

## **ETUDE DES MELANGES BINAIRES BENZOATE D'ESTRADIOL-PHENYL PROPIONATE D'ESTRADIOL, MESTRANOL-LYNESTRENOL PAR THERMOMICROSCOPIE ET ANALYSE CALORIMETRIQUE DIFFERENTIELLE**

G. DE MAURY, A. CHAUVET, A. TEROL et J. MASSE

*Laboratoire de Chimie Générale et Minérale, Faculté de Pharmacie, 34060 Montpellier (France)*

(Reçu le 7 janvier 1985)

### **ABSTRACT**

After studying the thermal behaviour of the drugs and establishing the stable polymorphs obtained, the phase diagrams of the binary systems benzoate-phenyl propionate of estradiol, and mestranol-lynestrenol were established by thermomicroscopy, differential scanning calorimetry and the transparency method. The eutectic compositions: 0.15 mol benzoate of estradiol and 0.85 mol phenyl propionate of estradiol; 0.52 mol mestranol and 0.48 mol lynestrenol were determined for a physicochemical study, in particular, of the relation between solubility and bioavailability.

### **RESUME**

Après avoir étudié le comportement thermique des principes actifs, et indiqué les conditions d'obtention éventuelle des formes polymorphes les plus stables, les auteurs ont établi les diagrammes de phase des mélanges benzoate-phényl propionate d'estradiol, mestranol-lynestrenol par thermomicroscopie, analyse calorimétrique différentielle, et mesure de la transparence. La composition des points d'eutexie a été déterminée: 0,15 mole de benzoate et 0,85 mole de phényl propionate d'estradiol; 0,52 mole de mestranol et 0,48 mole de lynestrenol, en vue d'une étude physicochimique plus particulièrement de solubilité en relation avec la biodisponibilité.

### **INTRODUCTION**

Nous avons étudié les interactions à l'état solide de quelques estrogènes et décrit leur comportement thermique [1]; souvent associés cliniquement, ils peuvent être parfois responsables d'une activité thérapeutique différente.

L'établissement du diagramme de phase permet de préciser la composition eutectique, l'existence éventuelle d'un composé défini.

Les propriétés physiques des phases nouvelles, en particulier solubilité et stabilité thermique, diffèrent de celles des constituants. Rappelons les travaux

de Sekiguchi et Obi [2] relatifs à la formation d'un eutectique entre une substance médicamenteuse peu soluble et un composé soluble physiologiquement inerte.

La formation de solution solide présente parfois des avantages, en particulier des modifications de solubilité indiquées par Goldberg et al. [3,4], Chiou et al. [5,6] et El Banna et al. [7].

Le composé défini peut prendre naissance au cours de la mise en forme du médicament, notamment au cours de la compression [8].

Constituant une entité nouvelle, il peut présenter des modifications de propriétés physiques en relation avec la biodisponibilité. Présentement nous rapportons les résultats relatifs aux mélanges benzoate-phényl propionate d'estradiol et mestranol-lynestrénol.

Le premier mélange associé à des androgènes est utilisé cliniquement; le deuxième possédant des propriétés antigonadotropes, constitue une spécialité pharmaceutique de grande diffusion. Ces substances sont en général peu solubles dans l'eau, ce qui justifie un travail de recherche en vue d'augmenter leur solubilité et par suite leur biodisponibilité.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### *Appareils*

L'analyseur thermique DuPont 990 est utilisé avec le module pour analyse calorimétrique différentielle (ACD) décrit antérieurement [9] et le module pour analyse thermogravimétrique (TG).

Les systèmes d'analyse thermique FP800 Mettler se compose d'une unité de commande FP80, et de cellules de mesure: les échantillons analysés à l'aide de la cellule d'analyse calorimétrique différentielle FP85 sont placés dans un creuset en aluminium. Cette cellule permet de mesurer et d'enregistrer le flux de chaleur produit par les transformations physiques ou chimiques de l'échantillon. Cet ensemble destiné à mesurer et à déterminer les paramètres thermiques les plus divers, est relié à un microordinateur Epson HX20, ce qui nous permet de déterminer le domaine de fusion, transformation, recristallisation et les enthalpies correspondantes.

Les examens thermomicroscopiques sont effectués à l'aide du microscope Leitz SM pol et de la platine chauffante Mettler FP 52 à chauffage et refroidissement programmés par l'appareil de commande FP5.

L'appareil Mettler à détermination automatique de la fusion est composé du four FP 51, du programmeur FP5 et de l'enregistreur GA11. Son principe repose sur la mesure à l'aide d'une cellule photoélectrique de la transparence qui résulte du changement de phase solide-liquide, lors de la fusion d'une substance.

Nous rappelons les travaux de Vergnon et Drevon [10,11] et de Rochandel [12].

### *Conditions opératoires*

En analyse calorimétrique différentielle, les prises d'essai de l'ordre du milligramme sont pesées dans des capsules ordinaires serties de façon à assurer un excellent contact thermique.

Elles sont chauffées à la vitesse de  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , avec une sensibilité de  $0,836 \text{ mJ pouce}^{-1}$ .

Les enthalpies de fusion sont déterminées dans les conditions suivantes: prise d'essai de l'ordre du mg, sensibilité  $0,418 \text{ mJ pouce}^{-1}$ , vitesse de chauffage  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , base de temps  $0,5 \text{ min}^{-1} \text{ pouce}^{-1}$ , en se référant à l'indium.

En thermogravimétrie, les prises d'essai de 5 à 10 mg sont soumises à une vitesse de chauffage de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , sous un courant d'azote, la sensibilité étant de  $2 \text{ mg pouce}^{-1}$ , pour la courbe thermogravimétrique et de  $1 \text{ mg min}^{-1}$  pour la courbe thermogravimétrique dérivée.

En thermomicroscopie, les vitesses de chauffage et de refroidissement sont de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$  et de  $3 \text{ à } 2^{\circ}\text{C min}^{-1}$  au voisinage des points de fusion. Les méthodes de contact et de microthermoanalyse [13,14] ont été utilisées.

Après diffusion des substances fondues et recristallisation, les phases formées dans la zone d'interaction, selon le procédé de contact sont mises en évidence, et leurs températures de fusion déterminées.

La microthermoanalyse effectuée sur les mélanges permet de préciser les températures de fusion, recristallisation de chacun d'eux.

La mesure de la transparence réalisée dans des tubes capillaires placés dans un four, permet de déterminer avec précision la température de fusion, par affichage direct (A) ou à partir de l'enregistrement de la cinétique de fusion (B).

### *Reactifs*

Etant donné l'influence du polymorphisme sur l'établissement des diagrammes de phase, nous avons étudié préalablement le comportement thermique de chacun des principes actifs par thermogravimétrie, thermomicroscopie, analyse calorimétrique différentielle et mesure de la transparence.

Chaque substance stable thermiquement est soumise à des cycles chauffage-refroidissement lent et rapide en vue de déceler les formes cristallines de stabilité différente.

#### *Benzoate d'estradiol*

Le comportement thermique de ce principe actif a fait l'objet d'un travail antérieur [1]. Nous rappelons succinctement les résultats obtenus. Soumis à des cycles chauffage-refroidissement en thermomicroscopie le benzoate (forme I) fond à  $195^{\circ}\text{C}$ . Il a été mis en évidence trois autres formes polymorphes. L'échantillon commercial est constitué par la forme I.

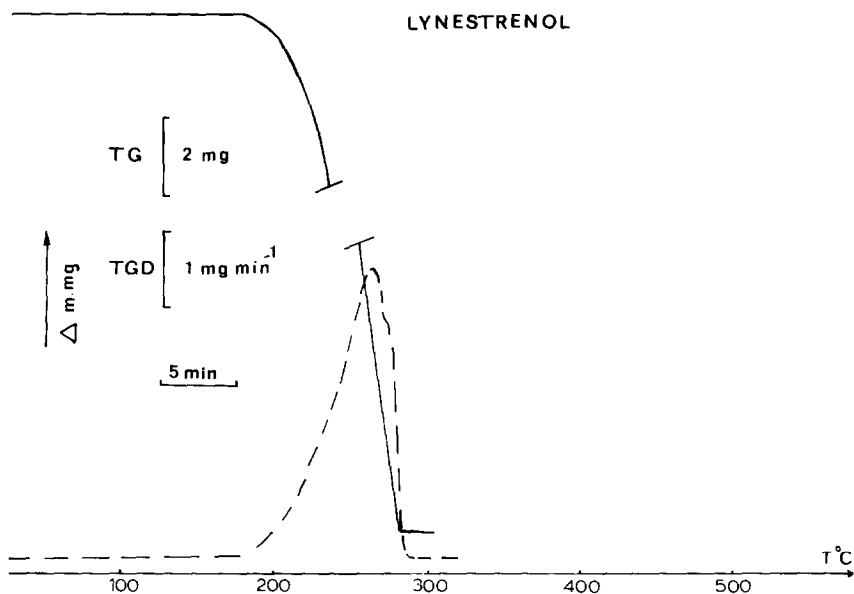


Fig. 1. Courbe thermogravimétrique (TG) et dérivée (TGD) du lynestrénol.

#### *Phényl propionate d'estradiol*

Cette substance dont la température de début de décomposition est 220°C, fond à 130°C. Soumise à des cycles chauffage-refroidissement, le phényl propionate ne recristallise pas, bien que quelques cristaux (forme II fondant à 118°C) soient mis en évidence après certains traitements thermiques (étuve à 110°C ou réfrigérateur plusieurs jours).

#### *Mestranol*

La forme I (forme commerciale) fond à 150°C. Il a été observé plusieurs formes polymorphes par thermomicroscopie et analyse calorimétrique différentielle.

#### *Lynestrenol*

Nous rapportons nos résultats obtenus avec le lynestrenol progestatif pur, ces derniers n'ayant pas fait l'objet d'une publication antérieure. Les résultats

TABLEAU 1

Résultats de l'étude thermogravimétrique du lynestrénol

Prise d'essai (mg)	Stade	Température de décomposition (°C)		Vitesse de décomposition (mg min <sup>-1</sup> )
		début	fin	
8,5	1	170	270	3,75
	2	270	290	3,1

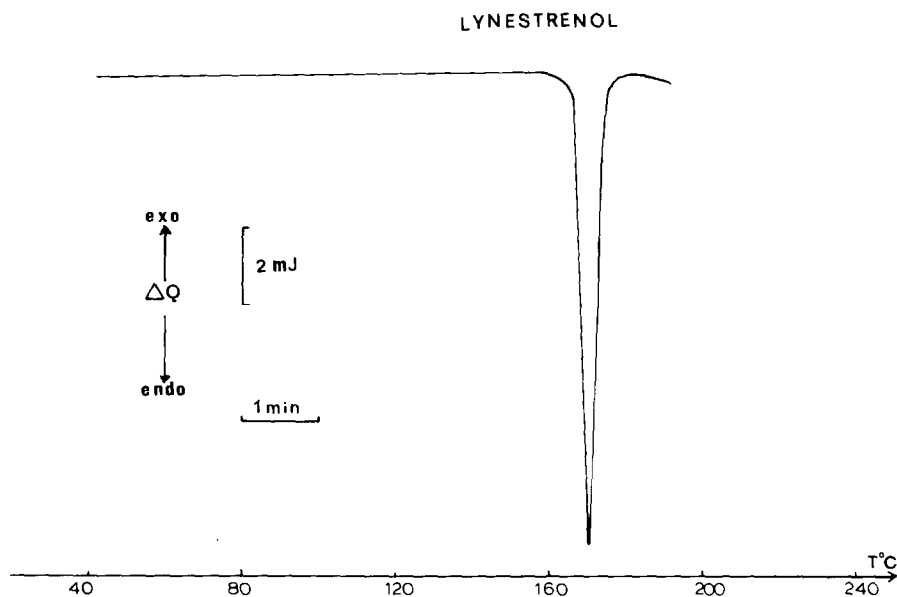


Fig. 2. Courbe d'analyse calorimétrique différentielle du lynestrénol. Conditions opératoires: prise d'essai = 1,72 mg, vitesse de chauffage =  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

de l'étude thermogravimétrique sont consignés dans le Tableau 1. L'examen des courbes thermogravimétriques et thermogravimétriques dérivées (Fig. 1) met en évidence une décomposition en deux stades.

La température de début de perte de poids est inférieure à celle de la fusion, en conséquence, il y a risque de décomposition thermique lors des cycles chauffage-refroidissement. La courbe d'analyse calorimétrique différentielle (Fig. 2) permet de déceler un seul pic endothermique à  $166^{\circ}\text{C}$  correspondant à la fusion. La ligne de base ne reste pas horizontale après la fusion, confirmant la non stabilité du produit. La température de fusion déterminée à l'aide de l'appareil Mettler (Tableau 2, Fig. 3) est fonction de la température de départ.

TABLEAU 2

Températures de fusion du lynestrénol

Vitesse de chauffage ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	$T_0 = T_f - 5$		$T_0 = T_f - 10$	
	A	B	A	B
2	$159,08 \pm 0,86$	$158,84 \pm 0,68$		
10	$164,28 \pm 0,41$	$163,76 \pm 0,88$	$162,32 \pm 0,52$	$163,06 \pm 0,94$

A: Lues par affichage automatique.

B: Déterminées à partir de l'enregistrement de la courbe de fusion.

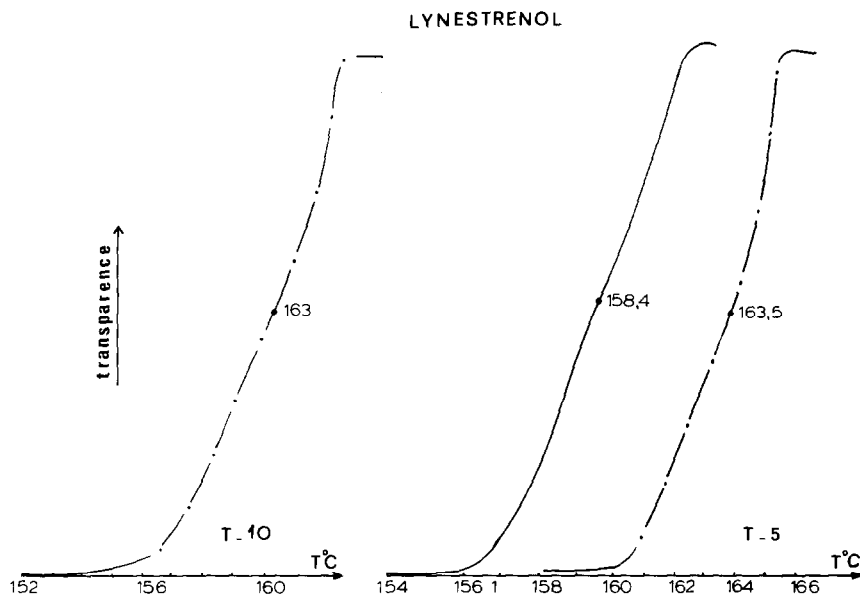


Fig. 3. Cinétique de fusion du lynestrénol en fonction de la transparence. Conditions expérimentales: vitesses de chauffage:  $10^{\circ} \text{ min}^{-1}$  ( $\cdot-\cdot-\cdot$ ). Température de départ ( $T_d = T_f - 10$ );  $2^{\circ} \text{ min}^{-1}$  (—),  $10^{\circ} \text{ min}^{-1}$  température de départ ( $T_d = T_f - 5$ ).

La température de fusion n'est pas influencée par la température de départ.

Le régime de chauffe influence la température de fusion. L'intervalle de fusion est large (Tableau 3). Donc le lynestrénol peut être classé dans le groupe II de Vergnon et Drevon [10,11].

#### Obtention des échantillons

Les échantillons dont la composition est exprimée en fraction molaire sont obtenus par mélange physique de petites quantités de substances de l'ordre de 100 mg dans un mortier d'agate.

TABLEAU 3

Intervalles de fusion du lynestrénol

Vitesse de chauffage ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	$T_0 = T_f - 5$	$T_0 = T_f - 10$
2	$7,76 \pm 0,53$	
10	$6,52 \pm 0,33$	$8,92 \pm 1,05$

## RESULTATS

*Benzoate-phényl propionate d'estradiol*

Par la méthode de contact, est observé un seul eutectique fondant à 118°C.

La recristallisation de la forme I du benzoate est obtenue par refroidissement rapide. Par contre le phényl propionate d'estradiol nécessite un traitement thermique particulier (étuve à 110°C ou réfrigérateur avec grattage des bords de la lame).

Cet examen s'effectuant en lumière polarisée après chauffage, seules subsistent les deux substances cristallines de part et d'autre du couloir noir qui correspond à la fusion de l'eutectique, à la température de 127,5°C. Les résultats fournis par thermomicroscopie (TM) et analyse calorimétrique différentielle (ACD) sont consignés dans le Tableau 4.

Au voisinage du point d'eutexie, la thermomicroscopie permet de préciser la fin de fusion des échantillons. Le palier d'eutexie est observé pour toutes les compositions étudiées, y compris pour les compositions renfermant 0,03 et 0,97 en l'un des constituants. En conséquence il ne se forme pas de solution solide. Dans le cas de ce binaire, il n'est pas possible de construire le triangle de Tamman à partir des valeurs expérimentales relatives aux enthalpies de fusion eutectique.

La composition eutectique est déterminée en opposant un mélange à l'un des principes actifs et en vérifiant la présence ou l'absence du couloir

TABLEAU 4

Résultats de l'étude du système benzoate-phényl propionate d'estradiol par analyse calorimétrique différentielle (ACD) et thermomicroscopie (TM)

Benzoate d'estradiol	Palier d'eutexie $T_f$ (°C)		Fin de fusion $T_f$ (°C)		Phényl propionate d'estradiol
	ACD	TM	ACD	TM	
0,00			128,0	127,5	1,00
0,03	118,0		127,0	126,5	0,97
0,10	119,0	116,7	125,0	124,5	0,90
0,20	118,0	116,8	127,5	127,0	0,80
0,30	119,0	116,5	140,0	139,0	0,70
0,40	118,0	116,6	152,0	150,0	0,60
0,50	118,5	117,0	161,0	158,5	0,50
0,60	119,0	116,8	167,0	168,0	0,40
0,70	119,0	116,8	175,0	175,5	0,30
0,80	117,0	117,0	184,0	182,0	0,20
0,90	117,0	116,7	187,0	189,0	0,10
0,97	117,0		192,8		0,03
1,00			193,0	193,5	0,00

eutectique; ainsi un mélange peut être situé d'un côté ou de l'autre par rapport au point d'eutexie.

La composition du point d'eutexie étant confirmée, les températures de fusion connues, le diagramme de phase est établi (Fig. 4). Nous rapportons nos résultats.

	Temp. de fusion (°C)	
	ACD	TM
Benzoate d'estradiol	195,0	193,5
Phényl propionate d'estradiol	128,0	127,5

Invariant stable

Eutectique E : benzoate + phényl propionate  $\rightleftharpoons$  liquide eutectique

$x_C = 0,15$  mole de benzoate et 0,85 mole de phényl propionate d'estradiol

$T_{fE} = 118,0$  (ACD)

116,7 (TM)

117,5 (mesure de la transparence)

### Mestranol-lynestrénol

La méthode de contact précédemment décrite nous a permis d'observer en lumière polarisée entre nicols croisés, trois domaines cristallins différents:

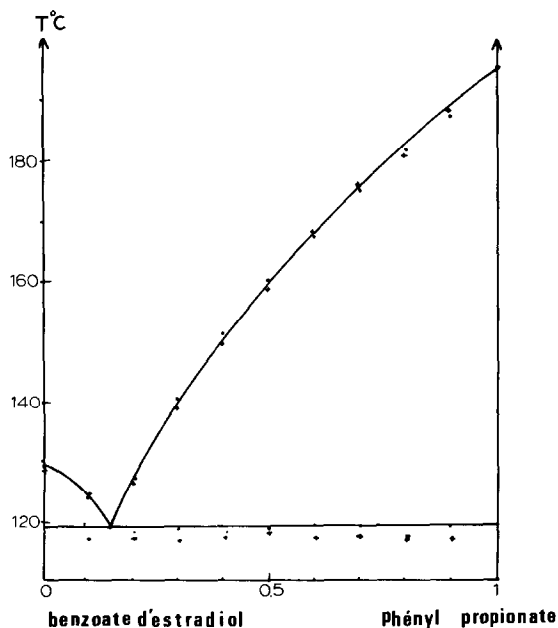


Fig. 4. Diagramme de phase, benzoate-phényl propionate d'estradiol. Analyse calorimétrique différentielle (.), thermomicroscopie (+).



TABLEAU 5

Résultats de l'étude du système mestranol–lynestrérol par analyse calorimétrique différentielle (ACD) et thermomicroscopie (TM)

Mestranol	Palier d'eutexie		Fin de fusion		Lynestrérol
	$T_f$ (°C)		$T_f$ (°C)		
	ACD	TM	ACD	TM	
0,00			163,0	162,0	1,00
0,03	127,3	127,5	162,5	161,5	0,97
0,10	127,5	127,1	160,0	159,2	0,90
0,20	127,8	127,6	155,0	156,0	0,80
0,30	127,5	127,4	149,0	150,0	0,70
0,40	127,5	126,8	141,0	140,0	0,60
0,50	127,5	127,3	131,5	130,0	0,50
0,60	127,8	127,4	135,0	136,1	0,40
0,70	127,5	127,7	141,0	141,2	0,30
0,80	127,2	127,2	145,0	146,0	0,20
0,90	127,2	127,4	149,0	148,4	0,10
0,97	127,3	127,4	150,8		0,03
1,00			151,5	150,6	0,00

mestranol, mélange eutectique fondant à 127°C et le lynestrérol. La visualisation d'un couloir noir entre les deux substances cristallisées, correspond à la fusion de l'eutectique.

Les résultats obtenus par thermomicroscopie (TM) et par analyse calorimétrique différentielle (ACD) sont rapportés dans le Tableau 5.

Le palier d'eutexie est observé pour toutes les compositions étudiées, en particulier pour des teneurs en mestranol et lynestrérol de 0,03 exprimées en fraction molaire. Il est possible de conclure à l'absence de solution solide. La composition de l'eutectique est confirmée par le triangle de Tamman [15] construit à l'aide des mesures d'enthalpies de fusion eutectique. Les valeurs moyennes ont été calculées à partir de cinq mesures effectuées sur les mélanges.

L'intervalle de confiance a été évalué en prenant comme seuil de probabilité  $P = 0,05$  (Tableau 6).

TABLEAU 6

Valeurs numériques caractérisant l'eutectique mestranol–lynestrérol

Teneur en mestranol	Enthalpie ( $J g^{-1}$ )
0,80	$38,50 \pm 0,50$
0,70	$61,47 \pm 1,15$
0,30	$56,10 \pm 0,88$
0,25	$48,30 \pm 0,96$
0,20	$31,10 \pm 1,18$

La composition du point d'eutexie étant confirmée et les températures de fusion connues, le diagramme de phase est établi (Fig. 5). Nous rapportons nos résultats.

	Temp. de fusion (°C)	
	ACD	TM
Mestranol	153,0	150,6
Lynestrénol	166,0	162,6

#### Invariant stable

Eutectique E = Mestranol + lynestrénol  $\rightleftharpoons$  liquide eutectique

$x_E = 0,52$  mole de mestranol et 0,48 mole de lynestrénol.

$T_{FE} = 131,0$  (ACD)

127,8 (TM)

127,5 (mesure de la transparence)

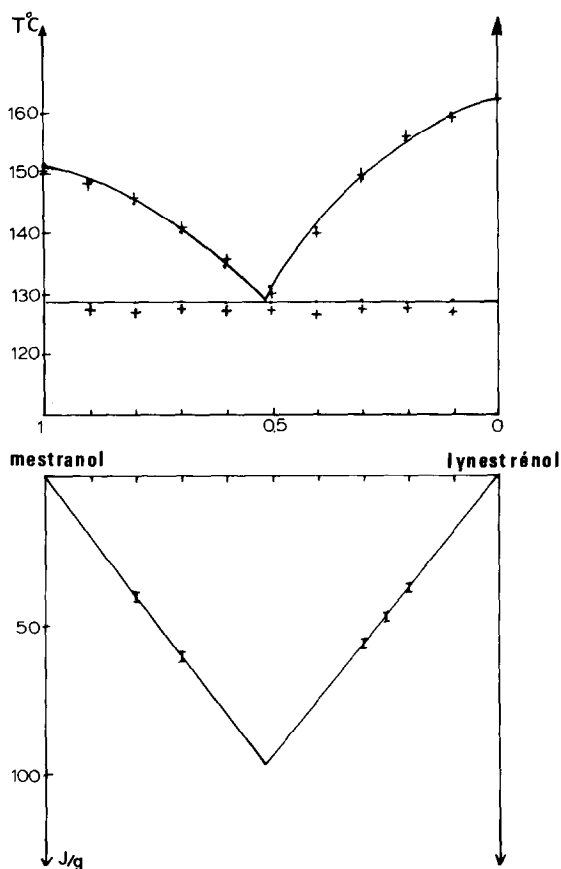


Fig. 5. Diagramme de phase mestranol-lynestrénol et triangle de Tammann [15]. Analyse calorimétrique différentielle (.), thermomicroscopie (+).

## CONCLUSION

La thermomicroscopie et l'analyse calorimétrique différentielle nous ont permis, par leur complémentarité, d'établir des diagrammes de phase benzoate-phényl propionate d'estradiol et mestranol-lynestrénol. La présence d'un seul palier d'eutexie pour toutes les compositions, en particulier pour de très faibles teneurs en l'un et l'autre des constituants, indique l'absence de solution solide.

La composition eutectique étant précisée, l'étude des modifications éventuelles de solubilité des estrogènes (benzoate et phényl propionate d'estradiol) mestranol et de progestatif pur (lynestrénol) dans les deux mélanges eutectiques, peut être abordée.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions le Laboratoire Organon qui a eu l'obligeance de nous procurer les échantillons de benzoate et phényl propionate d'estradiol, le mestranol, ainsi que le lynestrénol par l'intermédiaire du Docteur Marie Mayer.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 G. de Maury, A. Chauvet et J. Masse, *Thermochim. Acta*, sous presse.
- 2 K. Sekiguchi et N. Obi, *Chem. Pharm. Bull.*, 9 (1961) 866.
- 3 A.H. Goldberg, M. Gibaldi et J.L. King, *J. Pharm. Sci.*, 54 (1965) 1145.
- 4 A.H. Goldberg, M. Gibaldi, J.L. Kaning et M. Mayersohn, *J. Pharm. Sci.*, 55 (1966) 981.
- 5 W.L. Chiou, *J. Pharm. Sci.*, 60 (1971) 1406.
- 6 W.L. Chiou et S. Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, 60 (1971) 1376.
- 7 H.M. El Banna, S. Abd-Elfattach et N.A. Daabib, *Pharmazie*, 29 (1974) 396.
- 8 W.N. Frech et J.C. Moorison, *J. Pharm. Sci.*, 54 (1965) 1133.
- 9 A. Chauvet, S. Rubio et J. Masse, *Thermochim. Acta*, 57 (1982) 173.
- 10 P. Vergnon et B. Drevon, *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon*, 12 (1968) 83.
- 11 P. Vergnon et B. Drevon, *Lyon Pharm.*, 25 (1974) 541.
- 12 M.A. Rochandel, Thèse Pharmacie, Lyon, 1969, N. 562.
- 13 W. MacCrone, *Fusion Methods in Chemical Microscopy*, Interscience, New York, 1957.
- 14 M. Kuhnert-Brandstatter, *Thermomicroscopy in the Analysis of Pharmaceuticals*, Pergamon Press, New York, 1971.
- 15 G. Tammann, *Lehrbuch der heterogen Gleichwichte Vieweg*, Braunschweig, 1924.