

## ETUDE DES BINAIRES KHELLINE I–ACIDE NICOTINIQUE ET KHELLINE I–NICOTINAMIDE I \*\*\*

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

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

(Reçu le 8 novembre 1986; en forme finale le 30 janvier 1987)

### ABSTRACT

After a study of the thermal behaviour of the drugs the phase diagrams of the binary systems (a) khelline I–nicotinic acid and (b) khelline I–nicotinamide I were established by differential scanning calorimetry and thermomicroscopy. The eutectic compositions: (a) 0.18 mol nicotinic acid ( $T_f$  142,0 °C); (b) 0.91 mol nicotinamide ( $T_f$  121,0 °C) and that of the defined compound 0.5 mol nicotinamide (b) were determined for a physicochemical study, particularly as regards solubility in relation to bioavailability.

### RÉSUMÉ

Après avoir étudié le comportement thermique des principes actifs, les diagrammes de phase du mélange binaire (a): khelline I–acide nicotinique et du mélange binaire (b): khelline I–nicotinamide I ont été établis par analyse calorimétrique différentielle et thermomicroscopie. La composition des points d'eutexie: 0,18 mole d'acide nicotinique pour (a), 0,91 mole de nicotinamide pour (b), et celle du composé défini (1–1) à fusion non congruente du binaire (b) ont été déterminées en vue d'une étude physicochimique en relation avec la biodisponibilité.

### INTRODUCTION

Etant donné l'influence du polymorphisme des constituants individuels sur l'établissement du diagramme de phase, nous avons étudié le comportement thermique de l'acide nicotinique, de la nicotinamide, celui de la khelline ayant déjà fait l'objet d'un travail antérieur [1]. Poursuivant l'étude d'interactions khelline I–principe actif [2,3] nous rapportons présentement nos résultats relatifs aux systèmes khelline I–acide nicotinique et khelline I–nicotinamide I.

\* Un poster relatif à ce travail a été présenté aux Journées de calorimétrie et d'analyse thermique à Ferrare, 27–30 octobre 1986.

\*\* Dedicated to Professor W.W. Wendlandt on the occasion of his 60th birthday.

## PARTIE EXPERIMENTALE

*Appareils et conditions opératoires*

Nous avons utilisé:

L'analyseur thermique différentiel Du Pont de Nemours 990 avec les modules pour analyse calorimétrique différentielle et pour analyse thermogravimétrique (module 951). En analyse calorimétrique différentielle la vitesse de chauffage est de  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , la sensibilité choisie pour les différentes manipulations est indiquée sur chacun des graphiques. La prise d'essai est de 4,30 mg. Pour l'étude thermogravimétrique la sensibilité choisie est:  $1\text{ mg pouce}^{-1}$ , la vitesse de chauffage  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$  et la prise d'essai: 7,0 mg.

Le système d'analyse thermique FP 800 Mettler relié au microordinateur EPSON HX 20 permettant d'évaluer les températures, les domaines de fusion, de recristallisation, de transformation et les enthalpies correspondantes. Les conditions expérimentales retenues correspondent à une vitesse de chauffage de  $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , une prise d'essai de 4,30 mg.

L'appareil Mettler à détermination automatique de la température de fusion, composé du four FP 51, du programmateur FP 5 et de l'enregistreur GA 11. Les échantillons sont placés dans des tubes capillaires et les températures de fusion affichées directement ou déterminées après enregistrement graphique.

La température de début de chauffage ( $T_d$ ) est choisie inférieure à 5 ou de  $10^{\circ}\text{C}$  à celle de la fusion. L'écart-type sur la moyenne est déterminé à partir de cinq manipulations; le seuil de probabilité étant choisi égal à 0,05.

Pour la diffraction des rayons X, l'appareillage C.G.R. Sigma 80 avec la raie du cuivre  $K_{\alpha} = 1,54051$ .

*Réactifs*

Khelline:  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_5$ : diméthoxy 4,9-méthyl 7-furo (3,2-g) benzopyrane(1), one 5, de poids moléculaire 260,24. Acide nicotinique:  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ : pyridine carboxylique 3, de poids moléculaire 123,10. Nicotinamide:  $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$ : pyridine carboxamide 3, de poids moléculaire 122,12.

## COMPORTEMENT THERMIQUE DES CONSTITUANTS INDIVIDUELS

*Acide nicotinique*

L'étude thermogravimétrique de ce principe actif a permis de déceler un début de perte de masse dès  $150^{\circ}\text{C}$ , correspondant à la sublimation.

TABLEAU 1

Température de fusion ( $^{\circ}\text{C}$ ) de l'acide nicotinique et de la nicotinamide. (A) Lues par affichage automatique; (B) déterminées à partir de l'enregistrement de la courbe de fusion

Principes actifs	Vitesse de chauffage ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	$T_d = T_f - 5$		$T_d = T_f - 10$	
		A	B	A	B
Acide nicotinique	2	$237,44 \pm 0,36$	$237,22 \pm 0,33$		
	10	$240,44 \pm 0,63$	$240,10 \pm 0,53$	$240,22 \pm 0,62$	$239,44 \pm 0,66$
Nicotinamide	2	$128,92 \pm 0,23$	$128,70 \pm 0,17$	$129,08 \pm 0,20$	$128,82 \pm 0,16$
	10	$131,52 \pm 0,66$	$130,68 \pm 0,76$	$131,26 \pm 1,21$	$130,90 \pm 0,23$

L'analyse calorimétrique différentielle met en évidence deux accidents endothermiques, l'un à  $184^{\circ}\text{C}$ , correspondant à une transformation polymorphique observée par thermomicroscopie, l'autre à  $237^{\circ}\text{C}$ , la fusion.

La température, la cinétique de fusion et les intervalles de fusion sont déterminés par mesure de la transparence. Les résultats moyens de la température de fusion déterminées par affichage direct (A) et à partir des courbes de fusion (B) de cinq mesures sont consignés dans le Tableau 1; ceux relatifs aux intervalles de fusion sont rapportés dans le Tableau 2. La température de fusion de l'acide nicotinique est modifiée par la température de départ,  $T_d = T_f - 5$  et  $T_d = T_f - 10$  pour une même vitesse de chauffage. Elle est influencée par la vitesse de chauffage.

Ce composé est classé dans le groupe III de Vergnon et Drevon [4,5]. La température de fusion ne constitue pas un critère de pureté; en tout état de cause une identification ne peut être envisagée que pour un protocole opératoire strictement défini. La fusion est accompagnée de décomposition.

L'instabilité thermique dans le domaine de fusion ne permet pas de soumettre cette substance à des cycles de chauffage-refroidissement.

TABLEAU 2

Intervalles de fusion ( $^{\circ}\text{C}$ ) de l'acide nicotinique et de la nicotinamide

Principes actifs	Vitesse de chauffage ( $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ )	$T_d = T_f - 5$	$T_d = T_f - 10$
Acide nicotinique	2	$3,12 \pm 0,28$	
	10	$5,62 \pm 0,70$	$7,28 \pm 1,16$
Nicotinamide	2	$3,42 \pm 0,23$	$3,26 \pm 0,24$
	10	$5,68 \pm 0,83$	$6,04 \pm 0,47$

## Nicotinamide

Les résultats de l'examen thermogravimétrique mettent en évidence la stabilité thermique de ce principe actif, la température de décomposition  $145^{\circ}\text{C}$  étant supérieure à celle de la fusion ( $128^{\circ}\text{C}$ ).

Au cours du premier chauffage la courbe d'analyse calorimétrique différentielle met en évidence un seul accident endothermique à  $129^{\circ}\text{C}$ , la fusion (Fig. 1a).

L'échantillon fondu porté immédiatement à la température ambiante est soumis à un deuxième chauffage (Fig. 1b); dans ces conditions apparaissent un exotherme à  $65^{\circ}\text{C}$  et un endotherme à  $129^{\circ}\text{C}$ ; or l'examen thermomicroscopique met en évidence une recristallisation immédiate de l'échantillon fondu refroidi rapidement à  $20^{\circ}\text{C}$  (trempe), au cours du chauffage une transformation polymorphique est observée à  $65^{\circ}\text{C}$ . En conséquence l'exotherme décelé par ACD peut être attribué au polymorphisme.

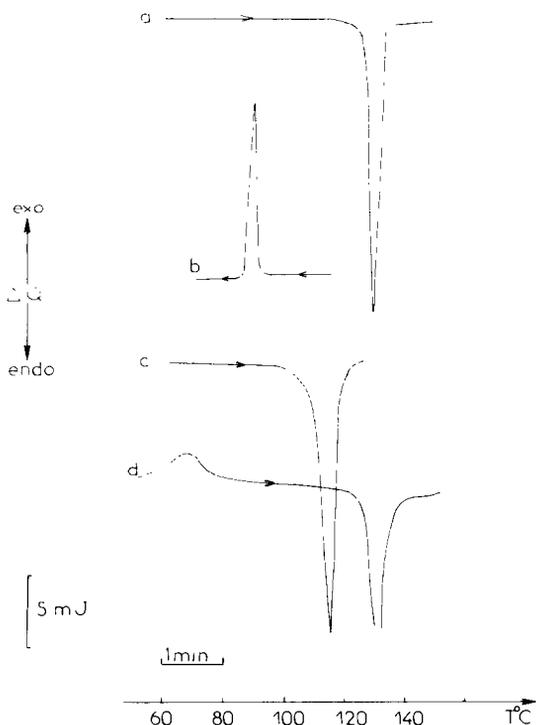


Fig. 1. Courbes d'analyse calorimétrique différentielle de la nicotinamide: conditions expérimentales, prise d'essai 4,30 mg, vitesse de chauffage  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . (a) Premier traitement thermique, (b) recristallisation au cours du refroidissement lent, (c) deuxième traitement thermique après refroidissement lent, (d) troisième traitement thermique après refroidissement rapide.

Par refroidissement lent à la vitesse de  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , la recristallisation est décelée à  $90^{\circ}\text{C}$  (Fig. 1b); au cours du chauffage à  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$  un endotherme est décelé à  $114^{\circ}\text{C}$  (fusion) (Fig. 1c).

Ainsi au cours des cycles de chauffage-refroidissement a été mise en évidence, une forme polymorphique se transformant à  $65^{\circ}\text{C}$  en la forme fondant à  $129^{\circ}\text{C}$  et une autre variété cristalline dont la température de fusion se situe à  $114^{\circ}\text{C}$ .

Les résultats obtenus par mesure de la transparence (Tableau 1) indiquent que la température de fusion de la nicotinamide est influencée par la vitesse de chauffage et non par la température de départ. L'intervalle de fusion est large (Tableau 2). Ces caractéristiques sont celles des substances du groupe II de Vergnon et Drevon.

La température de fusion constitue un critère d'identification à condition de respecter un protocole opératoire défini.

L'intervalle de fusion plus étendu de l'acide nicotinique (groupe III) comparativement à celui de la nicotinamide rend compte de l'instabilité thermique des substances du groupe III dans leur domaine de fusion.

L'examen thermomicroscopique consiste à placer entre lame et lamelle quelques dixièmes de milligramme de principe actif.

Le produit commercial se présente sous forme de grands prismes blancs fondant à  $129^{\circ}\text{C}$ .

L'échantillon fondu est refroidi par trempe à la température ambiante; la recristallisation s'effectue sous forme de sphérulites colorées associées à de fines particules cristallines. Par chauffage à partir de  $50^{\circ}\text{C}$  à la vitesse de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$  une modification des sphérulites en prismes est observée dès  $65^{\circ}\text{C}$ ; les prismes fondent à  $129^{\circ}\text{C}$ .

L'échantillon fondu, refroidi à la vitesse de  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , recristallise en très fines particules et en cristaux de forme polygonale; ces derniers grandissent très lentement au cours du chauffage à  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . En choisissant une vitesse de chauffage de  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$  à partir de  $112^{\circ}\text{C}$ , la fusion des particules intervient à  $114^{\circ}\text{C}$  et celle des prismes à  $115^{\circ}\text{C}$ . Ces formes cristallines présentent des températures de fusion comparables à celles des formes III et IV de Burger [4].

## DIAGRAMME DE PHASE

### *Obtention des échantillons*

Les diagrammes de phase ont été établis avec la forme I de la khelline et de la nicotinamide et avec la forme commerciale de l'acide nicotinique. Les échantillons sont préparés par mélange physique dans un mortier d'agate. La composition des échantillons est exprimée en fraction molaire.

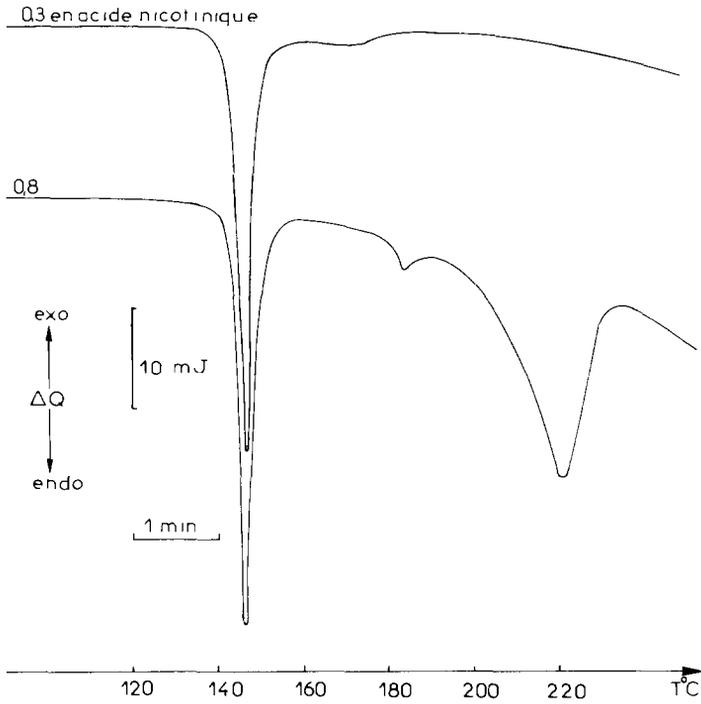


Fig. 2. Courbe ACD du mélange binaire khelline I-acide nicotinique.

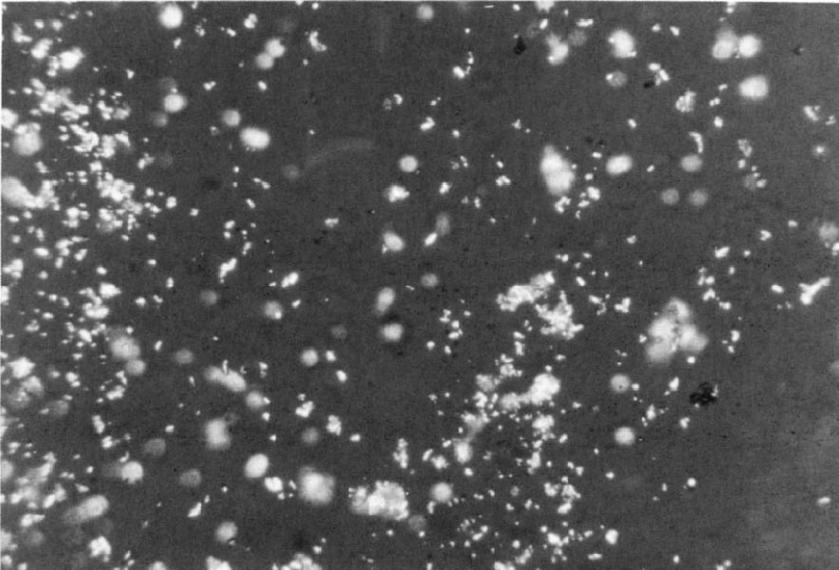


Foto 1. Mélange 0,8 en acide nicotinique à 160°C se présentant en fins cristaux.

## Etablissement des diagrammes de phase

### *Khelline I-acide nicotinique*

Les courbes ACD (Fig. 2), réalisées avec des prises d'essai identiques, mettent en évidence pour chacun des mélanges, deux endothermes, l'un à 142°C (fusion eutectique), l'autre correspondant à la fin de fusion. Cependant à partir du mélange 0,4 mol d'acide nicotinique, on observe un endotherme supplémentaire à 184°C, qui correspond à la transformation de l'acide nicotinique, observée par thermomicroscopie (clichés 1 et 2). Le premier cliché représente l'aspect en fins cristaux observés à 160°C. A la température de 184°C la modification des cristaux en prismes est décelée dans le même champ du microscope (cliché 2).

La thermomicroscopie permet de préciser les fins de fusion des mélanges proches du point d'eutexie. Les résultats sont consignés dans le Tableau 3. Le diagramme de phase (Fig. 3) ainsi établi visualise. Le palier d'eutexie à 142°C pour toutes les compositions étudiées, y compris pour les compositions renfermant 0,03 et 0,97 en l'un des constituants; en conséquence on peut conclure à l'absence de solution solide; la courbe du liquidus; la transformation polymorphique de l'acide nicotinique à 184°C. Les coordonnées remarquables sont les suivantes: Eutectique E:

khelline I + acide nicotinique  $\rightleftharpoons$  liquide eutectique

$x_E = 0,18$  mole d'acide nicotinique et 0,82 mol de khelline,  $T_{f_e} = 142,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (ACD, TM).

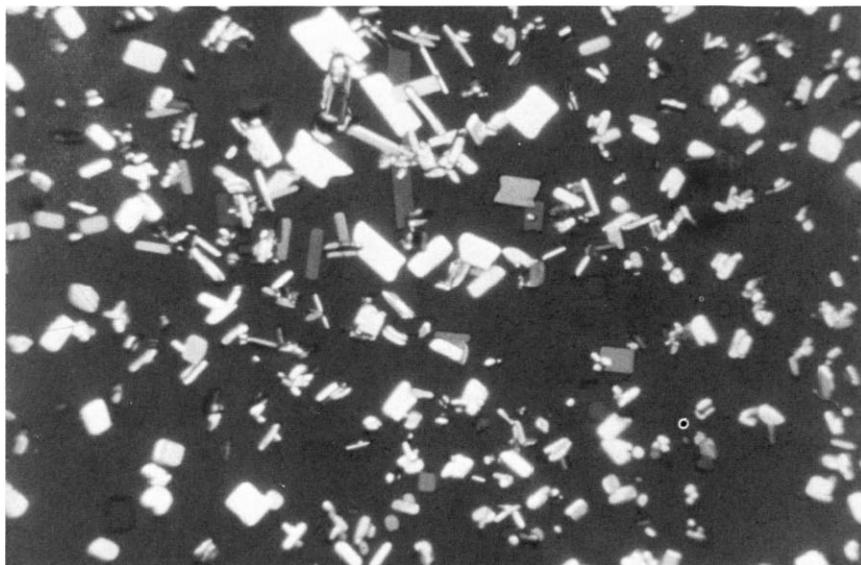


Foto 2. Mélange 0,8 porté à 184°C, température de transformation polymorphique en prismes observés dans le même champ du microscope.

TABLEAU 3

Résultats de l'étude du système binaire khelline I-acide nicotinique par analyse calorimétrique différentielle (ACD) et par thermomicroscopie (TM)

Acide nicotinique	Palier d'eutexie $T$ (°C)		Fin de fusion $T$ (°C)		Khelline I
	ACD	TM	ACD	TM	
0,00	142,0	141,0	154,0	153,0	1,00
0,03	142,0	141,0	151,0	151,5	0,97
0,10	142,0	141,5	148,0	148,0	0,90
0,15	142,0	141,5	143,0	143,0	0,85
0,20	142,0	141,5	145,0	145,5	0,80
0,25	142,0	141,5	163,0	161,0	0,75
0,30		141,0	172,0	170,0	0,70
0,35		141,0	179,0	178,0	0,65
0,40			185,0	183,0	0,60
0,50			197,0	195,0	0,50
0,60			203,0		0,40
0,70			211,0		0,30
0,80	142,0	141,0	218,0		0,20
0,90	142,0	141,0	226,0		0,10
1,00			237,0		0,00

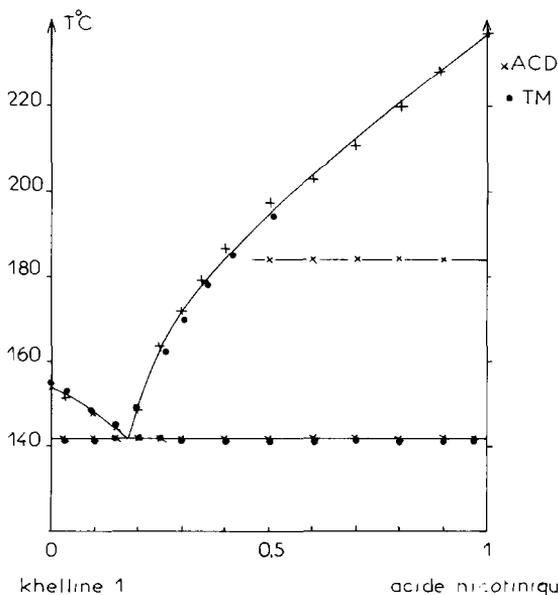


Fig. 3. Diagramme de phase khelline I-acide nicotinique par analyse calorimétrique différentielle (x) et thermomicroscopie (●).

### *Khelline I-nicotinamide I*

Par méthode de contact [7], après refroidissement à la température ambiante, recristallisent dans la zone de contact, l'eutectique et le péritectique accolé à la khelline. Par chauffage à  $121^{\circ}\text{C}$  un premier couloir noir apparaît (fusion de l'eutectique), puis à  $133^{\circ}\text{C}$  fondent les aiguilles accolées aux prisme de la khelline (fusion du péritectique).

Par ACD, les courbes réalisées à  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (Fig. 4), montrent trois accidents endothermiques respectivement à  $118^{\circ}\text{C}$ ,  $121^{\circ}\text{C}$ , et à  $133^{\circ}\text{C}$ , alors qu'à la vitesse de  $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , le palier à  $118^{\circ}\text{C}$  disparaît ce qui indique la présence d'une fusion métastable, suivie d'une recristallisation. Le chauffage à la vitesse de  $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$  permet de déceler les phénomènes thermiques à l'équilibre: ainsi pour une composition renfermant 0,2 mol de nicotinamide I

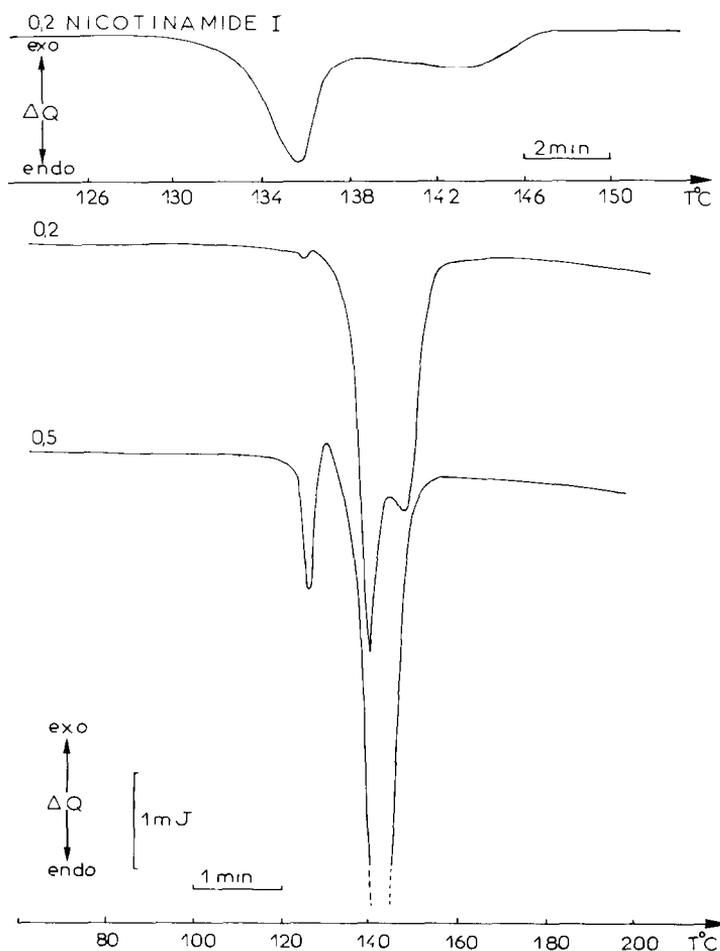


Fig. 4. Courbes ACD du mélange binaire khelline I-nicotinamide I dont les fractions molaires sont exprimées en nicotinamide I.

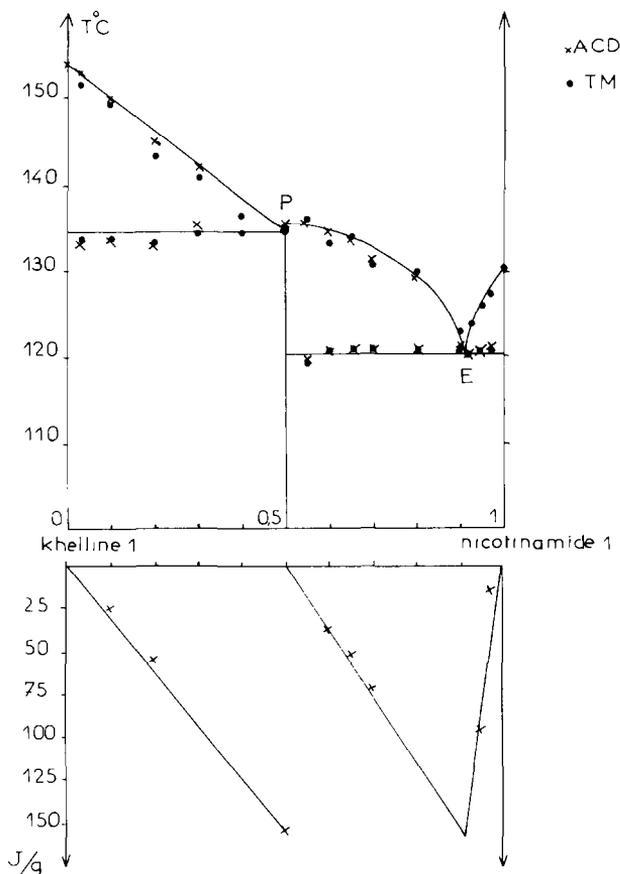


Fig. 5. Diagramme de phase khelline I-nicotinamide par analyse calorimétrique différentielle (x) et thermomicroscopie (●).

deux endothermes sont mis en évidence correspondant le premier à la fusion péritectique ( $T_f = 133^{\circ}\text{C}$ ) le second à la fin de fusion ( $143^{\circ}\text{C}$ ). Le choix d'une vitesse de chauffage très rapide  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$  permet d'avoir un instantané des différentes phases stables et instables rencontrées en fonction de la température; pour la même composition sont décelés un endotherme de faible intensité suivi d'un exotherme correspondant à une recristallisation. Ces phénomènes faiblement énergétiques pour le mélange contenant 0,2 en nicotinamide I présente une intensité accrue pour celui renfermant 0,5 mol de nicotinamide I (Fig. 4).

Les compositions eutectiques et péritectiques ont été précisées par construction du triangle de Tammann à partir des valeurs expérimentales relatives aux enthalpies de fusion eutectique (Tableau 4). Les valeurs moyennes ont été calculées à partir de cinq mesures effectuées sur chacun des mélanges. Les résultats sont consignés dans le Tableau 5.

TABLEAU 4

Valeurs numériques caractérisant l'eutectique khelline I–nicotinamide

Teneur en Nicotinamide I	Enthalpie ( $J g^{-1}$ )
0,60	$36,30 \pm 0,42$
0,65	$50,70 \pm 0,50$
0,70	$71,60 \pm 0,85$
0,95	$90,50 \pm 0,60$
0,97	$15,20 \pm 0,90$

La formation d'un composé moléculaire 1–1 a été confirmée par diffraction de rayons X. En effet, le spectre du mélange 0,5 diffère de celui de chacun des principes actifs.

Invariants stables

Péritectique = khelline I + composé moléculaire  $\rightleftharpoons$  liquide péritectique P

$x_p = 0,5$  mol de nicotinamide I,  $T_{fp} = 133,0 \pm 0,5^\circ C$  (ACD, TM).

E = composé moléculaire + nicotinamide I  $\rightleftharpoons$  liquide eutectique E

$x_E = 0,91$  mol de nicotinamide I,  $T_{fe} = 121,0 \pm 0,5^\circ C$  (ACD, TM).

TABLEAU 5

Résultats de l'étude du système binaire khelline I–nicotinamide I par analyse calorimétrique différentielle et par thermomicroscopie

Nicotinamide I	Palier d'eutexie $T$ ( $^\circ C$ )		Palier de peritexie $T$ ( $^\circ C$ )		Fin de fusion $T$ ( $^\circ C$ )		Khelline I
	ACD	TM	ACD	TM	ACD	TM	
0,00					154,0	153,0	1,00
0,03			133,0	134,0	154,0	151,0	0,97
0,10			133,0	134,0	150,0	149,0	0,90
0,20			133,0	133,5	143,0	145,0	0,80
0,30			136,0	135,0	141,0	142,0	0,70
0,40				134,5		136,5	0,60
0,50			135,0	134,5			0,50
0,55	120,0	119,0			135,8	136,3	0,45
0,60	120,5	120,6			134,4	133,0	0,40
0,65	120,6	120,7			134,0	133,7	0,35
0,70	120,9	121,0			131,0	130,7	0,30
0,80	120,4	121,0			129,0	130,0	0,20
0,90	121,4	120,9				123,0	0,10
0,92	120,9	120,5				124,0	0,08
0,95	120,8	120,8				126,0	0,05
0,97	121,0	120,6					0,03
1,00	121,0	120,6				131,0	0,00

## CONCLUSION

Le diagramme de phase khelline I-acide nicotinique présente un seul palier d'eutexie à 133°C décelé pour les compositions 0,03 et 0,97 ce qui indique l'absence de solution solide. Une transformation polymorphique de l'acide nicotinique est observée à 184°C.

En ce qui concerne le binaire khelline I-nicotinamide I le diagramme de phase indique l'existence d'un composé moléculaire 1-1 à fusion non congruente, la composition eutectique correspondant à 0,91 mol en nicotinamide I. L'influence de la vitesse de chauffage a été signalée, à la vitesse de 2°C min<sup>-1</sup> seule les phases stables sont mises en évidence; une vitesse élevée permet de déceler les phases instables.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. Masse, R. Malaviolle et A. Chauvet, *J. Therm. Anal.*, 16 (1979) 341.
- 2 J. Masse, R. Malaviolle et A. Chauvet, *Ann. Pharm. Fr.*, 34 (1976) 407.
- 3 J. Masse, R. Malaviolle et A. Chauvet, *J. Therm. Anal.*, 16 (1979) 123.
- 4 P. Vergnon et B. Drevon, *Lyon Pharm.*, 25 (1974) 544.
- 5 P. Vergnon et B. Drevon, *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon*, 15 (4) (1971) 119.
- 6 A. Burger et R. Ramberger, *Mikrochim. Acta*, (II) (1979) 273.
- 7 M. Khunert-Brandstatter, *Thermomicroscopy in the Analysis of Pharmaceuticals*, Pergamon, Oxford, 1971.