v/v) de ces solvants organiques avec l'eau augmentent considérablement la solubilité du TD901.

## II.2.2. Faciès et transformations

La somme des 3 séries d'expériences a permis d'enregistrer plus de 11.000 images, dont 288 prises de manière manuelle, avec la mise au point parfaitement réglée. L'exploitation de ces images est facilitée par le nom de chacune d'elle, donné automatiquement par le logiciel d'acquisition, avec le numéro du puits, la température et l'heure d'enregistrement, afin de les trier. Les photos étant prises tous les quarts d'heure, il est facile de faire des vidéos avec les images enregistrées.

Nous présentons ici 4 séquences d'images, enregistrées au cours des cycles de défilement des puits devant l'objectif. Ces séquences sont caractéristiques de phénomènes différents.

Tout d'abord, un cas où le soluté a une solubilité inférieure à 5 g/L dans le THF tout au long de la manipulation [Fig. 111]. Nous n'avons nullement manipulé la vial après le premier chargement. Une fois la température portée à 65°C (la première image est représentative de l'état du fond de la vial de 60 à 65°C), le soluté commence à se dissoudre et apparaît en même temps une autre phase cristalline au dessus des agglomérats dissouts à 65°C. Si nous n'étions pas allés au dessus de 60°C, nous n'aurions pu observer ce phénomène.

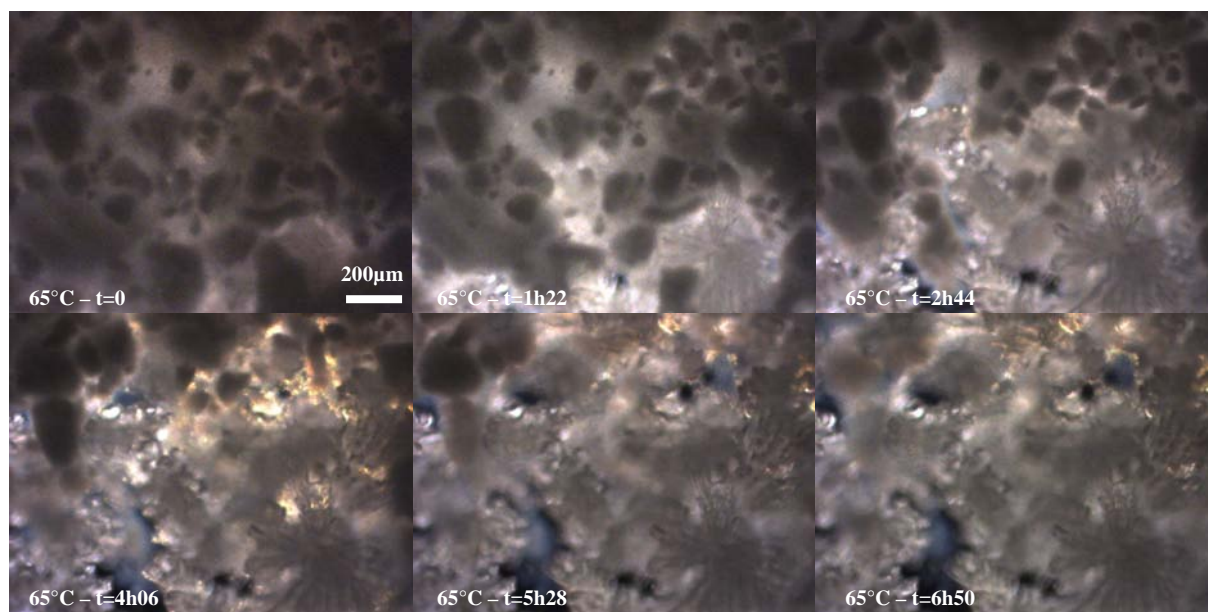


Figure 111 : Transition dans le THF séquence de 7h à 65°C

Dans l'eau, la suspension est dissoute à 65°C. Pendant le refroidissement une phase solide nucléé dès 47,0°C. La séquence de la figure 112 montre la nucléation primaire de cette phase étalée sur 2h37 de temps de 47,0°C à 44,4°C

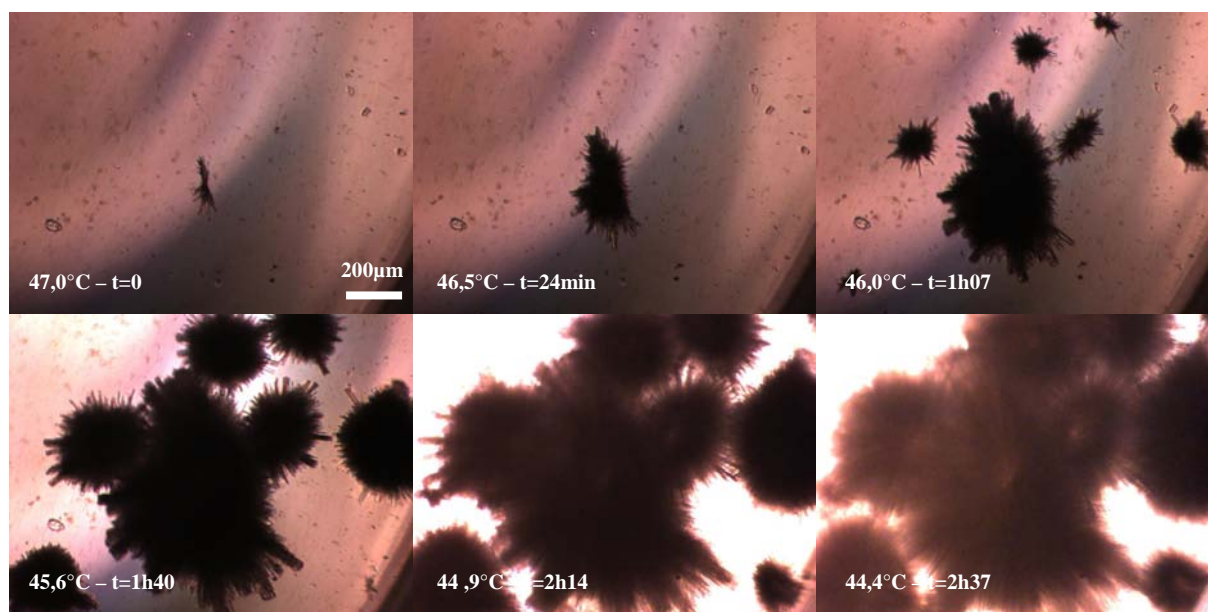


Figure 112 : Nucléation primaire dans l'eau séquence de 2h37 de 47,0°C à 44,4°C

Dans le pentanol, le soluté a une solubilité inférieure à 5 g/L jusqu'à 60°C compris. A 70°C, le soluté est dissous, l'addition de 5 mg supplémentaire dans la vial est suffisante pour saturer la solution à 70°C. On observe ainsi, de gros agglomérats au fond de la vial. La descente en température provoque, à partir de 30°C, une vague de nucléation secondaire. On voit très bien sur la séquence de la figure 113 que de petites et fines aiguilles nucléent en nombre autour des agglomérats.

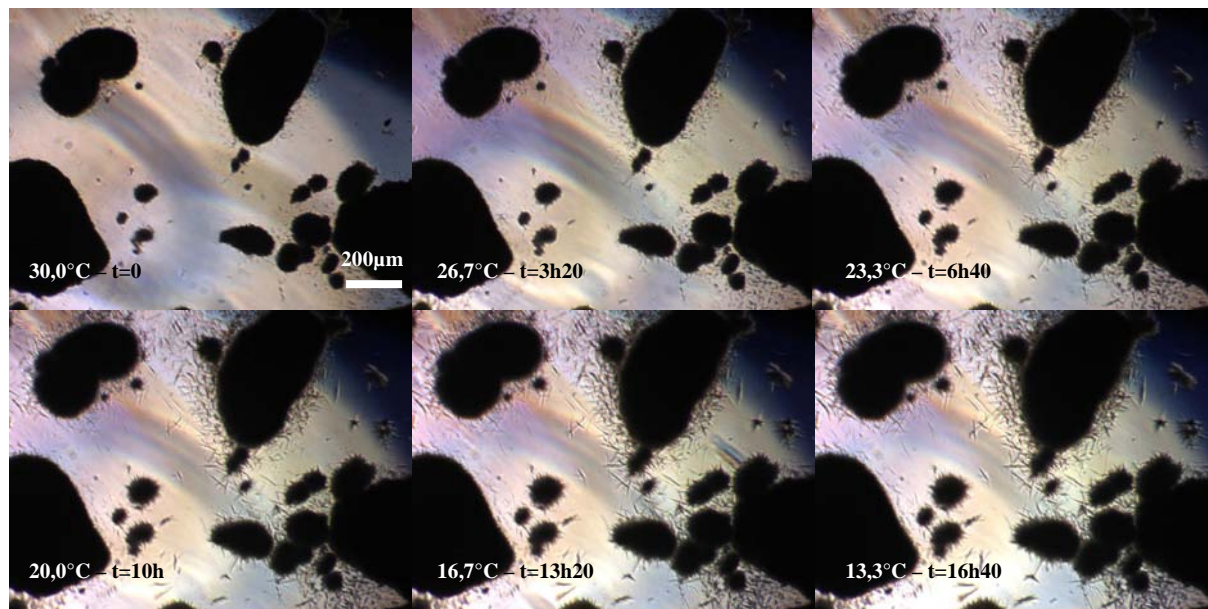


Figure 113 : Nucléation secondaire dans le pentanol séquence de 16h40 de 30,0°C à 44,4°C

Dans l'acétone [Fig. 114], le TD901 forme un gel et dans l'eau des aiguilles. Dans un mélange Eau/Acétone, le résultat est tout autre. À 60°C, la solubilité est comprise entre 335 et 385 g/L. La séquence d'images de la figure 114 est ainsi prise à 385 g/L. L'élévation de la température à 65°C semble (logiquement) dissoudre la suspension restante, mais alors que nous entamons à peine le refroidissement à 10°C à raison de 1°C/min, nous assistons non pas à la simple dissolution du produit, mais à une transition polymorphique avec nucléation d'une nouvelle phase, au faciès massif très différent de ce que nous avons vu jusque-là.

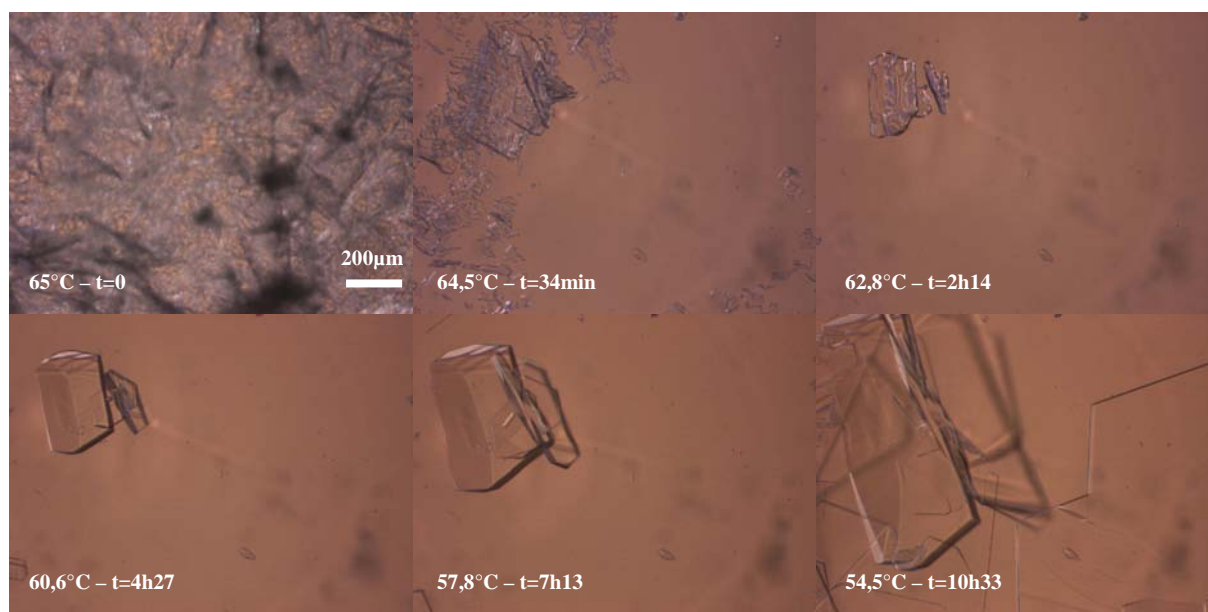


Figure 114 : Transition dans le mélange eau/acétone séquence de 7h à 65°C

Nous avons au moins 45 séries d'images, une série par solvant ou mélange de solvants différents. Est donnée ici, sur les figures 115, 116 et 117, une image pour chaque cas. Ces images ont été prises automatiquement ou manuellement, à 60°C ou pendant le refroidissement.

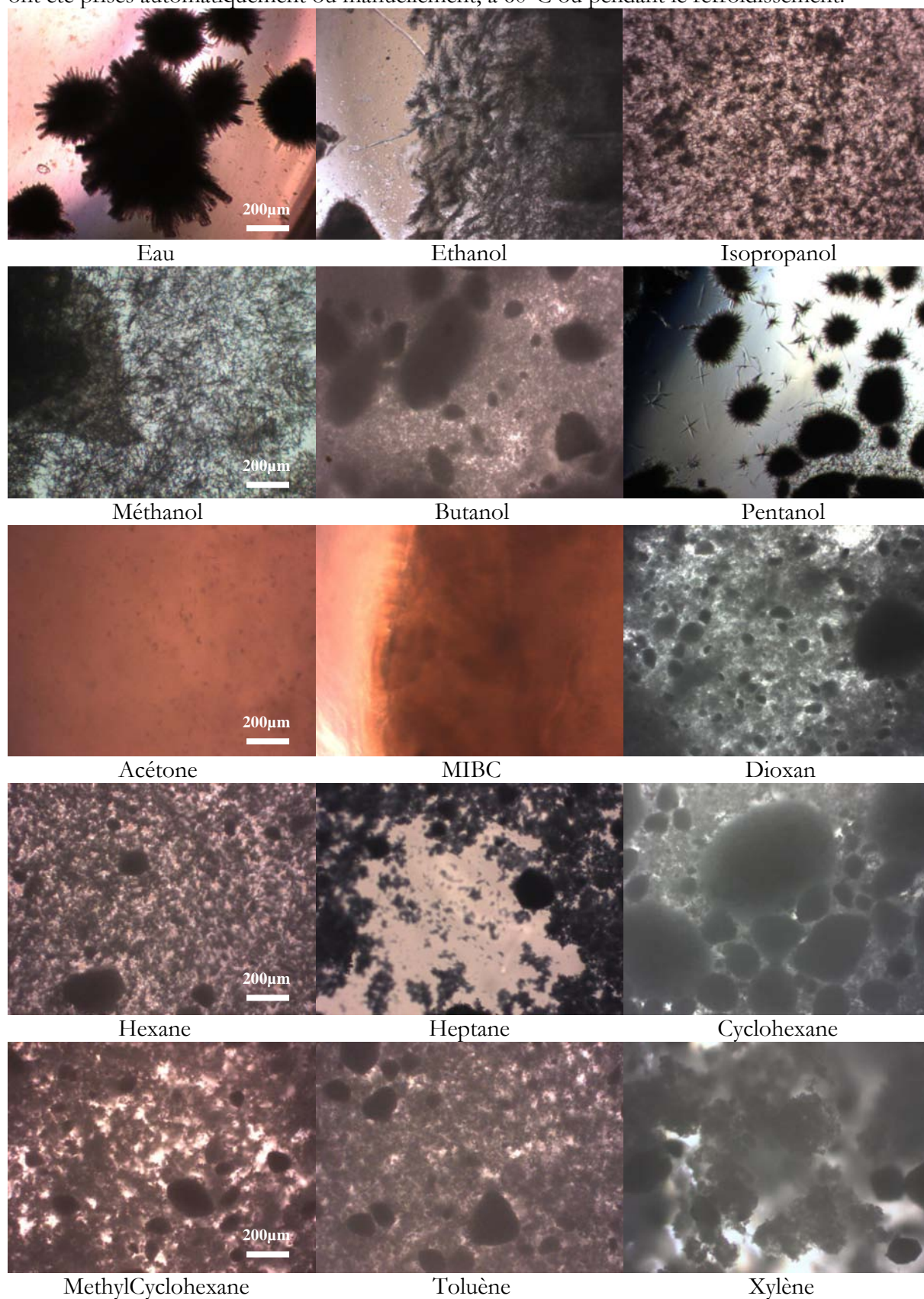


Figure 115 : Images des suspensions/solutions de TD901 dans un solvant donné (1/3)

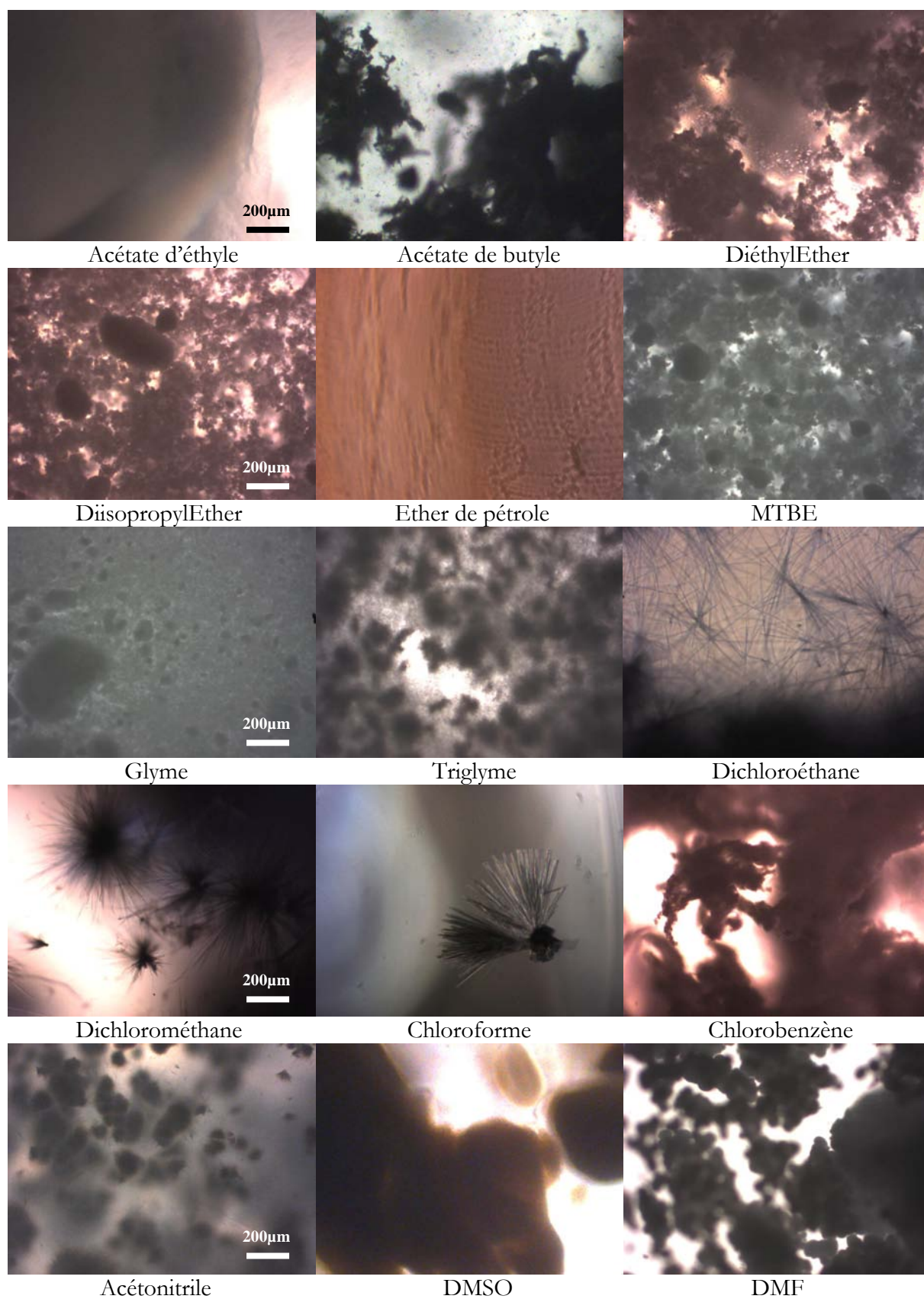


Figure 116 : Images des suspensions/solutions de TD901 dans un solvant donné (2/3)

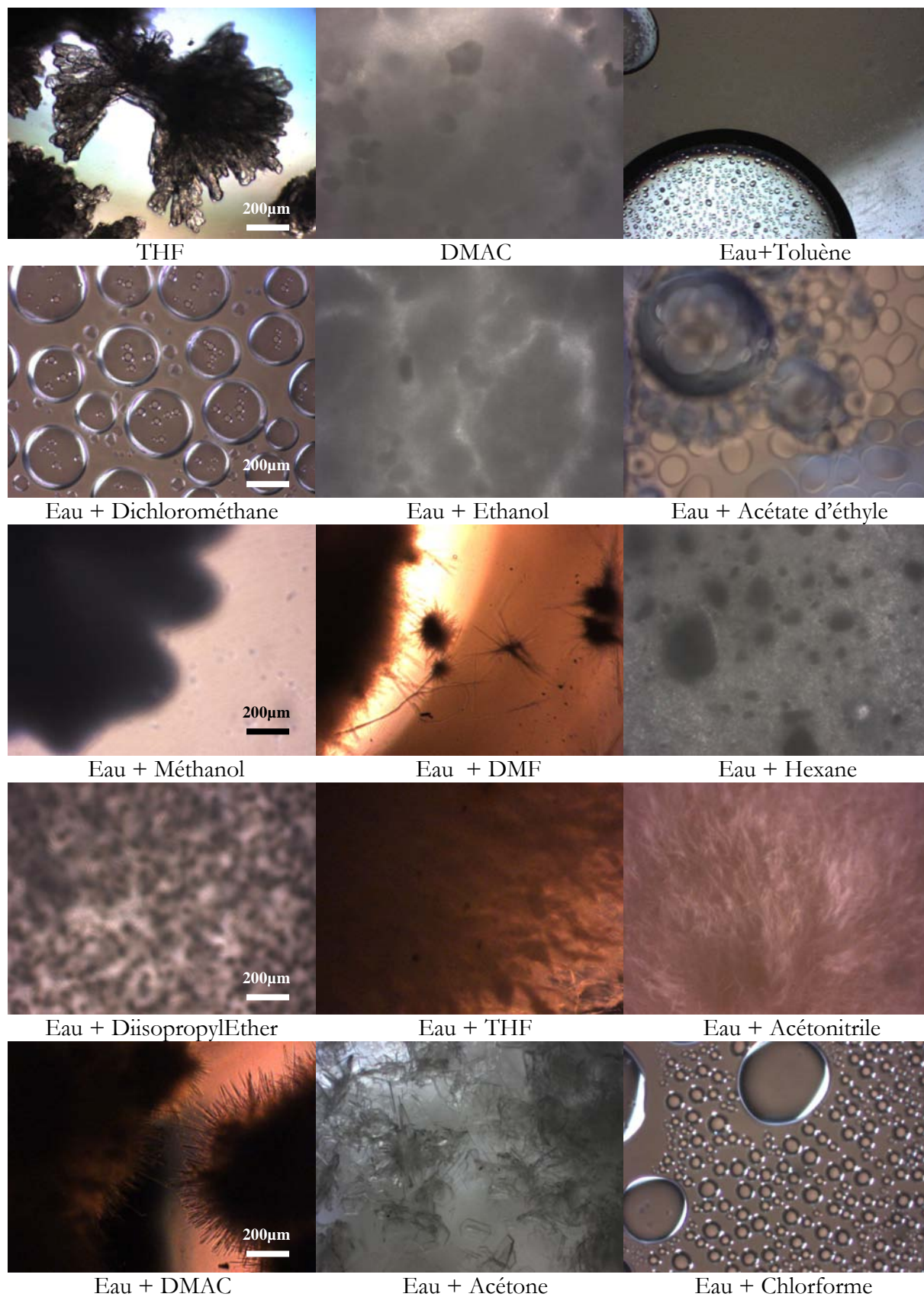


Figure 117 : Images des suspensions/solutions de TD901 dans un solvant donné (3/3)

Ces images sont soit des photos prises manuellement soit tirées des cycles automatiques d'enregistrement d'images. Selon les cas, les photos manuelles n'ont aucun intérêt car la vial est complètement blindée de solide et l'on ne distingue pas d'aiguilles ou de faciès particulier, d'où le choix de montrer une photo avec une mise au point mauvaise (Eau + Méthanol, figure 117). D'après nos observations, la nucléation des aiguilles, la plupart du temps, prend moins de 30 minutes (soit 2 images) pour blinder la vial, c'est un phénomène beaucoup plus rapide que pour la nucléation de cristaux plus massifs (Eau + DMF, figure 117).

Nous avons observé plusieurs cas où le TD901 formait un gel dans le solvant et non du solide : Acétone, MIBC, Acétate d'éthyle, Ether de pétrole. Enfin, dans le DMAC et le DMSO, le TD901 a respectivement une solubilité importante à 65°C ou 70°C, mais n'a pas pu recristalliser à 10°C (nous avons récupéré du liquide), ce qui est dû à un écart très important dans ces deux solvants entre la courbe et la limite de zone métastable.

Les mélanges 50/50 devraient être choisis entre un bon solvant et un mauvais solvant du produit à étudier. Nous avons choisi d'utiliser l'eau comme bon solvant. Des mélanges avec un ratio différent de 50/50 sont aussi possibles. Le choix des mélanges aurait pu être revu, car l'intérêt de travailler dans des solvants non miscibles à 50/50 v/v est faible, mais l'observation de la séparation de phases liquide/liquide dans le ternaire TD901/Eau/Chloroforme ou TD901/Eau/Dichlorométhane est intéressante (le soluté est dissous dans la phase aqueuse).

En tout cas, ces séries d'expériences nous ont permis d'observer au moins 4 types de faciès distincts : Aiguilles agglomérées ou non (Ethanol, Isopropanol, Pentanol, Eau + Acétonitrile, Dichlorométhane, Dichloroéthane, Eau+DMF), bâtonnets (Eau, Chloroforme, Eau+DMAC), plaquettes (Eau + Acétone) et agrégats massifs (THF).

De plus, nous avons cherché à reproduire la manipulation dans Eau/Acétone 50/50 pour observer encore la nucléation de plaquettes (figure 114). Au lieu de se placer à 385 g/L à 60°C, nous avons ajouté seulement du soluté dans la vial pour atteindre 340 g/L pour observer les conditions de sursaturation à 60°C. Cela nous permet d'ailleurs de réduire l'encadrement de la solubilité pour ce point précis. Cependant, au lieu d'observer une transformation polymorphique à 65°C et dès le début du refroidissement, le produit s'est nettement solubilisé entre 60°C et 65°C et n'a renucléé qu'à 32°C, avec un tout autre faciès que celui attendu : des aiguilles au lieu de plaquettes [Figure 118].

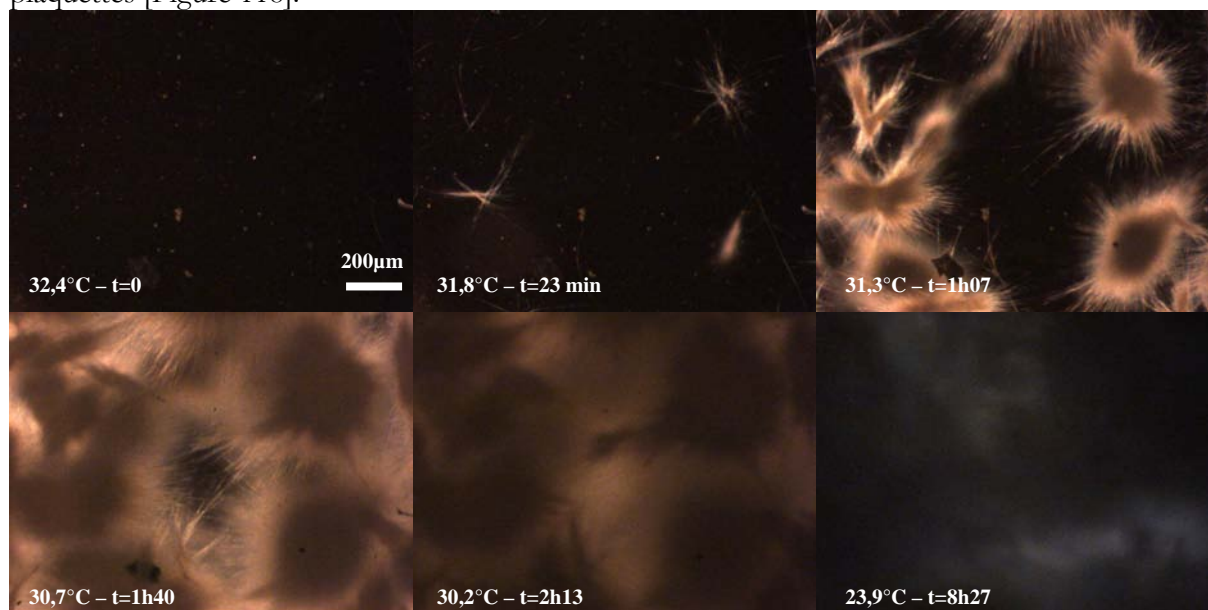


Figure 118 : Nucléation dans l'eau+acétone séquence de 8h27 de 30,0°C à 44,4°C

Nous avons reproduit à plusieurs reprises ces expériences à 340 g/L et 385 g/L et observé à chaque fois ces 2 phénomènes respectivement à  $\sim 32^{\circ}\text{C}$  et à  $\sim 65^{\circ}\text{C}$ . Nous avons ici clairement à faire à un cas de polymorphisme. Si nous avons utilisé ces 2 phases pour mesurer la solubilité dans Eau/Acétone pour plusieurs points, nous pourrions statuer s'il s'agit d'un cas de polymorphisme monotropique ou énantiotropique. Nous nommons les conditions pour obtenir les plaquettes "Eau+Acétone  $\alpha$ " et pour obtenir les aiguilles "Eau+Acétone  $\beta$ ".

L'analyse de chacune des phases solides récupérées à  $10^{\circ}\text{C}$  permet de trier les conditions de cristallisation en fonction de la phase cristalline du solide.

### II.2.3. Comparaison des clichés de poudre

La filtration du seul millilitre de suspension est une opération particulière, qui nécessite de la précision pour pouvoir récupérer autant que possible le TD901 sous forme solide. La préparation des capillaires pour les analyses DRX nécessitant au moins quelques milligrammes de solide, il a été parfois nécessaire de refaire des expériences avec plus de produit au départ (10 voire 15 mg dans 1 mL de solvant). Une fois tous les essais analysés par DRX quand cela était possible, il faut faire un travail de comparaison d'un diffractogramme à l'autre. Ainsi, les 38 enregistrements ont été comparés un à un, ainsi qu'aux clichés de la base et de la phase anhydre obtenue pendant le chauffage de la phase A.

Nous avons pu distinguer de ces 38 clichés, 12 enregistrements différents. Les figures 119, 120 et 121 montrent un exemple pour chacune des 12 phases.

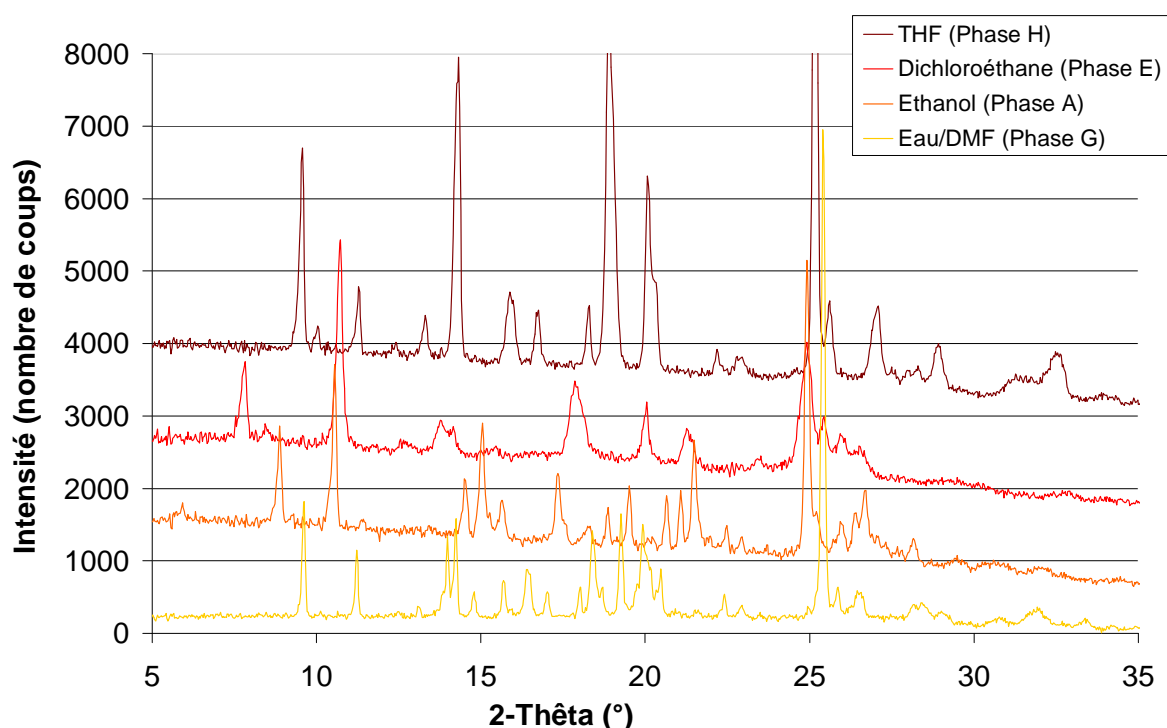


Figure 119 : Clichés des phases H, E, A et G du chlorhydrate TD901

L'intensité des clichés n'est pas régulière d'un enregistrement à un autre, mais les conditions d'analyse sont rigoureusement les mêmes. Cela signifie que certains échantillons sont particulièrement cristallins (phases H, A, G de la figure 119) par rapport à d'autres (phases B, I, K de la figure 120). Dans le cas des formes B et I [Fig. 119], la distinction des 2 phases n'est pas facile, mais le pic à  $9^{\circ}98$  de la phase I ne se retrouve pas dans la phase B (petit amas à  $10^{\circ}49$ ).

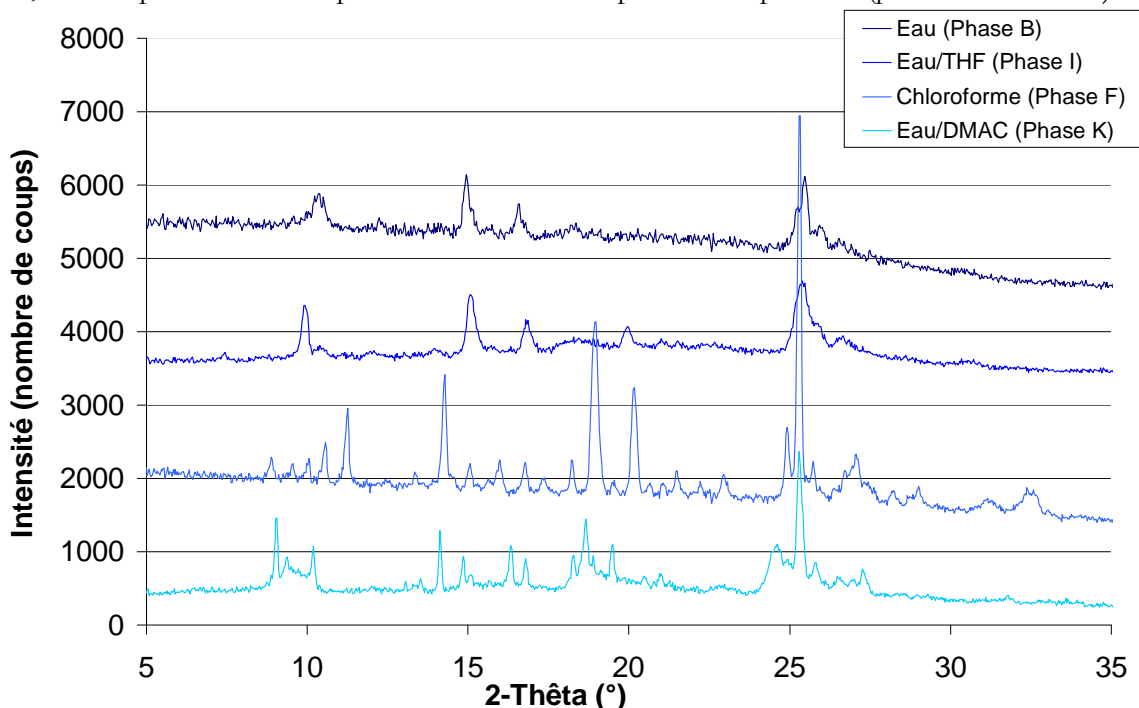


Figure 120 : Clichés des phases B, I, F et K du chlorhydrate TD901

Dans les cas où les pics sont particulièrement peu intenses (phases B, I de la figure 120) ou que l'on observe plus une ligne de base en forme de halo (phase D de la figure 121), la poudre analysée est particulièrement amorphe.

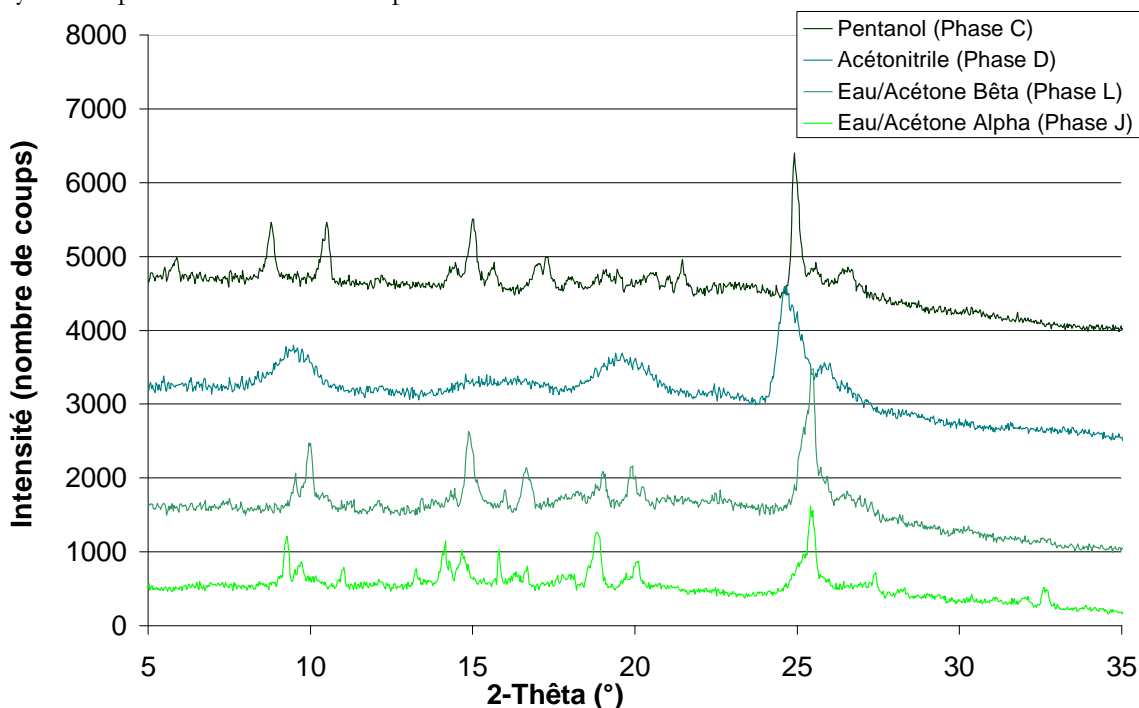


Figure 121 : Clichés des phases C, D, L et J du chlorhydrate TD901

Un point commun à tous ces clichés est l'existence d'un pic très intense autour de  $25^{\circ}10$ , prouvant que toutes ces phases ont un plan de diffraction en particulier qui leur est commun. Le tableau 18 récapitule après analyse des clichés DRX, l'ensemble des solvants dans lesquels nous avons obtenu chaque phase cristalline.

Phases	Solvant de cristallisation			
Phase A	Ethanol	Isopropanol	Méthanol	Butanol
	Dioxan	Hexane	Heptane	Cyclohexane
	Methylcyclohexane	Toluène	Xylène	Acétate de butyle
	Diéthyl éther	DiisopropylEther	MTBE	Glyme
	Chlorobenzène	Eau+Ethanol	Eau+Méthanol	
Phase B	Eau			
Phase C	Pentanol	Triglyme		
Phase D	Acétonitrile			
Phase E	Dichloroethane	Dichloromethane		
Phase F	Chloroforme			
Phase G	DMF	Eau+DMF		
Phase H	THF			
Phase I	Eau+THF	Eau+Acétonitrile		
Phase J	Eau+acétone $\alpha$			
Phase K	Eau+DMAC			
Phase L	Eau+ Acétone $\beta$			

Tableau 18 : Phases cristallines selon le solvant de cristallisation

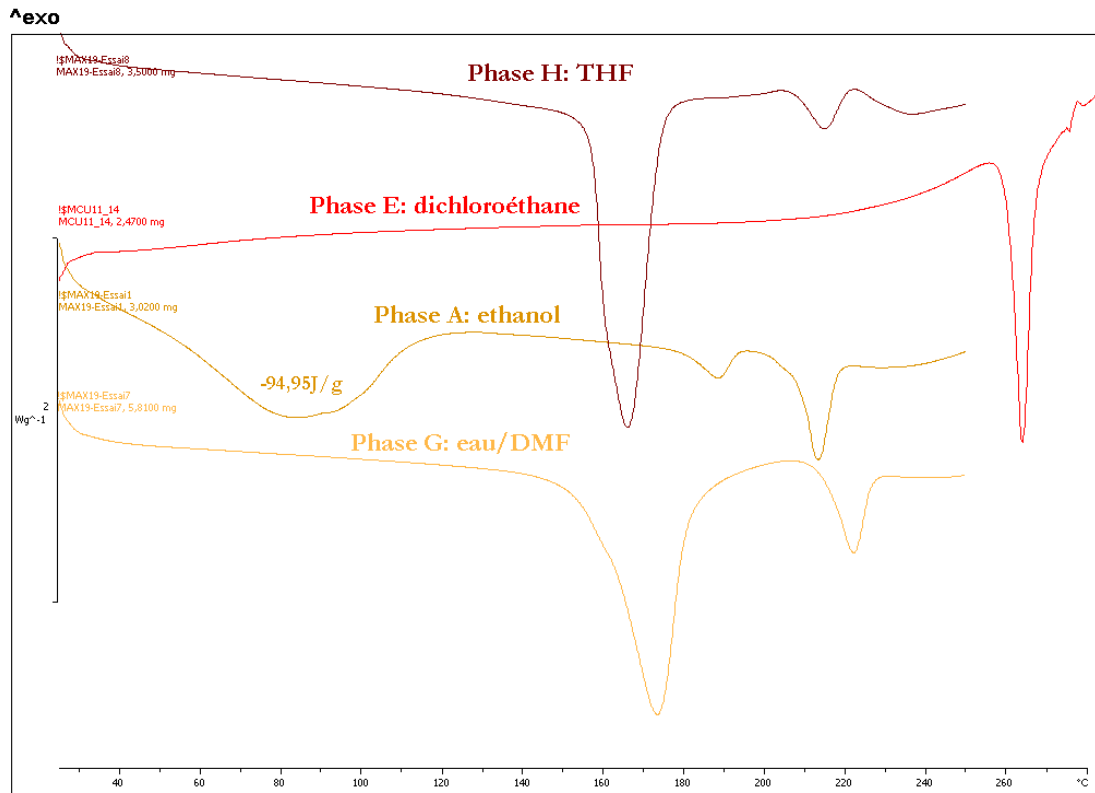
La connaissance de toutes ces phases cristallines est nécessaire pour le dépôt d'un dossier de demande de mise sur le marché d'un nouvel API. Pour l'industriel, ces informations, complétées avec des images du faciès de chaque phase sont intéressantes pour réaliser un bon choix de solvant. Cependant, ce que l'analyse DRX ne dit pas, c'est si les phases sont des polymorphes ou des solvates/hydrates. L'analyse thermique peut donner des pistes pour conclure sur ce point.

#### **II.2.4. Apports de la DSC et de la TG aux résultats**

Il est intéressant de continuer le travail de caractérisation des différentes phases cristallines du sel afin de voir si les méthodes mises en jeu sont bien complémentaires de la DRX dans le cadre d'une recherche polymorphique. Un enregistrement DSC d'un produit avec un seul endotherme de fusion donnera une caractéristique simple à la phase cristalline. Plus d'information, comme de multiples endothermes avant la fusion, voire un exotherme de cristallisation ou encore la présence d'un endotherme "patatoïde" aux basses températures, permettront de compléter de manière importante les connaissances sur ces phases cristallines. La TG servira de complément d'information à l'analyse DSC.

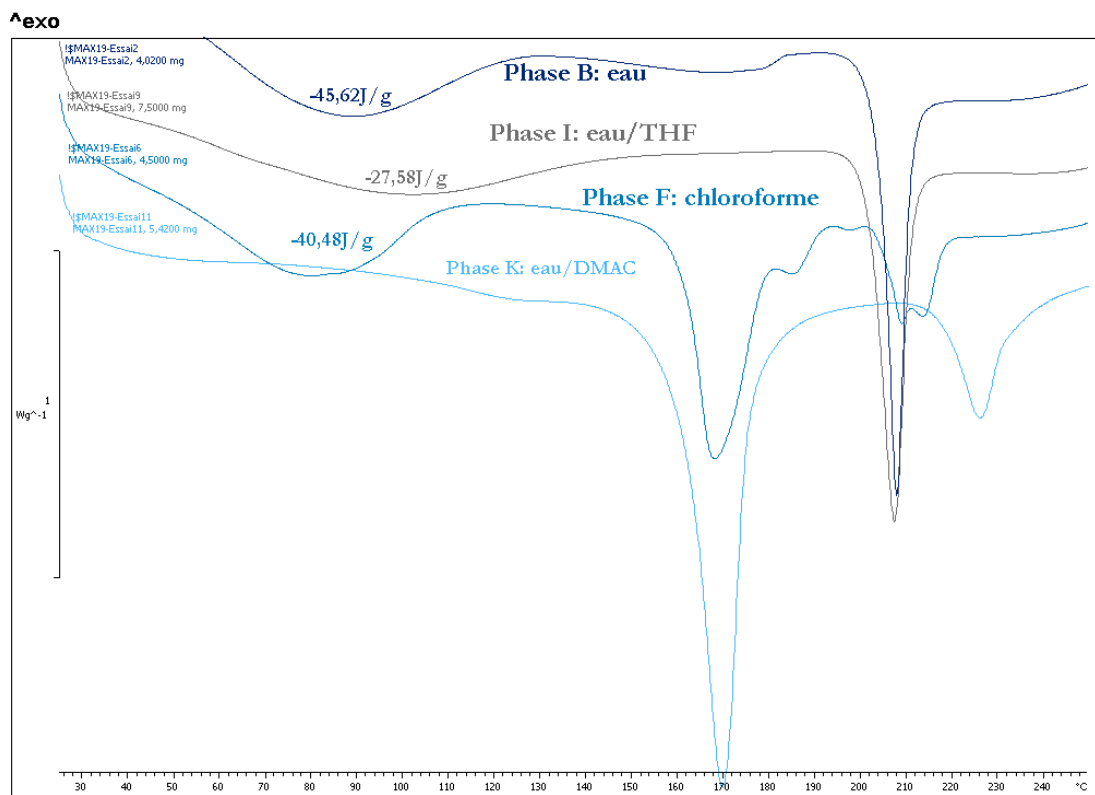
Les analyses ont été faites dans des capsules en aluminium de 40 $\mu$ L, de 25°C à 250°C à raison de 10°C/h. A la fin des mesures, nous avons ouvert les capsules pour vérifier que tous les échantillons se retrouvaient sous forme de "solide fondu" resolidifié. Nous avons refait une analyse pour TD901 cristallisé dans le dichloroéthane jusqu'à 300°C car la fusion du produit n'avait pas été atteinte.

L'ensemble des résultats est donné dans les figures 122, 123 et 124. Le détail des enthalpies mesurées est donné dans le tableau 19.



Lab: METTLER STAR<sup>®</sup> SW 9.10

Figure 122 : Enregistrements DSC pour les phases cristallines H, E, A, G



Lab: METTLER STAR<sup>®</sup> SW 9.10

Figure 123 : Enregistrements DSC pour les phases cristallines B, I, F, K

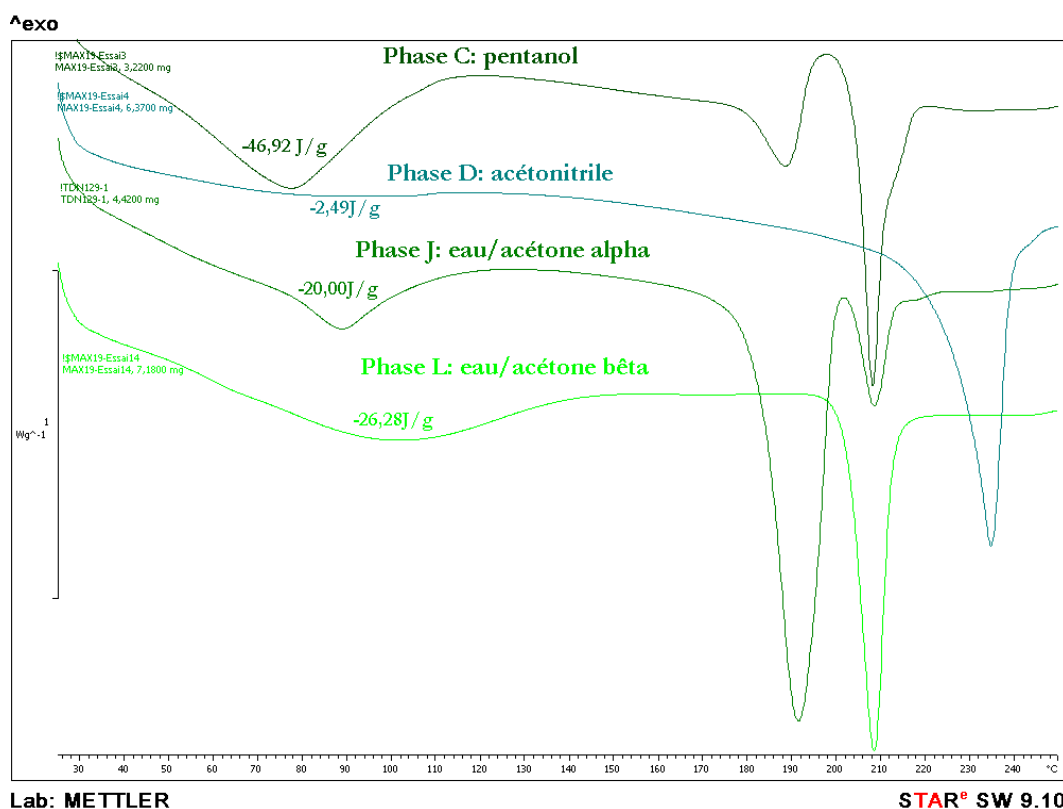


Figure 124 : Enregistrements DSC pour les phases cristallines C, D, J, L

	$T_{\text{éb}}$ et $\Delta H_{\text{vap}}$ ( $P_{\text{atm}}$ ) $MM_i$	Endotherme à 100°C	Température et enthalpie des autres endothermes		
Phase A Ethanol	78 °C, 855 J.g <sup>-1</sup> 46 g.mol <sup>-1</sup>	-94,95 J.g <sup>-1</sup>	-6,77 J.g <sup>-1</sup> 180,15°C	-21,50 J.g <sup>-1</sup> 208,39°C	-
Phase B Eau	100°C, 2257 J.g <sup>-1</sup> 18 g.mol <sup>-1</sup>	-45,62 J.g <sup>-1</sup>	-4,92 J.g <sup>-1</sup> 143,34°C	-37,89 J.g <sup>-1</sup> 203,87°C	-
Phase C Pentanol	138°C, 88 g.mol <sup>-1</sup>	-45,92 J.g <sup>-1</sup>	-14,71 J.g <sup>-1</sup> 179,53°C	-33,37 J.g <sup>-1</sup> 204,11°C	-
Phase D Acétonitrile	82°C 41 g.mol <sup>-1</sup>	-	-	-	-58,48 J.g <sup>-1</sup> 225,81°C
Phase E Dichloroéthane	84°C 99 g.mol <sup>-1</sup>	-	-	-	-43,76 J.g <sup>-1</sup> 260,26°C
Phase F Chloroforme	62°C, 247 J.g <sup>-1</sup> 119 g.mol <sup>-1</sup>	-40,49 J.g <sup>-1</sup>	-58,97 J.g <sup>-1</sup> 161,07°C	-16,04 J.g <sup>-1</sup> 204,31°C	-
Phase G Eau/DMF	153°C 73 g.mol <sup>-1</sup>	-	-133,08 J.g <sup>-1</sup> 158,05°C	-	-19,84 J.g <sup>-1</sup> 215,24°C
Phase H THF	66°C 72 g.mol <sup>-1</sup>	-	-119,02 J.g <sup>-1</sup> 156,91°C	-9,42 J.g <sup>-1</sup> 207,82°C	-
Phase I Eau/THF		-27,58 J.g <sup>-1</sup>	-	-39,75 J.g <sup>-1</sup> 201,69°C	-
Phase J Eau/Acétone	56°C, 532 J.g <sup>-1</sup> 60 g.mol <sup>-1</sup>	-20,00 J.g <sup>-1</sup>	-93,85 J.g <sup>-1</sup> 182,06°C	-9,45 J.g <sup>-1</sup> 203,61°C	-
Phase K Eau/DMAC	164°C 87 g.mol <sup>-1</sup>	-	-90,92 J.g <sup>-1</sup> 161,21°C	-	-21,22 J.g <sup>-1</sup> 218,16°C
Phase L Eau/Acétone		-26,28 J.g <sup>-1</sup>	-	-40,59 J.g <sup>-1</sup> 202,28°C	-

Tableau 19 : Phases cristallines selon le solvant de cristallisation

Si l'on détaille les résultats de la DSC, nous pouvons séparer les phases cristallines en 2 sections en fonction de la présence de l'endotherme avant 100°C que nous avons, pour la phase A, attribué à l'existence d'un hydrate.

#### Absence de l'endotherme de 100°C

- Phases D et E, un seul endotherme, correspondant à la fusion du produit

Phases polymorphiques anhydres, cristallisées dans l'acétonitrile et le dichloroéthane, avec une fusion bien définie

- Phases G et K, respectivement avec 2 endothermes à 158,05°C et 215,24°C puis 161,21°C et 218,16°C. Étonnamment, les 2 endothermes de ces phases sont décalés de 3°C les uns par rapport aux autres. Les clichés DRX de ces 2 phases ne sont d'ailleurs différents que de 5 à 6 pics de diffraction. On note enfin que ces phases ont été préparées dans les mélanges Eau/DMAC et Eau/DMF, or le DMAC et le DMF sont des molécules très proches chimiquement [Tableau 16]. Il ne serait pas étonnant que ces 2 phases soient des solvates car l'impact de la petite différence entre le DMAC et le DMF se verrait par le faible nombre de différences entre les clichés DRX des phases G et K. Le premier endotherme pourrait correspondre au départ du solvant

Phases probablement solvates avec le DMAC et DMF

- Phase H avec deux endothermes à 156,91°C et 207,82°C. Le premier endotherme pourrait correspondre au départ du solvant, le THF

Phase probablement solvate avec le THF

#### Endotherme en amont de 100°C

- Les phases A, B, C, F, J ont 2 points communs. Leurs analyses par DSC ont toutes un endotherme large avant les 100°C, que nous pourrions considérer comme caractéristique d'un hydrate. Puis, ces phases présentent toutes un endotherme entre 140 et 180°C et surtout, un endotherme à 202 – 203°C (208°C pour la phase A dans l'éthanol). On note que les phases I et L répondent aussi à ce critère et peut être la phase H (208°C, cristallisé dans le THF). Cette forte similitude entre ces enregistrements DSC est frappante.

Phases sans doute hydrates (la molécule d'eau pouvant venir très vite s'incorporer dans la structure dès que le solide est sorti de la suspension). Les enthalpies mesurées pour le départ de l'eau respectent de près les stœchiométries suivantes : A (1:1), B (1:0,5), C (1:0,5), F (5:2) et J (5:1)

- Les phases I (Eau/THF) et L (Eau/Acétone) ont également deux points communs : Un endotherme très large autour de 100°C de près de -27J/g puis un endotherme de près de -40 J/g à 202°C. Ces 2 enregistrements sont presque identiques. La comparaison des clichés I et L montre 2 phases plutôt amorphes, le cliché de I a seulement 6 pics, que l'on retrouve tous dans le cliché de L. Cependant le cliché de L contient bien plus de pics.

Phases probablement hydrates, il faut vérifier avec plus d'analyses s'il ne s'agit en effet pas des mêmes formes. Les enthalpies mesurées pour le départ de l'eau font penser à une stœchiométrie d'une molécule d'eau pour 4 molécules de sel TD901.

Si la DSC nous donne de très bonnes pistes pour la caractérisation de nos solides, la thermogravimétrie peut confirmer ou réfuter les hypothèses que nous avons émises pour chacune des phases obtenues après cette recherche polymorphique.

L'analyse TG se fait dans des creusets en céramique à la même vitesse que les analyses DSC, 10°C/min de 40°C à 600°C. Nous ne donnons ici qu'une illustration des résultats [Fig. 125], le détail des résultats étant donné dans le tableau 20 juste après. En ce qui concerne la figure 125, nous observons une perte de masse de 15,02% du solide initiale, très nette autour de 166°C (température déterminée par la méthode des doubles tangentes). La ligne de base avant cette

perte est parfaitement plate, ce qui a été assez rare pour l'ensemble des échantillons, ce qui dénote pour ceux-ci l'existence d'un hydrate ou d'une quantité non négligeable d'eau de surface sur le cristal.

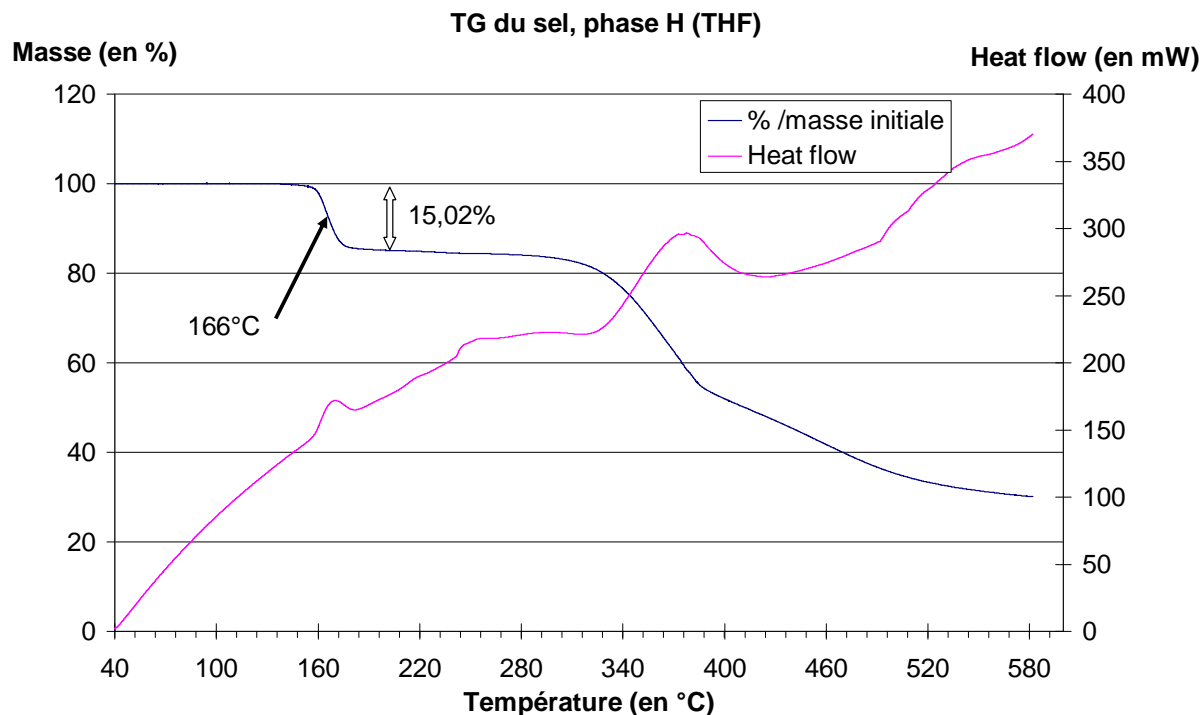


Figure 125 : Analyse TG de la phase cristalline H

Phase	Perte de masse avant dégradation chimique
Phase A Ethanol	Perte nette de 5,57 % avant 100°C
Phase B Eau	Perte nette de 5,13 % avant 100°C
Phase C Pentanol	Perte nette de 5,21 % avant 100°C
Phase D Acétonitrile	Perte non marquée de 1% jusqu'à la dégradation
Phase E Dichloroéthane	Perte nulle avant la dégradation
Phase F Chloroforme	Perte nette de 2,53 % avant 100°C Perte nette de 16,77% centrée sur 169°C => Correspond au 1 <sup>er</sup> des 2 endothermes
Phase G Eau/DMF	Perte nette de 15,48 % avant 100°C Perte nette de 13,34% centrée sur 174°C => Correspond au 1 <sup>er</sup> des 2 endothermes
Phase H THF	Perte nette de 15,02% centrée sur 166°C => Correspond au 1 <sup>er</sup> des 2 endothermes
Phase I Eau/THF	Perte lente de 4,8 % jusqu'à 120°C
Phase J Eau/Acétone $\alpha$	Perte nette de 2,45 % avant 100°C Perte nette de 6,31% centrée sur 189°C => Correspond au 1 <sup>er</sup> des 2 endothermes
Phase K Eau/DMAC	Perte nette de 4,31 % avant 100°C Perte nette de 17,12% centrée sur 173°C => Correspond au 1 <sup>er</sup> des 2 endothermes
Phase L Eau/Acétone $\beta$	Perte lente de 4,9 % avant 120°C

Tableau 20 : Résultats TG sur nos 12 phases cristallines

Nous exploitons ces thermogrammes selon le même schéma de présentation que précédemment, vis-à-vis de la perte de masse avant 100°C :

#### Pas de perte de masse avant 100°C

- Phases D et E, aucune perte de masse avant la dégradation des produits

Formes polymorphiques anhydres, cristallisées dans l'acétonitrile et le dichloroéthane.

- Phase H, unique perte de masse de 15,3% à 166°C. Cette perte correspond au rapport des masses molaires du THF au solvate TD901/THF (1 : 1) de 15,25%

La phase H est un solvate avec le THF, de stœchiométrie (1 : 1)

#### Perte de masse avant 100°C

- Phases G et K, perdant leur masse en 2 temps : respectivement à 15,48% et 4,31% avant les 100°C puis 13,34% et 17,12% à 174°C et 173°C. Il est étonnant de voir que la première perte, avant les 100°C, ne donne pas de signal DSC pour les 2 cas. La stœchiométrie (1 : 1) des solvates respectifs devrait représenter 15,5% en masse pour le DMF et 17,9% pour le DMAC, ce qui s'approche des valeurs mesurées (attention à l'impact de la première perte de masse sur le calcul)

Les phases G et K sont très certainement des solvates (1 : 1), mais il se pourrait qu'elles renferment en plus dans leur structure une quantité stœchiométrique de molécules d'eau, mais la DSC et la TG se contredisent à ce sujet.

- Les phases I (Eau/THF) et L (Eau/Acétone) perdent à peu près la même quantité de masse (~4,8%), de manière équivalente, c'est-à-dire de manière plus diffuse que pour une perte nette, jusqu'à 120°C, plus tard que les 100°C habituels des hydrates. L'analyse TG ne permet pas de différencier les phases I et L. Si le départ de l'eau est plus lent que d'habitude, cela peut s'expliquer par une stabilité plus importante de la structure hydratée, avec des forces de liaison entre le sel et l'eau plus fortes. La quantification du départ de l'eau est par contre contradictoire avec la DSC. Là où nous mesurons à une stœchiométrie (1 : 4) pour -27,58 J/g en DSC, la TG nous donne une stœchiométrie de (1 : 1). Étant donné que la patatoïde s'étend presque au-delà de 120°C, les conditions d'intégration pour la mesure ne devaient pas être bonnes.

Les phases I et L sont certainement des phases hydrates (1 : 1). Il n'est pas impossible que ces phases soient d'ailleurs les mêmes.

- Les phases A, B et C présentent une simple perte de masse de 5,57% 5,13% et 5,21% avant 100%. Cela correspond tout à fait à l'existence de monohydrates avec un peu d'humidité en plus en surface des cristaux. Nous faisons néanmoins la même remarque que précédemment : la DSC donnait une stœchiométrie (1 : 0,5) pour les phases B et C alors que la TG nous dit que c'est plutôt (1 : 1)

Les phases A, B et C sont des monohydrates, avec encore le doute que les phases B et C aient une stœchiométrie de 2 molécules de sel pour une molécule d'eau.

- Enfin, les phases F et J ont un profil TG similaire : perte de masse de 2,53% et 2,54% avant 100°C puis respectivement perte de 16,77% à 169°C et perte de 6,31% à 189°C. La première perte correspond à la perte d'une quantité d'eau d'une stœchiométrie (1 : 0,5), qui est supérieure à (5 : 2) et (5 : 1) mesurées par DSC. Là encore, nous préférons nous reposer sur la TG pour une telle exploitation quantitative. La seconde perte est très prononcée, exactement au niveau du deuxième des trois endothermes observés par DSC. La masse du chloroforme et de l'acétone dans des structures (1 : 0,5 : 1) serait de 22,2% et de 12,8%. La phase J comprend sans doute dans sa structure aussi une molécule d'acétone pour deux molécules de sel TD901, alors que la phase F compte 3 molécules de chloroforme pour 4 molécules de sel.

Les phases F et J sont des solvates, associés peut-être à une quantité stœchiométrique d'eau de structure: (1 : 0,5 : 0,75) pour la phase F (chloroforme) (1 : 0,5 : 0,5) pour J (acétone/eau).

### II.2.4. Photos MEB

L'observation plus précise des cristaux avec l'aide des photos prises au microscope électronique pourrait nous apporter de nouvelles informations pour répondre à nos dernières interrogations. Les figures 126, 127, 128 et 129 comparent, pour chaque solvant où nous avons obtenu une phase différente, une image prise au microscope optique à une photo MEB de grossissement x300 ou x500. En annexe O sont fournies 2 images MEB supplémentaires pour chaque couple, à un grossissement plus faible et à un grossissement élevé.

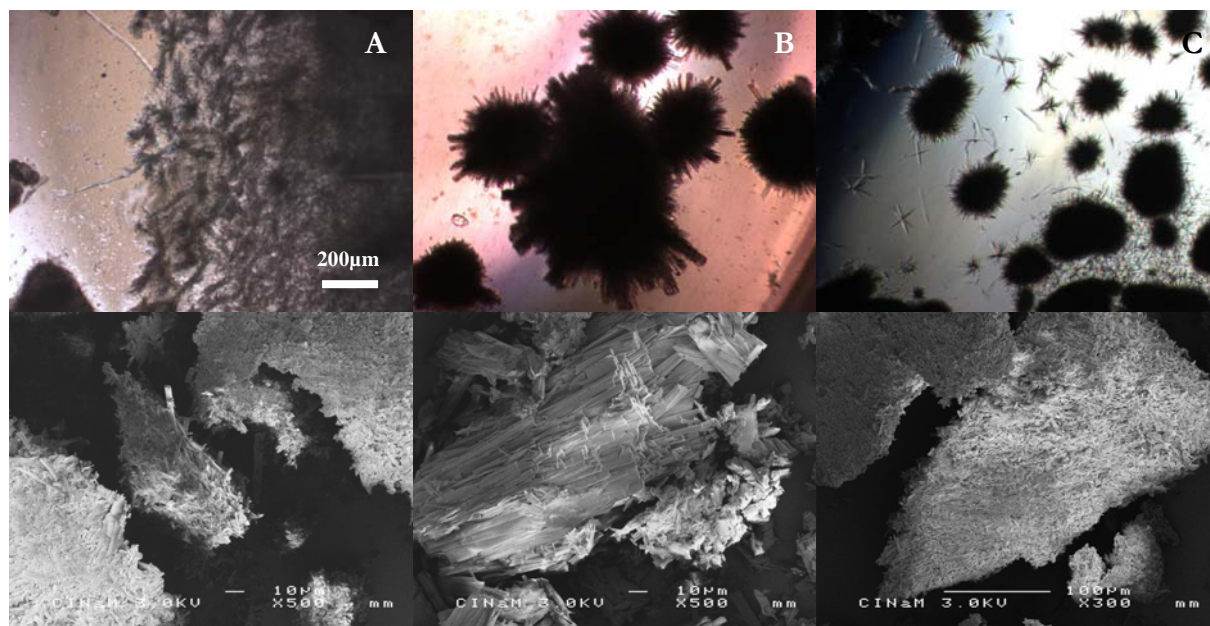


Figure 126 : Comparaison des photos prises en suspension et des photos MEB des phases A,B,C

Les phases A, B et C cristallisés dans l'éthanol, l'eau et le pentanol, ont des faciès aciculaires avec une forte aptitude à l'agglomération. Les aiguilles de B sont les plus épaisses.

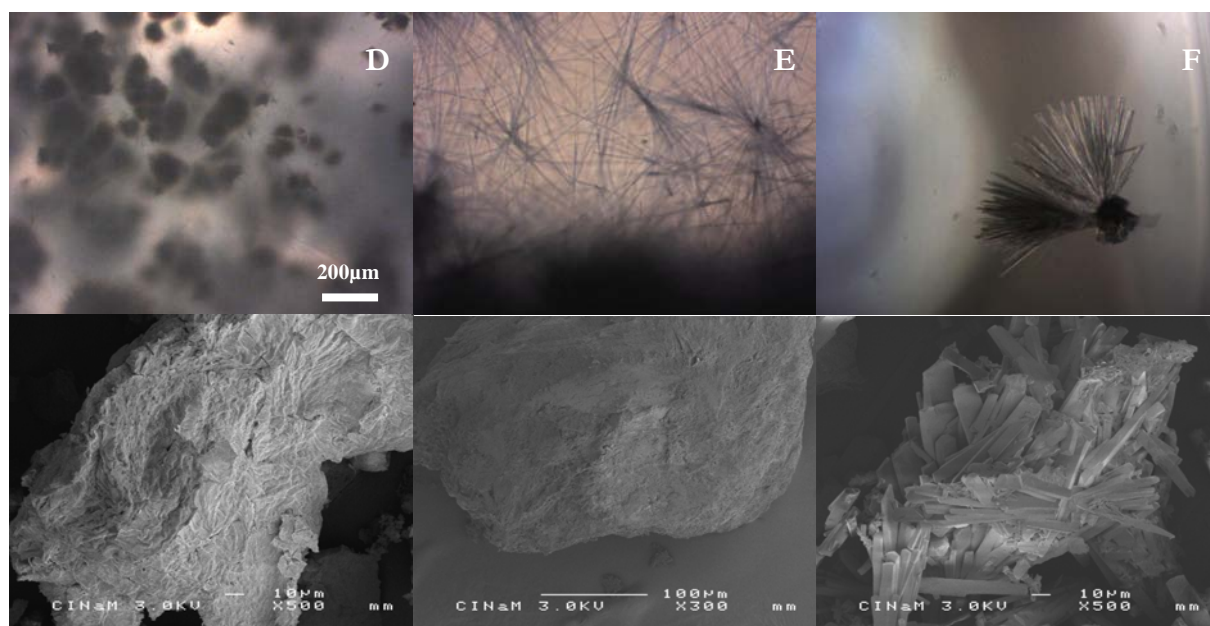


Figure 127 : Comparaison des photos prises en suspension et des photos MEB des phases D,E,F

Les photos MEB de la phase D confirment bien que le produit est amorphe (observation des clichés DRX). Les aiguilles de la phase E sont extrêmement fines, toutes les photos corroborent cette observation. Le faciès de la phase F obtenue dans le chloroforme est très particulier. Les quelques aiguilles poussant d'un noyau dense de type oursin ont une base triangulaire (photo MEB de l'annexe O), ces aiguilles pourraient du coup être considérées comme des plaquettes allongées.

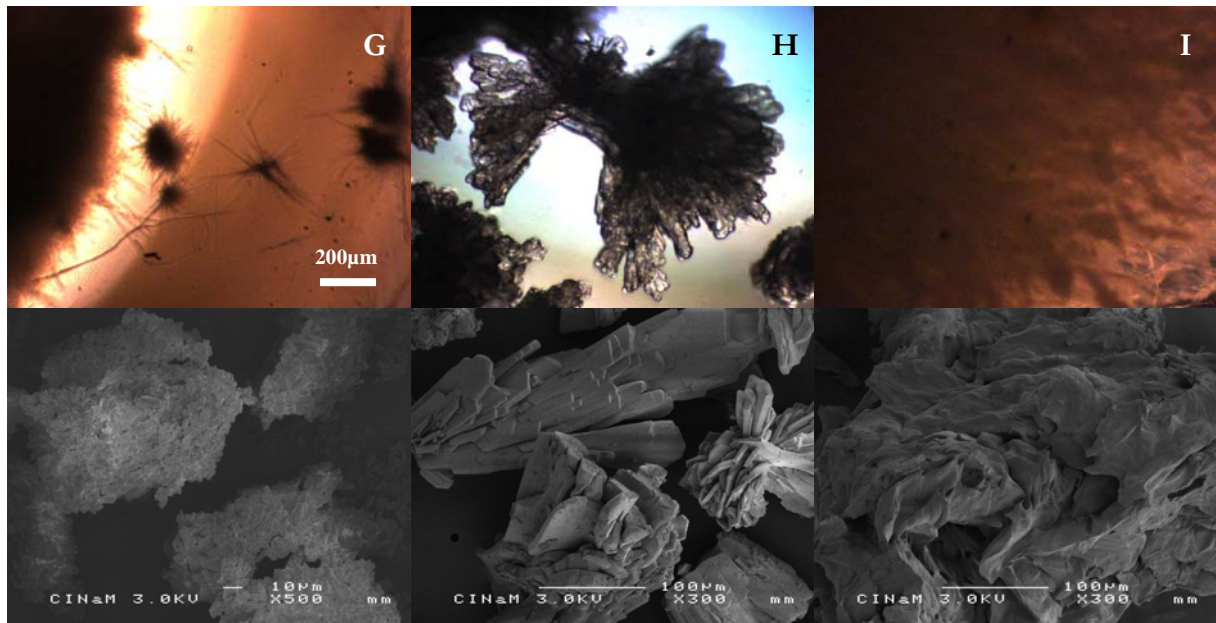


Figure 128 : Comparaison des photos prises en suspension et des photos MEB des phases G,H,I

Le faciès de la phase H, cristallisée dans le THF, est vraiment différent des autres, sous forme d'agrégats massifs en "nœud papillon".

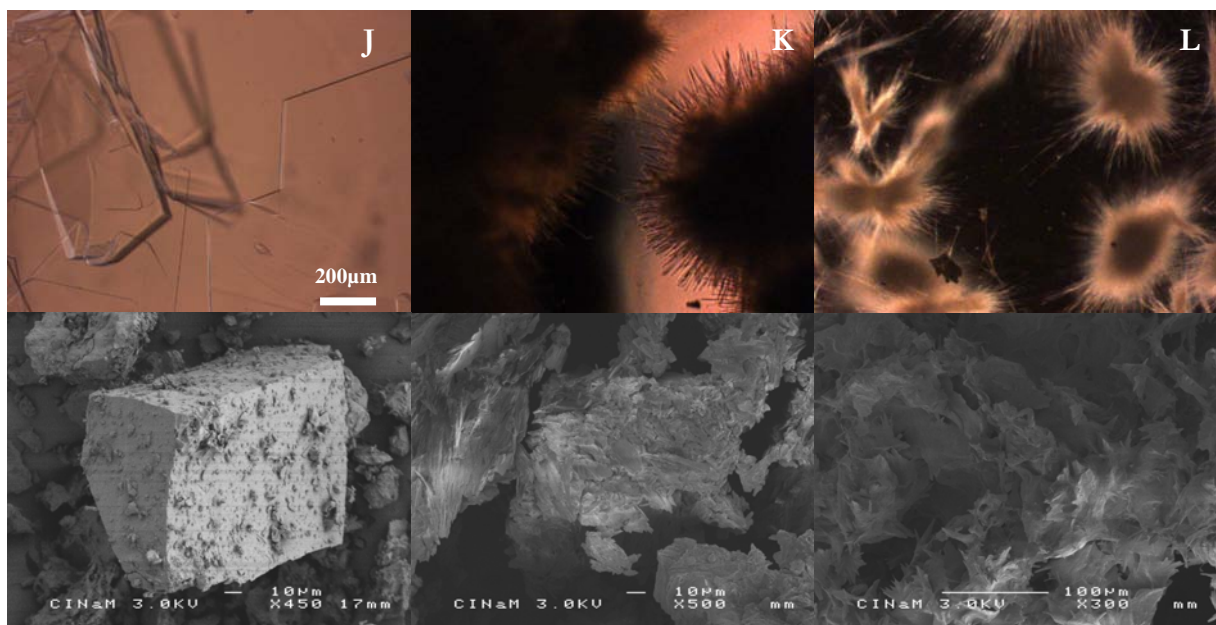


Figure 129 : Comparaison des photos prises en suspension et des photos MEB des phases J,K,L

Ici, nous nous arrêtons particulièrement sur les phases I et L, que nous soupçonnons être identiques. La microscopie optique montre des aiguilles poussant en "oursins" pour L et poussant "en maille" pour I. Les photos MEB montrent aussi des faciès un peu différents, ce qui

ne contredit pas d'ailleurs qu'il s'agit d'une seule et même phase cristalline, mais qui nous force à traiter ces deux phases avec précaution comme deux phases à distinctes.

### II.3. Conclusions

Ce travail de recherche de phases nous confirme une règle simple du polymorphisme : au plus on cherche, au plus on trouve de phases différentes. C'est au manipulateur de décider quand le criblage de solvants doit être arrêté. Il est sans doute peu utile d'aller au-delà des 32 solvants purs listés dans le tableau 16.

Ce plan de travail, dessiné pour 5 à 6 semaines optimisées n'a utilisé que moins de 5 grammes de matière première, dont la moitié n'a été nécessaire que pour 4 des 72 vials d'essais. Il répond au cahier des charges initial voulant obtenir le plus d'informations en un minimum de temps et avec le minimum de produit consommé.

Pour le TD901, nous avons pu ainsi tracer les courbes de solubilité par encadrement (solubilité  $> 5 \text{ g.L}^{-1}$  à 20, 40 ou 60°C) pour 9 solvants purs ou mélanges de solvant. 12 phases cristallines ont pu être discriminées et nous avons observé 6 faciès différents pour le TD901 recristallisé (aiguilles, amorphe, bâtonnets, petites plaquettes, agrégats massifs, tablettes) [Tableau 21].

Phase	Solubilités (g/L), solvant	Faciès	Nature du solide
Phase A	Ethanol S (30°C) < 5                      10 < S (70°C) < 15	Aiguilles	Mono hydrate
Phase B	Eau 15 < S (30°C) < 20                      65 < S (70°C) < 75	Aiguilles	Mono hydrate
Phase C	Pentanol S (30°C) < 5                      5 < S (70°C) < 10 Triglyme S (60°C) < 5	Aiguilles	Mono hydrate
Phase D	Acétonitrile S (60°C) < 5	Amorphe mal défini	Anhydre
Phase E	Dichloroethane, Dichloromethane S (60°C) < 5	Aiguilles	Anhydre
Phase F	Chloroforme S (60°C) < 5	Petits Bâtonnets agglomérés	Solvate (1 : 0,5 : 0,75)
Phase G	DMF 5 < S (20°C) < 10                      21 < S (60°C) < 33 Eau+DMF 30 < S (20°C) < 40                      495 < S (60°C) < 525	Plaquettes très fines	Solvate (1 : 1) (+ de l'eau ?)
Phase H	THF S (60°C) < 5	Agrégats massifs	Solvate (1 : 1)
Phase I	Eau+THF 380 < S (20°C) < 400                      1175 < S (60°C) < 1220 Eau+Acétonitrile 380 < S (20°C) < 400                      1175 < S (60°C) < 1220	Aiguilles mal définies	Mono hydrate
Phase J	Eau+acétone $\alpha$ 160 < S (20°C) < 1903                      35 < S (60°C) < 340	Tablettes	Solvate (1 : 0,5 : 0,5)
Phase K	Eau+DMAC S (20°C) < 5                      300 < S (60°C) < 340	Bâtonnets	Solvate (1 : 1) (+ de l'eau ?)
Phase L	Eau+ Acétone $\beta$	Aiguilles	Mono hydrate

Tableau 21 : Phases cristallines selon le solvant de cristallisation

L'analyse thermique de tous les échantillons donne des informations capitales, complémentaires aux résultats DRX. En effet, la connaissance de la nature des phases est une priorité avant de débiter le développement d'une d'entre elles. Le développement d'une phase solvate, particulièrement avec un solvant toxique n'est pas envisageable pour un produit pharmaceutique. La DSC est riche en informations, mais la TG permet d'apporter une sécurité quant à l'interprétation des résultats qualitatifs et quantitatifs en DSC. Les 2 techniques sont parfaitement complémentaires et ont un rôle important dans l'exploitation des résultats tirés de ce travail de criblage polymorphique.

Si ces techniques ne nous ont pas encore permis d'être sûr que les phases I et L soient exactement les mêmes (Clichés comparés en annexe Q) ou que les phases G et K contiennent un peu d'eau de structure et pas seulement des molécules de solvant organique, nous avons pu, avec assurance, dire que les phases A, B, C, I et L sont des monohydrates. Les phases D et E sont des phases anhydres, la phase H est un solvate (avec le THF), les phases F et J sont des solvates peut être avec une quantité stœchiométrique d'eau dans la structure (les monocristaux de la forme J ont été analysés plus tard par DRX en annexe P, ce qui a montré qu'il s'agit d'une phase mono acétate simple). Enfin, les phases G et K sont soit des solvates, soit des ternaires. Nous n'avons pas la moindre idée sur ces informations avec les seuls clichés de poudre et images enregistrées au microscope. Des analyses de sorption de vapeur (DVS) pourraient confirmer avec précision la stœchiométrie de nos phases hydratées.

Ce criblage s'est effectué sur le solvant de cristallisation du chlorhydrate, mais nous pourrions imaginer de le coupler avec un criblage de sel. Cela nécessiterait de faire un peu de chimie en amont et partir de plusieurs sels (chlorhydrate, tartrate, sulfate...). Le croisement de toutes les possibilités donnerait un nombre de résultats très importants et permettrait alors d'avoir un panel de choix très large par rapport aux meilleures conditions recherchées pour une qualité cristalline optimale vis-à-vis des propriétés d'usage des cristaux.

En tout cas, pour le chlorhydrate, les meilleures conditions de synthèse peuvent être définies par plusieurs éléments du tableau 21 :

- Grande différence de solubilité à haute et à basse température, avec une solubilité très faible à basse température pour un meilleur rendement
- Un faciès qui ne soit pas aciculaire
- Une phase non amorphe et non solvatée après le séchage (on pourrait envisager un solvate en fin de cristallisation si la molécule de solvant part très facilement pendant les opérations de traitement du solide)

Malheureusement, les faciès les plus intéressants (F, H, J) sont ceux de quelques solvates, les aiguilles étant des phases hydrates ou anhydres pour notre produit (on note que la relation structure hydrate = faciès aciculaire n'est peut être pas une coïncidence). La phase obtenue dans l'eau donne les aiguilles les plus épaisses parmi toutes les solutions à faciès aciculaire. L'eau, ou bien l'éthanol sont aussi des solutions acceptables vis-à-vis des valeurs de solubilité mesurées. Sans avoir eu la connaissance de ces résultats détaillés, le solvant choisi par Oril industrie pour la cristallisation de ce produit a été un mélange Ethanol/Eau (90/10). Nous avons, dans la partie suivante cherché à mesurer de plus près la solubilité du TD901 dans les mélanges d'eau et d'éthanol.

### III. Solubilité de la base et du sel TD901

Le procédé choisi par Oril industrie consiste à dissoudre les cristaux de base dans l'éthanol. L'acide chlorhydrique est dilué dans l'eau avant la coulée. Les cristaux nucléent dans un mélange Ethanol / Eau avec un ratio volumique de 90/10. La connaissance de la solubilité de la base et du sel dans les mélanges EtOH/Eau est capitale avant toute étude sur le procédé de cristallisation du TD901.

Nous présentons dans cette partie du rapport les résultats de la mesure de la solubilité à différentes températures et pour différents ratios de mélange EtOH/Eau. Le solide récupéré après chaque mesure est analysé pour avoir une meilleure approche des conditions optimales de cristallisation. L'utilisation de la thermodynamique et des valeurs d'enthalpie de mélange s'avère intéressante pour discuter de l'intérêt des méthodes de prédiction.

#### II.1. Détermination de la solubilité de la base

##### III.1.1. Solubilité de la base dans les mélanges Eau/EtOH

La solubilité est mesurée par ajouts successifs dans des cellules thermostatées de 10mL. Nous avons établi des courbes de solubilité avec des points à 10, 15, 20, 25, 35, 45, 55 et 65°C. Les mélanges de solvant EtOH/Eau utilisés ont été au départ : 90/10, 80/20, 70/30, 50/50 et 30/70 en plus de l'éthanol et de l'eau. Le produit étant insoluble dans l'eau (0,2 g/L insoluble à 65°C), nous ne donnons pas de courbes de solubilité dans l'eau.

La figure 130 représente la courbe de solubilité de la base dans de l'éthanol. A partir des points expérimentaux, le logiciel trace une courbe exponentielle et donne l'équation de cette courbe ainsi que le coefficient de lissage  $R^2$ .

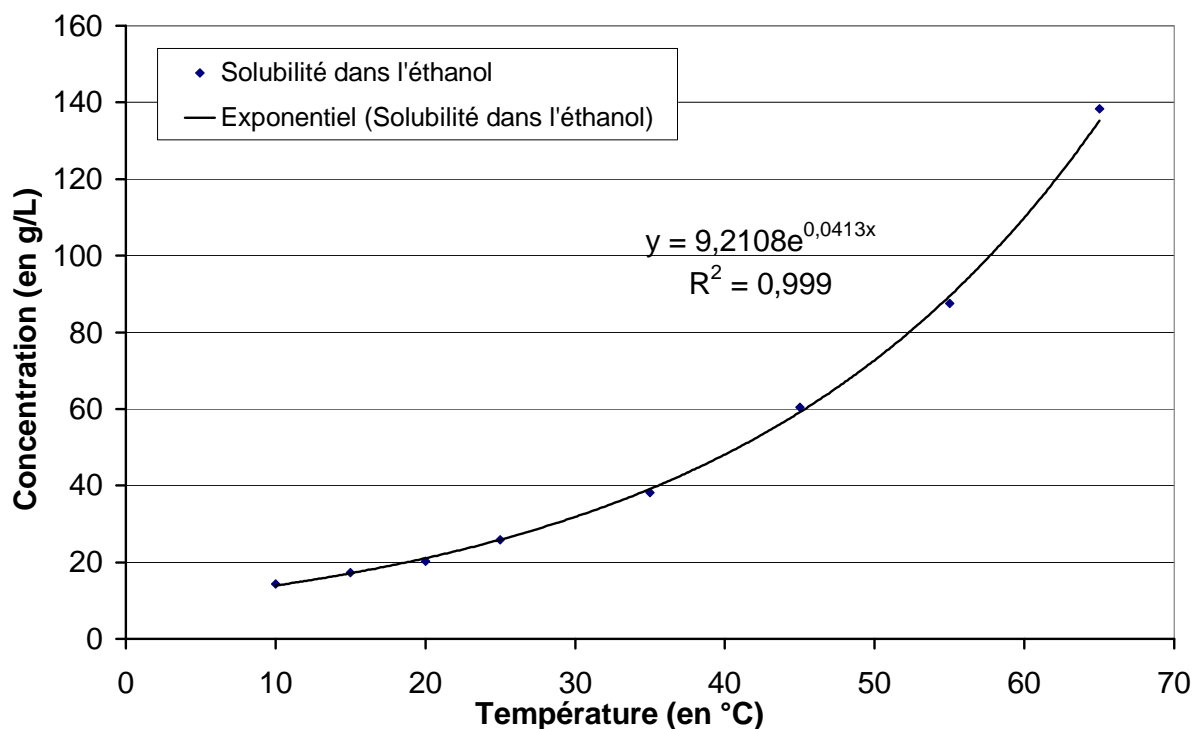


Figure 130 : Courbe de solubilité de la base dans l'éthanol

À partir de là, nous représentons ces valeurs expérimentales en  $\ln(C) = f(1/T)$  (relation de Van't Hoff [Eq. 100]) et en tirons une valeur de l'enthalpie de dissolution du produit dans ce solvant. Dans le cas de la figure 131, nous lisons  $A = -3941,9$  et calculons  $\Delta H_d = 32,8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

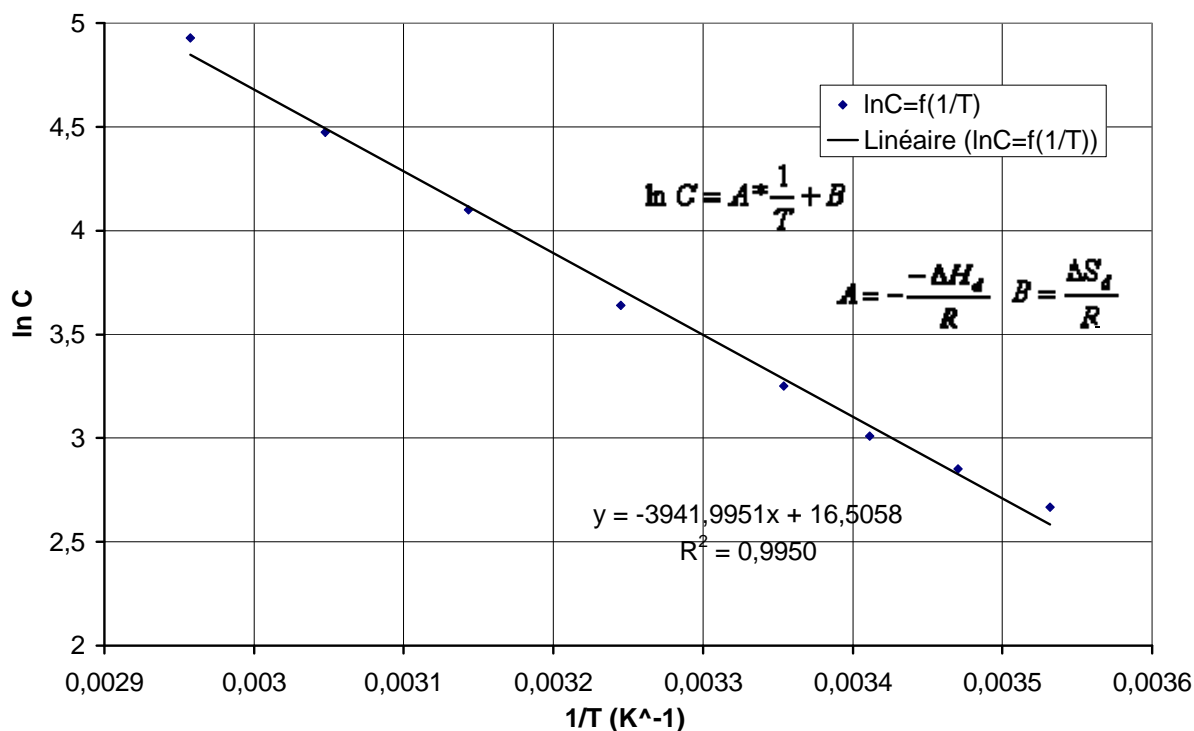


Figure 131 : Exploitation  $\ln C = f(1/T)$  pour base dans l'éthanol

Les autres résultats pour les ratios 90/10, 80/20, 70/30, 50/50 et 30/70 sont donnés dans la figure 132.

Composition du solvant		Solubilités (g.L <sup>-1</sup> ) à T donnée (°C)								Droite de régression		
EtOH	Eau	10	15	20	25	35	45	55	65	Pente	Origine	$\Delta H_d(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
100	0	14,4	17,3	20,3	25,8	38,1	60,4	87,6	138,3	-3941,995	16,505	<b>32,8</b>
90	10	10,4	13,6	16,8	21,6	38,4	63,1	103,7	172	-4897,969	19,57	<b>40,7</b>
80	20	6,2	7,9	10,4	13,1	20,2	28,4	38,9	51,8	-3702,498	14,939	<b>30,8</b>
70	30	4,5	5,3	6,4	8	11,9	17,7	25,8	36,3	-3709,427	14,540	<b>30,8</b>
50	50	1,2	1,5	2	2,3	4	6	9,8	18,6	-4638,362	16,478	<b>38,6</b>
30	70	0,17	0,32	0,25	0,4	0,59	1,09	2,08	3,13	-4953,049	15,720	<b>41,2</b>

Tableau 22 : Points de solubilité pour la base dans différents ratios de solvants EtOH/Eau

Notons ici que les valeurs expérimentales de l'enthalpie de dissolution sont comprises entre 30 et 43  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  pour tous les mélanges EtOH/Eau testés.

L'ensemble de ces valeurs mesurées est représenté dans la figure 132. Une nappe de lissage de la solubilité accompagne ce graphique en trois dimensions en fonction de la température et du ratio de solvant EtOH/Eau [Fig. 132].

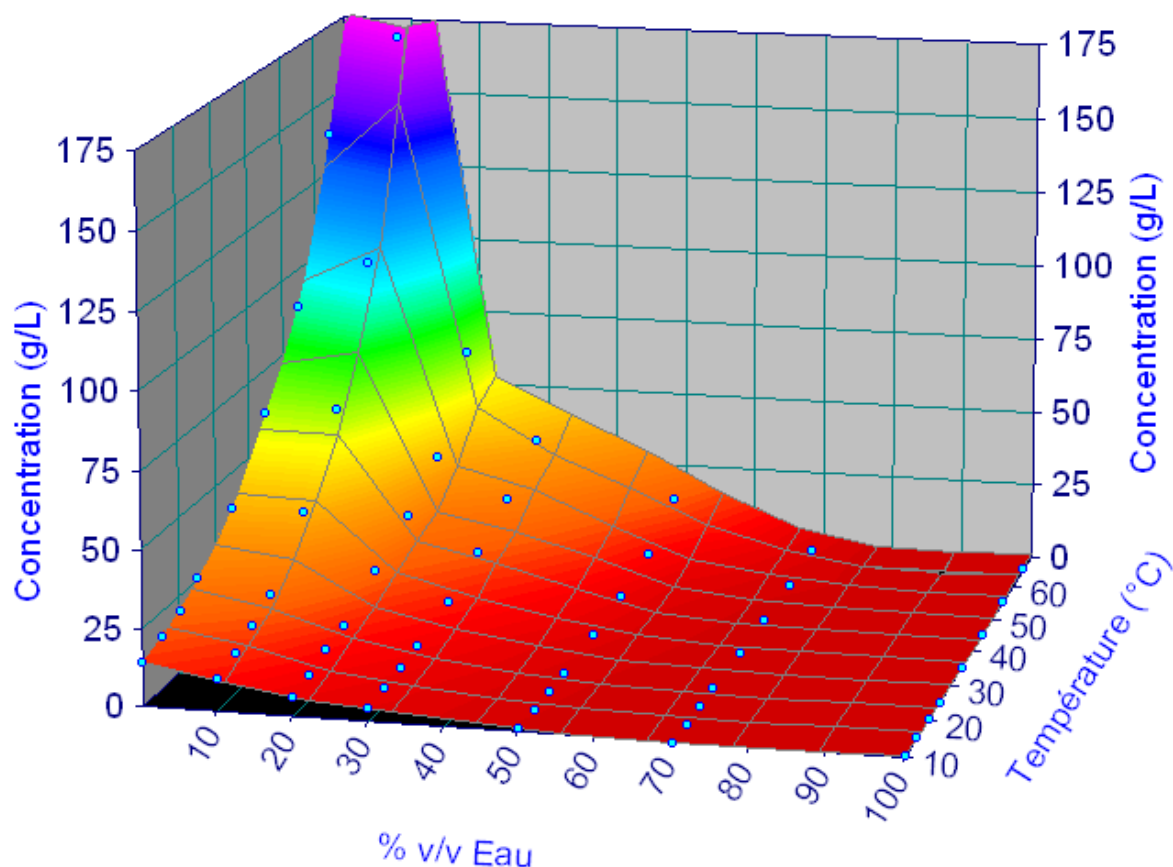


Figure 132 : Représentation 3D de la solubilité de la base en fonction de la température et du % v/v d'eau dans le mélange EtOH / Eau

À 10°C, le maximum de solubilité est obtenu dans l'éthanol pur (14,4 g/L), mais avec l'élévation de la température, ce maximum dévie vers un ratio de 90/10 (172 g/L à 65°C).

Nous pouvons aussi représenter ces résultats par des diagrammes de phase appelés ternaires, sous représentation triangulaire, marquant les limites d'une phase à une autre pour les mélanges de 3 composants en pourcentage massique. Il est donc nécessaire, à l'équilibre, au niveau de la saturation, de recalculer les masses mises en jeu [Tableau 23].

A 10°C		Masse des composés (g)			Composition de la solution à la saturation en %m/m		
Composition du solvant en %v/v		Eau	Ethanol	Sel	Eau	Ethanol	Sel
Eau	Ethanol technique	Eau	Ethanol	Sel	Eau	Ethanol	Sel
0	100	0	7,89	14,4	0,00	35,41	64,59
10	90	1	7,10	10,4	5,40	38,39	56,20
20	80	2	6,31	6,2	13,78	43,50	42,72
30	70	3	5,53	4,5	23,03	42,42	34,55
50	50	5	3,95	1,2	49,28	38,90	11,83
70	30	7	2,37	0,17	73,39	24,83	1,78

Tableau 23 : Calcul des compositions TD901/Ethanol/Eau à saturation à 10°C pour chaque mélange de solvant

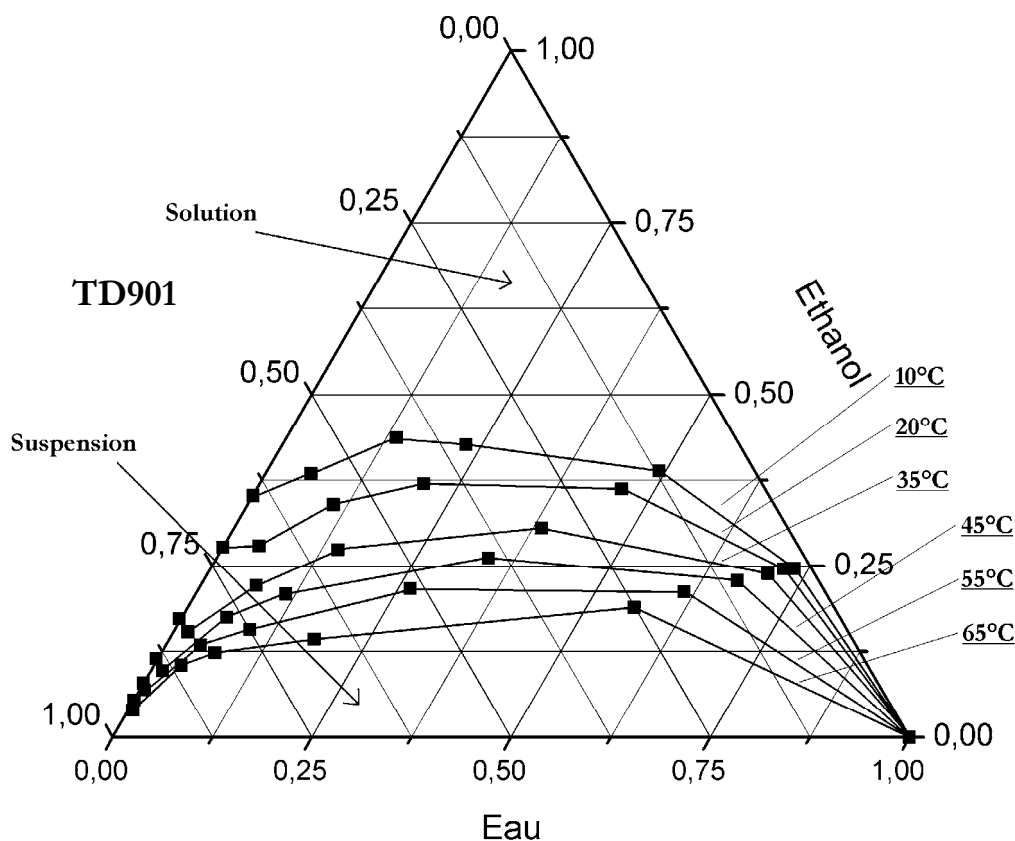


Figure 133 : Diagramme ternaire [Base TD901 : Éthanol Eau] à différentes températures

Le diagramme ternaire permet de réaliser l'importance du domaine d'existence du TD901 sous sa forme solide par rapport au domaine où le soluté est dissous dans les mélanges Éthanol/Eau. Bien entendu, chauffer la suspension réduit la zone d'existence de celle-ci sur le diagramme. L'évolution de la zone d'existence de la suspension avec l'augmentation de la température suit un profil cohérent selon surtout, semble-t-il, la quantité d'éthanol dans le mélange ternaire. À 10°C, les cristaux de la base n'existent pas avec plus de 45% de masse d'éthanol dans le milieu. Cette limite est repoussée à 38% pour 20°C, 25% pour 45°C et 20% pour 65°C.

### III.1.2. Solubilité de la base dans un mélange ternaire et thermodynamique : Discussion

Il semble pertinent de comparer les résultats de la figure 132 avec les valeurs de l'enthalpie de mélange Éthanol/Eau que l'on peut trouver dans la littérature [BELOUSOV 90]. Ces valeurs expérimentales sont données pour 0, 25, 50 et 75°C en fonction des fractions molaires de mélange. La représentation de ces valeurs brutes est donnée dans la figure 134.

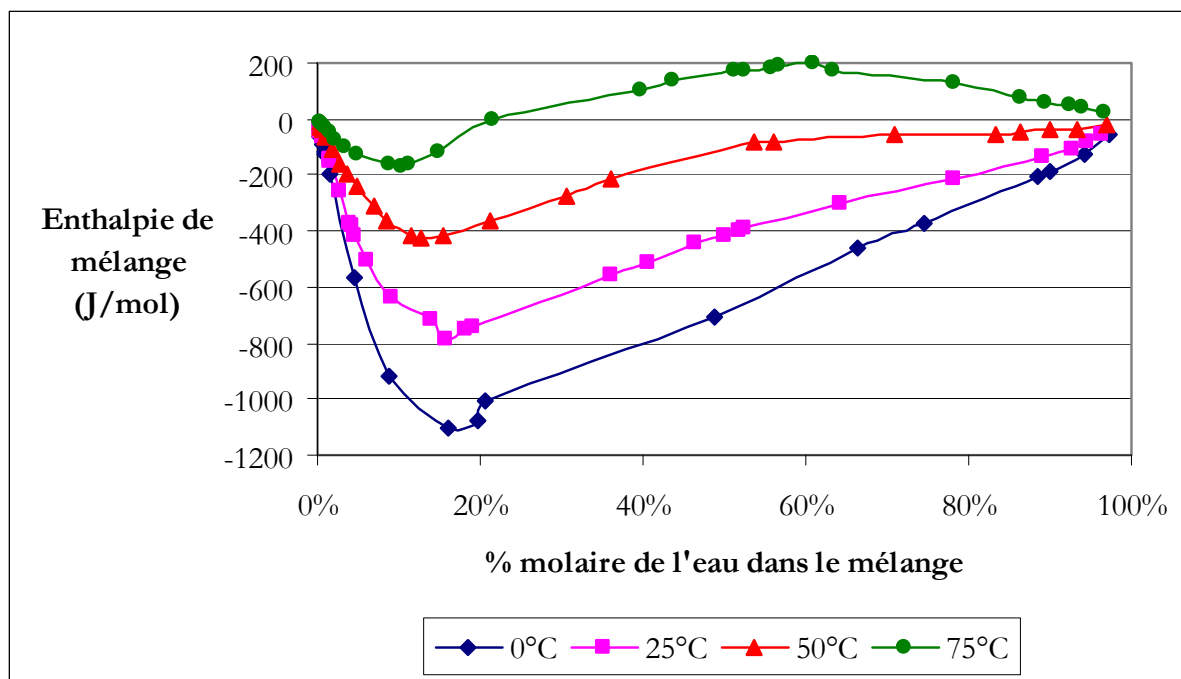


Figure 134 : Enthalpie de mélange Éthanol/ Eau en fonction de la fraction molaire

L'enthalpie de mélange atteint un minimum de 20% à 10% à température croissante. Un autre extremum est atteint à haute température autour de 60% molaires d'eau dans le mélange.

Le calcul des fractions volumiques d'un binaire liquide [a, b] à partir des fractions molaires se fait à l'aide de l'équation 126. Les enthalpies de mélange sont alors représentées dans la figure 135.

$$x_{va} = \frac{x_{ma} * (M_a * \rho_b)}{(M_b * \rho_a) + x_{ma} * ((M_a * \rho_b) - (M_b * \rho_a))} \quad [\text{Eq. 126}]$$

Précisons, sous 1atm:  $\rho_{eau} = 1000 \text{ g.L}^{-1}$ ,  $\rho_{ethanol} = 789 \text{ g.L}^{-1}$ ,  $M_{eau} = 18,01 \text{ g.mol}^{-1}$ ,  $M_{ethanol} = 46,08 \text{ g.mol}^{-1}$ .

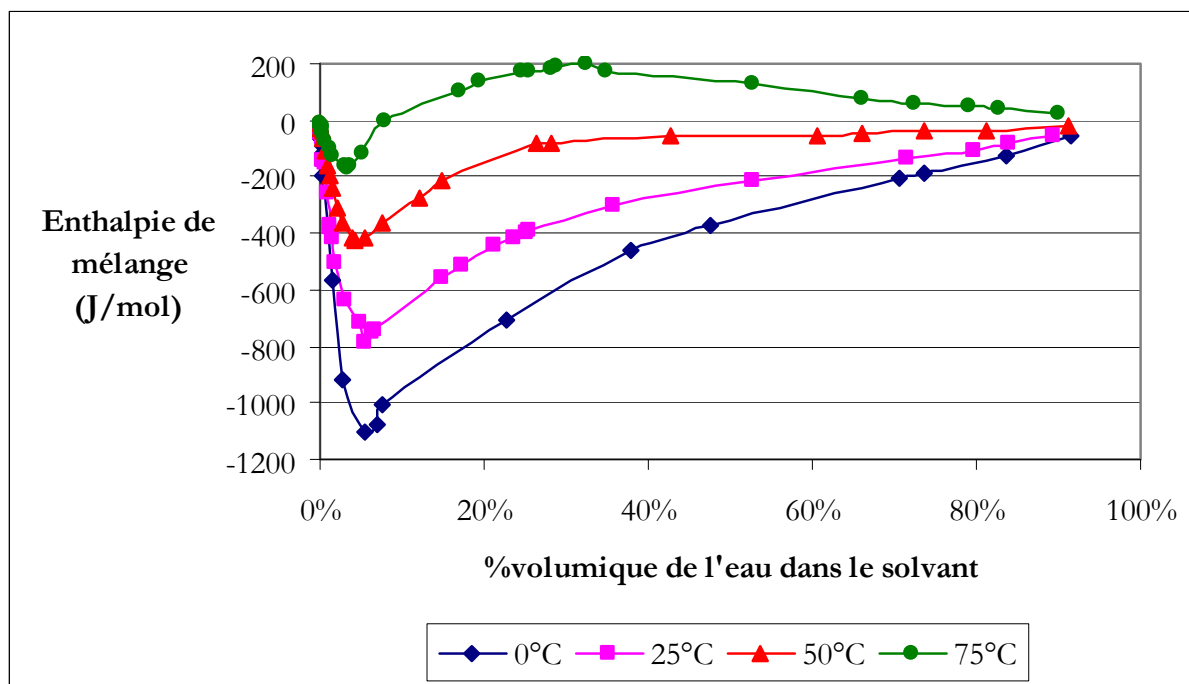


Figure 135 : Enthalpie de mélange Éthanol/ Eau en fonction de la fraction volumique

Le calcul des fractions Éthanol/ Eau sous forme de pourcentages volumiques déplace l'extremum vers la gauche du graphique : de 10% à 5% d'Éthanol dans le mélange. Nous retrouvons un profil équivalent à la solubilité de la base dans les mélanges EtOH/Eau. La figure 136 reprend les valeurs des enthalpies de mélange à 50°C (courbe verte) et les compare aux solubilités (multipliée par un facteur -1 pour une meilleure observation) à 45 et 55°C.

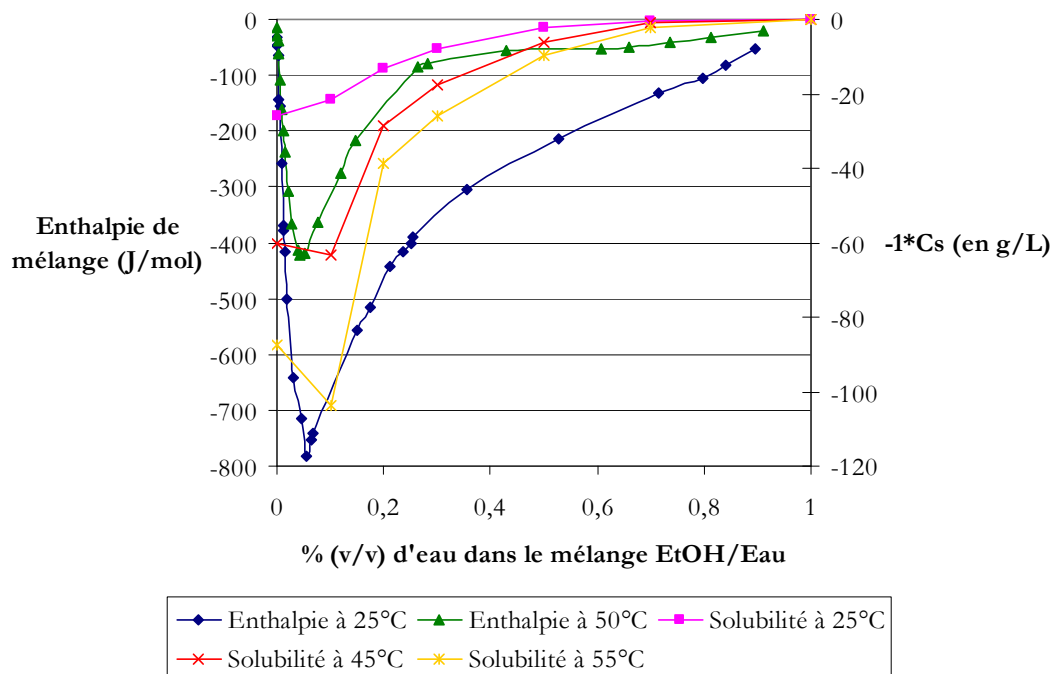


Figure 136 : Comparaison des enthalpies de mélange Éthanol / Eau en fonction de la fraction volumique aux solubilités mesurées de la base TD901

L'enthalpie de mélange résulte de deux phénomènes : d'une part la rupture des interactions éthanol / eau (liaisons hydrogènes) qui contribuent à une variation positive de l'enthalpie et d'autre part à la formation de liaisons éthanol / eau conduisant à une variation négative de l'enthalpie [ESPITALIER 95]. Autour de 95/5 EtOH/eau, nous assistons à une formation maximale de liaisons solvant/solvant, qui coïncide à 5% près au maximum de la solubilité de la base dans ce mélange de solvant à température constante.

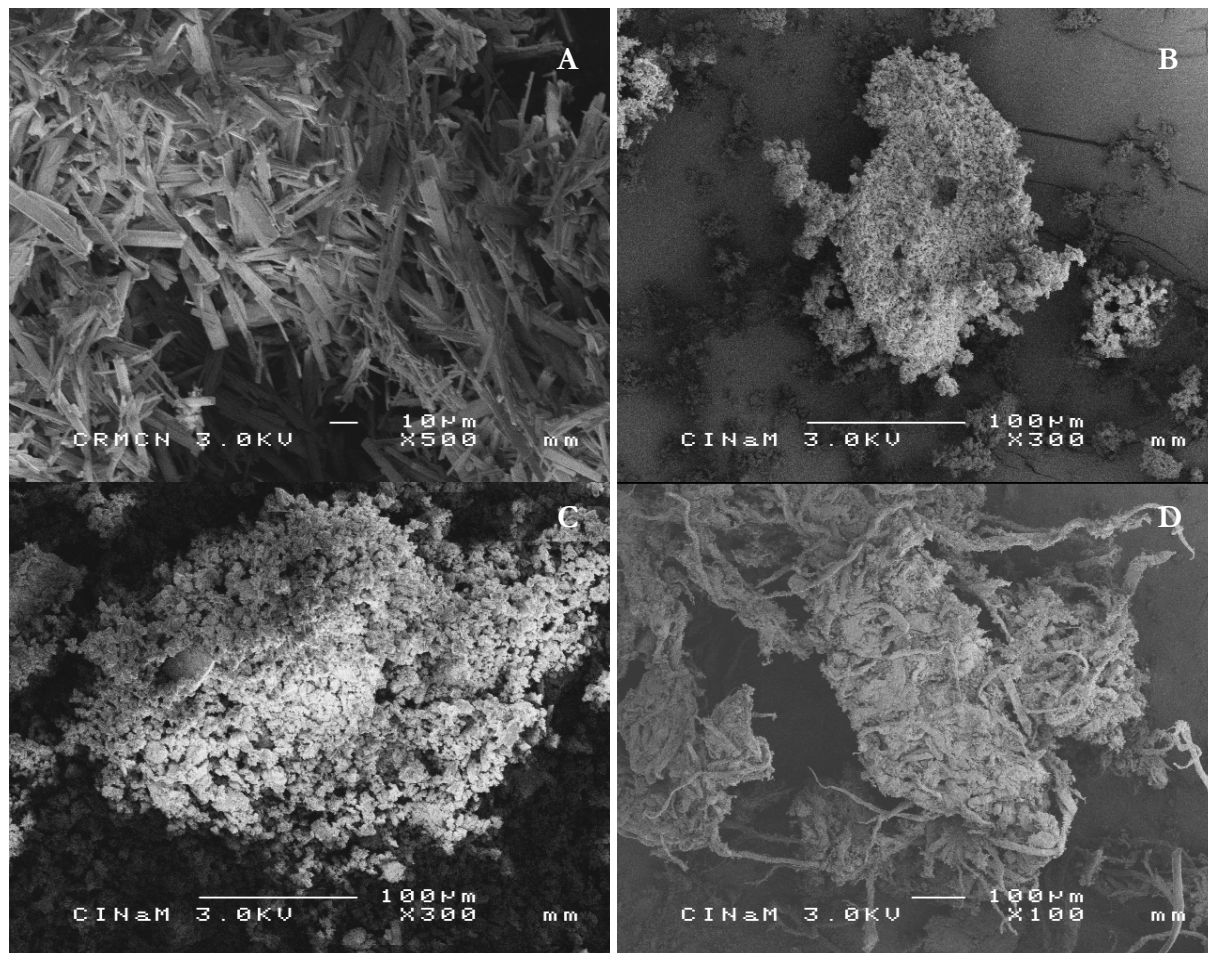
On peut donc penser que l'utilisation des valeurs d'enthalpie de mélange (mesurées en mélangeant les deux solvants) pourrait être utile pour faire une prédiction qualitative de l'évolution de la solubilité dans un mélange de solvant. En aucun cas, nous ne parlons de valeurs de solubilité, mais uniquement de l'évolution du profil de solubilité, afin de faciliter les études préliminaires pour rédiger des conditions opératoires de cristallisation.

### III.1.3. Recristallisation du solide

La recristallisation de la base a une importance toute relative car il ne s'agit pas du produit final (la phase fournie par Oril est synthétisée puis cristallisée dans THF/eau). Par contre, la connaissance des phases de la base permet de détecter éventuellement par DRX la présence de base après la cristallisation du sel. Après la mesure de la solubilité à 65°C, la température de la suspension est abaissée à 5°C, puis la suspension est filtrée et le solide séché pendant 24 heures dans une étuve à 80°C. Le solide est analysé par DRX et des clichés sont pris au MEB.

Les analyses MEB [Fig.137] montre que dans l'éthanol, la base recristallise sous un joli faciès de plaquettes. Dès qu'un peu d'eau est ajouté au mélange, le solide est récupéré sous forme

très agglomérée et mal définie. Les clichés RX montrent que tous les échantillons obtenus dans un mélange EtOH/Eau sont de la même phase, différente de celle de la phase de départ. Par contre, dans l'éthanol, le cliché est identique [Fig. 138] (à l'exception d'un amas à 23,5-24,5°) à celui de la base de départ. On note ainsi par rapport aux photos MEB des figures 90 et 91 que la recristallisation de la base dans l'éthanol améliore le faciès du solide, sans en changer la phase.



Figures 137 a, b, c, d: Images MEB sous différents grossissements des cristaux de base récupérés dans les mélanges EtOH/Eau respectifs 100/0 (A), 70/30 (B), 50/50 (C) et 30/70 (D)

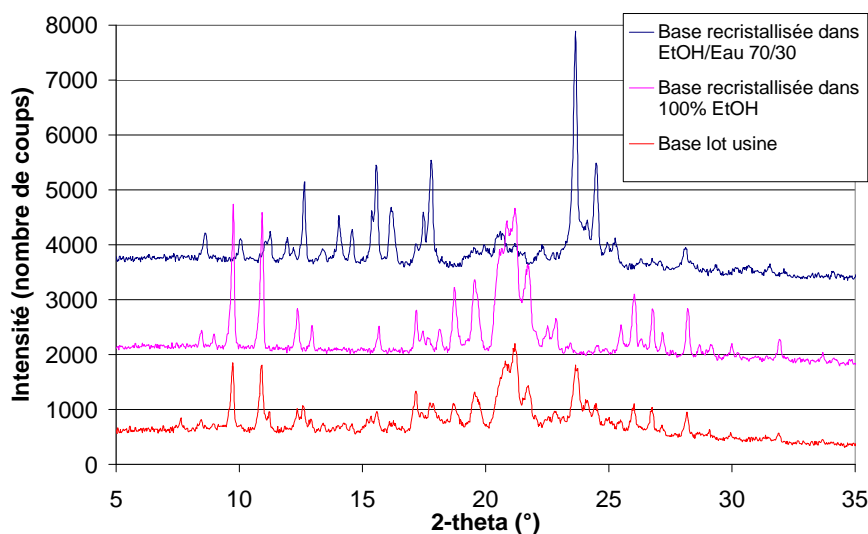


Figure 138: Clichés de la base lot usine et de la base recristallisée dans l'éthanol et dans 70/30

## III.2. Détermination de la solubilité du sel

La détermination de la solubilité du sel est une étape essentielle dans la méthodologie générale du développement de la cristallisation du sel afin de connaître la sursaturation à tout point du diagramme en fonction de la température et du ratio éthanol/eau, et de conduire un procédé de cristallisation. Nous en avons profité pour caractériser le solide pour les différentes conditions dans les mélanges éthanol/eau.

### III.2.1. Solubilité du sel dans Eau/EtOH

Les solubilités sont toujours mesurées par ajouts successifs et appréciation visuelle de la sursaturation. Le sel étant soluble dans EtOH/Eau = 0/100, nous avons pu remplacer les conditions 80/20 par 0/100. L'ensemble des résultats est donné dans le tableau 24.

Composition du solvant		Solubilités (g/L) à T donnée (°C)								Droite de régression		
EtOH	Eau	10	15	20	25	35	45	55	65	Pente	Origine	$\Delta H_d(kJ.mol^{-1})$
100	0	0,4	0,5	0,7	0,9	1,7	2,8	4,4	7,4	-5081,779	16,983	<b>42,2</b>
90	10	7,6	8,6	10,1	12,2	18,5	26,6	39,8	56,2	-3572,921	14,546	<b>29,7</b>
70	30	10,2	13,4	16,5	20,6	29,3	47,8	78,8	124,5	-4265,333	17,345	<b>35,5</b>
50	50	12,4	14,8	18,7	23,1	35,4	54,5	99	167	-4484,58	10,334	<b>37,3</b>
30	70	6,6	8,2	10,6	14,2	23,8	38,4	69,2	127,9	-5108,046	14,859	<b>42,5</b>
0	100	6,4	6,9	8,4	10,3	14,8	21,7	34	53	-3721,541	14,859	<b>30,9</b>

Tableau 24 : Points de solubilité pour le sel dans des solvants de ratios différents EtOH/Eau

Notons que les valeurs de l'enthalpie de dissolution sont encore comprises entre 29 et 43  $kJ.mol^{-1}$ . Par contre, l'évolution de ces valeurs, tout comme celles obtenues pour la base [Tableau 22] ne suit pas de tendance particulière.

Une nouvelle fois, les valeurs de la solubilité sont représentées dans un graphique en trois dimensions [Fig.139]. Le lissage de ces valeurs expérimentales de solubilité en fonction de la température et du ratio de solvant EtOH/Eau complète le graphique. Nous observons ainsi sur ce graphique que le maximum de solubilité est obtenu pour un mélange 50/50 ( $167 g.L^{-1}$  à  $65^{\circ}C$ ).

Le diagramme ternaire de la figure 140 a une allure un peu différente de celui de la base. Bien que le domaine d'existence de la suspension se réduit quand la température augmente (ce qui est logique), il se concentre sur un angle particulier du diagramme : celui formé par les axes Sel TD901 / Eau. Cela se comprend car le produit est très soluble dans les mélanges EtOH/Eau, ce qui réduit la zone où le sel peut cristalliser.

En tout cas, le principe recherché pour les solubilités du produit d'étude [Tableau 11] est parfaitement respecté avec le TD901 avec un sel soluble dans l'eau et peu soluble dans l'éthanol et inversement pour la base.

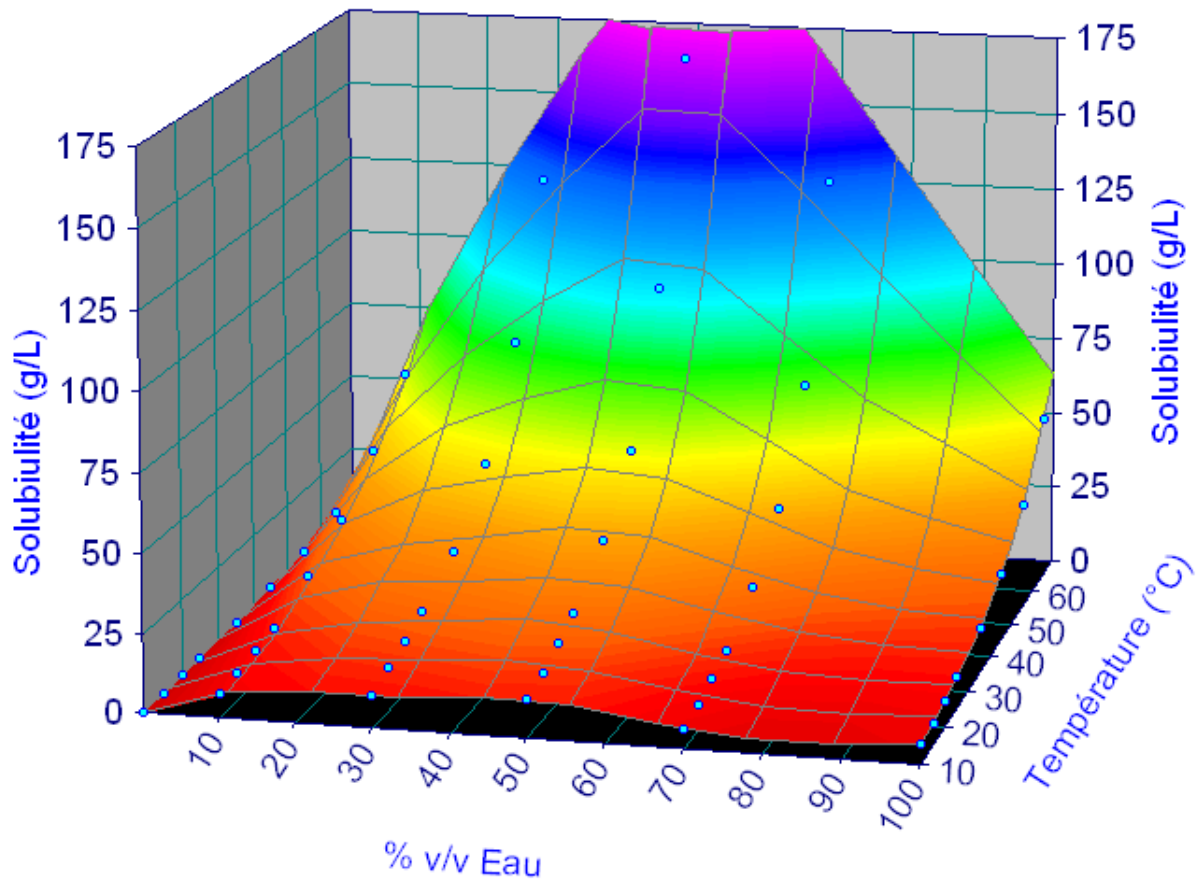


Figure 139 : Représentation 3D de la solubilité du sel en fonction de la température et du ratio du mélange EtOH/Eau

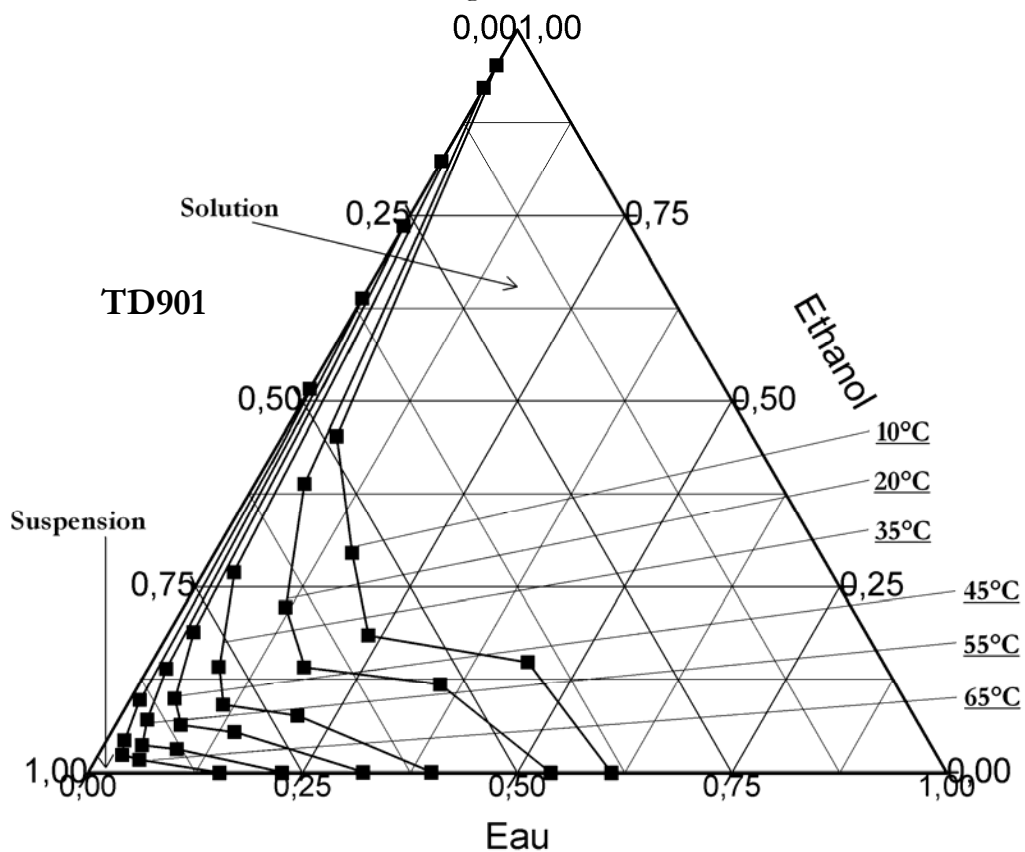


Figure 140 : Diagramme ternaire [Sel TD901 : Ethanol : Eau] à différentes températures

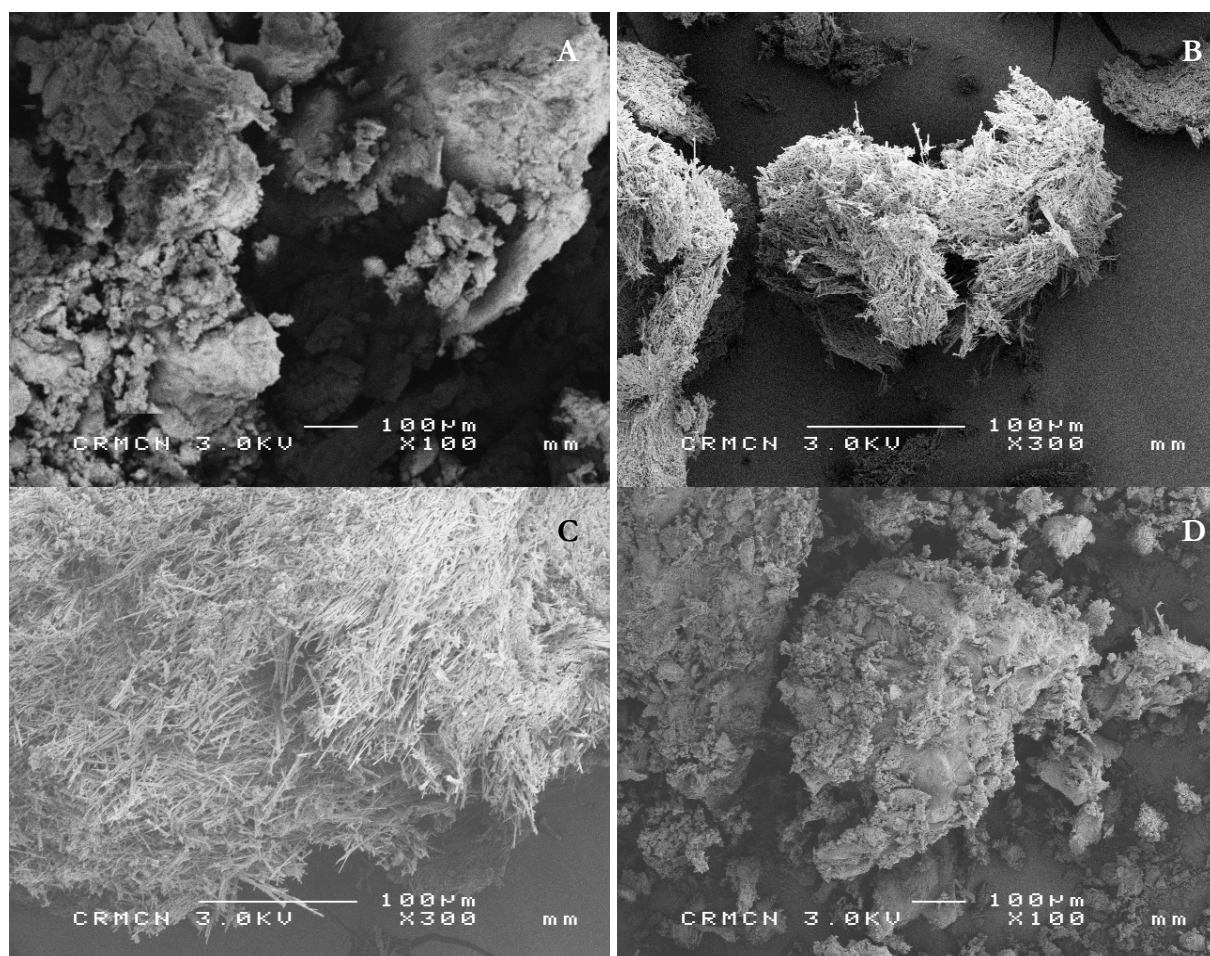
### III.2.2. Solubilité du sel dans un mélange ternaire et thermodynamique : Discussion

Le profil de solubilité étant complètement différent de celui de la base, avec un maximum de solubilité pour un ratio de 50/50 (v/v), la comparaison de la solubilité du sel aux valeurs d'enthalpie de mélange ne donnera rien. Ce n'est pas illogique si l'on considère que le fait de travailler avec un sel, une molécule électrolytique, rajoute des facteurs électrolytiques aux termes d'enthalpie de mélange.

Nous avons vu en bibliographie que la modélisation de la solubilité en état à ses balbutiements en ce qui concerne les molécules électrolytiques. Le modèle eNRTL-SAC n'est aujourd'hui utilisé et distribué que dans les suites ASPEN<sup>®</sup>. Malheureusement, la suite PROSIM<sup>®</sup> que nous aurions pu tester n'utilise pas encore ce modèle. Quelques essais auraient pu être encourageants pour une utilisation plus large de la modélisation de la solubilité dans les solvants organiques et les mélanges de solvants pour les molécules électrolytiques que sont les sels pharmaceutiques.

### III.2.3. Recristallisation du solide

Le solide recristallisé donne la forme B dans l'eau et la forme A dans l'éthanol et dans tout mélange EtOH/Eau avec un peu d'éthanol. Le faciès des cristaux est assez mal défini dans l'éthanol et dans l'eau (photos a et d de la figure 137). Les aiguilles longues et fines sont agglomérées dans les mélanges 90/10 et 50/50.



Figures 137 a, b, c, d: Images MEB sous différents grossissements des cristaux de sel récupérés dans les mélanges EtOH/Eau respectifs 100/0 (A), 90/10 (B), 50/50 (C) et 0/100 (D)

### III.3. Solubilité et pH

La solubilité du sel TD901 est dépendante des conditions de pH dans la solution comme nous l'avons vu en bibliographie. Le pH est dépendant de la température et bien entendu de la concentration du soluté en solution. Nous présentons ici les mesures du pH dans des solutions de sel à différentes concentrations, températures et mélanges EtOH/Eau. Ensuite, nous reprenons les équations détaillées dans la bibliographie expliquant le profil de la solubilité en fonction du pH afin de comprendre quel est le potentiel du facteur pH sur la modification de la solubilité et ainsi des conditions de cristallisation.

#### III.3.1. Mesure du pH couplée à la solubilité

Lors de la mesure de la solubilité du sel, nous avons aussi mesuré le pH de la solution au moment où nous considérons que nous avons atteint la sursaturation [Fig. 138] à l'aide de notre sonde au LiCl/EtOH. Les mesures sont particulièrement stables, même dans EtOH/Eau 100/0, elles sont données dans le tableau 25 et dans la figure 138. La correction de la température est automatiquement faite par le pH-mètre (calibration à 20°C en amont, mais ajustement de l'appareil à la température de mesure).

Composition du solvant		Valeur du pH de la solution saturée							
EtOH	Eau	10°C	15°C	20°C	25°C	35°C	45°C	55°C	65°C
100	0	3,25	3,22	3,19	3,14	3,13	3,14	3,14	2,96
90	10	3,91	3,82	3,77	3,66	3,59	3,51	3,59	3,33
70	30	4,23	4,12	4,04	3,97	3,94	3,84	3,59	3,33
50	50	4,57	4,53	4,42	4,28	4,05	3,95	3,95	3,59
30	70	5,34	5,15	4,96	4,8	4,48	4,19	3,93	3,6
0	100	5,72	5,67	5,53	5,35	5,1	4,82	4,47	4,18

Tableau 25 : Mesure du pH au moment où la solution est saturée

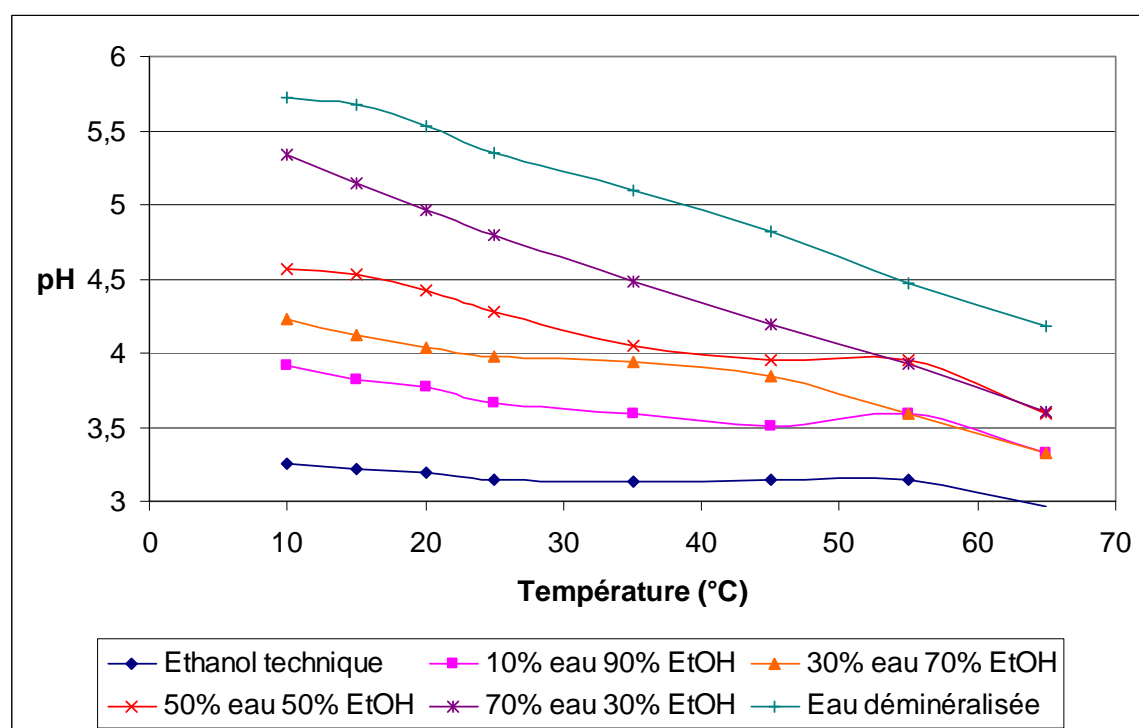


Figure 138 : pH de la solution saturée de chlorhydrate TD901

Si la décroissance du pH en fonction de la température est avant tout due à l'impact de la température dans l'équation de Nernst [Eq. 122], elle est aussi due à l'augmentation de la concentration au fur et à mesure de l'expérience (ajouts successifs de soluté). La comparaison des valeurs [Tableau 26] est à prendre avec soin, en parallèle avec les valeurs de la solubilité données dans le tableau 24. Nous regardons en particulier les valeurs à 20°C et adjoignons les valeurs de la constante diélectrique à 20°C et du  $pK_i$  du solvant tirées de l'annexe C.

Ratio du solvant EtOH/Eau	0/100	30/70	90/10	100/0
Solubilité (g.L <sup>-1</sup> )	8,4	10,6	10,1	0,7
pH mesuré	5,53	4,96	3,77	3,19
pK <sub>i</sub> du solvant	14			19
ε (20°C)	80,4	62,6	29	25

Tableau 26 : pH mesuré dans différents ratios de solvant et propriétés physiques à 20°C

Comme nous l'avons expliqué en bibliographie, dans la partie concernant le changement d'échelle du pH d'un solvant à un autre, la réduction importante de la constante diélectrique du solvant avec l'augmentation de la part de l'éthanol dans le mélange est responsable du décalage des échelles  $\Delta \log pK_a$ .

Si nous regardons les conditions clés du procédé (fonctionnement à 90/10), nous pouvons dire que la concentration à saturation à 20°C est proche des conditions obtenues avec un mélange 30/70 (10,1 à 10,6 g.L<sup>-1</sup>), soit un décalage du pH de -1.19. Or, l'utilisation des connaissances détaillées en bibliographie ( $pK_a$ ,  $pK_s$ ,  $pH_{max}$ ,  $S_0$ ) va se faire dans l'eau pure où la valeur de pH (5,53) mesurée se fait à une concentration inférieure de 8,4 g.L<sup>-1</sup> (décalage de -1,76). Nous faisons donc une appréciation très approximative du décalage des échelles de pH, à partir des valeurs de -1,19 et -1,76, entre 90/10 et 0/100 de -1,6 unités de pH. Nous serons amenés plus tard à utiliser cette valeur pour transposer des valeurs de pH mesurées vers une autre échelle.

### III.3.2. Courbe de solubilité théorique en fonction du pH

Si nous reprenons les équations d'équilibre chimique sur la solubilité des sels dans le cas d'une base faible, nous séparons deux zones d'existence du solide :

- Pour un  $pH < pH_{max}$ , le solide à l'équilibre dans la suspension est le sel, la solubilité est régie par le produit de solubilité :

$$C_s = \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]}\right) * \sqrt{K_{sp}} \quad [\text{Eq. 72}] \quad \text{avec} \quad K_{sp} = [BH^+][Cl] \quad [\text{Eq. 73}]$$

- Pour un  $pH > pH_{max}$ , la solubilité totale est fonction de la solubilité intrinsèque de la base  $S_0$ .

$$C_s = [BH^+] + [B] = S_0 \left(1 + \frac{[H^+]}{K_a}\right) \quad [\text{Eq. 70}] \quad \text{avec} \quad K_a = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} \quad [\text{Eq. 71}]$$

- Le  $pH_{max}$ , est donné par la relation suivante :

$$pH_{max} = pK_a + \log \left( \frac{S_0}{\sqrt{K_{sp}}} \right) \quad [\text{Eq. 82}]$$

Nous savons que dans l'eau, à 20°C, le  $pK_a$  de notre molécule est de 8,25 [Fig. 89], nous avons mesuré aussi la solubilité de la base dans l'eau comme étant particulièrement faible voire nulle. Une nouvelle mesure, plus précise, de cette solubilité dans un grand bécher thermostaté de 200mL nous a donné une valeur proche de 0,2 g.L<sup>-1</sup>, elle correspond à la solubilité intrinsèque de

la base  $S_0$ . Enfin, nous avons mesuré le produit de solubilité par une nouvelle méthode : le dosage UV du sel. Les analyses en ultra-violet mesurent l'absorption d'une solution soumise à une onde électromagnétique en se basant sur les phénomènes de transition énergétique. La loi de Beer-Lambert relie l'absorbance à la concentration d'une solution. Des études préliminaires nous ont montré que travailler à 248 nm était une bonne solution pour avoir une absorbance maximale à 20°C [Annexe S]. La mesure de l'absorbance de plusieurs solutions de sel à 20°C, avant et après saturation permet de tracer la figure 139 où nous observons 2 droites se coupant au point représentant la saturation de la solution en sel. Cette saturation a lieu pour 0.024 mol.L<sup>-1</sup>. Nous sommes surpris que la seconde droite ne soit pas un plateau car l'analyse se fait sur du surnageant après décantation de la suspension, la solution devrait être la même pour tous les essais à concentration supérieure à 0,024 mol.L<sup>-1</sup>. Cette concentration correspond à la racine carrée du produit de solubilité  $K_{sp}=[BH^+][Cl^-]$  de  $5,76 \cdot 10^{-4}$  à l'équilibre.

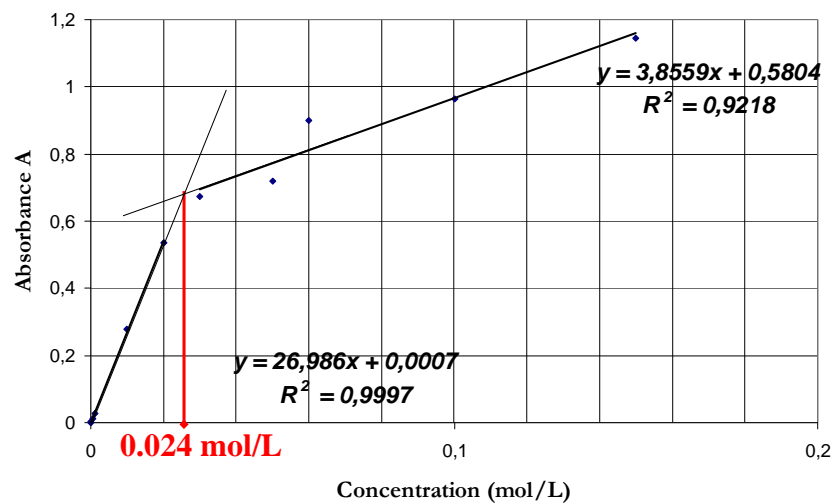


Figure 139 : Absorbance de la solution de sel TD901 dans l'eau en fonction de la concentration à 20°C

Nous traçons ensuite les courbes de solubilité théorique dans l'eau à 20°C de la base et du sel autour du  $pH_{max}$  à partir des équations 72, 70 et 82 et des données expérimentales. Le  $pH_{max}$  calculé est alors de 7,31 à partir de  $S_0=1 \text{ g.L}^{-1}$ .

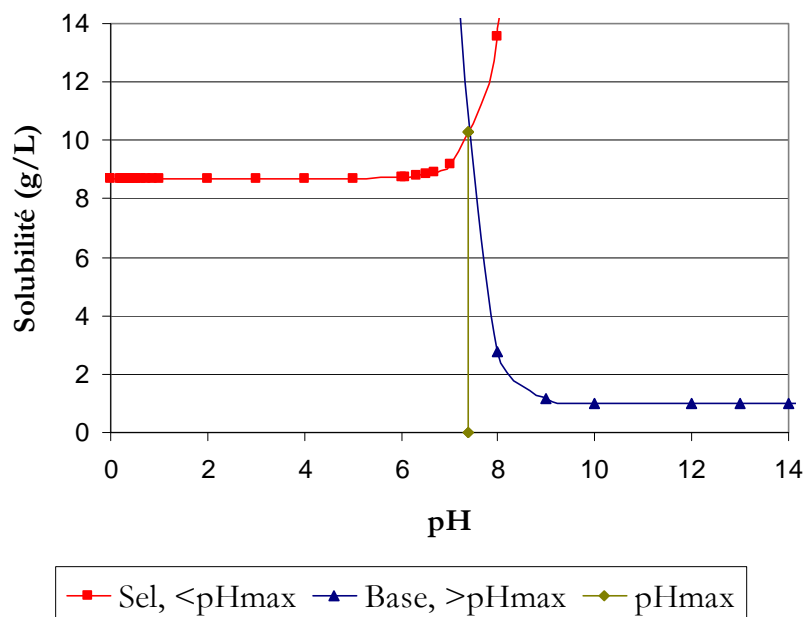


Figure 140 : Solubilité théorique à 20°C dans l'eau des espèces de TD901

Nous retrouvons ici le profil rencontré dans la littérature avec  $S_0 = 1\text{g.L}^{-1}$  ( $0,2\text{g.L}^{-1}$  donne un  $\text{pH}_{\text{max}}$  un peu bas pour la compréhension générale du graphique). La remontée de la solubilité du sel près de  $\text{pH}_{\text{max}}$  est un phénomène observé couramment comme pour la papaverine HCl [STAHL 02]. Cependant, au contraire de la papaverine et d'autres exemples de mono-base faible, la solubilité aux très bas pH ne chute pas. D'un point de vue de la biodisponibilité, cela veut dire que l'effet d'ions communs avec NaCl ne jouera pas sur la solubilité du TD901. Du point de vue du procédé de cristallisation, cela veut dire que le pH ne devrait pas modifier les paramètres de la cristallisation en dessous du  $\text{pH}_{\text{max}}$ .

### **III.3. Conclusions**

L'établissement de la courbe  $C_s = f(\text{pH})$  pour les espèces du TD901 est intéressante à faire pour retrouver les observations notées dans la littérature. Les études en fonction du pH sont essentielles vis-à-vis des cinétiques d'absorption de l'API. Par contre, nous n'avons pas lu et observé d'éléments nous indiquant qu'il s'agissait d'un point essentiel pour dessiner et conduire un procédé de cristallisation. En effet, dans le domaine de pH où est conduite la cristallisation, zone bien inférieure au  $\text{pH}_{\text{max}}$ , la solubilité du chlorhydrate est indépendante du pH.

D'autre part, l'expérience est limitée par une dégradation chimique du soluté si la quantité d'HCl est supérieure à une stœchiométrie de un par rapport à une molécule de base. Nous avons tout de même procédé à des essais de cristallisation au multipuits avec des quantités d'acide chlorhydrique de 0 à 4 équivalents par rapport à la base. Au dessus de 1 équivalent, les suspensions ont fortement jauni à cause d'un sous produit de la réaction. En tout cas, les aiguilles récupérées en fin de manipulation étaient toutes semblables et les analyses DRX ont montré qu'il s'agissait pour chaque essai de la phase A du sel.

La mesure de la solubilité de la base TD901 et de son sel dans l'éthanol, l'eau et les mélanges de ces solvants, à différentes températures est un point essentiel pour l'approche d'un procédé de cristallisation. Ce travail préliminaire permet de savoir où nous nous plaçons sur le diagramme de phase par rapport à la solubilité des solutés (base et sel), ce qui nous permet de suivre au mieux et de comprendre les phénomènes de nucléation et de croissance cristalline.

## **IV. Recherche de la structure du TD901**

Une fois les solubilités de la base et du sel connues, nous pouvons chercher à produire des monocristaux de base et de sel (phase A, désirée par Oril industrie). L'analyse par rayons X de ces monocristaux permettra d'en connaître la structure cristalline. Or, il est très intéressant de comparer ces structures pour comprendre où se place l'acide chlorhydrique et de chercher des hypothèses de l'impact de la structure sur les propriétés d'usage du solide. Le travail est présenté en deux parties : la recherche et l'analyse de monocristaux pour la base puis pour le sel. La méthodologie utilisée pour cette partie suit une procédure logique permettant de travailler avec des méthodes simples pour obtenir des monocristaux jusqu'à des méthodes plus complexes en cas d'échecs.

### **IV.1. Recherche et analyse des monocristaux de base**

L'enjeu est ici d'obtenir des monocristaux de la phase qui nous a été fournie par Oril. Nous avons vu que la cristallisation de la base dans l'éthanol permettait d'obtenir la bonne phase. Nous avons cherché à obtenir ces monocristaux en solution par deux méthodes : nucléation et croissance maîtrisée par le contrôle de la température du milieu ; évaporation de la solution.

#### **IV.1.1. Nucléation et croissance de monocristaux dans une cellule Peltier**

Le principe de cette manipulation est, dans un premier temps, de dissoudre une masse connue de solide dans le solvant à une température choisie pour venir se placer sous la courbe de solubilité. Nous travaillons pour cela dans une cellule de 2 mL dans un montage Peltier à température contrôlée, sur un microscope inversé pour observer les phénomènes dans la solution [Fig. 39]. Puis, on diminue la température afin que la nucléation ait lieu, si possible à faible sursaturation  $\beta$ . On fait ensuite varier la température pour dissoudre les plus petites particules, réduire le nombre de cristaux et les faire grossir. L'intérêt est de faire peu de cristaux, de taille suffisamment grande selon les 3 dimensions (50 $\mu$ m minimum, l'idéal étant de 300 $\mu$ m). Il est aussi assez complexe de récupérer ces cristaux sans les casser. Pour cela, nous avons versé le contenu de la vial dans un verre de montre et absorbé la solution autour des cristaux avec du papier. Il faut faire attention à ce que ces cristaux, une fois séchés ne soient pas collés à la paroi du verre de montre car il faudrait les casser pour les décoller.

Une autre approche est d'ensemencer dans la zone métastable pour faire croître par  $\Delta T$  (à faible  $\beta$ ) pour éviter une nucléation secondaire des cristaux. Cette approche est cependant peu pratique quand la semence n'est pas de bonne qualité (solide mal défini, broyé et aggloméré), mais on peut envisager une étape de dissolution/cristallisation au préalable pour améliorer le faciès.

Nous travaillons à partir de la courbe de solubilité de la base dans l'éthanol [Fig. 141] pour rapidement dissoudre 17,54 g/L de solide à 35°C (Flèche 1 sur la figure 141). La température est alors abaissée à 8°C (Flèche 2, sursaturation  $\beta=1,39$ ) pour être placée légèrement au dessus de la courbe de solubilité. La courbe de solubilité étant relativement plate autour de 5°C-25°C, ce qui n'est pas un cas idéal car plus la solubilité dépend de la température, plus le contrôle sera aisé.

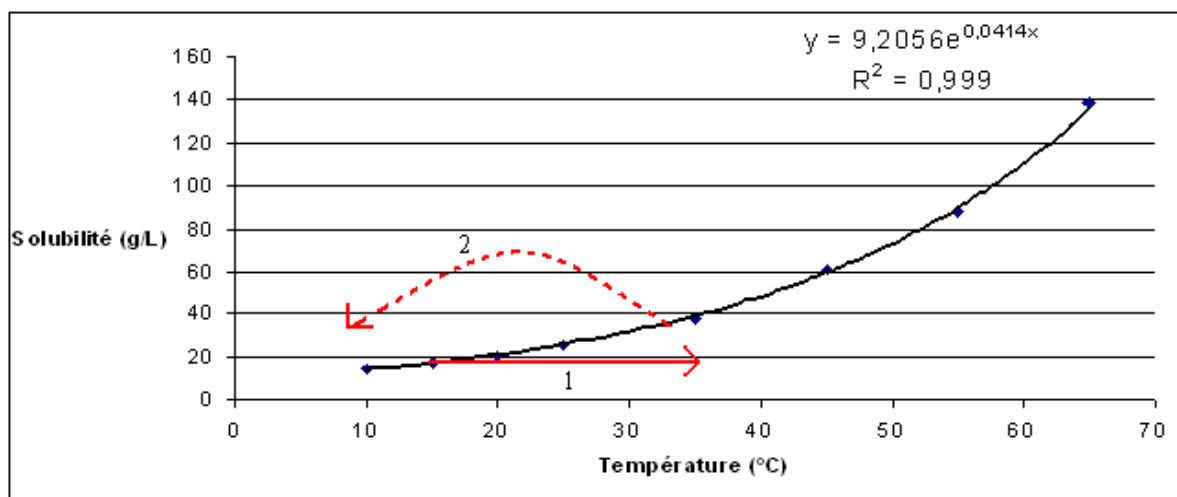
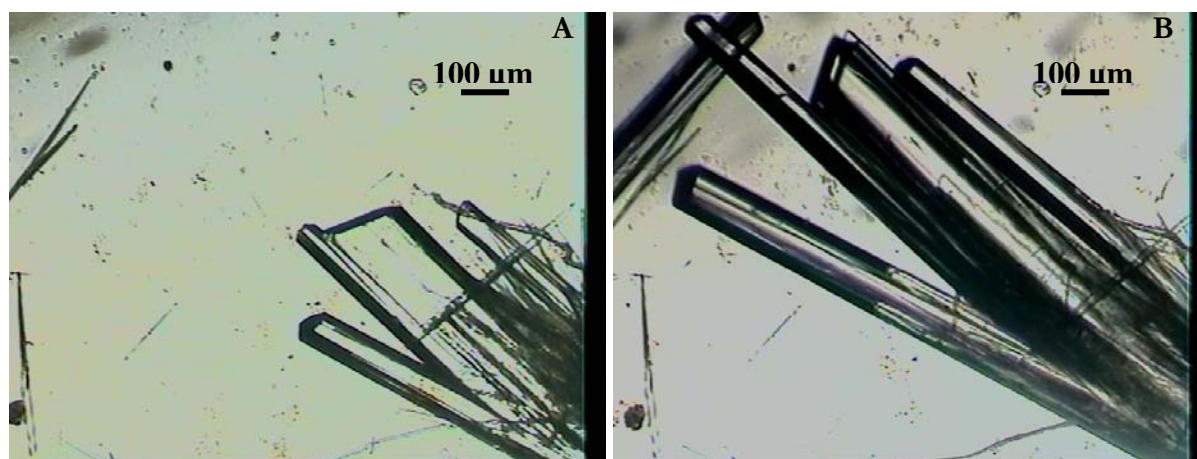


Figure 141 : Courbe de solubilité de la base dans l'éthanol

Après une journée, se forment quelques rares aiguilles dans la cellule de 2 mL, L'acquisition séquentielle d'images nous permet d'observer précisément l'évolution de la croissance. En plus de films vidéo qui ont été montés, les photos MEB de la figure 142 permettent d'observer la croissance des cristaux dans le solvant en 27 heures et 20 minutes. On observera particulièrement comment les faces terminales, biseautées ont poussé par rapport aux faces de croissance rapide.



Figures 142 : Monocristaux de base à 8°C à 9h40 (A) et 13h le lendemain (B)

La cristallisation de ces « gros » cristaux très longs sur une dimension, et épais jusqu'à  $100\mu\text{m} * 200\mu\text{m}$  sur les 2 autres est relativement facile à reproduire, aussi, nous avons réalisé 5 essais pour obtenir une quantité importante (près de 10 mg). Notons que sur les différents essais effectués, nous calculons une moyenne de la vitesse de croissance dans le sens de la longueur de  $20\mu\text{m.h}^{-1}$ , soit  $0,48\text{ mm.jour}^{-1}$ .

Les quelques photos de ces grosses aiguilles prises au microscope électronique sont jointes dans la figure 143. Les faces terminales en biseau sont beaucoup moins bien observables. Le traitement du solide pour récupérer les aiguilles a peut-être abimé les cristaux qui sont sujets à l'attrition.

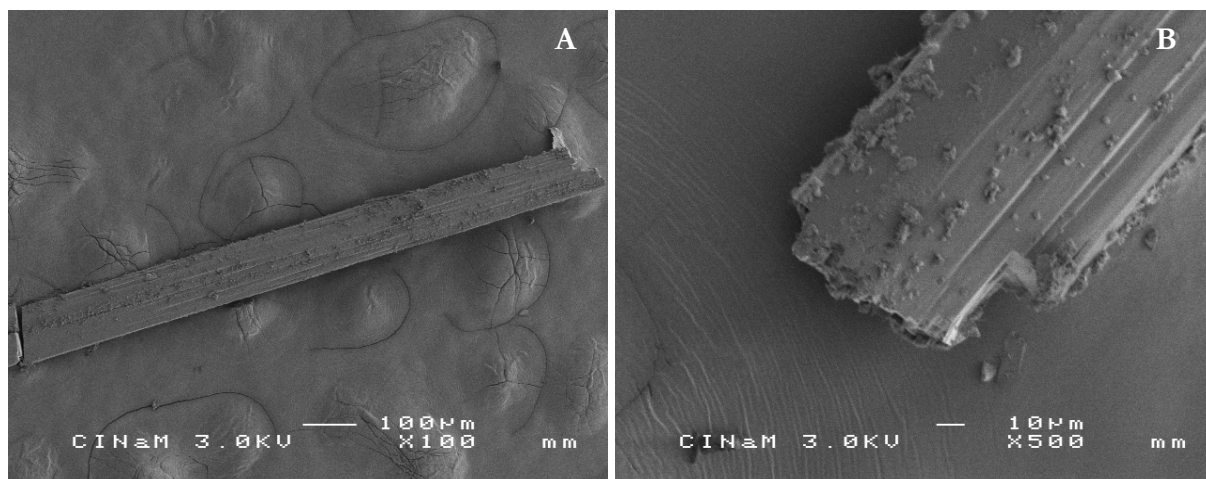


Figure 143: Photos MEB \*100 (A) et \*500 (B) de monocristaux de base

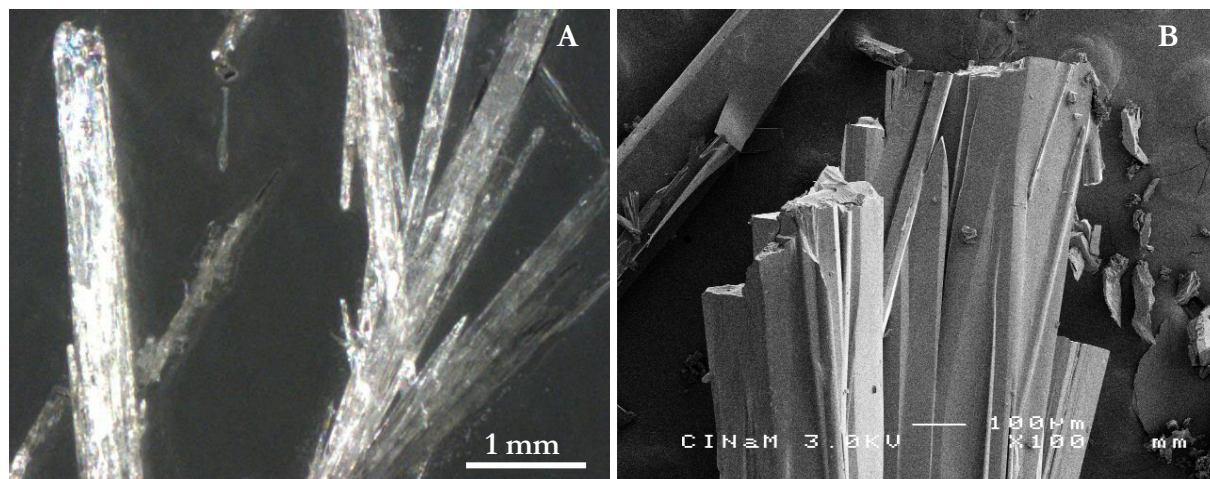
Malheureusement, la recherche de structure sur tous ces échantillons de base n'a pas abouti avec la DRX-Monocristaux. En effet, les premières acquisitions 2D ont montré de manière récurrente, sous de multiples orientations, un dédoublement ou triplement de taches intenses extrêmement proches à plusieurs endroits du diagramme d'acquisition 2D. Cette suite de taches est caractéristique de la diffraction des rayons X par au moins 2 cristaux si proches qu'il ne peut s'agir que d'un seul. Malheureusement, ces conditions ne permettent pas d'aller plus loin dans la détermination de la structure cristalline. A l'aide d'une loupe binoculaire, nous avons remarqué l'effet suivant : alors que nous voulions couper le bâtonnet dans le sens de la largeur, pour travailler avec un bâtonnet moins long, de lui-même le cristal se coupait dans le sens de la longueur. Il s'agit en fait d'un macle de bâtonnets, vraiment difficile à apprécier dans un premier temps. La multiplication des essais, avec des conditions différentes ne nous a pas permis d'obtenir de monocristaux.

#### IV.1.2. Nucléation et croissance de monocristaux par évaporation

Nous avons ensuite cherché à obtenir des monocristaux par évaporation. L'intérêt de réaliser une évaporation d'une solution pour obtenir les cristaux du soluté est d'atteindre lentement la sursaturation du soluté dans le solvant à température constante. La vitesse d'évaporation, assez faible, permet en principe la nucléation et la croissance le long des parois du cristalliseur ou dans le fond de celui-ci. Nous avons travaillé avec une solution de base ou de sel TD901 à différentes concentrations (8, 24, 35 g.L<sup>-1</sup> pour la base) dans de l'éthanol ou des mélanges 90/10 et 50/50 EtOH/Eau. L'évaporation se fait dans une chambre froide à 8°C, dans une salle climatisée à 20°C ou encore à température ambiante fluctuante autour de 28°C. Deux cas de figure sont à distinguer selon la sursaturation  $\beta$  : le produit est soluble à température ambiante ; le soluté n'est pas soluble et il est nécessaire de chauffer la suspension pour la dissoudre. Dans ce dernier cas, le soluté peut cristalliser pendant le refroidissement, ou rester dissous, selon la saturation.

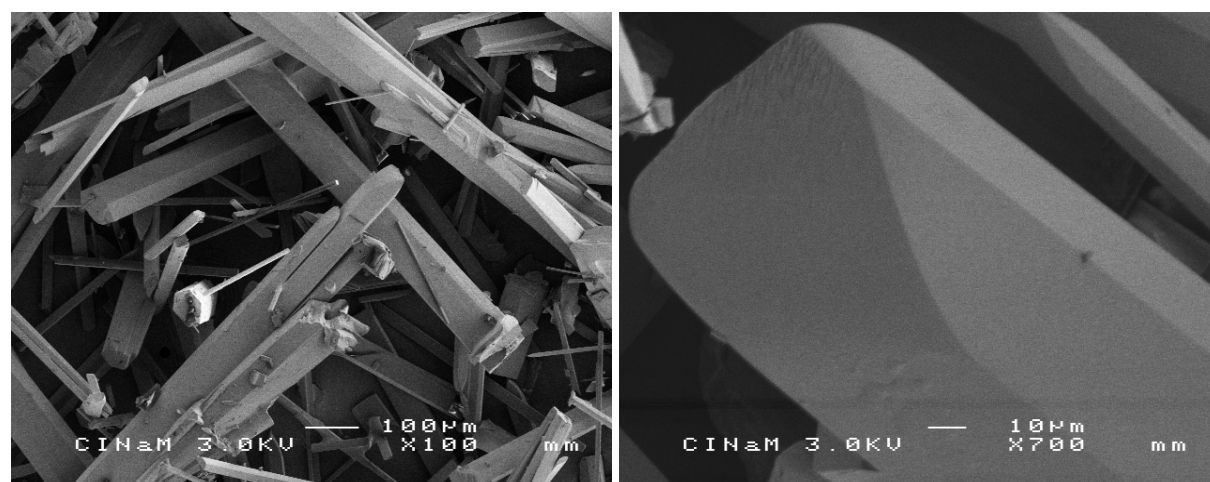
50mL de solution sont versés dans un cristalliseur de 8 cm de diamètre, recouvert d'un couvercle percé pour ralentir le départ du solvant. Deux fois par jour, des annotations sont faites sur l'évolution de la solution, le départ de solvant et la nucléation. Selon les essais (les variations des trois facteurs que sont la concentration, le solvant, la température d'évaporation sont croisées) l'évaporation totale du solvant dure de 4 à 15 jours. En ce qui concerne la base TD901, la température d'évaporation n'a pas grandement changé les résultats. Nous avons observé 3 types de résultats :

- Dans 90/10 EtOH/Eau (v/v), à basse concentration, le temps d'évaporation des 50mL de solvant est très long, le produit n'a cristallisé que sur les bords du cristalliseur (collerette) sous forme d'aiguilles longues et larges. Une photo prise à la binoculaire et une photo MEB de ces cristaux sont fournies en figure 144. Nous avons pu récupérer suffisamment de cristaux sur la collerette pour vérifier par un cliché de poudre qu'il s'agissait de la forme recherchée de la base.



Figures 144: Photos prises à la binoculaire (A) et au MEB \*100 (B)

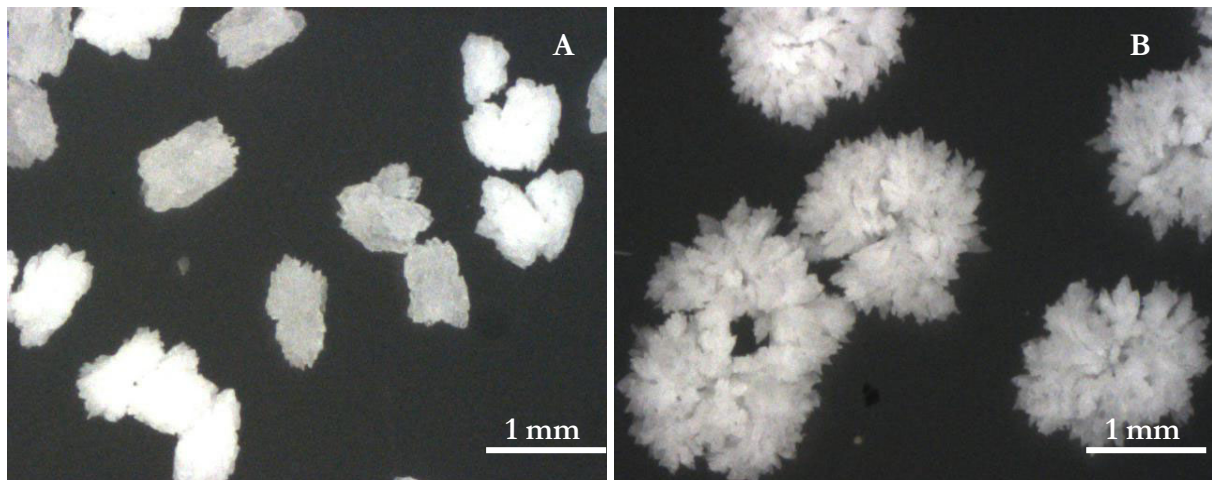
- La concentration du soluté est trop importante pour une dissolution à température ambiante, nécessitant le chauffage à 40°C de la suspension. Le produit nucléé très rapidement pendant le refroidissement, l'évaporation modifie peu la population cristalline. Nous obtenons une forêt d'aiguilles [Fig. 145] particulièrement importante au fond du cristalliseur.



Figures 145 et 146 : Photos au MEB \*100 et \*100

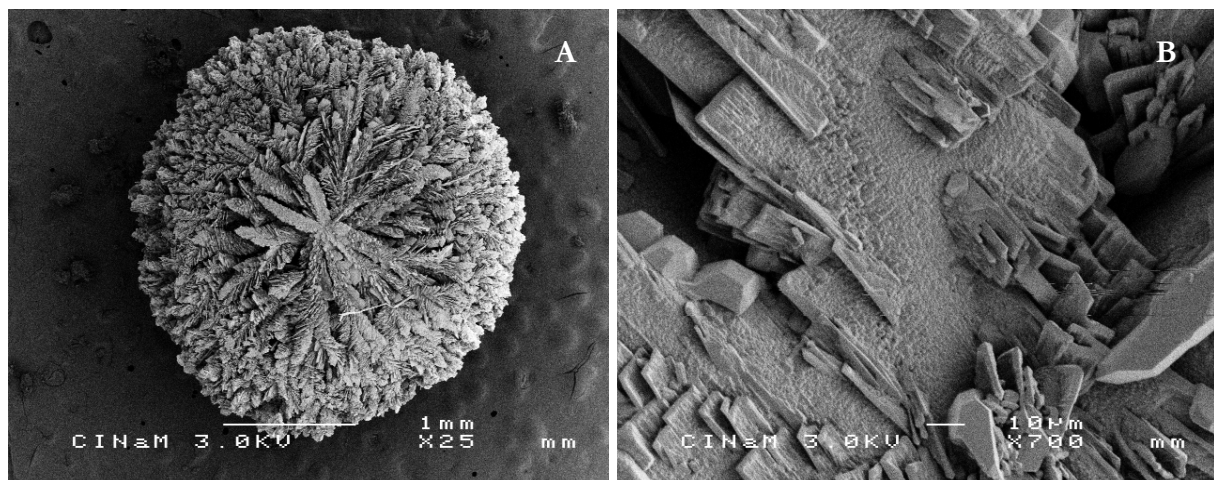
Ces aiguilles sont très bien définies, nous avons pu observer au MEB la définition des différentes faces. Le corps des aiguilles est articulé autour de 6 faces latérales, les faces terminales sont plus difficiles à observer car les cristaux se cassent facilement. On observe tout de même sur la figure 146 une certaine rugosité apparente sur le bout des faces. En tout cas, il s'agit encore une fois de la phase cristalline recherchée pour la base (identification par DRX).

- Le soluté est soluble à température ambiante (28 à 30°C) pour 8 et 24 g.L<sup>-1</sup>, l'évaporation lente de l'éthanol provoque la nucléation de quelques rares agglomérats (jamais plus d'une trentaine par cristalliseur) à branche dendritiques [Fig. 147].



Figures 147 : Photos prises à la binoculaire pour les échantillons obtenus à partir de 24 g/L (A) et 8 g.L<sup>-1</sup> (B) de base TD901

Le faciès de ces agglomérats est très particulier. L'image MEB de la figure 148A montre comme une boule avec un cœur d'où partent des feuilles de palmier. Bien entendu, ces échantillons ne sont pas monocristallins, mais l'analyse DRX-poudre montre qu'il s'agit encore une fois de la première forme de la base [Annexe T]. Autrement dit, il s'agit d'un superbe exemple où les cristaux des figures 145 et 148 ont exactement la même structure cristalline, mais des faciès très différents. Cette différence est due à un mécanisme de nucléation différente et une cinétique de croissance plus lente dans le cas de la figure 148.



Figures 148 : Photos prises au MEB \*25 (A) et \*700 (B) pour 8 g.L<sup>-1</sup> de base TD901

### IV.1.3. Obtention de la structure de la base

Les échantillons de base obtenus par évaporation à 35 g.L<sup>-1</sup> dans l'éthanol et 24 g.L<sup>-1</sup> dans 90/10 EtOH/Eau sont analysables en tant que monocristaux pour la détermination de la structure de la base. Les deux échantillons ont bien entendu donné les mêmes résultats. L'analyse sur l'appareil Bruker-Nonius (générateur FR590, raie K $\alpha$  du Molybdène, goniomètre 4 cercles et détecteur Kappa CCD) donne tout d'abord le système de symétrie du monocristal et les paramètres de maille correspondants :

- Base TD901: C<sub>xx</sub> H<sub>xx</sub> N<sub>x</sub> O<sub>x</sub>
  - MM = 361,43 g.mol<sup>-1</sup>
- Symétrie orthorhombique (angles  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ )
  - Groupe d'espace P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>
  - Paramètres de maille :
    - a = 4,7279 Å
    - b = 9,9887 Å
    - c = 41,022 Å
    - V = 1937,29 Å<sup>3</sup>

Le paramètre de maille c est beaucoup plus grand que les autres, cela est généralement source d'une anisotropie importante, synonyme en principe d'un cristal en forme d'aiguille ou de plaquette. Ensuite, l'appareil recherche avec précision l'emplacement de chaque atome dans la maille cristalline. Un logiciel de visualisation cristallographique comme Mercury<sup>®</sup> permet de représenter dans l'espace [Fig. 149] la manière dont les molécules s'organisent les unes entre elles grâce entre autres aux liaisons de van der Waals ou aux liaisons hydrogènes. L'intérêt est ici de comparer plus tard cette structure à la structure du sel pour comprendre ce que l'ajout d'une molécule d'acide chlorhydrique change dans la structure, au niveau conformationnel, de l'empilement des molécules et des interactions intermoléculaires.

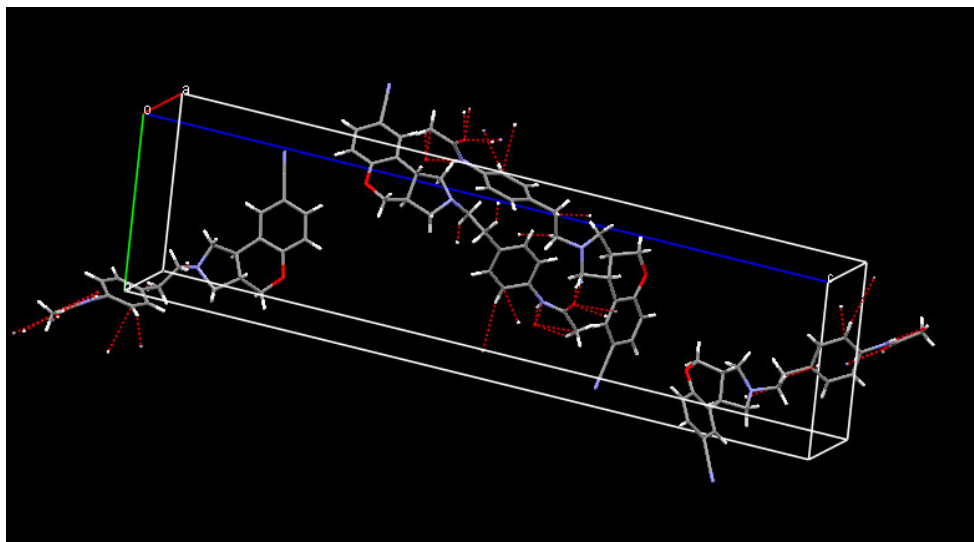
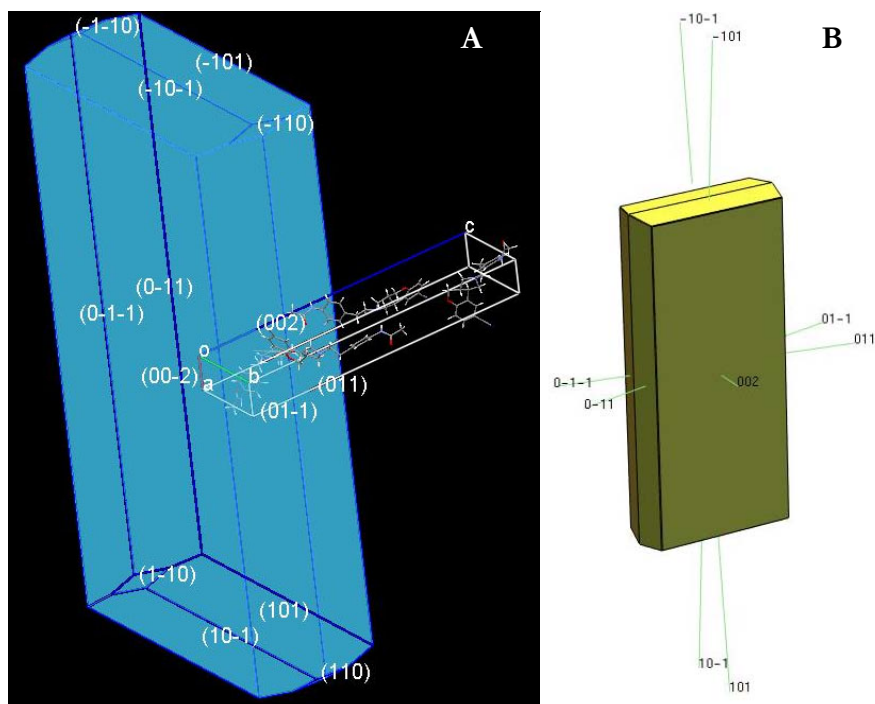


Figure 149 : Packing du TD901 - base

La résolution de la structure cristallographique permet de faire de la prédiction de morphologie grâce à des algorithmes de calculs basés sur la densité électronique de chaque atome et de la position des molécules les unes par rapport aux autres. La méthode BFDH (Bravais, Friedel, Donnay and Harker) et celle des énergies d'attachement sont des outils permettant une

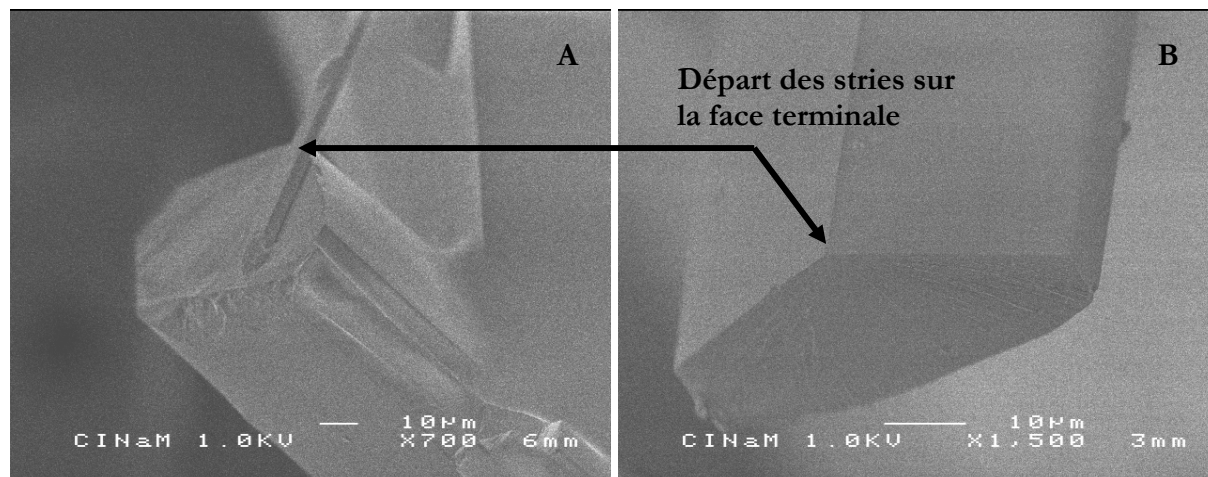
prédiction morphologique, autrement dit de toutes les faces du cristal susceptibles d'apparaître (dans le vide, c'est-à-dire sans solvant).



Figures 150 : Morphologie prédite par l'algorithme BFDH (A) et  $E_{att}$  (B)

La figure 150A est le résultat de cette prédiction BFDH sur la base TD901. Le cristal de la base TD901 devrait être en effet une plaquette ou une aiguille. Les faces les plus rapides à pousser étant plutôt parallèles aux axes  $x$  et  $y$  (paramètres de maille  $a$  et  $b$ ). La figure B est le résultat obtenu avec l'algorithme des énergies d'attachement. Ici, la morphologie prédite est plus allongée, favorisant un faciès en aiguilles, poussant dans une direction parallèle à  $x$ . Chaque face est indexée par les indices de Miller  $hkl$  correspondants. Nous retrouvons ici les 6 faces  $((002)$   $(011)$   $(01-1)$  et leur opposée  $(00-2)$   $(0-1-1)$   $(0-11)$ ) qui forment le corps des aiguilles (observations longitudinales).

Nous avons cherché à aller plus loin dans l'observation des différentes faces des cristaux de base. Pour cela, nous avons travaillé sur des échantillons non métallisés, avec une tension adaptée à ces conditions, soit 1kV au lieu de 3kV.

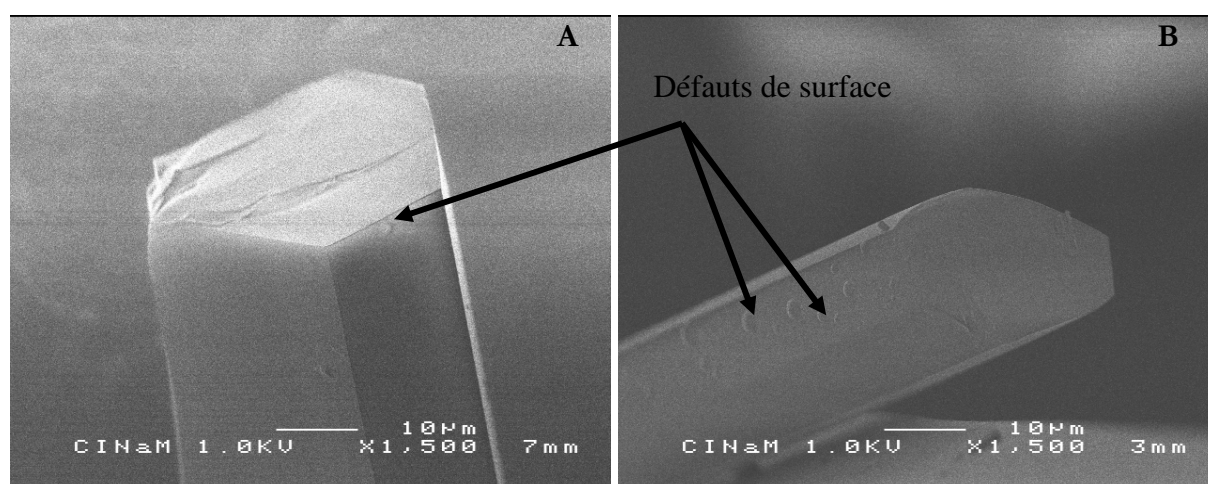


Figures 151 : Images MEB \*700 (A) et \*1500 (B) des monocristaux de base

On observe sur les images de la figure 151 sur les faces terminales, qui ont sans doute été brisées, des stries partant de l'intersection de 2 arêtes du cristal. Il est pour le moment complexe, voire hasardeux si on ne mesure pas précisément les angles entre les faces, d'indexer celles-ci par rapport à la morphologie prédite.

#### IV.1.4. Analyse AFM des monocristaux de base

Nous avons aussi observé sur les cristaux des défauts sur certaines surfaces. Ces défauts sont d'autant plus marqués que les cristaux ont été conservés sous atmosphère ambiante, et non dans une cloche protégée de l'humidité. Nous pouvons penser qu'il s'agit d'eau adsorbée à la surface des cristaux. Ce phénomène très marqué sur la figure 152B ne s'observe que sur 2 des 6 faces du corps des aiguilles (2 faces opposées et parallèles). Il faudrait aller plus loin dans la description cristallographique (indexation des cristaux) pour pouvoir avancer des hypothèses sur les groupements chimiques qui sont exposés au niveau de ces surfaces afin d'expliquer l'aptitude de la molécule à capter l'humidité ambiante, mais ce n'est pas le cœur de la thèse.



Figures 152 : Images MEB \*1500 (A) et \*1500 (B) des monocristaux de base

Les images MEB ne nous permettent pas de savoir s'il s'agit de trous ou de gouttes à la surface des cristaux. L'analyse de ces surfaces par microscopie à force atomique nous apporte ces réponses. La figure 153 nous montre une surface avec quelques défauts répétés sur une section de cette surface, de tailles différentes. Les plus gros de ces défauts ont jusqu'à 1 μm de diamètre, ce qui correspond aux observations faites sur la figure 152B.

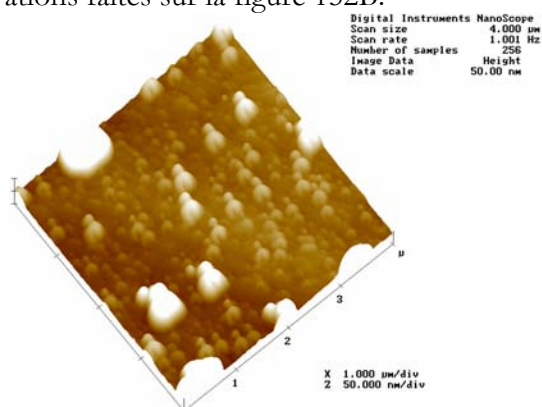
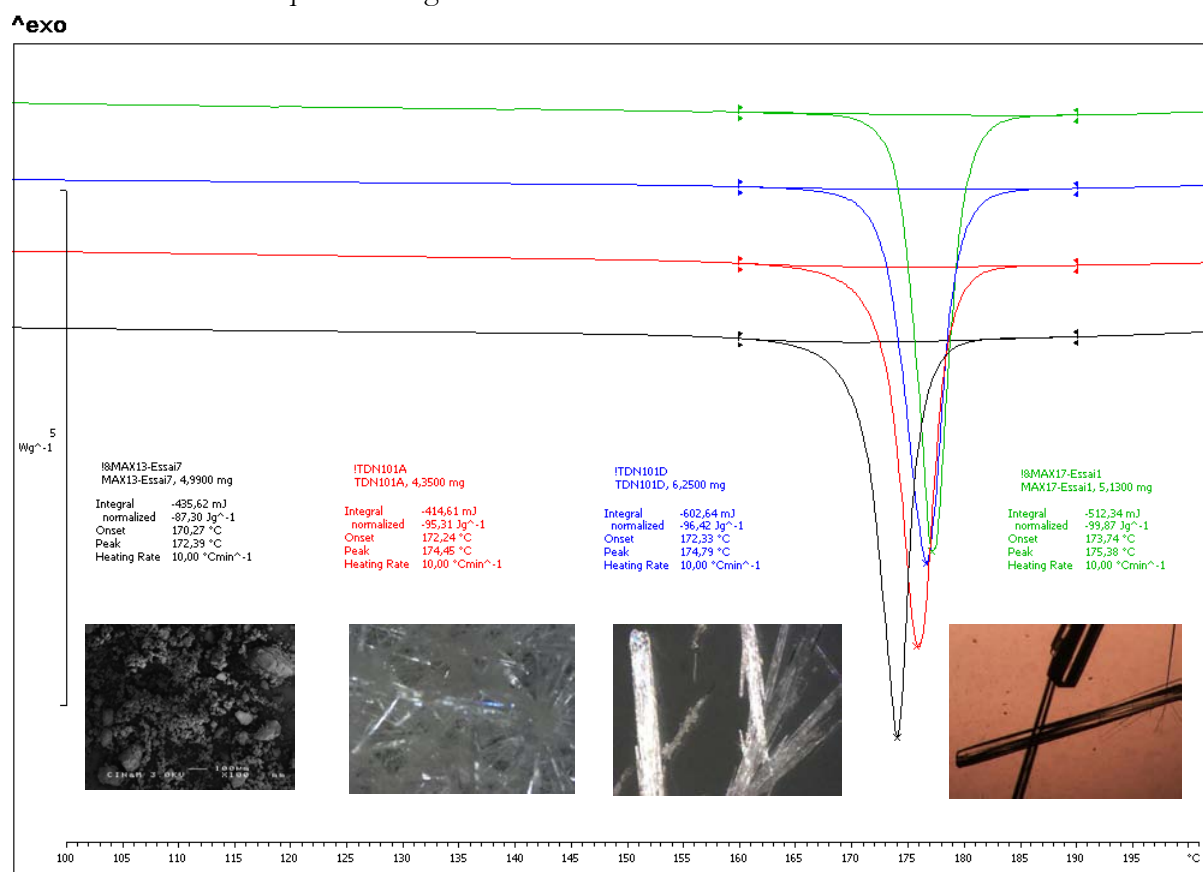


Figure 153 : Image AFM d'une face d'un monocristal de base

Ces observations viennent corroborer ce que nous avons observé au tout début du travail sur la base : elle est bel et bien hygroscopique.

### IV.1.5. Analyse quantitative de la cristallinité en DSC

Si tous les échantillons de base obtenus par recristallisation sont de la même phase (observation DRX-poudre), il est intéressant de regarder la qualité de l'endotherme de fusion de la base pour voir si la qualité cristalline a été singulièrement modifiée par le procédé de recristallisation. Nous comparons en figure 154 les enregistrements DSC de la base lot usine (courbe noire) aux aiguilles obtenues par nucléation à chaud dans l'éthanol puis évaporation (courbe rouge), aux aiguilles récupérées sur la collerette dans EtOH/Eau 90/10 (courbe bleue) et aux aiguilles nucléées à 8°C en solution dans une vial de 2 mL (courbe verte). Les conditions de mesure pour ces échantillons sont rigoureusement les mêmes : Capsule de 40µm en aluminium, couvercle percé, programme de 25°C à 250°C à 10°.min<sup>-1</sup>, pas de gaz circulant dans le four, soustraction automatique d'une ligne de base.



Lab: METTLER

STAR® SW 9.10

Figure 154 : Comparaison des enregistrements DSC de la base lot usine (courbe noire) aux échantillons obtenus par recristallisation

La recristallisation de la base permet d'obtenir un solide avec une température de fusion plus haute que celle du produit de départ (170,27°C), et cela, quelle que soit la méthode [Tableau 27]. Ceci est caractéristique d'une amélioration de la pureté chimique du produit par une recristallisation.

D'autre part, la valeur de l'enthalpie de fusion du produit est un peu plus grande après recristallisation. De -87,30 J.g<sup>-1</sup>, l'enthalpie du produit augmente à -95,31 J.g<sup>-1</sup> et -96,42 J.g<sup>-1</sup> après recristallisation par évaporation et même -99,87 J.g<sup>-1</sup> après recristallisation en solution à 8°C. L'enthalpie de fusion est caractéristique de la cristallinité du produit. Si l'on est sûr de travailler avec un échantillon 100% cristallin, la valeur de l'enthalpie de fusion du produit peut être utilisée comme valeur de référence afin de comparer les enthalpies de fusion (mesurées dans les mêmes

conditions) et d'apprécier quantitativement la cristallinité d'une poudre. Par analogie avec la mesure de la cristallinité du PET [Eq. 117], nous pouvons faire le rapport des enthalpies en faisant l'hypothèse que l'échantillon avec la plus haute enthalpie de fusion est 100% cristallin.

Base	Lot usine	Nucléation à chaud puis évaporation	Évaporation dans 90/10 EtOH/Eau	Nucléation et croissance en solution à 8°C
$T_{\text{fonset}} \text{ (}^\circ\text{C)}$	170,27	172,24	172,33	173,74
$\Delta H_f \text{ (J.g}^{-1}\text{)}$	-87,30	-95,31	-96,42	-99,87
Rapport $\Delta H_f / \Delta H_{f(100\%)}$	87,4%	95,4%	96,5%	100%

Tableau 27 : Température et enthalpie de fusion pour les différents échantillons de base

Le calcul du rapport des enthalpies de fusion par rapport à la valeur référence de l'échantillon obtenu en solution à 8°C donne une cristallinité de 87,4% pour le lot usine, 95,4% et 96,5% pour les deux échantillons obtenus par évaporation. Il faut prendre le résultat de ce calcul avec recul pour plusieurs raisons :

- Rien ne permet de dire que le dernier échantillon est 100% cristallin, on est susceptible de recristalliser un échantillon avec une enthalpie de fusion plus grande.
- L'appréciation quantitative des résultats DSC est toujours soumise à la qualité du transfert de chaleur entre le creuset, le solide en contact avec le creuset et le cœur du solide, d'autant plus que nous travaillons avec des aiguilles, la surface de solide en contact direct avec le creuset n'est pas, de manière sûre, la même pour tous les essais.

Néanmoins, l'utilisation de la DSC pour la caractérisation de monocristaux (s'ils sont assez nombreux) a un potentiel important. Nous répondons ici au besoin de quantification de la cristallinité du solide (et donc à l'appréciation d'une partie amorphe du solide).

## **IV.2. Recherche et analyse des monocristaux du sel**

De la même manière, nous avons cherché à obtenir des cristaux de chlorhydrate TD901 suffisamment gros pour une analyse de la structure par DRX-monocristaux. Nous présentons brièvement les résultats obtenus par contrôle de la température d'une solution, par évaporation et la détermination d'une structure par modélisation moléculaire.

### **IV.2.1. Recherche de monocristaux en solution**

Les essais pour fabriquer des monocristaux de sel ont été très nombreux, l'opération est bien plus difficile que pour la base. Nous avons multiplié les essais à des ratios EtOH/Eau différents, et nous nous sommes concentrés sur le mélange EtOH/Eau 90/10 (v/v). Typiquement, par rapport à la courbe de solubilité de la figure 155, nous travaillons à 9,22 g.L<sup>-1</sup> de sel dissous rapidement à 35°C. La nucléation se fait à une température basse comme, par exemple 5°C. Cela est dû à 2 raisons : la présence de cristaux qui ont poussé sur la collerette, au-dessus du niveau du liquide, qui sont tombés dans la solution, provoquant une nucléation importante et le fait que la nucléation primaire est un phénomène stochastique, il est difficile de savoir quand elle va avoir lieu. Dans le premier cas, la nucléation secondaire a lieu, la limite de zone métastable pour la nucléation secondaire étant plus basse que la limite pour une nucléation spontanée, elle est plus difficile à atteindre. La gestion de la collerette est un point clé pour travailler avec le sel dans EtOH/Eau. La cellule est tout le temps fermée, le niveau du liquide par rapport aux blocs Peltier est déterminant pour ne plus être gêné par la collerette qui interrompt près de trois quarts des essais avec le sel [Annexe U].

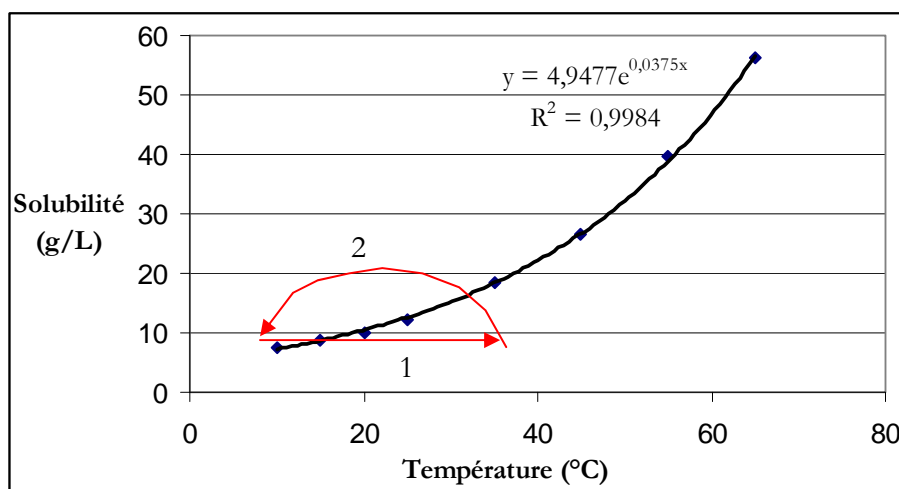


Figure 155 : Courbe de solubilité du sel dans 90/10 EtOH/Eau

Souvent, la nucléation des aiguilles de sel est assez importante, et nous cherchons à avoir peu de cristaux mais de grande taille. Malheureusement, dans ces conditions, notre produit forme des aiguilles particulièrement fines et courtes, avec une forte tendance à s'agglomérer sous forme d'oursins comme le montre la figure 156. De plus, cette expérience est réalisée dans des conditions de sursaturation relativement basses,  $9,22 \text{ g.L}^{-1}$  de sel pour une solubilité de  $9,09 \text{ g.L}^{-1}$  à  $16,5^\circ\text{C}$ , soit une sursaturation de 1,02. Si quelques aiguilles sont suffisamment longues, nous n'avons pas réussi par cette méthode à les rendre plus épaisses.

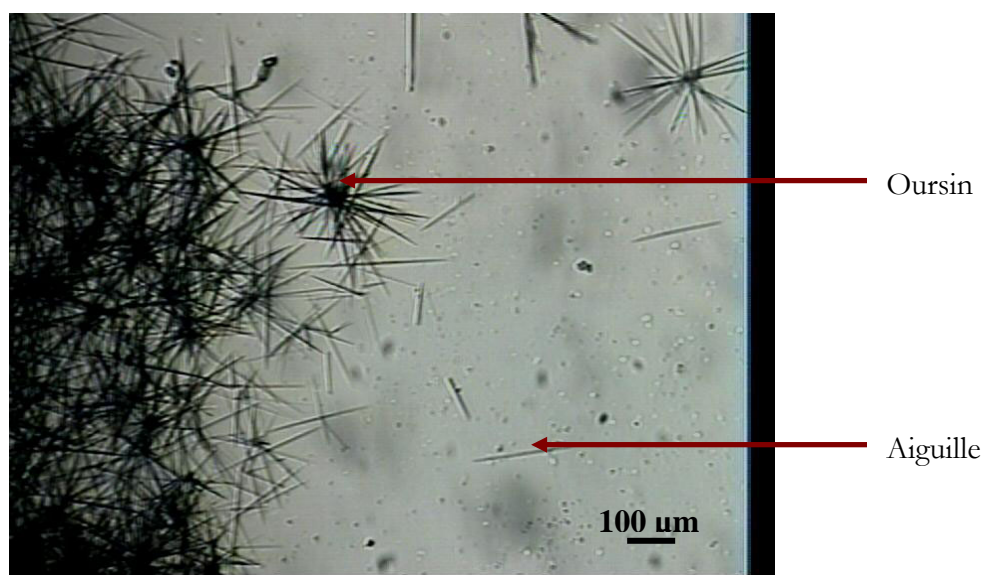
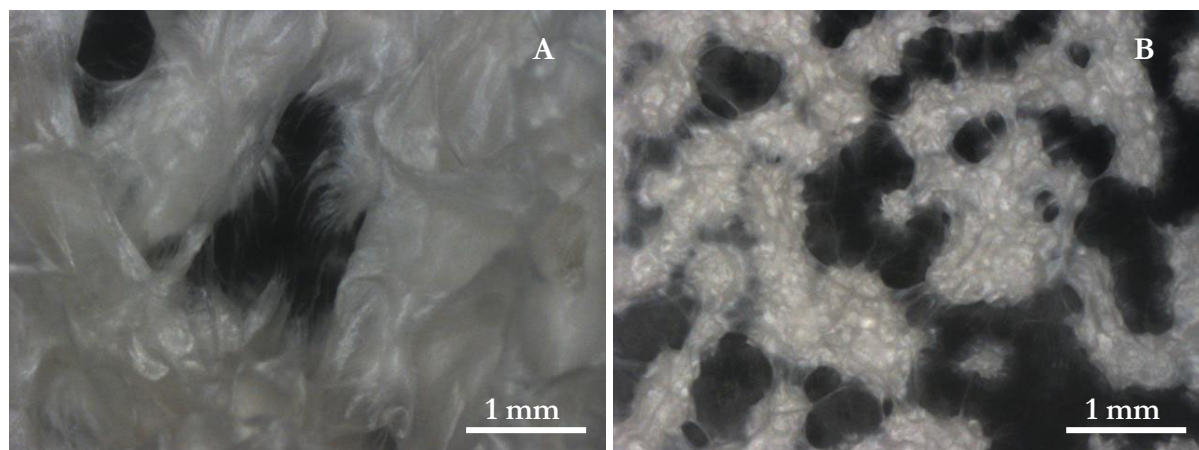


Figure 156: Aiguilles et oursins de sel

De la dizaine d'essais effectués, l'image de la figure 156 présente le meilleur résultat. Il est possible de discerner des aiguilles en petite quantité, avec une largeur proche de la dizaine de micromètres au mieux, ce qui n'est toujours pas suffisant pour une analyse de la structure. Nous avons imaginé de prélever une aiguille et d'en couper les faces terminales pour favoriser la croissance en épaisseur, mais le prélèvement d'une seule aiguille parmi des oursins est trop complexe.

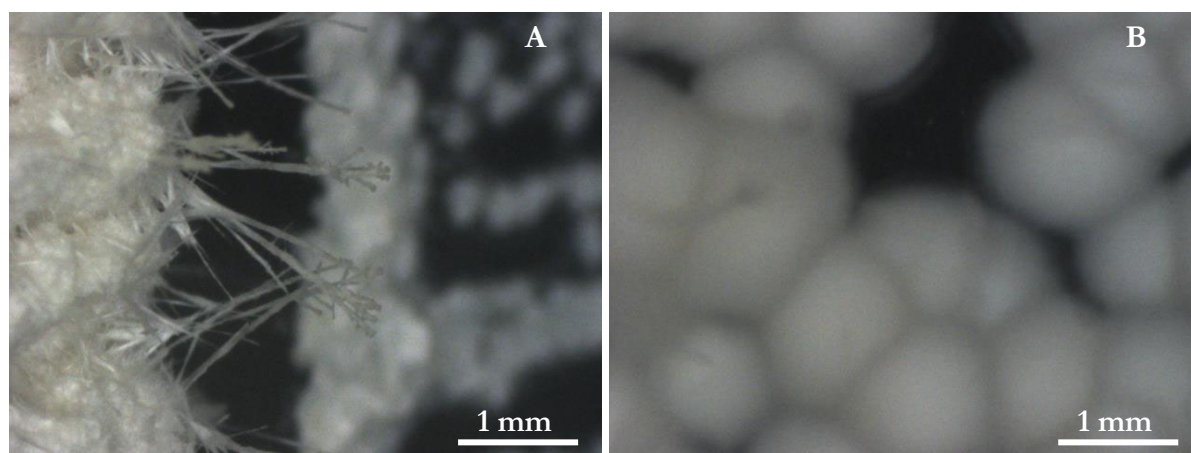
### IV.2.2. Recherche de monocristaux par évaporation

Nous avons ensuite essayé d'obtenir des cristaux de taille importante par évaporation. En adoptant la même stratégie que pour la base en croisant les concentrations (10, 25, 40 g.L<sup>-1</sup>), les compositions du solvant (90/10, 100/0, 50/50 EtOH/Eau) et la température d'évaporation (8°C, 20°C, ~28°C). Les figures 157 et 158 montrent quelques exemples typiques des résultats obtenus pour l'ensemble de nos essais par évaporation. La figure 157A montre un aspect laineux du solide ou des oursins collés dans le fond du cristallisateur.



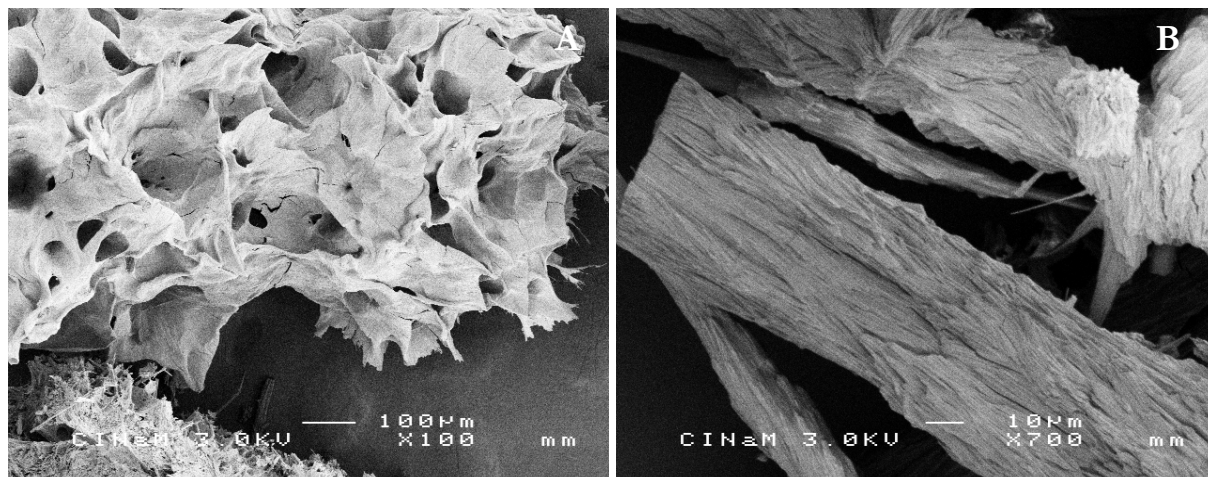
Figures 157: Sel cristallisé par évaporation pour 40 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 50/50, 8°C (A) et pour 25 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH 100%, 8°C (B)

La figure 158A est sans doute la plus intéressante car le produit a cristallisé sous forme d'oursins légers ou encore de “pompons” au fond du cristallisateur (40 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 90/10) et les collerettes sont riches d'aiguilles, en apparence bien épaisses.

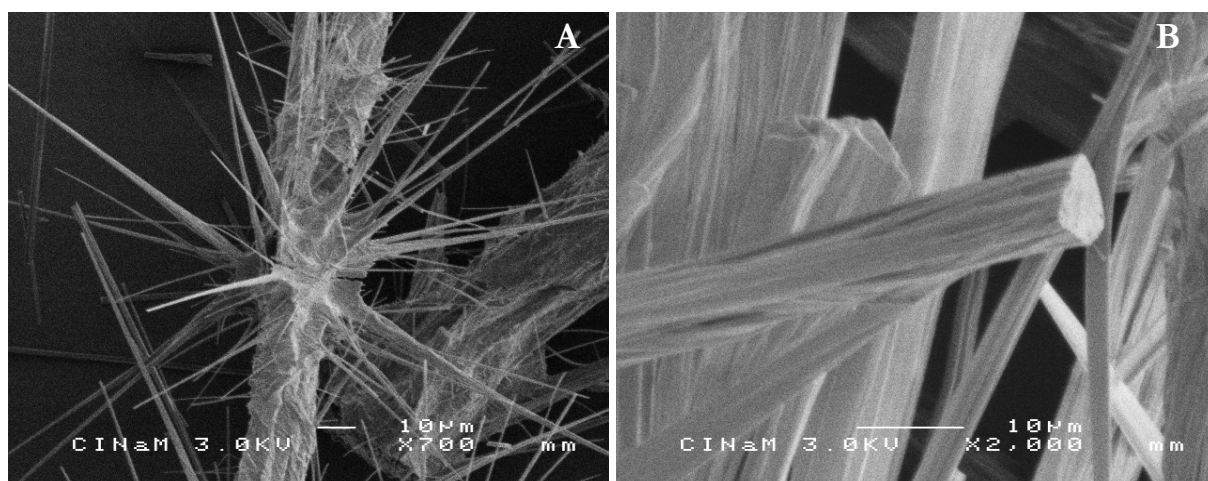


Figures 158: Sel cristallisé par évaporation pour 40 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 90/10, 20°C (A) et pour 10 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH 100%, 20°C (B)

Malheureusement, ces aiguilles cachent toutes une structure dendritique et absolument pas monocristalline. La figure 159A correspond à l'échantillon de la photo 157A. Les branches supposées monocristallines de la figure 158A sont en fait tressées [Fig. 159B]. Les tiges des “pompons” ne sont absolument pas de belles aiguilles, mais des arrangements tressés de très fines aiguilles dont la cristallinité est faible.



Figures 159: Image MEB du sel cristallisé par évaporation pour 40 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 50/50, 8°C (A) pour 40 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 90/10, 20°C (B)



Figures 160: Image MEB \*700 (A) et \*2000 (B) du sel cristallisé par évaporation pour 40 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 90/10, 20°C

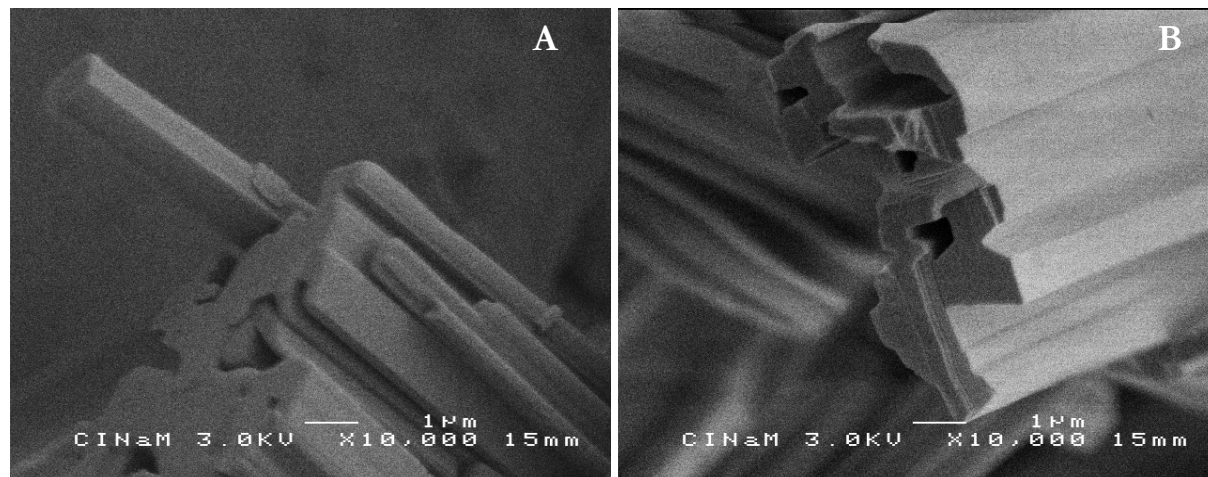
En conclusion, la recherche de monocristaux de sel par évaporation ne donne pas de meilleurs résultats que dans une vial de petit volume avec un contrôle de la température autour de la solubilité. Cela est dû aux caractéristiques propres à la molécule de sel. On peut dès lors deviner que ce produit posera des soucis lors de sa cristallisation à plus grande échelle.

### IV.2.3. Détermination par modélisation moléculaire

En dernier recours, nous avons décidé de voir ce que la modélisation moléculaire pouvait apporter pour chercher la structure du sel sous sa phase A. Nous sommes conscients que la structure obtenue avec la modélisation moléculaire ne sera pas forcément celle avec laquelle nous travaillons, mais la compréhension du potentiel de cet outil est intéressante, pour son apport pédagogique. Nous utilisons pour cela GENMOL, logiciel en constante amélioration depuis 20ans au CINaM, écrit par le Dr. Gérard Pèpe.

Nous sommes tout d'abord partis de la structure de la base. L'addition d'une molécule d'HCl (en face du site de l'amine tertiaire) et d'une molécule d'eau (nous avons la certitude que la phase A est un monohydrate) est gérée par informatique pour chercher la position idéale par rapport à la molécule de base. Pour cela, la conformation la moins énergétique (celle qui est soumise au moins d'interactions intramoléculaires) est calculée pour partir d'une position "approchée" de chaque atome dans la molécule.

Nous avons pris des photos à une meilleure résolution de nos cristaux de sel (recristallisé sous forme d'aiguilles fines/d'oursins) pour avoir plus d'informations sur le solide. Les images de la figure 161 montrent des cristaux aciculaires particulièrement agglomérés, mais dans le détail on peut voir que les monocristaux, très fins ont une symétrie particulière, selon les 3 axes. Cela nous permet d'émettre l'hypothèse que la structure cristalline présente une symétrie orthorhombique. Or, statistiquement, les groupes d'espace les plus fréquemment rencontrés pour une symétrie orthorhombique sont les groupes  $P2_12_12_1$  et  $Pbca$ .



Figures 161: Image MEB \*10000 (A) et \*10000 (B) du sel TD901

Le logiciel analyse ensuite précisément le cliché de poudre pour entamer une recherche de la maille cristalline *ab initio*. Nous sélectionnons une quinzaine de pics parmi le cliché de poudre. À partir des positions de ces pics (et en aucun cas de leur intensité), le logiciel calcule, pour une symétrie orthorhombique et les groupes d'espace  $P2_12_12_1$  et  $Pbca$ , les paramètres de maille les plus probables. Le logiciel a alors testé, pendant une semaine, plus de 800 structures cristallines grâce à la modélisation de l'énergie du cristal. Une structure est sortie du lot comme étant particulièrement peu énergétique (-77,9 kcal). Des algorithmes permettent d'affiner la structure à une énergie de -77,5 kcal. Par ordre de comparaison, la seconde structure la moins énergétique a une énergie de -58 kcal.

- Monochlorhydrate monohydraté TD901:  $C_{xx} H_{xx} N_x O_x, H_2O, HCl$ 
  - $MM = 427,92 \text{ g.mol}^{-1}$
- Symétrie orthorhombique (angles  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ )
  - Groupe d'espace  $P2_12_12_1$
  - Paramètres de maille :
    - $a = 8,825 \text{ \AA}$
    - $b = 9,750 \text{ \AA}$
    - $c = 28,955 \text{ \AA}$
    - $V = 2491,4 \text{ \AA}^3$

Malheureusement, le cliché de poudre théorique de cette structure [Annexe V] ne correspond pas vraiment à celui de la phase A. L'exploitation de ce résultat n'a donc qu'une valeur toute relative, mais néanmoins permet de comprendre l'intérêt de la modélisation moléculaire.

La figure 162 donne une représentation de l'empilement de 4 molécules de sel dans une maille. Les atomes de chlore sont en vert et l'on peut observer facilement les molécules d'eau. Si nous mesurons les distances entre les atomes, on note que la molécule d'eau forme 2 très fortes liaisons (distance interatomique entre 2 et 3 $\text{\AA}$ ), un de ses hydrogènes avec l'oxygène du

groupement amide et l'autre avec l'oxygène de l'hétérocycle. L'atome de chlore forme une liaison forte avec l'oxygène de l'amide. Il peut paraître étonnant qu'il ne soit pas plus prêt de l'azote de l'amine tertiaire car nous avons précisé au début de la modélisation quel site chimique réagissait avec l'acide chlorhydrique. On note par ailleurs que pour la structure de la forme J du sel, un mono acétonate [Annexe Q], le chlore est bien en face de l'amine tertiaire.

En comparaison, la molécule de base avait principalement des liaisons intermoléculaires mettant en jeu simplement l'oxygène de l'amide. L'introduction d'une molécule d'eau et d'une molécule d'acide chlorhydrique ajoute énormément de liaisons intra et intermoléculaires à la structure cristalline.

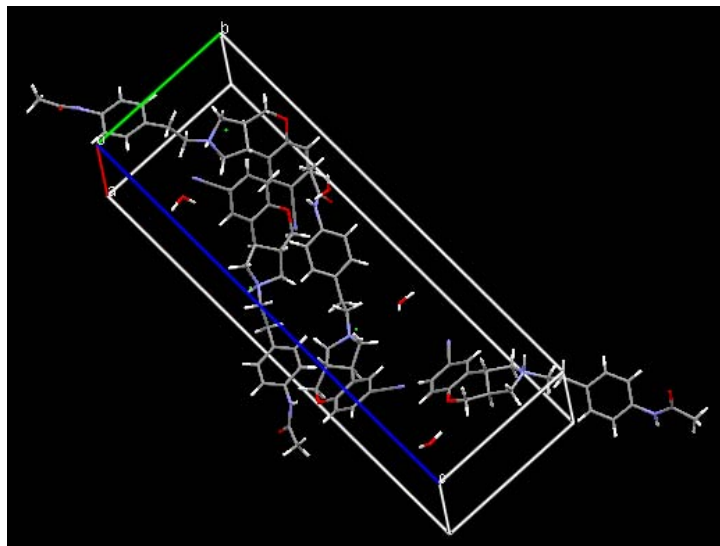
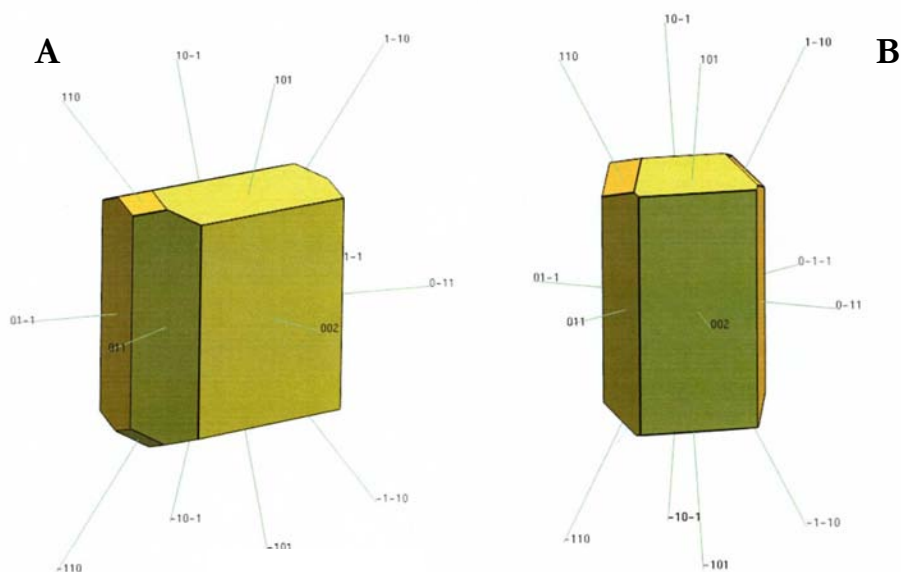


Figure 162: Packing du TD901 – sel, structure proposée par GENMOL

La modélisation de la morphologie par BFDH ou par les énergies d'attachement est donnée dans la figure 163. Ces morphologies prédites laissent penser que le cristal aura un faciès de plaquettes ou d'aiguilles. Encore une fois, nous appuyons le fait qu'il ne s'agit pas de la phase désirée pour le développement du procédé, ce travail de modélisation tournant autour d'une phase qui n'est pas la phase A. Ces observations sont intéressantes par contre pour la méthodologie.



Figures 163: Modélisation de la morphologie par BFDH (A) et par les énergies d'attachement (B)

Enfin, nous remarquons que la projection de cette structure théorique sur différents plans est riche d'informations. Si la projection sur certaines faces comme (002) ne donnent pas d'informations, la projection sur les plans (0bc) [Fig. 164] et (a0c) [Fig. 165] montrent l'existence de canaux dont le cœur est occupé par les molécules d'eau (points rouges) [Fig. 164]. Ceci montre que très probablement, que les molécules d'eau peuvent entrer et sortir de la structure avec une grande facilité, ce que nous avons montré en séchant et en réhydratant de la poudre de sel TD901. La figure 165 est plus singulière, on observe sur cette projection que le squelette carboné de la molécule, et en particulier ses cycles, est orthogonal au plan (a0c).

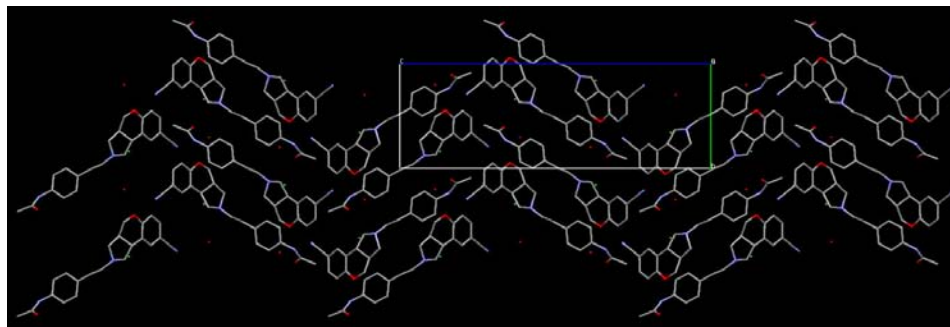


Figure 164: Projection de la structure déterminée par GENMOL sur (0bc)

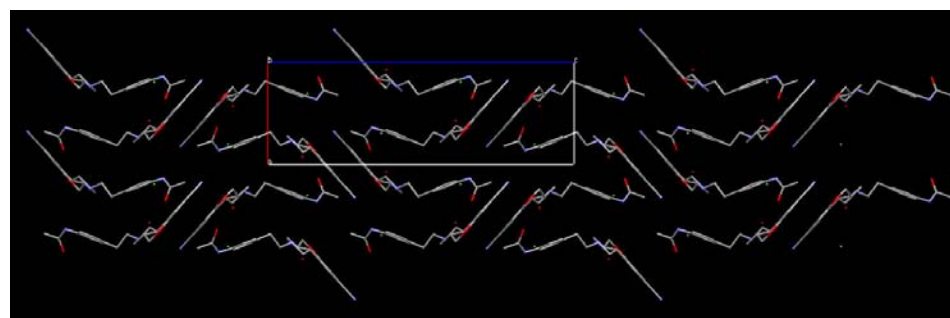


Figure 165: Projection de la structure déterminée par GENMOL sur (a0c)

Même s'il ne s'agit pas de la phase du sel avec laquelle nous avons travaillé pour cette thèse, l'exploitation de cette structure est vraiment intéressante. L'existence de canaux pour le départ des molécules d'eau permet d'imaginer que l'hydrate du chlorhydrate a une stabilité très relative.

### IV.3. Conclusions

L'obtention de monocristaux d'un API n'est pas si facile. La croissance en solution, en jouant sur la température du milieu ou l'évaporation du solvant, ne permet pas toujours d'obtenir des cristaux suffisamment gros pour déterminer la structure par DRX-monocristaux. Nous avons vu avec le chlorhydrate du TD901 que la molécule d'étude est aussi limitante pour la croissance d'un seul cristal selon les 3 axes (dans ce cas, la détermination de la structure sur un échantillon de poudre est réalisable au synchrotron.). Bien entendu, nous aurions pu chercher à obtenir des monocristaux des autres phases du sel que nous avons détecté, mais l'intérêt du travail consistait à comparer la structure de la base à celle de la phase A du sel. Nous avons vu, grâce à la modélisation moléculaire, que l'addition d'une molécule d'eau et d'une molécule d'acide chlorhydrique dans la structure modifie énormément les liaisons intra et intermoléculaires et la structure de la base. La modélisation moléculaire permet aussi de faire de la prédiction à partir de la structure (aptitude à piéger des molécules de solvant,...). De la connaissance des structures, on peut tirer beaucoup d'informations car il s'agit de 50% de la compréhension de la cristallisation, imposée par les paramètres internes (les 50 autres pourcents sont les conditions de cristallisation).

## V. Etudes du procédé de cristallisation

À partir des connaissances des différentes phases du sel, de la caractérisation de la phase A (solubilité, faciès), nous sommes riches d'informations permettant de travailler sur le procédé de cristallisation à l'échelle d'un réacteur de laboratoire. Une méthodologie d'approche est présentée au cours de cette partie pour comprendre les mécanismes de nucléation et une manière dont on peut contrôler le procédé de cristallisation du sel.

Le mode de synthèse et le procédé de cristallisation du sel TD901 dans un réacteur ont été choisis et améliorés par Oril pendant les premières années du développement de la molécule. Le dernier protocole opératoire utilisé par la Chimie – Recherche Industrielle d'Oril industrie est le suivant (quantités ramenées à celles utilisées pour un réacteur de ~130mL de volume utile) :

- Chargement de 8,75 g de base
- Chargement de 112 mL d'éthanol technique
  - Suspension de base de 78,12 g.L<sup>-1</sup> dans l'éthanol
- Agitation à 450 rpm (7,5 tr.s<sup>-1</sup>)
- Chauffage et maintien de la température à 73°C pendant 15 minutes pour dissoudre complètement la base dans l'éthanol
- Préparation d'une ampoule de coulée avec 2,31 g d'HCl 11N et 12,5 mL d'eau
  - Coulée des 0,95 équivalents d'acide dans l'eau pendant 10 minutes
- Rinçage de l'ampoule avec 4,9 mL d'éthanol technique
- Maintien de la température du milieu réactionnel à 73°C pendant 10 minutes pour la réaction acido-basique
  - Solution de chlorhydrate de 70,63 g.L<sup>-1</sup> dans EtOH/Eau 90/10
- Descente à 65°C pendant 15 minutes
- Introduction de la semence à hauteur de 1% massique de la quantité de solide attendue
- Maintien de la température à 65°C pendant 30 minutes
- Descente en 4 heures et demie à 20°C, soit une rampe de 10 °C.h<sup>-1</sup>
- Filtration sur fritté
- Lavage avec 14mL d'éthanol
- Séchage dans une étuve à 80°C pendant 48h

L'acide chlorhydrique étant dilué dans de l'eau, après addition de l'acide, le solvant a la composition d'un mélange EtOH/Eau 90/10. Notons aussi que nous ajoutons 0,95 éq. d'HCl car au-delà, des problèmes de stabilité chimique de la molécule ont été observés.

Tout d'abord, nous cherchons à placer la limite de zone métastable sur le diagramme de phase qui nous intéresse. Cette détermination cinétique, en opposition à la mesure de la solubilité qui correspond à des facteurs thermodynamiques, est essentielle pour comprendre la nucléation au cours d'un procédé de cristallisation.

L'étude du procédé de cristallisation doit nous aider à comprendre le mécanisme de nucléation du chlorhydrate. En effet, dans la première partie des résultats, nous avons montré que le sel cristallise sous forme de monohydrate et que la phase anhydre correspondante était facile à isoler pendant le séchage. Ainsi, l'objectif est de savoir si le sel nucléé directement sous sa phase hydrate ou sous une phase anhydre suivie d'une transition de phase anhydre → hydrate. L'étude de la suspension sortie du réacteur par diffraction des rayons X puis l'utilisation de l'appareil SWAXS permettra de valider ou non cette hypothèse concernant la nucléation du sel.

Ensuite, une étude plus poussée du procédé de cristallisation du sel. Les outils de suivi *in situ* de la solution et de la suspension dans un cristalliseur agité (sonde pH, caméra vidéo, sonde FBRM) sont utilisés pour comprendre si le changement particulier d'un paramètre améliore, ou au contraire, nuit aux propriétés d'usage des cristaux récupérés en fin de manipulation. Le procédé étudié est déjà optimisé et le choix s'est orienté fort justement vers un ensemencement, dans cette étude les objectifs étant de mettre au point une méthodologie nous avons donc testé des procédés a priori non pertinents: nucléation primaire et précipitation.

### **V.1. Mesure de la limite de zone métastable**

D'un point de vue pratique, il est important de placer la limite de zone métastable dans un diagramme de phases ; elle indique la température, à concentration donnée, à laquelle le soluté nucléé spontanément. Il est théoriquement possible de discerner plusieurs limites de zone métastable : pour la nucléation primaire homogène, la primaire hétérogène, la secondaire. Nous nous contentons de déterminer la zone de nucléation spontanée. Cette détermination est d'ordre cinétique, au contraire de la solubilité qui est d'ordre thermodynamique. Autrement dit, les conditions dans lesquelles sont réalisées les mesures sont essentielles. L'hydrodynamique a ici une place très importante. Pour schématiser, nous pouvons expliquer que dans un même réacteur, la probabilité de nucléation augmente avec la vitesse d'agitation. On peut aussi penser qu'une agitation plus intense augmente les perturbations locales (jusqu'à l'échelle de turbulence, la dizaine de microns) et réduit la métastabilité.

Tout d'abord, les résultats pour un réacteur agité à 650 rpm ( $0,32 \text{ W.kg}^{-1}$ ) sont exposés. Dans un second temps, ils sont comparés aux résultats de la détermination de la LZM dans des conditions statiques. Nous insistons fortement pour faire comprendre que seule la détermination de la LZM dans un réacteur agité a de l'intérêt vis-à-vis du procédé. La mesure dans des conditions statiques n'apporte rien pour le procédé, mais seulement pour la compréhension globale des phénomènes.

#### **V.1.1. Mesures en réacteur agité**

La limite de zone de métastable est détectée par la nucléation primaire du soluté dans la solution, sans que l'on sache a priori si elle est homogène ou hétérogène. Nous nous plaçons dans le réacteur du CINaM dans des conditions de concentrations successives de 18, 30, 40, 50 et  $70 \text{ g.l}^{-1}$ . Une fois la suspension dissoute, la température du bain est programmée pour une rampe de refroidissement de  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$ . A partir du moment où l'on observe la nucléation des cristaux, on note la température du milieu. Les résultats sont donnés dans le tableau 28.

Concentration en sel dans EtOH/Eau 90/10 (en $\text{g.L}^{-1}$ )	Température de nucléation spontanée (en $^\circ\text{C}$ )
18	14,5
30	36,7
40	47,3
50	53,3
70	60,2

Tableau 28 : Détection de la limite de zone métastable dans le réacteur agité du CINaM à  $650 \text{ rpm}$ , refroidissement à  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$

Cette mesure est propre au réacteur du CINaM, à son agitateur associé et à la puissance dissipée. Si la vitesse d'agitation était moins élevée, la LZM serait décalée vers de plus basses températures. Les résultats sont affichés dans la figure 166. On observe un écart d'une dizaine de

degrés à  $50 \text{ g.L}^{-1}$ , écart élargi à près de  $20^\circ\text{C}$  pour  $20 \text{ g.L}^{-1}$ . Dans ces conditions d'agitation, le positionnement de la LZM permet de prédire le moment où le soluté nucléera de manière spontanée. Néanmoins, si des promoteurs de nucléation hétérogène de nature différente au soluté apparaissent dans le réacteur, la position de la LZM changera.

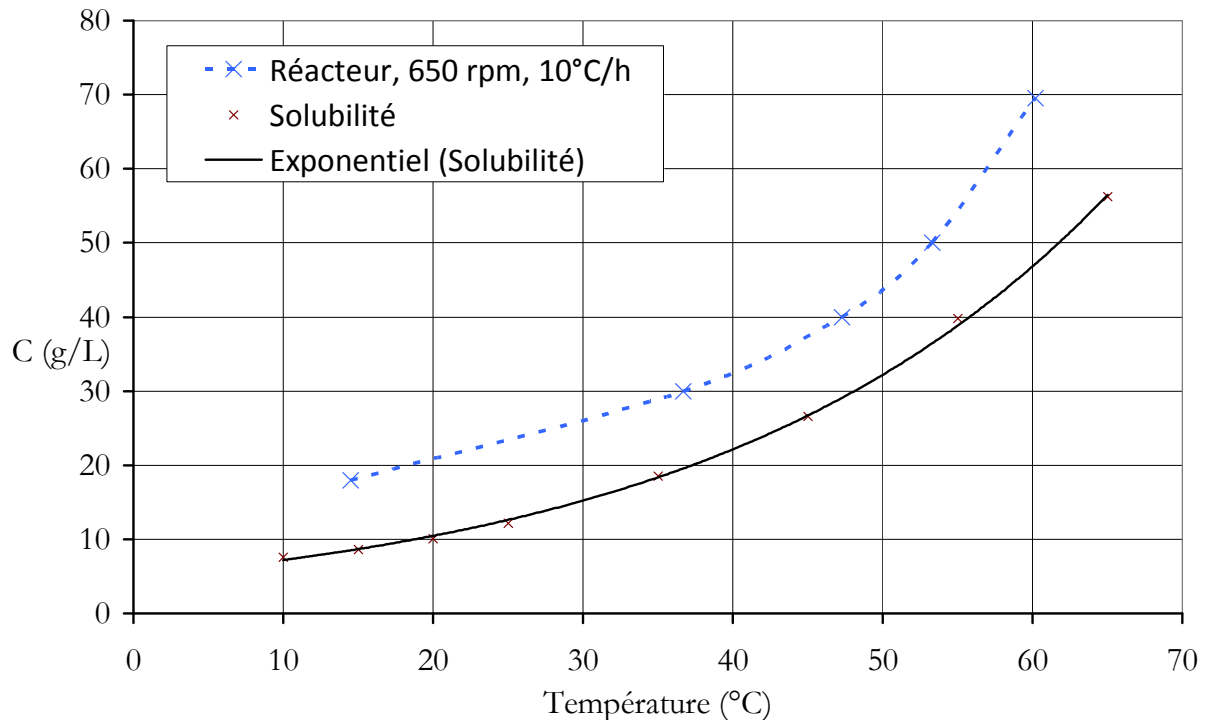


Figure 166: Solubilité du sel dans EtOH/Eau 90/10 et LZM dans un réacteur agité à 650rpm

### V.1.2. Comparaisons avec d'autres conditions

L'intérêt de mesurer une courbe de limite de zone métastable, hors conditions du procédé, est limité sur le plan théorique. Une zone métastable large permet de prévoir une mauvaise reproductibilité de la nucléation. Dans ce cas, un ensemencement sera facilement mis en œuvre et permettra de contrôler la cristallisation. Au contraire, une zone métastable peu étendue conduira à une nucléation mesurée et reproductible, d'où un ensemencement moins crucial. La LZM est donc une donnée procédé très importante car elle permet de voir l'intérêt ou non d'un ensemencement, et donc d'agir sur les choix lors du développement du procédé.

Cependant, nous avons cherché à faire ce travail pour comparer l'impact des conditions de cristallisation sur le placement de la LZM. Parmi tous les essais, nous donnons ici les résultats concernant les conditions suivantes :

- Conditions non agitées, dans une vial de 1mL, refroidissement de  $1^\circ\text{C.h}^{-1}$
- Conditions non agitées, dans une vial de 1mL, refroidissement de  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$
- Conditions agitées (barreau aimanté), dans un bécher de 10 mL, refroidissement de  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$
- Conditions agitées (barreau aimanté), dans un bécher de 10 mL, refroidissement par un changement manuel de la température ( $\sim 0,5^\circ\text{C}$  toutes les 2 heures)
- Conditions agitées dans le réacteur (650 rpm, Mixel TT), refroidissement de  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$

L'observation de la nucléation dans des vials est enregistrée grâce à une prise de photos régulière au microscope. Les images de la figure 167 montrent la nucléation spontanée du solide pour  $40 \text{ g.L}^{-1}$  dès  $33,9^\circ\text{C}$ , on note que les cristaux poussent en oursins. En ce qui concerne les béchers double-enveloppés, il faut être vigilant devant la manipulation pour observer la nucléation.

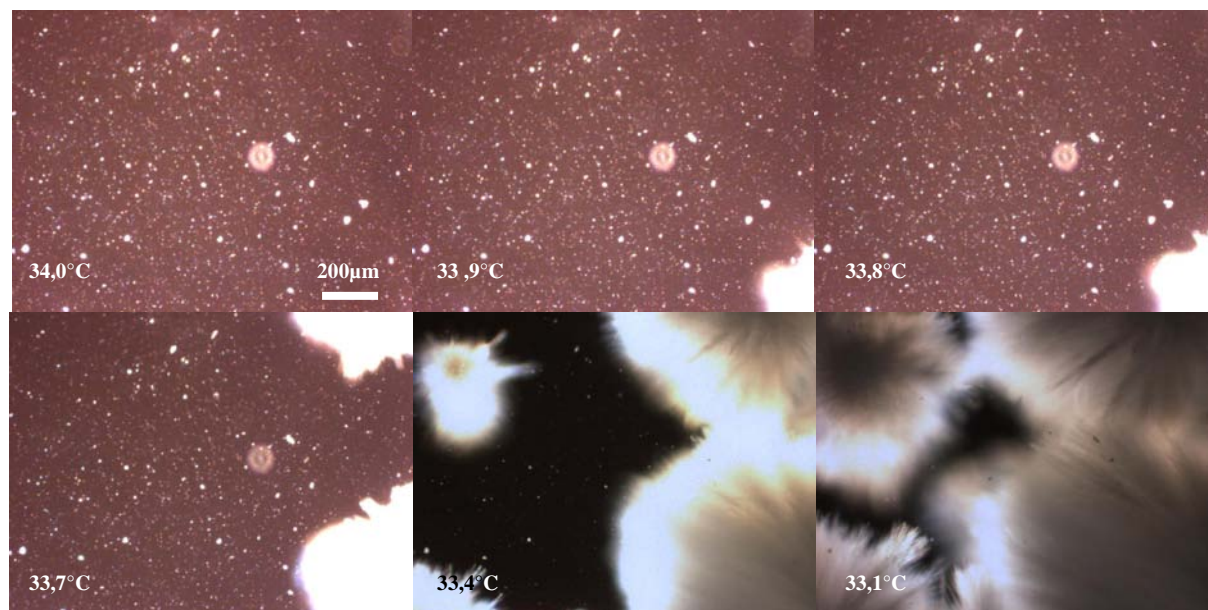


Figure 167: Nucléation du sel ( $40 \text{ g.L}^{-1}$ ) dans EtOH/Eau 90/10 en milieu stagnant (vial 1 mL).

L'ensemble des résultats concernant les mesures de la LZM est donné dans la figure 168.

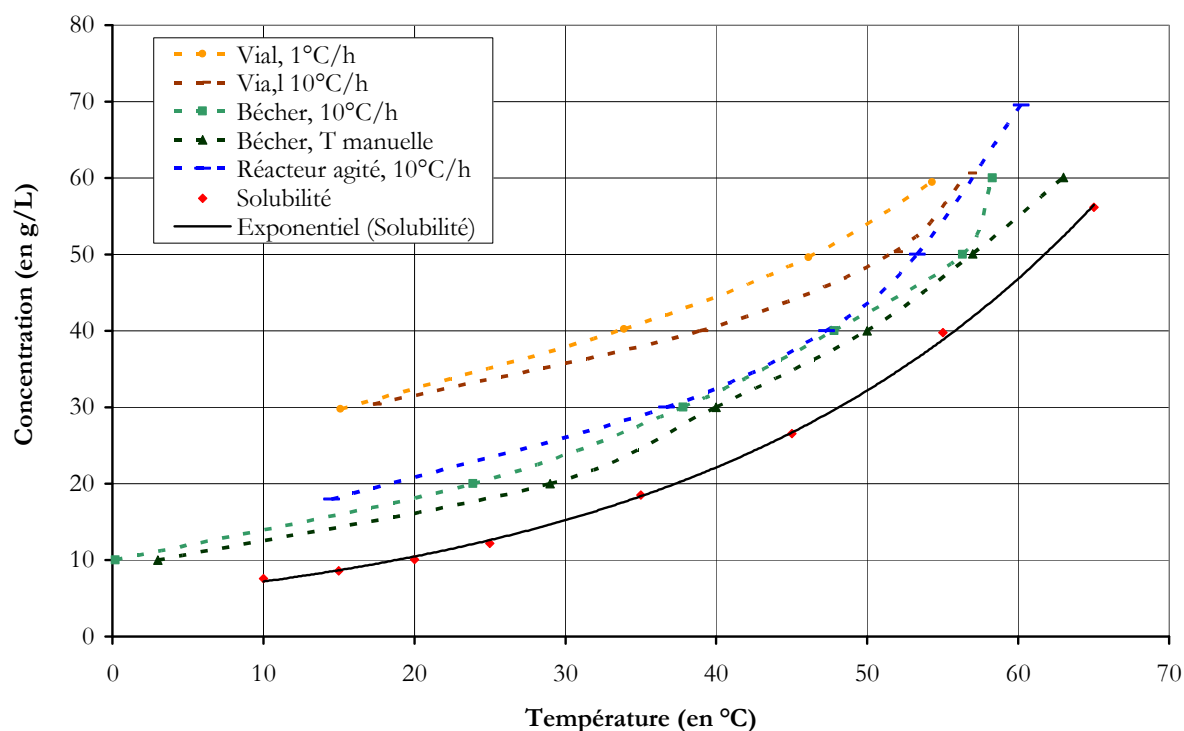


Figure 168: Comparaison des limites de zone métastable, selon les conditions de mesure

Tout d'abord, nous notons que la limite de zone métastable est repoussée dans le cas d'une cristallisation sans agitation (vials de 1 mL), ce qui est tout à fait compréhensible. Par contre, nous observons la nucléation spontanée à une température un peu plus élevée pour un refroidissement à  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$  par rapport à  $1^\circ\text{C.h}^{-1}$ , ce qui est contraire à ce qui était attendu car refroidir plus vite doit retarder la cinétique de nucléation primaire (par contre, la nucléation est plus importante à cause d'une sursaturation plus élevée). Ceci est probablement dû à la qualité des échanges thermiques dans le système multipuits.

Par contre, dans un bécher, la nucléation a lieu à peine plus tôt (2 à 5°C de décalage) lorsque la vitesse de refroidissement est de  $\sim 0,25^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$  au lieu de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ . La nucléation a lieu aussi un peu plus tôt dans un bécher que dans le réacteur agité. L'agitation des béchers avec un barreau aimanté conduit à un cisaillement local très élevé dans le système et favorise la nucléation, ou alors que le frottement du barreau magnétique sur le verre provoque l'attrition de microparticules du barreau, elles mêmes génératrices de nucléation hétérogène.

## V.2. Recherche d'une phase anhydre pendant le procédé de cristallisation par analyse de la suspension au cours du procédé

Pour vérifier si la phase du produit cristallisé était la même quelque soit la position sur le diagramme de phase, nous avons cherché à isoler des cristaux peu de temps après nucléation afin de faire une analyse DRX. Comme il est expliqué sur la figure 169, nous avons cherché à préparer des solutions de sel à 10, 20, 30, 40, 50 et 60 g.L<sup>-1</sup>. Une fois le sel dissous, nous imposons une rampe de refroidissement de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ . Dès que les premiers cristaux apparaissent, nous filtrons les cristaux, ce qui n'est pas toujours aisé vu leur faible taille.

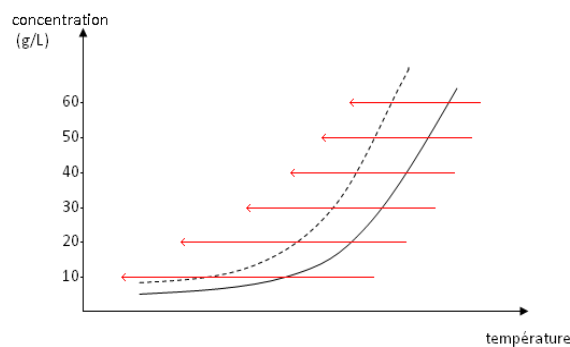


Figure 169 : Méthode utilisée pour analyser le sel après nucléation

Il est vraiment important de ne pas attendre plus de 5 minutes après nucléation pour filtrer la suspension afin d'éviter une transformation de phase vers une phase plus stable. L'échantillon est brièvement séché à  $60^{\circ}\text{C}$  pendant quelques heures avant analyse DRX. L'étape de séchage est obligatoire car il est difficile de rentrer du produit trop humide dans nos capillaires d'analyse DRX à 0,5 ou 0,7 millimètre de diamètre. Les résultats sont donnés par la figure 170.

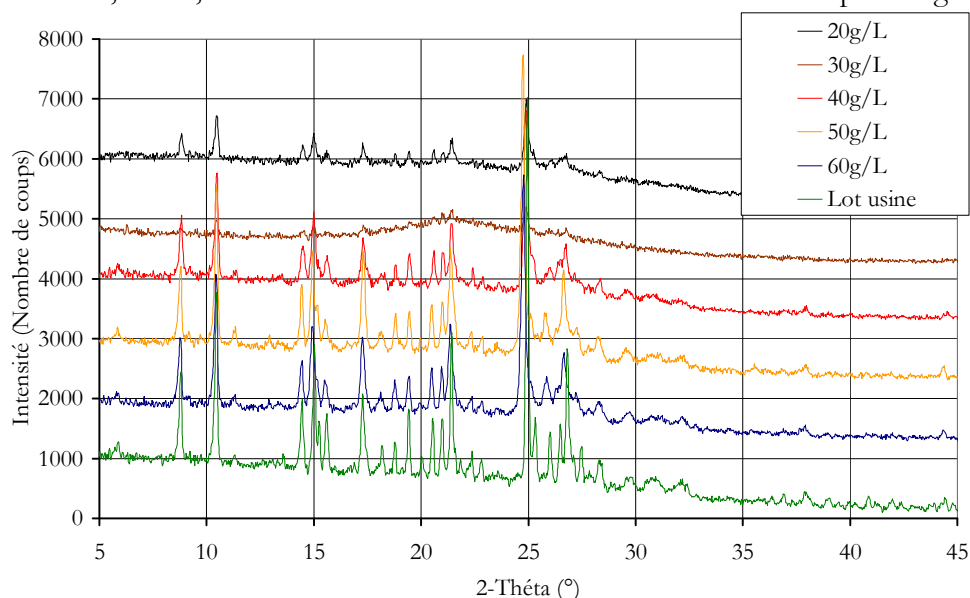


Figure 170 : Diffractogrammes du sel après nucléation à partir de concentrations différentes

L'ensemble des clichés est homogène, nous retrouvons les mêmes pics aux mêmes endroits. Notons que l'ensemble de pics autour de 26-27° a une allure dépendant de la qualité du broyage avant échantillonnage pour analyse. L'enregistrement à 30 g.L<sup>-1</sup> donne un diffractogramme très peu intense avec peu de pics. Ces pics correspondent bien aux pics majeurs du sel (phase A). Si cet essai donne un signal aussi peu intense, c'est que la quantité de cristaux après nucléation était particulièrement faible (filtration trop tôt) et que ces cristaux étaient encore très petits (nucléés).

Nous pouvons tirer comme conclusion préliminaire de ces essais que le sel ne cristallise pas sous différentes formes dans EtOH/Eau 90/10. Cependant, nous avons tenu à vérifier ce point dans les conditions types du procédé, dans un réacteur agité. Pour cela, nous suivons un procédé classique de synthèse et de cristallisation du sel : Synthèse à 73°C, Ensemencement à 1% à 65°C, plateau de 30 minutes à cette température, rampe de 5 °C.h<sup>-1</sup>. Dans notre cas, nous avons laissé une nuit supplémentaire le réacteur sous agitation à 20°C. Nous avons effectué des prélèvements à la fin de l'isotherme de 30 minutes à 65°C et à la fin du long isotherme à 20°C.

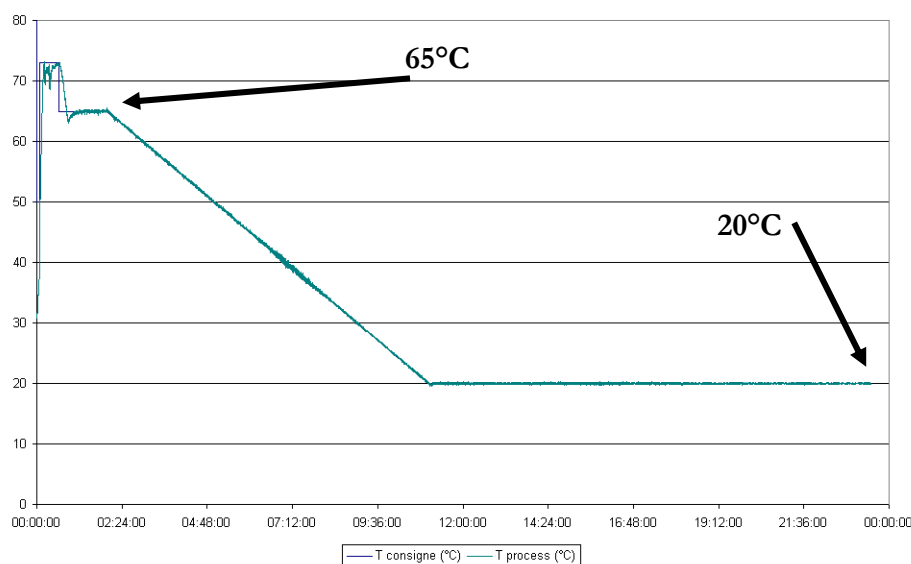


Figure 171 : Profil de température pendant le procédé

Les prélèvements sont de deux sortes :

- Prélèvement de suspension, chargement de la suspension dans un capillaire de 1 mm de diamètre, étape difficile dans la pratique
- Filtration très rapide d'un peu de suspension, l'espace de quelques secondes pour séparer le surnageant du solide.

Dans les deux cas, les capillaires sont scellés tout de suite après leur préparation. Étant donné que la suspension peut être chaude, il faut faire attention à ce qu'il n'y ait pas de transition très tôt, dû au refroidissement à l'air ambiant pendant l'analyse. Ainsi, le choix a été fait de ne faire que des analyses DRX de 5 minutes puis des analyses de 20 minutes (comme d'habitude). Nous avons observé que les clichés de 5 minutes étaient équivalents à ceux de 20 minutes. Ils sont bien moins intenses, on ne peut observer les petits pics de diffraction [Annexe W].

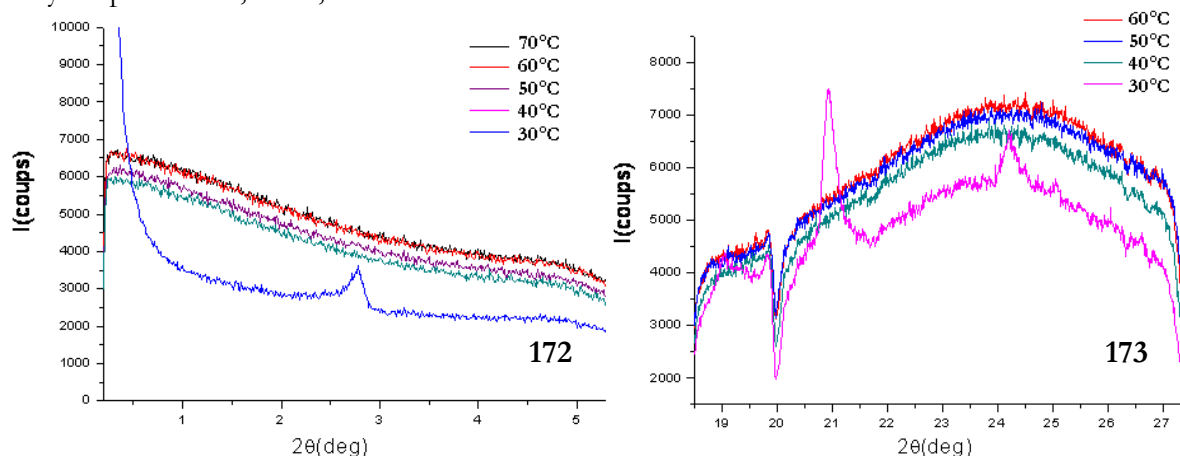
Tout d'abord, nous notons que les mesures en suspension sont peu intenses, avec une ligne de base arrondie de 15 à 25°. Elles n'apportent pas plus d'informations que les mesures sur des échantillons fraîchement filtrés. La forme finale du sel, l'hydrate, se retrouve très tôt au cours du procédé. Les pics du cliché de l'anhydre ne se retrouvent pas sur les autres clichés.

Dans le cas où la forme anhydre est particulièrement instable, voire évanescente, il sera difficile de vraiment l'observer aux rayons X, sans dispositif de four. Le SWAXS pourrait apporter des informations sur une éventuelle transition anhydre  $\rightarrow$  hydrate à un point précis du procédé.

### V.3. Détection de la nucléation et recherche d'une transition anhydre $\rightarrow$ hydrate dans un appareil de diffusion des rayons X aux petits et moyens angles

L'utilisation du SWAXS est fréquente pour la diffusion aux petits angles par les solutions de macromolécules afin de caractériser les molécules. L'analyse en ligne d'une suspension d'une petite molécule pharmaceutique avec cet appareil (diffusion aux petits angles et diffraction aux angles moyens) est beaucoup plus rare. La procédure de chargement du capillaire en quartz consiste à préparer à chaud ( $\sim 70^\circ\text{C}$ ) une solution à  $70,63 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de sel dans EtOH/Eau et de laisser tremper le porte capillaire [Fig. 86] dans de l'eau à  $\sim 70\text{-}80^\circ\text{C}$  pour le laisser prendre la température. Les 2 bouchons du porte capillaire sont alors ouverts et la base trempe dans la solution de sel, qui remonte par capillarité. Les 2 bouchons sont fermés et immédiatement après, le porte capillaire est introduit dans la cellule SWAXS d'analyse. La grande surface de contact du quartz à l'air libre, par rapport au volume de la solution, fait que la manipulation peut être compliquée par la recristallisation du soluté avant l'analyse. La qualité des joints de colle époxy entre le capillaire en quartz (plus résistant qu'un capillaire en verre) et le porte capillaire est essentielle car le vide dans la chambre d'analyse est poussé.

La température, contrôlée grâce à l'effet Peltier, est programmée selon le profil du procédé [Fig. 171], avec des sauts de  $10^\circ\text{C}$  toutes les 2 heures. Toutes les 2 heures, la température est abaissée de  $10^\circ\text{C}$ , et un enregistrement du cliché RX est fait toutes les demi-heures. Les figures 172 et 173 montrent l'évolution des clichés aux petits angles et aux angles moyens pour  $60^\circ\text{C}$ ,  $50^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$  et  $30^\circ\text{C}$

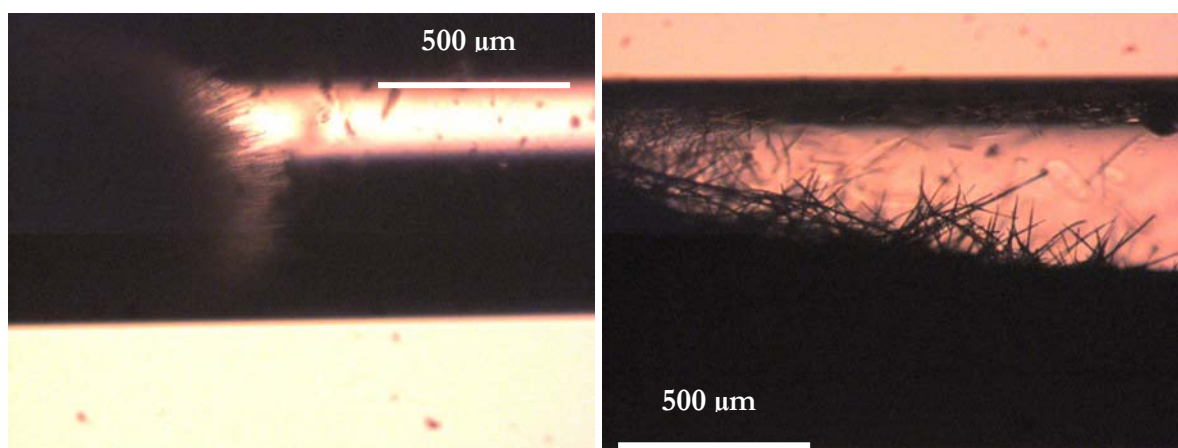


Figures 172 et 173 : Évolution de l'enregistrement RX en suspension aux petits et moyens angles

Nous remarquons aux petits angles [Fig. 172] que dès  $30^\circ\text{C}$ , le cliché RX diffère des précédents. Un pic est apparu à  $\sim 2^\circ 80$ . Ce pic correspond à la phase hydrate du sel [Annexe W]. Les autres enregistrements, en dessous de  $30^\circ\text{C}$  ne sont pas modifiés. En ce qui concerne les angles moyens, nous observons les premiers changements du cliché à partir du refroidissement à  $30^\circ\text{C}$  (le signal à  $20^\circ$  est dû à un défaut du détecteur). Les pics qui ressortent à  $21^\circ$  et  $24^\circ 95$  correspondent à des pics importants du cliché du sel hydraté  $20^\circ 99$  et  $24^\circ 90$ , [Tableau 14]. Par contre, le pic à  $24^\circ 20$  n'est ni caractéristique de la phase A hydratée, ni de la phase anhydre. L'intensité de ces pics ne change pas en dessous de  $30^\circ\text{C}$ .

Tout d'abord, cette méthode permet de détecter la nucléation d'une phase à partir d'une solution d'un API, ce qui est intéressant. Cependant, si nous regardons la figure 168, la température de nucléation de cette phase, qui intervient entre 30°C et 40°C, est bien faible par rapport aux autres mesures réalisées en statique. Il est vrai que les conditions de cristallisation, dans un capillaire de diamètre 1 mm, sont particulières : milieu stagnant et convection faible (nucléation plus faible dans une enceinte de petite taille).

La détection de 2 pics caractéristiques de la phase A du sel au moment de la nucléation consolide nos observations précédentes ; le sel nucléé sous sa phase hydrate et ne passe pas par une phase anhydre en suspension dans les conditions de solvant 90/10 EtOH/Eau. Par contre, le pic large à 24°20 ne s'explique pas facilement. Il pourrait s'agir de la présence d'une autre phase non identifiée jusque là. L'absence d'autres pics de la phase A ou la différence d'intensité relative entre 2 pics est due à l'orientation préférentielle des cristaux dans le capillaire. Les figures 174 et 175 montrent des cristaux qui ont nucléé et cru dans le capillaire pendant les expériences réalisées au SWAXS. On peut remarquer que les aiguilles poussent globalement dans le sens de la longueur du capillaire.



Figures 174 et 175 : Photos des cristaux dans le capillaire SWAXS après les expériences

Cette méthode d'analyse *in situ* de la cristallisation est porteuse d'espoir, dès les protocoles d'analyse améliorés (méthode de chargement, choix des températures et de la rampe de refroidissement) pour détecter d'éventuelles transitions solide → solide. Si étudier les suspensions par DRX est complexe, à cause de l'évanescence des phases métastables, cette méthode est complémentaire aux analyses Infrarouge et Raman pour étudier les transitions de phase en solution.

#### **V.4. Suivi du pH pendant la cristallisation**

Nous avons cherché à savoir si le suivi *in situ* du pH de la solution et de la suspension apportait des informations essentielles qui permettraient d'identifier les paramètres de la cristallisation en vue d'améliorer les procédés. Pour cela, nous utilisons dans le réacteur du CINaM une sonde pH au chlorure de lithium dans l'éthanol. La stabilité de la mesure dans un milieu éthanolique ou 90/10 EtOH/Eau est particulièrement bonne, du niveau d'une mesure dans l'eau pour une sonde classique. Précisons d'emblée que la correction du pH en fonction de la température est automatiquement réalisée par le pH-mètre une fois qu'il a été étalonné.

Sur la figure 176, est donné le suivi de l'évolution du pH dans la solution/suspension en parallèle à la température dans le cœur du milieu réactionnel. A 73°C, le pH de la solution de base est de 6,70 et l'addition de l'acide chlorhydrique réduit le pH à 4,05. A 65°C, il est de 4,25 et reste inchangé pendant l'ensemencement. Nous n'observons strictement aucune modification due à la

nucléation secondaire. Le pH augmente linéairement pendant le refroidissement à cause de sa dépendance vis-à-vis de la température. L'effet ainsi mesuré est de 0,032 unités de pH par °C.

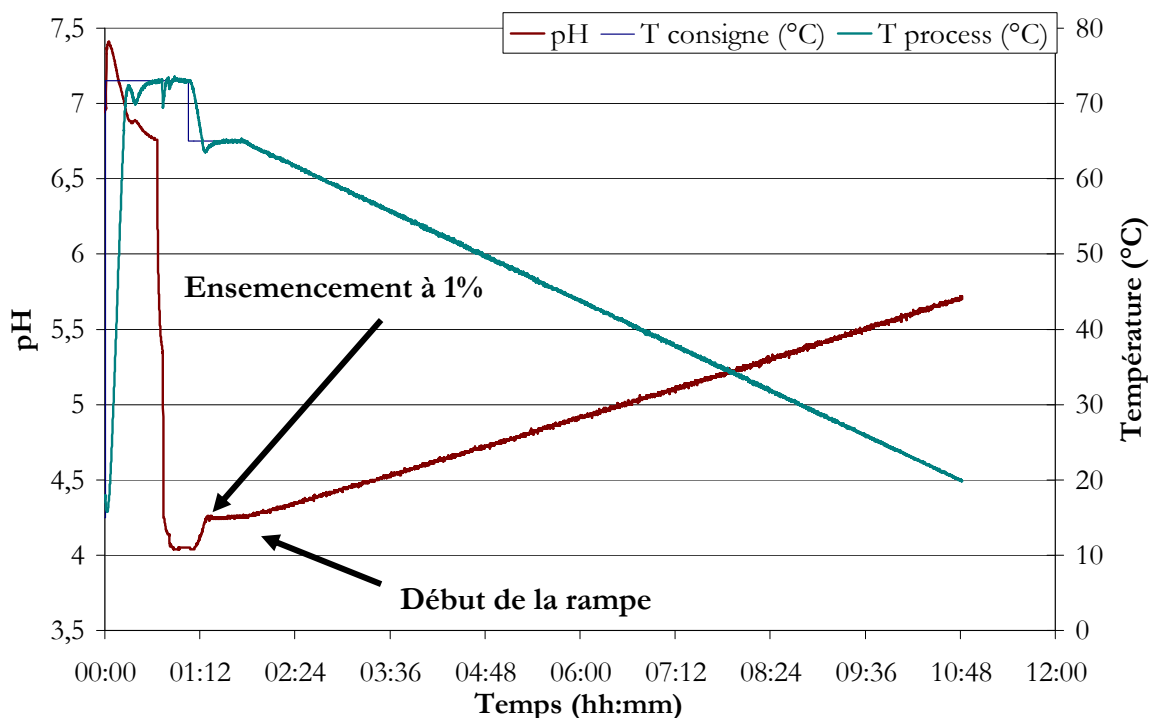


Figure 176 : Suivi du pH au cours d'un procédé avec ensemencement à 65°C

La mesure du pH au cours d'un procédé de cristallisation par nucléation primaire a ensuite été réalisée. Nous avons observé le début de la nucléation dans le réacteur à 61,5°C et ensuite imposé un palier de 30 minutes à 60°C. Le résultat du suivi du pH est donné dans la figure 177.

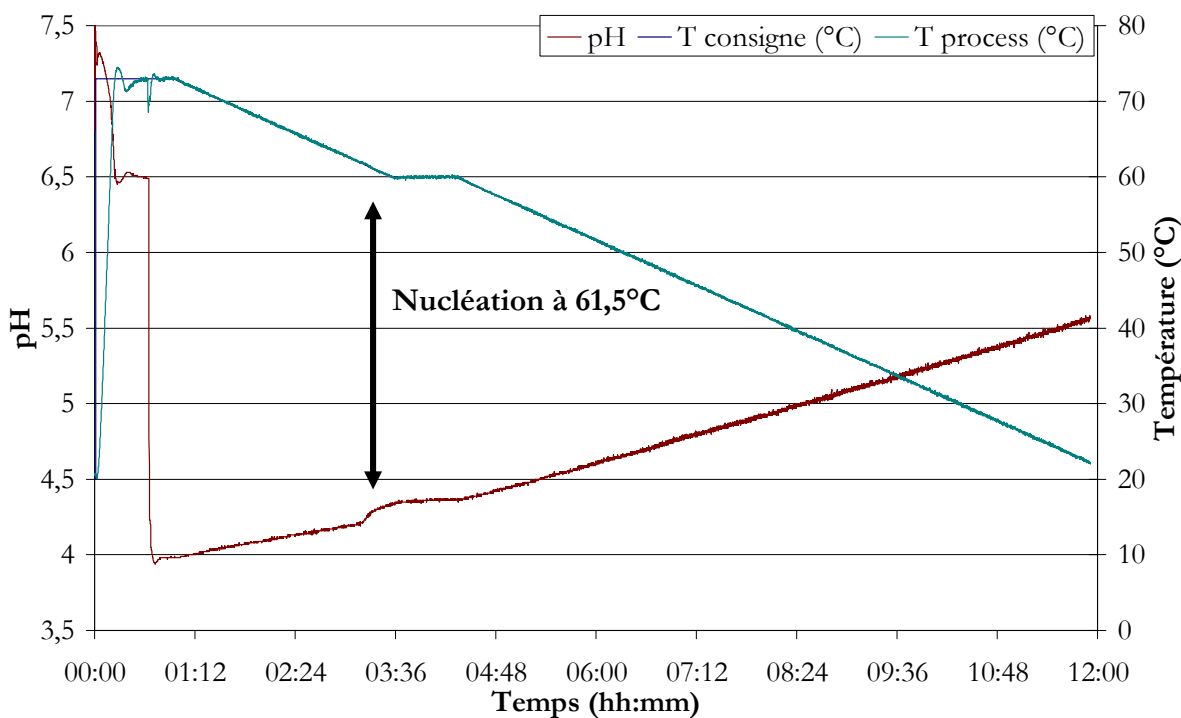


Figure 177 : Suivi du pH au cours d'un procédé avec nucléation primaire à 61,4°C

Nous observons cette fois-ci une modification du pH liée à la nucléation du soluté. Ce saut de pH de 0,15 unités de pH retombe sur la droite d'évolution du pH en fonction du temps et surtout de la température. Autrement dit, après la demi-heure de palier à 60°C, l'effet de la cristallisation sur le pH n'est plus observable. Ce saut peut-être attribué à un saut de concentration en solide autour de la sonde pH, ce qui générerait l'homogénéité de la mesure par exemple. En tout cas, au-delà de ces observations, l'impact de la nucléation et de la croissance sur le pH de la suspension ne semble pas clairement établi, et les variations observées sont toujours très faibles.

Malheureusement, ces deux enregistrements amènent à des conclusions équivalentes et l'observation de variations relatives du pH importantes d'un procédé à l'autre n'a pas pu être obtenue. Les mesures absolues du pH sont intéressantes par rapport au travail effectué précédemment. En fin de manipulation à 20°C pour l'essai ensemencé, le pH de la suspension est de 5,70. Comme a été évalué le décalage à 20°C du pH d'une solution aqueuse à une solution 90/10 EtOH/Eau à -1,6 unités de pH, le pH de la suspension dans l'eau devrait être proche de 7,30, autrement dit, au niveau du  $pH_{max}$  de 7,32. Nous ne pensons pas qu'il faille voir une coïncidence dans le très fort rapprochement de ces deux valeurs (pH de 7,15 à 20°C pour l'essai avec nucléation primaire). En tout cas, en regardant la figure 140, nous remarquons que travailler avec un pH plus faible ne changerait pas la solubilité du sel et travailler avec un pH plus haut déplacerait l'équilibre chimique dans le sens de la base, ce qui n'a pas d'intérêt. L'utilisation de la sonde pH est intéressante pour aider à la compréhension de la théorie mise en place en bibliographie, mais ne constitue pas un point clef de notre travail.

### **V.5. Suivi de la suspension au cours du procédé**

Il existe différentes manières de générer des cristaux en solution après la réaction de salification dans un réacteur agité. Le diagramme de phases de la figure 178 permet de comprendre, selon les conditions du procédé comment se placer pour suivre un procédé en particulier. Ainsi, par exemple, la base TD901 est dissoute à 78,12 g.L<sup>-1</sup> dans l'éthanol à 73°C (point bleu sur le graphique, conditions très solubles). L'action **1** réside en l'addition d'acide chlorhydrique dilué dans l'eau pour former le sel. Nous travaillons alors avec 70,63 g.L<sup>-1</sup> de sel dans un mélange de solvant 90/10 EtOH/Eau (v/v), représenté par le point B sur de la figure. Le point B rouge est en dessous de la courbe de solubilité correspondant aux conditions soluté/solvant, signifiant que le soluté est sous-saturé à cette température. À partir de là, plusieurs actions sont envisagées :

- **2** : Abaisser la température à 65°C pour se placer en conditions sursaturées et ensemencer avec la phase A du sel final (nucléation secondaire)
- **3** : Abaisser la température jusqu'à atteindre la limite de zone métastable (autour de 61°C) et provoquer la nucléation primaire
- **4** : Évaporer le solvant à partir du point C pour concentrer la solution jusqu'à atteindre la limite de zone métastable (~79 g.L<sup>-1</sup> à 65°C) et provoquer la nucléation primaire
- **5** : Ajouter une quantité connue d'anti-solvant afin de placer le soluté (concentration un peu diminuée par dilution) dans la zone labile d'un autre diagramme de phase correspondant au nouveau mélange de solvants (courbe de solubilité et limite de zone métastable en vert sur la figure)
- **6** : Faire une précipitation du sel au moment de se formation chimique (flèche de E à F sur le graphique). Par exemple, se placer à 60°C pour que dans ces conditions, le sel se trouve dans la zone labile du diagramme de phase. Une fois la concentration de ~66 g.L<sup>-1</sup> de sel atteinte pendant la réaction chimique, le soluté nucléé de manière spontanée

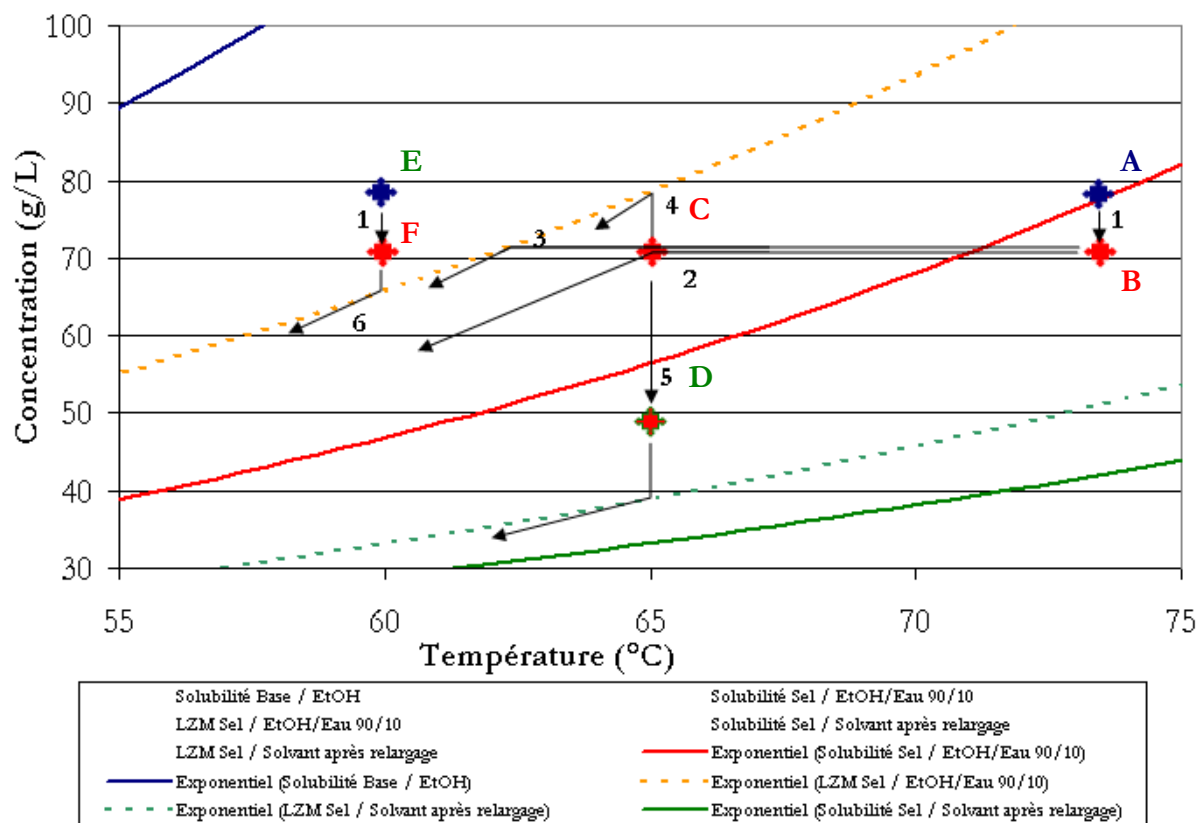


Figure 178 : Utilisation d'un diagramme de phase pour piloter la nucléation

Parmi ces cinq méthodes, chacune déterminant le type de procédé de cristallisation, nous avons cherché si l'une d'entre elles était plus adaptée qu'une autre à la cristallisation de notre chlorhydrate à l'aide des sondes *in situ* FBRM et caméra vidéo. La partie concernant l'ensemencement a été développée de manière plus importante pour comprendre l'impact des différents paramètres expérimentaux sur la qualité des cristaux.

L'évaporation a de suite été écartée pour des questions de sécurité car l'idée d'évaporer une solution riche en acide chlorhydrique n'est pas bonne pour l'équipement (HCl attaque les pièces en métal et les soudures) et pour la sécurité du manipulateur (bien que le réacteur soit protégé dans une hotte dédiée).

Remarque préalable : l'effort a été porté sur la recherche des conditions optimales particulières à un petit réacteur homothétique de laboratoire comme celui du LAGEP. L'utilisation des contre-pales [Fig. 73], quoique essentielle pour l'extrapolation des procédés à des volumes plus importants, est ici rendue inutile, voire néfaste. Inutile, car les sondes plongées dans la suspension (FBRM, Vidéo, température) en plus de l'agitateur servent déjà de contre-pales pour un si petit volume réactionnel et empêchent la formation d'un vortex important. Néfaste, car dans ce volume restreint, elles piègent une quantité non négligeable de solide dès le début de la nucléation entre la paroi interne du réacteur en verre et les cercles des contre-pales (zones mortes d'agitation). Pour des réacteurs de laboratoire plus gros, les contre-pales restent obligatoires pour faire des études de procédé.

Enfin, nous avons beaucoup travaillé en amont autour de la vitesse d'agitation du procédé de référence afin de correctement mettre en suspension le solide pendant la cristallisation et éviter les zones mortes d'agitation, sans pour autant trop agiter et créer des problèmes de vibrations excessives de l'appareillage. 650 rpm s'est avéré être une vitesse d'agitation idéale avec

ce réacteur, le calcul de la puissance dissipée par unité de masse donnant une valeur idéale ( $0,321 \text{ W.kg}^{-1}$ ) pour mener une cristallisation, entre  $0,3$  et  $0,5 \text{ W.kg}^{-1}$  [Tableau 9]. Par ailleurs, l'agitation de la suspension crée des projections sur les parois du réacteur. La géométrie de notre réacteur fait que cette zone est aussi thermostatée à haute température et provoque l'évaporation du solvant au contact de la paroi, laissant du solide au dessus du niveau du mélange réactionnel. Quelques fois, cette collerette se décolle et peut favoriser la nucléation secondaire du soluté avant que la cristallisation soit lancée.

La vitesse de refroidissement de référence a été ajustée à  $5^\circ\text{C.h}^{-1}$  car refroidir à  $10^\circ\text{C.h}^{-1}$  a entraîné à plusieurs reprises la prise en masse de la suspension. Le volume réactionnel a aussi été ajusté à  $120\text{mL}$  au lieu des  $100\text{mL}$  nominaux pour s'assurer que les sondes soient parfaitement plongées au cœur de la suspension. Une photo du montage du LAGEP est donnée en figure 179. Deux ordinateurs enregistrent les données de la sonde FBRM, les images de la sonde vidéo *in situ* et les données du bain ( $T_{\text{consigne}}$ ,  $T_{\text{réacteur}}$ ,  $T_{\text{bain}}$ ).

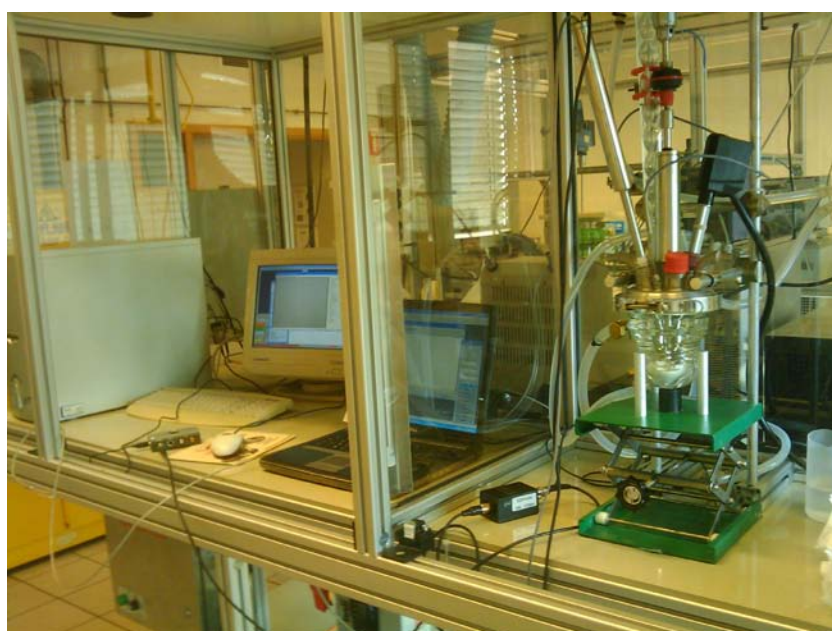


Figure 179 : Montage du LAGEP avec les sondes Pt100, vidéo *in situ* et FBRM

### V.5.1. Cristallisation par relargage

Le relargage consiste en l'addition d'un anti-solvant dans la solution. L'anti-solvant doit réduire très sensiblement la solubilité du soluté dans le mélange de solvant nouvellement constitué, au point que la concentration soit au niveau de la zone labile sur le diagramme de phases correspondant au nouveau milieu (solvant + anti solvant), provoquant la nucléation spontanée pendant ou à la fin de la coulée de l'anti-solvant. Il faut cependant s'assurer que l'anti solvant est parfaitement miscible avec le solvant, ou encore ne provoque pas de séparation liquide/liquide avec le soluté. Enfin, le relargage est limité par le volume utile du réacteur, il faut bien prévoir ce paramètre avant le chargement du soluté, du solvant, et de l'anti-solvant.

Étant donné que nous travaillons déjà avec un mélange de solvants, nous nous sommes limités au couple éthanol/eau, considérant que l'ajout d'un solvant supplémentaire rendrait le problème trop complexe. Dans les conditions de départ du procédé, en regardant la figure 139, nous pouvons dire que l'anti solvant est l'éthanol car la solubilité décroît en fonction de la proportion d'éthanol à température constante, entre 0 et 50 % volumique d'eau dans le solvant.

Si nous reprenons les conditions classiques du procédé, une fois la réaction acido-basique complétée avec 0,95 équivalents d'acide chlorhydrique, la concentration de sel est de  $70,63 \text{ g.L}^{-1}$  dans précisément 129,4 mL de solvant de composition 90,35/9,65 EtOH/Eau (v/v). En reprenant la figure 180 qui est un grossissement des isothermes de solubilité du sel dans les mélanges éthanol/eau (adaptation de la figure 139), par détermination graphique, nous lisons la solubilité du sel à  $56 \text{ g.L}^{-1}$  pour  $65^\circ\text{C}$ . Autrement dit, nous sommes dans des conditions de sursaturation  $\beta = 1,26$  avec  $\Delta C = 14,6 \text{ g.L}^{-1}$ . Ces conditions sont représentées en noir sur la figure 180 par le "point de fonctionnement". Notons enfin que lorsque nous avons cherché à faire de la nucléation primaire dans ces conditions en refroidissant à  $10 \text{ }^\circ\text{C.h}^{-1}$ , la nucléation a eu lieu à  $60,2^\circ\text{C}$ . Graphiquement, nous déterminons la solubilité à cette température pour  $45 \text{ g.L}^{-1}$ . Autrement dit, la nucléation a eu lieu à une sursaturation  $\beta = 1,57$  avec  $\Delta C = 25,6 \text{ g.L}^{-1}$ . La valeur de sursaturation relative de 1,57 nous donne un ordre de grandeur de la sursaturation à atteindre pour provoquer la nucléation primaire du système.

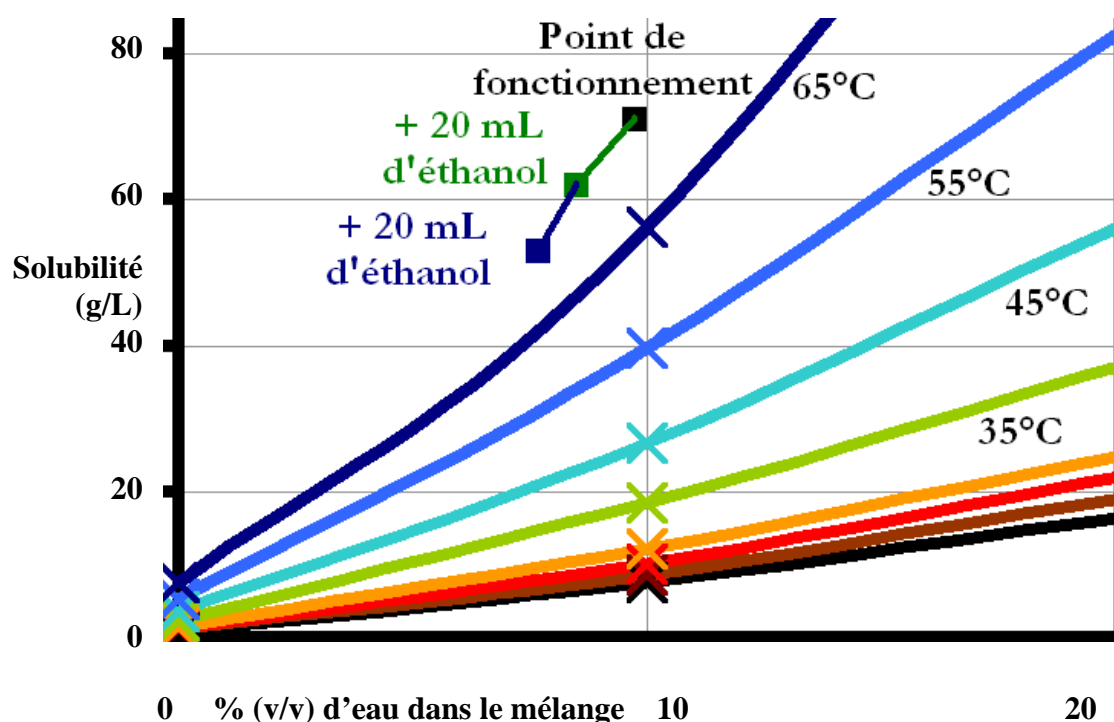


Figure 180 : Isothermes de solubilité du sel en fonction du ratio éthanol/eau

L'addition de 20 mL d'anti solvant éthanol modifie la concentration à  $61,17 \text{ g.L}^{-1}$  dans 149,4mL de solvant 91,64/8,36. Pour cette concentration (point vert sur la figure 180), la solubilité est atteinte pour  $47 \text{ g.L}^{-1}$ , la sursaturation est alors de  $\beta = 1,30$  avec  $\Delta C = 14,1 \text{ g.L}^{-1}$ . Nous avons recherché à déplacer notre point de fonctionnement vers la gauche du graphique afin d'augmenter la sursaturation relative  $\beta$ . Malheureusement, l'addition du solvant engendre une dilution du soluté et un déplacement vers le bas du graphique. Nous avons certes augmenté la sursaturation de 1,26 à 1,30, mais c'est trop peu pour provoquer une nucléation primaire. D'ailleurs, la sursaturation absolue  $\Delta C$ , représentant la différence des potentiels chimiques  $\Delta\mu$ , vraie force motrice de la nucléation, a été réduite. Autrement dit, le but recherché n'a pas été atteint dans un premier temps.

Une nouvelle addition de 20 mL d'anti solvant éthanol permet d'ajuster  $C = 53,95 \text{ g.L}^{-1}$  dans 169,4mL de solvant 92,62/7,37. Pour cette concentration (point bleu sur la figure 180), la solubilité est atteinte pour  $41 \text{ g.L}^{-1}$ , la sursaturation est alors de  $\beta = 1,31$  avec  $\Delta C = 12,9 \text{ g.L}^{-1}$ . En fin de compte, l'addition d'un peu d'éthanol supplémentaire n'arrange rien et réduit encore plus la différence  $\Delta C$ .

Nous avons cherché à reproduire ces conditions à 65°C au laboratoire, sans succès. À partir du travail sur le diagramme de phases, nous savions que les conditions ne seraient pas réunies pour atteindre une sursaturation suffisamment forte par la seule action du relargage à 65°C, et nous l'avons vérifié dans un réacteur agité. Nous aurions pu envisager de faire l'addition à une température un peu plus basse, mais par soucis de comparaison avec le procédé de base, la température a été maintenue à 65°C. La sursaturation cible de 1,57 n'a pu être approchée qu'à 1,31.

Cette approche nous permet de comprendre les paramètres d'un procédé de relargage. La solubilité du soluté dans le mélange solvant + anti solvant dépend fortement des mesures faites dans les mélanges de solvant et pas seulement de l'insolubilité du soluté dans l'anti solvant. De plus, le couple  $\beta / \Delta C$  n'évolue pas de pair et le système TD901 / Ethanol / Eau n'est pas idéal pour faire un relargage car la solubilité à 65°C n'est pas assez fortement modifiée par un changement du ratio de solvant. L'éthanol n'est ici pas un bon anti solvant.

### V.5.2. Cristallisation par nucléation primaire

Une fois la réaction acido-basique finie, on effectuera un palier à 65°C, pour vérifier que le soluté ne nucléé pas spontanément à cette température, sous une agitation de 650rpm puis une rampe de température de 5°C.h<sup>-1</sup> est imposée. Nous observons visuellement la nucléation lente du produit dans le réacteur à 60,2°C. Le suivi FBRM et les images *in situ* corroborent cette observation. La figure 181 montre l'évolution au cours du procédé des différentes classes de cordes.

Les classes de corde sont la somme des nombres de comptes pour chaque canal d'enregistrement de l'appareil FBRM (un canal correspond à une taille de corde particulière). Ainsi, les résultats sont donnés en nombre de comptes par seconde pour les très petites tailles de cordes (1 à 5 µm - courbe rose), les petites tailles de cordes (5 à 15 µm - courbe rouge), les moyennes tailles de cordes (15 à 50 µm - courbe bleue), les grandes tailles de cordes (50 à 100 µm - courbe violette) et les très grandes tailles de cordes (100 à 500 µm - courbe marron).

Dire qu'il s'agit de taille de particules serait abusif car la FBRM n'est pas réellement un granulomètre, et ce d'autant plus pour des aiguilles qui ont, en plus, l'aptitude à s'agglomérer sous forme d'oursins (la notion de corde d'aiguille a un sens physique très limité). Ces résultats sont donnés en parallèle du suivi de la température dans le cœur de la solution et de la suspension. Les résultats obtenus par la FBRM traduisent l'évolution des cristaux mais restent largement qualitatifs.

En ce qui concerne les résultats FBRM de notre expérience, nous remarquons qu'au moment de la nucléation, le nombre de comptes des moyennes cordes s'est élevé rapidement, au-delà même du nombre concernant les petites et très petites cordes. La figure 182 donne un grossissement de la figure 181 au niveau de la nucléation. Pendant la première demi-heure après la nucléation (de 60 à 57,5°C), le nombre de comptes des grosses et très grosses cordes de particules a aussi augmenté singulièrement avant de se stabiliser et puis de chuter au cours du temps. Cela est sans doute dû à l'agglomération de petites aiguilles sur les plus grandes qui ont nucléé plus tôt.

L'augmentation progressive des nombres de comptes au cours du temps pendant le procédé indique que le produit nucléé tout au long du procédé. L'agglomération des aiguilles est importante.

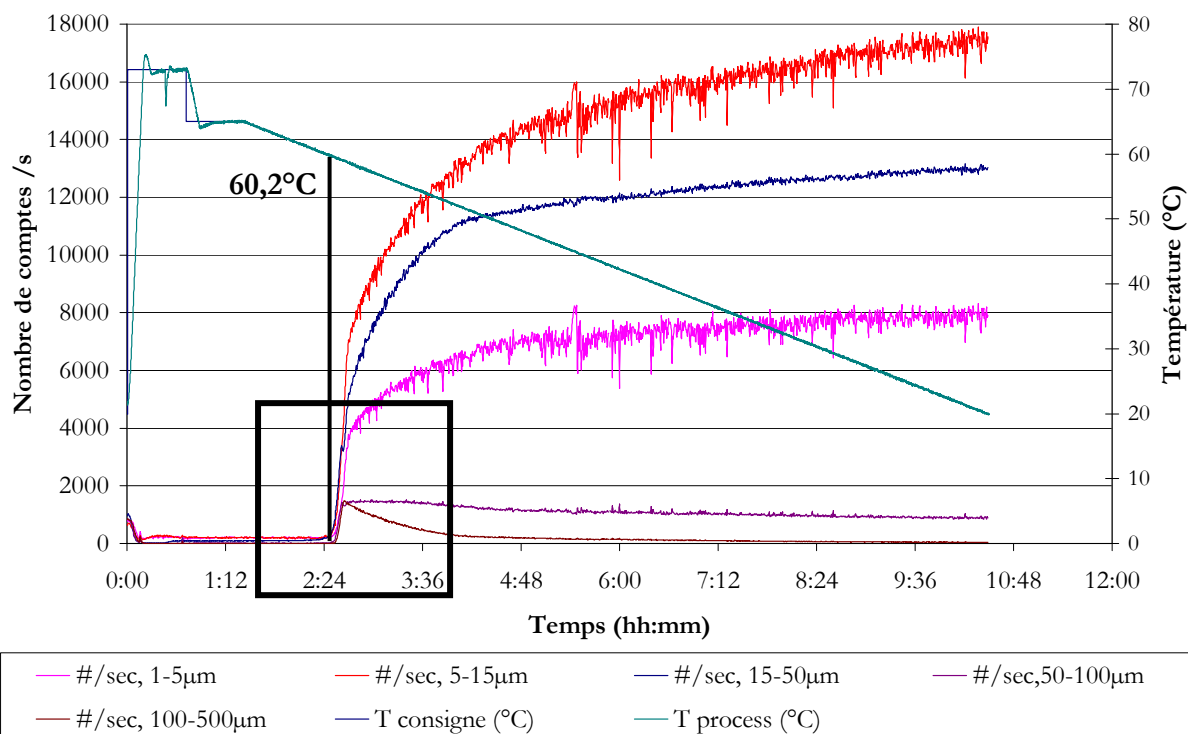


Figure 181 : Suivi FBRM pour un procédé à nucléation primaire

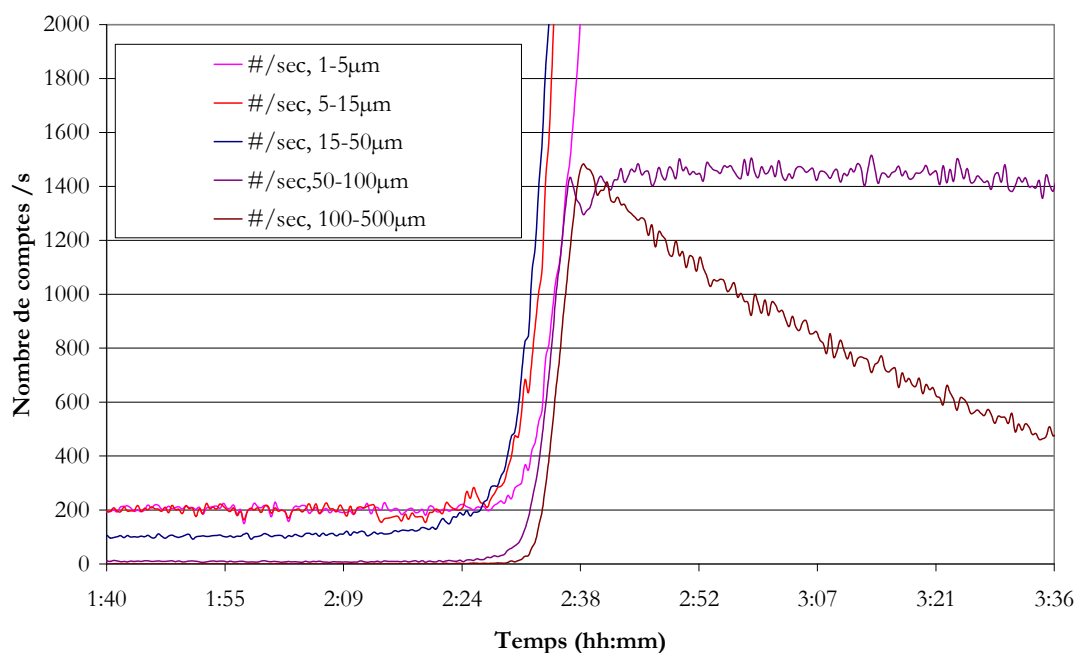


Figure 182 : Grossissement des résultats FBRM concernant la nucléation primaire

L'enregistrement FBRM est aussi exploitable par répartition du nombre de comptes par canal de mesure en fonction de la longueur de cordes. La figure 183, représente le rapport du nombre de comptes par canal de mesure sur le nombre total de comptes en fonction des longueurs de cordes. Ce résultat pourrait s'apparenter à une distribution de taille de particules (DTP) à l'exception que, encore une fois, il ne s'agit pas de granulométrie car dans le cas des aiguilles agglomérées, ce qui est détecté par la sonde FBRM est en général la section des aiguilles, le cœur ou les aiguilles des oursins agglomérés [MONNIER 96].

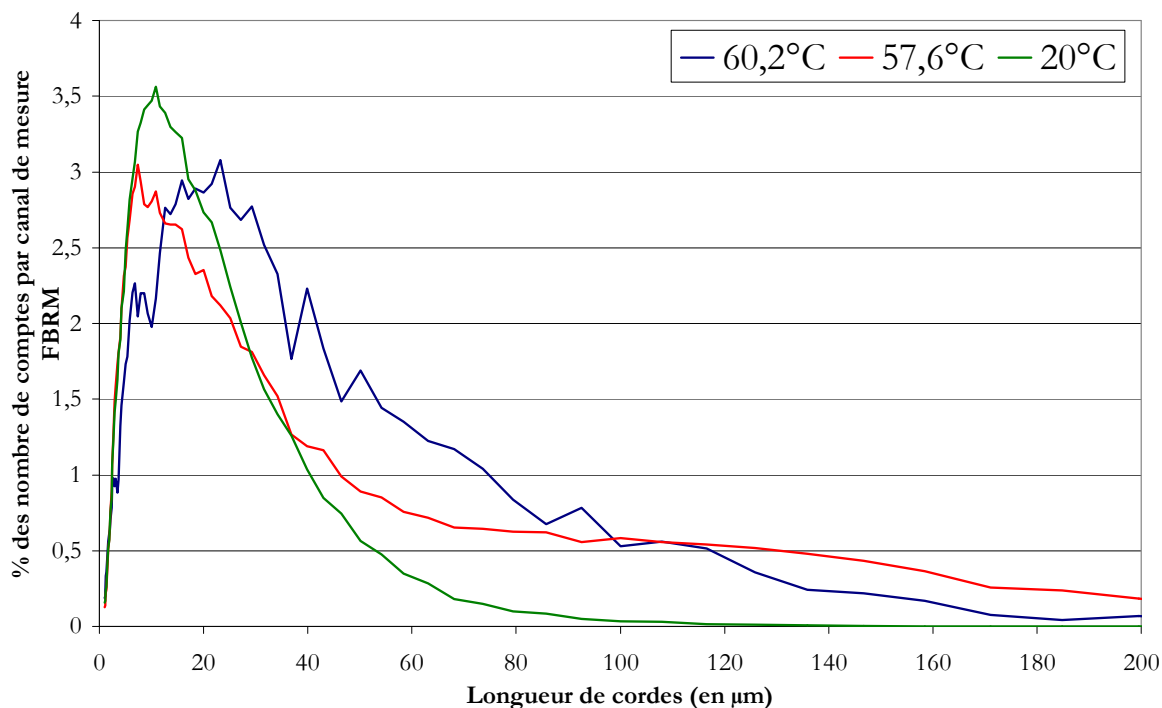
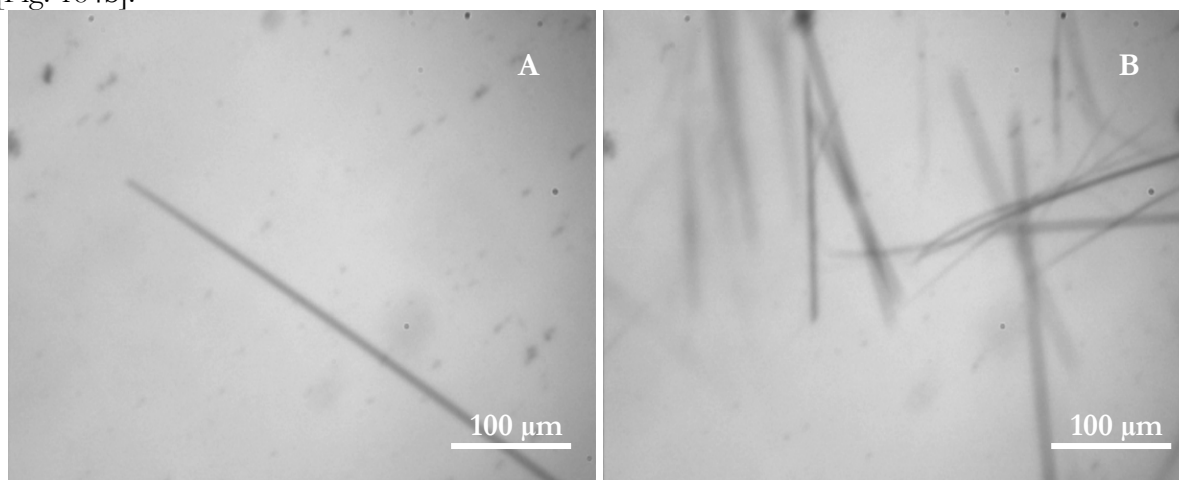


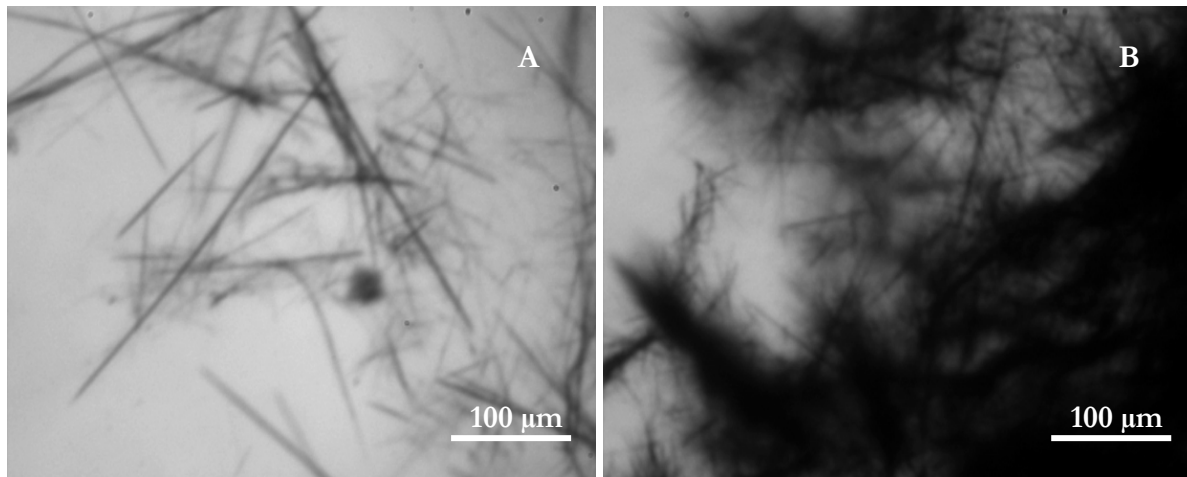
Figure 183 : Évolution des longueurs de cordes mesurées au cours du procédé

Cette figure 183 montre qu'au moment de la nucléation, à 60,2°C, la population est assez hétérogène, assez riche en particules de moyenne taille. D'ailleurs, la valeur médiane des longueurs de cordes mesurées est de 16,29 µm au moment de la nucléation. Une demi-heure plus tard, à 57,6°C, cette distribution de longueur de cordes de particules (DLCP) a sa valeur médiane sur 11,55 µm, elle est encore riche en particules de moyennes et grandes tailles (15 à 100 µm). A la fin de la cristallisation, à 20°C, la DLCP s'est affinée autour des fines particules, la médiane est de 10,56 µm.

Le suivi de la cristallisation par une observation des images *in situ* corrobore parfaitement ces observations. Au moment de la nucléation, les rares aiguilles [Fig. 184A] que nous voyons sont toutes particulièrement longues. Les conditions de sursaturation sont  $\beta = 1,57$ . On peut penser que le solide, dans un milieu à sursaturation forte et encore pauvre en cristaux et voit sa croissance favorisée par rapport à la nucléation l'espace des premières minutes. Cependant, assez vite, la nucléation devient importante, 7 minutes après, à 59,6°C, de plus petites aiguilles nucléent [Fig. 184b].



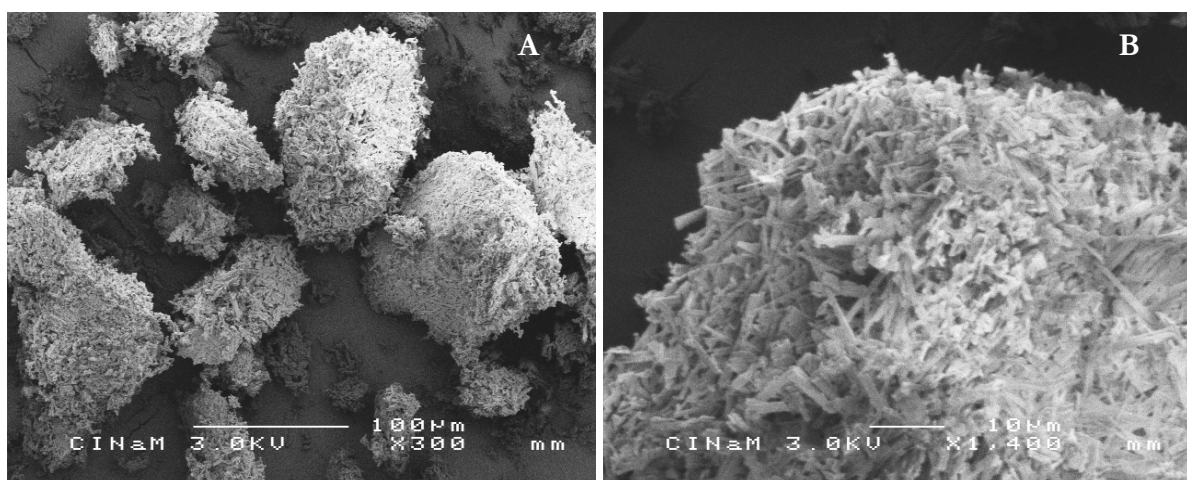
Figures 184 : Observation de la suspension à 60,2°C (A) et 59,6°C (B)



Figures 185 : Observation de la suspension à 59,4°C (A) et 57,6°C (B)

Encore deux minutes plus tard, à 54,9°C, on observe une plus grande hétérogénéité de la longueur des aiguilles [Fig. 185a] avec des aiguilles de plusieurs centaines de microns de long et de nombreuses aiguilles de seulement plusieurs dizaines de microns de long. Certaines aiguilles, peut-être celles qui ont nucléé et crû au tout début de la nucléation, sont tellement longues par rapport aux autres qu'après une demi-heure, elles se sont bloquées dans l'entrefer (~1mm) des deux plots de la sonde vidéo. Les plus petites aiguilles [Fig. 185B] se sont agglomérées autour de ces grandes aiguilles, ne permettant plus, en dépit de l'agitation, le défilement de la suspension pendant le reste du procédé. Notons, en plus, que la longueur des aiguilles observées est bien plus grande que la DLCP mesurée du fait que la probabilité qu'une aiguille passe devant la zone de mesure de la sonde FBRM dans son orientation longitudinale est minuscule. Les résultats FBRM sont intéressants pour une exploitation relative et des comparaisons cas par cas, mais pas pour des mesures absolues avec des particules non sphériques.

Nous avons aussi remarqué qu'en dessous de 50°C, se forme une zone morte d'agitation sur la partie supérieure de la suspension, sans doute dûe au faciès et à la taille des cristaux formés. L'hétérogénéité de la longueur des cristaux, une quantité non négligeable de longues aiguilles, et de nombreuses très petites, peut expliquer, avec l'aide de l'observation [Fig. 185b], une agglomération importante du TD901, en dépit de la puissance d'agitation très correcte (0,32 W.kg<sup>-1</sup>). Après filtration (mauvaise filtrabilité) et séchage, l'observation des cristaux avec le MEB montre des agglomérats de petites aiguilles [Fig. 186].



Figures 186 : Photos MEB du solide après un procédé à nucléation 1<sup>aire</sup> \*300 (A) et \*1400 (B)

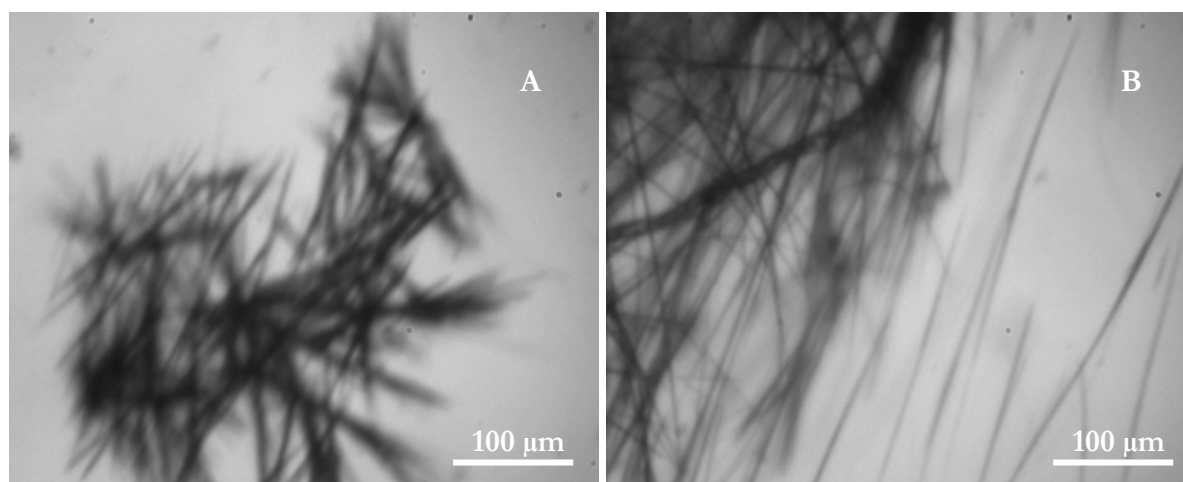
Ce faciès n'est pas du tout intéressant pour un procédé à développer. Nous avons de suite vu que la filtration était assez longue et qu'après une heure d'expurgation (temps supplémentaire du solide humide sur le fritté une fois que la filtration du solvant semble avoir été finie), le solide restait riche en solvant (comparaison des masses par rapport aux autres manipulations). Après lavage et séchage, nous avons récupéré 4,61 g de solide pour 9,15 g théoriques au cas où les 0,95 équivalents d'acide avaient réagi et que nous ayons pu récupérer tout le soluté sous forme solide. Cela donne un rendement de 50,3%. Une partie du soluté repart de toute façon dans les jus mères à cause de la solubilité de 10,1 g.L<sup>-1</sup> dans le solvant 90/10 EtOH/Eau à 20°C, en supposant que l'équilibre thermodynamique soit atteint à 20°C pour être sûr de récupérer le plus de solide possible.

Cependant, l'objectif de cette manipulation ne résidait dans le rendement chimique, mais de comprendre l'impact des conditions de cristallisation sur les propriétés d'usage du solide. L'intérêt étant de comparer les conditions, nous avons filtré les suspensions, pour toutes les études, dès l'arrivée à la température de 20°C.

### V.5.3. Cristallisation par précipitation du sel

Nous savons désormais que dans les conditions type du procédé, le soluté nucléé spontanément à 60,2°C. A partir de cela, nous avons ensuite réalisé un procédé de précipitation du sel. Le principe consiste à nucléer le soluté dès sa synthèse chimique. Il faut pour cela se placer dans des conditions pour que la nucléation ait lieu spontanément. Il est montré dans la figure 178 qu'à 60°C (du point E au point F), au cours de la réaction acido-basique de cinétique rapide, la concentration en sel augmente alors que celle de la base diminue, une fois que la concentration atteint la limite de zone métastable, la nucléation du soluté a lieu (la concentration finale du sel se trouve dans la zone labile du diagramme de phases).

Le procédé consiste à couler l'acide chlorhydrique pendant 10 minutes à 60°C. La nucléation n'est pas immédiate (le temps de la réaction de formation du sel), mais de 2 minutes après la coulée, les premiers cristaux sont observables dans le réacteur à l'œil nu, ce qui est confirmé par l'observation *in situ* [Fig. 187A]. Des aiguilles de plusieurs centaines de microns de long ont rapidement nucléé et crû. L'agglomération de ces aiguilles en oursins naissants est immédiate [Fig. 187A] 10 minutes après la fin de la coulée, les longues aiguilles accrochent les plus petites et l'agglomération est importante. Trente minutes après la nucléation, une rampe de 5°C.h<sup>-1</sup> est imposée.



Figures 187 : Observation de la suspension à 60°C, 2 min (A) et 10 min (B) après la coulée

Les résultats obtenus par l'acquisition FBRM, donnés dans la figure 188 sont très proches des résultats obtenus pour la nucléation primaire. C'est d'ailleurs logique puisqu'il s'agit du même

mécanisme de nucléation. La comparaison des évolutions des nombres de comptes par canal au moment de la nucléation est identique avec les résultats de la figure 182. En fin de manipulation, les nombres de comptes sont très proches.

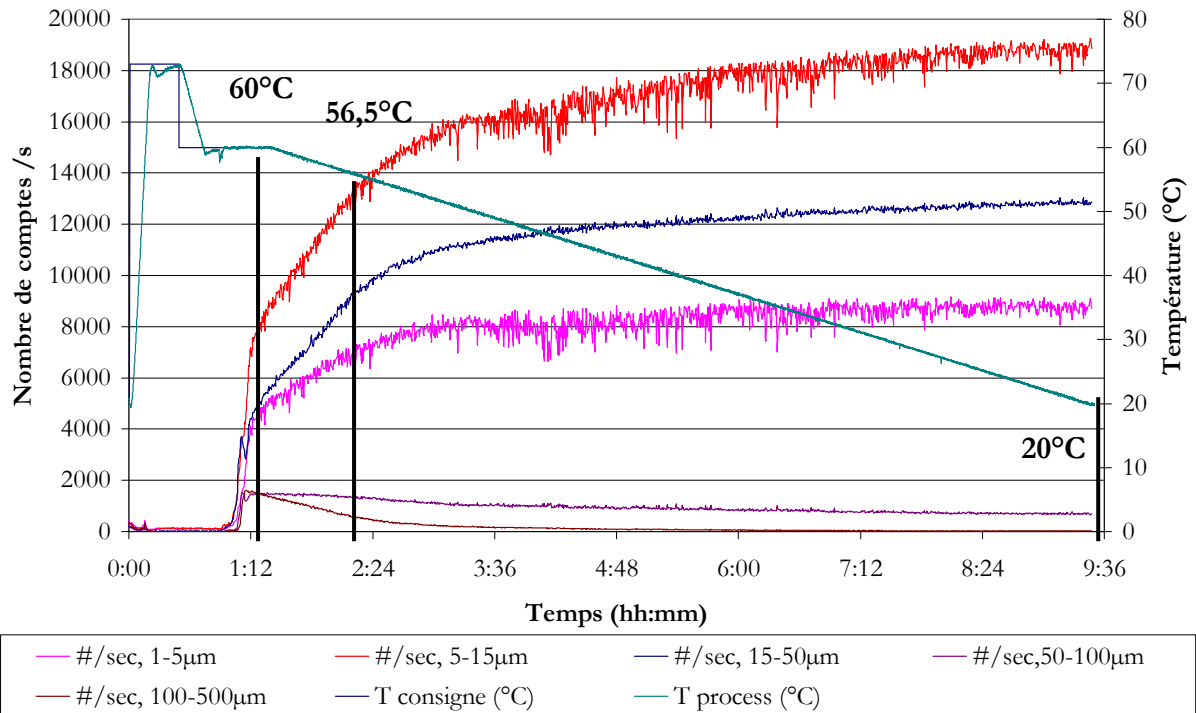


Figure 188 : Suivi FBRM pour un procédé à précipitation du sel

L'évolution des distributions de longueurs de cordes mesurées pendant le procédé est donnée dans la figure 189. 15 minutes après la fin de la coulée, la médiane des longueurs de cordes est de 12,19µm et évolue à 10,06 µm à 56,5°C puis 10,03 µm en fin de cristallisation à 20°C. Les deux premières courbes de la figure 189 sont très bombées autour de 50-200µm.

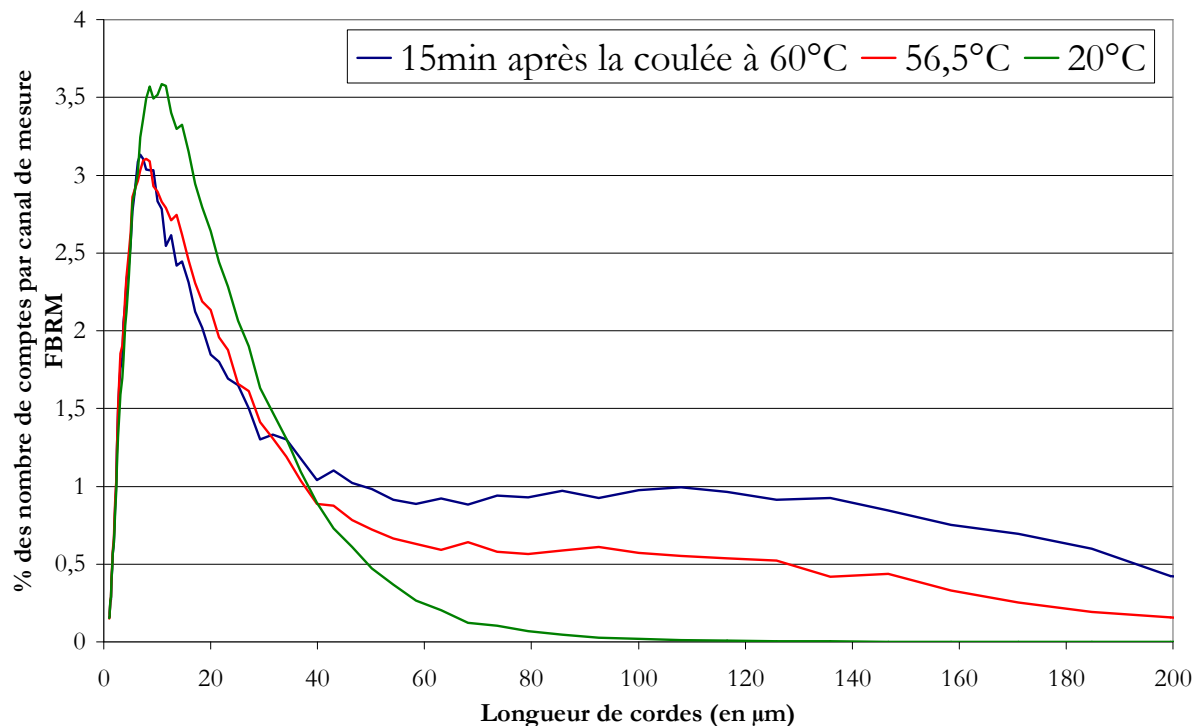


Figure 189 : Évolution des longueurs de cordes mesurées au cours du procédé

Si nous exploitons ces valeurs de DLCP avec une échelle logarithmique [Fig. 190], nous avons des résultats plus marquants avec deux maxima autour de 10  $\mu\text{m}$  et de 100  $\mu\text{m}$  pour les premières mesures. Au cours du procédé, ce deuxième maximum s'efface et les nombres de comptes par canal se décalent vers la population d'une longueur médiane de 10,03  $\mu\text{m}$  en fin de procédé.

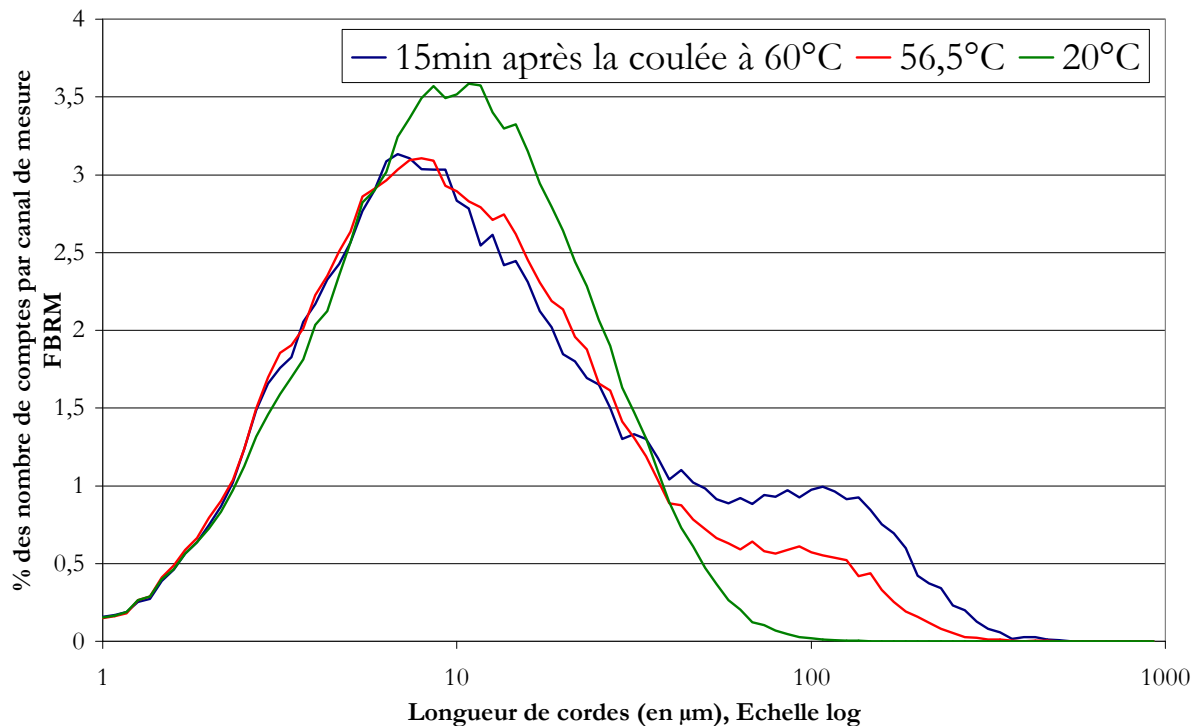


Figure 190 : Évolution des longueurs de cordes mesurées au cours du procédé, échelle log

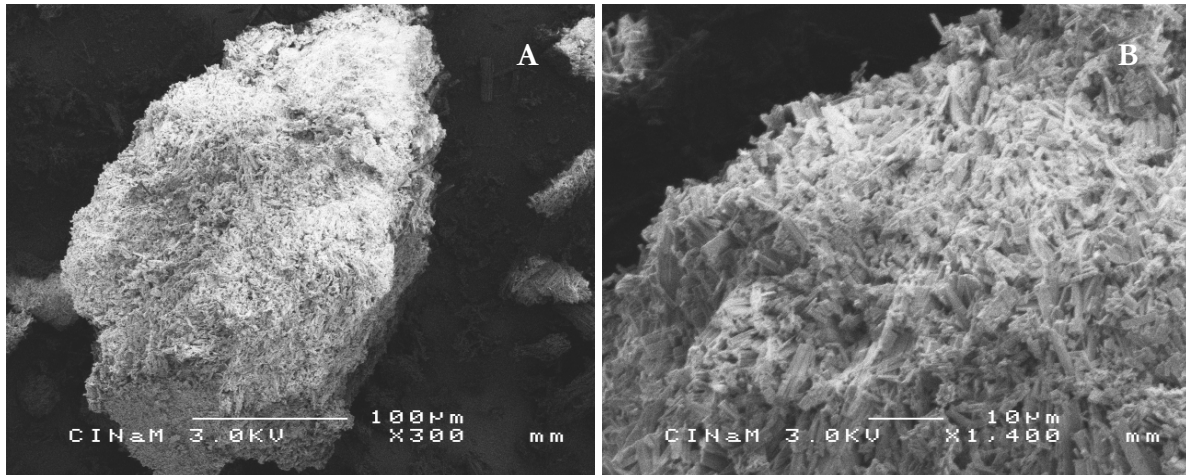
L'ouverture du réacteur n'a laissé aucun doute sur l'impact du procédé sur la qualité cristalline du produit. Le tiers supérieur de la suspension a pris en masse autour des sondes. Ce que nous avons senti lors de l'essai de nucléation primaire s'est accentué avec la précipitation avec une hétérogénéité de la suspension due à l'agglomération importante de fines particules sur les grandes. Même une agitation un peu plus forte ( $\sim 850$  rpm) n'aurait pas pu éviter cela. Aussi, on peut imaginer que l'évolution de la DLCP de la figure 190 est caractéristique de ce qui s'est passé, les grandes particules et une partie des petites se sont déplacées vers le tiers supérieur de la suspension et n'ont plus bougé. Dès lors, elles ont disparu de l'espace de mesure devant la sonde FBRM. La sonde n'a pas mesuré quelque chose de représentatif de l'ensemble du réacteur.



Figure 191 : Photo du contenu du réacteur ouvert à la fin de la manipulation

La filtration de la suspension récupérée est très difficile, et en dépit de l'expurgation d'une heure après le lavage, le solide reste gorgé de solvant. Le rendement mesuré après séchage est de 48,7%, à peine inférieur au procédé de cristallisation par nucléation primaire pendant le refroidissement.

En résumé, ce procédé de nucléation incontrôlée accompagnée d'une agglomération importante des aiguilles aboutit à des cristaux avec un faciès donnant de mauvaises propriétés d'usage ainsi qu'à une prise en masse dans le cristalliseur de 120mL. L'agglomération des aiguilles est très importante. [Fig. 192]. On peut donc qualifier ce procédé de mauvais.



Figures 192 : Photos MEB du solide après un procédé par précipitation \*300 (A) et \* 1400 (B)

#### V.5.4. Cristallisation par ensemencement

Après la nucléation primaire, nous décrivons ici, dans le détail, une manipulation de référence avec ensemencement. Les paramètres de référence sont les suivants :

- Ensemencement à 65°C
- Ensemencement avec 1% du solide attendu
- Agitation à 650 rpm
- Palier isotherme de 30 minutes après l'ensemencement
- Refroidissement à 5°C.h<sup>-1</sup>

Le suivi des nombres de comptes au cours du procédé est donné dans la figure 193. Dès le moment de l'ensemencement, les nombres de comptes sont élevés. Au bout de 20 minutes, les valeurs sont déjà très proches des valeurs finales avec 6000 comptes.sec<sup>-1</sup> pour les très petites longueurs de cordes (1 à 5 µm, courbe rose), 15000 comptes.sec<sup>-1</sup> pour les petites longueurs de cordes (5 à 15 µm, courbe rouge) et 10000 comptes.sec<sup>-1</sup> pour les moyennes longueurs de cordes (15 à 50 µm, courbe bleu marine).

L'évolution des grandes longueurs de cordes (courbe violette de la figure 194) monte à 1300 comptes/sec au moment de l'ensemencement et diminue rapidement à cause de la désagglomération de la semence. Au bout de vingt minutes, cette évolution repart à la hausse, de manière très lente. On note que les cristaux de grandes tailles sont plus riches en matière que les petites aiguilles, aussi un compte d'une petite aiguille n'équivaut pas à un compte d'une longue aiguille en masse de soluté. Il est logique que de manière absolue, le nombre de comptes des grandes particules (et des gros agglomérats) soit plus petit que le nombre de comptes des petites aiguilles.

Au cours du refroidissement, l'évolution des longueurs de cordes de taille moyenne est progressivement croissante jusqu'à une valeur constante (de 10000 à 12000 comptes.sec<sup>-1</sup>). Le nombre de comptes des longueurs de cordes des petites particules ne décroît que de 15000 à 14000 comptes.sec<sup>-1</sup> sur la même période.

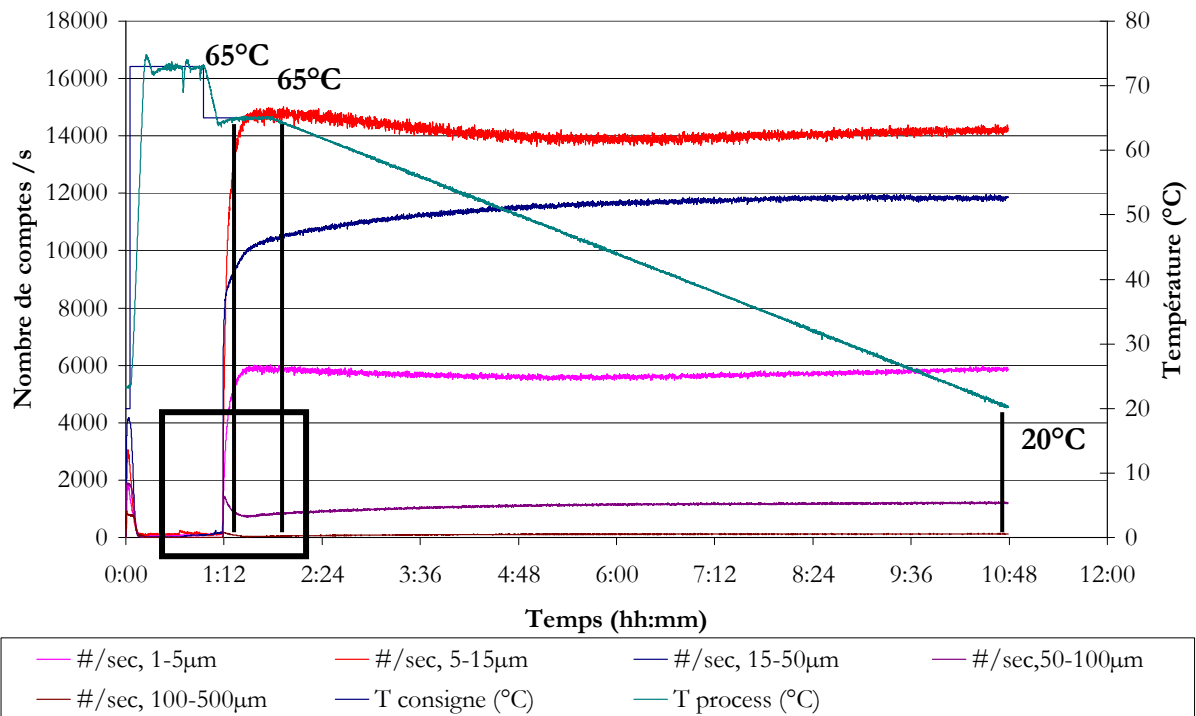


Figure 193 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement

Le nombre de comptes des petites particules ne chutant pas en dessous des 50°C, nous pouvons dire qu'il n'y a pas ou peu de croissance des cristaux entre 50 à 20°C. La nucléation prend le pas sur la croissance des aiguilles.

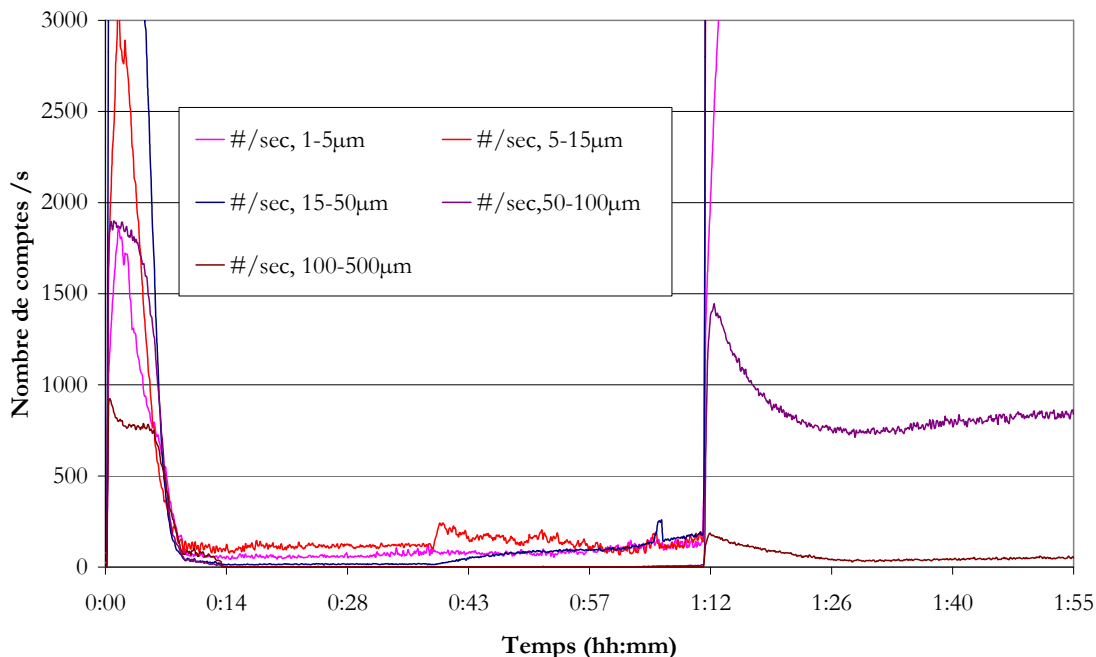


Figure 194 : Grossissement des résultats FBRM concernant le procédé avec ensemencement

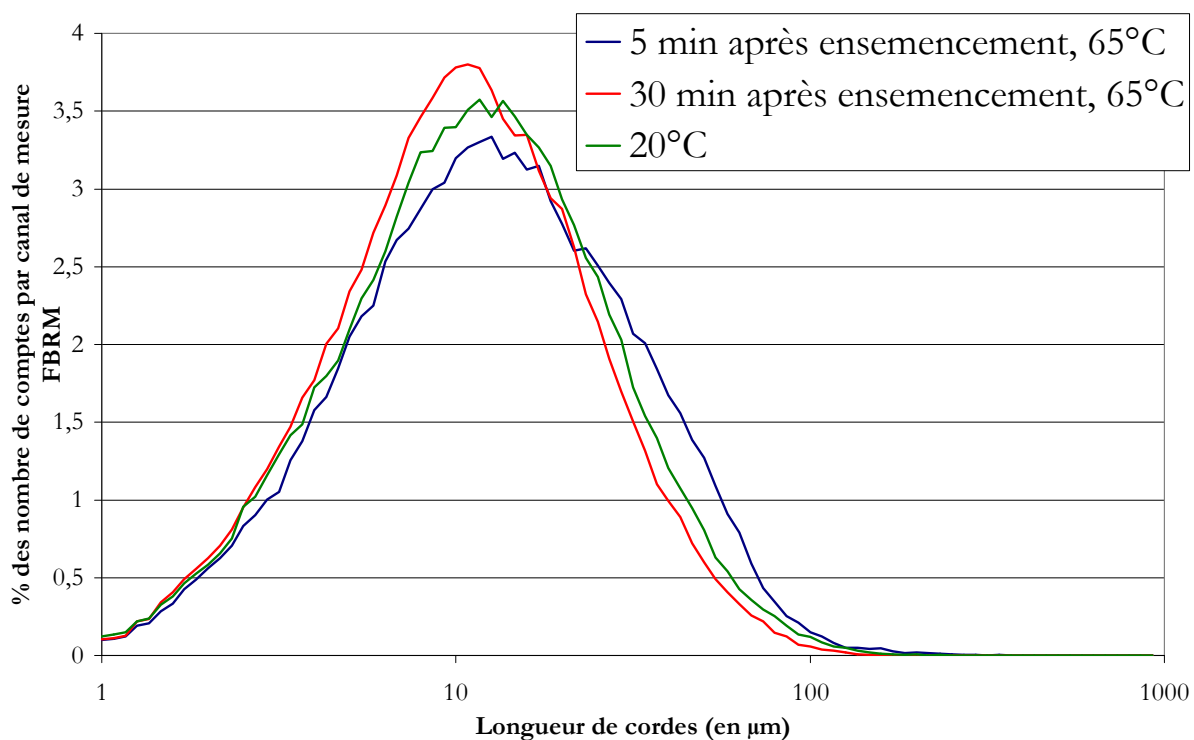
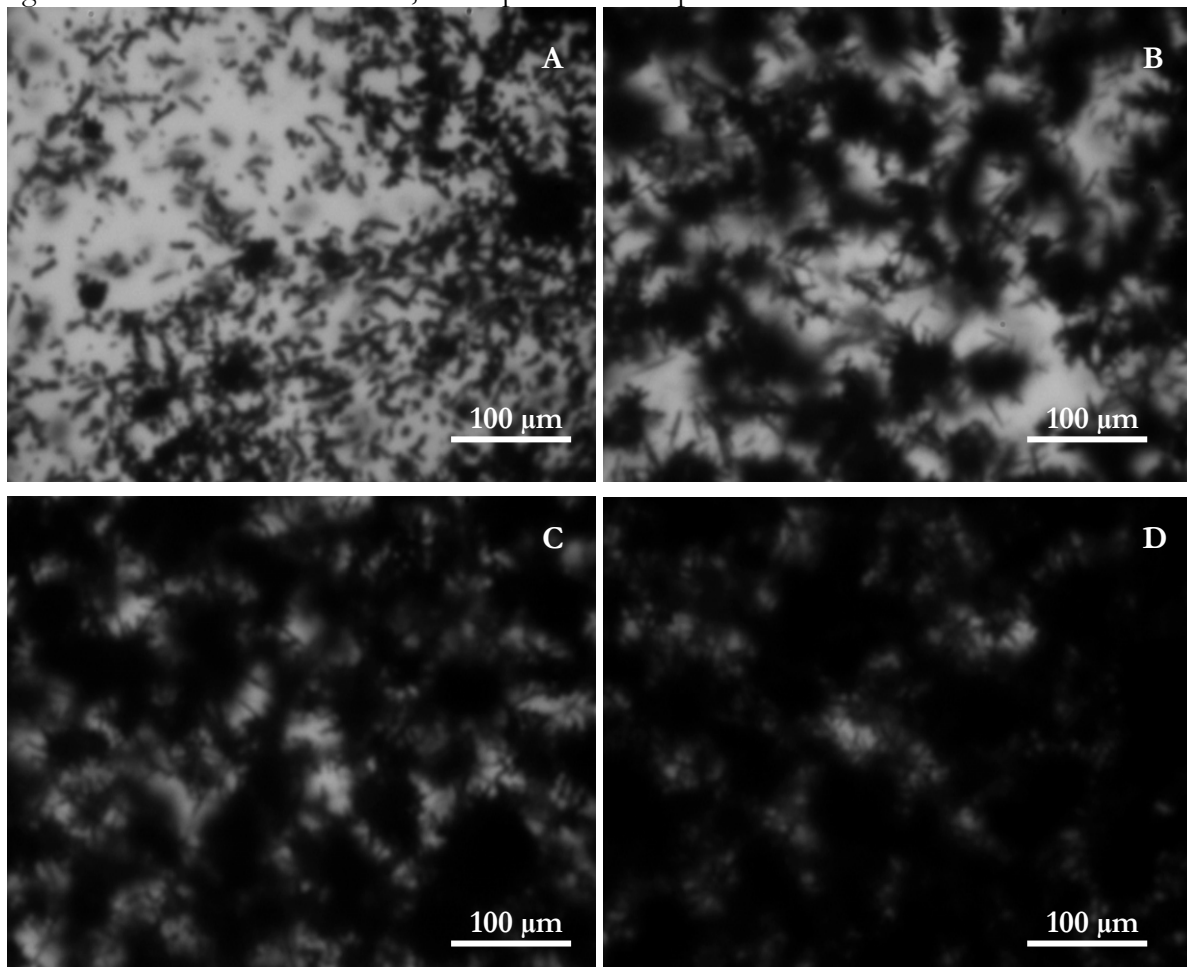


Figure 195 : Évolution des longueurs de cordes mesurées au cours du procédé, échelle log

L'évolution de la DLCP au cours du procédé est différente des procédés avec nucléation primaire car dès le début de la nucléation (courbe bleue de la figure 196), la distribution ne présente qu'un seul maximum. La médiane de la distribution est de 10,67  $\mu\text{m}$ , 5 minutes après l'ensemencement. À la fin du palier isotherme à 65°C, elle est de 10,85  $\mu\text{m}$  et se déplace à 11,74  $\mu\text{m}$  à la fin de la cristallisation à 20°C. La croissance des particules n'est pas nulle, mais sans doute extrêmement faible en dessous de 50°C et le refroidissement à 5°C.h<sup>-1</sup> ne provoque pas, dans ces conditions de nouvelles vagues de nucléation, mais sans doute une nucléation secondaire

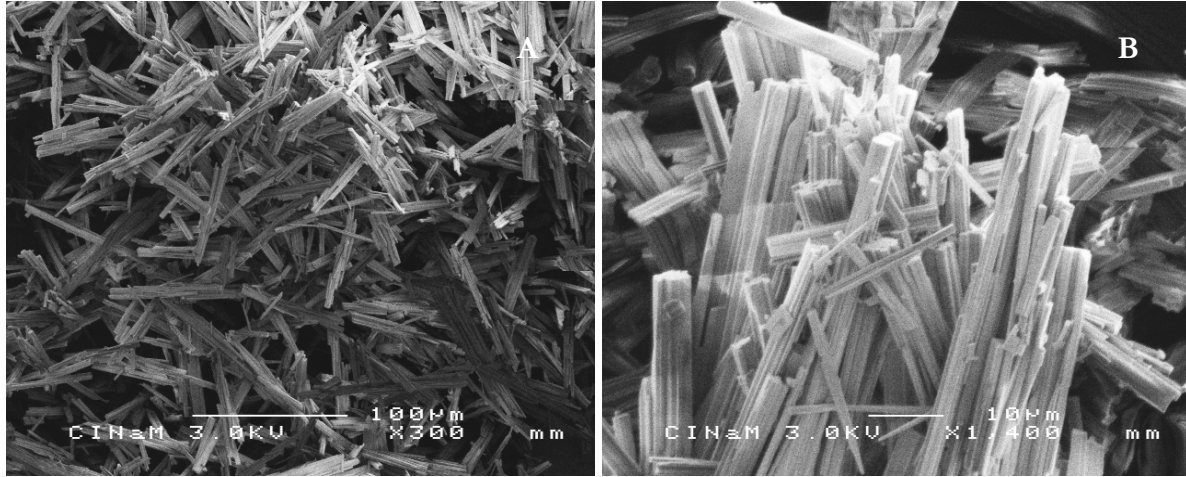
régulière avec croissance des germes formés. La sursaturation à 65°C est de  $\beta=1,25$  au moment de l'ensemencement. La nucléation secondaire provoquée par l'ensemencement doit consommer suffisamment de soluté pendant le palier isotherme de 30 minutes pour éviter cette nouvelle vague de nucléation. Dès la nucléation, nous avons affaire à un mécanisme de nucléation-agglomération où les aiguilles se concentrent sous forme d'oursins. L'évolution des longueurs de cordes des petites particules reste constante. Or en cas de croissance, elle devrait diminuer. Cela signifie donc que le soluté nucléé régulièrement pendant tout le procédé.

Les résultats FBRM n'ont pas montré à un moment du procédé la présence de longues aiguilles de TD901. L'utilisation de la sonde vidéo *in situ* permet de valider les résultats FBRM. La figure 196A montre l'état de la suspension au moment de l'ensemencement. On observe que cette semence, broyée et agglomérée, est plutôt mal définie et surtout sans aiguilles de taille suffisamment grande pour être observées. Dès la première minute après l'ensemencement [Fig. 196B], nous observons la formation d'aiguilles de plusieurs dizaines de microns de long et des premiers agglomérats sous forme d'oursins. Après 2 minutes [Fig. 196C], la densité de solide dans la suspension est déjà plus riche, nous observons de plus en plus d'oursins. Il semblerait que la masse augmente par nucléation-agglomération. Après 5 minutes [Fig. 196D], l'image n'est plus exploitable car la densité dépasse 5 à 8 % de solide dans la suspension, concentration limite pour une bonne observation avec cet outil de visualisation *in situ*. Bien que l'utilisation de cette sonde soit limitée par la concentration en solide dans le réacteur, elle permet toutefois de visualiser les phénomènes au moment de la nucléation et s'avère particulièrement complémentaire à la sonde FBRM. Nous pouvons par exemple, faire des mesures quantitatives de la longueur des aiguilles, ce qui n'est pas réalisable avec la sonde FBRM. En tout cas, ces images, enregistrées pendant l'agitation du contenu du réacteur, correspondent à l'exploitation des résultats FBRM.



Figures 196 : Observation de la suspension pendant l'ensemencement (A), une minute après (B), deux minutes après (C) et cinq minutes après (D)

La suspension est homogène tout au long du procédé, la filtration est moins difficile et après lavage et expurgation, le solide est beaucoup moins riche en solvant que pour les procédés avec nucléation primaire. Après séchage, nous calculons un rendement de solide de 53,3%. Les cristaux sont finalement un peu agglomérés et sont des aiguilles bien définies, de plusieurs dizaines de microns de longueur.



Figures 197 : Photos MEB du solide après un procédé par ensemencement \*300 (a) et \* 1400 (b)

Sans surprise, le procédé par ensemencement donne de bien meilleurs résultats que pour un procédé de cristallisation par nucléation primaire. Même si le système sel/solvant nous impose l'obtention d'aiguilles (aux mauvaises propriétés d'usage), travailler avec un ensemencement est le choix le plus adapté pour mener la cristallisation du TD901.

#### V.5.4. Changement des paramètres pour la cristallisation par ensemencement

À partir du procédé de référence, nous pouvons modifier les différents paramètres pour voir si nous pouvons améliorer les résultats, et au cas où nous les rendrions moins bons, chercher à en comprendre les raisons. Les paramètres modifiés sont les suivants :

- Vitesse d'agitation (450 rpm et 850 rpm)
- Vitesse de refroidissement ( $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$  et  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ )
- Quantité de semence (0,5 % et 2%)
- Température de l'ensemencement ( $70^{\circ}\text{C}$ )
- Durée du palier isotherme après l'ensemencement (une dizaine d'heures)
- Combinaison de l'ensemencement à  $70^{\circ}\text{C}$  avec d'autres modifications de paramètres

##### A – Modification de la vitesse d'agitation

Comme nous l'avons calculé dans la partie IV.4 de la section "Matériels et Méthodes", l'agitation du réacteur à seulement 450 rpm au lieu de 650 rpm, dégage une puissance par unité de masse de seulement  $0,106 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$ . On peut penser que l'agitation n'est pas suffisamment forte pour homogénéiser la suspension. L'essai correspondant a validé cette hypothèse. Le suivi FBRM, fourni en figure 198 montre des fluctuations des mesures. Le bruitage de la température entre  $50$  et  $60^{\circ}\text{C}$  laisse penser qu'il y a un léger blindage autour des sondes. On peut attribuer la croissance du nombre de comptes des petites et très petites longueurs de corde à un problème d'homogénéisation de la suspension [Fig. 198]. Par contre, la vague croissante de ces nombres de comptes à partir de  $50^{\circ}\text{C}$  peut être dûe à une nouvelle nucléation.

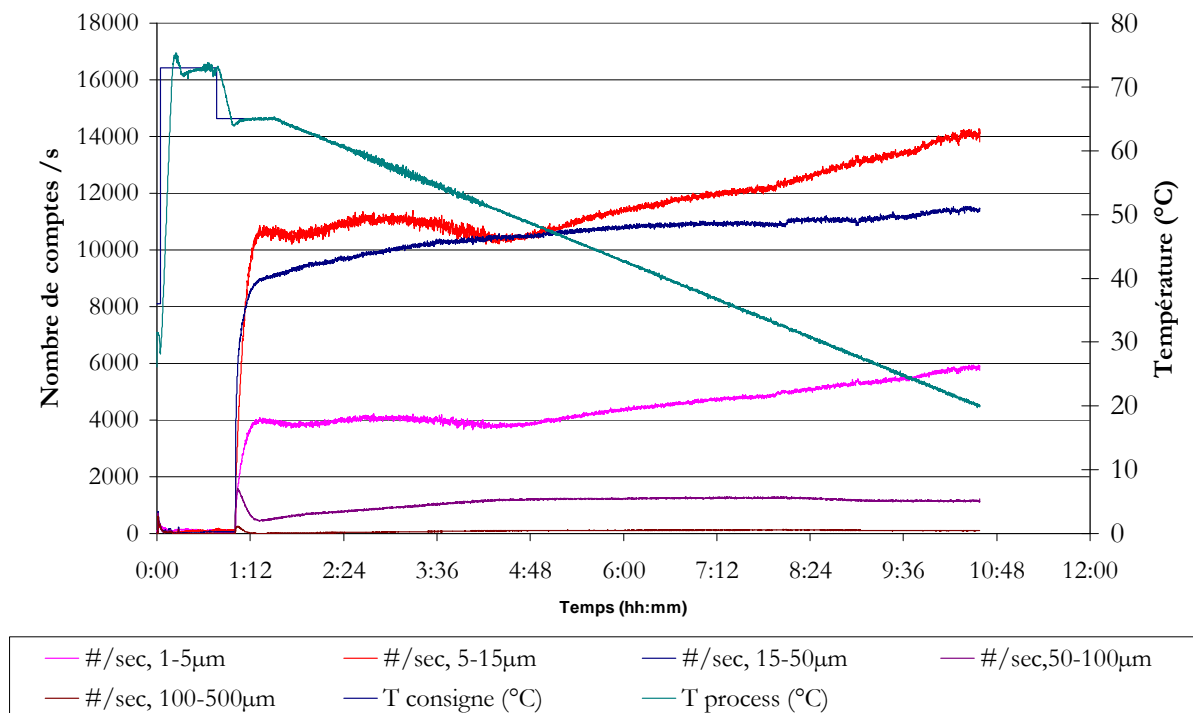


Figure 198 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement, 450 rpm

Etant donné que les valeurs de ces nombres de comptes au moment de l'ensemencement sont inférieures à celles de l'essai de référence (4000, 11000 et 9000 comptes. $\text{sec}^{-1}$  au lieu de 6000 14500 10000 comptes. $\text{sec}^{-1}$  pour les très petites, petites et moyennes longueurs de cordes), il est tout à fait concevable que l'agitation n'ait pas assez amené d'énergie au système pour favoriser la nucléation secondaire régulière des cristaux, cette seconde vague de nucléation secondaire permet de consommer, de nouveau, le soluté.

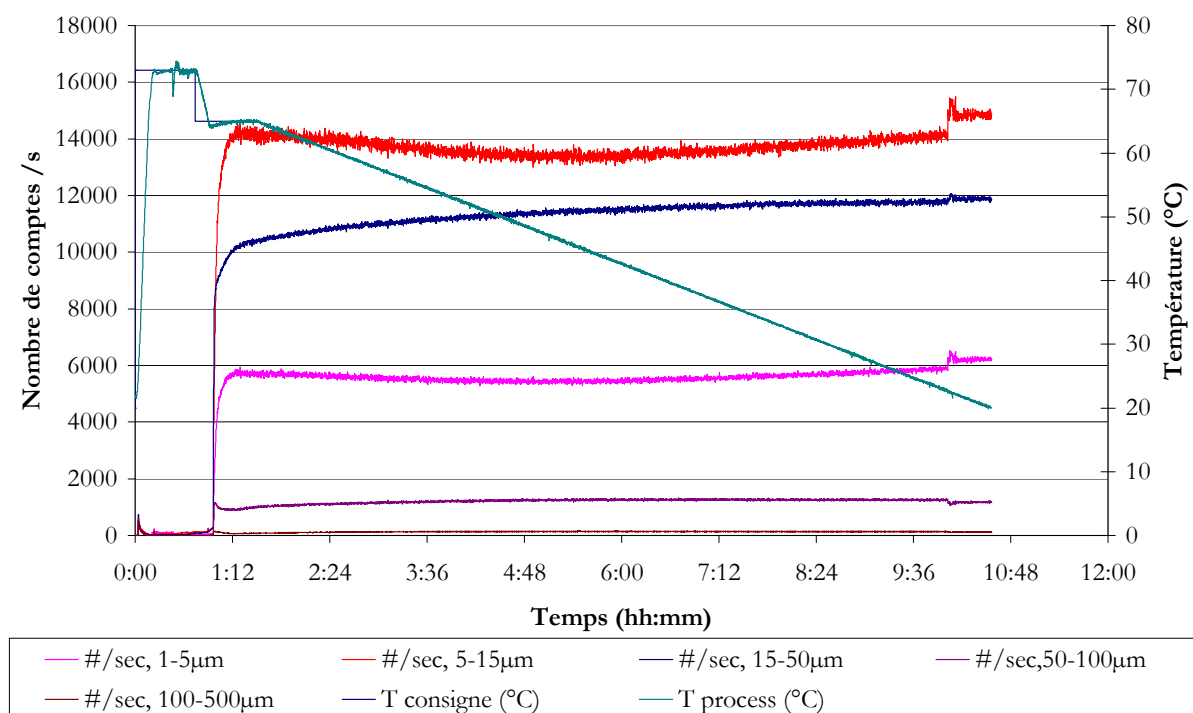


Figure 199 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement, 850 rpm

L'agitation à 850 rpm donne exactement les mêmes résultats quantitatifs que l'essai de référence à la fin de l'expérience [Fig. 199], c'est-à-dire des nombres de comptes de 6000, 14000 et 12000 comptes.sec<sup>-1</sup>. (Le saut à 25°C est un artefact). Il semble alors inutile d'agiter à plus de 650 rpm.

Les images MEB du solide obtenues après ces 2 essais ne donnent rien de différent par rapport à l'essai de référence [Fig. 197]. Les rendements sont respectivement de 52,9% et de 55,1%

## B – Modification de la vitesse de refroidissement

La maîtrise de la vitesse de refroidissement est essentielle pour contrôler la consommation du soluté en fonction de la position de la limite de zone métastable. Refroidir trop vite devrait entraîner de nouvelles vagues de nucléation. Au contraire, de manière générale, refroidir plus lentement favorise la croissance des cristaux. L'essai de la figure 200 a été fait avec une rampe de refroidissement de 10°C.h<sup>-1</sup>. Nous n'observons pas de deuxième vague de nucléation franche, mais les nombres de comptes en fin de cristallisation sont supérieurs à ceux de l'essai de référence pour les très petites et petites longueurs de cordes (7000, 16000 et au lieu de 6000, 14000 comptes.sec<sup>-1</sup>), mais un peu inférieurs pour les moyennes longueurs de cordes (11500 comptes.sec<sup>-1</sup> au lieu de 12000 comptes.sec<sup>-1</sup>). Comme nous avons vu que les nombres de comptes des moyennes longueurs de corde avaient plus de poids (quantité de matière) par rapport aux petites longueurs de corde, les sommes sont équivalentes. Comme prévu par la théorie, refroidir plus lentement, à 5°C.h<sup>-1</sup> favorise donc un peu plus la croissance des cristaux.

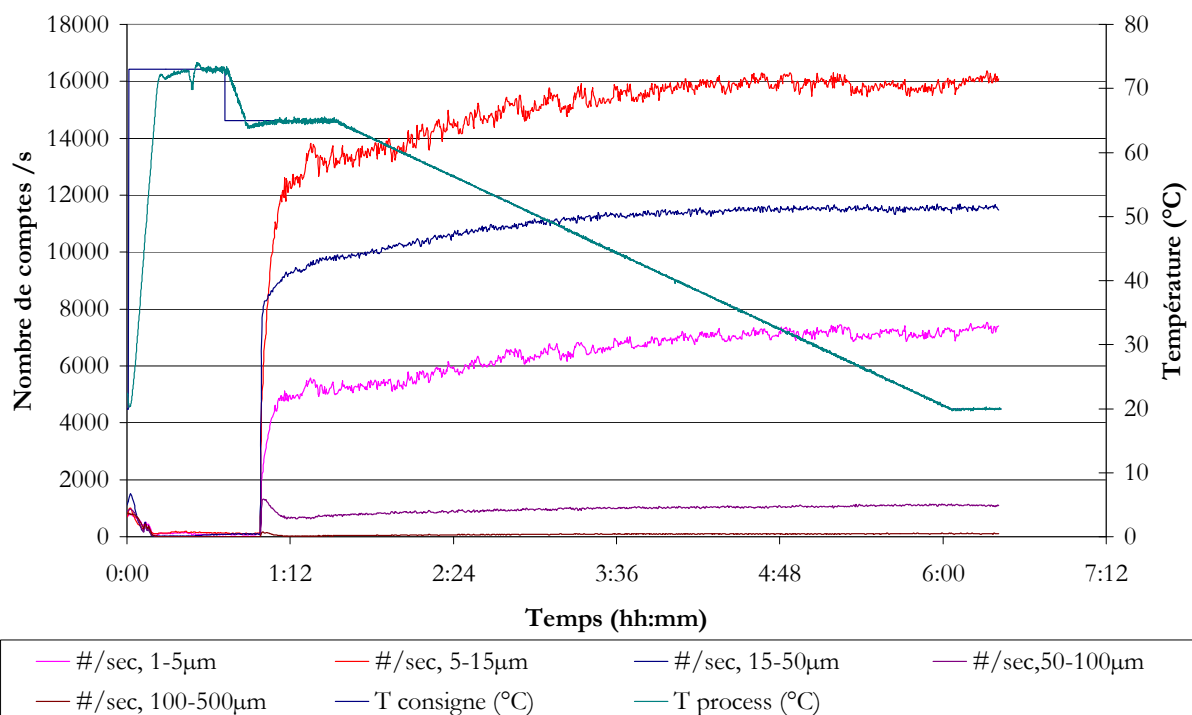


Figure 200 : Suivi FBRM pour un procédé avecensemencement, 10°C.h<sup>-1</sup>

Le suivi FBRM pour l'essai refroidi à 2°C.h<sup>-1</sup> est donné dans la figure 201. Comme on le voit, les relevés sont d'abord très bruités, ce que l'on peut imputer à une zone morte d'agitation mal placée devant la sonde, voire à un blindage de la sonde. Les nombres de comptes pour les très petites et petites particules sont plus faibles que pour l'essai de référence (4500 et 11500 au lieu de 6000 et 14000 comptes.sec<sup>-1</sup>), ils sont équivalents pour les moyennes longueurs de cordes (12000 comptes.sec<sup>-1</sup>).

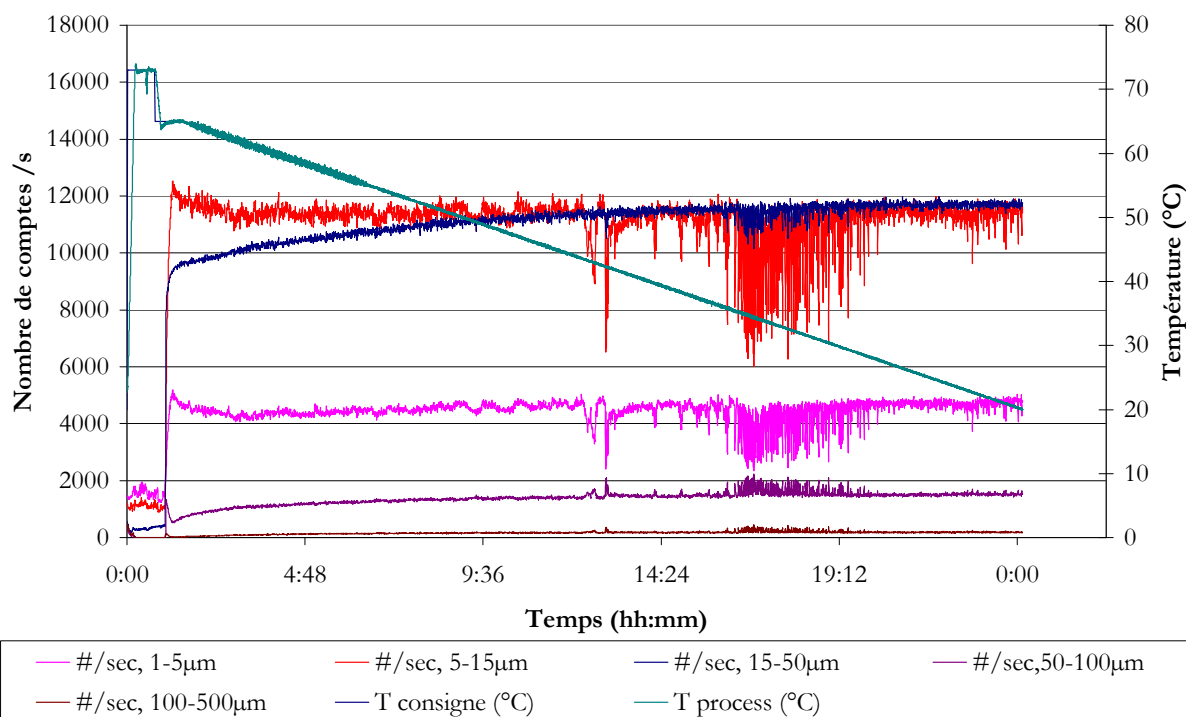
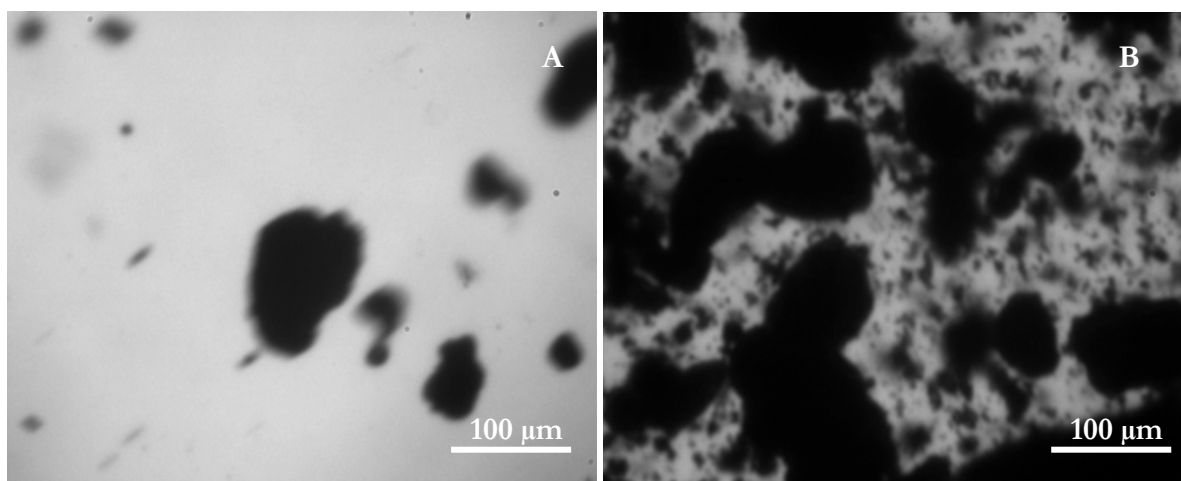


Figure 201 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement,  $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$

Ils sont par contre bien supérieurs pour les grandes longueurs de corde (1800 au lieu de 1200 comptes. $\text{sec}^{-1}$ ). On note encore une fois que la croissance des nombres de comptes pour les moyennes et grosses particules a lieu entre 65 et 50°C. En dessous de 50°C, il n'y a pas d'évolution notable. Le compte des petites particules ne chute toujours pas. Les rendements sont respectivement de 54,5 et 53,1%.

### C – Modification de la quantité de semence

Ajouter plus ou moins de semence augmente ou réduit la surface sur laquelle on provoque la nucléation secondaire initiale. On s'attend à ce que les nombres de comptes au moment de l'ensemencement soient différents de l'essai de référence. Nous avons ainsi ensemencé avec deux fois moins [Fig. 202A] et deux fois plus de semence [Fig. 202B].



Figures 202 : Images prises in situ dans le réacteur à 65°C au moment de l'ensemencement avec 0,5% (A) et 2% (B) de la quantité de sel théoriquement obtenu à la fin de l'expérience

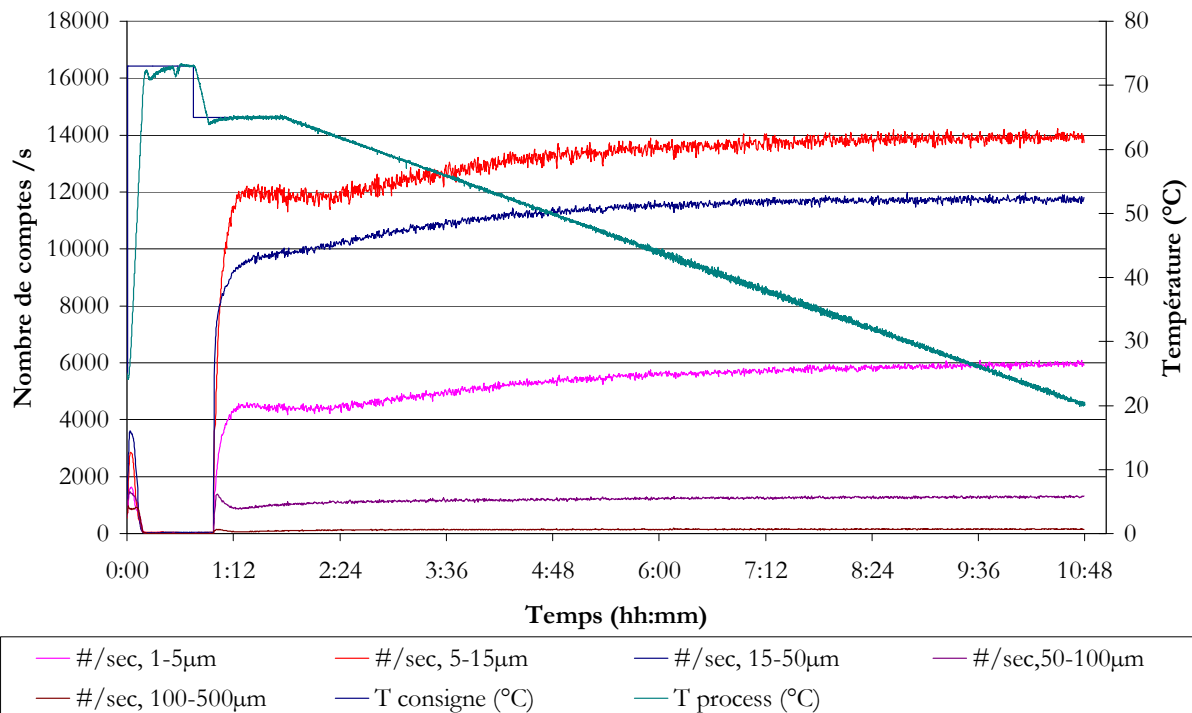


Figure 203 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement, 0,5% de semence

Ensemencer avec 0,5% de sel donne les résultats FBRM de la figure 203. On observe que les nombres de comptes sont bien inférieurs au moment de l'ensemencement que pour l'essai de référence (4500, 12000 et 9000 comptes.sec<sup>-1</sup> au lieu 6000, 14500 et 10000 comptes.sec<sup>-1</sup>). Les valeurs finales sont par contre identiques (6000, 14000 et 12000 comptes.sec<sup>-1</sup>). Si moins de soluté a été consommé pendant l'ensemencement, une seconde vague de nucléation à 60°C a permis de rattraper l'écart par rapport à la référence. Du point de vue de la qualité finale du solide, cela ne change rien, mais il vaut mieux éviter une nucléation plus forte.

Ensemencer avec deux fois plus de sel [Fig. 204] donne exactement les mêmes résultats finaux qu'avec 1% de semence. La différence au moment de l'ensemencement est minime, les nombres de comptes des très petites et petites longueurs de cordes sont à peine supérieurs (de 500 comptes.sec<sup>-1</sup>) aux valeurs de référence avant de revenir après une demi-heure aux valeurs de l'essai à 1% de semence.

Dans notre cas, ensemençer à 65°C avec plus de 1% de semence n'apporte rien. Les rendements finaux sont de 51,8% et de 54,3%, nous n'observons aucune différence au niveau du faciès des cristaux par rapport aux figures 197.

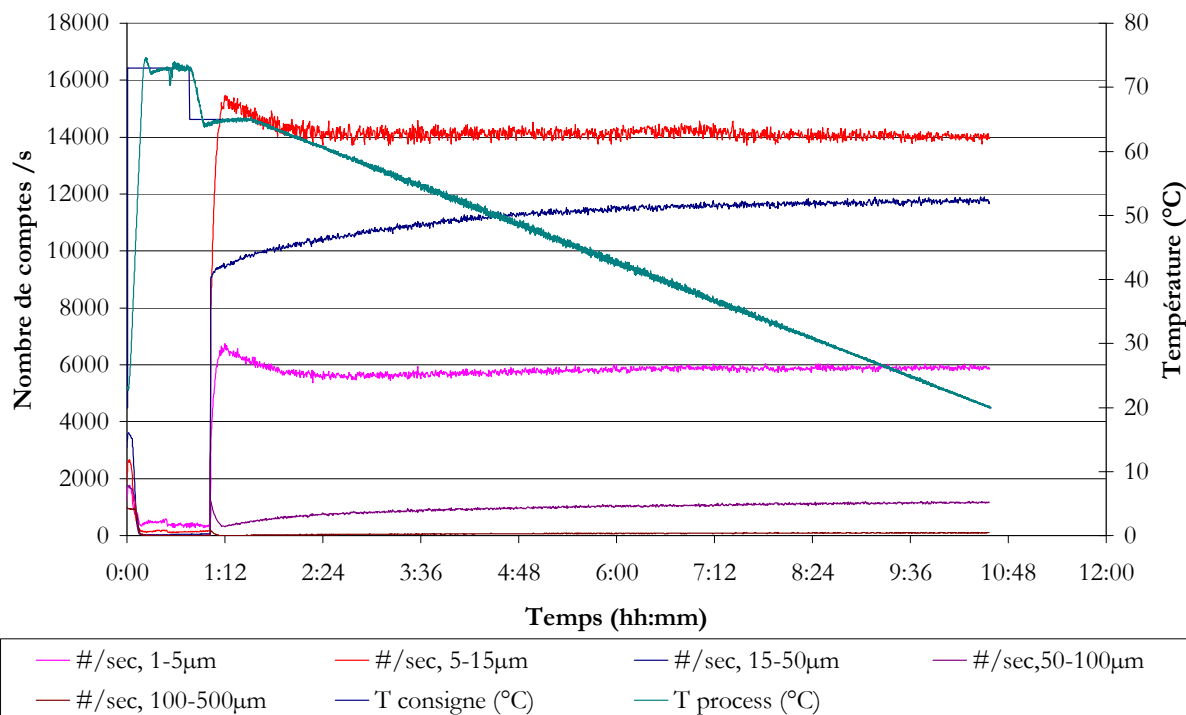


Figure 204 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement, 2% de semence

### D – Élévation de la température d'ensemencement

L'augmentation de la température d'ensemencement réduit la sursaturation de 1,25 à 65°C à 1,03 à 70°C (solubilité calculée par extrapolation exponentielle de la courbe de solubilité du sel [Tableau 24]). La semence devrait consommer beaucoup moins de soluté pour la nucléation secondaire lors de son addition dans la solution. La figure 205 représente le suivi FBRM de cet essai. Les valeurs des nombres de comptes sont en effet faibles au moment de l'ensemencement (3500, 9000 et 8000 comptes.sec<sup>-1</sup>) et surtout n'évoluent que peu pendant les 30 minutes d'isotherme car la solution est encore très près de l'équilibre thermodynamique. De 70°C à 65°C, nous observons, pour la première fois un transfert des nombres de comptes, des très petites et petites longueurs de cordes vers les moyennes longueurs de cordes, ce qui ferait penser à de la croissance. Par contre, dès 65°C, nous observons une violente vague de nucléation où les nombres de comptes de toutes les classes de longueurs de cordes augmentent.

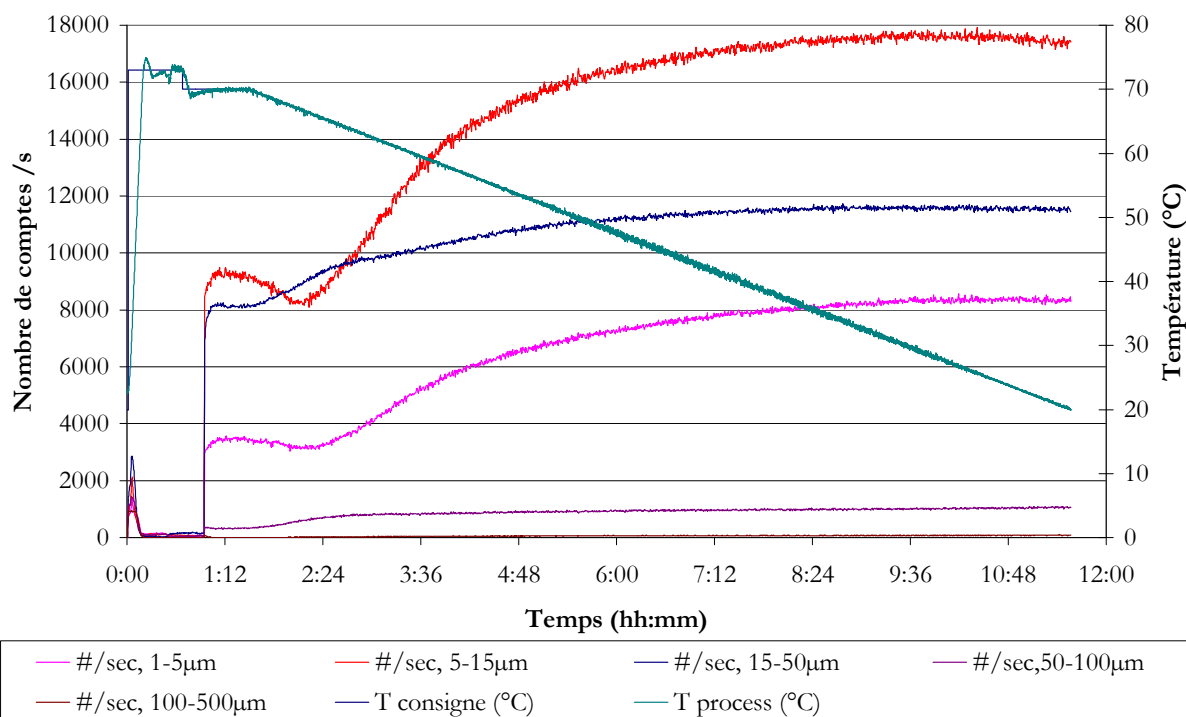
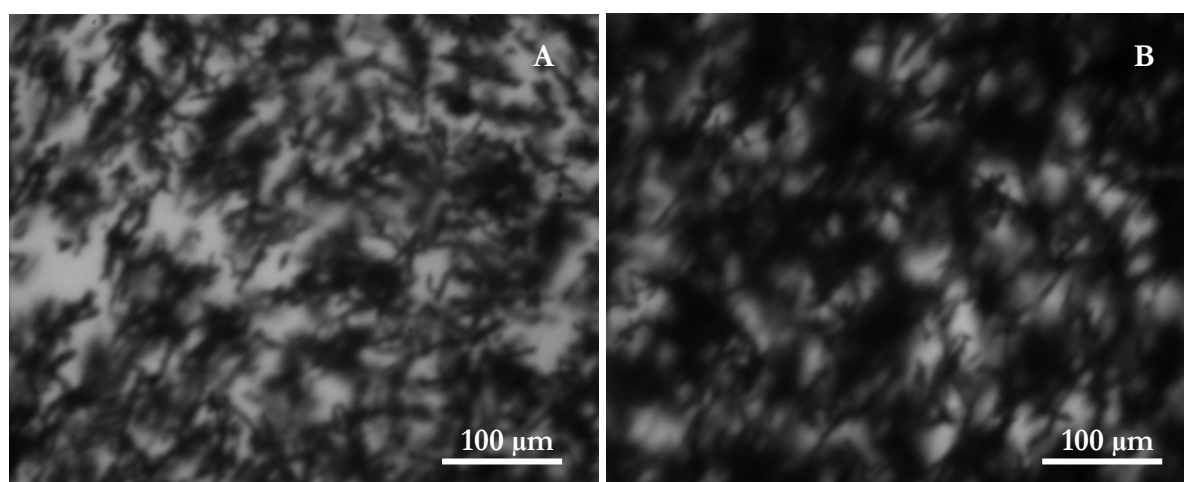


Figure 205 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement à 70°C

Les valeurs finales par rapport à l'essai de référence privilégient les petites longueurs de corde (8500 et 17500 comptes. $\text{sec}^{-1}$ ) aux moyennes longueurs de cordes (11500 comptes. $\text{sec}^{-1}$ ). Cette seconde vague de nucléation a fait prendre le pas des petites aiguilles sur les plus grandes ou les agglomérats d'aiguilles. Cette solution n'est pas la meilleure, mais on peut continuer à travailler sur l'ensemencement à 70°C pour mieux comprendre les phénomènes. On voit sur la figure 206A qu'après 30 minutes, la densité de solide est encore suffisamment faible pour permettre l'observation de la suspension. À 68°C, la suspension s'épaissit.



Figures 206 : Images prises in situ dans le réacteur à 79°C, 30 minutes après l'ensemencement (a) et à 68°C (b)

Le rendement de cet essai est de 55,7% et les images MEB sont équivalentes à celles de l'essai de référence.

### E – Augmentation de la durée de l'isotherme

Imposer un plus long isotherme après l'ensemencement pourrait favoriser la croissance des aiguilles en consommant au maximum la sursaturation à 65°C.

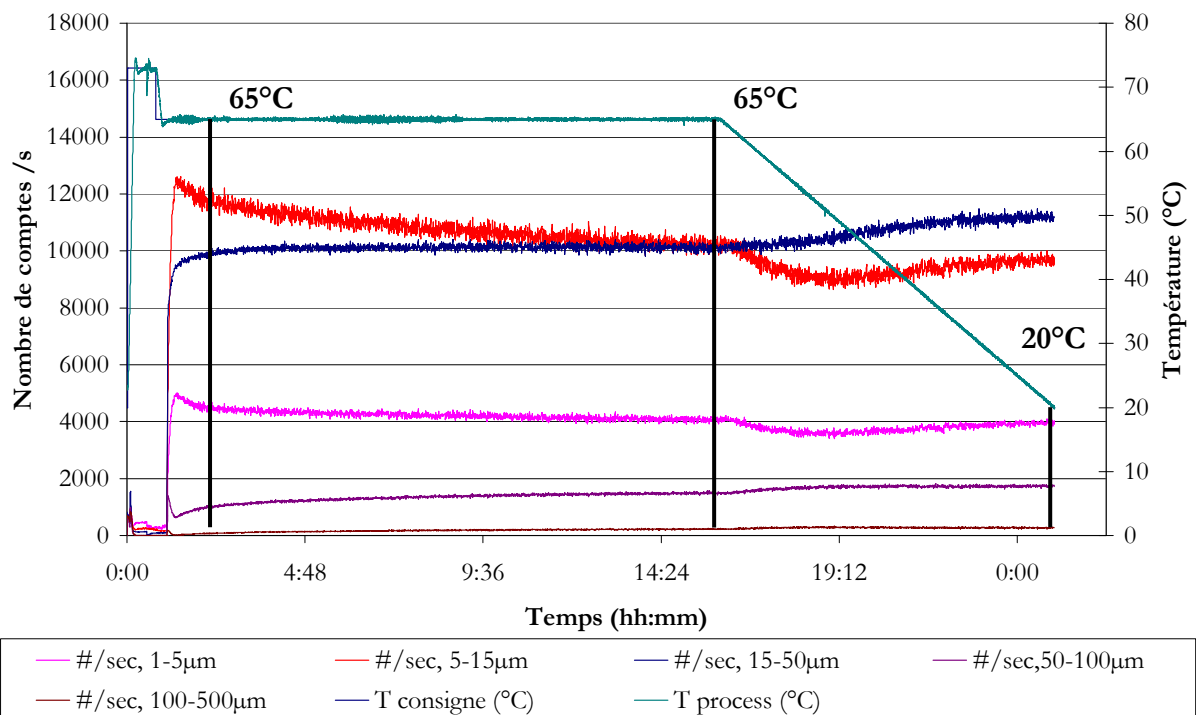


Figure 207 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement, isotherme long à 65°C

On observe que les nombres de comptes évoluent légèrement pendant cet isotherme de 15 heures [Fig. 207]. En particulier pour les très petites et petites longueurs de cordes dont les comptes baissent légèrement et pour les grosses longueurs de cordes qui augmentent bien plus que d'habitude. Deux hypothèses peuvent expliquer ces phénomènes : tout d'abord une croissance avec transfert des petites particules vers les moyennes et des moyennes vers les grosses particules ou bien une agglomération progressive des petites particules pour former de plus nombreux gros agglomérats. Vu l'aptitude des aiguilles de TD901 à s'agglomérer, nous penchons vers la seconde solution. Le début de la rampe de refroidissement à 5°C.h<sup>-1</sup> provoque l'augmentation du nombre de comptes des moyennes et des grandes cordes de particules. Les chiffres finaux pour les trois premières classes de particules sont inférieurs aux valeurs de référence, mais le nombre de comptes des grosses particules est bien supérieur (1800 au lieu de 1200 comptes.sec<sup>-1</sup>).

Pour la première fois, la valeur médiane de la DLCP en fin de cristallisation à 20°C est supérieure à 12 µm. En figure 208 est donnée la DLCP après 30 minutes d'isotherme à 65°C (valeur médiane de 11,72 µm tout à fait classique), 15 heures d'isotherme à 65°C (valeur médiane à 13,08 µm) et à la fin du procédé (valeur médiane à 14,54 µm). Cependant, le rendement (54,8%) et les images MEB ne changent pas par rapport aux autres essais.

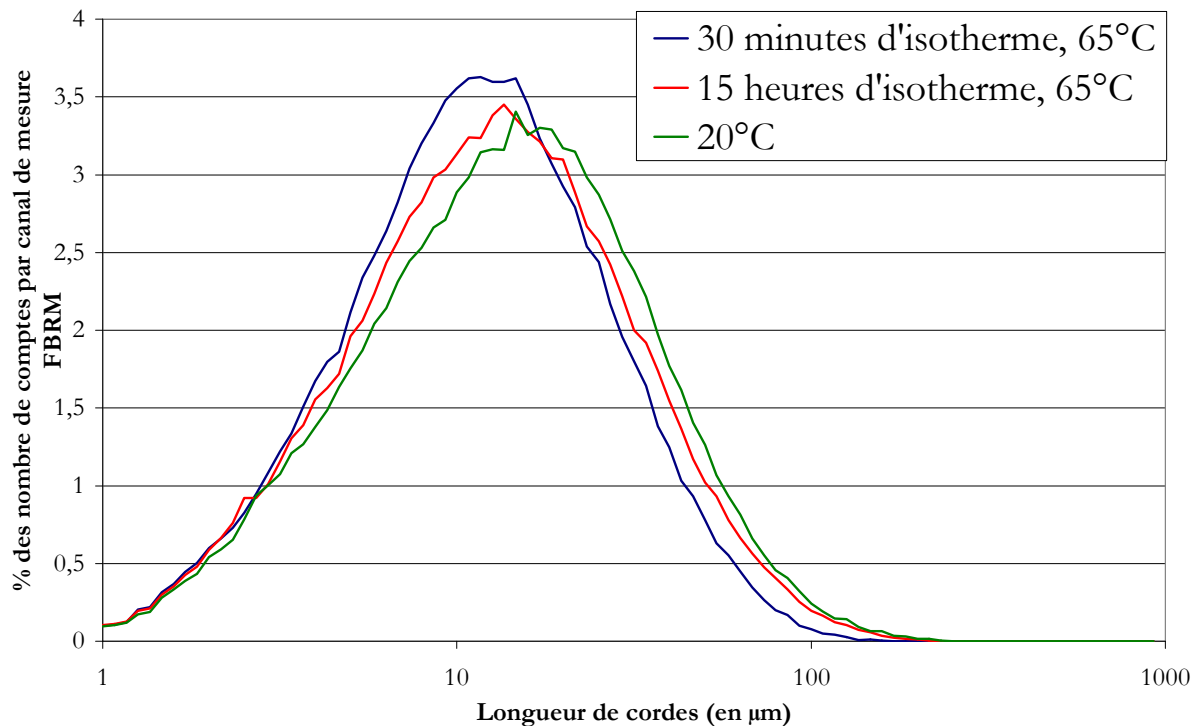


Figure 208 : D des longueurs de cordes mesurées au cours du procédé, échelle log

### F – Ensemencement à 70°C combiné à d'autres changements de variable

L'ensemencement à 70°C est intéressant car la sursaturation est minimale. D'un point de vue théorique il est intéressant de combiner cet ensemencement avec d'autres conditions pour vérifier si on améliore les résultats du premier essai ensemencé à 70°C.

Tout d'abord, après un palier de 30 minutes, la vitesse de la rampe de refroidissement est abaissée à 2°C.h<sup>-1</sup>. Théoriquement, cela pourrait réduire la seconde vague de nucléation observée sur la figure 205 au profit d'un peu de croissance. Le résultat, donné en figure 209, ne va pas dans ce sens-là, car les valeurs finales sont presque identiques et la seconde vague de nucléation suit exactement le même profil, un peu plus étalé sur le temps, en rapport avec la vitesse de refroidissement. Cet essai n'a pas permis d'améliorer la valeur médiane de la DLCP qui est de 9,30 µm en fin de cristallisation.

Pour un autre essai, un long isotherme de 11 heures est imposé après l'ensemencement [Fig. 210]. Cet isotherme a permis de réduire de manière très importante les longueurs de cordes des très petites et petites particules (seulement 2500 et 7000 comptes/sec). La valeur médiane de la DLCP est alors de 15,80. Le refroidissement à 5°C.h<sup>-1</sup> provoque comme prévu une nouvelle vague de nucléation assez importante. Nous retrouvons les longueurs de cordes de l'essai de référence en fin de manipulation. La médiane de la DLCP chute même à 9,99 µm.

Ces essais montrent que l'ensemencement à une sursaturation bien plus faible n'apporte pas de changements positifs à la population cristalline dans notre cas. Les rendements sont toujours du même ordre, respectivement de 51,9% et de 53,3%. La qualité des cristaux observés au MEB ne change guère.

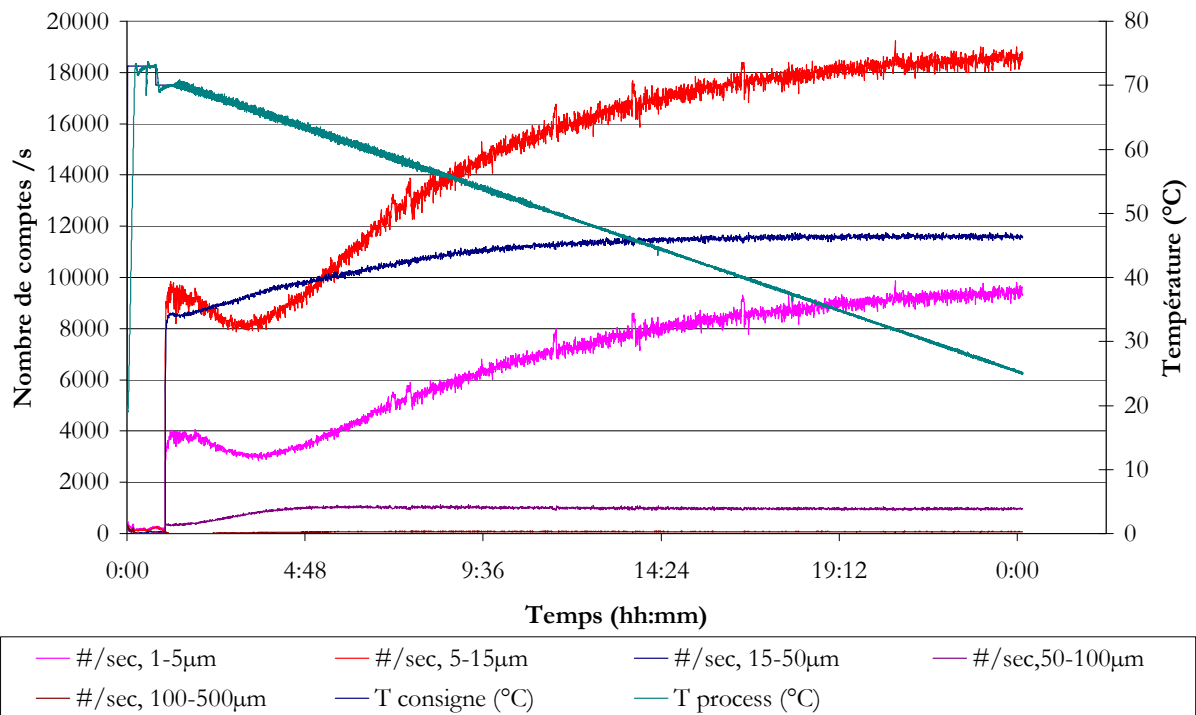


Figure 209 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement à 70°C, rampe de 2°C.h<sup>-1</sup>

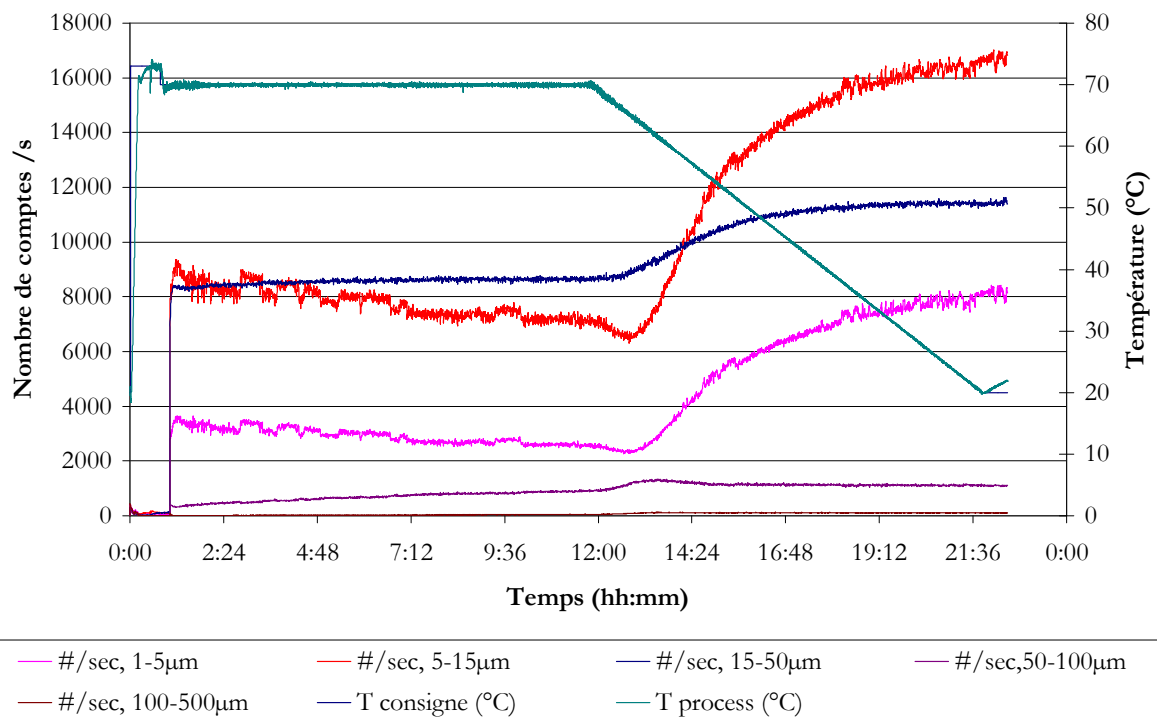


Figure 210 : Suivi FBRM pour un procédé avec ensemencement à 70°C, isotherme de 11h

## V.6. Conclusions

L'étude d'un procédé de cristallisation nécessite un travail en amont important sur la connaissance des diagrammes de phases afin de connaître et maîtriser les paramètres de conduite d'un procédé, au moins au moment de la nucléation. Un travail avec une sonde infra-rouge ATR permettrait de connaître précisément la concentration à tout moment du procédé et ainsi d'avoir une connaissance optimale du positionnement sur le diagramme de phases. La mesure de la limite de zone métastable, dans les conditions types du procédé, est importante pour compléter le diagramme de phases et conduire la cristallisation.

La piste du suivi du pH pendant la cristallisation du sel n'a malheureusement pas abouti, les variations du pH pendant la nucléation, secondaire en particulier, ne sont pas suffisamment importantes pour se servir de cet outil de mesure *in situ* pour suivre la cristallisation du TD901 dans un réacteur agité. On peut d'ailleurs se poser la question plus générale de la signification du pH en solution majoritairement organique.

Les études du procédé en réacteur agité ont montré que la sonde FBRM et la sonde de visualisation *in situ* sont parfaitement complémentaires. Là où la sonde FBRM ne permet pas de faire des exploitations quantitatives, la sonde vidéo permet de quantifier la longueur des cristaux. De plus, elle permet d'asseoir des hypothèses formulées grâce aux résultats FBRM concernant la nucléation.

Malheureusement, notre système choix du sel / choix du solvant est fixé et ne nous permet pas de faire cristalliser autre chose que des aiguilles, ce que nous avons vu avec le travail préliminaire dans de petits volumes ainsi qu'avec les études sur la structure. Avec ce système à cristalliser, la compétition entre la nucléation et la croissance est dominée par la nucléation des cristaux aciculaires, la croissance consommant peu. L'agglomération des aiguilles est très importante et, malheureusement, la FBRM ne permet pas de voir ce qui se passe sur les agglomérats et l'image de la vidéo *in situ* est vite saturée au dessus de 5 à 8% de solide en suspension. Typiquement, le TD901 nucléé selon un mécanisme de nucléation couplée à l'agglomération. Il est possible d'aller plus loin en parlant de mécanisme de grossissement par nucléation surfacique et agglomération. La difficulté à croître dans le sens de la largeur des aiguilles a déjà été observée pour différents systèmes (irbesartan, hydroquinone,...). Il a été mis en évidence la vitesse faible de nucléation de surface et l'agglomération d'aiguilles à faible sursaturation et d'oursins à plus haute sursaturation [PUEL 08].

Dans ces conditions, l'ensemencement est le meilleur des procédés étudiés (les aiguilles se développant alors sur des agglomérats de semence) et la méthodologie suivie pour l'étude des variations des paramètres du procédé a permis de déterminer les meilleures conditions à mettre en œuvre. Pour une nucléation primaire, les aiguilles se fixent sur les toutes premières longues aiguilles qui nucléent et posent de gros problèmes d'homogénéisation de la suspension pendant l'agitation. En effet, l'agitation piège les petites particules, responsables de l'augmentation de la viscosité, par liaisons avec le solvant. Selon les essais réalisés autour du procédé avec ensemencement, ensemençer à 65°C à partir d'1% de semence, avec une vitesse d'agitation de 650 rpm est une bonne solution. Imposer un palier alors que la sursaturation est importante, suivi d'une rampe de refroidissement lente, peut légèrement améliorer la distribution de longueurs de cordes de particules.

Bien entendu, nous aurions pu faire d'autres essais, avec plus de temps et de moyens, en particulier en imposant un palier à différents points du procédé ou ensemençer avec une semence différente, mais ces essais constituent une base pour établir une méthode générale d'approche de la cristallisation de sels pharmaceutiques.

# ***Conclusions Générales***

*La vraie science enseigne, avant tout, à douter et à ignorer.  
Miguel de Unamuno (Du sentiment tragique de la vie, 1913)*



Le développement chimico-pharmaceutique est soumis à des contraintes importantes. Le dépôt d'un dossier pour faire une demande de mise sur le marché d'un nouvel API impose que l'on ne puisse plus changer les conditions de synthèse et de cristallisation aisément après le dépôt. Pour cette raison, les choix effectués pendant les années de développement du procédé doivent être très tôt les meilleurs. Les contraintes de temps et de quantité, liées aux besoins du développement (besoin de quantité dans des conditions reproductibles pour les études cliniques, galéniques, toxicologiques...) ne permettent pas toujours d'effectuer une batterie d'analyse et de criblage suffisamment large pour détecter des conditions opératoires particulièrement avantageuses. En effet, les choix du sel et du solvant de cristallisation, lié à la phase de l'API, dictent une grande partie des propriétés d'usage du solide. Les ennuis causés par de mauvaises propriétés d'usage des cristaux sont attribuables à 50% à la structure interne du cristal et à 50% au procédé. Nous avons pu étudier dans ce travail de thèse, un exemple typique de sel chlorhydrate en développement chimico-pharmaceutique sur lequel il aurait été intéressant de penser à faire un autre sel ou une autre phase du produit. La méthodologie globale du développement d'un sel fixé [Fig. 211], à contre-ion fixé, a été progressivement dessinée lors de nos travaux pour qu'elle soit adaptée plus tard aux besoins du développement chimique des laboratoires pharmaceutiques.

Tout d'abord, nous avons effectué une revue bibliographique concernant les aspects théoriques et pratiques de la nucléation, de la croissance et du polymorphisme cristallin. Le rappel de quelques notions de cristallographie nous a semblé être utile pour mieux appréhender les résultats obtenus par l'analyse des phases monocristallines. La bibliographie concernant les équilibres chimiques et les profils de solubilité était nécessaire pour comprendre vraiment l'intérêt des études de pH sur le travail à venir. Ce travail nous a montré que les courbes  $C_s = f(\text{pH})$  ont surtout un intérêt pour les mesures de biodisponibilité des APIs et des sels associés et que l'apport de cette théorie pour la conduite d'un procédé est assez relatif. Néanmoins, c'est une base essentielle pour avoir une bonne compréhension des questions qui sont posées lors du choix d'un sel au début du développement d'un API. Accompagnée d'une revue des étapes du développement pharmaceutique, cette bibliographie, si elle s'éloigne un temps des notions scientifiques théoriques, permet d'avoir un meilleur recul sur le travail effectué pendant la thèse vis-à-vis des objectifs premiers imposés par Oril industrie.

Dans la seconde partie du manuscrit, la présentation des différentes techniques utilisées pendant nos travaux permet de comprendre par quels moyens l'étude de la cristallisation peut être menée. On discerne ainsi des méthodes pour l'analyse et la recherche de connaissances fondamentales du système étudié (mesure de la solubilité, analyse des phases par rayons X et analyse thermique, imagerie MEB...), des méthodes de cristallisation à petit volume, non extrapolables (utilisation de petites cellules thermostatées avec visualisation au microscope) des méthodes de cristallisation extrapolables (en réacteur agité de 100mL avec mesure du pH, analyse en ligne des longueurs de cordes de particules et visualisation de la suspension). La richesse de ces méthodes est due à la complémentarité des équipements et du savoir des deux laboratoires qui ont encadré ce travail de thèse : le Centre Interdisciplinaire de Nanosciences de Marseille Luminy et le Laboratoire d'Automatique et de GENie des Procédés de Lyon Villeurbanne. Le choix du produit d'étude a été discuté parmi toutes les solutions sur lesquelles nous pouvions partir. La possibilité de travailler sur une molécule "représentative" du développement pharmaceutique (chlorhydrate, base soluble dans l'éthanol et insoluble dans l'eau, sel soluble dans l'eau et moyennement soluble dans l'éthanol) était intéressante d'autant plus que la phase développée, phase A du TD901, posait des problèmes de filtration à cause des mauvaises propriétés d'usage des cristaux aciculaires formés.

La troisième partie du manuscrit de thèse reprend l'ensemble des résultats issus du travail sur le TD901. Nous avons montré que les connaissances sur le TD901 étaient assez faibles étant donné que la phase de l'API n'était pas connue en tant que monohydrate. Cet hydrate a une grande propension à libérer ou récupérer une molécule d'eau de manière stœchiométrique dès le chauffage à 60°C. Son point de fusion est estimé à 208°C, mais dès 183°C, la stabilité chimique du TD901 est mise en jeu. La base, dont la fusion commence à 170°C, tout comme le sel sont particulièrement hygroscopiques.

Nous avons mis au point une méthode de criblage des connaissances sur la solubilité et les phases de l'API à partir d'un équipement du CINaM : un microscope inversé équipé d'une platine mobile multipuits thermostatés par effet Peltier. Cette méthode nous a permis, avec moins de 5 grammes d'API, d'effectuer un criblage important des différentes phases de l'API. Nous avons pu distinguer 12 phases et les études d'analyse thermique se sont avérées très riches pour compléter les connaissances sur ces phases afin de sortir 2 phases anhydres, 5 hydrates et 5 solvates. La distinction des faciès, la connaissance des solubilités dans 32 solvants purs et dans une quinzaine de mélanges de solvants, sont tout autant d'éléments importants à connaître pour effectuer un choix judicieux pour une phase d'un API à développer. En ce qui nous concerne, la phase J serait très intéressante à développer du point de vue du faciès, et donc des propriétés d'usage. Il faudrait toutefois avoir la certitude que l'acétone de la structure acétonate pouvait facilement être libérée de la structure au cours du séchage du produit. Malheureusement, nous n'avons pas pu aller plus loin pour 3 ou 4 des conditions choisies par nos soins car la phase du produit était déjà fixée pour être cristallisée dans un mélange éthanol/eau.

À partir du système fixé "chlorhydrate, phase A du TD901 dans EtOH/Eau", nous avons fait un travail sur la connaissance des solubilités de la base et du sel nous permettant de travailler plus tard sur le procédé. La recherche de la structure cristalline de la base et du sel est importante pour comprendre l'impact que peut avoir l'introduction d'un contre ion sur les interactions intermoléculaires et sur la modification de la structure. Même s'il n'a pas été possible de fabriquer de monocristaux de sel de taille suffisante (ce qui laisse déjà penser que le procédé de cristallisation en réacteur agité ne serait pas bon), les outils de modélisation ont permis de prévoir que le sel monohydraté serait facile à déshydrater et à réhydrater.

Le travail en réacteur agité était nécessaire pour comprendre que le système choisi ne laissait pas beaucoup de marge de manœuvre pour améliorer les propriétés d'usage du solide. Les essais réalisés par nucléation primaire se sont avérés très mauvais car les petites aiguilles viennent s'agglomérer sur de plus longues et créent des problèmes importants d'homogénéisation. La nucléation secondaire, provoquée par l'ensemencement évite le problème de nucléation puis de développement en longues aiguilles favorisés par de fortes sursaturations et permet de travailler avec une suspension plus homogène. Le procédé à partir duquel nous avons travaillé s'est avéré très bon. Grâce à la complémentarité des sondes FBRM et de visualisation *in situ*, nous avons pu comprendre l'effet qu'un changement de variable du procédé (température d'ensemencement, quantité de semence, vitesse d'agitation, durée de l'isotherme après ensemencement...) avait sur la distribution des longueurs de cordes des particules de la suspension de TD901.

Cette stratégie globale d'étude d'un sel est schématisée dans la figure 211. Cet organigramme permet de placer les différentes méthodologies les unes par rapport aux autres. Les retours d'expérience sont importants pour revenir en arrière et réaliser de meilleurs choix en ce qui concerne le choix du solvant de cristallisation et les variables principales pour modifier le procédé de cristallisation. Bien entendu, un retour sur le choix du sel est aussi conseillé et des stratégies doivent être développées par l'entreprise pharmaceutique pour pouvoir, le cas échéant, changer rapidement et facilement de phase de sel à un moment du développement chimique.

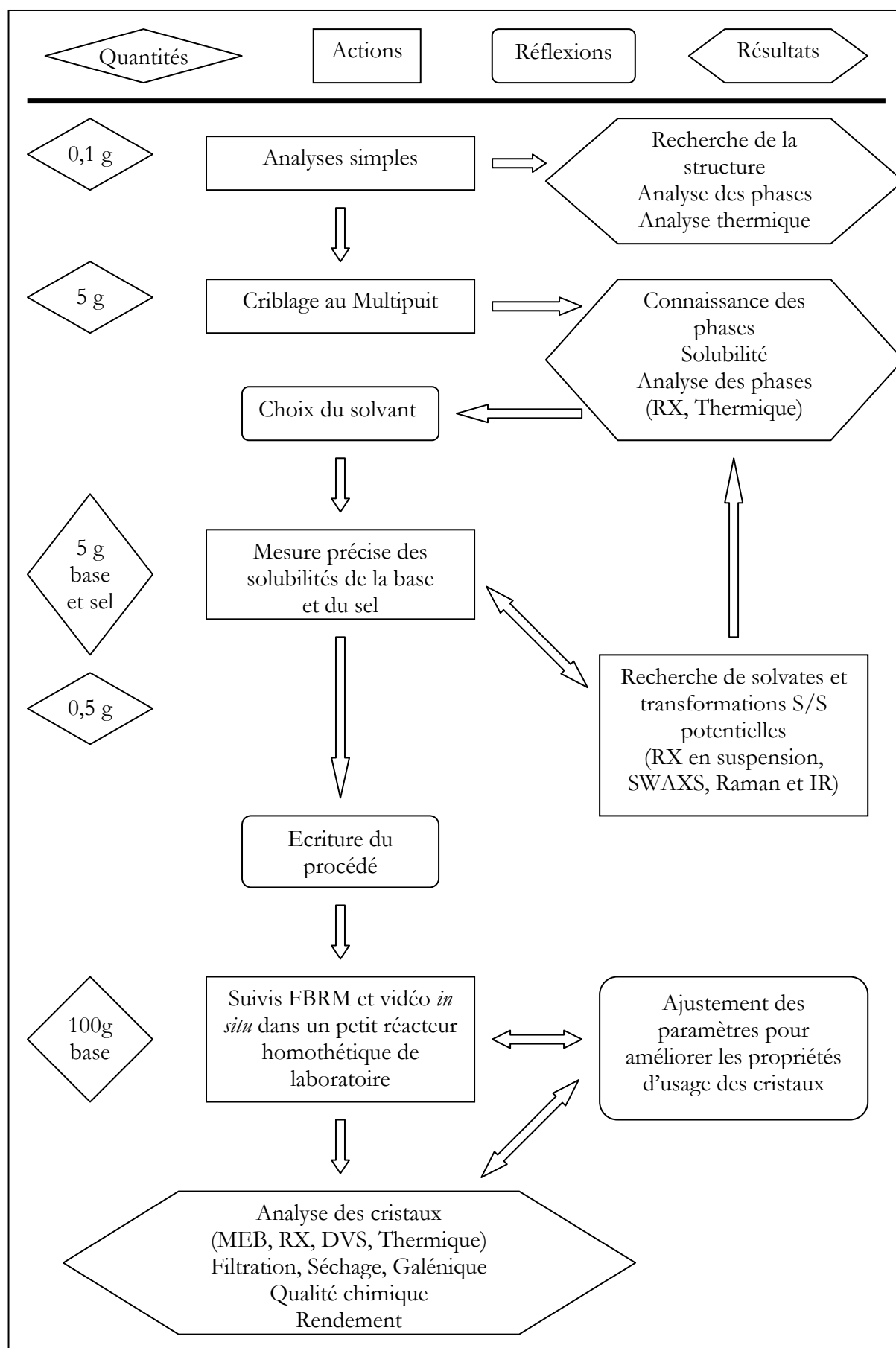


Figure 211 : Méthodologie d'approche du développement d'une phase cristalline



# ***Références Bibliographiques***

*Une science se confirme ou s'infirmes dans son progrès,  
non dans la relecture de ses inventeurs.*

*André Akoun*



# A

- [ABU BAKAR 09] Abu Bakar M.R., Nagy Z.K., Saleemi A.N., Rielly C.D., *The impact of direct nucleation control on crystal size distribution in pharmaceutical crystallization processes*, Crystal Growth and Design, 9, 3, (2009), 1378-1384
- [AKERS 91] Akers H.A., Gabler D.G., *The Molar Volume of Solutes in Water*, Naturwissenschaften, 78, (1991), 417-419
- [ALLEN 02] Allen F.H., *The Cambridge Structural Database : a quarter of a million crystal structures and rising*, Acta Crystallographica B, 58, (2002), 380-388
- [AQUILANO 01] Aquilano D., Sgualdino G., Fundamental aspects of equilibrium and crystallization kinetics in crystallization processes in fats and lipid systems, Marcel Dekker, New York, (2001), 1
- [ARMENANTE 89] Armenante P.M., Kirwan D.J., *Mass transfer to microparticules in agitated systems*, Chem. Eng. Sci., 44, (1989), 2781-2796
- [AUBUCHON 07] Aubuchon S.R., *Detection and Quantification of Amorphous Content in Pharmaceutical Materials*, TA Instrument documentation, (2007)

# B

- [BADENS 06] Badens E., *Fluides supercritiques*, Cours Master II Recherche de l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III, (2006)
- [BALTES 07] Baltès D., *Cristallisation en fluide supercritique de molécules pharmaceutiques : méthodologie de criblage des polymorphes et étude de la cristallinité des solides formés*, Thèse de doctorat de l'université Claude Bernard Lyon I, (2007)
- [BARONNET 82] Baronnet A., *Ostwald ripening in solution. The case of calcite and mica*, Estudios geol., 38, (1982), 185.
- [BASTIN 00] Bastin R.J., Bowker M.J., Slater B.J., *Salt Selection and Optimisation Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities*, Organic Process & Development, 4, (2000), 427-435
- [BATES 73] Bates R.G., Determination of pH: Theory and practice, Wiley Editions, (1973)
- [BAUER 04\_A] Bauer M., *Polymorphisme : Description du phénomène*, Techniques de l'ingénieur, AF 3 640, (2004)
- [BAUER 04\_B] Bauer M., *Physico-chimie du polymorphisme*, Techniques de l'ingénieur, AF 3 641, (2004)

- [BECKMANN 84] Beckmann W., Boistelle R., Sato K., *Solubility of the A, B and C polymorphs of stearic acid in decane, methanol, butanone*, J. Chem. Eng. Data, 29, (1984), 211-214
- [BECKMANN 99] Beckmann W., *Nucleation phenomena during the crystallisation and precipitation of Abercanil*, J. of Crystal Growth, 198/199, (1999), 1307-1314
- [BECKMANN 00] Beckmann W., *Seeding the desired polymorph: Background, possibilities, limitations, and case studies*, Organic Process Research & Development, 4, (2000), 372-383
- [BELOUSOV 70] Belousov V.P., Makarova N.L., *Heats of mixing of liquids, VIII ethyl alcohol – water, dioxane – water, dioxane – ethyl alcohol binary systems*, Vestn. Leningrad Univ. Fiz. Khim., 25, (1970), 101-107
- [BERGE 77] Berge S.M., Bighley L.D., Monkhouse C.M., *Pharmaceutical Salts*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 66, 1, (1977)
- [BLACK 07] Black S.N., Collier E.A., Davey R.J., Roberts R.J., *Structure, Solubility, Screening, and Synthesis of Molecular Salts*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 96, 5, (2007), 1053-1068
- [BLACOW 73] Blacow N.W., Wade A., *Martindale: The extra Pharmacopoeia*, The pharmaceutical press, (1973)
- [BOISTELLE, 85] Boistelle R., *Concepts de la cristallisation en solution*, Actualités néphrologiques, Flammarion, Paris (1985)
- [BOISTELLE 96] Boistelle R., Klein J.P., Guyot-Hermann A.M., *Eléments de cristallographie et de cristallogénèse à l'usage des industriels de la chimie et de la pharmacie*, S.T.P. Pharma Pratiques, 6, 2, (1996), 111-140
- [BOLLAS 08] Bollas G.M., Chen C-C., Barton P.I., *Refined Electrolyte-NRTL Model: Activity Coefficient Expressions for Application to Multi-Electrolyte Systems*, AIChE Journal, 54, 6, (2008)
- [BOTTON 04] Botton V., Lehmann P., Bolcato R., Moreau R., *Measurement of solute diffusivities. Part III. From solutal convection dominated transport to quasi-diffusive transport*, Int. J. of Heat and Mass Transfer, 47, (2004), 2457-2467
- [BORDET 09\_A] Bordet P., Deniard P., *Affinement de diagrammes de diffraction de poudres par la méthode de Rietveld*, 18<sup>ème</sup> Formation à l'IMN Jean Rouxel, (2009)
- [BORDET 09\_B] Bordet P., Deniard P., *Détermination structurale ab initio à partir de diagrammes de diffraction de poudres*, 18<sup>ème</sup> Formation à l'IMN Jean Rouxel, (2009)
- [BOUCHET 09] Bouchet F., *Symétrie dans les cristaux*, Formation permanente : diffraction par les matériaux polycristallins, Institut Jean Rouxel de Nantes, (2009)
- [BRISSET 05] Brisset J-L., Addou A., Draoui M., Moussa D., Abdelmalek F., *Chimie analytique en solution*, Editions Lavoisier, (2005)

- [BRITT 04] Britt H., Chau-Chyun Chen, Mahalec V., McBrien A., *Modeling and simulation in 2004: an industrial perspective*, Foundations of Computer Aided Process Design Proceedings, (2004)
- [BURGER 79] Burger A., Ramberger R., *On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecules crystals ii, applicability of thermodynamic rules*, Mikrochemica Acta, (1979), 259-271
- [BURGOT 06] Burgot J-L., Chimie analytique et équilibres ioniques, Editions Lavoisier, (2006)
- [BURTON 51] Burton W.K., Cabrera N., Franck F.C., *The growth of the crystals and the equilibrium structure of their surfaces*, Phil. Trans. Royal Soc., (1951), 299-358
- ## C
- [CAILLET 06] Caillet A., *Etude de la transition de phase en solution d'un hydrate grâce à un suivi in situ par spectroscopie Raman et acquisition d'images*, Thèse de doctorat de l'Université Claude Bernard Lyon I, (2006)
- [CHAREYRON 03] Chareyron R., *Méthodes d'analyse thermique*, Cours CPE Lyon, (2003)
- [CHARLOT 63] Charlot G., Trémillon B., *Les réactions chimiques dans les solvants et les sels fondus*, Editions Gauthiers Villard, (1963)
- [CHEN 04] Chen C-C., Song Y., *Solubility Modelling with a Nonrandom Two-Liquid Segment Activity Coefficient Model*, Ind. Eng. Chem. Res., 43, (2004), 8354-8362
- [CHEN 05] Chen C-C., Song Y., *Extension of Nonrandom Two-Liquid Segment Activity Coefficient Model for Electrolyte*, Ind. Eng. Chem. Res., 44, (2005), 8909-8921
- [CHEN 06\_A] Chen C-C., Crafts P.A., *Correlation and Prediction of Drug Molecule Solubility in Mixed Solvent Systems with the Nonrandom Two-Liquid Segment Activity Coefficient (NRTL-SAC) Model*, Ind. Eng. Chem. Res., 45, (2006), 4816-4824
- [CHEN 06\_A] Chen C-C., *Toward development of activity coefficient models for process and product design of complex chemical systems*, Fluid Phase Equilibria, 241, (2006), 103-112
- [CHEMBURKAR 00] Chemburkar S.R., Bauer J., Deming K., Spiwek H., Patel K., Morris J., Henry R., Spanton S., Dziki W., Porter W., Quick J., Bauer P., Donaubauer J., Narayanan B.A., Soldani M., Riley D., McFarland K., *Dealing with the impact of Ritonavir Polymorphs on the Late Stages of Bulk Drug Process Development*, Organic Process Research & Development, 4, (2000), 413-417
- [CHERNOV 84] Chernov A.A., *Modern crystallography III, part. I.*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, (1984)
- [COSSERAT 03] Cosserat D., *Développement pharmaceutique*, Cours CPE Lyon, (2003)

- [CRAFTS 05] Crafts P., *Crystallisation Process Development in the Pharmaceutical Sector*, CAPEC AGM, présentation AstraZeneca, (2005)

## D

- [DAVEY 91] Davey R.J., Polywka L.A., Maginn S.J., The control of crystal morphology by additives: molecular recognition, kinetic and technology, in advances in industrial crystallization, Butterworth Heinemann, (1991), 150
- [DAVEY 02] Davey R.J., Bladhen N., Righini S., Alison H., Ferrari E.S., *Nucleation control in solution mediated polymorphic phase transformations: The case of 2,6-dihydroxybenzoic acid*, J. Phys. Chem. B, 106, (2002), 1954-1959
- [DAVEY 05] Davey R.J., Black S.N., Cox B.G., Collier E., Towler C., *Crystallisation of Molecular Salts*, Proceedings of Isic 16<sup>th</sup>, Dresden, (2005)
- [DE JONG 84] De Jong E.J., Jancic S.J., *The one or the order*, Proceedings of 9<sup>th</sup> symposium on industrial crystallization, The Hague, Elsevier science, (1984)
- [DEL COURT 01] Delcourt M-O., Bois N., Chouaib F., *Equilibres Chimiques en solution*, Editions De Boeck, (2001)
- [DENIARD 91] Deniard P., Evain M., Barbet J.M., Brec R., *The INEL X-ray position sensitive detector: A study of D-spacing and exposure time*, Materials Science Forum, Vols. 79-82 (1991) pp.363-370
- [DENIARD 09] Deniard P., *Diffraction par les matériaux polycristallins*, 18<sup>ème</sup> Formation à l'IMN Jean Rouxel, (2009)
- [DETOISIEN 09] Detoisien T., Forite M., Taulelle P., Teston J., Colson D., Klein J-P., Veessler S., *A rapid Method for Screening Crystallization Conditions and Phases of an Active Pharmaceutical Ingredient*, Organic Process Research & Development, 13, (2009), 1338-1342
- [DESCAMPS 07] Descamps M., Willart J.F., Dudognon E., Caron V., *Transformation of Pharmaceutical Compounds upon Milling and Comilling: The role of Tg*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 95, 5, (2007), 1398-1407
- [DIRKSEN 91] Dirksen J.A., Ring T.A., *Fundamentals of crystallization: kinetic effects on particle size distributions and morphology*, Chem. Eng. Sci., (1991), 2389-2427
- [DONNAY 37] Donnay J.D.H., Harker D., *A new law of crystal morphology extending the law of Bravais*, Amer. Min., 22, (1937), 446
- [DU CUNY 06] Du Cuny L., *Aqueous solubility of Drug-like compounds*, Thèse de doctorat de l'Université Friedrich Wilhelms de Bonn, (2006)
- [DUMAS 03] Dumas M.L., Ben-Aïm R.I., *Réactions ioniques en solution aqueuse*, L'indispensable, Bréal Editions, (2003)

# E

- [EDWARDS 01] Edwards A.D., Shekunov B.Y., Kordikowski A., Forbes R.T., York P., *Crystallization of pure anhydrous polymorphs of carbamazepine by solution enhanced dispersion with supercritical fluids (SEDS)*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 90, 8, (2001), 1115-1124
- [ESPITALIER 95] Espitalier F., Biscans B., Sere Peyrigain P., Laguérie C., *Ternary diagram: alpha-(benzoylphenyl)-propionic acid (ketoprofen) in acetone-water mixtures at different temperatures*, Experimental data and predicted results, Fluid Phase Equilibria, 113, (1995), 151-171
- [ESPITALIER 97] Espitalier F., Biscans B., Laguérie C., *Particle design, Part A: Nucleation kinetics of ketoprofen*, Chemical Engineering journal, 68, (1997), 95-102

# F

- [FAURE 03] Faure R., *Cristallographie*, Cours CPE Lyon, (2003)
- [FILHO 00] Filho O.C., Rasmussen P., *Modeling of salt solubilities in mixed solvents*, Brazilian Journal of Chemical Engineering, 17, 2, (2000)

# G

- [GAGNIERE 09] Gagnière E., *Etude du procédé de co-cristallisation de molécules d'intérêt pharmaceutique: aspects cinétiques et thermodynamiques*, Thèse de doctorat de l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III, (2009)
- [GARCIA 00] Garcia E., *Etude de la dissolution et de la croissance de principes actifs*, Thèse de doctorat de l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III, (2000)
- [GARNIER 02] Garnier S., Petit S., Coquerel G., *Influence of supersaturation and structurally related additives on the crystal growth of  $\alpha$ -lactose monohydrate*, J. of Crystal Growth, 234, (2002), 207
- [GIRON 07] Giron D., Remy P., Thomas S., Vilette E., *Quantification of amorphicity by microcalorimetry*, Journal of Thermal Analysis, 48, (1997), 465-472
- [GIRON 99] Giron D., *Thermal analysis, Microcalorimetry and Combined Techniques for the Study of Pharmaceuticals*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 56, (1999), 1285-1304
- [GOULD 86] Gould P.L., *Salt Selection for basic drugs*, International Journal of Pharmaceutics, 33, (1986), 201-217

# H

- [HARTMANN 80] Hartmann P., *The attachment energy as a habit controlling factor II, application to corundum*, J. of Crystal Growth, 49, 166, (1980)
- [HERNDL 72] Herndl G., Mersmann A.B., *Fluid dynamics and mass-transfer in stirred suspensions*, Chem. Eng. Commun., 19, (1981), 23-27
- [HILDEBRAND 56] Hildebrand J.H., *The temperature dependance of the solubility of solid nonelectrolytes*, Journal of Chemical Physics, 20, (1952), 190-191
- [HILFIKER 06] Hilfiker R., Stahl P.H., Sutter B., *Polymorphisme in the Pharmaceutical industry: Salt Selection*, Wiley-VCH, (2006)
- [HIRSCH 78] Hirsch C.A., Messenger R.J., Brannon J.L., *Fenoprofen : Drug Form Selection and Preformulation Stability Studies*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 67, 2, (1978)
- [HOLLENBECK 80] Hollenbeck R.G., *Determination of differential heat of solution in real solutions from variation in solubility with temperature*, Journal of Pharmaceutical Science, 69, (1980), 1241-1242

# J

- [JOHDO 05] Johdo O., *Development of industrial crystallization of doxorubicin hydrochloride that has excellent characteristics as an active pharmaceutical ingredient*, VDI-Berichte, 1901, (2005)
- [JONES 05] Jones H.P., Davey R.J., *Crystallization of a Salt of a Weak Organic Acid and Base: Solubility Relations, Supersaturation Control and Polymorphic Behavior*, J. Phys. Chem. B, 109, (2005), 5273-5278
- [JONES 06] Jones H.P., *Crystallisation of Polymorphic Organic Salts*, Thèse de doctorat de l'université de Manchester, (2006)

# K

- [KASHCHIEV 03] Kashchiev D., Van Rosmalen G.M., *Review: nucleation in solution revisited*, Cryst. Res. Technol., (2003), 555-574
- [KLEIN 89] Klein J.P., Boistelle R., *Crystallisation : Aspects théoriques*, Sciences fondamentales des Techniques de l'ingénieur : traité Génie et Procédés Chimiques J1500, (1989)
- [KLINE 00] Kline B.J., Saenz J., Stankovic N., Mitchell M.B., *Polymorph and Particle Size Control of PPAR Compounds PF00287586 and AG035029*, Organic Process Research & Development, 10, (2006), 203-211

- [KOCIK 07] Kociak M., *Introduction à la microscopie électronique*, Collection SFN, 8, (2007), 61-74
- [KOKITKAR 08] Kokitkar P.B., Plocharczyk E., *Modeling Drug Molecule Solubility to Identify Optimal Solvent Systems for Crystallization*, Organic Process Research & Development, 12, 2, (2008), 249-256
- [KRAMER 72] Kramer S.F., Flynn G.L., *Solubility of Organic Hydrochlorides*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 61, 12, (1972), 1896-1904

## L

- [LANGSTON 01] Langston P.A., Jones T.F., *Non-spherical 2-dimensional particle size analysis from chord measurements using Bayes' Theorem*, Particle & Particle Systems Characterization, 18, (2001), 12-21
- [LARKIN 75] Larkin J.A., *Thermodynamic properties of aqueous non-electrolyte mixtures I. Excess enthalpy for water + ethanol at 298,15 to 383,15 K*, J. Chem. Thermodynamics, 7, (1975), 137-148
- [LIETO 98]: Lieto J., Le génie chimique à l'usage des chimistes, Lavoisier Tec & Doc, (1998)
- [LU 03] Lu J. Chow P-S., Carpenter K., *Phase Transitions in Lysozyme Solutions Characterized by Differential Scanning Calorimetry*, Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials, (2003), 105-129

## M

- [MACCALMAN 93] MacCalman M.L., Roberts K.J., *The influence of growth environment on the crystallization of nortriptyline hydrochloride, a tricyclic antidepressant*, Journal of Crystal Growth, 128, (1993), 1218-1224
- [MARCHAL 05] Marchal P., *Procédés de la chaîne du solide humide*, Cours CPE Lyon, (2003)
- [MARKOV 95] Markov I., *Crystal growth for beginners: fundamentals of nucleation, crystal growth and epitaxy*, World scientific (1995)
- [MERSMANN 01] Mersmann A., Crystallization technology handbook, Marcel Dekker, New York, (2001)
- [MESPLEDE 00] Mesplède J., Thermodynamique et matériaux inorganiques – Chimie PC, Bréal éditions, (2000)

- [METTLER 08] *Academia News 4*, Mettler Toledo Editions, (2008)
- [METTLER 09] *Les rencontres de l'Analyse Thermique 2009*, Mettler Toledo Editions, (2009)
- [MILLAN M.J. 08\_A] Millan M.J., Mannoury la Cour C., Novi F., Maggio R., Audinot V., Newman-Tancredi A., Cussac D., Pasteau V., Boutin J-A., Dubuffet T., Lavielle G., *TD901 (N-4-[2-[(3aS,9bR)-8-cyano-1,3a,4,9b-tetrahydro[1]-benzopyranol[3,4-c]pyrrol-2(3H)-yl]-ethyl]phenylacetamide), a preferential Dopamine D3 versus D2 receptor antagonist and potential antipsychotic agent : I. Receptor-binding profile and functional actions at G-protein-coupled receptors*, Pharmacology and experimental pharmacetics, 324, 2, (2008), 587-599
- [MILLAN M.J. 08\_B] Millan M.J., Svenningsson P., Ashby C.R.Jr., Hill M., Egeland M., Dekeyne A., Brocco M., Di Cara B., Lejeune F., Thomasson N., Muñoz C., Mocaër E., Crossman A., Cistarelli L., Girardon N., Iob L., Veiga S., Gobert A., *TD901 (N-4-[2-[(3aS,9bR)-8-cyano-1,3a,4,9b-tetrahydro[1]-benzopyranol[3,4-c]pyrrol-2(3H)-yl]-ethyl]phenylacetamide), a preferential Dopamine D3 versus D2 receptor antagonist and potential antipsychotic agent : II. A neurochemical electrophysiological and behavioral characterization in vivo*, Pharmacology and experimental pharmacetics, 324, 2, (2008), 600-611
- [MILLAN M.J. 08\_C] Millan M.J., Loiseau F., Dekeyne A., Gobert A., Flik G., Cremers T.I., Rivet J-M., Sicard D., Billiras R., *TD901 (N-4-[2-[(3aS,9bR)-8-cyano-1,3a,4,9b-tetrahydro[1]-benzopyranol[3,4-c]pyrrol-2(3H)-yl]-ethyl]phenylacetamide), a preferential Dopamine D3 versus D2 receptor antagonist and potential antipsychotic agent : III. Actions in models of therapeutic activity and induction of side effects*, Pharmacology and experimental pharmacetics, 324, 3, (2008), 1212-1226
- [MIOMANDRE 05] Miomandre F., Sadki S., Audebert P., Méallet-Renault M., Electrochimie, des concepts aux applications, Editions Dunod, (2005)
- [MIYAZAKI 80] Miyazaki S., Oshiba M., Nadai T., *Unusual Solubility and Dissolution Behavior of Pharmaceutical Hydrochloride Salts in Chloride-Containing Media*, International Journal of Pharmaceutics, 6, (1980), 77-85
- [MIYAZAKI 81] Miyazaki S., Oshiba M., Nadai T., *Precaution on Use of Hydrochloride Salts in Pharmaceutical Formulation*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 70, 6, (1981)
- [MONNIER 96] Monnier O., Klein J-P., Hoff C., Ratsimba B., *Particle size determination by laser reflection : Methodology and problems*, Particle and particle systems characterization, 13, 1, (1996), 10-17
- [MONNIER 01\_A] Monnier O., *The use of FBRM to improve an Isomer Separation process*, Lasentec Users Forum, Barcelona, (2001)
- [MONNIER 01\_B] Monnier O., *Pseudo polymorph transition: the use of FBRM and PVM*, Lasentec Users Forum, Barcelona, (2001)
- [MORRIS 94] Morris K.R., Fakes M.G., Thakur A.B., Newman A.W., Singh A.K.S., Venit J.J., Spagnuolo C.J., Serajuddin A.T.M., *An intergrated approach to the*

*selection of optimal salt form for a new drug candidate*, International Journal of Pharmaceutics, 105, (1994), 209-217

[MORISSETTE 04] Morrissette S.L., Almarsson Ö., Peterson M.L., Remenar J.F., Read M.J., Lemmo A.V., Ellis S., Cima M.J., Gardner C.R., *High-throughput crystallization: polymorphs, salts co-crystals and solvates of pharmaceutical solids*, Advanced Drug delivery Reviews, 56, (2004), 275-300

[MULLINS 08] Mullins E., Liu Y.A., Ghadara A., Fast S.D., *Sigma profile database for predicting solid solubility in pure and mixed solvent mixtures for organic pharmacological compounds with COSMO-based thermodynamic methods*, Ind. Eng. Chem. Res., 47, (2008), 1707- 1725

## N

[NYVLT 71] Nyvlt J., Industrial crystallization from solution, Butterworth, (1971)

## O

[OSTWALD 97] Ostwald W., *Studien über die bildung und umwandlung fester körper*, Z Physik Chem, 22, (1897), 289-330

[O'SULLIVAN 03] O'Sullivan B., Barrett P., Hsiao G., Carr A., Glennon B., *In situ monitoring of polymorphic transitions*, Organic Process Research & Development, 7, (2003), 977-982

## P

[PERRIN 81] Perrin D., Dempsey B., Serjeant E.P., *pK<sub>a</sub> prediction for organic acids and bases*, Chapman and hall Ltd, (1981)

[PFEFFER 96] Pfeffer G., Boistelle R., *Control of molecular crystals morphology*, Trans. IChem E, 74 Part A, (1996), 744

[PRESLES 09] Presles B., Debayle J., Rivoire A., Pinoli J-C., Fevotte G., *In situ particle size measurements during crystallization processes using image analysis*, Récents progrès en Génie des Procédés, 98, (2009)

[PUEL 03] Puel F., *Procédés de la chaîne solide*, Cours CPE Lyon, (2003)

[PUEL 04] Puel F., *Polymorphisme dans les procédés de formulation*, Cours CPE Lyon, (2004)

[PUEL 05] Puel F., Veesler S., Mangin D., *Cristallisation : Aspects théoriques*, Techniques de l'ingénieur, J 2 710, (2005)

[PUEL 07] Puel F., *Polymorphisme dans des procédés chimiques*, Formation continue CPE Lyon, (2007)

[PUEL 08] Puel F., Verdurand E., Taulelle P., Bebon C., Colson D., Klein J-P., Veesler S., *Crystallization mechanisms of acicular crystals*, J. of Crystal Growth, 310, (2008), 110-115

## R

[REMENAR 03] Remenar J.F., MacPhee J.M., Larson B.K., Tyagi V.A., Ho J.H., McIlroy D.A., Hickey M.B., Shaw P.B., Almarsson Ö., *Salt Selection and Simultaneous Polymorphism Assessment via High-Throughput Crystallization: The case of Sertraline*, Organic Process Research & Development, 7, (2003), 990-996

[RIGHINI 00] Righini S., *Polymorphic transformation of 2,6-Dihydroxybenzoic acid*, Mphil Thesis, UMIST, (2000)

[RIVED 98] Rived F., Rosés M., Bosch E., *Dissociation constants of neutral and charged acids in methyl alcohol, The acid strength resolution*, Analytica Chimica Acta, 374, (1998), 309-324

[ROUSTAN 91] Roustan M., *Agitation, Mélange, Caractéristiques des mobiles d'agitation*, Techniques de l'ingénieur, A 5902, (1991)

[REID 88] Reid R.C., Prausnitz J.M., Poling B.E., The properties of gases and liquids, McGraw Hill, (1988)

## S

[SACCHETTI 00] Sacchetti M., *General Equations for In Situ Salt Screening of Multibasic Drugs in Multiprotic Acids*, Pharmaceutical Development and Technology, 5(4), 579-582, (2000)

[SCHÖLL 03] Schöll J., Bonalumi D., Vicum L., Mazzotti M., *In situ monitoring and modeling of the solvent-mediated polymorphic transformation of L-glutamic acid*, Crystal Growth and Design, 6,4, (2006), 881-891

[SCHWEICH 01] Schweich D., Génie de la réaction chimique, Lavoisier Tec & Doc, (2001)

[SERAJUDDIN 84] Serajuddin A.T.M, Rosoff M., *pH-Solubility Profil of Papaverine Hydrochloride and its Relationship to the Dissolution Rate of Sustained-Release Pellets*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 73, 9, (1984), 1203-1298

[SERAJUDDIN 85] Serajuddin A.T.M., Jarowski C.I., *Effect of Diffusion Layer pH and Solubility on the Dissolution Rate of Pharmaceutical Bases and Their Hydrochloride Salts I: Phenazopyridine*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 74, 2, (1985)

[SERVIER 07] Servier J., Marseille J., *Le médicament et la vie*, Editions Perrin, (2007)

- [STAHL 02] Stahl P.H., Wermuth C.G., *Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use*, Wiley-VCH, (2002)
- [STRENG 84] Streng W.H., Hsi S.K., Helms P.E., Tan H.G.G., *General Treatment of pH-solubility Profiles of Weak Acids and Bases and the Effects of Different Acids on the Solubility of a Weak Base*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 73, 12, (1984)

## T

- [TABORA 04] Tabora J.E., *Solubility Prediction and the Design of Crystallization Processes*, Document institutionel Merck, (2004)
- [TÄHTI 99] Tähti T., Louhi-Kultanen M., Palosaari S., 14th International Symposium on Industrial Crystallization, IChemE Publisher, Cambridge, (1999)
- [TANTISHAIYAKUL 04] Tantishaiyakul V., *Prediction of aqueous solubility of organic salts of diclofenac using PLS and molecular modeling*, International Journal of Pharmaceutics, 275, (2004), 133-139
- [TAULELLE 07] Taulelle P., *Etude de l'influence d'ajout d'additifs lors de la cristallisation de molécules pharmaceutiques*, Thèse Université Paul Cézanne, (2007)
- [THRELFALL 00] Threlfall T., *Crystallisation of polymorphs : Thermodynamic Insight into the Role of Solvent*, Organic Process Research & Development, 4, (2000), 384-390
- [TRIFKOVIC 07] Trifkovic M., Rohani S., *Polymorphic Generation through Solvent Selection: Ranitidine Hydrochloride*, Organic Process Research & Development, 11, 1, (2007), 138-143
- [TROOST 68] Troost S., *Influence of surface-active agents on the crystal growth of sodium triphosphate hexahydrate*, J. of Crystal Growth, 3(4), (1968), 340
- [TUNG 08] Tung H-H., Tabora J., Variankaval N., Bakken D., Chen C-C., *Predictions of Pharmaceutical Solubility Via NRTL-SAC and COSMO-SAC*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 97, 5, (2008), 1813-1820

## V

- [VACHON 87] Vachon M.G., Grant D.J.W., *Enthalpy-Entropy compensation in pharmaceutical solids*, International Journal of Pharmaceutics, 40, (1987), 1-14
- [VAN'T HOFF 86] van't Hoff J.H., *L'équilibre chimique dans les systèmes gazeux ou dissous à l'état dilué*, Nature, 20, (1886), 239-302
- [VEESLER 97] Veessler S., Lefrançois B., *Enthalpies de dissolution dans l'eau de composés minéraux*, Techniques de l'ingénieur, K 592, (1997)

[VEESLER 04] Veessler S., Ferté N., Costes M-S., Czjzek M., Astier J-P., *Temperature and pH effect on the polymorphisme of Aprotinin (BPTI) in sodium bromide solutions*, Crystal Growth and Design, 4, 6, (2004), 1137-1141

[VEESLER 05] Veessler S., Puel F., *Polymorphisme dans les procédés de cristallisation en solution*, STP Pharma Pratiques, 15(1), (2005)

[VERDURAND 05] Verdurand E., Bebon C., Colson D., Klein J.P., Blandin A.F., Boussoutrot J.M., *Secondary nucleation and growth of organic crystals in industrial crystallization*, J. Cryst. Growth, (2005), 1363-1367

## W

[WASSVICK 06] Computational Analysis of Aqueous Drug Solubility – influence of the Solid State, Thèse de doctorat de l'Université d'Uppsala, (2006)

[WEISSBUCH 01] Weissbuch I., Leiserowitz L., Lahav M., *Tailor made additives and impurities*, Crystallization technology handbook, Marcel Dekker Ed., New York, (2001), 401.

[WERMUTH 96] Wermuth C.G., *The practice of Medicinal Chemistry*, Academic Press, (1996)

[WILKE 55] Wilke C.R., Chang P., *Correlations of diffusion coefficients in dilute solutions*, AIChE J., 1, 264, (1955)

[WORLITSCHKEK 03] Worlitschek J., *Monitoring modelling and optimization of batch cooling crystallization*, Thèse ETH Zürich, (2003)

## Y

[YALKOWSKY 81] Yalkowsky S.H., *Solubility and partitioning V : Dependence of solubility on melting point*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 70(8), (1981), 971-973

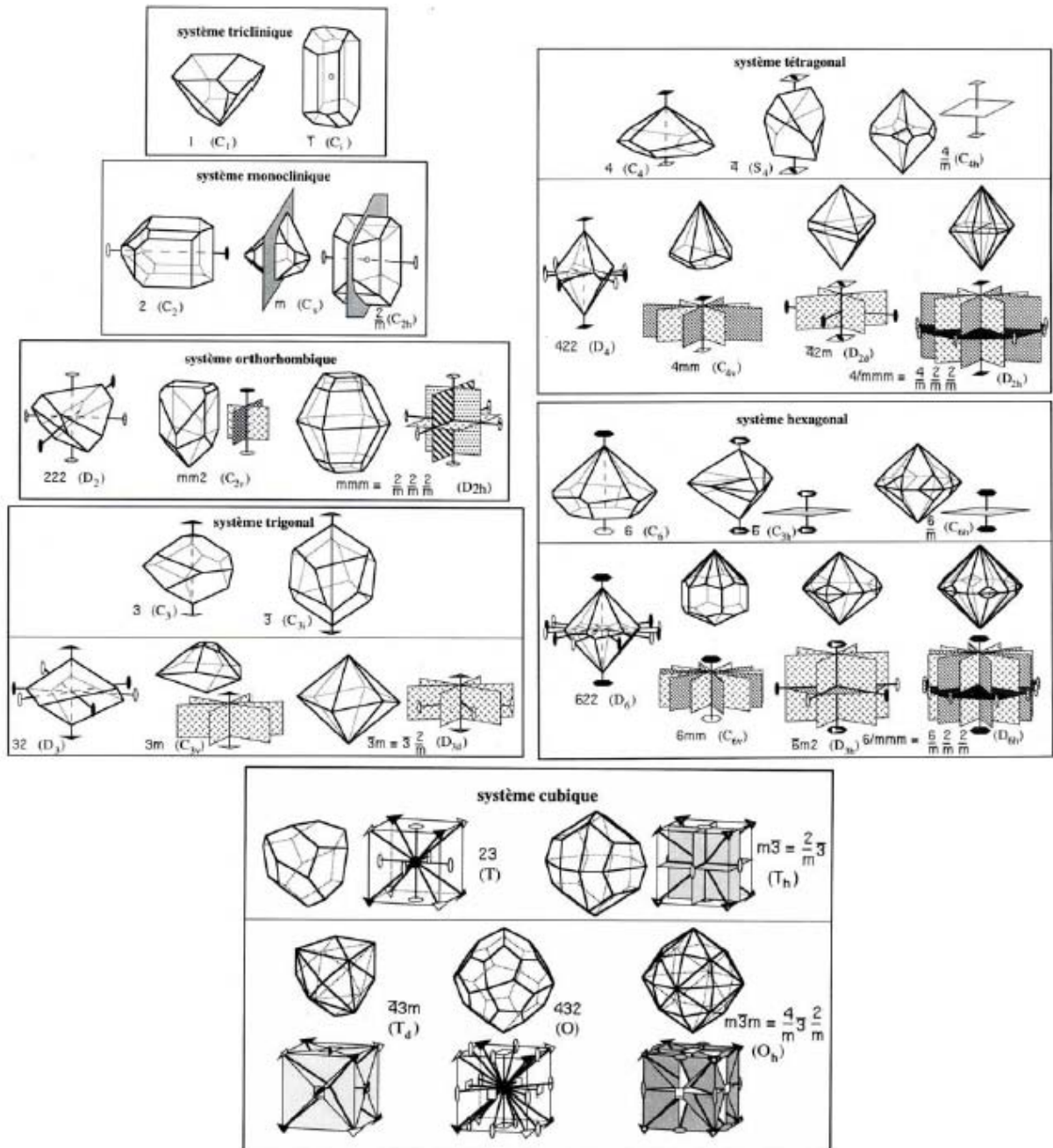
## Z

[ZBAIDA 00] Zbaida D., Lahav M., Drauz K., Knaup G., Kottenhahn M., *A cyclic continuous process for converting conglomerates into optically pure enantiomers by crystallization and dissolution with the assistance of Tailor made polymers*, Tetrahedron, 56, (2000), 6645

[ZEMAITIS 86] Zemaitis J.F.Jr, Clark D.M., Rafal M., Scrivner N.C., Handbook of aqueous electrolyte thermodynamics, AIChE Edition, (1986)

# ***Annexes***





Annexe A : Représentation 3D des 32 classes cristallines [BOUCHET 09]

Systèmes cristallins	Groupe ponctuels	Groupes d'espace
Triclinique	1	P1
	$\bar{1}$	$P\bar{1}$
Monoclinique	2	P2 P <sub>2</sub> C <sub>2</sub>
	m	Pm Pc Cm Cc
	2/m	P2/m P <sub>2</sub> /m C <sub>2</sub> /m P <sub>2</sub> /c P <sub>2</sub> /c C <sub>2</sub> /c
Orthorhombique	222	P222 P <sub>2</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>2</sub> 1 <sub>2</sub> 1 <sub>2</sub> P <sub>2</sub> 1 <sub>2</sub> 1 <sub>2</sub> C <sub>2</sub> 2 <sub>2</sub> C <sub>2</sub> 2 <sub>2</sub> F <sub>2</sub> 2 <sub>2</sub> I <sub>2</sub> 2 <sub>2</sub> I <sub>2</sub> 1 <sub>2</sub> 1 <sub>2</sub>
	mm2	Pmm2 Pmc <sub>2</sub> Pcc <sub>2</sub> Pma <sub>2</sub> Pca <sub>2</sub> Pnc <sub>2</sub> Pmn <sub>2</sub> Pba <sub>2</sub> Pna <sub>2</sub> Pnn <sub>2</sub> Cmm <sub>2</sub> Cmc <sub>2</sub> Ccc <sub>2</sub> Amm <sub>2</sub> Abm <sub>2</sub> Ama <sub>2</sub> Aba <sub>2</sub> Fmm <sub>2</sub> Fdd <sub>2</sub> Imm <sub>2</sub> Iba <sub>2</sub> Ima <sub>2</sub>
	mmm	Pmmm Pnnn Pccm Pban Pmma Pnna Pmna Pcca Pbam Pccn Pbcm Pnnm Pmnm Pbcn Pbca Pnma Cmcm Cmca Cmmm Cccm Cmma Ccca Fmmm Fddd Immm Ibam Ibca Imma
Tétragonal	4	P4 P <sub>4</sub> P <sub>4</sub> P <sub>4</sub> I <sub>4</sub> I <sub>4</sub>
	$\bar{4}$	$P\bar{4}$ $I\bar{4}$
	4/m	P <sub>4</sub> /m P <sub>4</sub> /m P <sub>4</sub> /n P <sub>4</sub> /n I <sub>4</sub> /m I <sub>4</sub> /a
	422	P <sub>4</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 1 <sub>2</sub> 2 P <sub>4</sub> 1 <sub>2</sub> 2 P <sub>4</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> 2 P <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> 2 I <sub>4</sub> 2 <sub>2</sub> I <sub>4</sub> 1 <sub>2</sub> 2
	4mm	P <sub>4</sub> mm P <sub>4</sub> bm P <sub>4</sub> cm P <sub>4</sub> nm P <sub>4</sub> cc P <sub>4</sub> nc P <sub>4</sub> mc P <sub>4</sub> bc I <sub>4</sub> mm I <sub>4</sub> cm I <sub>4</sub> md I <sub>4</sub> Cd
	$\bar{4}m$	$P\bar{4}2m$ $P\bar{4}2c$ $P\bar{4}2_1m$ $P\bar{4}2_1c$ $P\bar{4}m2$ $P\bar{4}c2$ $P\bar{4}b2$ $P\bar{4}n2$ $I\bar{4}m2$ $I\bar{4}c2$ $I\bar{4}2m$ $I\bar{4}2d$
4/mmm	P <sub>4</sub> /mmm P <sub>4</sub> /mcc P <sub>4</sub> /nbm P <sub>4</sub> /nnc P <sub>4</sub> /mbm P <sub>4</sub> /mnc P <sub>4</sub> /mmm P <sub>4</sub> /ncc P <sub>4</sub> /mmc P <sub>4</sub> /mcm P <sub>4</sub> /nbc P <sub>4</sub> /nmm P <sub>4</sub> /mbc P <sub>4</sub> z/mmm P <sub>4</sub> z/nmc P <sub>4</sub> z/nem I <sub>4</sub> /mmm I <sub>4</sub> /mcm I <sub>4</sub> /amd I <sub>4</sub> /acd	
Rhomboédrique	3	P3 P <sub>3</sub> P <sub>3</sub> R <sub>3</sub>
	$\bar{3}$	$P\bar{3}$ $R\bar{3}$
	32	P <sub>3</sub> 1 <sub>2</sub> P <sub>3</sub> 2 <sub>1</sub> P <sub>3</sub> 1 <sub>2</sub> P <sub>3</sub> 2 <sub>1</sub> P <sub>3</sub> 2 <sub>1</sub> P <sub>3</sub> 2 <sub>1</sub> R <sub>3</sub> 2
	3m	P <sub>3</sub> ml P <sub>3</sub> 1m P <sub>3</sub> cl P <sub>3</sub> 1c R <sub>3</sub> m R <sub>3</sub> c
	$\bar{3}m$	$P\bar{3}1m$ $P\bar{3}1c$ $P\bar{3}ml$ $P\bar{3}cl$ $R\bar{3}m$ $R\bar{3}c$
Hexagonal	6	P6 P <sub>6</sub> P <sub>6</sub> P <sub>6</sub> P <sub>6</sub> P <sub>6</sub>
	$\bar{6}$	$P\bar{6}$
	6/m	P <sub>6</sub> /m P <sub>6</sub> /m
	622	P <sub>6</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>6</sub> 1 <sub>2</sub> 2 P <sub>6</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>6</sub> 2 <sub>2</sub> P <sub>6</sub> 4 <sub>2</sub> 2 P <sub>6</sub> 3 <sub>2</sub> 2
	6mm	P <sub>6</sub> mm P <sub>6</sub> cc P <sub>6</sub> cm P <sub>6</sub> mc
	$\bar{6}m$	$P\bar{6}m2$ $P\bar{6}c2$ $P\bar{6}2m$ $P\bar{6}2c$
6/mmm	P <sub>6</sub> /mmm P <sub>6</sub> /mcc P <sub>6</sub> /mcm P <sub>6</sub> /mmc	
Cubique	23	P <sub>2</sub> 3 F <sub>2</sub> 3 I <sub>2</sub> 3 P <sub>2</sub> 1 <sub>3</sub> I <sub>2</sub> 1 <sub>3</sub>
	$m\bar{3}$	$Pm\bar{3}$ $Pn\bar{3}$ $Fm\bar{3}$ $Fd\bar{3}$ $Im\bar{3}$ $Pa\bar{3}$ $Ia\bar{3}$
	432	P <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> F <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> F <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> I <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> P <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub> I <sub>4</sub> 3 <sub>2</sub>
	$\bar{4}3m$	$P\bar{4}3m$ $F\bar{4}3m$ $I\bar{4}3m$ $P\bar{4}3n$ $F\bar{4}3c$ $I\bar{4}3d$
	$m\bar{3}m$	$Pm\bar{3}m$ $Pn\bar{3}n$ $Pm\bar{3}n$ $Pn\bar{3}m$ $Fm\bar{3}m$ $Fm\bar{3}c$ $Fd\bar{3}m$ $Fd\bar{3}c$ $Im\bar{3}m$ $Ia\bar{3}d$

Annexe B : Les 230 groupes d'espace cristallographiques [BOUCHET 09]

Solvant	PF (°C)	PE (°C)	$\epsilon$	pKi
Acétone	-95	56	21	
Acétonitrile	-44	82	36,6	19,5
Acide acétique	17	118	6,2	~15
Acide fluorhydrique	-83	20	83,6 (0°C)	10,7 (0°C)
Acide sulfurique	10	330	110	2,9
Ammoniaque	-78	-33	16,6	~30
Benzène	5	80	2,3	
Chloroforme	-63	61	4,4	
Dioxane 1,4	12	101	2,2	
Eau	0	100	78,5	14
Ethanol	-114	78	25,3	19
N-méthyle acétamide	28	205	179 (30°C)	
Tétrachlorure de carbone	-23	77	2,2	
Tétrahydrofurane	-108	65	7,5	

Données mesurées sous 1 atmosphère,  $\epsilon$  à 25°C relative à  $\epsilon_0$ , pKi, à 25°C

Alcool % en poids	$\epsilon$ (à 20°C)						
	MeOH	EtOH	n-Propanol	IPA	t-Butanol	Glycérol	Ethylèneglycol
0	80,4	80,4	80,4	80,4	80,4	80,4	80,4
10	75,8	74,6	73,5	73,1	70,3	77,5	75,6
20	71,0	68,7	66,5	65,7	61,3	74,7	72,8
30	66,0	62,6	59,2	58,4	52,6	71,8	69,8
40	61,2	56,5	51,7	51,1	43,9	68,8	66,6
50	56,5	50,4	44,3	43,7	35,4	65,6	63,2
60	51,5	44,7	37,5	36,3	27,9	62,0	59,4
70	46,5	39,1	31,6	29,6	21,4	57,1	54,7
80	41,5	33,9	26,8	24,4	26,5	52,3	49,3
90	36,8	29,0	23,3	20,95	12,4	47,0	43,7
100	32,3	25,0	20,8	18,6	9,9	41,1	37,7

Annexe C : Propriétés physiques de quelques solvants

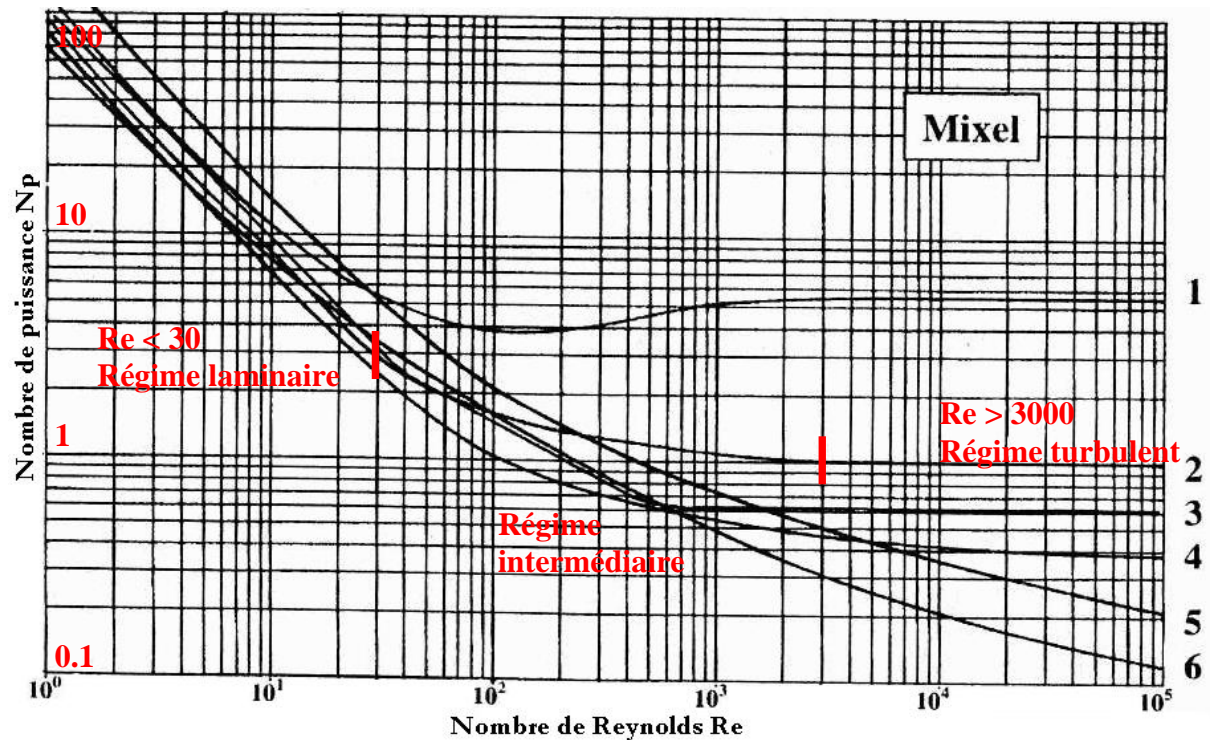
Type de sel	Exemples
<b>Anions</b>	
Sels inorganiques	Chlorhydrate, Bromhydrate, Sulfate, Nitrate, Phosphate
Acides sulfoniques	Mesylate, Esylate, Isethionate, Tosylate, Napsylate, Besylate
Acides carboxyliques	Acetate, Propionate, Maleate, Benzoate, Salicylate, Fumarate
Acides aminés anioniques	Glutamate, Aspartate
Hydroxy-acides	Citrate, Lactate, Succinate, Tartrate, Glycolate
Acides gras	Hexanoate, Octanoate, Decanoate, Oleate, Stearate
Acides pour sels insolubles	Pamoate, Resinate (polystyrene sulfonate)
<b>Cations</b>	
Métaux	Sodium, Potassium, Calcium, Magnésium, Zinc
Amines organiques	Triethylamine, Ethanolamine, Triethanolamine, Meglumine, Ethylene diamine, Choline
Acides aminés cationiques	Arginine, Lysine, Histidine
Bases pour sels insolubles	Procaine, Benzathine

Acide	pK <sub>a1</sub>	PK <sub>a2</sub>	PK <sub>a3</sub>
Iodhydrique	-8		
Chlorhydrique	-6		
Bromhydrique	-6		
Sulfurique	-3	1,92	
Toluène sulfonique	-1,34		
Nitrique	-1,32		
Méthane sulfonique	-1,2		
Maléique	1,92	6,23	
Phosphorique	1,96	7,12	12,32
Embonique	2,51	3,1	
L(+)- Tartrique	3,02	4,36	
Fumarique	3,03	4,38	
Citrique	3,13	4,76	6,40
D,L Lactique	3,86		
Succinique	4,19	5,48	
Acétique	4,76		
<b>Base</b>			
Sodium	14		
Potassium	14		
Zinc	~14		
Choline	13,9		
L- Arginine	13,2	9,09	2,18
Calcium	12,7		
Magnésium	11,4		
Diethylamine	10,93		
L-Lysine	10,79	9,18	2,16
Ammonium	9,27		
Meglumine	8,03		
Tromethamine	8,02		

Annexe D : Quelques exemples de sels courants et pKa à 25°C [STAHL 02][HILFIKER 06]

x	H <sup>E</sup> (J/mol)	x	H <sup>E</sup> (J/mol)	x	H <sup>E</sup> (J/mol)
298.15K					
0.3018	99.8	0.4737	116.3	0.6044	109.1
0.4005	112.4	0.4972	115	0.7047	95.9
0.4454	115.6	0.5430	114		
323.15K					
0.0365	-262	0.02932	-300.8	0.7495	3.7
0.0725	-399.9	0.4020	-196.9	0.7971	-3.9
0.1165	-448.7	.05017	-121	0.8453	0.1
0.1549	-433.3	0.5993	-80.7	0.8958	-1.9
0.1971	-414.5	0.6969	-53.1	0.9450	2.7
331.15K					
0.0302	-181.4	0.2999	-187.1	0.6981	2.1
0.0706	-298.4	0.3981	-91.6	0.7511	0.5
0.0922	-335.5	0.4987	-19.1	0.7936	-0.6
0.1082	-336.3	0.5475	4.2	0.8472	1.4
0.1446	-331.1	0.5968	18.4	0.8959	0
0.2001	-288.7	0.6465	26.1	0.9425	0.4
343.15K					
0.0303	-108.7	0.2402	-92.2	0.5889	0.3
0.0596	-173.7	0.3021	-24.8	0.6976	-2.1
0.0896	-200.1	0.3514	22.8	0.7439	-4.8
0.1238	-194	0.3962	61.6	0.8022	-5.7
0.1239	-169.4	0.4502	101.3	0.8457	-2.2
0.1697	-160.9	0.4980	129.7	0.8957	4.2
0.1905	-149.9	0.5802	151.3		
363.15K					
0.0206	-36	0.1517	15.6	0.4012	-4.6
0.0462	-59.3	0.1958	85.7	0.5007	5.9
0.0677	-61.9	0.2024	89.1	0.6968	7.7
0.1005	-36.6	0.2999	227.8	0.8833	1.5
0.1383	7	0.3022	238.4		
383.15K					
0.0396	19.7	0.2020	315.8	0.5962	3
0.0789	75.7	0.3033	462.3	0.6944	1.4
0.1199	145.4	0.3964	543.5	0.7982	-10.2
0.1491	202.3	0.4948	599.8	0.8967	6.2

Annexe E : Enthalpies d'excès pour les mélanges Eau + (x) Ethanol de 25 à 110°C [LARKIN 75]



- |                                  |                           |
|----------------------------------|---------------------------|
| 1 : Turbine six pales droites    | 4 : Hélice profil TTP     |
| 2 : Hélice profil TT             | 5 : Ancre tubulaire       |
| 3 : Impeller avec peigne chicane | 6 : Turbine de dispersion |

Annexe F : Nombre de puissance en fonction du Reynolds, quelques exemples de mobile d'agitation MIXEL [LIETO 98]

L'extrapolation d'une vitesse d'agitation dans un réacteur à un autre se fait en général à puissance dispersée par unité de volume constant, mais il est envisageable de tenir un raisonnement équivalent à vitesse en bout de pale constante ou à nombre de Reynolds constant.

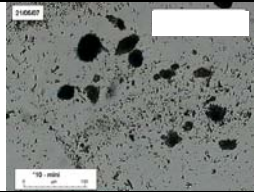

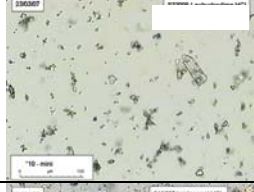
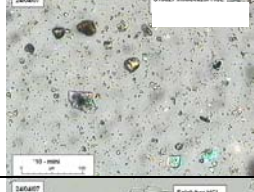

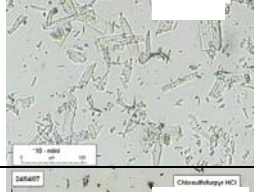
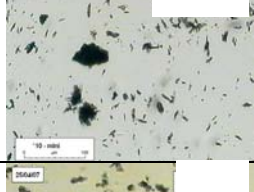
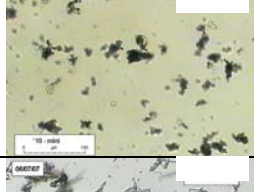

$$\frac{Np_1 * \rho_1 * N_1^3 * D_1^5}{V_1} = \frac{Np_2 * \rho_2 * N_2^3 * D_2^5}{V_2}$$

Si les conditions de température et de concentration de la suspension sont équivalentes :  $\rho_1 = \rho_2$ . Aussi, les agitateurs sont du même type et les réacteurs homothétiques :  $Np_1 = Np_2$ , il est possible d'écrire :

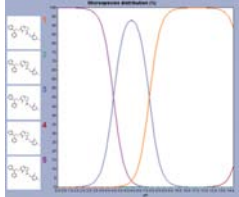
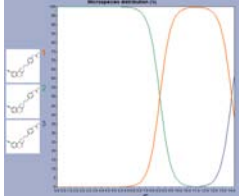
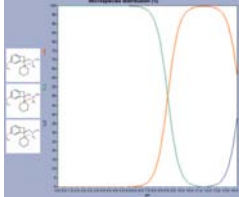
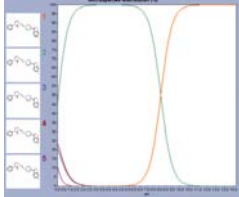
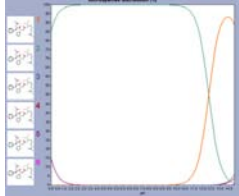
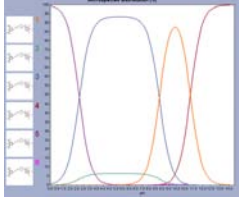
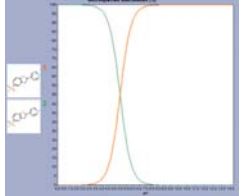
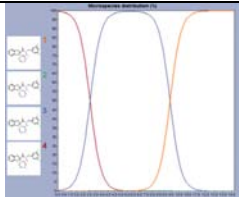
$$N1 = N2 * \left[ \frac{V1}{V2} * \left( \frac{D2}{D1} \right)^5 \right]^{1/3}$$

Connaissant les conditions d'agitation d'un procédé de référence (vitesse d'agitation, diamètre de l'agitateur, unité opératoire UO), il est facile de calculer la vitesse d'agitation à d'autres échelles. (On utilise préférentiellement UO1/UO2 au lieu de V1/V2).

Annexe G : Intrapolation / Extrapolation des vitesses d'agitation pour des réacteurs homothétiques

Produit	Formules développées (base)	Images microscopie	Phases
Fepy. S HCl			Deux phases, aux faciès différents
Cyap HCl			Au moins deux phases
Levh. HCl			Une seule phase
Imid. HCl			Deux phases, aux faciès différents
Falg. HCl	$\text{H}_2\text{C} \quad \text{OH}$		Produit totalement amorphe (DRX)
Tiof. 2 HCl	$\text{H}_2\text{C} \quad \text{CH} \quad \text{CH}$		Trois phases, aux faciès différents
Clos. HCl			Une seule phase
Dazo. HCl	Formule développée Non communiquée		Une seule phase
Pipe. 2 HCl	$\text{F}$		Une seule phase

Annexe H : Synthèse sur 9 produits Oril - partie 1

Produit	Solubilités	Profil $f_{(p\%)}=f(\text{pH})$	Retour Base – Dosage – Disponibilité produits
Fepy. S HCl	Eau, MeOH, faible solubilité dans EtOH		Retour simple non possible (clivage chimique) – Produit (base et sel) encore facile à obtenir chez Oril
Cyap HCl	Eau, MeOH, EtOH		Produit encore en développement au début de la thèse, quantités disponibles
Levh. HCl	Eau, MeOH, EtOH, CH3Cl		Démixtion de la base dans l'eau – Produit mort
Imid. HCl	MeOH, EtOH, CH3Cl, Insoluble dans l'eau		Retour base difficile dans l'eau – Produit mort
Falg. HCl	Très forte solubilité dans l'eau et les alcools (>1000g/L)		Falg. trop soluble dans l'eau pour nucléaire – Produit mort
Tiof. 2 HCl	MeOH, EtOH, CH3Cl, démixtion dans l'eau		Démixtion de Tiof. – Produit mort
Clos. HCl	Insoluble dans les solvants testés		Retour base dans l'eau impossible – Produit mort
Dazo. HCl	Insoluble dans les solvants testés		Dazo., peut être sous phase huileuse dans l'eau – Produit mort
Pipe. 2 HCl	MeOH, EtOH		Retour base dans l'eau impossible – Produit mort

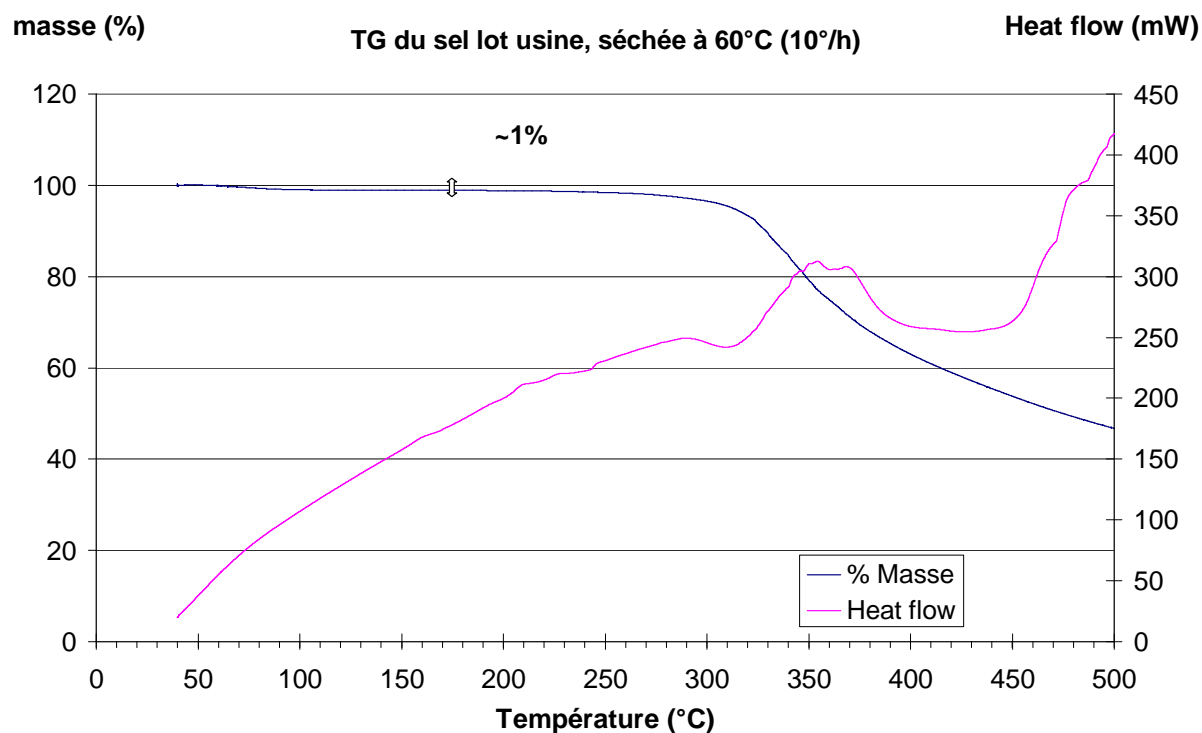
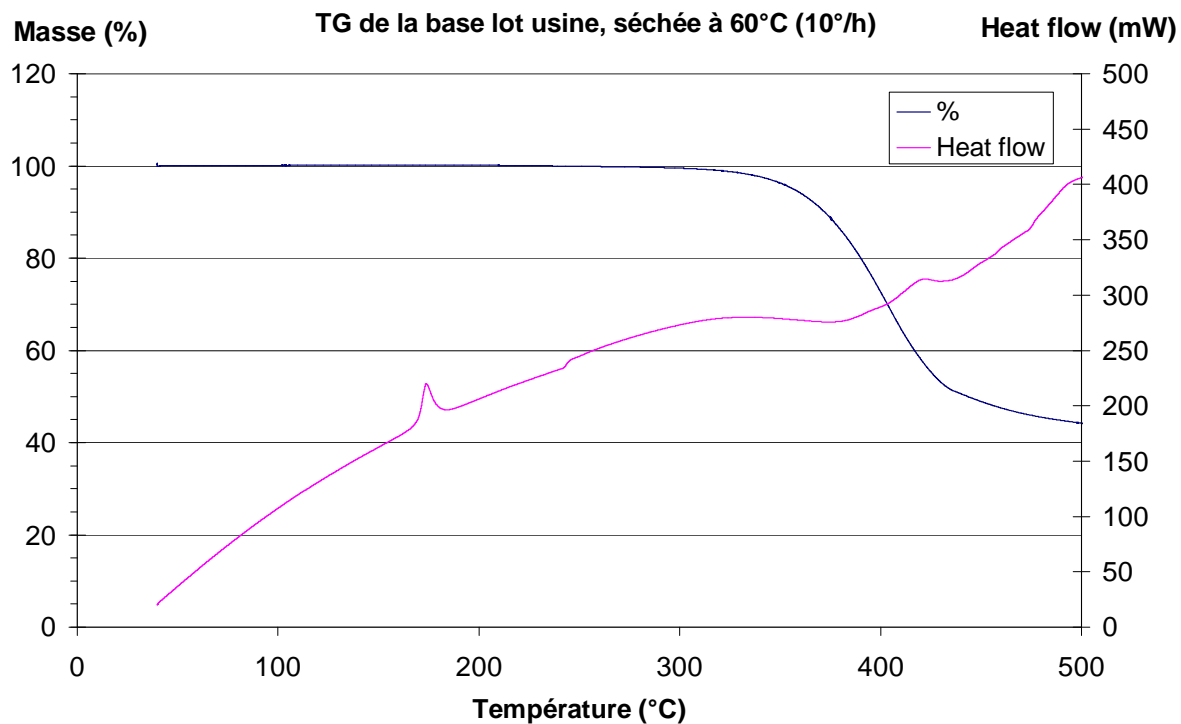
Annexe I : Synthèse sur 9 produits Oril - partie 2

ORIL INDUSTRIE		FICHE DE SECURITE SIMPLIFIEE		Mise à jour : 20/09/2007
Aspect : <b>Solide</b> Densité : <b>Non Disponible</b> pH : <b>Non Disponible</b>		Point Eclair : Non Applicable T° Auto Inflamm.: <b>Non Disponible</b>		Point éb. : Non Applicable Point fusion : Non Disponible
	-R62 Risque possible d'altération de la fertilité. -R25 Toxique en cas d'ingestion. -S45 En cas d'accident et de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette) -S36/37 Porter un vêtement de protection et des gants appropriés <b>REPROTOXIQUE CATEGORIE 3</b> : Substance préoccupante pour la fertilité dans l'espèce humaine. Profil toxicologique non défini complètement			
<b>Incompatibilité :</b>		Non Disponible		
<b>Inflammabilité/explosivité :</b>		LIE : Non Disponible LSE : Non Disponible		
<b>Réactivité :</b>		Non Disponible		
<b>Corrosion :</b>		Non Disponible		
<b>EPI :</b>		- Mettre les EPI adaptés. Minimum requis : masque à poussière type P3. - Port des gants et lunettes obligatoire.		
<b>Précautions de manipulation / Stockage</b>		- Bien se laver les mains après manipulation - Utiliser seulement sous hotte pour émanation chimique - Privilégier l'utilisation en vase clos. - Prévoir douche de sécurité et fontaine oculaire - Conserver le récipient bien fermé - Conserver la poudre à 4°C dans un récipient fermé		
ACCIDENT	CONDUITE A TENIR	BOLBEC 399	BACLAIK 43000	
	<b>Fuite / épandage</b> - Ramasser le produit en évitant de le disperser dans l'air. - Placer dans un récipient pour destruction.			
	<b>Feu</b> Produits de décomposition : - COx, NOx, HCN Extinction Préconisée : - Intervenir avec de la poudre polyvalente, du CO2 ou de la mousse physique Protection : - Port de l'A.R.I. obligatoire			
	<b>Personne Accidentée</b> <b>Projection :</b> - En cas de projections oculaires : laver immédiatement et abondamment à l'eau pendant au moins 15 minutes et consulter un médecin - En cas de projections cutanées : laver immédiatement et abondamment à l'eau pendant au moins 15 minutes et consulter un médecin <b>Inhalation :</b> - Sortir la victime de la zone polluée. - Prévenir le Service Médical. <b>Ingestion :</b> - Prévenir le Service Médical.			

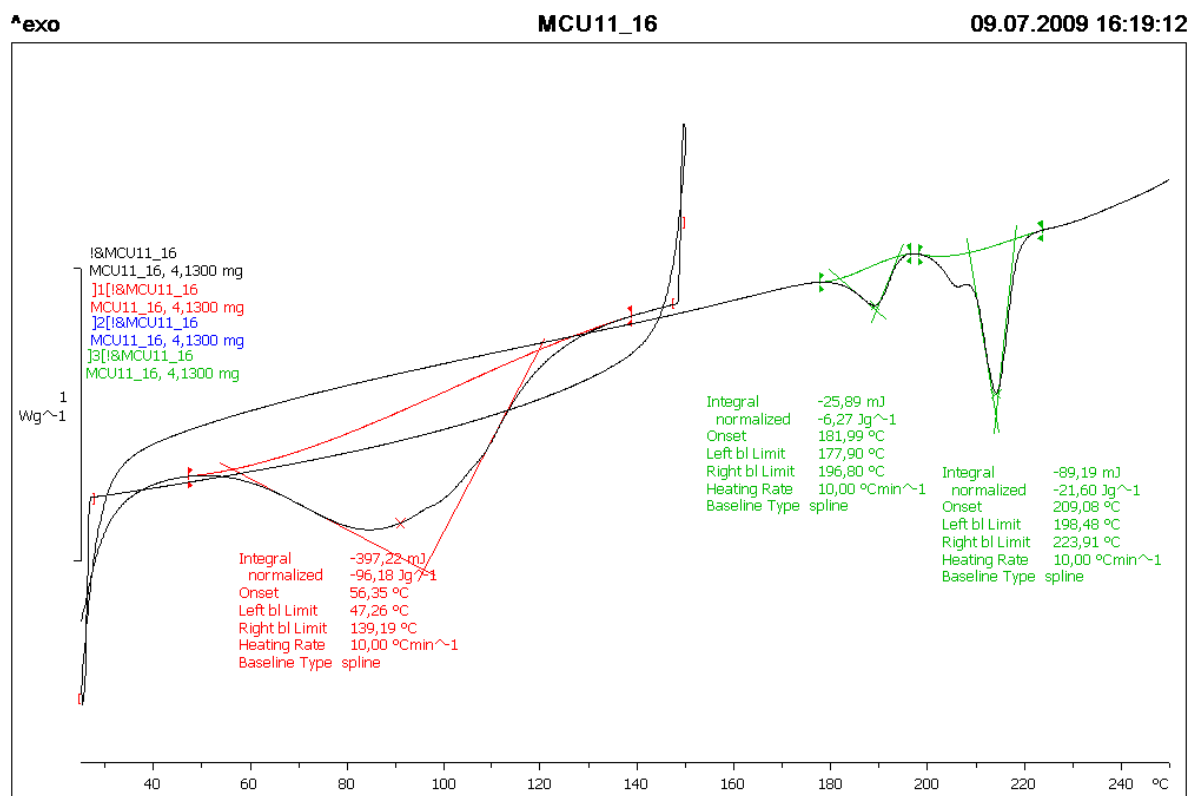
En cas de déversement accidentel, fermer la vanne de rejet vers la rivière et dévier les eaux pluviales vers le bassin de confinement. Prévenir les services de sécurité au 399 ou de l'environnement au 33335

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que c'est bien la dernière version mise à jour.

### Annexe J : Fiche de sécurité simplifiée de la base TD901



Annexes K et L: Analyses TG de la base et du sel, préalablement séchée à 60°C pendant 2 heures



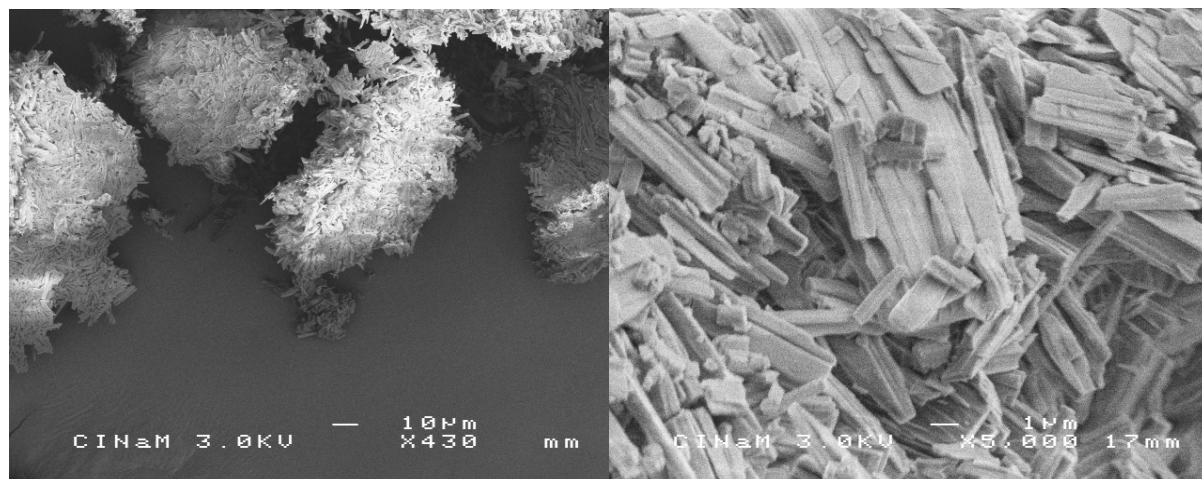
Lab: METTLER

STAR® SW 9.10

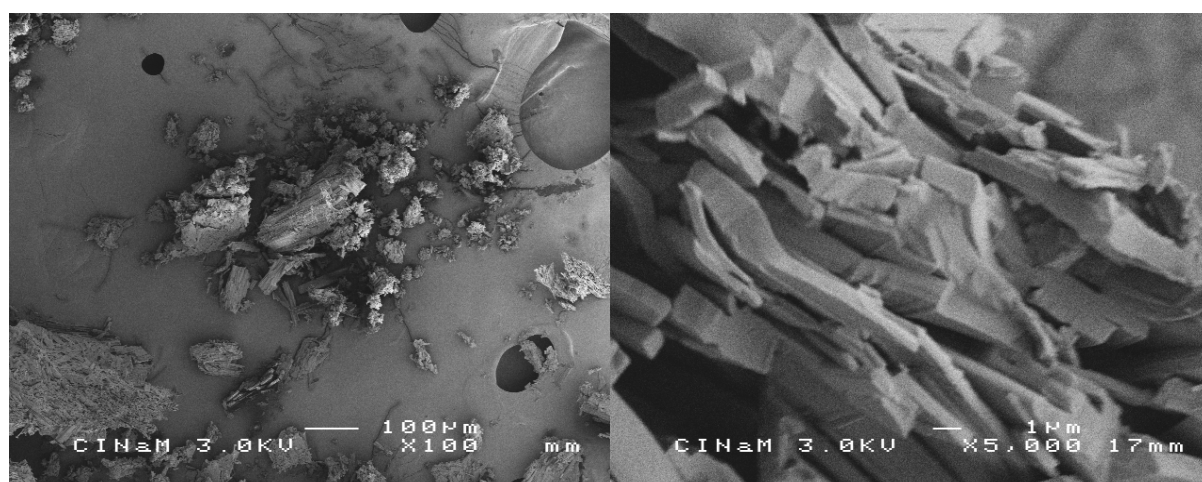
Annexe M: Analyses DSC du sel Chauffage/Refroidissement/Chauffage 25°C /150°C /25°C  
/250°C à 10°C.min<sup>-1</sup>

Solvant	Constantes physiques		Solubilité approchée		Remarques
	Teb°C (1atm)	Densité	A 20°C	Au reflux	
Eau	100	1	12,2	333	Coloré, Recristallise après reflux sous un gel
Ethanol	78	0,791	<7,7	27,7	Sédimente, léger insoluble à 11,9 g/L
Isopropanol	82	0,785	<10	<10	Sédimente
Acétate d'éthyle	77	0,901	<10	<10	
Acétone	56	0,791	<10	<10	Gel
Butanol	118	0,81	<10	19,2	Recristallise
DMAC	165	0,937	142,8	1000	Recristallise
DMF	153	0,95	12,2	500	Trouble
DMSO	189	1,101	250	Très élevée	
MIBK	117	0,801	<10	<10	Gel à reflux
MEC	80	0,806	<10	<10	Gel

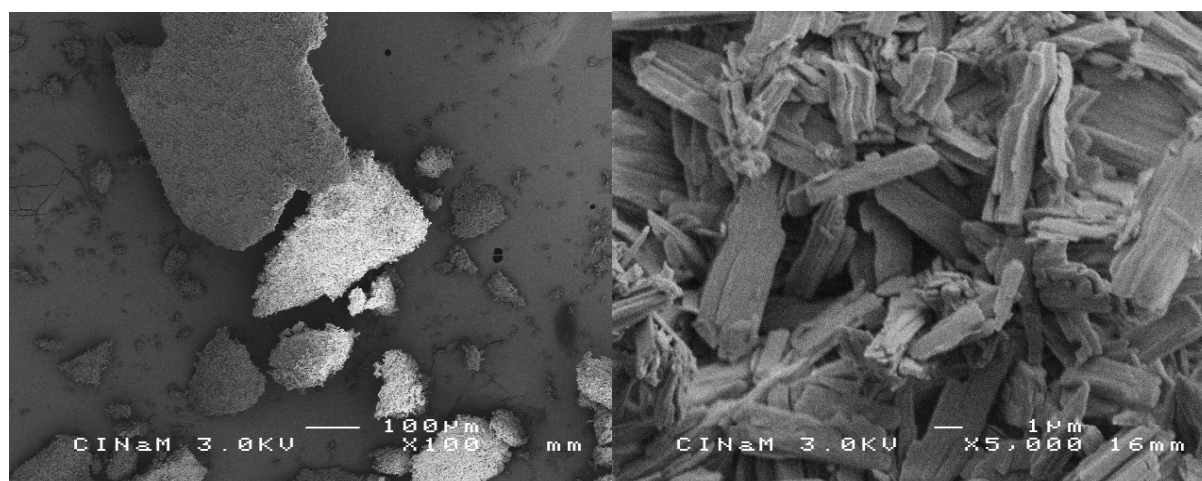
Annexe N : Solubilité du sel TD901 dans différents solvants (document Oril industrie)



Phase A – Ethanol

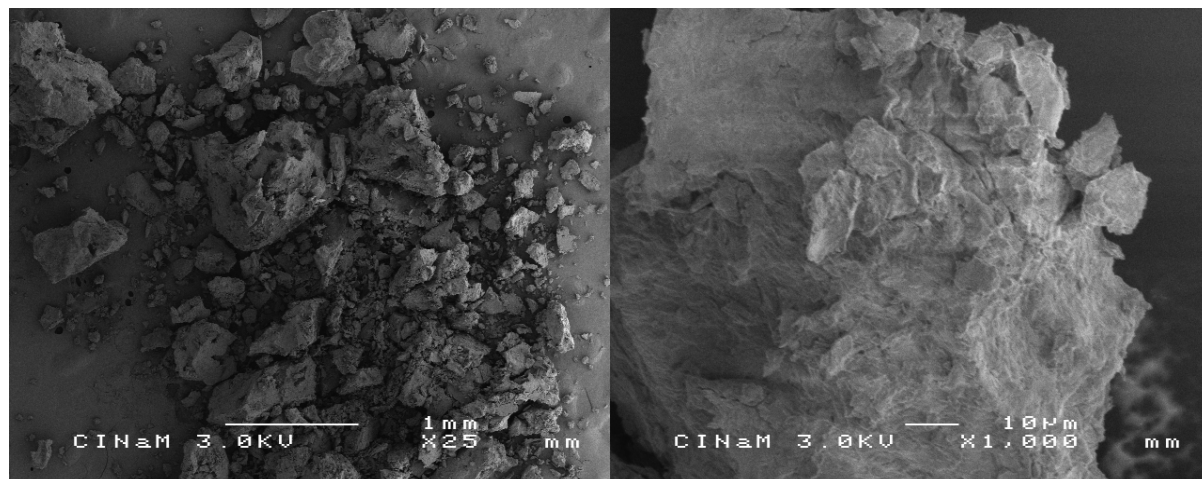


Phase B – Eau

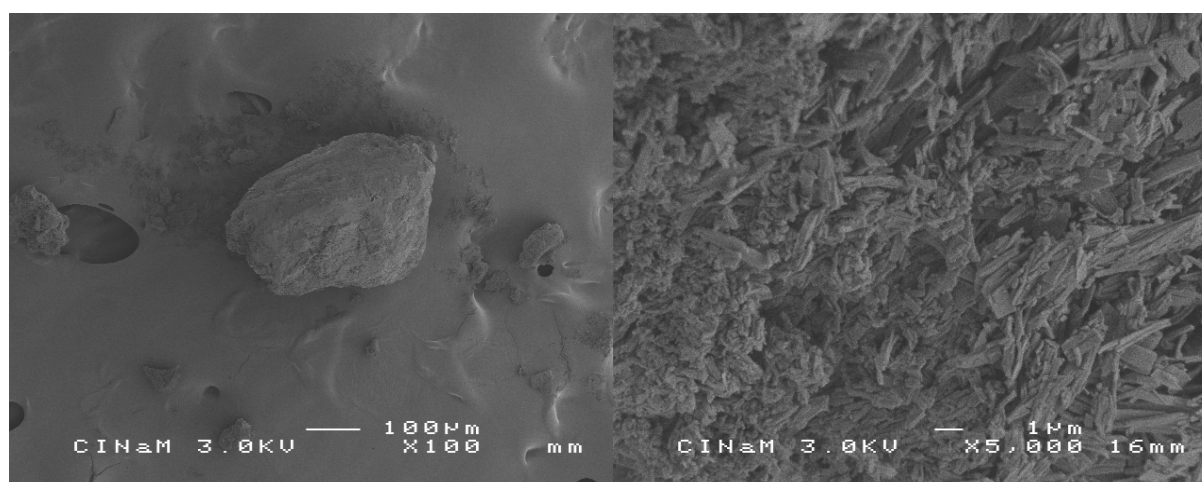


Phase C – Pentanol

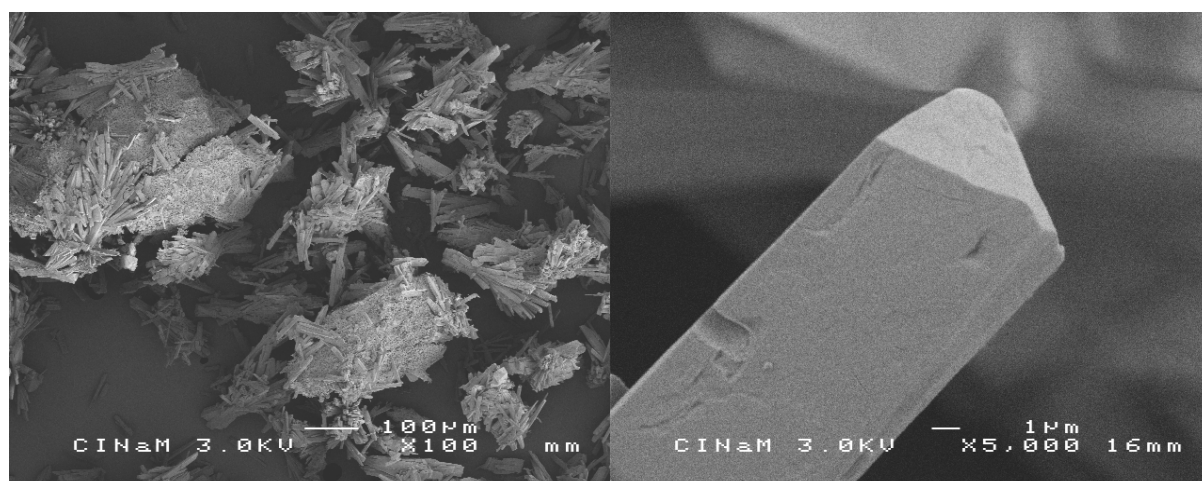
Annexe O : Photos MEB des différentes phases polymorphiques (1/4)



Phase D – Acétonitrile

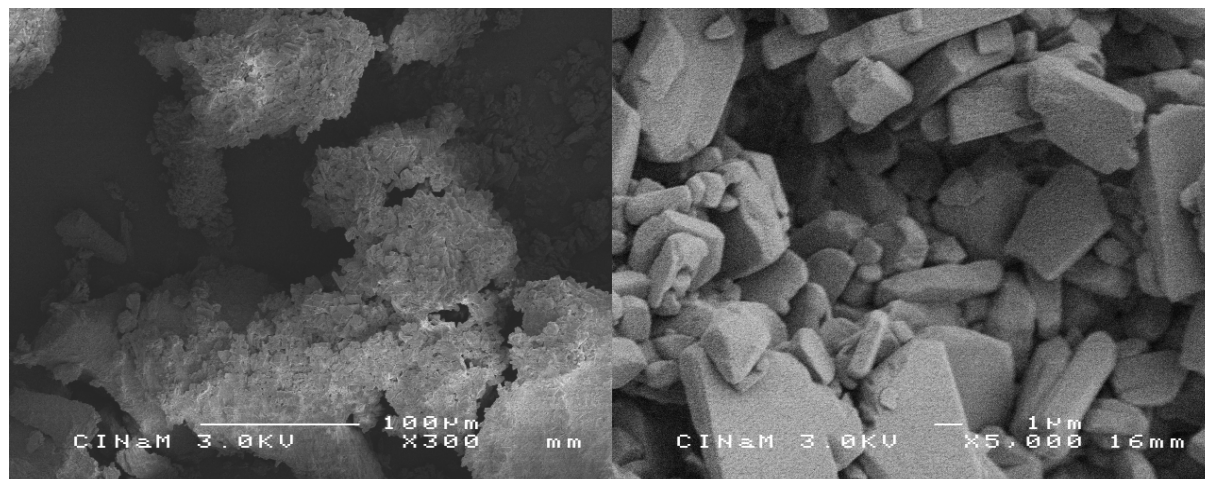


Phase E – Dichlorométhane

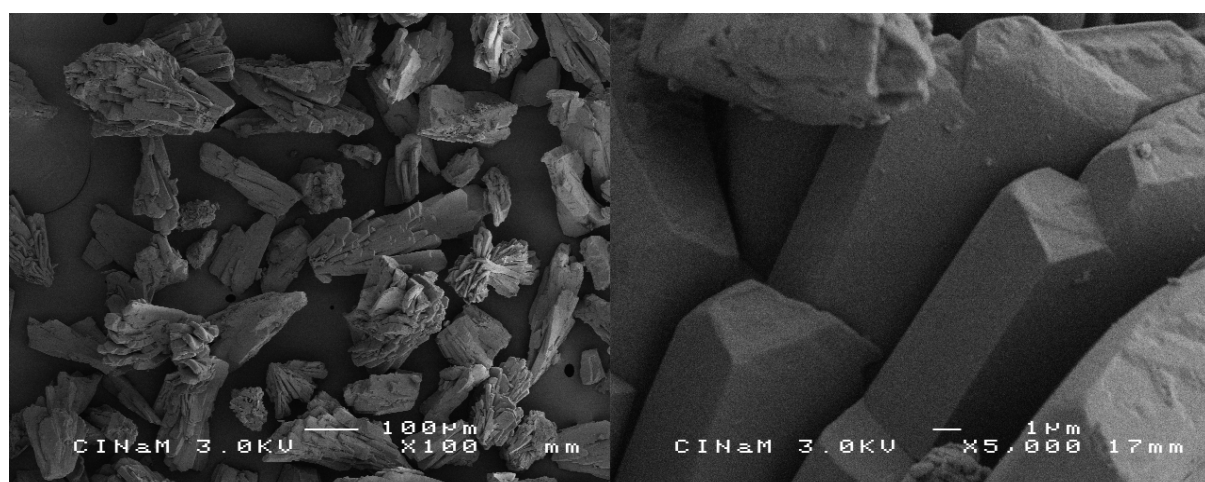


Phase F – Chloroforme

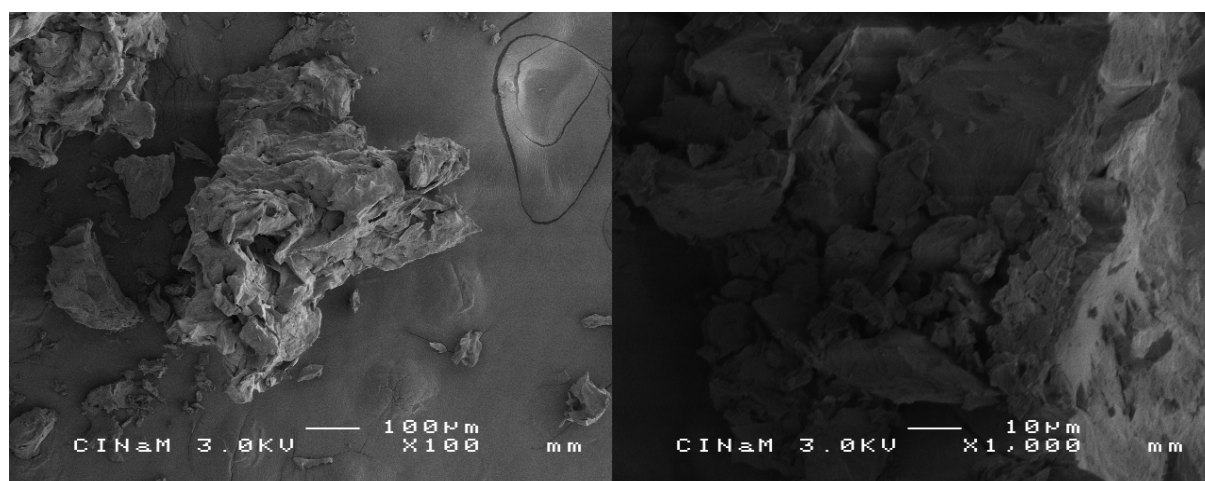
Annexe O : Photos MEB des différentes phases polymorphiques (2/4)



Phase G – DMF

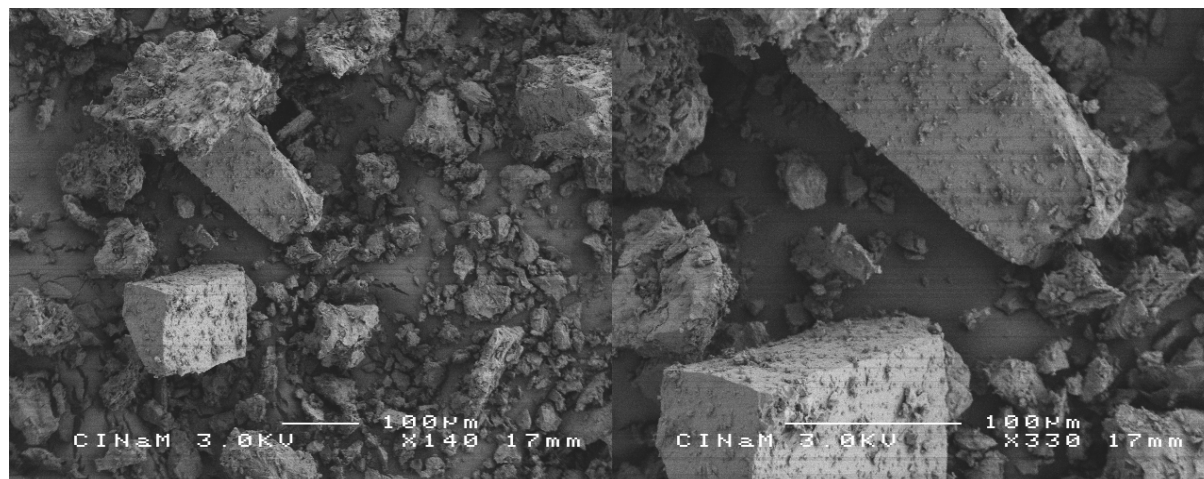


Phase H – THF

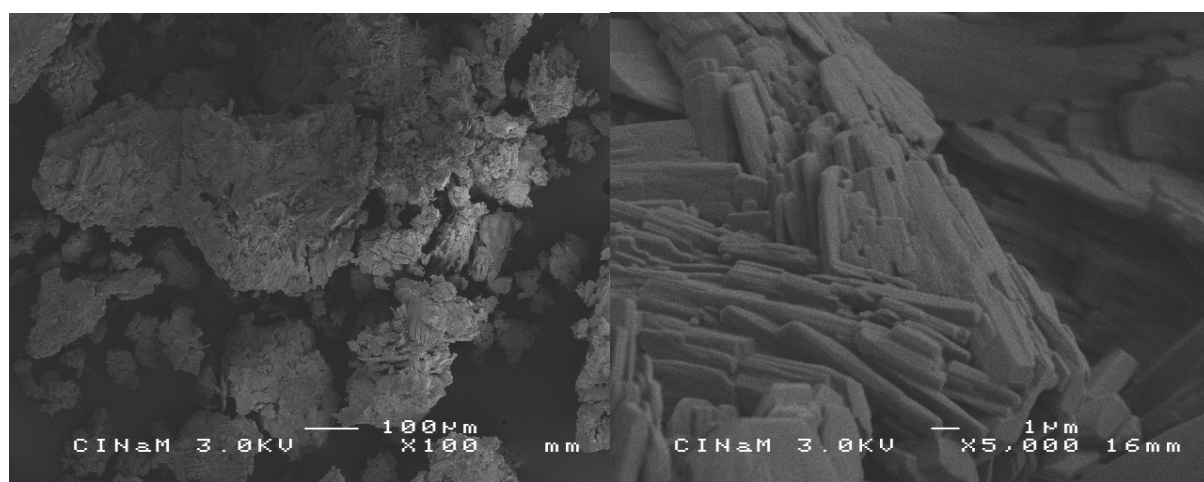


Phase I – Eau/THF

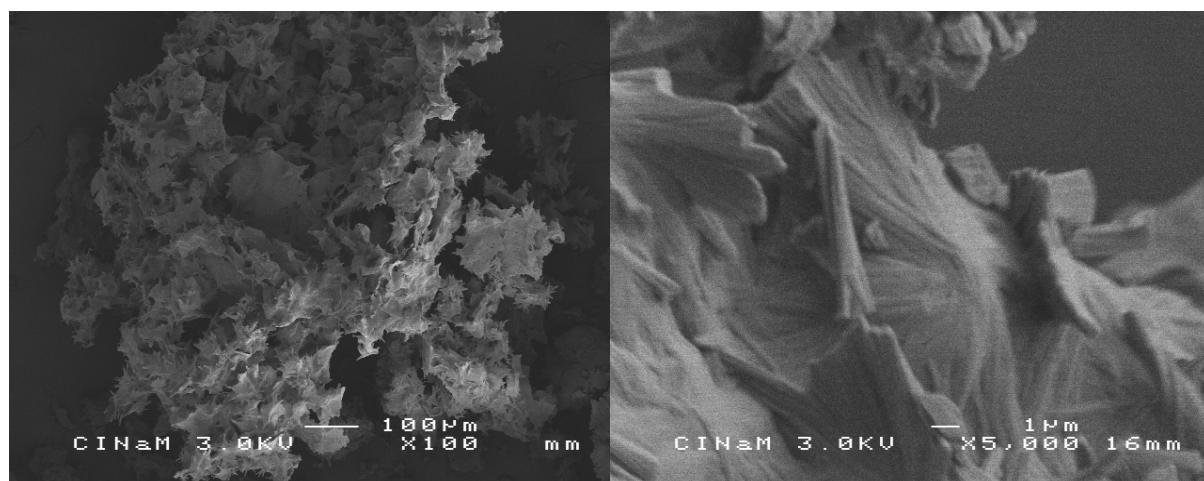
Annexe O : Photos MEB des différentes phases polymorphiques (3/4)



Phase J – Eau/Acétone  $\alpha$

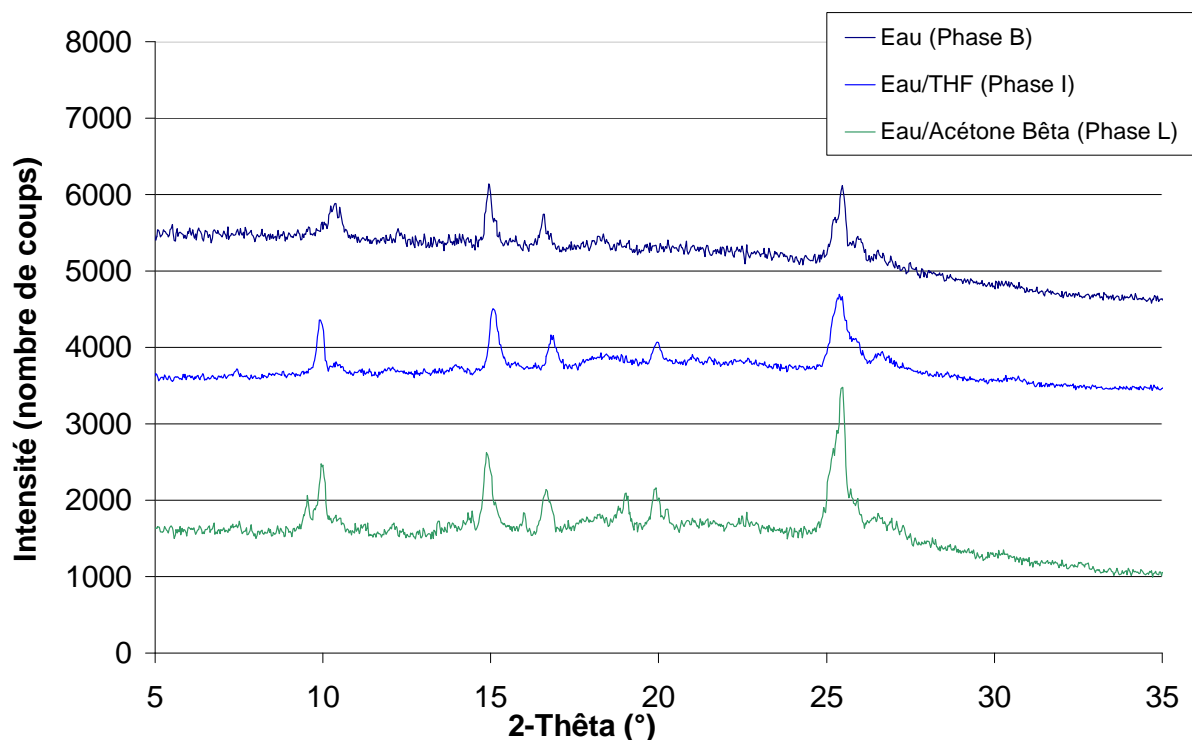


Phase K – Eau/DMAC

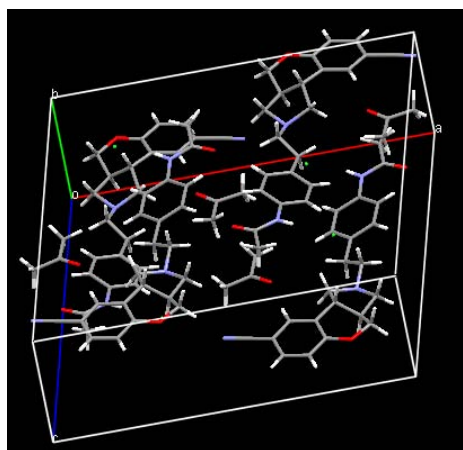


Phase L – Eau/Acétone  $\beta$

Annexe O : Photos MEB des différentes phases polymorphiques (4/4)



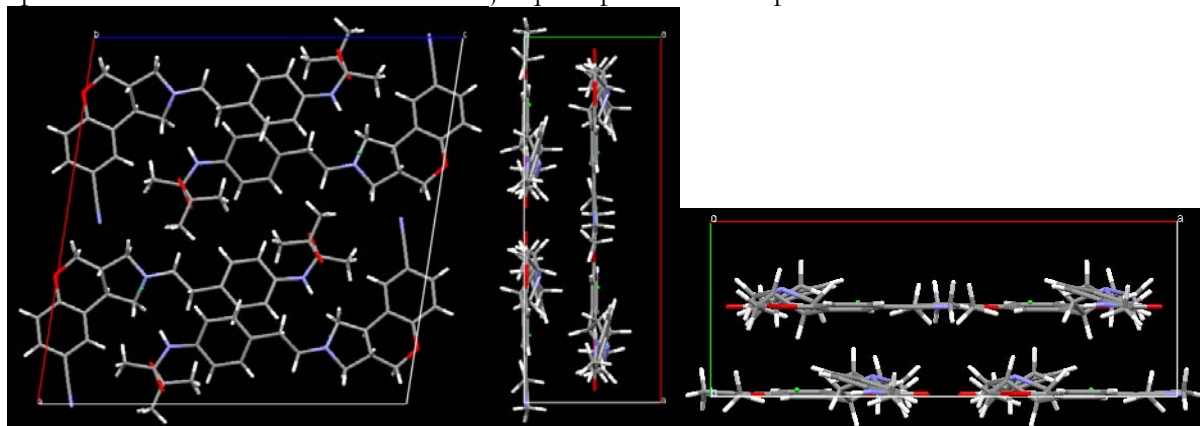
Annexe P : Clichés DRX des phases I, B et L



Forme J du monochlorhydrate TD901 cristallisé avec une molécule d'acétone == >> La phase J est une phase (1:1) avec l'acétone est non (1:0,5:0,5) avec l'eau en plus

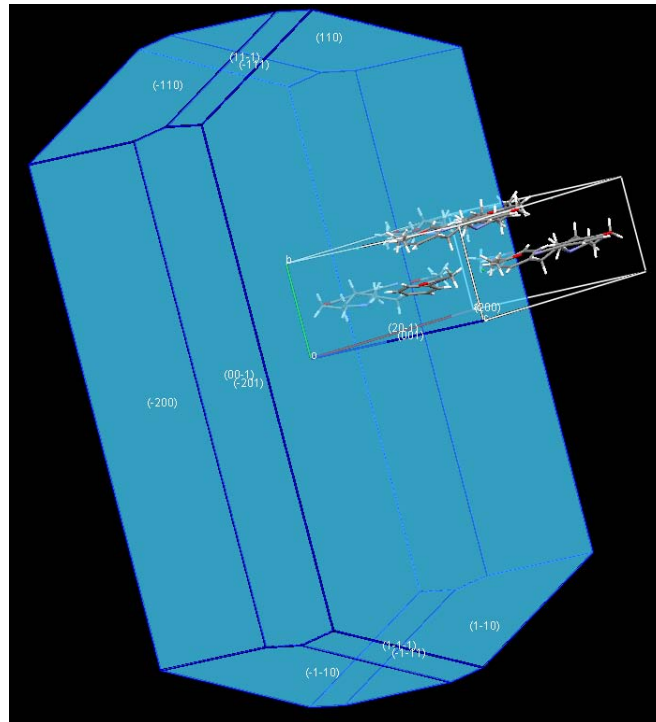
- Symétrie monoclinique
- Groupe d'espace C2
- Paramètres de maille
  - $a = 18.8862 \text{ \AA}$
  - $b = 6.9848 \text{ \AA}$
  - $c = 18.7688 \text{ \AA}$
  - $V = 2446.95 \text{ \AA}^3$
  - $\alpha, \gamma = 90^\circ, \beta = 98,767^\circ$

La projection de la structure sur les plans (0bc) et (ab0) montre que la molécule d'acétone aplanit la conformation de la molécule jusqu'au point de faire penser à une structure en feuillets.

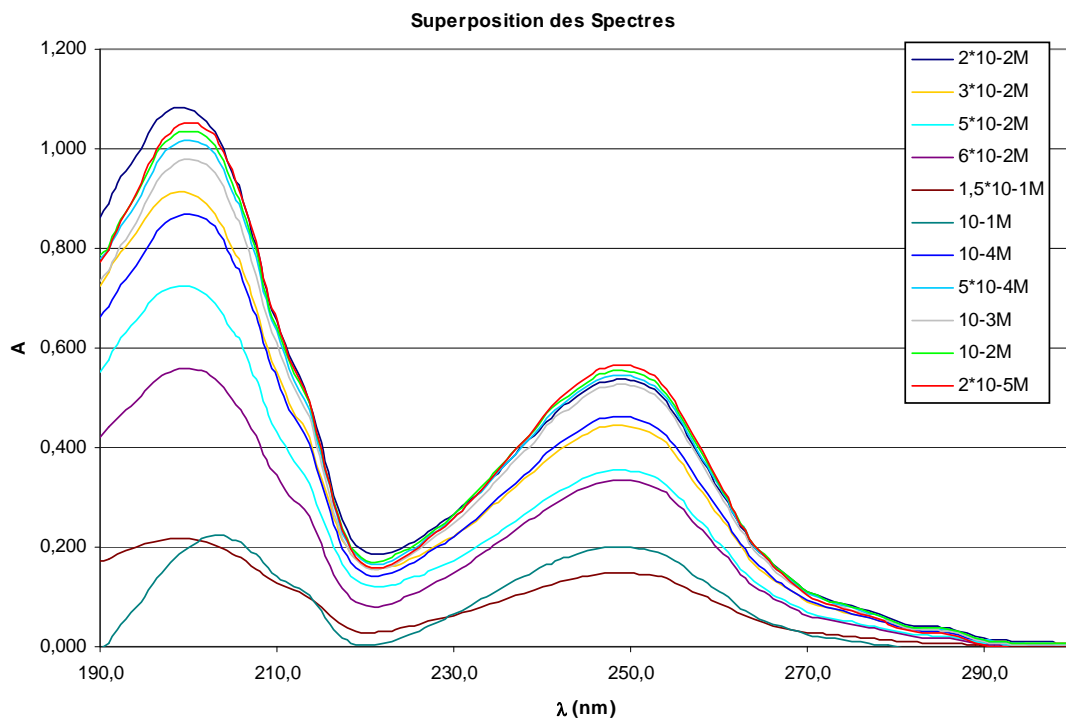


Projections sur les plans respectifs (a0c), (0bc) et (ab0)

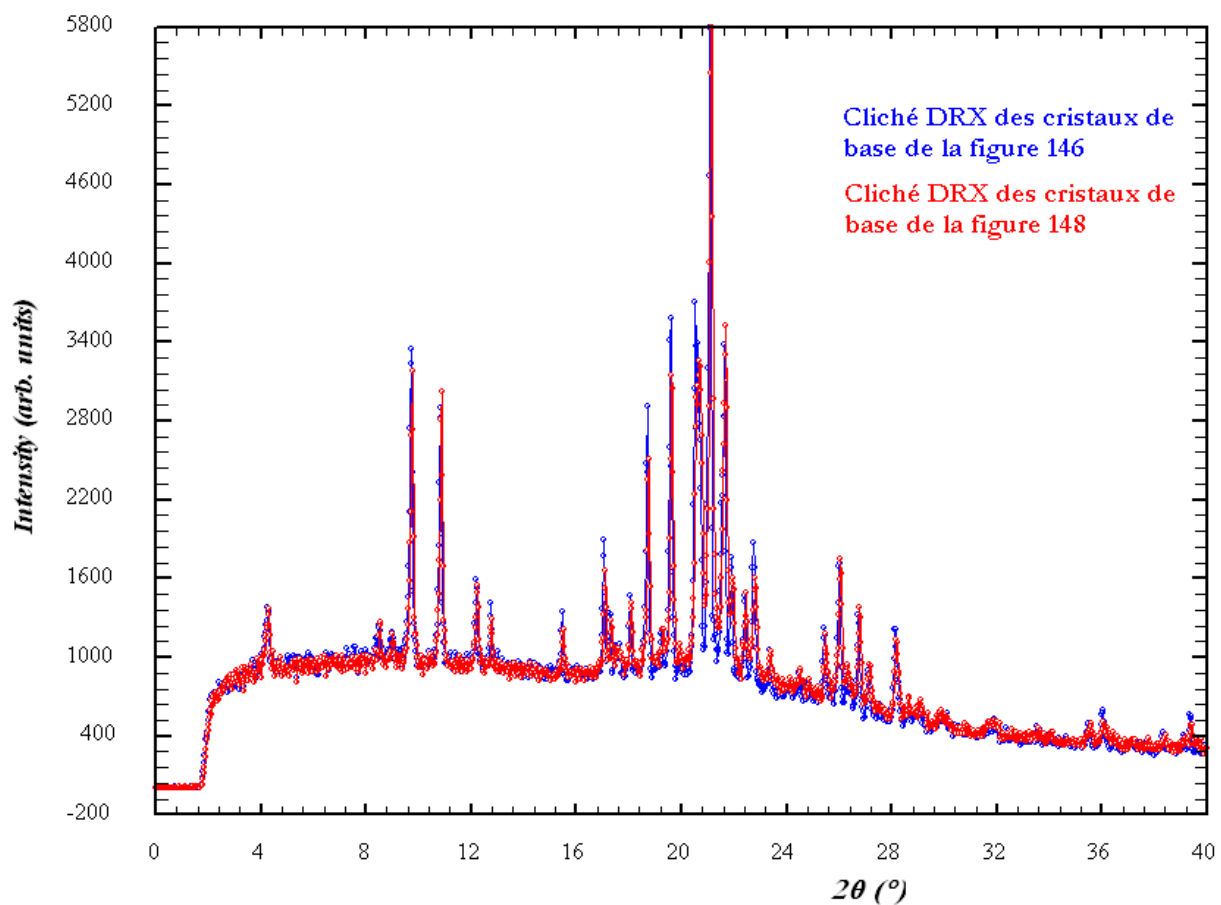
Annexe Q : Structure cristalline de la forme J



Annexe R : Détermination de la morphologie de la forme J par méthode BFDH



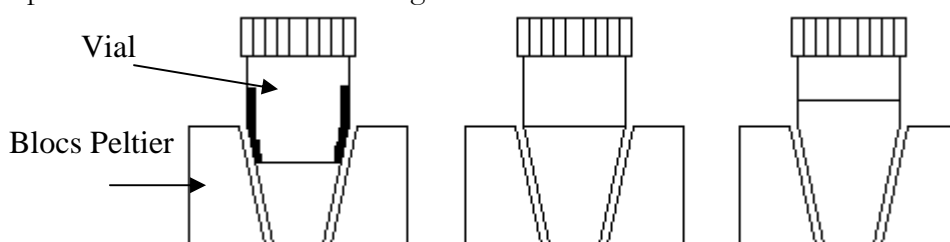
Annexe S : Recherche de l'absorbance maximale du sel TD901 pour les mesures UV : 198 nm et 248nm sont adéquats



Annexe T : Clichés DRX des cristaux de base obtenus par évaporation (grosses aiguilles en bleu, agglomérats dendritiques en rouge)

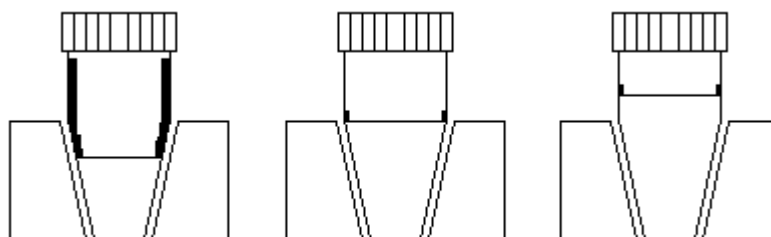
Une solution de sel dissoute dans de l'éthanol ou un mélange Ethanol/Eau pose de grands problèmes de collerette. En effet, nous avons même observé une collerette montant du niveau du liquide au bouchon (soit plus de 2 cm de hauteur) en moins d'une journée. Ce problème présente une vraie difficulté pour travailler en milieu statique car dès que l'on touche la vial, il y a une grande probabilité de faire tomber du solide dans la solution. D'autre part, la concentration de sel dans la solution se voit fortement affectée en cas de grosse collerette, rendant le suivi et le contrôle de la manipulation bien difficile.

Ainsi, nous avons multiplié des essais à basse température (en dessous de la température ambiante, de 5 à 20°C) et à haute température (de 30 à 60°C) à différentes concentrations de sel dans l'éthanol et surtout à différent niveau de solution dans la vial par rapport au niveau des blocs Peltier. Au bout d'une demi-journée, nous avons toujours observé les faits suivants : Au dessus de la température ambiante (30, 50, 60°C), si le niveau de liquide EtOH/Eau est en dessous des blocs Peltier (conditions toujours utilisées jusque là), la collerette est vraiment importante, si l'on se situe au moins au niveau des blocs, aucune collerette n'apparaît, même après 3 jours de manipulation comme le montre la figure ci-dessous.



Niveau des solutions par rapport aux blocs Peltier, à haute température

Une fois les vials vidées, nous avons re-préparé des solutions propres, dans des conditions équivalentes que précédemment, mais à 5, 10 et 20°C.



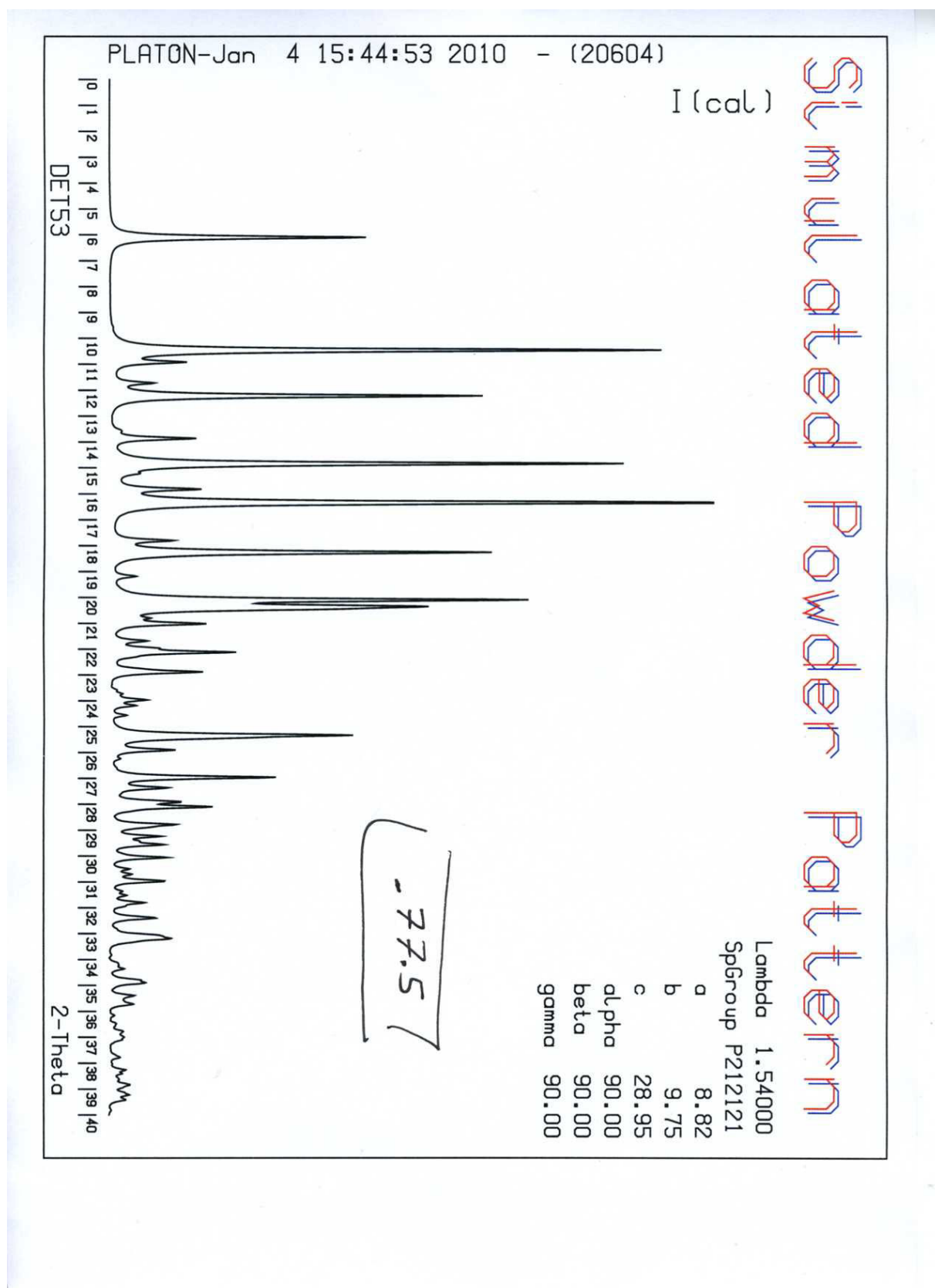
Niveau des solutions par rapport aux blocs Peltier, à basse température

A basse température, la collerette formée s'est avérée plus importante, dans les conditions de niveau inférieur à la hauteur maximale des blocs Peltier. Une collerette mince se crée dans les autres cas. Il est désormais clair qu'ajuster le niveau de la solution par rapport aux blocs Peltier facilite le travail. Par contre, travailler dans des conditions statiques dans des volumes plus importants pose un problème par rapport aux échanges thermiques, qui seront de moins bonne qualité que dans de petits volumes. Tous les blocs Peltier du laboratoire n'étant rigoureusement pas les mêmes, on note de manière informative pour les manipulations à venir le volume à utiliser dans les vials à visser (Vials classiques – grandes tailles) pour que le niveau de liquide corresponde au niveau des blocs Peltier :

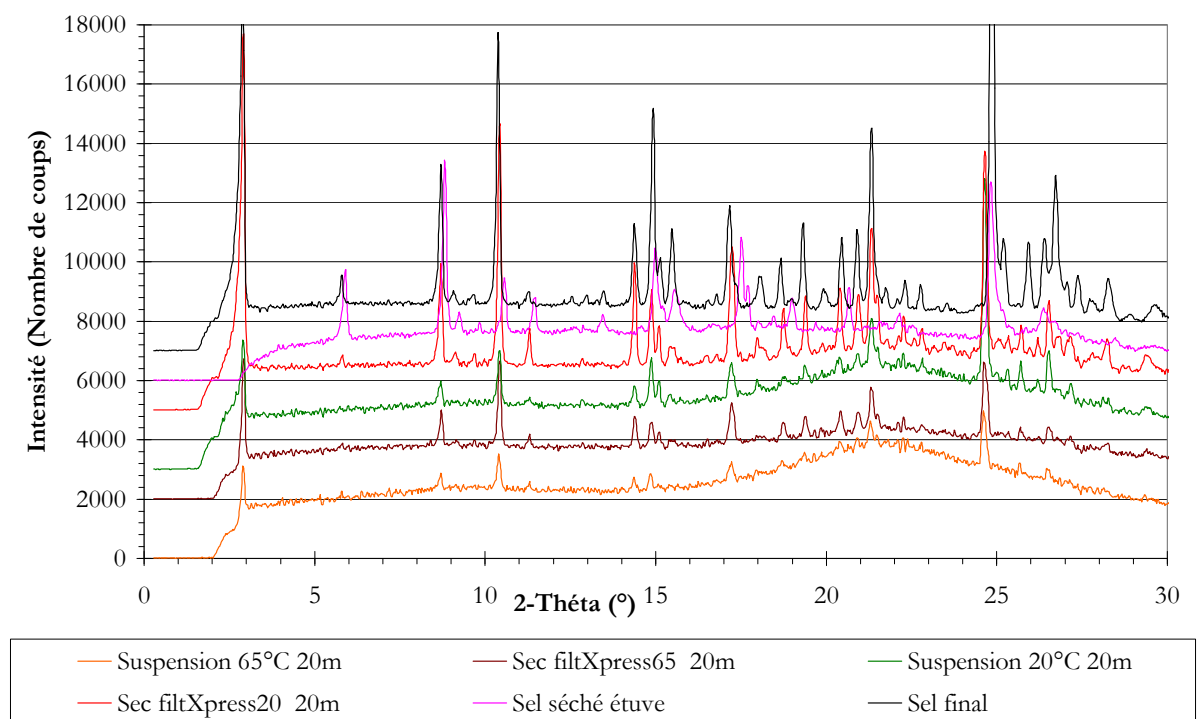
Postes 3 et 4	2,8 mL
Poste 11	2,1 mL
Poste 12	3,2 mL

Volume de travail idéal pour vials à visser sur monopuit Peltier

Annexe U : Méthode d'ajustement du volume dans les cellules Peltier



Annexe V : Cliché de poudre de la structure du sel TD901 déterminée par GENMOL



Annexe W : Clichés de poudre des suspensions



# ***Nomenclature***



$a$ :	Rayon ionique de Debye	$[-]$
$a_c$ :	Surface des cristaux disponibles par volume de suspension	$[m^2.m^{-3}]$
$A_{hom}$ :	Facteur pré-exponentiel de nucléation homogène	$[nbre.m^{-3}.s^{-1}]$
$A_{het}$ :	Facteur pré-exponentiel de nucléation hétérogène	$[nbre.m^{-3}.s^{-1}]$
$a_i^{liq}$ :	Activité du soluté dans la phase liquide	$[-]$
$a_i^{sat}$ :	Activité du soluté $i$ à saturation par rapport à son état standard	$[-]$
$a_i^{sol}$ :	Activité du soluté dans la phase solide	$[-]$
$\Delta C$ :	Sursaturation absolue	$[mol.L^{-1},g.L^{-1}]$
$c$ :	Nombre de constituants du système à l'équilibre	$[-]$
$C^0$ :	Concentration standard (1 mol/L)	$[mol.L^{-1}]$
$C_i$ :	Concentration du soluté $i$ dans un solvant	$[mol.L^{-1},g.L^{-1}]$
$C_m$ :	Concentration massique des cristaux en suspension	$[kg.m^{-3}]$
$C_p$ :	Capacité calorifique	$[J.K^{-1}]$
$C_s$ :	Solubilité d'un soluté dans un solvant	$[g.mol^{-1},g.L^{-1}]$
$C_s(L)$ :	Concentration critique	$[mol.L^{-1}]$
$D$ :	Diamètre de l'agitateur	$[m]$
$d_a$ :	Diamètre de l'agitateur	$[m]$
$D_{ab}$ :	Diffusivité du soluté dans le solvant	$[m^2.s^{-1}]$
$d_f$ :	Diamètre final des particules	$[m]$
$d_{hkl}$ :	Distance inter réticulaire	$[Å]$
$d_{inter}$ :	Distance intermoléculaire	$[m]$
$d_m$ :	Diamètre moléculaire	$[m]$
$d_s$ :	Diamètre des particules de semence	$[m]$
$e$ :	Charge élémentaire	$[A.s]$
$E$ :	Facteur d'efficacité de la nucléation secondaire surfacique	$[-]$
$E^o$ :	Potentiel électrique lors d'une mesure de pH	$[mV]$
$E.R.$ :	Energie réticulaire	$[J.mol^{-1}]$
$F$ :	Constante de Faraday	$[C.mol^{-1}]$
$f(\beta)$ :	Facteur lié à la sursaturation	$[-]$
$f_{het}$ :	Facteur de réduction d'énergie	$[-]$
$f_i$ :	Fraction molaire de l'espèce acido-basique	$[-]$
$G$ :	Vitesse linéaire de croissance	$[m.s^{-1}]$
$g$ :	Ordre cinétique global de croissance	$[-]$
$\Delta G$ :	Energie libre d'activation de la germination	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta G_{diss}$ :	Energie libre de dissolution des cristaux	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta G^*$ :	Energie libre critique d'activation de la germination	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta G_{het}^*$ :	Energie libre critique d'activation de la germination secondaire	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta G_{surf}^*$ :	Energie libre critique d'activation surfacique	$[J.mol^{-1}]$
$H$ :	Hauteur du volume utile dans un réacteur	$[m]$
$H^E$ :	Enthalpies molaire d'excès	$[J]$
$dH$ :	Variation enthalpique	$[J]$
$\Delta H_c$ :	Enthalpie de cristallisation	$[J.g^{-1}]$
$\Delta H_{diss}$ :	Enthalpie molaire de dissolution des cristaux	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta H_f$ :	Enthalpie de fusion	$[J.g^{-1}]$
$\Delta H_i$ :	Enthalpie molaire partielle du soluté en solution	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta H_i^*$ :	Enthalpie molaire partielle apparente de la solution	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta H_{solv}$ :	Enthalpie molaire de solvatation	$[J.mol^{-1}]$
$\Delta H_v$ :	Enthalpie molaire de vaporisation	$[J.mol^{-1}]$
$I$ :	Force ionique	$[mol.L^{-1}]$
$J_d$ :	Densité du flux molaire par diffusion	$[mol.m^{-2}.s^{-1}]$
$K$ :	Terme constant pour l'équation de De Jong	$[-]$

$K_a$ :	Constante d'équilibre d'un couple acide/base	[-]
$K_{ass}$ :	Constante d'association d'un solvant	[-]
$k_B$ :	Constante de Boltzmann	[J.K <sup>-1</sup> ]
$k_d$ :	Coefficient de transfert de matière	[m.s <sup>-1</sup> ]
$K_{diss}$ :	Constante de dissociation d'un solvant	[-]
$k_g$ :	Coefficient cinétique global de croissance	[-]
$K_i$ :	Constante d'auto-ionisation ou d'autoprotolyse	[-]
$L$ :	Taille du cristal	[m]
$L^*$ :	Rayon critique du cristal	[m]
$M_f$ :	Masse finale de cristaux obtenus	[g]
$M_s$ :	Masse de semence introduite	[g]
$MM_a$ :	Masse molaire du soluté	[g.mol <sup>-1</sup> ]
$MM_b$ :	Masse molaire du solvant	[g.mol <sup>-1</sup> ]
$n$ :	Nombre de molécules dans le germe	[-]
$\mathcal{N}_a$ :	Nombre d'Avogadro	[moléc.mol <sup>-1</sup> ]
$N$ :	Vitesse de rotation de l'agitateur	[tr.s <sup>-1</sup> ]
$N_p$ :	Nombre de puissance	[-]
$n_{+/-}$ :	Valence respective du cation et de l'anion	[-]
$P$ :	Puissance dissipée par l'agitation	[W]
$pK_a$ :	Logarithme négatif de la constante d'équilibre d'un couple acide/base	[-]
$pK_i$ :	Logarithme négatif de la constante d'équilibre SolvantH <sup>+</sup> /Solvant	[-]
$pK_w$ :	Logarithme négatif de la constante d'équilibre H <sub>2</sub> O/HO <sup>-</sup>	[-]
$pH$ :	Potentiel Hydrogène d'une solution	[-]
$pH_{max}$ :	pH de séparation entre les phases solides d'une base et d'un sel	[-]
$dQ_{ech}$ :	Puissance sous la boucle DSC de l'échantillon	[J]
$dQ_{ref}$ :	Puissance sous la boucle DSC de la référence	[J]
$R$ :	Constante des gaz parfaits	[J.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> ]
$r$ :	Rayon du germe sphérique	[m]
$r^*$ :	Rayon critique du germe sphérique	[m]
$Re$ :	Nombre de Reynolds	[-]
$Re_p$ :	Nombre de Reynolds particulière	[-]
$r_{Nhom}$ :	Vitesse de nucléation primaire homogène	[Nbre.m <sup>-3</sup> .s <sup>-1</sup> ]
$r_{Nsec}$ :	Fréquence de nucléation secondaire	[Nbre.m <sup>-3</sup> .s <sup>-1</sup> ]
$r_{Nsurf}$ :	Fréquence de nucléation secondaire surfacique	[Nbre.m <sup>-3</sup> .s <sup>-1</sup> ]
$S_0$ :	Solubilité intrinsèque d'une molécule acide ou basique	[mol.L <sup>-1</sup> ]
$Sc$ :	Nombre de Schmidt	[-]
$Sh$ :	Nombre de Sherwood	[-]
$S_{liq}$ :	Entropie de la phase liquide	[J.K <sup>-1</sup> ]
$S_i$ :	Surface de chaque germe	[m <sup>2</sup> ]
$S_{sol}$ :	Entropie de la phase solide	[J.K <sup>-1</sup> ]
$\Delta S_{diss}$ :	Entropie de dissolution des cristaux	[J.K <sup>-1</sup> ]
$T$ :	Diamètre interne du réacteur	[m]
$T$ :	Température	[K]
$T_c$ :	Température de cristallisation	[K]
$T_f$ :	Température de fusion	[K]
$T_{fm}$ :	Température de fusion d'un mélange	[K]
$T_g$ :	Température de transition vitreuse	[K]
$T_{onset}$ :	Température de début du phénomène thermique	[K]
$T_t$ :	Température de transition	[K]
$v$ :	Variance du système à l'équilibre	[-]
$V_A$ :	Volume molaire du soluté en diffusion	[m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> ]

$V_{bp}$ :	Vitesse en bout de pale	$[m.s^{-1}]$
$V_{mol}$ :	Volume molaire	$[m^3.mol^{-1}]$
$x_i$ :	Fraction molaire d'impuretés de l'échantillon i	$[-]$
$x_{mi}$ :	Fraction molaire de l'élément i dans un binaire	$[-]$
$x_{Mi}$ :	Fraction massique de l'élément i dans un binaire	$[-]$
$x_{vi}$ :	Fraction volumique de l'élément i dans un binaire	$[-]$
$z_i$ :	Nombre de charges portées par l'élément i	$[-]$
$\alpha$ :	Angle de contact substrat / germe	$[^\circ]$
$\beta$ :	Rapport de sursaturation	$[-]$
$\gamma_{H^+}$ :	Coefficient d'activité des ions $H^+$	$[-]$
$\gamma_i^{sat}$ :	Coefficient d'activité du soluté	$[-]$
$\gamma_i$ :	Energie interfaciale Cristal/Solution pour chaque face i	$[J.m^{-2}]$
$\gamma_{gl}$ :	Tension interfaciale germe / solution	$[J.m^{-2}]$
$\gamma_{sl}$ :	Tension interfaciale substrat / solution	$[J.m^{-2}]$
$\gamma_{sg}$ :	Tension interfaciale substrat / germe	$[J.m^{-2}]$
$\delta_a$ :	Epaisseur de la couche de diffusion	$[m]$
$\delta_d$ :	Epaisseur de la couche d'adsorption	$[m]$
$\epsilon$ :	Energie transmise par l'agitateur	$[W.kg^{-1}]$
$\epsilon_0$ :	Constante diélectrique (permittivité du vide)	$[A^2.s^4.kg^{-1}.m^{-3}]$
$\epsilon_r$ :	Constante diélectrique du solvant considéré	$[-]$
$\theta$ :	Angle de diffraction	$[^\circ]$
$\kappa$ :	Pureté cristalline d'un échantillon	$[\%]$
$\lambda$ :	Longueur d'ondes du faisceau incident	$[\text{Å}]$
$\Lambda_{+/-}^\circ$ :	Conduction ionique limite	$[mS.m^2.mol^{-1}]$
$\mu$ :	Viscosité dynamique de la solution	$[Pa.s]$
$\mu_B$ :	Viscosité dynamique du solvant	$[cp_0]$
$\Delta\mu$ :	Force motrice	$[J]$
$\mu_i^{liq}$ :	Potentiel chimique du soluté i dans le liquide	$[J.mol^{-1}]$
$\mu_i^{\circ liq}$ :	Potentiel chimique du soluté i à pression standard pour le liquide	$[J.mol^{-1}]$
$\mu_i^{sol}$ :	Potentiel chimique du soluté i dans le liquide	$[J.mol^{-1}]$
$\mu_i^{\circ sol}$ :	Potentiel chimique de référence du soluté i, solide à pression standard	$[J.mol^{-1}]$
$\nu$ :	Viscosité cinématique de la suspension	$[m^2.s^{-1}]$
$\rho$ :	Masse volumique d'une solution	$[kg.m^{-3}]$
$\rho_i$ :	Masse volumique du cristal	$[kg.m^{-3}]$
$\rho_{sol}$ :	Masse volumique apprente du solide	$[kg.m^{-3}]$
$\sigma$ :	Sursaturation relative	$[-]$
$\sigma_{sl}$ :	Energie libre de surface	$[J.m^{-2}]$
$\varphi_B$ :	Facteur d'association du solvant	$[-]$
$\varphi_{ph}$ :	Nombre de phases en présence dans le système	$[-]$
$\psi_s$ :	Facteur de forme surfacique	$[-]$
$\psi_v$ :	Facteur de forme volumique	$[-]$
$\Omega$ :	Volume du germe occupé par une molécule	$[m^3]$

## **Résumé :                    Cristallisation d'un sel pharmaceutique : Développement de méthodologies d'étude**

La formation d'un sel d'un principe actif pharmaceutique (API) permet de modifier les caractéristiques physico-chimiques d'un principe actif comme sa stabilité et sa biodisponibilité. Ils représentent aujourd'hui plus de deux tiers des APIs sur le marché pharmaceutique mondial. La cristallisation des sels peut être couplée à la réaction de salification par précipitation, le suivi du pH a un potentiel pour comprendre les équilibres chimiques. La bibliographie porte une attention particulière sur l'établissement des courbes  $C_s = f(\text{pH})$  et les raisons qui conduisent à un choix de sel en particulier.

Le travail présenté ici s'est basé sur le chlorhydrate d'un API cristallisant avec un faciès d'aiguilles. Le travail au CINaM a permis d'effectuer un criblage polymorphique complet consommant peu de produit en un minimum de temps, nous avons discriminé 12 phases du sel, dont 2 anhydres, 5 hydrates et 5 solvates. Nous avons aussi pu obtenir un monocristal de base et comparer sa structure avec une structure du sel obtenue modélisation moléculaire.

La connaissance de la solubilité dans les mélanges éthanol/eau a permis de préparer le travail au LAGEP concernant la cristallisation dans un réacteur agité homothétique. Les suivis *in situ* à l'aide des sondes FBRM et de visualisation de la suspension nous ont permis de conclure sur l'impact du type de procédé sur les propriétés d'usage des cristaux. Le meilleur procédé, la cristallisation par ensemencement a été étudiée en détail. Nous avons ainsi pu vérifier que le choix du système sel/solvant ne permet pas de cristalliser autre chose que des cristaux aciculaires.

**Mots clefs :** Sels pharmaceutiques, polymorphisme, criblage, analyses thermiques, suivis *in situ*, transitions de phases, ensemencement, principes actifs pharmaceutiques

---

## **Abstract:                    Crystallization of a pharmaceutical salt : Development of a methodology of the studies**

The salt formation of an active pharmaceutical ingredient (API) changes some physical and chemical properties of an API, namely its stability and its bioavailability. Pharmaceutical salts represent two thirds of the APIs in the pharmaceutical market world. Salt formation (acid-base reaction) can be coupled with its precipitation and pH monitoring helps understanding the chemical equilibriums. The bibliography part of this document focuses on  $C_s = f(\text{pH})$  theoretical curves writing and the reasons leading to a choice of a particular salt of an API.

The chosen API for this work is an hydrochlorate that crystallizes as needles. The work at the CINaM lab consisted first in developing a polymorphs screening method with the fewest materials (5 grams) in a short time-lapse (4 weeks). 12 phases have been discovered, 2 as anhydrous phases, 5 hydrates and 5 solvates. A monocystal of the API base has been prepared to analyze its crystalline structure and to compare it to a salt structure solved by molecular modelling.

Solubility measurements in ethanol/water mixtures helped us to prepare our work at the LAGEP lab for crystallization studies in an homothetic stirred reactor. *In situ* monitoring with FBRM and video probes helped us understand the effect of a particular crystallization process on crystal properties. The best process, crystallization with seeding, has been studied in details. We confirmed that the salt/solvent combination chosen did not allow improving the acicular habit.

**Keywords :** Pharmaceutical salts, polymorphism, screening, thermal analysis, *in situ* monitoring, phase transitions, seeding, active pharmaceutical ingredients



## **Résumé :                    Cristallisation d'un sel pharmaceutique : Développement de méthodologies d'étude**

La formation d'un sel d'un principe actif pharmaceutique (API) permet de modifier les caractéristiques physico-chimiques d'un principe actif comme sa stabilité et sa biodisponibilité. Ils représentent aujourd'hui plus de deux tiers des APIs sur le marché pharmaceutique mondial. La cristallisation des sels peut être couplée à la réaction de salification par précipitation, le suivi du pH a un potentiel pour comprendre les équilibres chimiques. La bibliographie porte une attention particulière sur l'établissement des courbes  $C_s = f(\text{pH})$  et les raisons qui conduisent à un choix de sel en particulier.

Le travail présenté ici s'est basé sur le chlorhydrate d'un API cristallisant avec un faciès d'aiguilles. Le travail au CINaM a permis d'effectuer un criblage polymorphique complet consommant peu de produit en un minimum de temps, nous avons discriminé 12 phases du sel, dont 2 anhydres, 5 hydrates et 5 solvates. Nous avons aussi pu obtenir un monocristal de base et comparer sa structure avec une structure du sel obtenue modélisation moléculaire.

La connaissance de la solubilité dans les mélanges éthanol/eau a permis de préparer le travail au LAGEP concernant la cristallisation dans un réacteur agité homothétique. Les suivis *in situ* à l'aide des sondes FBRM et de visualisation de la suspension nous ont permis de conclure sur l'impact du type de procédé sur les propriétés d'usage des cristaux. Le meilleur procédé, la cristallisation par ensemencement a été étudiée en détail. Nous avons ainsi pu vérifier que le choix du système sel/solvant ne permet pas de cristalliser autre chose que des cristaux aciculaires.

**Mots clefs :** Sels pharmaceutiques, polymorphisme, criblage, analyses thermiques, suivis *in situ*, transitions de phases, ensemencement, principes actifs pharmaceutiques